



T.C.

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**SIÇANLARDA PENTİLENTETRAZOL İLE OLUŞTURULAN
DENEYSEL EPİLEPSİ MODELİNDE VETİVER BİTKİSİNİN
(*Vetiveria zizanioides*) ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Gurbet Pınar POLAT

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nurhan GÜMRAL

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2019-7361 nolu proje ile desteklenmiştir**

ISPARTA - 2022

KABUL ve ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Fizyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Programı** Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06/01/2022

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nurhan GÜMRAL

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri
Bölümü, Fizyoloji A.B.D.

Üye : Prof. Dr. Özlem ÖZMEN

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Klinik Öncesi Bilimleri Bölümü, Patoloji A.B.D.

Üye : Doç. Dr. Mustafa SAYGIN

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Fizyoloji A.B.D.

Üye : Doç. Dr. Ömer ÇELİK

Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Biyofizik A.B.D.

Üye : Doç. Dr. Onur ELMAS

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Fizyoloji A.B.D.

ONAY: Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'na belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY

Enstitü Müdürü

BEYAN

“Sıçanlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Deneysel Epilepsi Modelinde Vetiver Bitkisinin (Vetiveria zizanioides) Etkilerinin Araştırılması” adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Hazırlayan

Gurbet Pınar POLAT

Danışman

Prof. Dr. Nurhan GÜMRAL

İTHAF

Tez çalışmamı,

yakın zamanda hayatını kaybeden

biricik teyzem Senem Yamak'a

ithaf ediyorum...

Saygılarımla,

İsparta, 2022

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım Fizyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı ve aynı zamanda tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nurhan GÜMRAL'a, göstermiş olduğu desteği için Sayın Doç. Dr. Mustafa SAYGIN'a, doktora tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen ve laboratuvar çalışmalarımda bana yol gösteren Sayın Öğretim Üyesi Dr. Rahime ASLANKOÇ'a, bölüm hocam Sayın Öğretim Üyesi Dr. Cennet AK'a, histopatolojik çalışmalarımın tamamlanmasında büyük emeği olan Sayın Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e, deneysel epilepsi modeli oluşturmamda yardımını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ömer ÇELİK'e, biyokimya çalışmalarına katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Hamit Yaşar ELLİDAĞ'a, çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Oğuzhan KAVRIK, Arzu YALÇIN ve Dilek ÇEVİK'e teşekkür ederim.

Eğitimim süresince verdikleri yardım ve destekleri için Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarına ve TDK-2019-7361 nolu proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi ve tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Desteği, anlayışı ile hep yanımda olan sevgili eşime, sabırla beni anlamaya çalışan üzerimde emekleri olan aileme, zamanlarından çaldığım sevgili çocuklarıma en derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Gurbet Pınar POLAT

Isparta, 2022

ÖZET

Sıçanlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Deneysel Epilepsi Modelinde Vetiver Bitkisinin (*Vetiveria zizanioides*) Etkilerinin Araştırılması

Epilepsi dünyada %1 prevelansa sahip olduğu öngörülen, yaygın ve ciddi nörolojik bir bozukluktur. Vetiver bitkisinin, antioksidan ve antiepileptik olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda pentilentetrazol (PTZ) uygulanarak epilepsi oluşturulan sıçanların kan, serebral korteks ve hipokampusunda olası hasarları ve vetiver yağının etkilerini araştırmayı amaçladık.

Sıçanlar; kontrol, PTZ, VET-200 ve VET-400 olarak dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu sıçanlara 7 gün boyunca 1 ml/kg salin solüsyonu oral olarak verildi, 8. gün PTZ miktarına eş değer salin solüsyonu i.p. olarak uygulandı. PTZ grubu sıçanlara 7 gün boyunca 1 ml/kg salin solüsyonu oral olarak verildi, 8. gün tek doz PTZ 60 mg/kg i.p. olarak uygulandı. VET-200 ve VET-400 grubundaki sıçanlara vetiver yağı 7 gün boyunca sırasıyla 200 mg/kg ve 400 mg/kg oral olarak verildi, 8. gün tek doz PTZ 60 mg/kg i.p. olarak uygulandı. Nöbet latans süreleri kaydedildi ve skorlama yapıldı. Daha sonra anestezi altında EEG kayıtları alındı. Sıçanlar dekapite edilerek serebral korteks, hipokampus ve kan örnekleri alındı. TAS, TOS, OSİ bakımından biyokimyasal analizler yapıldı. Beyin ve hipokampus dokuları histopatolojik ve immunhistokimyasal olarak incelendi.

VET-200 ve VET-400 grupları latans süreleri bakımından PTZ grubuyla karşılaştırıldığında, VET-200 grubunda azalma görüldü ($p<0,05$). VET-400 grubundaki hayvanların Racini skorlaması PTZ grubuna göre anlamlı biçimde düşük, EEG bulgularına göre ilk epileptik spike (İES) gecikme süreleri anlamlı olarak yüksek bulundu. Hem VET-200 hem de VET-400 gruplarında toplam epileptik spike sayısı PTZ grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0,05$).

VET-200 grubunda PTZ grubuna göre hem serebral kortekste hem de serumda TAS değerlerinde anlamlı artış gözlemlenirken, VET-400 grubundaki sıçanların sadece serumunda TAS değeri bakımından anlamlı artış gözlemlendi. Her iki grubun TOS ve OSİ değerlerinde ise anlamlı derecede azalma görüldü ($p<0,05$).

PTZ grubuna göre VET-200 ve VET-400 gruplarında; serebral korteks ve hipokampus dokularının histopatolojik incelemelesi sonucu hasar belirtilerinin azaldığı, siklin B1, GABA_A reseptör, Bcl-2, TUNEL pozitif hücre sayısı bakımından immuno ekspresyonların azaldığı, beta tubulin immuno ekspresyonlarının da arttığı saptandı ($p<0,001$).

Sonuç olarak, hem VET-200 hem de VET-400 grubuna ait değerlerin kontrol grubuna yaklaşma eğiliminde olduğu görülmektedir. Nöbet şiddetini azaltmada ve nöbetin başlama süresini geciktirmede VET-400'ün daha etkili olduğu gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Epilepsi, *Vetiveria zizanioides*, GABA_A reseptör, Pentilentetrazol

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Vetiver Plant (*Vetiveria zizanioides*) in an Experimental Model of Epilepsy Induced with Pentylentetrazole in Rats

Epilepsy is a common and serious neurological disorder with a prevalence of 1% worldwide. Vetiver plant is known to be antioxidant and antiepileptic. In our study, we aimed to investigate possible damage to the blood, cerebral cortex and hippocampus of rats with epilepsy by the application of pentylentetrazole (PTZ) and the effects of vetiver oil.

Rats; divided into four groups as control, PTZ, VET-200 and VET-400. Control group rats were given 1 ml/kg saline solution orally for 7 days, saline solution equivalent to PTZ amount was given i.p. on the 8th day. PTZ group rats were given 1 ml/kg saline solution orally for 7 days, on the 8th day a single dose of PTZ was applied as 60 mg/kg i.p. Vetiver oil was given orally 200 mg/kg and 400 mg/kg for 7 days to rats in VET-200 and VET-400 groups, respectively, on the 8th day a single dose of PTZ was applied as 60 mg/kg i.p. Seizure latency times were recorded and scored. Then, EEG recordings were taken under anesthesia. The rats were decapitated and their cerebral cortex, hippocampus and blood samples were taken. Biochemical analyzes were performed in terms of TAS, TOS, and OSI. Brain and hippocampus tissues were examined histopathologically and immunohistochemically.

When the VET-200 and VET-400 groups were compared with the PTZ group in terms of latency times, a decrease was observed in the VET-200 group ($p<0.05$). Racini scoring of the animals in the VET-400 group was significantly lower than in the PTZ group, and the latency of the first epileptic spike (IES) according to the EEG findings was found to be significantly higher. The total number of epileptic spikes was significantly decreased in both VET-200 and VET-400 groups compared to the PTZ group ($p<0.05$).

While a significant increase was observed in TAS values in both the cerebral cortex and serum in the VET-200 group compared to the PTZ group, a significant increase was observed in the TAS value only in the serum of the rats in the VET-400 group. A significant decrease was observed in TOS and OSI values of both groups ($p<0.05$).

According to the PTZ group, in VET-200 and VET-400 groups; as a result of the histopathological examination of the cerebral cortex and hippocampus tissues, it was determined that the signs of damage decreased, immuno-expressions decreased in terms of cyclin B1, GABA_A receptor, Bcl-2, TUNEL positive cells, and beta-tubulin immuno-expressions increased ($p<0.001$).

As a result, it is seen that the values of both VET-200 and VET-400 groups tend to approach the control group. VET-400 was observed to be more effective in reducing the severity of the seizure and delaying the onset of the seizure.

Keywords: Epilepsy, *Vetiveria zizanioides*, GABA_A receptor, Pentylentetrazole

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
GRAFİKLER DİZİNİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Epilepsi.....	4
2.1.1. Epilepsi Etiyolojisi	4
2.1.2. Epilepsinin Sınıflandırılması ve Epilepsi Nöbet Tipleri	6
2.1.3. Epilepsi Fizyopatolojisi.....	10
2.1.3.1. Gama Amino Bütirik Asit Reseptörler.....	10
2.1.3.1.1. GABA _A Reseptörünün Subünitleri	13
2.1.3.2. Glutamat Reseptörleri	14
2.1.3.3. Apoptozis	16
2.1.3.4. Oksidatif Stres ve Epilepsi	18
2.2. Elektroensefalografi	20
2.3. Deneysel Epilepsi Modelleri	21
2.3.1. Pentilentetrazol Modeli	23
2.4. <i>Vetiveria zizanioides</i>	23
2.5. Hipotez	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	27
3.1. Gereçler	27
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	27
3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar.....	27
3.2. Yöntem	28

3.2.1. Vetiver Yağı	28
3.2.2. Deney Hayvanları	28
3.2.3. Çalışma Grupları	29
3.2.4. Deneysel PTZ Epilepsi Prosedürü	29
3.2.5. Nöbet Latansı ve Epileptik Nöbet Skorları	29
3.2.6. Deney Düzenegi	30
3.2.7. EEG Uygulama	30
3.2.8. EEG Kayıtlarının Değerlendirilmesi.....	31
3.2.9. Cerrahi İşlem.....	32
3.2.10. Biyokimyasal Analizler.....	33
3.2.10.1. Oksidatif Stres Parametreleri	33
3.2.10.1.1. Total Antioksidan Durum Analizi.....	33
3.2.10.1.2. Total Oksidan Durum Analizi.....	34
3.2.10.1.3. Oksidatif Stres İndeks Analizi	34
3.2.11. Histopatolojik Yöntem.....	34
3.2.12. İmmunohistokimya Metodu.....	36
3.2.12.1. TUNEL Boyaması (Fleuresan Tekniği)	37
3.2.13. İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR	38
4.1. Nöbet Latansı ve Epileptik Nöbet Skorları	38
4.2. Gruplara Ait EEG Kayıt Örnekleri	39
4.3. Gruplara Ait İlk Epileptik Spike'ın Gecikme Süresi	40
4.4. Grupların Toplam Epileptik Spike Sayısı	41
4.5. Biyokimyasal Bulgular.....	42
4.5.1. Serebral Kortekse Ait TAS, TOS ve OSİ Bulguları	42
4.5.2. Seruma ait TAS, TOS ve OSİ Bulguları	44
4.6. Histopatolojik Bulgular	45
4.7. İmmunohistokimyasal Bulgular	46
4.7.1. Siklin B1 İmmunohistokimya Bulguları	46
4.7.2. Beta Tubulin İmmunohistokimya Bulguları	47
4.7.3. GABA _A Reseptör İmmunohistokimya Bulguları.....	48
4.7.4. Bcl-2 İmmunohistokimya Bulguları	49
4.7.5. TUNEL İmmunofloresan Bulguları	51

5. TARTIŞMA	52
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	61
KAYNAKLAR	63
EKLER.....	75
Ek 1. Etik Kurul Kararı	75
Ek 2. Vetiver Yağı Analiz Raporu	76
ÖZGEÇMİŞ.....	79



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. ILAE 1989 Nöbet Sınıflandırması	7
Tablo 2.2. ILAE 2017 Nöbet Tipleri Sınıflandırması Genişletilmiş Versiyon	9
Tablo 2.3. Seçili GABA _A Reseptör Alt Birimlerinin Rollerini	14
Tablo 2.4. Deneysel Epilepsi Hayvan Modelleri ve Modelin Oluşturulmasında Kullanılan Yöntem.....	22
Tablo 3.1. Deney Grupları.....	29
Tablo 3.2. Nöbetlerin Skorlaması.....	29
Tablo 4.1. Grupların Latans Süreleri	38
Tablo 4.2. Grupların İES Gecikme Sürelerinin Ortalama±Standart Hata Değerleri .	40
Tablo 4.3. Grupların Toplam Epileptik Spike Sayısı	42
Tablo 4.4. Serebral Korteks Dokusunun Oksidatif Stres Belirteçleri	43
Tablo 4.5. Seruma Ait Oksidatif Stres Belirteçleri	44
Tablo 4.6. Hipokampus Ait İmmunohistokimyasal Skorların İstatistiksel Analiz Sonuçları	50
Tablo 4.7. Serebral Kortekse Ait İmmunohistokimyasal Skorların İstatistiksel Analiz Sonuçları.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. GABA _A Reseptör Kompleksinin Elektron Mikroskop Görüntüsü	12
Şekil 2.2. GABA _A Reseptör Kompleksinin Şematik Gösterimi	12
Şekil 2.3. Bilinen GABA _A Reseptör Alt Birimlerini Gruplandıran Dendrogram.	13
Şekil 2.4. Santral Sinir Sisteminde İfade Edilen GABA _A Reseptörleri.	13
Şekil 4.1. Kontrol Grubu ve Deney Gruplarına Ait 20 Dakikada Elde Edilen EEG Kayıt Örnekleri.....	40



RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 2.1. <i>Vetiveria zizanioides</i> Bitkisi	24
Resim 2.2. <i>Vetiveria zizanioides</i> Bitkisinin Kökleri.....	24
Resim 3.1. EEG Çekimi Sırasında Elektrot Yerleştirilmiş Sıçan Örneği.....	31
Resim 3.2. LabChart 7.3.8 Yazılımın Özellikleri Aracıyla Epileptik Spike Sürelerinin Hesaplanması.....	32
Resim 4.1. Gruplara Göre Hipokampusların Histopatolojik Görünümü.	45
Resim 4.2. Gruplara Göre Serebral Kortekslerinin Histopatolojik Görünümü.	45
Resim 4.3. Gruplara Göre Hipokampus Örneklerinin Siklin B1 Ekspresyonlarının Mikroskopik Görünümü.	46
Resim 4.4. Gruplara Göre Serebral Kortekslerinin Siklin B1 Ekspresyonlarının Mikroskopik Görünümü.	46
Resim 4.5. Gruplara Göre Hipokampuslarda Beta Tubulin İmmunohistokimyasal Reaksiyonlarının Mikroskopik Görünümü.	47
Resim 4.6. Gruplara Göre Serebral Kortekslerinde Beta Tubulin İmmunohistokimyasal Reaksiyonlarının Mikroskopik Görünümü.	47
Resim 4.7. Grupların Hipokampuslarının GABA _A Reseptör İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Görünümü.	48
Resim 4.8. Grupların Serebral Kortekslerinin GABA _A Reseptör İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Görünümü.	48
Resim 4.9. Gruplara Göre Hipokampuslarının Bcl-2 İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Görünümü.	49
Resim 4.10. Grupların Serebral Korteksinde Bcl-2 İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Grünümü.....	50
Resim 4.11. Grupların Hipokampuslarının TUNEL Reaksiyonunun İmmunofloresans Bulgularının Görünümü.	51
Resim 4.12. Grupların Serebral Kortekslerinin TUNEL Reaksiyonunun İmmunofloresans Bulgularının Görünümü.	51

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa

Grafik 4.1. Deney Gruplarına Ait Nöbet Skorları	39
Grafik 4.2. Grupların İES Gecikme Sürelerinin Ortalama $\pm$ Standart Hata Değerleri	41
Grafik 4.3. Grupların Toplam Epileptik Spike Sayısı.....	42



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABTS	: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)
AEİ	: Antiepileptik ilaç
AMPA	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol- 4-propionik asit
ATP	: Adenozin trifosfat
Bcl-2	: B-hücreli lenfoma geni-2
Ca²⁺	: Kalsiyum iyonu
CDI	: Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri
Cdk	: Siklin bağımlı kinazlar
Cl⁻	: Klor iyonu
DAB	: 3,3 diaminobenzidine
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EEG	: Elektroensefalografi
GABA	: Gama aminobütirik asit
HE	: Hematoksilen-eozin
HIV	: İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
ILAE	: International League Against Epilepsy (Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği)
İES	: İlk epileptik spike
İPSP	: İnhibitör postsinaptik potansiyel
iGluR	: İyon kapılı glutamat reseptörleri
i.p.	: İntraperitoneal
K⁺	: Potasyum iyonu
MES	: Maksimal elektroşok
mGluR	: Metabotropik glutamat reseptörleri
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
Na⁺	: Sodyum iyonu
NaCl	: Sodyum klorür
NMDA	: N-metil-D-aspartik asit
O₂⁻	: Oksijen iyonu

OH	: Hidroksil radikali
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PBS	: Fosfat tampon solüsyonu
PTZ	: Pentilentetrazol
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SH	: Standart hata
SOD	: Süperoksit dismutaz
SS	: Standart sapma
SSS	: Santral sinir sistemi
TAS	: Total antioksidan durum
TdT	: Terminal deoksinükleotid transferaz
TLE	: Temporal lop epilepsi
TOS	: Total oksidan durum
TUBB3	: Tubulin β -III
TUNEL	: (Terminal deoksinükleotidil transferaz (Tdt) – aracılı deoksiuridin trifosfat (dUTP) - biotin nick end-labelling) In situ DNA fragmentasyon analizi

1. GİRİŞ

Nörodejeneratif bozukluklar, seçici nöronal kayıp ile karakterize olan, kademeli olarak başlayıp ileride kronikleşerek işlevsel bozulma ile sonuçlanan bozukluklardır (1). Epilepsi en sık görülen nörolojik bozukluklardan biridir (2).

Epilepsi, beyin hasarından kaynaklanan tekrarlayan, uyarılmamış nöbetlerin olduğu bir durumdur ve çoklu nedenlere bağlıdır. Nöbetler, anormal, senkronize nöronal aktivite gösterirler. Bazı türlerinde, nöbet sırasında veya nöbetler arasında karakteristik elektroensefalogram (EEG) kalıpları oluşur, bununla birlikte anormallikleri göstermek oldukça zordur (3). Nöbet oluşumuna neden olan yaygın sebepler; hipoglisemi, hipokalsemi, hiponatremi gibi metabolik anormallikler, akut nörolojik hasara neden olan inme, menenjit, kafa travması gibi durumlar, nöbet eşliğini düşüren bazı ilaçlar, alkol yoksunluğu ve çocuklarda yüksek ateştir (4).

Epilepsi için tercih edilen tedavi, antiepileptik ilaç (AEİ) tedavisidir. Yaklaşık %70 epilepsi hastasında, mevcut bulunan antiepileptik ilaçları kullanarak hastalık belirtileri uzun süreli sönebiliyorken (remisyon) (5), geri kalan yaklaşık %30'luk kısım olan ilaca dirençli nöbetlere sahip hastalarda ise bu ilaçlar etkisini gösterememektedir (6). Ayrıca AEİ'ler gastrointestinal rahatsızlıklar, uyuşukluk, kızarıklıklar ve nadir fakat potansiyel ölümcül olan antikonvülsan hipersensitivite sendromu gibi birçok yan etki ile ilişkilidir (7). Bu nedenle epilepsi için hala yeni tedavilere ihtiyaç vardır.

Oksidatif stres, hücrel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı ile onları detoksifiye eden antioksidanların yetersizliği sonucu oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanmaktadır (8). Oksidatif stresin epilepsi patofizyolojisine dahil edilebileceği, pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan deneysel epilepsi modelleriyle gösterilmiştir (9).

Vetiver bitkisi (*Vetiveria zizanioides* (L) Nash), Hindistan'da "khus", "khas", "khas-khas" olarak bilinen ve kalın lifli kökleri olan Poaceae familyasından çok yıllık otsu bir bitkidir (10). Vetiver bitkisi Hindistan'da eski çağlardan beri kullanılmakta ve Ayurveda bilimi (geleneksel tedavi) alanında tıbbi bir bitki olarak

bilinmektedir. Birkaç yüzyıldır kökleri damıtılarak oluşturulan kokulu yağ için ticari olarak yetiştirilmektedir (11). Bitkinin farklı kısımları stres, anksiyete, sinirlilik, gerginlik ve uyku hastalıkları, ağız ülseri, ateş, yanma, yılan ısırması, akrep sokması, romatizma, baş ağrısı, güçsüzlük, burkulma, sıtma, asit ve idrar yolu enfeksiyonu tedavisinde kullanılır. Ayrıca insanlarda çeşitli mantar ve bakteri hastalıklarına ve epilepsiye karşı etkili olduğu bilinmektedir (12, 13). Ancak antikonvulsan etkisi ve antioksidan özelliğiyle ilgili veriler azdır.

Vetiver bitkisinin antioksidan etkisinden yararlanılarak serebral korteks ve hipokampustaki nörodejenerasyon üzerine etkileri araştırılacak, vetiverin nörodejenerasyon üzerindeki etkilerinin ortaya çıkarılması epilepsi için alternatif tedavilere katkı sağlayacaktır. Bu çalışmaya başlamadan önce literatür taraması yapılmış ve vetiver bitkisinin epilepsi nöbetinin süresini azalttığı ile ilgili oldukça kısıtlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Bu nedenle vetiver bitkisinin epilepsi üzerine etkilerinin araştırılması literatüre önemli katkı sağlayacaktır.

PTZ deneysel epilepsi modellerinin oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan sistemik konvulsif bir maddedir (14, 15). Etki mekanizması direkt eksitator olmasının yanı sıra (16), Gama aminobütirik asit (GABA_A) reseptör antagonistidir (16, 17). PTZ, GABA_A reseptörünün klorid iyonofor kompleksinin seçici bir engelleyicisidir (18) ve kullanılan doza, uygulanan dozun veriliş şekline bağlı olarak klonik ya da tonik-klonik konvulsiyonlar oluşturur (14, 15). PTZ tek doz ve tekrarlayan dozlar şeklinde verilebilmektedir. Tekrarlayan dozların enjeksiyonu, tek doz uygulamasına kıyasla beyin bölgelerinde hafif oranda yıkıma yol açmaktadır (19).

Yukarıdaki bilgiler kapsamında bu çalışmada; tek doz PTZ uygulanması ile deneysel epilepsi modeli oluşturulan sıçanlarda nöbet şiddetini, ilk epileptik spike süresini, epileptojenik kortekslerinden elde edilecek beyin dalgalarını gözlemlemek ve deneysel epilepsi modelinde ilk defa kullanılacak olan vetiver yağının olası değişimler üzerine etkisinin olup olmadığının aydınlatılması amaçlanmıştır. Bunların yanı sıra tez kapsamında; sıçanların serum, beyin korteksi, hipokampus dokularında total antioksidan durum (TAS), total oksidan durum (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ), GABA_A reseptörü, apoptozis parametrelerindeki olası değişikliklerin

mekanizması ve vetiver yağının bu değişiklikler üzerine etkisinin açıklanması hedeflenmiştir.

Literatür araştırması sonucunda; PTZ ile deneysel epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanların serum ve serebral korteks dokularında oksidatif stres, GABA_A reseptörü, apoptozis ve nöbetlere bağlı nöronal ölümler açısından vetiver yağının olası etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanamamıştır. Mevcut literatürler ışığında bu konunun tarafımızdan ilk defa araştırılacak olması bu tez çalışmasının özgünlüğünü yansıtmaktadır. Bu bağlamda bu çalışmada; PTZ ile epilepsi oluşturulmuş sıçanların serum, serebral korteks ve hipokampus dokusunda oksidan, antioksidan sistem, GABA_A reseptörü, apoptozis parametrelerindeki değişiklikler ve EEG kayıtları sunulmuştur. Ayrıca vetiver yağının bu parametreler üzerine ve nöbetlere bağlı nöronal ölümlerin önlenmesindeki antikonvulzif etkinliğini ortaya koyan sonuçlar da sunulmuştur ve epilepsi hastalığı ile mücadelede bu alanda yapılacak destekleyici çalışmaların ışığında vetiver yağının tedavi sürecinde rol oynayabileceği konusunda yeni katkılar önerilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Epilepsi, beyinde anormal elektriksel aktiviteden kaynaklanan, tekrarlayan spontan nöbetler ile karakterize (20), felçten sonra en sık görülen nörodejeneratif hastalıktır (21). Ayrıca epilepsi kognitif, psikolojik ve sosyal durumun sonuçları ile sürekli bir epileptik nöbet oluşturmaya yatkınlığı olan nörobiyolojik bozukluktur (22). Epileptik nöbeti Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği (International League Against Epilepsy-ILAE) “beyindeki anormal aşırı veya senkron nöronal deşarjlardan kaynaklanan, geçici semptomlar” olarak tanımlamaktadır (23). Nöbet sıklığı, epilepsi hastası kişinin baş etme davranışlarını etkileyerek yaşam kalitesini düşürmektedir (24). Modern epilepsi dönemi 1870’lerin sonunda Jackson’ın kapsamlı incelemeleri sonucunda nöroanatomik temeli oluşturmuştur (25). EEG’nin 1930’larda tanıtılmasından bu yana, temel nörofizyolojisinin anlaşılması büyük ölçüde genişlemiştir (26).

Epilepsinin yaklaşık %65’lik kısmının nedeni bilinmemektedir. Geri kalan kısmına ise konjenital anomaliler, travma, enfeksiyon, neoplastik, vasküler ve dejeneratif santral sinir sistemi hastalıkları gibi durumlar neden olarak sıralanabilir (23). Ayrıca epilepsi dünyada %1 prevalansa sahip olduğu bilinen ve yaklaşık 60 milyon kişiyi etkileyen, yaygın ve ciddi nörolojik bir bozukluktur (27, 28). Epilepsi insidansının çocukluk çağında ve yaşlılıkta en yüksek seviyedeysen, erken erişkinlikte daha düşük seviyede olduğu gözlenmiştir (29). Epilepsili insanlarda mortalite oranı genel popülasyondan 2-3 kat yüksek ve ani ölüm riski 24 kat daha büyüktür (30). Epidemiyolojik çalışmalara bakıldığında, epilepsinin yaygın olarak görüldüğü, etnik farklılık, cinsiyet ayrımı ve yaş sınırı tanımadığını göstermektedir (31, 32).

2.1.1. Epilepsi Etiyolojisi

Konjenital Bozukluklar: Kortikal disgenezis, korpus kallosum agenezisi, Gyrus anomalileri gibi çeşitli konjenital malformasyonlar epilepsiye neden olabilmektedir.

Kafa Travmaları: Doğum sırasında geçirilen travmalar ve her yaşta görülebilen kafa travmaları epilepsi etiyolojisi yönünden önemlidir. Özellikle ağır kafa travmaları ve bunlara bağlı fraktürler, hematomlar önemlidir (33).

Enfeksiyonlar: Çeşitli enfeksiyonlar akut semptomatik nöbete neden olarak veya kronik dönemde epilepsi hastalığının etiyolojik nedenleri olarak karşımıza çıkabilirler. Bakteriyel veya viral menenjit/meningoensefalit, serebral toksoplazma, sitomegalovirüs enfeksiyonu, tüberküloz menenjit/meningoensefalit, nörosistiserkoz, insan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV), zika virüs, subakut sklerozan panensefalit bu grubun iyi bilinen örnekleridir. Enfeksiyonla ilişkili durumlara yapısal lezyonlar da eşlik edebilir.

Genetik: Kromozom veya gen anomalilerine bağlı oluşabilir. Günümüze kadar, epilepsi hastalığına neden olan birçok gen anomalisi tanımlanmıştır. Bunlardan en önemlileri, sodyum (Na^+), kalsiyum (Ca^{2+}), potasyum (K^+) kanalları, nikotinik, GABA ve glutamat reseptörleri ile ilişkili genetik bozukluklardır. Genetik etiyoloji aile öyküsü ve genetik inceleme ile tespit edilir (34).

