

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HYALURONİK ASİTİN PENİSİLİNLE UYARILAN
DENEYSEL EPİLEPSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Hazırlayan
Zeynep OĞUZ**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir TAŞDEMİR**

Yüksek Lisans Tezi

**Şubat 2024
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**HYALURONİK ASİTİN PENİSİLİNLE