Kitle Lezyonları: Beynin primer ve metastaz yapan tümörleri, kistler, abseler; bulundukları yer, türü ve büyüklüğüne bağlı olarak epilepsiye neden olabilirler.

Metabolik Bozukluklar: Hiperglisemi, hipoglisemi, hiponatremi gibi elektrolit bozuklukları, hepatik ensefalopati.

Toksik Durumlar: Kurşun, talyum, alkol, karbonmonoksit ve çeşitli ilaç entoksikasyonları.

Vasküler Lezyonlar: Arter-ven yapısının bozulması, genç yaşta görülen serebrovasküler hastalıklar (enfarkt veya kanamalar), anevrizmalar.

Dejeneratif ve Demiyelinize Hastalıklar: Çocukluk çağında epilepsi nöbeti geçirenlerde önemlidir.

Sistemik Hastalıklar: Malign hipertansiyon.

Santral Sinir Sisteminde İnhibisyon Yapan Maddelerin Aniden Kesilmesi: Morfin, hipnotik ilaçlar, alkol vb.

Ayrıca bunların dışında nöroleptikler, yüksek doz fenotiazinler, trisiklik antidepresanlar epilepsi etiyolojisinde rol almaktadırlar (33).

2.1.2. Epilepsinin Sınıflandırılması ve Epilepsi Nöbet Tipleri

Sınıflamalar, hem sağlık çalışanlarının birbirleriyle hem de sağlık çalışanlarıyla epilepsi hastası arasında ortak bir dil oluşturmak, bununla birlikte epilepsi tanısının konmasına kolaylık sağlamak için gereklidir. Epilepsinin nöbet özellikleriyle hastalığın altında yatan mekanizmalar her zaman için ilişkili olmayabilir. Bu nedenle hem nöbet sınıflaması hem de epilepsinin kendisinin sınıflandırılması yapılmaya çalışılmaktadır. Nöbet sınıflaması, klinik olarak nöbet semiyolojisinin gözlemine dayanırken, epilepsilerin sınıflaması nöbetlerin görüldüğü başlangıç yaşı, nörogörüntüleme bulguları, genetik, nöbete sebep olan nedenler ve prognoz gibi birçok veri ışığında yapılabilir. ILAE 1981 yılında epilepsi nöbetlerini sınıflandırmıştır. 1989 yılında da epilepsiler ve epilepsi sendromları için bir sınıflama ve terminolojiyi standardize etmiştir. Tanımlama ve sınıflamalar dinamik bir süreç olarak kabul edilmiş, ILAE günümüze kadar sınıflamaya devam etmektedir. Bu dinamik sürecin sınıflamaları kolaylaştıracağına inanılmaktadır (35).

ILAE 1989 yılında epilepsi ve epileptik sendromları; etiyoloji, nöbet tipi, başlangıç yaşı, nöbeti uyaran faktörler, tedavi seçimi gibi faktörleri de kapsayacak şekilde sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırma iki ana gruptan oluşmaktadır; ilk gruptaki epileptik sendromlar jeneralize epilepsileri, diğer grupta ise lokalizasyonla ilişkili epilepsileri içermektedir.

Gerek jeneralize gerekse lokalizasyonla ilişkili epilepsiler kendi içlerinde bir nedene bağlı olarak idiyopatik (primer), semptomatik (sekonder) ve kriptojenik olarak ayrılırlar. İdiyopatik epilepsilerde herediter yatkınlık dışında altta yatan herhangi bir patolojik süreç yoktur. Semptomatik epilepsilerin ise bilinen veya şüphelenilen bir merkezi sinir sistemi bozukluğuna bağlı olarak geliştiği kabul edilir. Kriptojenik epilepsi ise semptomatik olduğu düşünüldüğü halde sebebi bulunamayan epilepsilerdir (36).

Epilepsi nöbeti santral sinir sisteminde nöron popülasyonunun bozuk, senkron ve ritmik deşarjlarına bağlı geçici davranış değişiklikleri olarak

tanımlanmaktadır (20, 37). Klinik bilgiler ve elektroensefalografi değişikliklerine göre ILAE 1989 yılında epileptik nöbetlerdeki farklılıkları, nöbet tipini, nöbeti uyaran faktörleri, etiyolojik faktörleri, yaş faktörünü ve EEG bulgularını göz önünde bulundurarak epileptik sendromlar için bir sınıflandırma yapmıştır. Bu sınıflandırma; parsiyel nöbetler, jeneralize nöbetler ve sınıflandırılmayan nöbetler olarak üçe ayrılırlar (38).

Tablo 2.1. ILAE 1989 Nöbet Sınıflandırması (36).

Parsiyel Nöbetler (Lokal, Fokal)			Jeneralize Nöbetler	Sınıflandırılmayan Nöbetler
Basit Parsiyel Nöbetler	Kompleks Parsiyel Nöbetler	Sekonder Jeneralize Parsiyel Nöbetler	-Absans nöbetler (Petit - mal) -Miyoklonik nöbetler -Klonik nöbetler -Tonik nöbetler -Tonik-klonik nöbetler (Grand- mal) -Atonik nöbetler	-Febril nöbetler -Status epileptikus -Akut metabolik ya da toksik nedenlere bağlı nöbetler
-Motor semptomlu -Somatosensoriyel veya özel duyuşsal semptomlu -Otonomik semptom veya bulguları olan nöbetler -Pşşik semptomlu	-Basit parsiyel başlangıcı bilinç bulanıklığının izlediğı nöbet -Başlangıçtan itibaren bilinç bulanıklığı olan nöbet	-Basit parsiyel şeklinde başlayıp jeneralize olan nöbetler -Kompleks parsiyel şeklinde başlayıp jeneralize olan nöbetler -Basit parsiyel şeklinde başlayıp, kompleks parsiyele dönüşüp jeneralize olan nöbetler		

I. Parsiyel (Lokal, Fokal) Nöbetler: Bir serebral hemisferin belirli bir bölgesindeki nöronların deşarjları sonucu ortaya çıkan, klinik ve EEG bulgusu anatomik olarak bulunduğı bölgeyle ilgili olan nöbetlerdir. Bu nöbet tipi nöbet sırasında bilinç kaybı olup olmamasına göre ikiye ayrılır.

A. Basit Parsiyel Nöbetler: Ağız kenarında ya da el ve ayak başparmağında istemsiz hareket şeklinde başlar. Bu istemsiz hareketler sonra yüze, kola ve bacağı yayılır. Bilinç kaybı görülmez.

B. Kompleks Parsiyel Nöbetler: Nöbetlerin çoğu temporal lob kökenli, daha seyrek olarak da frontal lob kaynaklı olabilirler. Kompleks parsiyel nöbetlerin süresi 30 saniye ile birkaç dakika arasında değişebilmektedir. Hastada psikomotor otomatizm denilen bilinç bulanıklığında (konfüzyon) ortaya çıkan az veya çok koordineli istemsiz hareketlerdir. Otomatik hareketler sırasında hasta ayakta durmaya veya yürümeye devam edebilir. Ayrıca postural fonksiyonlar genellikle iyi korunmuştur ve hastada kaybı vardır (33, 39, 40).

C. Sekonder Jeneralize Parsiyel Nöbetler: Sekonder jeneralize nöbetler fokal olarak anormal olan bir beyin bölgesinden kaynaklanır (38).

II. Jeneralize Nöbetler: Epileptik deşarjlar beynin her iki hemisferinden eş zamanlı kaynaklanan tüm beyine yayılan nöbetlerdir.

A. Absans Nöbetler: Aniden nöbet başlar ve yapılmakta olan aktivite aniden durur, gözler kayabilir, hasta boş bakışlarla hayale dalmış görünür, postural tonus korunduğundan düşme olmaz. Kompleks parsiyel nöbetler gibi bu nöbet tipinde de kısa süreli nöbetler görülür ve kısa süreli biliş kaybı vardır.

B. Miyoklonik Nöbetler: Kasların istem dışı, hızlı ve ani kasılmaları söz konusudur. Aslında normal kişilerde de uykuya dalarken ortaya çıkan sızramalarla veya ani ses ya da ışık uyararı ile bir tür miyoklonik kasılmalar görülür. Kol ve bacaklarda özellikle kollarda çok kısa süreli, ani ekstansiyon veya fleksiyon şeklinde kasılmalarla kendini gösteren nöbetlerdir.

C. Klonik Nöbetler: Vücutta bilateral ekstremitelerde fokal kasılmalar ve ritmik sızramaların olduğu nöbetlerdir. Genellikle genç çocuklarda görülür.

D. Tonik Nöbetler: Hastanın bütün ekstremitelerinde sertleşme görülür ve gözleri genellikle yukarı doğru kayar. Uykuda ortaya çıkabileceği gibi uyanıklıkta da görülebilen nöbetlerdir. Hastada siyanoz görülebilir.

E. Tonik-Klonik Nöbetler: Klasik sınıflandırmada grand-mal epilepsi olarak adlandırılmaktadır. Bu tür nöbetlerde hasta konvulsiyon geçirir. En çok bilinen ve en ağır nöbet tipidir. Nöbetlerden önce hastada sinirlilik hali, baş ağrısı ve baş dönmesi, istemsiz kas seğirmesi gibi belirtiler görülebilir. Nöbetlerin başlangıcında tüm iskelet kaslarının ani kasılması sonucu düşme görülebilir. Bazı hastalar çılgın atar, çoğu kez

dişlerini sıkır, dudağını ve dilini ısırabilir, apne görülebilir. Tonik fazı takiben yaklaşık bir dakika süren klonik faz başlar. İstemsiz çekilme hareketleri, ağızda hipersalivasyon görülebilir veya ağızdan köpük gelebilir. Daha sonra tüm kaslarda atoni gelişir. Hasta idrarını kaçırabilir bazen de nadiren gaitasını kaçırabilir. Klonik kasılmaların bitmesinden sonra hasta derin bir uykuya dalabilir. Yumuşak doku zedelenmesi olabilir.

F. Atonik Nöbetler: Alt ekstremitelerde ani tonus kaybı sebebiyle hastada düşmeler görülür (33, 39, 40).

III. Sınıflandırılmayan Nöbetler: Elektriksel aktivite beynin her tarafına yayılırken basit parsiyel nöbetten, kompleks parsiyel nöbete ya da sekonder jeneralize tonik-klonik nöbete tipik olarak gelişirken normal EEG kayıtları beraberinde seyredebilir (38).

ILAE nöbet sınıflaması eski sınıflamada eksiklikler olduğu düşünülerek en son 2017 yılında revize etmiştir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. ILAE 2017 Nöbet Tipleri Sınıflandırması Genişletilmiş Versiyon (41).

Fokal Başlangıç		Jeneralize Başlangıç	Bilinmeyen Başlangıç	Sınıflandırılmamış
Bilinçli	Bilinç bozulmuş	Motor	Motor	
Motor başlangıçlı		Tonik-klonik	Tonik-klonik	
Otomatizmler		Tonik	Epileptik spazmlar	
Atonik		Klonik		
Klonik		Miyoklonik-tonik-klonik		
Epileptik spazmlar		Miyoklonik-tonik-klonik		
Hiperkinetik		Miyoklonik-atonik		
Miyoklonik		Epileptik spazmlar		
Tonik				
Non-motor başlangıçlı		Non-motor (absans)	Non-motor	
Otonomik		Tipik	Davranışta duraksama	
Davranışta duraksama		Atipik		
Bilişsel		Miyoklonik		
Duygusal		Göz kapağı		
Duyusal		miyoklonusu		
Fokal-bilateral tonik-klonik				

2.1.3. Epilepsi Fizyopatolojisi

Tüm epilepsi nöbetlerinde aynı mekanizmadan söz edilmemekle birlikte artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronite gibi ortak özellikler hepsinde görülmektedir. Epileptojenik odak adı verilen beyin bölgelerindeki hücreler tam açıklanamayan nedenlerle anormal ateşlenme ve artmış uyarılma özelliği göstererek etraflarındaki normal hücreleri de dahil ederler (42).

Epilepsiyi oluşturan gliosisli hücrelerde, ekstraselüler potasyum iyonlarını tamponlama yetenekleri bozulur ve bunun neticesinde ekstraselüler potasyum iyon artışına sebep olarak nöronların uyarılabilme eşiğinin düşmesine ve buna bağlı epilepsi nöbetlerinin oluşmasına yol açar. Ayrıca epileptojenik odakta $Na^+K^+/ATPaz$ aktivitesinin azalması sebebiyle ekstraselüler potasyum iyon konsantrasyonu artar. Böylece nöronlar uyarılarak, deşarjların oluşması ve yayılması kolaylaşır.

Fizyopatolojide gliaların (özellikle astrositlerin) fonksiyonunda bozulma, glutamat gibi eksitator aminoasitlerin miktarında yükselme, GABA gibi inhibitör aminoasitlerde azalma olmak üzere 3 mekanizma önemlidir. Bu olaylar sonucunda nöronların membran potansiyelleri bozulmakta, böylece nöronlar normalden daha kolay depolarize olmakta yani nöronların deşarj ve uyarılma eşikleri düşmektedir (40).

2.1.3.1. Gama Amino Bütirik Asit Reseptörler

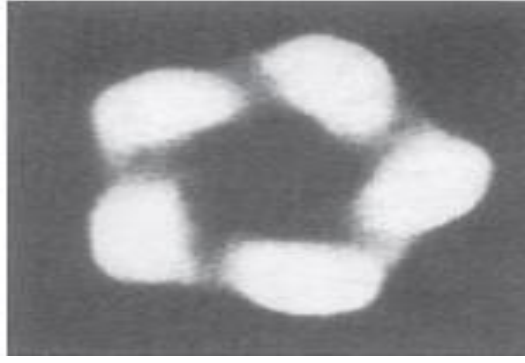
GABA presinaptik nöronlarda sentezlenir ve sinaptik veziküllerde saklanır. GABA sentezini teşvik eden bir enzim olan L-glutamik asit dekarboksilaz aktivitesi ile modüle edilir (43). Nöronal aktivasyon üzerine, GABA veziküllerden sinaps içine salınır, burada postsinaptik reseptörler üzerinde hareket edebilir veya hücre dışı boşluğa yayılabilir ve postsinaptik nöronlarda ekstrasinaptik reseptörleri aktive edebilir. GABA daha sonra postsinaptik GABA reseptörlerinden uzak hücrelere GABA alan presinaptik nöronlar ve glia üzerinde bulunan GABA taşıyıcıları tarafından hücre dışı boşluktan çıkarılır (44, 45). Hücre dışı GABA seviyeleri, GABA taşıyıcıları tarafından presinaptik veziküllerden GABA salınımı ve GABA alımı arasındaki denge ile düzenlenir (45). Glutamat ve GABA, santral sinir sisteminde (SSS) en fazla bulunan nörotransmitterlerdir (46). Eksitator glutamaterjik

ve inhibitör GABAerjik nöronlar arasındaki denge geçici nöron senkronizasyonunu kontrol eder. Epilepside bu denge bozulur. Bu dengenin değişimine neden olan mekanizmayı anlama, epilepsiye çare bulmak için en önemli kilit noktalardan biridir (47).

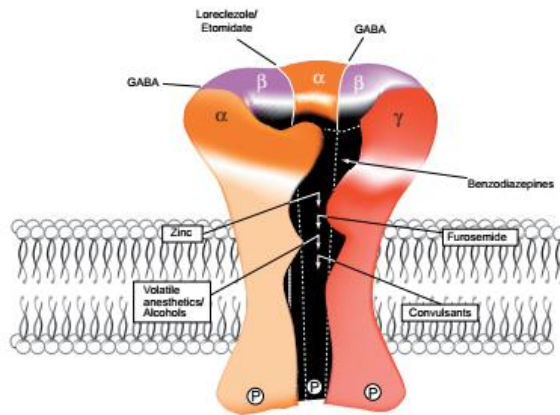
GABA, SSS'inde sinaptik inhibisyonun büyük bir bölümünü oluşturan nörotransmitterdir. Sinaptik inhibisyonun serebral kortekste dikkatlice ayarlanması son derece önemlidir. Çok az baskılama nöbete yol açmaktayken, aşırı baskılama bilinç kaybına ve komaya neden olmaktadır (48). GABA beynin tüm alanlarında nöronal aktivitenin uyarılabilirliğini sınırlar. Aşırı GABAerjik sinyalizasyon sedasyon, amnezi ve ataksi ile sonuçlanırken, GABAerjik sinyalleme en hafif zayıflaması uyarılma, kaygı, huzursuzluk, uykusuzluk ve abartılı reaktiviteye neden olur (49).

Üç tip GABA reseptörü tanımlanmıştır. Bunlar; GABA_A, GABA_B ve GABA_C reseptörleridir. GABA_A ve GABA_C reseptörleri iyonotropik, GABA_B reseptörleri ise metabotropiktir. İyonotropik reseptörler, iyon kanallarını doğrudan açarlarken, metabotropik reseptörler iyon kanalları üzerinde indirekt etki gösterirler.

GABA_A reseptörleri bikukulin tarafından inhibe olan ve muskimol tarafından aktive edilen ligand kapılı klor (Cl⁻) kanallarıdır. GABA_A reseptörleri serebral korteks, bazal gangliyonlar, hipokampus, serebellum ve omurilikteki nöronlarda bol miktarda bulunur. GABA_A reseptörleri genelde nöronların hücre gövdesinde ve dentritlerinde yerleşik olarak bulunur. GABA_A reseptörleri, GABA ile uyarıldıklarında inhibitör postsinaptik potansiyellerin (İPSP) ortaya çıkmasına neden olurlar. GABA salınımı, klorun intraselüler kısma geçişinde artışa neden olur ve bunun sonucunda postsinaptik bölgede hiperpolarizasyona neden olarak sinaptik inhibisyonun ortaya çıkmasını sağlar. GABA_A reseptör sayısı ile inhibe edici sinaptik akımın gücü doğrudan ilişkilidir. Yani reseptör sayısı fazlaysa inhibisyon o kadar kuvvetlidir (46). GABA_A iletimindeki azalmanın in vitro çalışmalarda memeli neokorteksinde epileptik belirtilere sebep olduğu ve epilepsi nöbetlerinin gelişimi sırasında GABA_A reseptörlerinin aşırı eksprese olduğu bulunmuştur (50).



Şekil 2.1. GABA_A Reseptör Kompleksinin Elektron Mikroskop Görüntüsü (51).



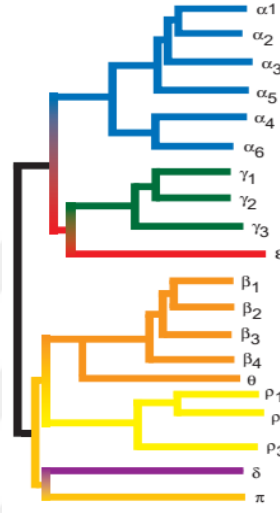
Şekil 2.2. GABA_A Reseptör Kompleksinin Şematik Gösterimi (52).

GABA_B reseptörleri metabotropik G proteinine bağlıdır. Saklofen tarafından inhibe, baklofen tarafından ise aktive edilirler. GABA_B reseptörleri, daha çok akson ve soma terminallerinde bulunurlar. GABA_B ikinci haberci mekanizmasını kullanırlar ve çoğunlukla K⁺ kanallarını açarak hücrenin hiperpolarizasyonuna (46) ve Ca²⁺ kanallarının baskılanmasına neden olurlar (48). GABA_B reseptörlerinin epilepsi ve epileptik nöbetlerdeki rolü netlik kazanmamıştır. Bu reseptörler primer jeneralize epilepsiler ile ilişkilendirilmiştir ancak fokal epilepsilerle ilişkileri hala tartışmalıdır (50).

GABA_C reseptörleri, GABA_A reseptörleri gibi ligand kapılı Cl⁻ kanallarıdır. En çok retinada bulunduğu bilinmekte buna ek olarak, hipofiz, superior kollikulus, serebellum ve omurilikte de gösterilmiştir. GABA_C reseptörleri, 2 α , 2 β ve 2 γ alt ünitelerinden oluşmaktadır. GABA bu alt ünitelerden herhangi birine bağlanabilmektedir (46). Fakat GABA_C reseptörlerine beyinde nadiren rastlanır (48).

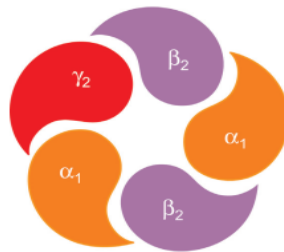
2.1.3.1.1. GABA_A Reseptörünün Subünitleri

Fonksiyonel GABA_A reseptörlerinin yüksek düzeyde heterojenliği vardır. GABA_A reseptörleri, farklı genler tarafından kodlanan en az 19 farklı alt birimin bir araya gelmesiyle oluşur. Bu alt birimler α , β , γ , δ , ϵ ve σ alt birimleri olarak gruplandırılır, dizi homolojisine göre; δ , ϵ ve σ alt birimleri daha az yaygın ve işlevleri henüz tam olarak belirlenmemiştir.



Şekil 2.3. Bilinen GABA_A Reseptör Alt Birimlerini Gruplandıran Dendrogram (49).

GABA_A reseptör alt birimleri, 2 α , 2 β ve 1 γ alt birimlerinin genel stokiyometrisi ile sınırlı sayıda pentamerik reseptöre monte edilir. İmmünohistokimya verileri, dağılımlarında farklılıklar olsa da, beyindeki GABA_A reseptör alt birimlerinin α 1, β 1, β 2, β 3 ve γ 2'nin yüksek ekspresyonu olduğunu göstermektedir (53). En yaygın olarak ifade edilen alt üniteler α 1 ve γ 2 alt birimleridir ve bu alt üniteler bu nedenle yüksek oranda GABA_A reseptörlerinin bileşenleridir.



Şekil 2.4. Santral Sinir Sisteminde İfade Edilen GABA_A Reseptörleri (49).

α 2, α 3, α 4, α 5, α 6 alt birimleri genellikle üst üste gelmeyen daha sınırlı dağılımlara sahiptir. Örneğin, α 5 alt birimleri, koku alma ampulünde, hipotalamusta

ve hipokampuste oldukça lokalizedir (53). $\alpha 4$ alt birimleri ise talamus, hipokampus, koku tüberkülü ve bazal gangliyonlarda yoğunlaşmıştır. δ alt biriminin dağılımı, talamus, striatum, korteksin dış katmanları ve hipokampustaki $\alpha 4$ alt birimlerine paraleldir. Alt birim dağılımındaki benzer bulgular, farklı GABA_A reseptör alt birimlerini kodlayan mesajcı ribonükleik asitin (mRNA) ifade düzeylerini ölçmek için in situ hibridizasyon kullanılarak gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Seçili GABA_A Reseptör Alt Birimlerinin Roller (49).

Benzodiazepinlerin etkisi	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\alpha 3$	$\alpha 5$	$\gamma 2$	$\beta 2$	$\beta 3$	δ
Sedasyon	+	-	-	-		+		
Anksiyoliz	-	+	-/+	-				
Amnezi	+			+				
Kas gevşetici	-		+					
Motor bozukluk	-	-	-					
Antikonvulsant	+	-	-	-				
Etanol takviyesi	-			+				
Anestezik maddelerin etkisi	+					+	+	+
Anksiyete					+			
Öğrenme hafıza				+				+

2.1.3.2. Glutamat Reseptörleri

Glutamat, beyindeki en önemli eksitator nörotransmitterdir (54). Farmakolojik, moleküler yapıları ve elektrofizyolojik özelliklerine göre glutamat reseptörleri iyonotropik ve metabotropik kanallar olarak iki gruba ayrılmaktadır.

Glutamat reseptörleri iyon kanalı bağımlı reseptörler olarak da tanınan ve kalsiyum iyonu aracılığı ile çalışan kanallar olan iyonotropik glutamat reseptörleri alfa-amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol-propionik asit (AMPA), kâinat ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinden oluşmaktadır.

AMPA reseptör ailesi Ca^{+2} iyonlarına geçirgen proteinlerden oluşmakta ve dört farklı gen tarafından üretilmektedir (GluR1-4). Her bir AMPA reseptörü 4 glutamat bağlanma alanına sahiptir. Genetiği değiştirilmiş farelerde AMPA reseptörlerinin kalsiyum iyon geçirgenliği artırılarak epilepsi modelleri oluşturulmaktadır (55). Kâinat reseptörleri her biri 5 homomerdan oluşan, 5 gen ailesi tarafından kodlanan, yüksek afiniteye sahip KA1-KA2 ve düşük afiniteye sahip

GluR5-7 reseptörlerinden oluşmaktadır (55, 56). NMDA reseptör alt birimleri NR1, NR2A-NR2D, olarak tanımlanan gen aileleri tarafından kodlanmaktadır. Ayrıca erken gelişim dönemlerinde sentezlenen NR3 geni tanımlanmıştır.

Metabotropik reseptör ailesi (mGluR1-8), çeşitli ikinci habercilerin aktivasyonu aracılığı ile elektriksel uyarıyı dolaylı olarak düzenleyen, farklı sistemleri harekete geçiren sinyal ileti yolları ve farmakolojik yapılarına göre Grup I, II, III olmak üzere üç gruba ayrılır (57, 58). Grup I, ikinci haberci sistemi olan diaçilgliserol ve inozitol trifosfat oluşturan fosfolipaz C'yi aktive eden, G α q proteinle kaplı olan mGluR1 ve mGluR5'i içermektedir (59). Grup I metabotropik glutamat reseptörleri daha fazla postsinaptik somatodentritik alanda bulunurlar. Bu reseptörlerin eksitator glutamaterjik nörotransmisyon esnasında iyon kanallarının aktivasyonunu düzenledikleri, ligand bağımlı iyon kanallarını hızlandırmak için diğer postsinaptik glutamat reseptörleri ile etkileşim durumunda oldukları bilinmektedir (60, 61). Grup II, mGluR2 ve mGluR3 alt tiplerinden; grup III, mGluR4, 6, 7 ve 8 alt tiplerinden oluşmaktadır. Hem grup II hem de grup III mGluR'leri Gai proteini ile kaplıdır ve in vivo bir çalışmada iyon kanallarını düzenlediği gösterilmiştir (59). Ayrıca presinaptik yerleşimli olan grup II ve III mGlu reseptörleri, glutamat salınımını engelleyen otoreseptörler olarak görev yapmaktadırlar. Bu reseptörleri uyaran agonist ilaçlar glutamat salınımını düşürerek antikonvulzan, glutamat eksitotoksitesine karşı koruyucu ve duyudurum dengeleyici olarak etkinlik gösterebilirler (61).

Glutamat reseptörleri çeşitli düzeylerde etkileşim halindedir. Her bir glutamat reseptörünün glutamat salınımında kendine has bir görevi vardır. NMDA reseptörleri en iyi tanınan reseptörlerdir. Kainat, AMPA ve metabotropik reseptörleri tüm NMDA reseptörlerini etkileyebilmektedir. Dolayısıyla, NMDA reseptörleri teorikte şizofreni etiyolojisinde rol alsada herhangi bir glutamat reseptörünün disfonksiyonu NMDA reseptörlerinin de disfonksiyonuna neden olabilmektedir (62). Glutamat reseptörleri glutamat tarafından başlatılan eksitator postsinaptik iletimi düzenlemek için ligand kaplı iyon kanalları olan iyonotropik glutamat reseptörleri ile birlikte çalışırlar. Bu iyonotropik reseptörler nöronlarının depolarizasyonunu sağlayan sodyum ve kalsiyum iyonlarına geçirgen olan katyon kanallarının açılmasını sağlar. Özellikle kainat ve AMPA reseptörleri, sodyumun hücre içine girmesine izin vererek

nöronu depolarize eden hızlı ve eksitator nörotransmisyona aracılık ederler. AMPA ve kâinat reseptörleri (non-NMDA iGluR) ile NMDA reseptörleri arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır (55).

Glutamatın sinapslardan uzaklaştırılması için temel mekanizma astrositlere ve nöronlara alınmasıdır. Sinaptik aralığa salınan glutamat astrositler tarafından alınır ve glutamine çevrilir. Daha sonra glutamin nöronlara iletilir, nöronlarda tekrar glutamata dönüştürülür ve tekrar nörotransmitter olarak salgılanır (63). Sekonder jeneralize epilepsilerde glutamaterjik sistem önemli bir yer tutmaktadır. Birçok epilepsi çeşidinin aşırı glutamaterjik sinaptik ileti bozukluğundan kaynaklanabileceği tahmin edilmektedir (64).

2.1.3.3. Apoptozis

Apoptozis yani programlı hücre ölümü, organizmanın gelişimi süresince, sağlıklı organizmalarda görülen hücrel bir süreçtir. Erişkin hücrelerde apoptozis normal hücre homeostazisini sağlamaktadır. Bu durum fizyolojik olduğu kadar patolojik birçok ölüm sinyalini de entegre etmesi gereken memeliler için oldukça önemlidir. Örneğin, apoptotik yolda görev alan genlerin işlev kaybı ya da kazanımı (gain/loss of function) hücrel homeostazinin bozulmasına neden olarak çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olabilir; yetersiz apoptozis otoimmün hastalıklara ve çeşitli kanserlere, hızlandırılmış apoptozis ise akut ve dejeneratif birçok hastalığa yol açabilmektedir.

Apoptozis için sinyal alındıktan sonra hücrede birçok morfolojik ve biyokimyasal değişim gözlenir. Hücre küçülmeye ve kondanse olmaya başlar, hücrenin iskeleti dağılır ve çekirdek zarı zaman zaman erir. Çekirdek deoksi ribonükleik asiti (DNA) parçalara ayrılır. Apoptozisin erken evrelerinde kaspaz proteinleri salınmaktadır. Salınan kaspaz proteinleri hücrel birçok substratın kesilmesine hem aracılık eder hem de sebep olurlar. Kaspazlar ayrıca hücrenin diğer sindirim enzimlerini de harekete geçirirler. Bunun sonucunda hücre morfolojik ve biyokimyasal olarak değişir (65).

Bcl-2 ailesi proteinleri apoptozisin kontrol noktalarında görevlidir. B-hücre lenfomasında tanımlandığından bu ismi almıştır (65). Bcl-2 proteini hücreyi

apoptozise karşı korur (66). Apoptoziste görülen çekirdek kondensasyonu ve çekirdek daralmasını engeller (65). Mitokondrinin dış zarında bulunur ve mitokondriden sitokrom c salınımını durdurur (67). Sitokrom c ise kaspazları aktive ederek apoptozisi tetikler (68). Bcl-2'nin ekspresyon düzeyi apoptozisi belirleyen faktörlerden birisidir. Bcl-2 ekspresyonu fazla olan hücreler, apoptozisten kaçabilir (69, 70). Bcl-2 ailesinde bulunan proteinlerin bazıları apoptozisi hızlandırırken (proapoptotikler) diğerleri ise apoptozisi inhibe ederler (antiapoptotikler). Bcl-2 ailesi hücre ölümünün antagonistleri (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-w, A1, NR-13, Ced-9 ve Mcl-1) ve agonistlerinden (Bax, Bad, Bak, Bcl-XS, Bok, Bid, Bik, Bim ve Noxa) oluşurlar.

Bcl-2'nin Sit-c salınımını düzenlemekle birlikte proapoptotik aile üyelerine bağlanarak onları inhibe etmek, mitokondri membranından iyon akışını düzenlemek ve Apaf-1'e bağlanarak inhibisyonu sağlamak gibi görevleri de vardır.

Apoptozis mekanizmasında anahtar rol kaspazların aktive edilmesidir. Kaspazların aktivasyonu çeşitli moleküller tarafından denetlenir. Bu moleküller arasında en önemlisi Bcl-2 ailesidir. Ancak kaspaz 3 aktivasyonundan daha önce Bcl-2 ailesi apoptozisi kontrol ettiğinden bu proteinler hücrelerin apoptozise gidip gitmeyeceğine karar verirler (65).

Apoptosis, immun sistem, bağırsak mukozası ve deri gibi dokulardaki çoğalan hücrelerin sayısını ve sürekliliğini devam ettirmekle birlikte aynı zamanda periferik ve merkezi sinir sisteminin gelişiminde de önemli rol oynamaktadır (71). Gelişim esnasında oluşan programlı hücre ölümü ilk kez sinir sistemi için tanımlanmıştır (72). Apoptotik hücre ölümü hem akut hem de kronik nörolojik hastalıkların bir özelliğidir (73).

Hücre döngüsü; siklinler, siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CDI) ve siklin bağımlı kinazlar (Cdk) tarafından kontrol edilmektedir. Bu proteinlerin seviyeleri hücre döngüsünün çeşitli fazlarında farklılıklar göstermektedir. Siklin bağımlı kinazlar G₁-S-G₂ ve mitozaya geçişi kontrol eder. Memeli hücrelerinde hücre döngüsünün regülasyonunda işlevleri iyi bilinen 11 siklin bağımlı kinaz (Cdk 1-11) ve 16 siklin; siklin D (D₁, D₂ ve D₃); siklin E (E₁, E₂); siklin A (A₁, A₂) ve B (B₁, B₂) rol oynamaktadır. Siklin D, E, G₁/S fazlarının sınırında geçici olarak sentez edilir ve

hücre S fazına girdiğinde hızla yıkılır. Siklin A ve B, S/G₂/M faz geçişlerinde sentezlenir. Siklin A₁ mayoz ve embriyogenesiste, siklin A₂ çoğalan somatik hücrelerde bulunur. Ayrıca siklin B₁'in siklin B₂'nin fonksiyonlarını kontrol ettiği düşünülmektedir (74).

Artan kanıtlar, postmitotik terminal açıdan farklılaşmış nöronlarda ölmeden önce hücre siklusunun aktive olduğu öne sürülmektedir. Hem kemirgenlerde hem de insanlarda, mitotik aktiviteler çok çeşitli nörodejeneratif durumlarda ölüme giden nöronlarda görülmeye başlar. Epilepside nöbetlerin nöronal kayıplara neden olduğu yönündeki bulgular kesin olarak kanıtlanmıştır (75).

Tubulinler, mikrotübüllerin ana bileşenlerini temsil eden, tubulin genler tarafından kodlanan α ve β ile ilişkili iki alt birimden oluşan dimerik proteinlerdir (76). Her birinin ortalama 55 kilo dalton ağırlığı vardır. Tubulin proteinler uygun bir kortikal gelişim için önemli, çeşitli hücresel süreçlerde hayati olan nöronal proliferasyon, migrasyon, farklılaşma, kortikal laminar organizasyon, radial gliaların akson büyümesi ve bakımında anahtar rol oynar (77).

β tubulin 6 farklı polipeptid izotipi üreten 6 ila 7 farklı fonksiyonel gen ailesinden oluşan omurgalı genomlarında kodlanmaktadır (78). Tubulin β -III (TUBB3) içeren mikrotübüller, diğer β tubulin izotipleriyle karşılaştırıldığında daha dinamiktir (79). Nöronlarda eksprese edilen izoformdur ve merkezi sinir sisteminde yüksek oranda eksprese edilir. TUBB3 ekspresyonu, insan ve sıçan epileptik dokusunda upregüledir. Ayrıca, TUBB3 inhibitör GABA_Aerjik nöronlar ve inhibitör postsinaptik iskele proteini olan gefrin ile ilişkili olduğu bilinmektedir. TUBB3 downregülasyonu, pilokarpin ile indüklenen epileptik nöbetlerin davranışsal fenotiplerini zayıflatmıştır. Tubulin ekspresyonu downregüle olan ratlarda GABA_A reseptörünün yüzey ifadesi artmıştır (80).

2.1.3.4. Oksidatif Stres ve Epilepsi

Reaktif oksijen türleri; normal hücresel metabolizmanın bir sonucu olarak canlı organizmalar tarafından üretilmektedir (81, 82). Mitokondride proteinler, karbonhidratlar ve yağların sindirilmesinde adenosin trifosfat (ATP) sentezlenirken reaktif oksijen türleri yan ürün olarak oluşmaktadır (83, 84). ROS'un düşük ve orta

konsantrasyonları fizyolojik olarak işlev görürken yüksek konsantrasyonları lipidler, proteinler ve DNA gibi hücre bileşenlerinde olumsuz değişikliklere neden olurlar. (81, 82).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller ile bunlara karşı süpürücü etkiye sahip antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres, özellikle kanser, diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, ateroskleroz ve inflamatuvar bozukluklar gibi birçok hastalığın patogenezinin sorumludur.

Fizyolojik önemi olan 3 ana ROS şunlardır: süperoksit anyon (O_2^-), hidroksil radikali (OH) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) (85, 86). Bu ROS'lar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile kontrol edilmezlerse üretildikleri yerlerdeki hücrelere zarar verebilmektedirler (9). Beyin ve periferel sinir sistemi nöronları başta olmak üzere vücuttaki bütün hücreler oksidatif strese karşı aşırı duyarlıdır (87).

Aşırı serbest radikal salınımından kaynaklanan oksidatif stres epilepsinin başlaması ve ilerlemesinde rol oynar. Bu nedenle epilepsi tedavisinde oksidatif stresi azaltmayı amaçlayan antioksidan tedaviler büyük ilgi görmüştür. Bununla birlikte, birçok çalışma oksidatif stresin tüm epilepsi modellerinde aynı kalıpta olmadığını göstermiştir (88).

Nöbetlerden kaynaklanan beyin hasarı, nöronal hücre ölümüne katkıda bulunan birden fazla faktör içeren dinamik bir süreçtir. Bunlar genetik faktörler, eksitotoksitite kaynaklı mitokondriyal disfonksiyon, değişmiş sitokin seviyeleri ve oksidatif stres içerebilir (89).

Birçok çalışmada oksidatif stresin epilepsi etiyolojisinde ve atakların artışında rolü olduğu bildirilmiştir (90-93). Epilepsi oluşumunda en önemli beyin merkezi hipokampus gözükmektedir. Hipokampus da beyine benzer şekilde antioksidan savunma sistemi bakımından fakirdir. Bu nedenle de oksidatif stresin ana hedeflerinden biri de hipokampusdur. (94, 95).

Bu sebeple vetiver bitkisinin antioksidan özelliğinden yararlanılarak vetiver bitkisinin ekstraktından elde edilen yağın kullanılması sonucu serebral korteks ve hipokampusta ROS'u azaltarak epilepsi ataklarını azaltmayı amaçladık.

2.2. Elektroensefalografi

İlk olarak 1940'larda kullanılmaya başlanılan bu yöntem bugün için de epilepsi hastalığının teşhisinin temelini oluşturmaktadır (34). EEG, epileptojenik korteksi tanımlamak için kullanılan en spesifik yöntemdir. Kafatası üzerinden kaydedilen beyin dalgalarıdır. İktal video / EEG kaydının epileptojenik bölgenin lokalizasyonda kritik olduğu düşünülmektedir. Bir nöbetin ilk klinik belirti ve semptomlarını belirlemede, nöbet semptomatolojisinin evriminin analizinde önemlidir. Yüzey EEG kayıtları invaziv çalışmalara göre daha az hassas olsa da en iyi genel bakışı sağladığından epileptojenik bölgenin yaklaşık lokalizasyonunu tanımlamanın en verimli yoludur (96).

Epileptik deşarjlar EEG'nin aşırı senkronizasyonunu ifade eder. Absans nöbetlerde EEG'de 3-4/sn ritmik diken-dalga kompleksi görülürken, jeneralize tonik klonik nöbetlerde diken dalga kompleksine rastlanmaz. Nöbet başladığında EEG'de ilk değişiklik, düşük amplitüdlü desenkronize dalgalar olabilir (97). Tonik klonik nöbette bunu 15-25 sn/frekansta keskin dalgalar izler. Nöbet bitince EEG düzleşir ve kontroldekinden daha yavaş dalgalar görülür.

Nöbet karşılığı olarak iktus kullanılır. Nöbet sonrasına postiktal periyot, nöbetler arası zamana ise interiktal periyot denir. İnteriktal deşarjlar epilepsinin beyindeki kaynağı hakkında bilgi verir (14). Epilepsinin deneysel modellerinden elde edilen kayıtları davranış desteklemelidir. Davranış desteklemediği sürece EEG'deki diken benzeri dalgaların epilepsiyi gösterdiğini söylemek doğru değildir (14, 97).

EEG için tipik değerler 20-100 μ V arasında kabul edilir. Daha büyük değerler, epilepsi veya EEG ile teşhis edilen diğer bozukluklarda ortaya çıkar (98).

EEG'de dalgalar alfa, beta, teta ve delta dalgaları olarak sınıflandırılır.

Alfa dalgaları, voltajları genellikle 50 mikrovolt civarında olan, 8-13/sn arası frekanslardaki ritmik dalgalardır. Uyanık ve sakin dinlenim esnasında erişkinlerin tümünün EEG'sinde bulunur.

Uyanık durumdaki bir kişi zihinsel etkinliğe yönlendirildiğinde senkron olmayan yüksek frekanslı düşük genlikli beta dalgalar olur. Beta dalgaları 14-80/sn arası frekanstadır.

Teta dalgaları 4-7/sn arası bir sıklığa sahiptir. Çocuklarda normalde gözlenirken bazı erişkinlerde duygusal stres koşullarında ortaya çıkabilir. Teta dalgaları sıklıkla dejeneratif beyin hastalıklarında da ortaya çıkar.

Delta dalgalar EEG'nin sıklığı saniyede 3,5'ten az, voltajı yüksek olan dalgaları içerir. Derin uykuda, çocuklukta ve ciddi organik beyin hastalıklarında ortaya çıkar (99).

2.3. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsi konusundaki araştırmalar deneysel modeller üzerinde yapılmaktadır. Yeni ve etkili antiepileptik ilaçların geliştirilmesi ve epilepsinin temelinde yatan mekanizmaların aydınlatılması için uygun modellere ihtiyaç vardır (100). İnsandaki çeşitli epilepsi tipleri ile benzer görünümde olan genetik yapısı değiştirilerek, kimyasal ajanlar kullanılarak ve lezyon oluşturularak, çok sayıda farklı deneysel model geliştirilmiştir (101). Deneysel epilepsi hayvan modelleri, çoğunlukla hem anormal hem de normal beyin fonksiyonunun temel nöronal mekanizmalarını araştırmak amacıyla kullanılmaktadır (102). Epilepsinin hücrel mekanizmalarını araştıran çalışmalar hipersenkronizasyonun mekanizmasının anlaşılmasına, hücrel ve nöronal ağ uyarılabilirliğinin değerlendirilmesine yoğunlaşmıştır (103).

Hayvan modelleri, spesifik nöbetleri azaltmak ve gelişimini önlemek için ilaçların etkinliğini belirlemede önemlidir. Bu modellerin gelişimi ile birlikte nöbet oluşum mekanizmalarındaki farklılıkların analizi yapılabilmektedir. Ancak hastalığın tüm tiplerini aynı hayvanlarda görmemizi sağlayan bir hayvan modeli yoktur. Hastalığın farklı alt tiplerine karşı geliştirilmesi planlanan etken maddelerin mekanizmalarını çözümlmek için epilepsi modellerinin sınıflandırılması gerekmektedir (104).

Elliden fazla nöbet modeli bulunmaktadır. Bunlardan başlıca kullanılan nöbet modelleri; basit parsiyel nöbetler, kompleks parsiyel nöbetler, jeneralize tonik klonik nöbetler, jeneralize absans nöbetler ve status epileptikus modelleri olarak sınıflandırılabilir (14).

Kimyasal olarak indüklenen nöbet modelleri lokal ve sistemik olarak uygulanan kimyasallara göre sınıflandırılırlar. Lokal uygulanan kimyasallar ya basit

parsiyel akut nöbetleri ya da basit parsiyel kronik nöbetleri oluştururken, sistemik uygulanan kimyasallar ise kompleks parsiyel veya jeneralize tonik klonik nöbetleri oluşturduğu genel olarak söylenebilmektedir (105).

Tablo 2.4. Deneysel Epilepsi Hayvan Modelleri ve Modelin Oluşturulmasında Kullanılan Yöntem (104).

Epilepsi Modeli	Etken veya Epilepsi Oluşturma Yöntemi
Basit parsiyel epilepsinin akut modelleri	Penisilin, bikukulin, pikrotoksin, striknin kolinerjik, antikolinerjik maddeler
	Akut elektriksel uyarı
	GABA kesilmesi
	Neokorteks ve hipokampus dilimleri
Basit parsiyel epilepsinin kronik modelleri	Beyin kabuğuna metal uygulanması; alüminyum, titanyum, kobalt, krom, kalay, nikel, bizmut, tungsten, kadmiyum, demir, civa, çinko, berilyum, vanadyum, kurşun
	Soğutma
	Işın verme
Kompleks parsiyel epilepsi modelleri	Kainik asit
	Tetanoz toksini
	Prepriform korteks
	Kindling (tutuşma) modeli
Petit mal epilepsi modelleri	Çift taraflı odak
	Sistemik penisilin
	Gama-hidroksi bütirat
	Opioid peptid
	Genetik
Grand mal (jeneralize tonik klonik) epilepsi modelleri	Büyük nöbet
	Fotosensitizasyon, odyojenik fare
	Maksimal elektroşok (MES)
	Pentilentetrazol, penisilin
	Etanol
Status epileptikus modelleri	Lityum pilokarpin
	Elektrik situmilasyonu
	Kobalt homosistin

2.3.1. Pentilentetrazol Modeli

Pentilentetrazol, parenteral yoldan verildiğinde farelerde, sıçanlarda, kedilerde ve primatlarda konvulsif etkilere sahip olan bir tetrazol türevidir (106). AEİ geliştirmek için yapılan araştırmalarda en sık kullanılan kimyasal maddedir (107). Etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamakla birlikte postsinaptik klor (Cl^-) kanalları ile bağlantılı $GABA_A$ reseptörlerine bağlanıp reseptörleri bloke ederek etkili olduğu bilinmektedir (108).

PTZ'nin dozunun ayarlanması son derece önemlidir (105). PTZ, hayvanın ağırlığına göre izotonik sodyum klorürde (NaCl) çözünerek intraperitoneal yolla verilir (4, 105). Akut epilepsi nöbet modeli oluşturulması için intraperitoneal olarak verilen doz tek seferlik 60-100 mg/kg iken, kronik epilepsi modeli oluşturulması için verilen doz 20-40 mg/kg şeklindedir (109). Kronik epilepsi modeli (kindling, tutuşma modeli) PTZ'nin eşik altı dozları olan 20-40 mg/kg'ın düzenli olarak gün aşırı veya haftada birkaç kez olacak şekilde 1-2 ay boyunca uygulanmasıyla oluşmaktadır (110).

PTZ uygulamadan hemen sonra güçlü jeneralize tonik-klonik nöbetlere yol açabilen miyoklonik kasılmaları oluşturur. Hayvanların EEG'sinde çoklu diken dalgası görülür (104, 107).

Gama-vinil GABA sıçanda hipotalamus ve retiküler formasyona lokal verilirse GABA'nın parçalanmasını önleyerek PTZ ile oluşturulan epileptik nöbet durdurulur (100).

2.4. *Vetiveria zizanioides*

Vetiver bitkisi (*Vetiveria zizanioides* (L) Nash), Hindistan'da "khus" "khas" "khas-khas" olarak bilinen ve kalın lifli kökleri olan Poaceae familyasından çok yıllık otsu bir bitkidir (10). Vetiver bitkisinin sinonimi *Chrysopogon zizanioides* (L) olarak bilinir. Diğer dillerde yaygın isimleri Ilamichamver/Vetiver (Tamil), Vattiveeru (Kannada), Ramacham (Malayalam), Birina (Assamese), Bala/Bena/Khus/Panni (Hindi), Khus-khus (Bengalee), Kuruveeru/ Vettiveellu (Telugu), Vala (Marathi)'dır. (10,11).

Hindistan'da eski çağlardan beri kullanılmakta ve Ayurveda bilimi (geleneksel tedavi) alanında tıbbi bir bitki olarak bilinmektedir. Birkaç yüzyıldır kökleri damıtılarak oluşturulan kokulu yağ için ticari olarak yetiştirilmektedir (11).

Kserofit bir bitki olan vetiverin boyları 2 metreye kadar uzayabilmektedir. Ayrıca aşırı sıcaklığı tolere edebilir ve geniş bir toprak pH aralığında büyüebilmektedir (13). Toprak erozyonunu önleyen çevre dostu bir bitki olarak bilinir ve yüksek seviyelerde ağır metallere toleransı nedeniyle metalik kirlenmiş arazilerin rehabilitasyonunda faydalıdır (111).

Bitkinin bütün uzunluğu boyunca bitki sapları ya da yaprakları kabuğumsu bir madde ile kaplıdır. Bu madde bitkiyi stresten, tuzluluktan, herbisitlerden, kuraklıktan ve diğer hastalıklardan korur. Kökleri büyük, süngerimsi kitleler halinde bulunur. Köklerinin çok sayıda, çok güçlü ve lifli özellikleri yanında nemli toprakta toprağın derinliklerine kadar ulaşabilme (3 metre derinliğe kadar) yetenekleri vardır (112).



Resim 2.1. *Vetiveria zizanioides* Bitkisi (10).



Resim 2.2. *Vetiveria zizanioides* Bitkisinin Kökleri (13).

İlaçlarda ve parfümlerde kullanılan önemli bir yağ kaynağıdır (12, 13). Yağın rengi kehribar, kahverengidir ve tatlı, odunsu ve dumanlı bir kokusu vardır. Ayrıca yağ, bitkinin köklerinin damıtılmasıyla elde edilir (111). Tüberküloza ve oksidatif strese karşı etkilidir. Bitkinin farklı kısımları stres, anksiyete, sinirlilik, gerginlik ve uyku hastalıkları, ağız ülseri, ateş, yanma, yılan ısırması, akrep sokması, romatizma, baş ağrısı, güçsüzlük, burkulma, sıtma, asit ve idrar yolu enfeksiyonu tedavisinde kullanılır. Ayrıca insanlarda çeşitli mantar ve bakteri hastalıklarına ve epilepsiye karşı etkili olduğu bilinmektedir. (12, 13).

Bunların dışında soğutma maddesi, tonik ve kan temizleyici olarak Hindistan'da yaygın olarak kullanılmaktadır. Birçok cilt rahatsızlığının tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Sinir sistemi üzerinde sakinleştirici etkiye sahiptir. Vetiver'in tıbbi kullanımları arasında saçkıran, hazımsızlık ve iştahsızlık tedavileri de yer almaktadır (13).

Tıbbi ve aromatik bitki olduğu bilinen, kök ekstraktından elde edilen vetiver yağı, etnobotanik ve geleneksel olarak kullanıldığı bilinmektedir (113). Son zamanlarda vetiver yağının hepatoprotektif, antihiperglisemik (114, 115), antiinflamatuvar (116) ve antioksidan (117-119) gibi faydalı ve terapötik özellikleri (120, 121) in vivo ve in vitro modellerde gösterilmiştir. Vetiver yağı ulusal olarak izin verilen yenilebilir, pahalı, doğal gıda katkı maddesi olarak Çin pazarında tanımlanmıştır (122).

Vetiver bitkisi ülkemize ilk olarak 1998 yılında Sicilya'nın Catana bölgesinden getirilmiş ve 2001 yılında İzmir'de üretilmeye başlanmıştır (123).

Ancak antikonvulsan etkisi ve antioksidan özelliğiyle ilgili veriler kısıtlıdır. Bu nedenle çalışmamızda antikonvulsan etkisi ve antioksidan özelliği araştırılmak istenmiştir.

2.5. Hipotez

Günümüzde epilepsi hastalığı olan bireyler farmasötik ilaçlarla tedavi edilmektedir. Literatürde vetiver bitkisinin antikonvulsan etkisi ve antioksidan özelliğiyle ilgili kısıtlı sayıda veriler olmasına rağmen epilepsi hastalığında vetiver bitkisinin kullanımı ve epileptik nöbetler, nörodejenerasyon üzerine etkileri, oksidan-

antioksidan sistem, GABA_A reseptörü, apoptozis ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut tez kapsamında; literatürdeki bahsedilen bilgi açıklıklarının kapatılması amacıyla aşağıdaki hipotezler geliştirilmiştir:

- a. Vetiver yağının, PTZ ile deneysel epilepsi modeli oluşturulan sıçanlarda nöbet latansına ve Racine skorlamasına göre epileptik nöbetlerin görülme şiddetine olumlu etkiler yapar.
- b. Sıçanların epileptojenik korteksinden elde edilecek beyin dalgaları ile ilgili olarak; vetiver yağı, ilk epileptik spike ve toplam epileptik spike sürelerine olumlu etki oluşturur.
- c. Vetiver yağı, PTZ'nin neden olduğu oksidatif-antioksidatif hasarı, nörodejenerasyonu, apoptozisi iyileştirici/düzeltici etki yapar.
- d. Epilepsi hastalığında GABA_A reseptör ekspresyonunda değişiklik oluşur ve vetiver yağı olumlu etki ile epileptik nöbet oluşumunu geciktirir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

1. Pentylenetetrazole (P6500, Sigma), (St. Louis, MO, Amerika)
2. Bcl-2 (Rabbit Anti-Bcl-2 Polyclonal Antibody (bs-4563R) (Bioss Antibodies Inc., Amerika)
3. Rabbit Anti- beta Tubulin polyclonal antibody (bs-0210R) (Bioss Antibodies Inc., Massachusetts Amerika)
4. Cyclin (Rabbit Anti- Cyclin B1 polyclonal antibody (bs-0572R)(Bioss Antibodies Inc., Massachusetts Amerika)
5. GABA (Anti-GABA Receptor alpha 5 antibody [JB34-19) ET7107-08) (Hangzhou HuaAn Biotechnology Co., Ltd., Amerika)
6. BrdU-Red DNA Fragmentation (TUNEL) Assay kit (ab66110) (Abcam, İngiltere)
7. TAS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye)
8. TOS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye)
9. Sekonder kit olarak UltraVision Detection System Anti-Polyvalenti HRP kit (TP-060-HL) (Thermo Shandon Limited, Cheshire, İngiltere)
10. Anestezik madde: Rompun (Bayer, Almanya), Ketazol (Richter pharma AG 4600 Wels, Avusturya)

3.1.2. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1. Soğutmalı santrifüj: Eppendorf MR5415 (Almanya)
2. Soğutmalı mikro santrifüj: Nüve MR5415 (Türkiye)
3. Hassas terazi: Scaltec SPB 33 (İsviçre)
4. Vorteks: Nüve NM 100 (Türkiye)
5. Otomatik pipetler: Brand (Almanya), Iso Lab (Almanya)
6. Manyetik karıştırıcı: Nüve (Türkiye)

7. Homojenizatör: IKA Ultra-Turrax T25 Basic; Labortechnik (Almanya)
8. Sonikatör: UW-2070 Bandelin Electronic (Almanya)
9. Spektrofotometre: Shimadzu U5800 (Japonya)
10. Bir poligraf sistemi ve XA-400 dört kanallı diferansiyel amplifikatör (ML 870; ADI Instruments)
11. Ototeknikon cihazı: (Leica ASP300S; LeicaMicrosystem, Nussloch, Almanya)
12. Rotarymikrotom Leica 2155 (LeicaMicrosystem, Nussloch, Almanya)
13. Işık mikroskobu: Olympus CX21
14. Kamera: Olympus DP26

3.2. Yöntem

3.2.1. Vetiver Yağı

Yağ ticari olarak Art de Huile firmasından hazır olarak alınmıştır. Firma Fransa’da doğal olarak üretilen bitkiden hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiş yağı Türkiye’ye getirmiştir. Ticari adı; Vetivert olarak bilinmektedir. Lot no: RH19C118’dir. Yağın bileşenlerini içeren Analiz Raporu Ek 2’de sunulmuştur.

3.2.2. Deney Hayvanları

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı (Etik No: 2019-10-05) tarafından etik onay alındıktan sonra SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarında (SDÜ-HÜDAL) gerçekleştirildi. Çalışmada, 46 adet Wistar albino erkek sıçan (2-3 aylık, 150–300 g ağırlığında) kullanıldı. Hayvanlar SDÜ Deney Hayvanları Üretimi ve Deneysel Araştırma Laboratuvarı’ndan temin edildi. Sıçanlar $21\pm3^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsünde, $\%55\pm4$ nemli ortamda tutuldu ve “*ad libitum*” olarak beslendi. Deney 09.00–17.00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Deney ortamı ışık ve ses düzeyi açısından sürekli kontrol edildi. Deney süresince hayvan refahı kurallarına ve SDÜ Laboratuvar Hayvanları Bakım ve Kullanım Kılavuzu’na riayet edildi.

3.2.3. Çalışma Grupları

PTZ ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde, Vetiver yağının etkilerini araştırmak için planlanan çalışmada 46 adet erkek wistar albino sıçan rastgele 4 gruba ayrıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deney Grupları

	Gruplar	Hayvan sayısı (n)
1	Kontrol grubu (K)	10
2	PTZ grubu (PTZ)	12
3	PTZ + Vetiver grubu (200 mg/kg) (VET-200)	12
4	PTZ + Vetiver grubu (400 mg/kg) (VET-400)	12

3.2.4. Deneysel PTZ Epilepsi Prosedürü

PTZ ile deneysel epilepsi modeli oluşturmak için sıçanlara 7 gün vetiver yağı uygulamasından sonra 8. günde 2., 3. ve 4. gruplara tek doz 60 mg/kg dozda PTZ enjeksiyonu yapıldı. PTZ 1 ml/kg serum fizyolojikte çözdürülerek uygulanmıştır. Daha sonra hayvanların davranışları 30 dakika boyunca gözlemlendi ve Racine skalasına göre epilepsi evreleri belirlendi.

3.2.5. Nöbet Latansı ve Epileptik Nöbet Skorları

Sıçanlar PTZ enjekte edilmeden önce kamera kayıtlarının alınacağı geniş ölçülerdeki üstü açık kafes içerisine konuldu. Hayvanlar, PTZ verilme işleminden sonra nöbet latansı ve nöbet skorlaması için kamera ile kayıt altına alındı. (2, 124). Racine skalası kriterleri kullanılarak epilepsi evreleri belirlendi (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Nöbetlerin Skorlaması

Evre	Davranış
0	Nöbet yanıtı yok
1	Kulaklar ve yüzde seğirme, koklama hareketi
2	Vücuda yayılan konvulzif dalga
3	Myoklonik jerkler ya da arka ayakları üzerinde şaha kalkma
4	Hayvanın olduğu yere düşmesiyle (hayvanın yana doğru dönüş pozisyonu) birlikte klonik nöbetler
5	Tekrarlayan şiddetli tonik-klonik nöbetler ve status epileptikus

3.2.6. Deney Düzenegi

Epilepsi modelinin oluşturulduğu tüm sıçanlara sırasıyla elektrot yerleştirildi. Sıçanlara aşağıda belirtildiği gibi vetiver yağı uygulamasından sonra PTZ ile nöbet oluşturulması sağlandı ve 20 dakika boyunca EEG kayıtları yapıldı.

1. Kontrol grubu (K): Kontrol grubu sıçanlara 7 gün boyunca 1 ml/kg salin solüsyonu oral olarak uygulandı, ancak PTZ enjeksiyonu yapılmadı. 8. gün PTZ miktarına eř değer salin solüsyonu intraperitoneal (i.p.) olarak verildi.

2. PTZ grubu (PTZ): PTZ grubu sıçanlara 7 gün boyunca 1 ml/kg salin solüsyonu oral olarak uygulandı, PTZ 8.gün 60 mg/kg tek doz i.p. olarak yapıldı (9, 124).

3. PTZ+Vetiver grubu (200 mg/kg) (VET-200): Vetiver yağı bu gruptaki sıçanlara 7 gün boyunca 200 mg/kg oral olarak verildi (12), 8. gün tek doz 60 mg/kg PTZ i.p. olarak uygulandı (9, 124).

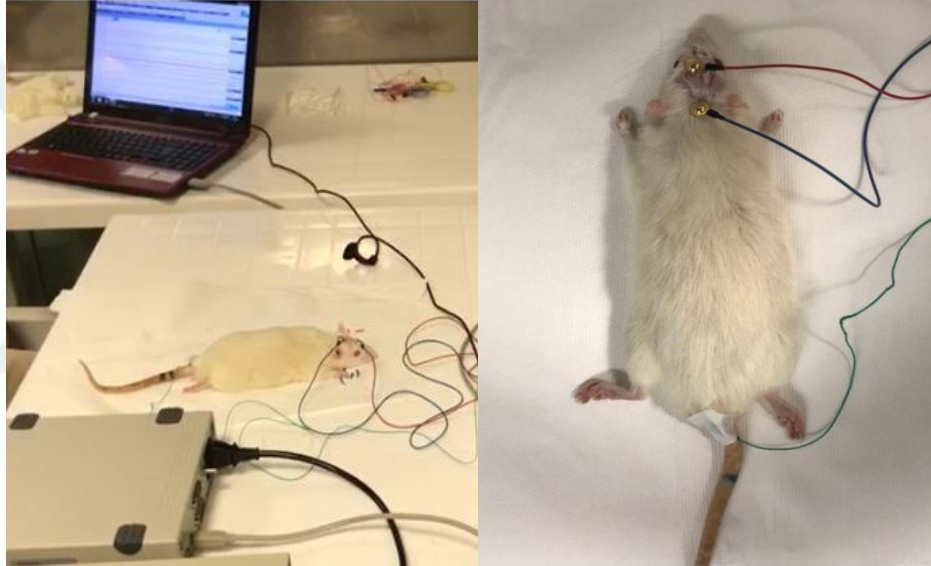
4. PTZ + Vetiver grubu (400 mg/kg) (VET-400): Vetiver yağı bu gruptaki sıçanlara 400 mg/kg oral olarak 7 gün boyunca verildi (12), 8. gün tek doz 60 mg/kg i.p. olarak PTZ uygulandı (9, 124).

Tüm gruplardaki hayvanların anestezi altında 20 dk boyunca EEG kayıtları alındı. Deney prosedürü tamamlandıktan sonra, tüm hayvanlar dekapitasyon ile kurban edildi. Biyokimyasal analizler için vena kava inferiorundan kan örnekleri alındı. Hızlı bir şekilde kan örnekleri laboratuvarında 4000 rpm de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80°C’de donduruldu. Serebral korteks ve hipokampus dokuları hemen çıkarıldı. Sağ hemisfer histopatoloji ve immünohistokimyasal ve TUNEL analizleri için %10’luk formaldehid içine konuldu. Sol hemisfer biyokimyasal analizler için homojenizasyondan sonra santrifüj edilip -80°C’de saklandı.

3.2.7. EEG Uygulama

Deneyisel epilepsi modelinin oluşturulduğu tüm sıçanlara ketamin (90 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (5 mg/kg, i.p.) ile anestezi uygulandı. Anestezi altındaki sıçanlar ses ve ışık yalıtımı sağlanmış odaya alındı. Anestezinin derinliği kornea ve pençe

refleksleri ile kontrol edildikten sonra, kafaları traş edildi. Stereotaksik bir çerçevede, iki monopolar paslanmaz çelik elektrotu, ön ve paryetal korteks yüzeyine EEG kaydı için iki taraflı olarak yerleştirildi. Elektrotlar, diş akrilatı ile kafatasına tutturulmuş dişi bir konektöre bağlandı. Her hayvanın kuyruğuna nötr bir elektrot bağlandı. EEG çekimi, dışarıdaki elektrik alanlardan koruyan elektriksel iletken metal ile kaplanmış özel bir odada yapıldı. Hayvanlar, bir poligraf sistemi ve XA-400 dört kanallı diferansiyel amplifikatör (ML 870; ADI Instruments) ile kayıt aparatına bir erkek mikro bağlayıcıyla bağlandı. Bu ara birimde yükseltile biyopotansiyeller LabChart 7.3.8 (AD Instruments) programı kullanılarak kaydedildi. EEG çekiminden sonra hayvanlar sakrifiye edildi (Resim 3.1).

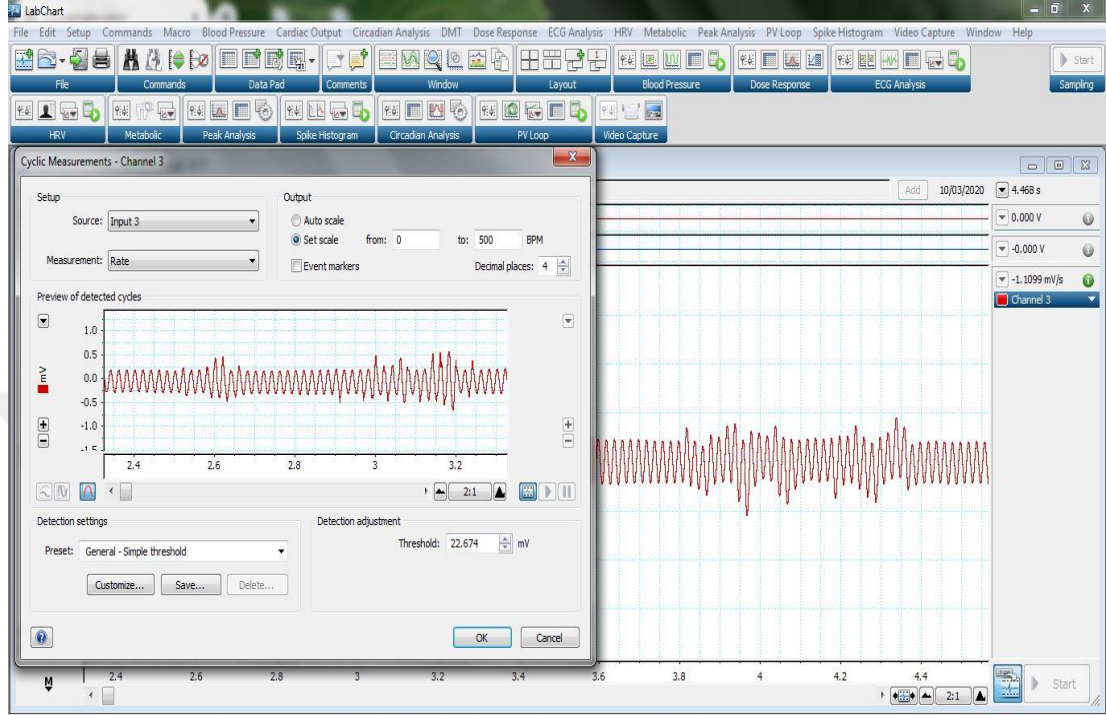


Resim 3.1. EEG Çekimi Sırasında Elektrot Yerleştirilmiş Sıçan Örneği

3.2.8. EEG Kayıtlarının Değerlendirilmesi

İlk olarak 20 dk boyunca hayvanlardan elde edilen EEG kayıtları LabChart 7.3.8 (AD Instruments) programı ile ortam kaynaklı gürültü sinyallerini elimine etmek için (zaman sabiti, 1 s; düşük geçişfiltre, 50 Hz; yüksek geçiren filtre, 1 Hz; aralığı, 200 mV) filtre edildi. Daha sonra, hayvanların ilk epileptik spike'nın görülme süresi ve toplam epileptik spike sayısı hesaplandı.

LabChart 7.3.8 yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri kullanılarak her bir sıçanın bazal EEG aktivite eşik değeri bulundu. 20 dakika boyunca epileptik nöbetlere karşılık gelen spike süreleri belirlendi (Resim 3.2).



Resim 3.2. LabChart 7.3.8 Yazılımın Özellikleri Aracıyla Epileptik Spike Sürelerinin Hesaplanması

3.2.9. Cerrahi İşlem

Kullanılacak bütün cerrahi alet ve malzemeler sterilizasyona tabi tutularak işlemlere başlandı. Ketamin (90 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (10 mg/kg, i.p.) ile hayvanlar dissosiyatif anestezi tekniğiyle genel anestezi altına alındı.

Kafatası açıldıktan sonra mikro cerrahi makas ve pens yardımıyla serebral korteks çıkarıldı. Serebral korteks bisturi yardımıyla, beyin sapı ve serebellumdan ayrıldı. Sağ ve sol hemisferler korpus kallozum hizasından iki eş parçaya bölündü.

Sağ hemisfer histopatoloji ve immünohistokimyasal ve TUNEL analizleri için %10'luk formaldehid içine konuldu. Sol hemisferden serebral korteks ve hipokampus diseke edildi ve biyokimyasal analizler için homojenizasyondan sonra santrifüj edilip -80°C'de saklandı.

3.2.10. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler için vena kava inferiordan kan örnekleri steril enjektörlerle alınarak ışığa karşı korunmuş tüplere aktarıldı. Hızlı bir şekilde kan örnekleri laboratuvarında 4000 rpm de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri biyokimyasal analizler için -80°C’de donduruldu.

Serebral korteks dokuları fosfat tamponu (Phosphate buffered saline tablet, pH 7.4, Sigma) içine konularak önce mekanik olarak homojenizatörde (IKA Ultra-Turrax T25 Basic; Labortechnik, Staufen, Germany) sonra sonikatörde (UW-2070 Bandelin Electronic, Germany) homojenize edildi. Homojenatlar bekletilmeden 4000 rpm, 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant bir ependorf tüpe alınarak biyokimyasal analizler için -80°C’de donduruldu.

3.2.10.1. Oksidatif Stres Parametreleri

Oksidatif stres belirteçleri olan TAS, TOS Ve OSİ tüm sıçanlardan alınan serum ve serebral korteks numunelerinde Erel tarafından geliştirilen metod kullanılarak çalışıldı (125, 126). Çalışmadan hemen önce örnekler -80°C’den çıkartılarak 4000 rpm, 10 dakika santrifüj edilerek TAS, TOS ve OSİ analizleri için hazırlandı.

Biyokimyasal parametrelerden TAS ve TOS seviyeleri ticari kit kullanılarak spektrofotometrik olarak tayin edildi (125, 126).

3.2.10.1.1. Total Antioksidan Durum Analizi

Hayvanların serebral korteks ve serumlarının TAS değerlendirilmesinde, TAS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Bu ölçüm metodunun prensibi, örnekteki antioksidanların H₂O₂ varlığında, koyu mavi-yeşil renkli ABTS 2,2’-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) radikalini, renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanır (125). Bu renk değişikliği, spektrofotometre 25°C’ye ayarlanarak, 500 ml reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 30 ml örneğe karıştırılıp absorbans değeri 660 nm’de ölçülerek değerlendirme yapıldı. Karışıma 75 ml reaktif 2 (renkli ABTS solüsyonu) eklenerek 10 dakika inkübe edildikten sonra tekrar 660 nm’de absorbans ölçüldü. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi

hesaplandı. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak gözlenebilir ve rengin açılma oranı ile örnek içindeki antioksidan miktarı arasında ters ilişki vardır. Kalibratör olarak Trolox kullanıldı. TAS düzeyleri mmol Trolox Eq/l olarak hesaplandı (127).

3.2.10.1.2. Total Oksidan Durum Analizi

TOS ölçümünde, TOS kiti (RelAssay Diagnostic, Türkiye) kullanıldı. Bu ölçüm metodunun prensibi, örnekteki oksidanların ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyonlara okside etmesine ve oluşan ferrik iyonların asidik ortamda kromojen madde ile renk oluşturması esasına dayanır (126). Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülür. TOS ölçümü için, spektrofotometre 25°C'ye ayarlanarak, 500 ml reaktif 1 (ölçüm tamponu) ve 75 ml örnek karıştırılıp 530 nm'de absorbansı ölçüldü. Karışıma 25 ml reaktif 2 (prokromojen solüsyon) eklenerek 10 dakika inkübe edildikten sonra tekrar 530 nm'de absorbans ölçüldü. İkinci ve ilk ölçümler arasındaki farktan absorbans değişimi hesaplandı. Kalibratör olarak H₂O₂ kullanıldı. TOS düzeyleri µmol H₂O₂ Eq/l olarak hesaplandı (127).

3.2.10.1.3. Oksidatif Stres İndeks Analizi

Oksidatif stresin bir göstergesi olarak gösterilen OSİ; TOS düzeylerinin TAS düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilmektedir. Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi µmol birimine çevrildi (126). Sonuçlar “arbitrary unit” (AU) olarak ifade edildi ve aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / l}}{\text{TAS, mmol trolox Equiv. / l} \times 100}$$

3.2.11. Histopatolojik Yöntem

Nekropsi sırasında sıçanlardan alınan serebral korteks ve hipokampus örnekleri histopatolojik incelemeler için serebral korteks üzerine küçük kesitler

atılarak %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içerisinde fikse edildi. Böylece formaldehitin dokular içine daha iyi infiltre olması ve tespitin hızla şekillenmesi sağlandı. Formaldehitte tespit edilen serebral korteks dokuları uzunlamasına trimlenerek doku takip kasetlerine alındı. Her doku takip kasetin üzerine ait olduğu grup ve hayvan numarası yazılıp tekrar formaldehit içine konularak tespitin tamamlanması sağlandı. Ertesi gün akşam doku takip kasetleri rutin histolojik doku takibi için tam otomatik ototeknikon cihazına (Leica ASP300S; Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) yerleştirildi. Cihaz uygun programa ayarlanarak solüsyonların dokular içine daha iyi penetre olması sağlandı. Doku takibi için kasetler gece boyunca düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek sularının alınması, iki adet ksilolden geçirilerek organlardaki yağın alınması ve sıcak parafinden geçirilerek doku boşluklarına parafin dolması ve sertleşmesi sağlandı. Ertesi gün sabah dokular parafine gömülerek blokajları yapıldı. Blokaj işlemleri Leica Histcore Arcadia H-C doku gömme ünitesinde gerçekleştirildi. Bloklardan 4-5 saat soğutulmanın ardından Leica 2155 rotarymikrotomda (Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) 5 mikron kalınlığında, serebral korteks ile hipokampusları içeren kesitler alındı. Kesitlerin kuruması için lamalar bir gece oda ısısında bekletildi.

Ertesi gün kesitler hematoksilin-eozin (HE) boyama için köprülere dizilerek boyama prosedürüne geçildi. Kesitler parafinin uzaklaştırılması için 30'ar dakika süre ile 3 ayrı ksilol serisinden geçirildi. Ardından sırasıyla %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkollerden geçirilerek dokulara su verildi. Daha sonra hematoksilinle (15 dakika) ve ardından eozinle (3 dakika) boyandı. Bu işlemlerin ardından kesitler düşük dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere (sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkoller) geçirilen dokuların tekrar suları alındı. Ksilolde parlatılan dokuların üzerine yapıştırma sıvısı (entellan) konularak lamel yapıştırıldı. Boyamanın ardından bir gün kurutulan kesitler mikroskop altında incelenmeye hazır hale getirildi. Olympus CX21 model ışık mikroskobunda incelenen preparatlar Olympus DP26 model kamera ile mikroskobik dijital fotoğraflar çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı. Mikrofotografi için Database Manual Cell Sens Life Science Imaging Software System (OlympusCo., Tokyo, Japan) kullanıldı.

3.2.12. İmmunohistokimya Metodu

Bu çalışmada immunoperoksidaz inceleme için streptoavidin-biotin kompleks peroksidaz metodu kullanıldı. İmmunhistokimyasal inceleme için serebral korteks ve hipokampus örnekleri tubulin ((Rabbit Anti- beta Tubulin polyclonal antibody (bs-0210R) (Bioss Antibodies Inc., Massachusetts Amerika); GABA (Anti-GABA Receptor alpha 5 antibody [JB34-19) ET7107-08) (Hangzhou Hua An Biotechnology Co., Ltd., Amerika) Siklin (Rabbit Anti- Cyclin B1 polyclonal antibody (bs-0572R) (Bioss Antibodies Inc., Massachusetts Amerika) ve Bcl-2 (Rabbit Anti-Bcl-2 PolyclonalAntibody (bs-4563R) (Bioss Antibodies Inc., Amerika); ile boyandı. Primer antikorlar 1/100 dilüsyonda kullanıldı. Sekonder kit olarak UltraVision Detection System Anti-Polyvalenti HRP kit (TP-060-HL) (Thermo Shandon Limited, Cheshire, İngiltere) ve kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Negatif kontroller için dokular primer antikolar yerine antikor sulandırma sıvıları ile inkübe edildi.

İmmunohistokimyasal incelemeler için seri kesitler polilizinli lamlara alınarak bir gün boyunca kurutuldu. Ardından kesitler ksilol ve dereceli alkollerden geçirilerek deparafinize ve rehidre edildi. Dokular 10 dakika süreyle distile suda yıkandı. Daha sonra dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini gidermek amacıyla %3'lük metanolde hazırlanmış hidrojen peroksit ile 20 dakika inkübe edildi. Ardından tüm dokular 2 defa 10'ar dakika süreyle fosfat tampon solüsyonunda (PBS) yıkandı. Takiben mikrodalga fırında sitrat buffer solüsyonu (pH 6) ile 700'lük ayarda 5 dakika süreyle iki defa kaynatıldı. Dokular 10'ar dakika süreyle 2 defa PBS'te yıkandı. Daha sonra non spesifik boyamaları önlemek amacıyla normal serumda 20 dakika süreyle tutuldu. Bu aşamadan sonra yıkama yapılmadan kesitler üzerine primer serumlar uygulandı ve oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Ardından dokular aynı şekil ve süreyle PBS'te yıkandı, takiben biotinli serum ile 30 dakika süreyle muamele edildi ve PBS'te 2 defa 10'ar dakika yıkandı. Bu işlemten sonra dokular streptoavidin ile 30 dakika süreyle inkübe edildi. Dokular aynı şekil ve süreyle yıkandı. Ardından 1 ml için 1 damla substrat ile hazırlanmış olan DAB (3,3 diaminobenzidine) kromojen ile boyandı. Karşıt boyama için Harris hematoksilen kullanıldı ve preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Hipokampuslarda immün histokimyasal inceleme sonuçları pozitif hücre yüzdesine göre yapıldı. Bu amaçla 5

değişik alandan 20 hücre sayılarak yüzde pozitif hücre sayısı hesaplandı. Buna göre elde edilen sayılara istatistiksel inceleme yapılarak gruplar arası farklar belirlendi. Morfometrik analizler ve mikrofotografi için Database Manual Cell Sens Life Science Imaging Software System (OlympusCo., Tokyo, Japan) kullanıldı.

3.2.12.1. TUNEL Boyaması (Fleuresan Tekniği)

Bu metot için In situ BrdU-Red DNA Fregmantation (TUNEL) Assay Kit (ab66110) (Abcam, İngiltere) kullanıldı. Bu amaçla 5µm kalınlığında alınan ve polilizinli lamlara çekilen kesitler deparafinize ve rehidre edildi. Daha sonra %0,85'lik NaCl ile 5 dakika muamele edildi. PBS ile 5 dakika 2 kez yıkamanın ardından dokular her preparat için 100 µl olacak şekilde 20 µg/ml proteinaz K solüsyonu ile inkübe edildi. Daha sonra oda sıcaklığında 5 dakika ve formaldehit-PBS solüsyonunda inkübe edildi. PBS ile yıkama yapıldı. Ardından 37°C'de 60 dakika boyunca DNA etiketleme solüsyonunda inkübe edildi. Bu işlemin ardından PBS ile yıkanan dokular oda sıcaklığında 30 dakika antikor solüsyonunda inkübe edildi. Daha sonra 7-AAD/RNase A solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Bu işlemlerin ardından zaman kaybetmeden floresan mikroskopta incelendi ve resimler çekildi.

3.2.13. İstatistiksel Analiz

Bulguların istatistiksel analizi için Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 21.0 istatistiksel yazılımı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanıldı. Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma ($\text{Ort} \pm \text{SS}$) ve ortalama±standart hata ($\text{Ort} \pm \text{SH}$) olarak sunuldu. Sürekli verilerin normallik analizi için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Bağımsız grupların karşılaştırılması One-Way ANOVA testi kullanılarak yapıldı. ANOVA testinde anlamlı bir fark ortaya çıktığında, gruplar arasındaki farklılığı belirlemek için post hoc Tukey analizi kullanıldı. Histopatolojik ve immunohistokimyasal çalışmalarda Duncan testi kullanıldı. $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, 7 günlük vetiver yağı uygulaması sonrasında kontrol grubu dışındaki tüm sıçanlara PTZ uygulandı ve deneysel epilepsi modeli oluşturuldu. PTZ uygulaması ile oluşturulan nöbetler video ile kayıt altına alındı. Sıçanların bu kayıtları incelendikten sonra Racine skalasına göre nöbet latans süreleri ve nöbet evreleri belirlendi. EEG kayıtlarına göre ilk epileptik spike (İES) gecikme süresi (spike sayısı / dk), toplam epileptik spike sayısı (toplam spike sayısı / 20 dk) 20 dakika boyunca kaydedildi. Sonraki aşamada, serebral korteks ve serumda oksidan/antioksidan analizler yapıldı. Histopatolojik olarak serebral korteks ve hipokampus değerlendirildi. Ayrıca immunohistokimyasal olarak hayvanların, serebral korteks ve hipokampusunda siklin B1, beta tubulin, GABA_A reseptör pozitif hücre sayısı, Bcl-2 ve TUNEL reaksiyonları incelendi.

4.1. Nöbet Latansı ve Epileptik Nöbet Skorları

Sıçanlara PTZ verildikten hemen sonra kronometre çalıştırılarak Racine skalasına göre nöbet latansını belirlemek amacıyla gözleme dayalı ilk epileptik belirtinin görüldüğü zaman belirlendi ve kayıt altına alındı. Tüm grupların latans sürelerinin grup içi ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 4.1’de verilmektedir.

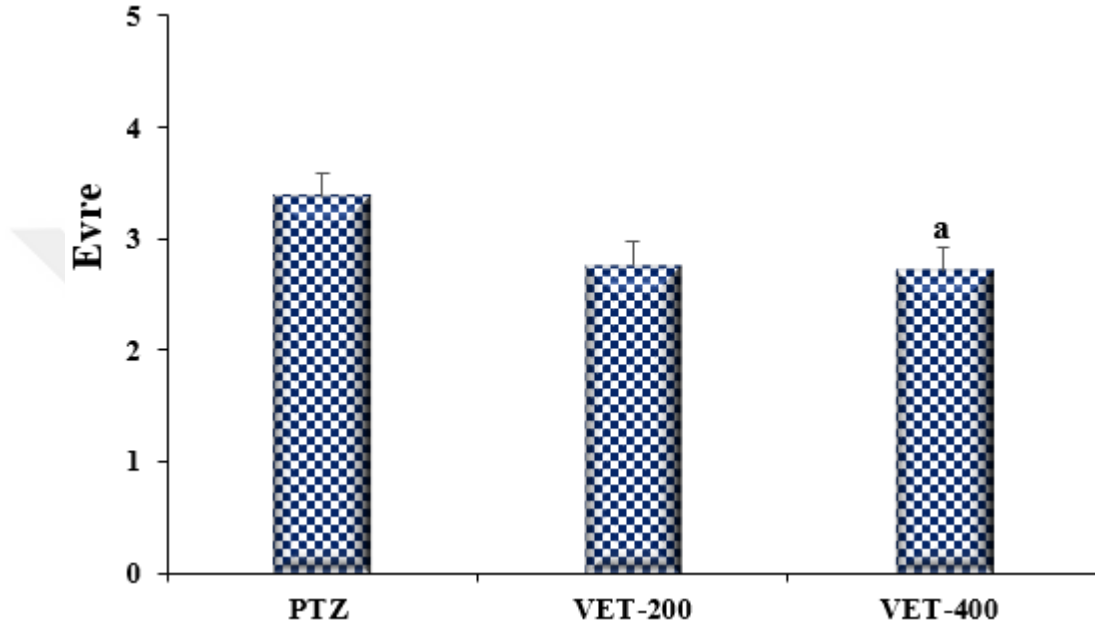
PTZ grubuyla VET-200 grubunun latans süreleri karşılaştırıldığında, VET-200 grubundaki azalma istatistiksel olarak negatif yönde anlamlıdır ($p=0,014$). PTZ grubuyla VET-400 grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,66$). VET-200 ve VET-400 grupları arasında yapılan kıyaslamada VET-400 grubundaki latans süresindeki artış anlamlı bulundu ($p=0,03$).

Tablo 4.1. Grupların Latans Süreleri

	PTZ	VET-200		VET-400	
	Ort±SS	Ort±SS	p değeri	Ort±SS	p değeri
Latans süresi	89,16±46,54	54,58±13,66 ^a	a:0,014	83,33±28,93 ^b	b:0,03

Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur (Ort±SS). Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), b: VET-200 grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$) ifade etmektedir.

Epileptik nöbet skorları; Racine skalasına göre her bir sıçanda hangi evredeki nöbet bulguları kaç kez görülmüş değerlendirilerek hesaplandı. Grafikte görüldüğü üzere VET-200 grubundaki hayvanların nöbet skorları PTZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değilken ($p=0,05$), VET-400 grubundaki hayvanların nöbet skorları PTZ grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük bulundu ($p=0,03$) (Grafik 4.1).

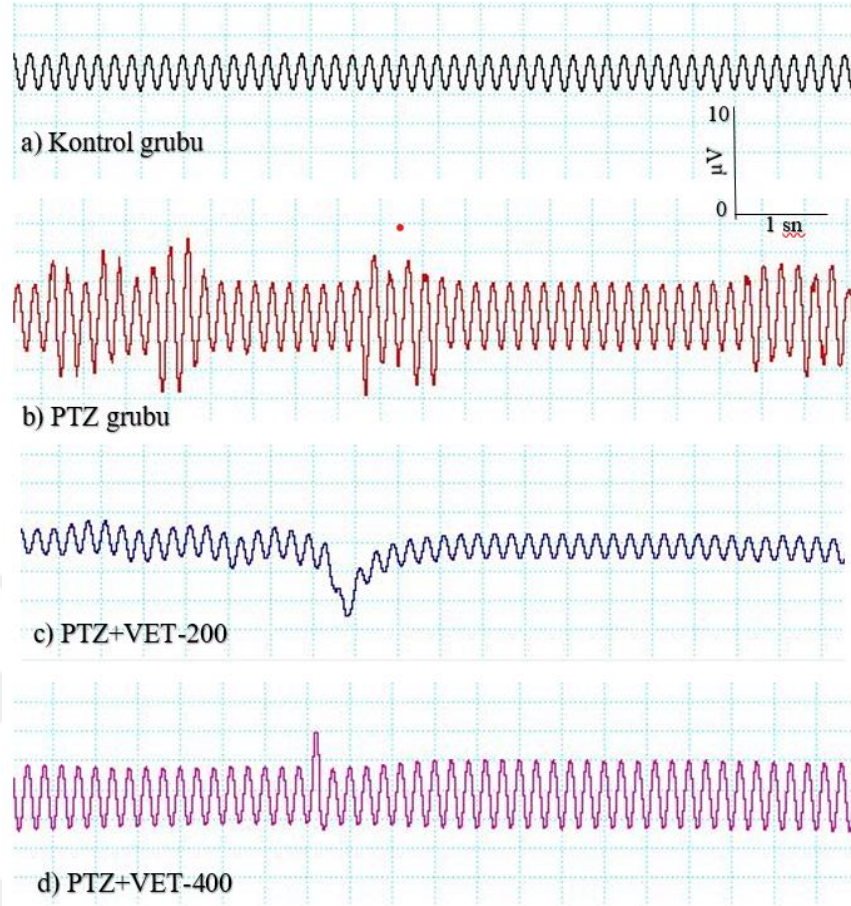


Grafik 4.1. Deney Gruplarına Ait Nöbet Skorları.

Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$) ifade etmektedir.

4.2. Gruplara Ait EEG Kayıt Örnekleri

PTZ ile epileptik nöbet oluşturulan hayvanlardan 20 dakikalık süreyle EEG kayıtları elde edilmesi sonucu örnek EEG kayıtları Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Kontrol Grubu ve Deney Gruplarına Ait 20 Dakikada Elde Edilen EEG Kayıt Örnekleri

4.3. Gruplara Ait İlk Epileptik Spike'ın Gecikme Süresi

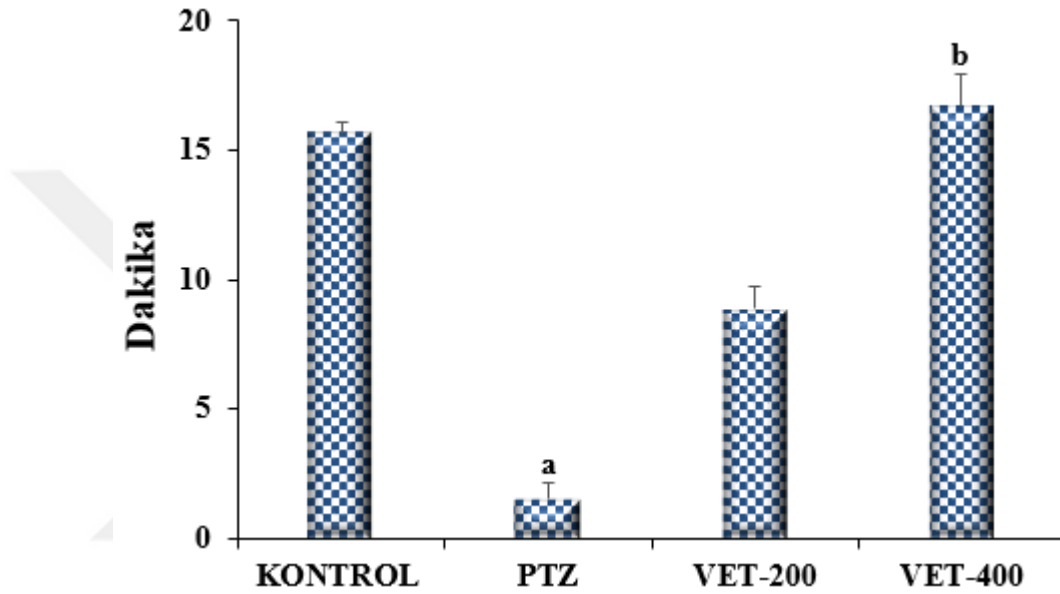
Çalışmamızda, kontrol, PTZ, VET-200 ve VET-400 grubu sıçanların İES gecikme süresinin $\text{ort} \pm \text{SH}$ değerleri sırasıyla $15,65 \pm 0,42$, $1,54 \pm 0,58$, $8,85 \pm 0,90$, $16,67 \pm 1,27$ olarak belirlendi. Gruplar arasında İES gecikme süresi ortalama değerleri karşılaştırıldığında aralarındaki fark anlamlı bulundu ($F_{(4,63)} = 50,93$; $p = 0,007$).

Tablo 4.2. Grupların İES Gecikme Sürelerinin Ortalama $\pm$ Standart Hata Değerleri

	Kontrol	PTZ		VET-200	VET-400	
	Ort $\pm$ SH	Ort $\pm$ SH	p değeri	Ort $\pm$ SH	Ort $\pm$ SH	p değeri
İES Süreleri	$15,65 \pm 0,42$	$1,54 \pm 0,58^a$	a:0,023	$8,85 \pm 0,90$	$16,67 \pm 1,27^b$	b:0,011

Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur (Ort $\pm$ SH). Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p < 0,05$), b: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p < 0,05$) ifade etmektedir.

Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için yapılan Post Hoc Tukey test sonucuna göre, PTZ grubundaki sıçanlarda İES gecikme süresi kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p=0,023$). VET-200 grubundaki İES gecikme süresindeki artış PTZ grubuna göre anlamlı bulunmadı ($p=0,415$). Bununla birlikte, VET-400 grubunun İES gecikme süreleri PTZ grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p=0,011$). VET-200 ve VET-400 grupları arasında yapılan karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,37$) (Grafik 4.2).



Grafik 4.2. Grupların İES Gecikme Sürelerinin Ortalama±Standart Hata Değerleri

Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), b: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$) ifade etmektedir.

4.4. Grupların Toplam Epileptik Spike Sayısı

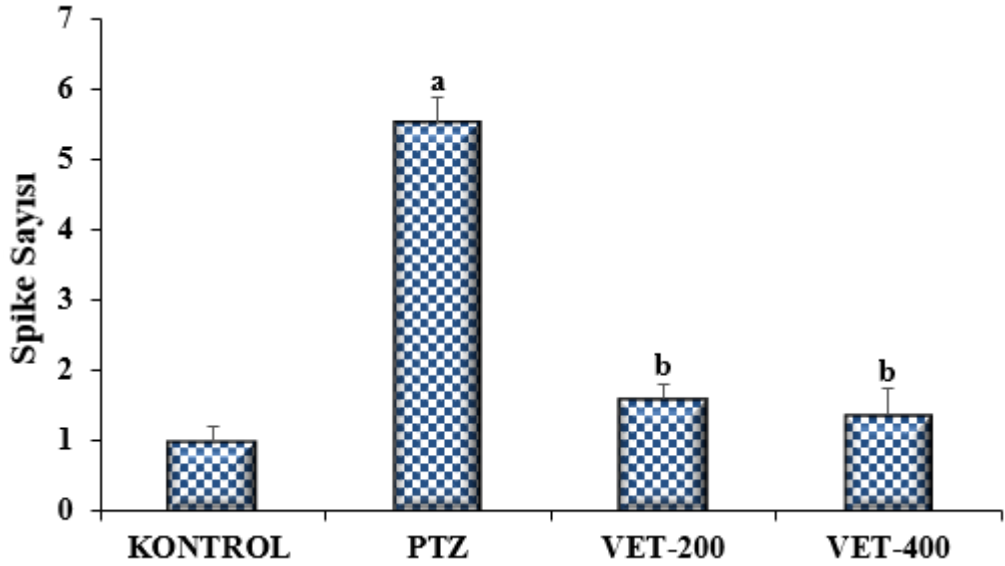
Toplam epileptik spike sayısının ort±SH değerleri kontrol, PTZ, VET-200 ve VET-400 gruplarında sırasıyla $1,00\pm0,18$; $5,50\pm0,36$; $1,60\pm0,18$; $1,36\pm0,37$ olarak belirlendi. Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasındaki fark anlamlı olarak bulundu ($F_{(4,29)}=50,93$; $p=0,009$) ve Tablo 4.3’de sunulmaktadır.

Tablo 4.3. Grupların Toplam Epileptik Spike Sayısı

	Kontrol	PTZ		VET-200		VET-400	
	Ort±SH	Ort±SH	p değeri	Ort±SH	p değeri	Ort±SH	p değeri
Toplam epileptik spike sayısı	1,00±0,18	5,50±0,36 ^a	a:0,018	1,60±0,18 ^b	b:0,011	1,36±0,37 ^b	b:0,029

Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur (Ort±SH). Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), b: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$) ifade etmektedir.

Anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için yapılan Post Hoc Tukey test sonucuna göre, VET-200 ve VET-400 gruplarında toplam epileptik spike sayısı PTZ grubuna göre anlamlı olarak azaldı (sırasıyla; $p=0,011$; $p=0,029$) VET-200 ve VET-400 grupları arasında fark anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Grafik 4.3).



Grafik 4.3. Grupların Toplam Epileptik Spike Sayısı

Veriler ortalama ve standart hata olarak sunulmuştur. Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), b: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$) ifade etmektedir.

4.5. Biyokimyasal Bulgular

4.5.1. Serebral Kortekse Ait TAS, TOS ve OSİ Bulguları

Serebral korteks dokusuna ait oksidatif stres belirteçlerinin istatistiksel analizi Tablo 4.4'de sunulmaktadır.

Bu istatistiksel verilere göre; araştırma gruplarının TAS düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,006$). Serebral korteks TAS düzeylerinin grup içi karşılaştırması yapıldığında kontrol grubuna göre PTZ grubunun TAS düzeyi anlamlı olarak azalmıştır ($p=0,041$). VET-200 grubu, PTZ grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artma gözlemlenirken ($p=0,005$), VET-400 grubu, PTZ grubu ile karşılaştırıldığında TAS değerlerinde PTZ grubuna göre artma gözlemlenmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,056$).

TOS düzeylerine yapılan istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p=0,007$). Serebral korteks TOS değerleri grup içi karşılaştırma yapıldığında PTZ grubunun TOS düzeyi kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmıştır ($p=0,032$). PTZ grubu ile VET-200 ve VET-400 grupları karşılaştırıldığında hem VET-200 grubunda ($p=0,032$) hem de VET-400 grubunda ($p=0,009$) TOS değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü.

Gruplar arasında OSİ sonuçları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,002$). Serebral korteks OSİ değerleri grup içi karşılaştırma yapıldığında PTZ grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak artmıştır ($p=0,010$). VET-200 grubu ($p=0,010$) ve VET-400 grubu ($p=0,004$) ile PTZ grubu karşılaştırıldığında her ikisinde de OSİ değerleri anlamlı olarak azalmıştır.

Tablo 4.4. Serebral Korteks Dokusunun Oksidatif Stres Belirteçleri

Gruplar	TAS (mmol Trolox Eqv/l)		TOS (mmol H ₂ O ₂ Eqv/l)		OSİ (arbitrary units)	
	Ort±SS	p değeri	Ort±SS	p değeri	Ort±SS	p değeri
Kontrol	1,44±0,08		12,62±1,53		8,75±1,04	
PTZ	1,12±0,08 ^a	a:0,041	22,47±13,10 ^a	a:0,032	20,73±13,67 ^a	a:0,010
VET-200	1,54±0,41 ^b	b:0,005	12,59±2,32 ^b	b:0,032	8,72±2,84 ^b	b:0,010
VET-400	1,42±0,15 ^c	c:0,056	10,75±1,43 ^c	c:0,009	7,53±0,67 ^c	c:0,004

Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur (Ort±SS). Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), b: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), c: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$) ifade etmektedir.

4.5.2. Seruma ait TAS, TOS ve OSİ Bulguları

Seruma ait oksidatif stres belirteçlerinin istatistiksel analizi Tablo 4.5’de sunulmaktadır.

Gruplar arası serum TAS değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,002$). Serum TAS değerlerinin grup içi karşılaştırması sonucunda; kontrol grubuna göre PTZ grubunda anlamlı olarak azalma görüldü ($p=0,002$). VET-200 grubu ($p=0,015$) ve VET-400 grubu ($p=0,018$) PTZ grubu ile karşılaştırıldığında ise; her iki grupta da TAS değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulundu.

Gruplar arası TOS değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,004$). Serum TOS değerleri grup içi karşılaştırma yapıldığında; PTZ grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış görüldü ($p=0,027$). PTZ grubu ile VET-200 ve VET-400 grupları karşılaştırıldığında ise; hem VET-200 grubunda ($p=0,021$), hem de VET-400 grubunda ($p=0,006$) TOS değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü.

Gruplar arası OSİ değerleri karşılaştırıldığında yine istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0,000$). Serum OSİ değerleri grup içi karşılaştırma yapıldığında PTZ grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı artış bulundu ($p=0,000$). Ayrıca VET-200 grubu ($p=0,001$) ve VET-400 gruplarıyla ($p=0,000$) PTZ grubu karşılaştırıldığında ise; OSİ değerleri bakımından anlamlı olarak azalma görüldü.

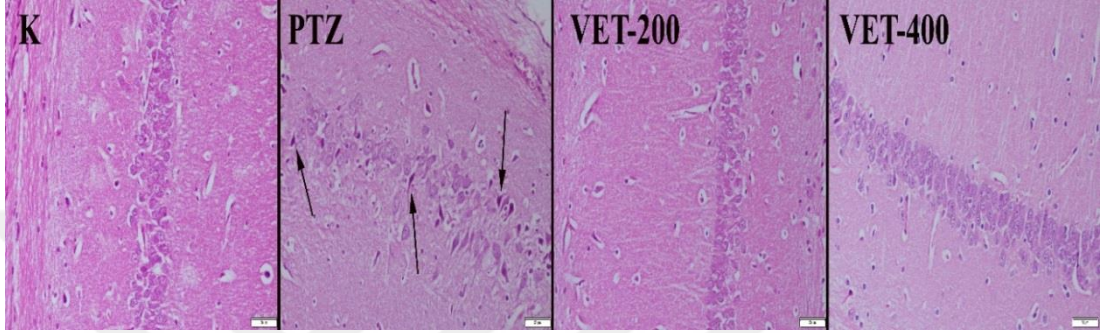
Tablo 4.5. Seruma Ait Oksidatif Stres Belirteçleri

Gruplar	TAS (mmol Trolox Eqv/l)		TOS (mmol H ₂ O ₂ Eqv/l)		OSİ (arbitrary units)	
	Ort±SS	p değeri	Ort±SS	p değeri	Ort±SS	p değeri
Kontrol	1,07±0,4		12,36±1,38		11,48±1,11	
PTZ	0,86±0,19 ^a	a:0,002	15,84±3,36 ^a	a:0,027	19,13±5,68 ^a	a:0,001
VET-200	1,03±0,03 ^b	b:0,015	12,25±2,70 ^b	b:0,021	11,90±2,76 ^b	b:0,001
VET-400	1,02±0,02 ^c	c:0,018	11,62±0,91 ^c	c:0,006	11,29±0,90 ^c	c:0,001

Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur (Ort±SS). Gruplar arasında karşılaştırma one-way ANOVA (Post Hoc Tukey) ile değerlendirilmiştir. a: kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), b: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$), c: PTZ grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ($p<0,05$) ifade etmektedir.

4.6. Histopatolojik Bulgular

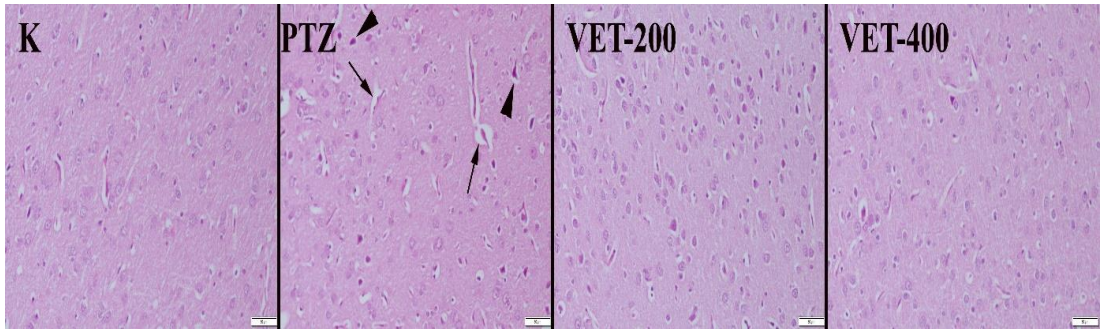
Hipokampus örneklerinin histopatolojik incelemesinde kontrol grubunda normal doku histolojisi saptanırken, PTZ grubunda hipokampusta çok sayıda nöronda dejeneratif değişiklikler dikkati çekti. Damarlarda hiperemi ve çevresindeki dokuda ödem gözlemlendi. VET-200 ve VET-400 gruplarında dejeneratif nöron sayısında azalma görüldü (Resim 4.1).



Resim 4.1. Gruplara Göre Hipokampusların Histopatolojik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda hipokampusun normal histolojisi, (B) PTZ grubunda çok sayıda dejeneratif nöronlar (oklar), (C) VET-200 grubunda dejeneratif nöronlarda azalma, (D) VET-400 grubunda normale yakın mikroskopik görünüm, HE, Bar=50µm.

Serebral korteksinde de benzer şekilde PTZ grubunda dejeneratif nöronlarda artış dikkati çekti. Damarlar çevresinde genişlemeler ve ödem tablosu gözlemlendi. VET-200 ve VET-400 gruplarında normale yakın görünüm saptandı (Resim 4.2).



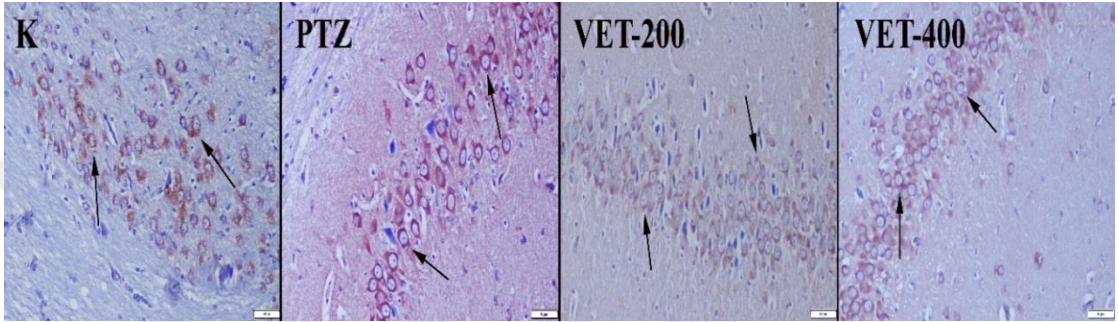
Resim 4.2. Gruplara Göre Serebral Kortekslerinin Histopatolojik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda serebral korteksin normal histolojisi, (B) PTZ grubunda çok sayıda dejeneratif nöronlar (ok başları) ve damarlar çevresinde genişleme ile karakterize ödem tablosu, (C) VET-200 patolojik bulgulara belirgin azalma, (D) VET-400 grubunda normale yakın mikroskopik görünüm, HE, Bar=50µm.

4.7. İmmunohistokimyasal Bulgular

4.7.1. Siklin B1 İmmunohistokimya Bulguları

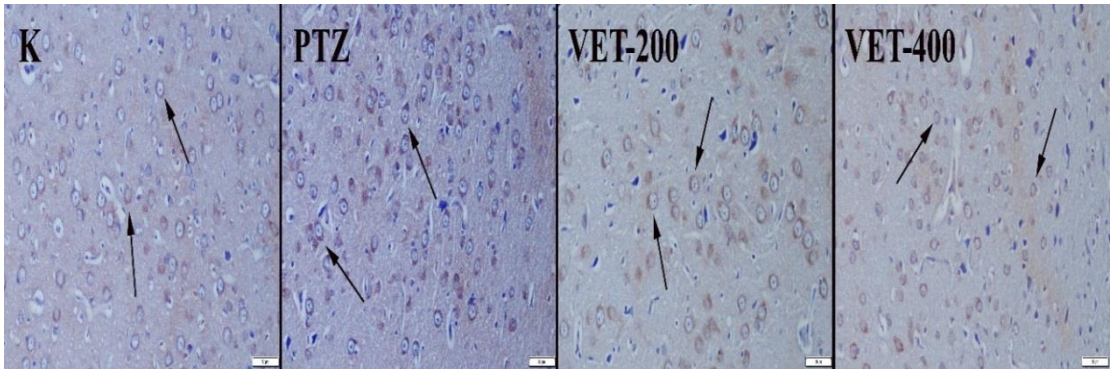
Hipokampus örneklerinin mikroskopik incelenmesinde kontrol grubunda normal ekspresyonlar gözlenirken PTZ grubunda belirgin şekilde ekspresyonun arttığı saptandı. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise ekspresyonların PTZ grubuna göre azaldığı dikkati çekti (Resim 4.3).



Resim 4.3. Gruplara Göre Hipokampus Örneklerinin Siklin B1 Ekspresyonlarının Mikroskopik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda bir hipokampusta normal görünümde ekspresyonlar (oklar), (B) PTZ grubunda hipokampus nöronlarında belirgin şekilde artmış ekspresyon (oklar), (C) VET-200 grubunda ekspresyonlarda azalma (oklar) ve (D) VET-400 grubunda azalmış ekspresyonlar (oklar), Streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50µm.

Serebral kortekslerinin siklin B1 immunoreaksiyonları incelendiğinde PTZ grubunda artış saptanırken VET-200 ve VET-400 gruplarında ekspresyonlarda PTZ grubuna göre belirgin düzeyde azalma dikkati çekti (Resim 4.4).

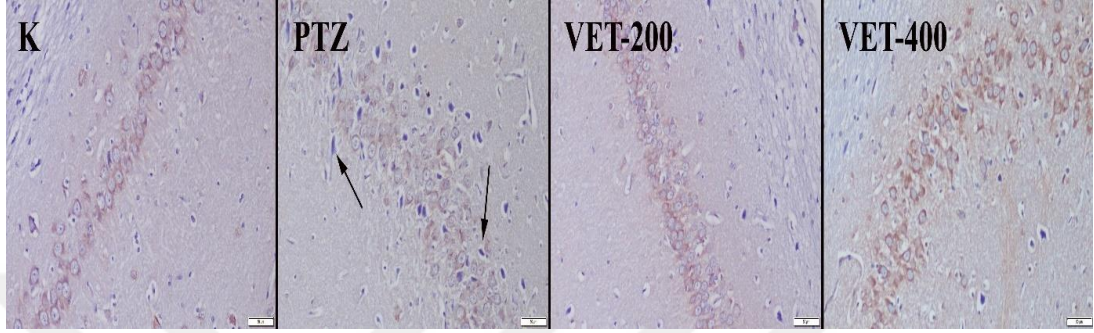


Resim 4.4. Gruplara Göre Serebral Kortekslerinin Siklin B1 Ekspresyonlarının Mikroskopik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda bir sıçanın serebral korteksinde hafif ekspresyonlar (oklar), (B) PTZ grubunda serebral korteksindeki nöronlarda belirgin şekilde artmış ekspresyonlar (oklar), (C) VET-200 grubunda ekspresyonlarda PTZ grubuna göre azalma (oklar) ve (D) VET-400 grubunda normale yakın ekspresyonlar (oklar), Streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50µm.

4.7.2. Beta Tubulin İmmunohistokimya Bulguları

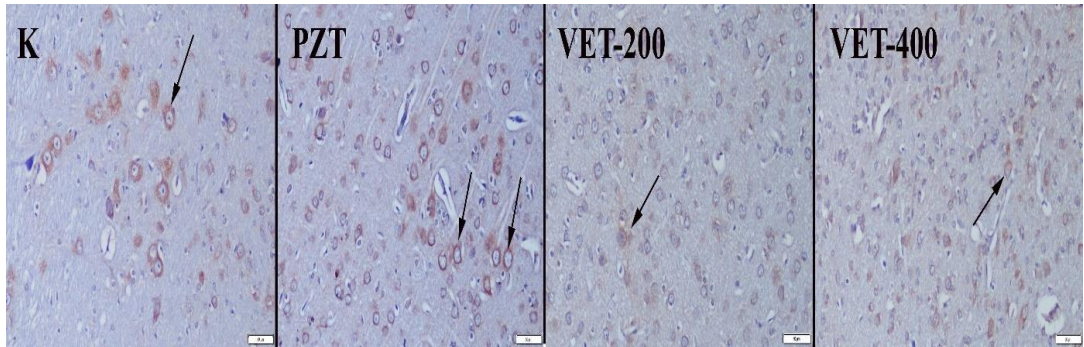
Hipokampusların beta tubulin immunohistokimyasal reaksiyonları incelendiğinde kontrol grubunda belirgin ekspresyonlar gözlemlendi. PTZ grubunda immunohistokimyasal ekspresyonlarda belirgin şekilde azalma gözlemlendi. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise ekspresyonların arttığı saptandı (Resim 4.5).



Resim 4.5. Gruplara Göre Hipokampuslarda Beta Tubulin İmmunohistokimyasal Reaksiyonlarının Mikroskopik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda bir sıçanın hipokampusunda belirgin ekspresyonlar, (B) PTZ grubunda hipokampustaki dejeneratif nöronlarında azalmış ekspresyon (oklar), (C) VET-200 grubunda ekspresyonlarda PTZ grubuna göre artma ve (D) VET-400 grubunda ekspresyonlarda belirgin şekilde artış, Streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50µm.

Serebral kortekslerinin beta tubulin ekspresyonları incelendiğinde PTZ grubunda nöronlarda azalmış immunoreaksiyon dikkati çekti. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise immuno ekspresyonların PTZ grubuna göre arttığı saptandı (Resim 4.6).

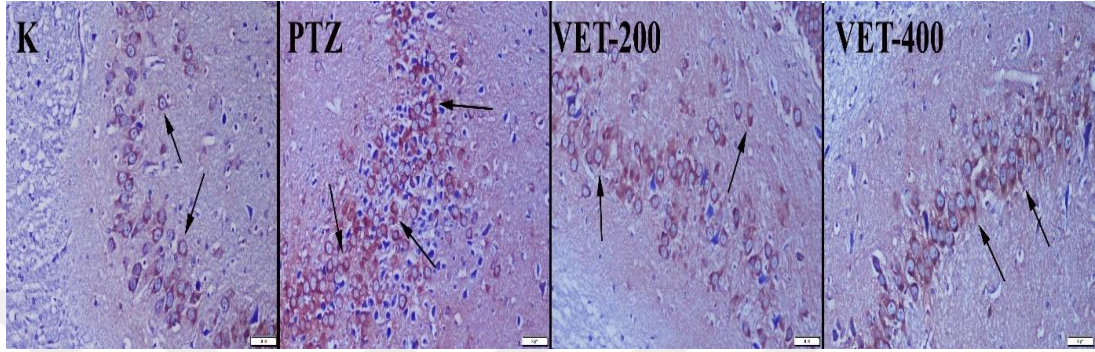


Resim 4.6. Gruplara Göre Serebral Kortekslerinde Beta Tubulin İmmunohistokimyasal Reaksiyonlarının Mikroskopik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda bir sıçanın serebral korteksinde belirgin ekspresyonlar, (B) PTZ grubunda serebral korteksindeki dejeneratif nöronlarda azalmış ekspresyon (oklar), (C) VET-200 grubunda ekspresyonlarda artma ve (D) VET-400 grubunda ekspresyonlarda belirgin şekilde artış, Streptavidin biyotinperoksidaz metodu, Bar=50µm.

4.7.3. GABA_A Reseptör İmmunohistokimya Bulguları

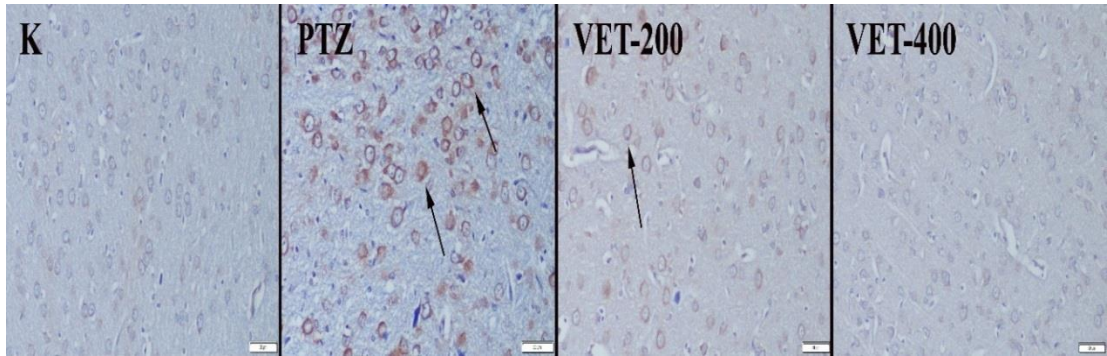
Gruplara göre sıçanların hipokampuslarının GABA_A reseptör ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubunda normal düzeyde olan ekspresyonların PTZ grubunda belirgin şekilde arttığı dikkati çekti. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise ekspresyonların PTZ grubuna göre azaldığı saptandı (Resim 4.7).



Resim 4.7. Grupların Hipokampuslarının GABA_A Reseptör İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda bir sıçanın hipokampusunda normal düzeyde ekspresyon (oklar), (B) PTZ grubunda hipokampusta nöronlarında artmış ekspresyon (oklar), (C) VET-200 grubunda ekspresyonlarda azalma (oklar) ve (D) VET-400 grubunda ekspresyonlarda belirgin şekilde azalma (oklar), Streptavidin biyotinperoksidaz metodu, Bar=50µm.

Serebral kortekslerinin GABA_A reseptör immunoreaksiyonları incelendiğinde PTZ grubunda artmış, VET-200 ve VET-400 gruplarında ise PTZ grubuna göre azalan ekspresyonlar saptandı (Resim 4.8).

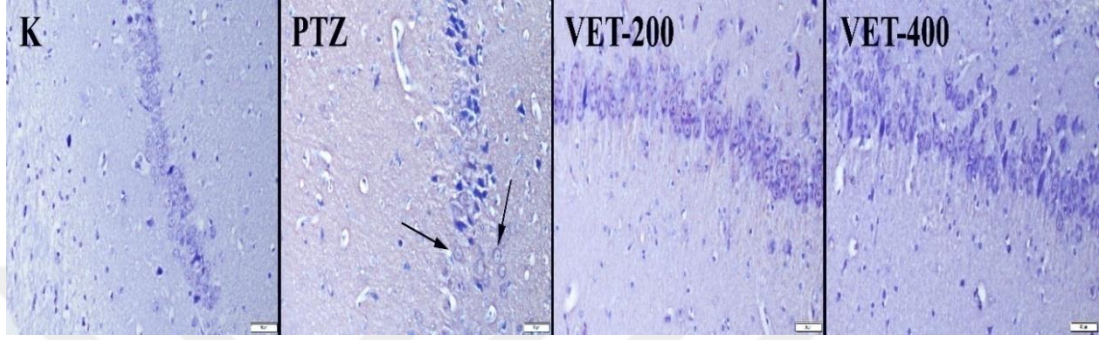


Resim 4.8. Grupların Serebral Kortekslerinin GABA_A Reseptör İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda bir sıçanın serebral korteksinde normal düzeyde ekspresyon, (B) PTZ grubunda serebral korteksindeki nöronlarda artmış ekspresyon (oklar), (C) VET-200 grubunda ekspresyonlarda azalma (oklar) ve (D) VET-400 grubunda ekspresyonlarda belirgin şekilde azalma, Streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50µm.

4.7.4. Bcl-2 İmmunohistokimya Bulguları

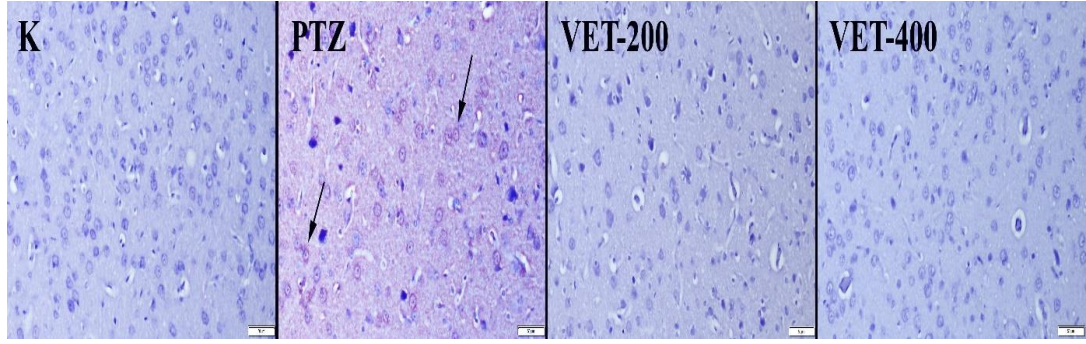
Hipokampus dokularının Bcl-2 immunohistokimyasal bulgularında kontrol grubunda ekspresyon saptanmazken, PTZ grubunda bazı nöronlarda immunoekspresyonların arttığını gösterdi. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise ekspresyonlar önemli ölçüde azalmış veya tamamen ortadan kalkmıştı (Resim 4.9).



Resim 4.9. Gruplara Göre Hipokampuslarının Bcl-2 İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Görünümü.

(A) Kontrol grubunda negatif ekspresyon, (B) PTZ grubunda hipokampusta bazı nöronlarında artmış ekspresyon (oklar), (C) VET-200 grubunda ekspresyonlarda azalma ve (D) VET-400 grubunda negatif ekspresyon, Streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50µm.

Serebral kortekslerinde kontrol grubunda negatif Bcl-2 ekspresyonu gözlenirken, PTZ grubunda ekspresyonların bazı nöronlarda belirgin şekilde arttığı dikkati çekti. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise PTZ grubuna göre ekspresyonların belirgin şekilde azaldığı VET-400 grubunda bazı sıçanlarda ise tamamen negatifleştiği gözlemlendi (Resim 4.10). Gruplara göre immunhistokimya pozitif hücre sayılarının istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4.6 ve 4.7’de gösterilmiştir.



Resim 4.10. Grupların Serebral Korteksinde Bcl-2 İmmunohistokimyasal Bulgularının Mikroskopik Grünümü.

(A) Kontrol grubunda bir sıçanın serebral korteksinde negatif ekspresyon, (B) PTZ grubunda serebral korteksindeki bazı nöronlarda belirgin şekilde artmış ekspresyon (oklar), (C) VET-200 grubunda belirgin şekilde azalmış ekspresyon ve (D) VET-400 grubunda negatif ekspresyon, Streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50μm.

Tablo 4.6. Hipokampus Ait İmmunohistokimyasal Skorların İstatistiksel Analiz Sonuçları

Gruplar	Siklin B1	Beta Tubulin	GABA _A	Bcl-2
Kontrol grubu	58,00±3,12 ^a	69.50±4.76 ^a	62,50±2,12 ^a	0,40±0,16 ^a
PTZ grubu	74,90±3,80 ^b	50.90±3.53 ^b	74,90±2,16 ^b	10,09±4,43 ^b
VET-200 grubu	57,70±1,70 ^a	62.60±2.50 ^c	58,40±2,50 ^c	2,70±0,84 ^a
VET-400 grubu	56,30±3,59 ^a	65.10±2.72 ^c	60,70±1,25 ^a	0,60±0,30 ^a
p değeri	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Gruplar arasında karşılaştırma Duncan testi ile değerlendirilmiştir. Aynı sütunda üst simgeleri aynı olan gruplar istatistiksel olarak benzer, farklı simgesi olan gruplar arası farklar istatistiksel olarak anlamlılığı (p<0,05) ifade etmektedir.

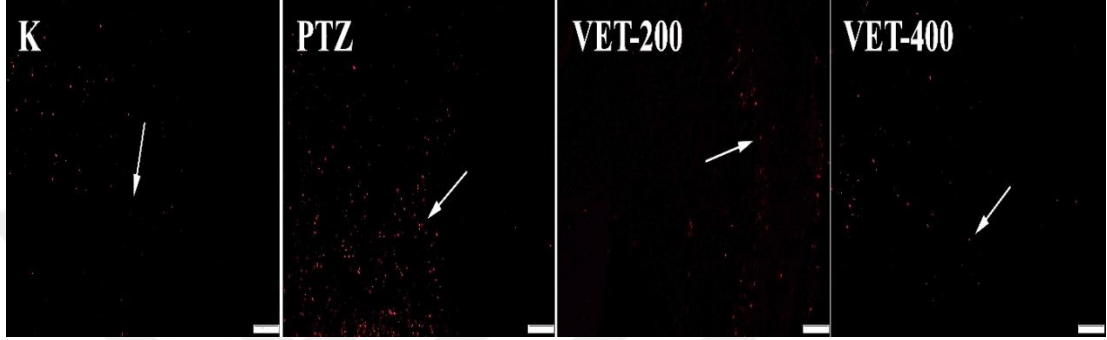
Tablo 4.7. Serebral Kortekse Ait İmmunohistokimyasal Skorların İstatistiksel Analiz Sonuçları

Gruplar	Siklin B1	Beta Tubulin	GABA _A	Bcl-2
Kontrol grubu	53,50±2,75 ^a	65,60±3,65 ^a	68,60±3,53 ^a	0,90±0,40 ^a
PTZ grubu	73,90±2,50 ^b	54,72±1,84 ^b	71,81±1,99 ^b	15,36±2,73 ^b
VET-200 grubu	52,10±3,44 ^a	59,70±4,16 ^c	56,30±2,00 ^c	2,80±1,03 ^c
VET-400 grubu	53,70±1,49 ^a	66,90±2,07 ^a	61,30±4,64 ^d	1,20±0,46 ^{ac}
p değeri	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunulmuştur. Gruplar arasında karşılaştırma Duncan testi ile değerlendirilmiştir. Aynı sütunda üst simgeleri aynı olan gruplar istatistiksel olarak benzer, farklı simgesi olan gruplar arası farklar istatistiksel olarak anlamlılığı (p<0,05) ifade etmektedir.

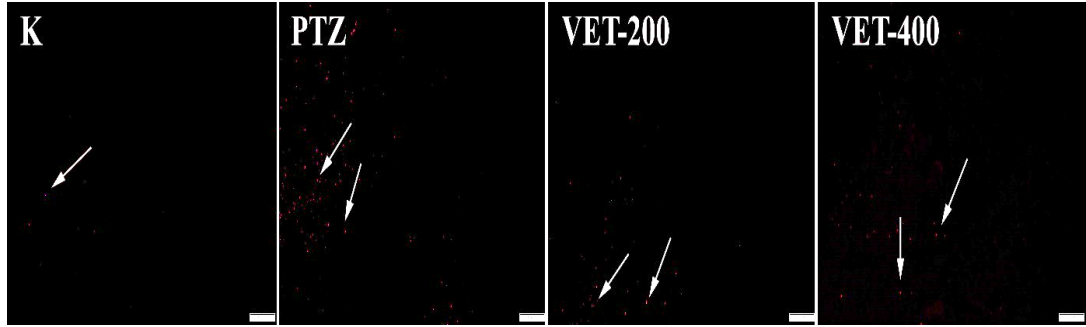
4.7.5. TUNEL İmmunofloresan Bulguları

Gruplara göre TUNEL reaksiyonları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde hem hipokampuslarda hem de serebral kortekslerinde kontrol grubunda hafif olan ışımların, PTZ grubunda belirgin şekilde arttığı dikkati çekti. VET-200 ve VET-400 gruplarında floresan ışımların PTZ grubuna göre azaldığı gözlemlendi (Resim 4.11, Resim 4.12).



Resim 4.11. Grupların Hipokampuslarının TUNEL Reaksiyonunun İmmunofloresans Bulgularının Görünümü.

(A) Kontrol grubunda çok hafif ışımlar (ok), (B) PTZ grubunda ışımalarda belirgin artış (ok), (C) VET-200 grubunda ışımalarda azalma (ok) ve (D) VET-400 grubunda ışımada azalma (ok), TUNEL-BrdURed metodu, Barlar=100µm.



Resim 4.12. Grupların Serebral Kortekslerinin TUNEL Reaksiyonunun İmmunofloresans Bulgularının Görünümü.

(A) Kontrol grubunda çok hafif ışımlar (ok), (B) PTZ grubunda ışımalarda belirgin artış (ok), (C) VET-200 grubunda ışımalarda azalma (ok) ve (D) VET-400 grubunda ışımada azalma (ok), TUNEL-BrdURed metodu, Barlar=100 µm.

Bu çalışma PTZ ile oluşturulan serebral korteks ve hipokampus hasarında VET-200 ve VET-400 uygulamalarının etkili olduğunu göstermiştir.

5. TARTIŞMA

Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize, dünya çapında yaklaşık %1-2'lik bir prevalansa sahip yıkıcı nörodejeneratif bir bozukluktur (128, 129). Bir epileptik nöbet, nöronların hipersenkronizasyonla boşalması ve bunun sebep olduğu beynin geçici fizyolojik disfonksiyonu olarak tarif edilebilir (130, 131). Epileptik nöbetler, eksitatör ve inhibitör nörotransmisyon dengesizliğinden kaynaklanır. (132). Bu dengesizlikten sorumlu ayrıntılı düzenleyici mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Epilepsi için tercih edilen tedavi, AEİ tedavisidir. Yaklaşık %70 epilepsi hastasında, mevcut bulunan antiepileptik ilaçları kullanarak hastalık belirtileri uzun süreli sönebiliyorken (remisyon) (5), geri kalan yaklaşık %30'luk kısım olan ilaca dirençli nöbetlere sahip hastalarda ise bu ilaçlar etkisini gösterememektedir (6). Mevcut farmakolojik tedaviler her zaman etkili değildir ve sıklıkla istenmeyen yan etkilerle ilişkilendirilmektedir (132). AEİ'ler gastrointestinal rahatsızlıklar, uyuşukluk, kızarıklıklar, nadir görülen ancak potansiyel ölümcül olan antikonvulsan hipersensitivite sendromu gibi birçok yan etki ile ilişkilidir (7). Bu nedenle epilepsi için hala yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır.

Vetiver yağının antikonvulsan etkisi olduğu bilinmektedir (133). Hindistan'da ayurveda olarak kullanılmaktadır. Bitkinin farklı kısımları stres, anksiyete, sinirlilik, gerginlik ve uyku hastalıkları, ağız ülseri, ateş, yanma, yılan ısırması, akrep sokması, romatizma, baş ağrısı, güçsüzlük, burkulma, sıtma, asit ve idrar yolu enfeksiyonu tedavisinde kullanılır. Ayrıca insanlarda çeşitli mantar, bakteri enfeksiyonu hastalıklarına ve epilepsiye karşı etkili olduğu bilinmektedir (12, 13).

Bu tez çalışması vetiver yağının antikonvulsan ve antioksidan etkisinden yararlanılarak serebral korteks ve hipokampustaki nörodejenerasyon üzerine etkilerinin olup olmadığının ortaya konulması amacıyla planlanmıştır. PTZ ile deneysel epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanların serebral korteks, hipokampus ve serumlarında oksidatif stres, GABA_A reseptör, apoptozis ve nöbetlere bağlı nöronal ölümler açısından vetiver yağının olası etkileri araştırılmıştır.

Sıçanlarda PTZ ile indüklenen kindling epilepsi modeli üzerine yapılmış, tedavi etken maddesi olarak yabancı hindiba bitki ekstraktı kullanılan bir çalışmada, tedavi grubundaki hayvanlara konvulsif doz PTZ uygulandığında nöbet latansının uzadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada tedavi grubunda PTZ enjeksiyonunun 2. ve 4. uygulamasında nöbet skoru bakımından anlamlı azalma varken, 8. enjeksiyon gününde ise tedavi grubunun nöbet skoru PTZ grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artış görülmüştür (134). PTZ ile indüklenmiş sıçanlarla yapılan diğer bir çalışmada araştırmacılar, PTZ grubundaki sıçanlarda ilk epileptik davranış belirtilerinin görüldüğü latans sürelerinde kontrole göre daha kısalma ve hipereksitabilite olduğunu, tedavi grubunda ise bu sürenin arttığını ve hipereksitabiliteye karşı koruyucu etkileri olduğunu bulmuşlardır (124). Çalışmamızda PTZ grubuyla VET-200 grubunun latans süreleri karşılaştırıldığında, VET-200 grubundaki azalma istatistiksel olarak negatif yönde anlamlıdır. PTZ grubuyla VET-400 grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. VET-200 ve VET-400 grupları arasında yapılan kıyaslamada VET-400 grubundaki latans süresindeki artış anlamlı bulundu. VET-400 grubundaki hayvanların latans süresindeki artışın VET-200 grubuna göre anlamlı ancak PTZ grubuna göre anlamlı bulunamaması vetiver yağının önümüzdeki çalışmalarda daha yüksek dozlarda kullanılması gerektiği fikrini akla getirmektedir. Tedavi gruplarında latans süresinin uzamasının görülmesi beklenmektedir. Bizim çalışmamız latans süresi bakımından çalışmalarla uyumlu değildir.

VET-200 grubundaki hayvanların Racini skorlamasına göre nöbet skorları PTZ grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değilken, VET-400 grubundaki hayvanların nöbet skorları PTZ grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük bulundu. Bu bulgu vetiver yağının yüksek doz kullanıldığı hayvan grubunun nöbeti daha hafif geçirdiğini göstermektedir. Bu konuda literatür taraması yapıldığında çalışmaya rastlanamamıştır. Bu nedenle ileride vetiver yağının farklı ve yüksek doz uygulama çalışmalarının yapılması, nöbet skorlamasına göre epilepsi nöbetini daha hafif geçirip geçirmemesi adına epilepsi tedavisine katkı sağlayacaktır.

Demirci ve ark.'ları PTZ ile epilepsi modeli oluşturulmuş sıçanlarda yaptıkları çalışmada; EEG kayıtlarına bakıldığında toplam epileptik spike sayısı PTZ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Selenyum ve

topiramate kullanılan tedavi grubundaki sıçanlarda ise PTZ grubuna göre anlamlı düşük bulmuşlardır. Yine İES gecikme süreleri incelendiğinde; PTZ grubundaki sıçanlarda İES gecikme süresinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak kısa, tedavi grubundaki hayvanların İES gecikme sürelerinin ise PTZ grubuna göre uzun olduğu saptanmıştır (90). PTZ ile indüklenmiş sıçanlarla yapılan başka bir çalışmada; PTZ grubunda toplam epileptik spike sayısının kontrole göre yüksek, selenyum ve topiramate kullanılan tedavi grubunda ise PTZ grubuna göre düşük olduğu gözlenmiştir (124). Çalışmamızda, PTZ grubundaki sıçanlarda İES gecikme süresinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı bununla birlikte, VET-400 grubundaki sıçanların İES gecikme sürelerinin PTZ grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Ancak, VET-200 grubundaki sıçanların İES gecikme süresindeki artış PTZ grubuna göre anlamlı bulunmadı. Bu durum nöbet skorunda çıkan sonuçla uyumludur. Yani yüksek doz vetiver yağı verilen hayvanların hem nöbeti daha hafif geçirdiği hem de nöbet görülme sürelerinin geciktiği sonucunu göstermektedir. Hem VET-200 ve hem de VET-400 gruplarında toplam epileptik spike sayısı ise PTZ grubuna göre anlamlı olarak azaldı.

Mitokondrial ROS oluşumunun neden olduğu oksidatif stresin epilepsi nöbetleriyle güçlü bir ilişkisi vardır (2). Aşırı serbest radikal salınımından kaynaklanan oksidatif stres epilepsinin başlaması ve ilerlemesinde rol oynar. Bu nedenle epilepsi tedavisinde oksidatif stresi azaltmayı amaçlayan antioksidan tedaviler büyük ilgi görmüştür (28). Birçok çalışmada oksidatif stresin epilepsi etiyolojisinde ve atakların artışında rolü olduğu bildirilmiştir (90-93). PTZ ile oluşturulan deneysel epilepsi nöbet modelinde, oksidatif stresin epilepsi patofizyolojisine dahil edilebileceği gösterilmiştir (9).

Çalışmamızda grupların serebral korteks ve serum dokularında TAS, TOS ve OSI değerlerinin karşılaştırılması sonucu; kontrol grubuna göre PTZ grubunda TAS değerlerinde anlamlı derecede azalma, TOS ve OSI değerlerinde ise anlamlı derecede artma olduğu görülmüştür. VET-200 grubunda PTZ grubuna göre hem serebral kortekste hem de serumda TAS değerlerinde anlamlı artış gözlemlenirken, VET-400 grubundaki sıçanların sadece serumunda TAS değeri bakımından anlamlı artış gözlemlendi. Her iki grubun TOS ve OSI değerlerinde ise anlamlı derecede azalma görüldü. Literatüre bakıldığında epilepside oksidan-antioksidan dengenin bozularak

oksidatif stres geliştiğini ve vetiver bitkisinin oksidatif stresi azalttığını göstermektedir (135). Ancak vetiver yağının epilepsi tedavisiyle ilgili veriler kısıtlıdır. Tarai ve ark.'ları (136) ve David ve ark.'larının (137) yaptıkları çalışmalarda; vetiver yağının serbest radikalleri süpürücü etkisi olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışma sonuçlarımızda; vetiver yağının epileptik nöbet sonucu oluşan oksidatif stresi azalttığını göstermektedir. Nöbet etiyojileri arasında oksidatif stres önemli bir etken olarak değerlendirildiğinde; vetiver yağının oksidatif stresi azaltması ile nöbet aktivitesindeki düşüş arasındaki ilişki dikkate değerdir.

Çalışmamızda serebral korteks ve hipokampus dokularının histopatolojik incelemesinde; kontrol grubunda normal doku histolojisi saptanırken, PTZ uygulamasının bu dokularda hasara neden olduğu gözlenmiştir. PTZ grubunda serebral korteks ve hipokampusta çok sayıda nöronda dejeneratif değişiklikler olduğu dikkat çekmiştir. Damarlarda hiperemi ve çevresindeki dokuda ödem gözlenmiştir. VET-200 ve VET-400 gruplarında hipokampus dokusunda dejeneratif nöron sayısında azalmanın görülmesi, hatta serebral kortekste VET-200 ve VET-400 gruplarında normale yakın görünümlem saptanması, vetiver yağının PTZ'nin oluşturduğu doku hasarlarını anlamlı derecede azaltmış gözlenmesi, histopatolojik hasara karşı koruyucu rolünün olduğunu göstermiştir.

Postmitotik terminal açıdan farklılaşmış nöronlarda ölmeden önce hücre siklusunun aktive olduğu öne sürülmektedir. Hem kemirgenlerde hem de insanlarda, mitotik aktiviteler çeşitli nörodejeneratif durumlarda ölüme giden nöronlarda görülmeye başlar. Siklinler, en önemli hücre döngü düzenleyicileri arasındadır (75). Organizmanın homeostazını sağlamak için apoptozis ve mitoz dinamik bir denge içinde olmalıdır. Apoptozisin aşırı görülmesi ya da gereğinden az olması nörodejeneratif hastalıklar, otoimmün hastalıklar, kanser türlerinin bir kısmı, iskemik hasar dahil olmak üzere birçok hastalığın oluşumunda rol alır. Bu nedenle hücre döngüsü ve apoptozisin kontrolü ile ilgili sinyal yolları araştırılmaya devam etmektedir (138).

TLE üzerine yapılan bir çalışmada, hipokampustaki nöronlarda siklin ekspresyonunun görülmesi, ölmekte olan nöronlarda anormal hücre döngüsünün aktive olabileceği rapor edilmiştir (139). Erkek'in, PTZ ile oluşturulmuş kindling

modeli üzerine yapmış olduğu bir çalışmada; gruplar arasında siklin B1 bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış fakat kontrol grubu ve tedavi grubuna ait sıçanların hipokampusundaki siklin B1 değerlerinin birbirine çok yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu değerlerin sonucunda, tedavide kullandıkları yabani hindiba bitki ekstraktının hipokampusta PTZ indüklü nöbetlere bağlı siklin B1 ekspresyonunu düşürdüğünü savunmuştur (140). Çalışmamızda ise hem serebral kortekslerinin hem de hipokampus örneklerinin mikroskobik incelenmesinde kontrol grubunda siklin B1 ekspresyonun açısından normal ekspresyonlar gözlenirken, PTZ grubunda belirgin şekilde ekspresyonun arttığı saptandı. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise ekspresyonların PTZ grubuna göre azaldığı dikkati çekti. Çalışmamız vetiver yağının tedavi olarak her iki dozunun kullanıldığı hayvan gruplarında siklin B1 ekspresyonunu azalttığını göstermiştir. Farklı iki doz vetiver yağı uygulayarak yapmış olduğumuz çalışmamız Erkeç'in çalışma sonuçları ile uyumludur.

Tubulin proteinler uygun bir kortikal gelişim için önemli, çeşitli hücresel süreçlerde hayati olan nöronal proliferasyon, migrasyon, farklılaşma, kortikal laminer organizasyon, radial gliaların akson büyümesinde anahtar rol oynar (77). Dinamik mikrotübüller, nöronal morfoloji ve işlevi korumak için önemlidir, ancak nöronal aktivitenin dinamik mikrotübüllerin organizasyonunu etkileyip etkilemediği bilinmemektedir (141). Tubulin postsinaptik membranda ligand kapılı iyon kanallarının bulunduğu yerde bulunur. Bu kanallardan biri NMDA reseptörleridir. Bu nedenle NMDA reseptörlerinin açık olma durumu postsinaptik densitedeki tubulin miktarına bağlıdır. Postsinaptik densitedeki tubulin miktarının fazla olması NMDA reseptörlerinin daha az olasılıkla açılması anlamına gelmektedir. NMDA reseptörlerinin açılması katyonların hücre içine akışına ve membranın depolarize olmasına yol açar. Anormal derece açılması ise nöbetlere neden olabilmektedir (142).

PTZ kindling sıçanlarda yapılan bir çalışmada; PTZ grubunda kontrol grubuna kıyasla hipokampuslarında β tubulin değeri bakımından bir azalma olduğunu gözlemlenmiştir (140). Diğer bir çalışmada serebral korteks ve hipokampustaki β tubulin değerleri bakımından PTZ grubunda kontrol grubuna kıyasla bir azalma olduğunu, ökse otunun bitki ekstraktının tedavide kullanıldığı gruptaki sıçanlarda ise PTZ grubuna kıyasla anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır

(143). Pilokarpin indüklü TLE modeli oluşturulmuş sıçanlarla yapılan bir çalışmada postsinaptik densitede α ve β -tubulininin her ikisinin de azaldığını göstermişlerdir (144). Çalışmamızda ise, hem serebral kortekslerinde hem de hipokampus dokularında beta tubulin ekspresyonları incelendiğinde; kontrol grubunda belirgin ekspresyonlar gözlemlendi. PTZ grubunda dejeneratif nöron ekspresyonlarında belirgin şekilde azalma gözlemlendi. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise immuno ekspresyonların PTZ grubuna göre belirgin şekilde arttığı saptandı. Sonuçlarımız literatürdeki çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. VET-200 ve VET-400 gruplarında β tubulin ekspresyonlarının PTZ grubuna nazaran istatistiksel olarak daha yüksek gözlenmesi; vetiver yağının β tubulin bakımından koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir. Tedavi gruplarımızdaki β tubulin değerinin artışı, NMDA reseptörlerinin olasılıkla daha az açılmasına sebep olarak, katyon girişini azalttığı (özellikle Ca^{2+}) ve sonuçta sitozolde Ca^{2+} 'un belirli sınırlarda tutulması ile membran uyarılabilirliğinin, oksidatif stresin ve apoptozisin azalmasına bağlı olarak bu gruplarda nöbet aktivitesinde azalma olduğu şeklinde yorumlanabilir.

GABA_A reseptörleri serebral korteks, bazal gangliyonlar, hipokampus, serebellum ve omurilikteki nöronlarda bulunur. GABA_A reseptörleri, GABA ile uyarıldıklarında İPSP'lerin ortaya çıkmasına neden olurlar. GABA salınımı, Cl⁻'un hücre içine geçişinde artışa neden olur ve bunun sonucunda postsinaptik bölgede hiperpolarizasyona neden olarak sinaptik inhibisyonun ortaya çıkmasını sağlar. GABA_A reseptör sayısı ile inhibe edici sinaptik akımın gücü doğrudan ilişkilidir. Yani reseptör sayısı fazlaysa inhibisyon o kadar kuvvetlidir (46). Hücrelerde reseptör upregülasyonu nöbetlere karşı kompensatuar bir cevap olarak görülmektedir (145).

Loup insan TLE' sinde GABA_A reseptörü üzerine yaptığı çalışmada; epileptik hücrelerde reseptör upregülasyonu olduğunu gözlemlemiştir. Hayatta kalan nöronlarda, tekrarlayan uyarıcı yanıtlarla başa çıkabilmek için nöbetlere yanıt olarak homeostatik mekanizma ile reseptör sayısının arttığını rapor etmiştir (146). PTZ ile indüklenmiş kindling epilepsi modeli üzerine sıçanlarda yapılmış bir çalışmada, PTZ grubunun hipokampus ve serebral korteks dokusunda GABA_A reseptörünü ifade eden nöronların sayısında kontrole göre önemli bir artış bulmuşlardır. Serebral kortekste nöronların GABA_A reseptör yoğunluğu, kontrol grubuna kıyasla PTZ uygulanan gruplarda önemli ölçüde artmıştır (134). Bizim çalışmamızda, gruplara göre

sıçanların hem hipokampuslarının hem de serebral kortekslerinin GABA_A reseptör ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubunda normal düzeyde olan ekspresyonların PTZ grubunda belirgin şekilde arttığı dikkati çekti. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise ekspresyonların PTZ grubuna göre azaldığı saptandı. Sonuçlarımıza göre, PTZ grubu GABA_A reseptör pozitif hücre sayısının hem hipokampusta hem de serebral kortekste yüksek çıkması Loup'un çalışmasını destekler niteliktedir ve nöbetlere karşı reseptör upregülasyonunu akla getirmektedir. Her iki tedavi grubumuzdaki sıçanlarda GABA_A reseptör pozitif hücre sayısının hipokampus ve serebral korteks dokularında düşük çıkması; vetiver yağının epilepsi nöbet oluşumunu geciktirici etkisi olabileceği düşüncemizi desteklemektedir.

Bcl-2'nin ekspresyon düzeyi apoptozisi belirleyen faktörlerden birisidir. Bcl-2 ekspresyonu fazla olan hücreler, apoptozisten kaçabilir (69, 70).

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, epileptik beyin Bcl-2 protein değeri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (130, 147). TLE'li hastalarda, hipokampus sklerotik dokudan alınan örnekler üzerinde yapılan bir çalışmada kontrol grubunda Bcl-2 pozitif hücrelere rastlanmazken, epileptik grupta nöron plazmasında eksprese olmuş Bcl-2 pozitif hücreler görülmüştür (148). Erkeç (140) ve Akcali ve ark.'larının (149) çalışmalarında ise serebral korteks ve hipokampusta Bcl-2 protein değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır. Huang ve ark.'ları PTZ indüklü epileptik sıçanlarla yaptığı çalışmada Bcl-2 ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığını tespit etmişlerdir (150). Bizim çalışmamızda hipokampus dokularının Bcl-2 immunohistokimyasal bulgularında kontrol grubunda ekspresyon saptanmazken, PTZ grubunda bazı nöronlarda immunoekspresyonların arttığı görüldü. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise ekspresyonlar önemli ölçüde azalmış veya tamamen ortadan kalkmıştı. Serebral kortekslerinde kontrol grubunda negatif Bcl-2 ekspresyonu gözlenirken, PTZ grubunda ekspresyonların bazı nöronlarda belirgin şekilde arttığı dikkati çekti. VET-200 ve VET-400 gruplarında ise PTZ grubuna göre ekspresyonların belirgin şekilde azaldığı, VET-400 grubunda bazı sıçanlarda ise tamamen negatifleştiği gözlemlendi. Bu sonuçlar literatürdeki bazı çalışmalarla uyumlu olup, PTZ grubunda, hipokampus ve serebral korteksinde

apoptotik mekanizmalardaki artışa yanıt olarak Bcl-2 miktarının artmış olabileceğini göstermektedir.

Hücre ölümü genellikle apoptozis ve nekroz olarak iki kategoride sınıflandırılır. Nekroz; pasif, katabolik bir süreç ve her zaman patolojik bir olaydır. Apoptozis ise nekrozun tersine, multisellüler organizmalarda fizyolojik şartlar altında oluşur. Gelişimin normal bir parçasıdır ve enerji gerektiren aktif bir sürece sahiptir (151). Apoptozis farklı doku ve hücre tiplerinde oluşabilecek morfolojik ve biyokimyasal seyri ile kompleks bir olgudur (152, 153). Bununla ilişkili biyokimyasal yollarda, protein faktörlerinin, nöronal yaşam ve ölüm arasındaki dengenin düzenlenmesinde önemli rol oynadıkları gözlenmiştir (154).

1990'lı yılların ortalarında nöbetlerin sebep olduğu beyin hasarı konusu araştırmacıların ilgi odağı olmuş, apoptozis ve biyokimyasal mekanizmalar üzerinde durulmuştur. Yapılan ilk çalışmalarda, uzayan nöbetlerden sonra sıçan beyninden alınan doku örneklerinde TUNEL tekniği ve agaroz jel yöntemi kullanılmıştır (155, 156) ve son yıllarda da TUNEL tekniği epilepside apoptozisin belirlenmesinde en yaygın kullanılan tekniklerden biridir. TUNEL testi, terminal deoksinükleotid transferaz'ın (TdT) apoptozisin geç evrelerinde kapsamlı DNA bozulmasına maruz kalan apoptotik hücreleri tespit etmek için tasarlanmış yöntemdir. Yöntem, bir şablondan bağımsız olarak çift sarmallı DNA kırılmalarının kör uçlarını etiketleme yeteneğine dayanmaktadır (157) ve böylece parçalanmış DNA içeren çekirdeklerin görselleştirilmesini sağlar (158).

Meral ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada; PTZ kindling sıçanların serebral kortekslerinde kontrole göre anlamlı şekilde apoptozis olduğu tespit edilmişken hipokampuslarında gruplar arası anlamlı fark bulunamamıştır (145). PTZ kindling epileptik sıçanlar üzerinde yapılmış bir çalışmada, TUNEL pozitif hücre sayısı bakımından tüm serebral korteks dokusu hücrelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (140). PTZ ile indüklenmiş kindling epilepsi modeli üzerine sıçanlarda yapılmış başka bir çalışmada; serebral kortekste apoptotik nöron sayısında PTZ grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış tespit edilemediği rapor edilmiştir (134). Pilokarpın indüklü status epileptikus üzerine yapılmış bir çalışmada (159) ve PTZ indüklü kronik epilepsi modeli oluşturulmuş diğer bir çalışmada (160)

uzamış nöbet aktivitesi sonucu hipokampusta nöronal hücre ölümünün meydana geldiği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise PTZ aracılı kronik epileptik ratların beyinlerinde apoptotik hücrelerin varlığı gösterilmiştir (161). Çalışmamızda gruplara göre TUNEL reaksiyonları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde sıçanların hem hipokampuslarında hem de serebral kortekslerinde PTZ grubunda ışımların belirgin şekilde arttığı, VET-200 ve VET-400 gruplarında floresan ışımların PTZ grubuna göre azaldığı gözlemlendi. Bu sonuçlar literatürdeki bazı çalışmalarla uyumlu olup, PTZ grubu sıçanların hipokampus ve serebral korteks dokularında apoptotik hücrelerin varlığını göstermektedir. Bununla birlikte farklı iki doz vetiver yağının uygulandığı tedavi gruplarındaki sıçanların hipokampus ve serebral korteks dokularında apoptotik hücrelerin daha az görülmesi vetiver yağının apoptozisi önleyici etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Epilepsi, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en sık karşılaşılan kronik nörolojik hastalıklardan biridir. Gerek tek başına gerekse diğer hastalıklara eşlik eden bir semptom olarak mortaliteyi, morbiditeyi iş verimini ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkileyen bir hastalıktır (162). Epilepsi tedavisinde amaç; nöbetlerin sayısını en aza indirmek ve nöbetleri tamamen kontrol altına almak ya da ilaçların yan etkilerini en az seviyede tutarak hastaların yaşam kalitelerini yükseltmektir (163).

Epilepsi hastalığında; vetiver bitkisi ve vetiver yağı ile ilgili literatürde çalışmalar olmasına rağmen, çalışmamızda araştırılan parametrelerden elde edilen veriler açısından bu tez çalışması özgündür ve bilime katkı sağlayacaktır.

Bu tez çalışması, epilepsi tedavisinde kullanılmak üzere *Vetiveria zizanioides* bitkisinden hidrodistilasyonla elde edilen yağın olası antikonvulsan etkilerinin ortaya konması amacıyla gerçekleştirildi. Bu çalışma PTZ ile deneysel epilepsi modeli oluşturulan serebral korteks ve hipokampus hasarında VET-200 ve VET-400 uygulamalarının etkili olduğunu göstermiştir.

Nöbet latans süreleri bakımından, PTZ grubuyla VET-400 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlılık olmamasına rağmen, VET-200 ve VET-400 grupları arasında yapılan kıyaslamada; VET-400 grubunda latans süresindeki artışın anlamlı bulunması vetiver yağının önümüzdeki çalışmalarda daha yüksek ve farklı dozlarda kullanılması gerektiğini düşündürmektedir.

Racini skorlamasına bakıldığında; VET-400 grubundaki hayvanların nöbet skorları PTZ grubuna kıyasla anlamlı biçimde düşük bulundu. EEG bulgularına bakıldığında; İES gecikme süresinin yine VET-400 grubunda uzadığı görüldü. Çalışma sonuçlarımıza göre nöbetlerin şiddetini azaltmada ve epileptik atakların başlama süresini uzatmada VET-400'ün daha etkili olduğunu söyleyebiliriz.

VET-200 grubunda PTZ grubuna göre hem serebral kortekste hem de serumda TAS değerlerinde anlamlı artış gözlemlenirken, VET-400 grubundaki sıçanların sadece serumunda TAS değeri bakımından anlamlı artış gözlemlendi. Her iki grubun TOS ve OSİ değerlerinde ise anlamlı derecede azalma görüldü. Histopatolojik incelemeler sonucu serebral korteks ve hipokampus dokularında hasar

belirtilerinde azalma görüldü. İleride yapılacak biyomoleküler düzey çalışmalar ile bu çalışma desteklenebilir ve rol oynayan mekanizmalar net bir şekilde ortaya konabilir.

Siklin B1, GABA_A reseptör, Bcl-2, TUNEL pozitif hücre sayısı bakımından hem serebral kortekslerinde hem de hipokampus dokularında VET-200 ve VET-400 gruplarında ekspresyonların azaldığı saptandı. Beta tubulin değerleri bakımından hem serebral kortekslerinde hem de hipokampus dokularında VET-200 ve VET-400 gruplarında ise immunoekspresyonların PTZ grubuna göre arttığı saptandı.

Çalışmanın geneline bakıldığında bu sayılan özellikler bakımından sonuç olarak, hem VET-200 hem de VET-400 grubuna ait değerlerin kontrol grubuna yaklaşma eğiliminde olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasında PTZ ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde sıçanların serebral korteks ve hipokampus dokularında hasar olduğu VET-200 ve VET-400 uygulamalarının bu hasarları düzeltmede, nöbet şiddetini azaltmada etkili olduğu, VET-400 uygulamasının ise nöbet belirtilerinin görülme başlangıç anını uzatmada etkili olduğu gösterilmiştir. Vetiver yağı ile ilgili olarak elde edilen sonucun epilepsi tedavisinde faydalı olacağını ve bu alanda yapılacak başka çalışmalara ışık tutabileceğini düşünmekteyiz. Ancak elde edilen olumlu sonuçların tedavide kullanılabilmesi için epilepside farklı dozlarda vetiver yağı kullanımı ile ilgili daha fazla çalışma yapılması ve bu çalışmaların klinik ve moleküler çalışmalarla da desteklenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Williams A. Defining neurodegenerative diseases: Disorders will be named after responsible rogue proteins and their solutions. British Medical Journal 2002; 324(7352): 1465-1466.
2. İlhan A, Gürel A, Armutcu F, Kamisli S, İraz M. Antiepileptogenic and antioxidant effects of *Nigella sativa* oil against pentylentetrazol-induced kindling in mice. Neuropharmacology 2005; 49(49): 456-464.
3. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. 25. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2019, sf 276.
4. Bambal, G. Epilepsi oluşum mekanizmaları. Konuralp Tıp Dergisi 2011; 3(3): 42-45.
5. Brodie MJ, Barry SJE, Bamagous GA, Norrie JD, & Kwan P. Patterns of treatment response in newly diagnosed epilepsy. Neurology 2012; 78(20): 1548-1554.
6. Khan MZ. A possible significant role of zinc and GPR39 zinc sensing receptor in Alzheimer disease and epilepsy. Biomedicine & Pharmacotherapy 2016; 79: 263-272.
7. Perucca P, & Gilliam FG. Adverse effect of antiepileptic drugs. Lancet Neurology 2012; 11(9): 792-802.
8. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z, Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. Journal of Clinical and Experimental Investigations 2015; 6(3): 331-336.
9. Nazıroğlu M. Role of selenium on calcium signaling and oxidative stress-induced molecular pathways in epilepsy. Neurochemical Research 2009; 34(12): 2181-2191.
10. Snigdha M, Kumar, SS, Sharmistha, M, & Deepa, C. An overview on *Vetiveria zizanioides*. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 2013; 4(3): 77.
11. Haridas, P. and Balasubramanian, S., 2008. Vetiver System for Soil and Water Conservation in Tea Plantations Including Selection of Appropriate Planting Material and Other Applications, Indian Vetiver Network, February, Cochin, First Indian National Vetiver Workshop, Vetiver System for Environmental Protection and Natural Disaster Management.
12. Gupta, R, Sharma, KK, Afzal M, Damanhour ZA, Ali B, Kaur R, ... & Anwar F. Anticonvulsant activity of ethanol extracts of *Vetiveria zizanioides* roots in experimental mice. Pharmaceutical Biology 2013; 51(12): 1521-1524.
13. Pareek A, & Kumar A. Ethnobotanical and pharmaceutical uses of *Vetiveria zizanioides* (Linn) Nash: a medicinal plant of Rajasthan. International Journal of Life Science & Pharma Research 2013; 3(4): 12-18.

14. Fisher RS. Animal models of the epilepsies. *Brain Research Reviews* 1989; 14(3): 245-278.
15. Goldman H, Berman RF, Hazlett J, Murphy S. Cerebrovascular responses to pentylenetetrazol: time and dose dependent effects. *Epilepsy Research* 1992; 12(3): 227-242.
16. Üzümlü G, Ateş N, Zıylan YZ. Epileptik aktivite ve kan beyin bariyeri. *Tıp Fakültesi Klinikleri* 1993; 58: 48-51.
17. Park JH, Cho H, Kim H, Kim K. Repeated brief epileptic seizures by pentylenetetrazole cause neurodegeneration and promote neurogenesis in discrete brainregions of freely moving adult rats. *Neuroscience* 2006; 140(2): 673-684.
18. Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT, Georgiou CD, Angelatou F, Matsokis NA. Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus afterpentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neuroscience Letter* 2004; 357(2): 83-86.
19. İlbaşı G, Ateş N, Şahin D, Esen N, Karson A. Tek ve tekrarlanan pentilentetrazol dozlarıyla oluşturulan konvulsiyonlarda epileptik aktivite ve kan-beyin engeli permeabilite değişikliklerinin araştırılması. *Epilepsi* 1997; 3(1-3):11-15.
20. McNamara JO. Cellular and molecular basis of epilepsy. *The Journal of Neuroscience* 1994; 14(6): 3413-3425.
21. Strine TW, Kobau R, Chapman DP, Thurman DJ, Price P, Balluz LS. Psychological distress, comorbidities and health behaviours among U.S. adults with seizures: results from the 2002 National Health Interview Survey *Epilepsia* 2005; 46(7): 1133–1139.
22. Seino M. Classification criteria of epileptic seizures and syndromes. *Epilepsy Research* 2006; 70(1): 27-33.
23. Çelik S. İdiyopatik jeneralize epilepsili hastalarda talamik volumetri ve MR spektroskopik incelemeler. *Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul*, 2008.
24. Mısırlı H. Epilepsili hastalarda yaşam kalitesi. *Epilepsi* 2003; 9(1): 42-46.
25. Jackson JH. Lectures on the diagnosis of epilepsy. *British Medical Journal* 1879; 1(941): 33-36.
26. Gastaut, H. Introduction to electroencephalography, a neurophysiological method applied current clinical practice. *Marseille Medical* 1950; 87(8): 403-405.
27. Reddy DS, Kuruba R. Experimental models of status epilepticus andneuronal injury for evaluation of therapeutic interventions. *International Journal of Molecular Sciences* 2013; 14(9): 18284–18318.

28. Shin EJ, Jeong JH, Chung YH, Kim WK, Ko KH, Bach JH, ... & Kim HC. Role of oxidative stress in epileptic seizures, *Neurochem International* 2011; 59(2): 122–137.
29. Zupec-Kania BA, Spellman E. An overview of the ketogenic diet for pediatric epilepsy. *Nutrition in Clinical Practice*. 2008; 23(6): 589-596.
30. Ficker DM. Sudden unexplained death and injury in epilepsy. *Epilepsia* 2000; 41: 7-12.
31. Topalkara K, Akyüz A, Sümer EH, Bekar D, Topaktaş S, & Dener Ş. Sivas il merkezinde tabakalı örneklem yöntemiyle gerçekleştirilen epilepsi prevalans çalışması. *Epilepsi* 1999; 5(1): 24-29.
32. Köksal A, Öztürk M, Sözen V, Altunkaynak Y, Baybaş S, & Sütpideler N H. Epilepsi polikliniğinde izlenen hastaların ILAE'nin önerdiği yöntemlerle nöbet ve epilepsi tiplerine göre sınıflandırılması. *Epilepsi Dergisi* 2004; 10(3): 149-153.
33. Richens A, Laidlaw J, Chadwick D. A Textbook of Epilepsy, Churchill-Livingstone, 1993, USA.
34. <http://www.itfnoroloji.org/epilepsi/Epilepsi.htm> Erişim tarihi: 28.04.2021
35. Velioğlu S. Epilepsi'de Sınıflamalar. *Türkiye Klinikleri Journal of Neurology-Special Topics*. 2017; 10(1): 24-29.
36. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia* 1989; 30(4): 389-399.
37. Velez L, & Selwa LM. Seizure disorders in the elderly. *American Family Physician* 2003; 67(2), 325-332.
38. Altay EE, Bilir E. Demans ve epilepsi. *Demans Dizisi* 1999; 4: 116-128.
39. Akman O. Geçirilmiş febril konvulsiyonların generalize tonik-klonik ve absans epilepsiler üzerine etkisi. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilim Uzmanlığı Tezi, Kocaeli, 2004.
40. Johannessen S, Graw L, Sillanpää M, Tomson T. Intractable Epilepsy, 1995 Wrightson Biomedical Publishing Ltd., UK.
41. Fisher RS, Cross JH, D'souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, ... & Peltola, J. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 2017; 58(4), 531-542.
42. Baykan B, Gürses C, Gökyiğit A. Nöroloji. Ed: Öge EA. Epilepsi. 2. Basım, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2004; 279-308.
43. Jin H, Wu H, Osterhaus G, Wei J, Davis K, Sha D, ... & Wu JY. Demonstration of functional coupling between γ -aminobutyric acid (GABA) synthesis and vesicular GABA transport into synaptic vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2003; 100(7): 4293-4298.

44. Cherubini E, Conti F. Generating diversity at GABAergic synapses. *Trends Neurosciences* 2001; 24(3): 155-162.
45. Deken SL, Wang D, Quick MW. Plasma membrane GABA transporters reside on distinct vesicles and undergo rapid regulated recycling. *Journal of Neuroscience* 2003; 23(5): 1563-1568.
46. Bora İ, Yeni SN, Gürses C. *Epilepsi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2008.
47. Cloix JF, Hévor T. Epilepsy, regulation of brain energy metabolism and neurotransmission. *Current Medicinal Chemistry* 2009; 16(7): 841-853.
48. Boron WF, Boulpaep EL. *Medical Physiology*, 2e Updated Edition: with Student Consult Online Access. Elsevier Health Sciences 2012.
49. Nutt D. GABA_A receptors: subtypes, regional distribution, and function *Journal of Clinical Sleep Medicine* 2006; 2(2): 7-11.
50. Teichgräber LA, Lehmann TN, Meencke HJ, Weiss T, Nitsch R, Deisz RA. Impaired function of GABA(B) receptors in tissues from pharmacoresistant epilepsy patients. *Epilepsia* 2009; 50(7): 1697-1716.
51. Nayeem N, Green TP, Martin IL, Barnard EA. Quaternary structure of the native GABAA receptor determined by electron microscopic image analysis. *Journal of Neurochemistry* 1994; 62(2): 815-818.
52. Whiting PJ, Bonnert TP, McKernan RM, Farrar S, Bourdelles, BL, Heavens RP., ... & Wafford, K. A. Molecular and functional diversity of the expanding GABA-A receptor gene family. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1999; 868(1): 645-653.
53. Pirker S, Schwarzer C, Wieselthaler A, Sieghart W, Sperk G. GABA_(A) receptors: immunocytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. *Neuroscience* 2000; 101(4): 815-850.
54. Moldrich RX, Chapman AG, De Sarro G, Meldrum BS. Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy. *European Journal of Pharmacology* 2003; 476(1-2): 3-16.
55. Coyle JT, Leski ML, Morrison JH. Diverse role of L-Glutamic acid in brain signal transduction. In *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, 5th ed. (Eds KL Davis, D Charney, JT Coyle, C Nemeroff) 2002: 71-90. Philadelphia, Lippincott Williams- Wilkins.
56. Bauer D, McCullumsmith RE, Meador-Woodruff JH. A role for glutamate receptors, transporters, and interacting proteins in cortical dysfunction in schizophrenia. In *Cortical Deficits in Schizophrenia: From Genes to Function* (Ed. P O'Donnell) 2008: 113-147. New York, Springer.
57. Fatemi SH. Schizophrenia. In *The Medical Basis of Psychiatry* (Eds SH Fatemi, PJ Clayton) 2008: 85-108. Totowa, NJ, Humana Press.
58. Frohlich J, Van Horn JD. Reviewing the ketamine model for schizophrenia. *Journal of Psychopharmacology* 2014; 28(4): 287-302.

59. Ritzen A, Mathiesen JM, Thomsen C. Molecular pharmacology and therapeutic prospects of metabotropic glutamate receptor allosteric modulators. *Basic Clinic Pharmacology and Toxicology* 2005; 97(4): 202-213.
60. Dwivedi Y, Pandey GN. Glutamatergic neurotransmission abnormalities and schizophrenia. In *Handbook of Schizophrenia Spectrum Disorder* (Ed. MS Ritsner) 2011; 87-304. New York, Springer.
61. Stahl SM. Stahl'ın Temel Psikofarmakoloji, Sinirbilimsel Temeli ve Pratik Uygulaması: Psikoz ve Şizofreni (Çeviri Ed. T Alkın). İstanbul Tıp Kitabevi İstanbul, 2013.
62. Meador-Woodruff JH, Kleinman JE. Neurochemistry of schizophrenia: glutamatergic abnormalities. In *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, 5th ed. (Eds KL Davis, D Charney, JT Coyle, C Nemeroff) 2002; 717-728. Philadelphia, Lippincott Williams-Wilkins.
63. Köylü H. Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji. 2. Baskı, İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 2016, Sf. 42-43.
64. Alexander GM, Godwin DW. Metabotropic glutamate receptors as a strategic target for the treatment of epilepsy. *Epilepsy Research* 2006; 71(1): 1-22.
65. Yıldırım A, Bardakcı F, Karataş M, Tanyolaç B. Moleküler biyoloji. 1. Basım, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 2007; 423-443.
66. Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle and cancer. *Science* 1994; 266: 1821-1828.
67. Sherr C, McCormick F. The Rb and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* 2002; 2(2): 103-112.
68. Guimaras CA, Linden R. Apoptosis and alternative deastyles. *European Journal of Biochemistry* 2004; 271: 1638-50.
69. Harbour JW, Dean DC. The Rb/E2F pathway: expanding roles and emerging paradigm. *Genes & Development* 2000; 14(19): 2393-2409.
70. Kaldis P. The cdk-activating kinase (CAK): from yeast to mammals. *Cellular and Molecular Life Sciences* 1999; 55(2): 284-296.
71. Mattson MP. Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2000; 1(2): 120-130.
72. Oppenheim RW. Cell death during development of the nervous system. *Annual Review of Neuroscience* 1991; 14(1): 453-501.
73. Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *New England Journal Medicine* 2003; 348(14): 1365-1375.
74. Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. *Oncogene* 2006; 25(38): 5220-5227.
75. Pavlova T, Stepanichev M, Gulyaeva N. Pentylentetrazole kindling induces neuronal cyclin B1 expression in rat hippocampus. *Neuroscience Letters* 2006; 392(1-2): 154-158.

76. Wu Q, Liu J, Fang A, Li R, Bai Y, Kriegstein AR, Wang X. The dynamics of neuronal migration. *Advances in Experimental. Medicine and Biology* 2014; 800, 25–36.
77. Jaglin XH, Chelly J. Tubulin-related cortical dysgeneses: Microtubule dysfunction underlying neuronal migration defects. *Trends in Genetic* 2009; 25(12): 555-566.
78. Cleveland DW. The multitubulin hypothesis revisited: what we have learned? *The Journal of Cell Biology* 1987; 104(3): 381-383.
79. Panda D, Miller HP, Banerjee A, Banerjee A, Ludueña RF, & Wilson L. Microtubule dynamics in vitro are regulated by the tubulin isotype composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994; 91(24): 11358–11362.
80. Xu X, Shangguan Y, Lu S, Wang W, Du C, Xiao F, ... & Wang X. Tubulin β -III modulates seizure activity in epilepsy. *The Journal of Pathology* 2017; 242(3): 297-308.
81. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 2006; 160(1): 1-40.
82. Wang MY, Dhingra K, Hittelman WN, Liehr JG, deAndrade M, Li DH. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde–DNA adducts in human breast tissues. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 1996; 5(9): 705-710.
83. Halliwell B. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide? *Trends in Biochemical Sciences* 2006; 31(9): 509-515.
84. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry* 2006; 97(6): 1634-1658.
85. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S and Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organization Journal* 2012; 5(1): 9-19.
86. Navarro A, Boveris A. Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative Comparative Physiology* 2004; 287(5): 1244-1249.
87. Özmen İ, Nazıroğlu M, Alici HA, Şahin F, Cengiz M, & Eren I. Spinal morphine administration reduces the fatty acid contents in spinal cord and brain by increasing oxidative stress. *Neurochemical Research* 2007; 32(1): 19-25.
88. Shin EJ, Jeong JH, Chung YH, Kim WK, Ko KH, Bach JH, ... & Kim HC. Role of oxidative stress in epileptic seizures. *Neurochemistry International* 2011; 59(2): 122-137.
89. Ferriero, D.M. Protecting neurons. *Epilepsia* 2005; 46(7): 45–51.

90. Demirci S, Kutluhan S, Nazıroğlu M, Uğuz AC, Yürekli VA, & Demirci K. Effects of selenium and topiramate on cytosolic Ca^{2+} influx and oxidative stress in neuronal PC12 cells. *Neurochemical Research* 2013; 38(1): 90-97.
91. Ghazizadeh V, & Nazıroğlu M. Electromagnetic radiation (Wi-Fi) and epilepsy induce calcium entry and apoptosis through activation of TRPV1 channel in hippocampus and dorsal root ganglion of rats. *Metabolic Brain Disease* 2014; 29(3): 787-799.
92. Sashindranath M, McLean KJ, Trounce IA, Cotton RG, & Cook MJ. Early hippocampal oxidative stress is a direct consequence of seizures in the rapid electrical amygdala kindling model. *Epilepsy Research* 2010; 90(3): 285-294.
93. Hsieh PF, Hou CW, Yao PW, Wu SP, Peng YF, Shen ML, ... & Jeng KC. Sesamin ameliorates oxidative stress and mortality in kainic acid-induced status epilepticus by inhibition of MAPK and COX-2 activation. *Journal of Neuroinflammation* 2011; 8(1): 1-10.
94. Ashrafi MR, Shams S, Nouri M, Mohseni M, Shabani R, Yekaninejad MS, ... & Safaralizadeh R. A probable causative factor for an old problem: selenium and glutathione peroxidase appear to play important roles in epilepsy pathogenesis. *Epilepsia* 2007; 48(9): 1750-1755.
95. Agarwal NB, Agarwal NK, Mediratta PK, & Sharma KK. Effect of lamotrigine, oxcarbazepine and topiramate on cognitive functions and oxidative stress in PTZ-kindled mice. *Seizure* 2011; 20(3): 257-262.
96. Noachtar S, & Rémi J. The role of EEG in epilepsy: a critical review. *Epilepsy & Behavior* 2009; 15(1): 22-33.
97. Fisch BJ, and Pedley TA. Generalized tonic-clonic epilepsies. In Lüders H and Lesser RP. *Epilepsy: Electronical Syndromes*. New York, Springer, 1987: 151-185.
98. Sezer E. Epilepsi teşhisi için eeg sinyal analizi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, (Doç. Dr. Hakan Işık), 2008.
99. Hall JE, Guyton AC. *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyolojisi*. 12. Basım, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2013, 724.
100. Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Dergisi*. 1997; 14(3): 147-186.
101. Garcia MG, Morales IG, Guiu JM. Experimental models in epilepsy. *Neurologia* 2010; 25(3): 181-188.
102. Engel JJ, Schwartzkroin PA. What Should Be Modeled? In: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL, (eds): *Models of Seizures and Epilepsy*. San Diego, Elsevier Academic Press, 2006; 1-14.
103. Contreras D. Experimental models in epilepsy. Elsevier Academic Press, USA. *Revista de Neurologia* 2000; 30: 370-376.
104. Özkan K. Laboratuvar hayvanlarında deneysel epilepsi modelleri. *Izmir Democracy University Health Sciences Journal* 2020; 3(1): 38-51.

105. McCandless DW, FineSmith RB. Chemically induced models of seizures. *Animal Models of Neurological Disease, II Metabolic Encephalopathies and the Epilepsies*. 1992; 22: 133-151.
106. Ari YB, Lagowska Y, Salle SG, Tremblay E, Ottersen OP, Naquet R. Diazepam pretreatment reduces distant hippocampal damage induced by intra-amygdaloid injections of kainic acid. *European Journal of Pharmacology* 1978; 52: 419-420.
107. Straw RN, and Mitchell CL. The effect of pentylenetetrazol on bioelectrical activity recorded from the cat brain. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 1967; 168(2): 456-466.
108. Erdoğan, F, Küçük A, Gölgeli A. Pentilentetrazol İle Oluşturulan Kindling Modelinde Nöbet ve EEG Özelliklerinin Değerlendirilmesi. *Journal of Neurological Sciences [Turkish]*, 2006; 23(2): 84-92.
109. Dhir A. Pentylenetetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Current Protocols in Neuroscience* 2012; 58(1): 9-37.
110. Onat F. Epilepsinin deneysel modelleri. *Epilepsi*. 4. Cilt. İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri, 2008, 37-43.
111. Choua ST, Lai CP, Lin C, Shih Y. "Study of the chemical composition, antioxidant activity and anti-inflammatory activity of essential oil from *Vetiveria zizanioides*." *Food Chemistry* 2012; 134(1): 262-268.
112. National Research Council. *Vetiver Grass: A Thin Green Line against Erosion*, National Research Council Board on Science and Technology for International Development, National Academy Press 1993, Washington, D.C.
113. Anonymous. *Wealth of India: A Dictionary of Indian Raw Materials and Industrial Products*. CSIR 1976, New Delhi, India
114. Karan SK, Pal D, Mishra SK, & Mondal, A. Antihyperglycaemic effect of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash root extract in alloxan induced diabetic rats. *Asian Journal of Chemistry* 2013; 25(3): 1555.
115. Rajeswari G, Rajagopalan V. Evaluation of anti-diabetic effects of *Chrysopogon zizanioides* Linn root extracts in streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *Journal of Science Innovative Research* 2013; 2: 555–574.
116. Lima GM, Quintans-Júnior LJ, Thomazzi SM, Almeida EM, Melo MS, Serafini MR, et al. Phytochemical screening, antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Chrysopogon zizanioides* essential oil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 2012; 22(2): 443–450.
117. Kim HJ, Chen F, Wang X, Chung HY, Jin Z. Evaluation of antioxidant activity of vetiver (*Vetiveria zizanioides* L.) oil and identification of its antioxidant constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53(20): 7691-7695.
118. Fazal H, Ahmad N, Khan MA. Physico-chemical, phytochemical evaluation and DPPH-scavenging antioxidant potential in medicinal plants used for herbal formulation in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany* 2011; 43: 63-67.

119. Subhadradevi V, Asokkumar K, Umamaheswari M, Sivashanmugam AT, Sankaranand R. *In vitro* antioxidant activity of *Vetiveria zizanioides* root extract. Tanzania Journal of Health Research 2010; 12(2): 138-143.
120. Parmar MY, Shah PA, Thakkar VT, Gandhi, TR. Hepatoprotective activity of *V. zizanioides* Linn. against ethanol-induced liver damage in rats. Pharmacognosy Magazine 2008; 4(16): 216.
121. Parmar MY, Shah PA, Thakkar VT, Al-Rejaie S, Gandhi TR. Hepatoprotective potential of methanolic extract of *Vetiveria zizanioides* roots against carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. Digest Journal of Nanomaterials & Biosturctures 2013; 8(2): 835–844.
122. Wang FS, Wen Y & Zhao PF. Comparison of chemical compositions between two essential oils from *Vetiveria zizanioides* by different extraction methods. Food Science 2009; 30(8): 212–214.
123. Kılıcı M, Sayman M, Akbin G, Sentürk S, "Vetiveria zizanioides (L.) Nash'ın EgeBölgesi Koşullarında Adaptasyonun Belirlenmesi", İzmir: Ç.O.B. Orman Toprak Laboratuvar Müdürlüğü, 2004, İzmir.
124. Nazıroğlu M, Kutluhan S, & Yılmaz M. Selenium and topiramate modulates brain microsomal oxidative stress values, Ca^{2+} -ATPase activity, and EEG records in pentylentetrazol-induced seizures in rats. Journal of Membrane Biology 2008; 225(1-3): 39-49.
125. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clinal Biochemistry 2004; 37(2): 112-119.
126. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clinal Biochemistry 2005; 38(12): 1103-1111.
127. Ozgun E, Ozgun G, Eskiocak S, Yalcin O, & Gokmen S. Effect of L-carnitine on serum paraoxonase, arylesterase and lactonase activities and oxidative status in experimental colitis. Türk Biyokimya Dergisi, 2013; 38(2).
128. Schmidt D, Loscher W. Drug resistance in epilepsy: putative neurobiologic and clinical mechanism. Epilepsia 2005; 46(6): 858-887.
129. MC Namara JO. Emerging insights into the genesis of epilepsy. Nature 1999; 399(6738): A15-A22.
130. Henshall DC, Simon RP. Epilepsy and apoptosis pathways. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism 2005; 25: 1557-72.
131. Stafstrom CE. Epilepsy: A review of selected clinical syndromes and advances in basic science. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism 2006; 26(8): 983-1004.
132. Tan GH, Liu YY, Hu XL, Yin DM, Mei L & Xiong, ZQ. Neuregulin 1 represses limbic epileptogenesis through ErbB4 in parvalbumin-Expressing interneurons. Nature Neuroscience 2012; 15(2): 258-266.
133. Kumar P, & Tripathi L. Anticonvulsant Potential of Essential Oil of *Vetiveria zizanioides* Linn. Nash. Asian Journal of Chemistry, 2013; 25(9).

134. Ergül ÖE, Meral İ, Kara M, Eşrefoğlu M, Tok OE, Üstünova S & Armağan M. Effects of *cichorium intybus* on GABA (A) receptors and apoptosis in pentylenetetrazole-induced kindling in rats. *Epilepsi* 2021; 27(3): 131-137.
135. Luqman S, Kumar R, Kaushik S, Srivastava S, Darokar MP, Khanuja SPS. Antioxidant potential of the root of *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 2009; 46: 122-125.
136. Tarai DK, Nayak S, & Karan S. In vitro free radical scavenging activity of *Vetiveria zizanioides*. *Journal of Pharmacy Research* 2010; 3(4): 681-683.
137. David A, Wang F, Sun X, Li H, Lin J, Li P, & Deng G. Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities of *Vetiveria zizanioides* (L.) nash essential oil extracted by carbon dioxide expanded ethanol. *Molecules* 2019; 24(10): 1897.
138. Canpolat F. Apoptoz ve Hücre Siklusu. *Güncel Dermatoloji Dergisi*, 2016; 1(1): 1-17.
139. Nagy Z, & Esiri MM. Neuronal cyclin expression in the hippocampus in temporal lobe epilepsy. *Experimental Neurology* 1998; 150(2): 240-247.
140. Erkeç ÖE. Ratlarda pentilentetrazol ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde yabancı hindiba'nın (*cichorium intybus*) kan ve beyin oksidatif stres, apoptozis, genotoksisite ve DNA hasarı üzerine etkisinin incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van, (Prof. Dr. İsmail Meral), 2014.
141. Kapitein L C, Yau KW, Gouveia SM, van der Zwan, WA, Wulf PS, Keijzer N, ... & Hoogenraad CC. NMDA receptor activation suppresses microtubule growth and spine entry. *Journal of Neuroscience* 2011; 31(22), 8194-8209.
142. Yang JW, Czech T, Felizardo M, Baumgartner C, Lubec G. Aberrant expression of cytoskeleton proteins in hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Amino Acids* 2006; 30(4): 477-493.
143. Güneşer R. Pentilentetrazol ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde ökse otunun (*viscum album l.*) antiepileptik etkilerinin araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van, (Prof. Dr. Mehmet Kara), 2018.
144. Wu X, Zhou Y, Huang Z, Cai M, Shu Y, Zeng C, ... & Zhan Q. The study of microtubule dynamics and stability at the postsynaptic density in a rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Annals of Translational Medicine* 2020; 8(14).
145. Meral İ, Esrefoglu M, Dar KA, Ustunova S, Aydin MS, Demirtaş M, Arifoglu Y. Effects of *Nigella sativa* on apoptosis and GABAA receptor density in cerebral cortical and hippocampal neurons in pentylenetetrazol induced kindling in rats. *Biotechnic & Histochemistry* 2016; 91(8): 493-500.
146. Loup F. GABAA receptors in human temporal lobe epilepsy. *Epileptologie* 2006; 23: 187-194.

147. Uysal H, Cevik IU, Soylemezoglu F, Elibol B, Ozdemir YG, Evrenkaya T, Saygi S, Dalkara T. Is the cell death in mesial temporal sclerosis apoptotic? *Epilepsia* 2003; 44(6): 778-84.
148. Xu X, Shangguan Y, Lu S, Wang W, Du C, Xiao F, ... & Wang X. Tubulin β -III modulates seizure activity in epilepsy. *The Journal of Pathology*, 2017; 242(3): 297-308.
149. Akcali KC, Sahiner M, Sahiner T. The role of bcl-2 family of genes during kindling. *Epilepsia* 2005; 46(2): 217-223.
150. Huang Y, Liu X, Liao Y, Luo C, Zou D, Wei X, ... & Wu Y. MiR-181a influences the cognitive function of epileptic rats induced by pentylenetetrazol. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 2015; 8(10): 12861.
151. Renvoize C, Biola A, Pallardy M, Breard J. Apoptosis: Identification of dying cells. *Cell Biology and Toxicology* 1998; 14(2): 111-120.
152. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: The significance of apoptosis. *International Review of Cytology* 1980; 60: 251-306.
153. Zakeri Z, Bursch W, Tenniswood M, Lockshin RA. Cell death: Programmed, apoptosis, necrosis, or other? *Cell Death and Differentiation* 1995; 2(2): 87-96.
154. Nijhawan D, Honarpour N, Wang X. Apoptosis in neural development and disease. *Annual Review of Neuroscience* 2000; 23(1): 73- 87.
155. Filipkowski RK, Hetman M, Kaminska B, Kaczmarek L. DNA fragmentation in rat brain after intraperitoneal administration of kainate. *Neuroreport* 1994; 5: 1538-1540.
156. Bengzon J, Kokaia Z, Elmér E, Nanobashvili A, Kokaia M, Lindvall O. Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. *Proceedings of The National Academy of Science* 1997; 94(19): 10432-10437.
157. Kyrylkova K, Kyryachenko S, Leid M, & Kioussi C. Detection of apoptosis by TUNEL assay. In *Odontogenesis Humana Press* 2012; 41-47.
158. Loo DT. In situ detection of apoptosis by the TUNEL assay: an overview of techniques. *DNA Damage Detection In Situ, Ex Vivo, and In Vivo* 2011; 3-13.
159. Wang C, Xie N, Wang Y, Li Y, Ge X, Wang M (2015). Role of the Mitochondrial Calcium Uniporter in Rat Hippocampal Neuronal Death After Pilocarpine-Induced Status Epilepticus. *Neurochemical Research*, 2015; 40(8): 1739-1746.
160. Liao ZJ, Liang RS, Shi SS, Wang CH, Yang WZ. Effect of baicalin on hippocampal damage in kainic acid-induced epileptic mice. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016; 12: 1405-1411.
161. Li P, Wang X, Zhang J (2018). Baicalein administration protects against pentylenetetrazole-induced chronic epilepsy in rats. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2018; 17(2): 293-298.

162. Yılmaz H, Mavioğlu H, Tosun C, Okudur İ. Epilepsi olgularımızın demografik ve klinik özellikleri: poliklinik tabanlı bir çalışma. Düşünen Adam 2000; 13(3): 180-184.
163. Şenol GM, Gün İ, & Saraçoğlu M. Hasta bakış açısı: Epilepsi hakkında bilgi ve anlayış. Nobel Medicus 2011; 7(1): 94-101.



EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
10.09.2019	10	05

SDÜ Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 10.09.2019 tarihinde saat-09:30'da toplanarak aşağıdaki kararlar alınmıştır;

Karar: 05- Proje Yürütücüsü: Doç.Dr. Nurhan GÜMRAL (SDÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji A.D) Yürüttüğü, Yürütücülüğünde,

Yardımcı Araştırmacılar: Gurbet Pınar POLAT, Prof. Dr. Özlem ÖZMEN, Doç. Dr. Mustafa SAYGIN, Doç. Dr. Ömer ÇELİK ve Dr. Rahime ASLANKOÇ'un yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı **"Sıçanlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Deneysel Epilepsi Modelinde Vetiver Bitkisinin (*Vetiveria zizanioides*) Etkilerinin Araştırılması"** başlıklı SDÜ Bilimsel Araştırma Projesi, oybirliği ile **UYGUNLUĞUNA** karar verilmiştir.

Doç.Dr. Kanat GÜLLE Başkan	Doç. Dr. İbrahim Metin ÇİRİŞ Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Mühlre ÇAKIR ÜYE
KATILMADI Prof. Dr. M. Çağrı SAVAŞ ÜYE	Doç. Dr. Uyesi Omer ÇELİK ÜYE	KATILMADI Doç. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ ÜYE
Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE	Doç. Dr. Müge ÇİNA AKSOY ÜYE	Öğ. Gör. İbrahim ONARAN (HÜDAL Sorumlu Veteriner Hekimi) ÜYE
Vet. Hekim Ramazan ÇELİK SIVİL ÜYE	KATILMADI Orman Müh. Serkan GÖNENÇ SIVİL ÜYE	

Ek 2. Vetiver Yağı Analiz Raporu



T.C.

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü

Uçucu Bileşen Sonuç Raporu

03.04.2018

Ürün Adı: Art de Huile Vetiver Vetiveria Zizanioides Vetiver Uçucu Yağı

Ürün Sahibi: ARIN DERİN SAĞLIK HİZMETLERİ

Analizi Talep Eden: ARIN DERİN SAĞLIK HİZMETLERİ

Numunenin Laboratuvara Geliş Tarihi ve Saati: 27.03.2018 – 11.00

Numunenin Analiz Başlangıç-Bitiş Tarihi: 29.03.2018-30.03.2018

Bileşen	%
Ylangene	0,033
Aroamdendrene	0,021
TRICYCLO[4.1.0.0(2,4)]OCT-5-ENE, 3,3,5,6,8,8- HEXAMETHYL-	1,091
Caryophyllene	0,099
5-Acetyl-4-ethylisobenzofuran	0,156
5-ACETYL-6-METHYL-BENZIMIDAZOLONE	1,289
s-Triazolo[4,3-a]pyridine, 3,5,7-trimethyl-	3,337
Benzene, 1,2,4,5-tetraethyl-	1,306
Bicyclo[5.2.0]nonane, 2-methylene-4,8,8-trimethyl-4-vinyl-	0,396
.alpha.-Murolene	2,053
1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4- methylene-, [1aR-(1a.alpha.,4a.beta.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	0,895
.gamma.-Cadinene /Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7- methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)- (CAS) 4-METHYLENE-1-(1- METHYLETHYL)-	1,333
.delta.-Cadinene / Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7- dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)- (CAS)	1,475
.alpha.-Gurjunene / 1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b- octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR- (1a.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,7b.alpha.)]- (CAS)	0,230
Benzene, 1-(1-methylethenyl)-2-(1-methylethyl)-	2,087
1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,6,7,7a,7b-hexahydro- 1,1,7,7a-tetramethyl-, (1aR,7R,7aR,7bS)- (CAS) / 1,2,9,10- Tetradehydroaristolane	2,646
1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,6,7,7a,7b-hexahydro-	1,346

1,1,7,7a-tetramethyl-, (1aR,7R,7aR,7bS)- (CAS) / 1,2,9,10-Tetradehydroaristolane	
.ALPHA.-CALACORENE	0,728
2-(2,5-Dimethylphenyl)cyclohexanone	0,947
Cadina-1(10),6,8-triene	0540
2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-4a-methyl-3-oxo-1H-benzocycloheptene	0,126
Cyclooctene, 3-(1-methylethenyl)-	0,184
(4S,5R)-5-Hydroxycaryophyll-8(13)-ene-4,12-epoxide	0,113
2,6,9,9-Tetramethyltricyclo[6.3.0.0(4,8)]undecan-1-ol	0,376
Safranal	0,430
Alloaromadendrene/1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a.alpha.,4a.beta.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]- (CAS)	0,146
1-Methyl-6-(3-methylbuta-1,3-dienyl)-7-oxabicyclo[4.1.0]heptane	0,130
Valencene	0,253
Ledene/1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]-/Viridiflorene	0,671
Junipene \$ 1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.)]- (CAS)/ (+)-Longifolene/Kuromatsuen	0,633
Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-(./-./-)	0,666
Valerenol	1,592
2-Naphthalenemethanol, decahydro-.alpha.,.alpha.,4a-trimethyl-8-methylene-, [2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.)]-	0,641
12-METHYL-1-(1'-PROPYNYL)-1(E)-CYCLODODECENE	1,311
Calarene/ 1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,7.alpha.,7a.alpha.,7b.alpha.)]- (CAS) /.beta.-Gurjunene/1(10)-Aristolene, (+)-	0,583
(3E)-5-isopropylidene-2,7-dimethyl-6-oxa-1,3,7,10-undecatetraene/1,3,5-Heptatriene, 2,6-dimethyl-5-[(1-methyl-1,4-pentadienyl)oxy]-, (?E)- (CAS)	1,260
Germacrene D	0,771
1,4-Methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,8a.beta.)]-	3,074
(3S,4R,5S,6R,7S)-Aristol-9-en-3-ol/1H-Cyclopropa[a]naphthalen-6-ol, 1a,2,4,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-, [1aS-(1a.alpha.,6.alpha.,7.alpha.,7a.alpha.,7b.alpha.)]- (CAS)	0,452
9,10-DEHYDRO-ISOLONGIFOLENE	1,387
Dimethyl-1,2-dicyano-3-methyl-1,2-cyclopropanedicarboximidate/1,2-Cyclopropanedicarboximide acid, 1,2-dicyano-3-methyl-, dimethyl ester (CAS)	2,844

DEHYDROAROMADENDRENE	1,313
Clovene / 3a,7-Methano-3aH-cyclopentacyclooctene, 1,4,5,6,7,8,9,9a-octahydro-1,1,7-trimethyl-, [3aR-(3a.alpha.,7.alpha.,9a.beta.)]- (CAS)	2,397
Dimethyl-1,2-dicyano-3-methyl-1,2-cyclopropanedicarboximide/1,2-Cyclopropanedicarboximide acid, 1,2-dicyano-3-methyl-, dimethyl ester (CAS)	0,950
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]-	1,550
cis-.alpha.-Copaene-8-ol/ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-8-en-4-ol, 2,8-dimethyl-5-(1-methylethyl)-, stereoisomer	6,388
4,6,6-Trimethyl-2-(3-methylbuta-1,3-dienyl)-3-oxatricyclo[5.1.0.0(2,4)]octane	3,978
7-(1-methyl-ethenyl)-1-hydroxy-1,4-dimethyl-1,2,4,5-[3H,6H]octahydroazulene	3,905
12-METHYL-1-(1'-PROPYNYL)-1(E)-CYCLODODECENE / Cyclododecene, 12-methyl-1-(1-propynyl)-, (E)-(.+.-)- (CAS)	5,947
Isokhusenic acid/1H-3a,6-Methanoazulene-3-carboxylic acid, 2,3,4,5,6,7-hexahydro-7,7,8-trimethyl-, [3S-(3.alpha.,3a.alpha.,6.alpha.)]- (CAS)	9,123
Khusenic acid/ 1H-3a,6-Methanoazulene-3-carboxylic acid, octahydro-7,7-dimethyl-8-methylene-, [3S-(3.alpha.,3a.alpha.,6.alpha.,8a.alpha.)]- (CAS) /Zizanoicacid/Vetivenicacid	21,222
.alpha.,.beta.,.beta.-Trimethylstyrene	2,582

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Gurbet Pınar POLAT

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü (2004-2008)

Yüksek Lisans Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi / Tıp Fakültesi / Temel
Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı
(2008-2012)

Doktora Öğrenimi : Süleyman Demirel Üniversitesi / Tıp Fakültesi / Temel
Tıp Bilimleri Bölümü Fizyoloji Ana Bilim Dalı
(2016-2022)

Yabancı Dil(ler) ve Düzeyi

İngilizce (orta düzeyde)

İş Denevimi

Patoloji A.B.D. Kısmi Zamanlı Öğrenci; S.D.Ü. Araştırma ve Uygulama Hastanesi
(2009-2010).

Biyoloji Öğretmenliği; Burdur Birey Dershanesi (2010-2011).

Öğretim Görevlisi; İstanbul Gelişim Üniversitesi (2012-2015).

Okul Müdürü; Özel Kars Çözüm Ortaokulu (2016-2017).

İdari Görevler:

Diyaliz Program Başkanlığı; Gelişim Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu

Perfüzyon Teknikleri Program Başkanlığı; Gelişim Üniversitesi Sağlık Hizmetleri
Meslek Yüksekokulu

Anestezi Program Başkanlığı; Gelişim Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu

Okul Müdürü; Özel Kars Çözüm Ortaokulu

Bilimsel Yayınlar ve Çalışmalar

Posterler:

Aslan KP, **Polat GP**, Oksay T, Calapoğlu ŞN, Prostat kanserli ve benign prostat hiperplazili hastalarda TGF β polimorfizminin değerlendirilmesi, 12. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 27-30 Ekim 2011, Antalya.

Sözlü Bildiriler:

Yavuz Türel G, Aşçı Çelik D, Aslan Koşar P, **Polat GP**, Şahin Calapoğlu N. Prostat kanseri ve Ku80 -1401G/T polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 27-30 Ekim 2013. Kuşadası, PS-06 27, 282.

Polat GP, Aslankoç R. İyon kanalları, ikinci haberciler ve kalsiyumun fizyopatolojideki yeri, 1st International Health Sciences and Life Congress, 2-5 May 2018, Burdur.

Polat GP, Kamiloğlu NN. Deneysel Araştırmalarda Hücre Kültürü Modelleri ve Tümör Hücre Kültürü Modelleri, Avantaj ve Dezavantajları, 1st International Health Sciences and Life Congress, 24-27 April 2019, Burdur.

Saygın M, Aslankoç R, Yalçın A, Yağcı Ü, **Polat GP** Sağlık hizmetleri meslek yüksekokulu fizyoloji eğitime öğrenme biçemlerinin etkisi, 1st International Health Sciences and Life Congress, 2-5 May 2018, Burdur.

Yalçın A, Yağcı Ü, Aslankoç R, **Polat GP**, Saygın M. Ebelik bölümü öğrencilerinde öğrenme biçemi, 1st International Health Sciences and Life Congress, 2-5 May 2018, Burdur.

Yağcı Ü, Yalçın A, Aslankoç R, **Polat GP**, Saygın M, Hemşirelik bölümü öğrencilerinde öğrenme biçemi, 1st International Health Sciences and Life Congress, 2-5 May 2018, Burdur.

Saygın M, Aslankoç R, Yalçın A, Yağcı Ü, **Polat GP**, Keskin T. Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümünde Fizyoloji Eğitimine Öğrenme Biçemlerinin Etkisi, 1st International Health Sciences and Life Congress, 2-5 May 2018, Burdur.

BAP VE TÜBİTAK Destekli Araştırma Projeleri:

1. Prostat kanserli ve benign prostat hiperplazili hastalarda TGF β polimorfizminin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tez Projesi (Araştırmacı) / Proje No: 2437-10 / BAP Projesi.
2. Sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde vetiver bitkisinin (*vetiveria zizanioides*) etkilerinin araştırılması. Doktora Tez Projesi (Araştırmacı) / Proje No: 2019-7361 / BAP Projesi.

KONFERANSLAR:

1. Süleyman Demirel Üniversitesi 11. Üniversiteler Arası Biyoloji Konferansı, 2007, Isparta.

KONGRELER:

1. 12. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 2011, Antalya.
2. 1. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi, 2018, Burdur.
3. 2. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Yaşam Kongresi, 2019, Burdur.
4. 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Antalya.

SERTİFİKALAR:

1. Deney hayvanları kullanımı sertifikası, 2015, Sertifika no: 3 / 91.
2. İlk yardım eğitmenliği sertifikası, 2015, Sertifika no: 2014 / 68016/065-88.
3. Pedagojik formasyon eğitimi sertifikası, 2016, Sertifika no: 90293528 / 612.
4. Elektroşok (OED) cihazı kullanımı eğitimi sertifikası, 2021.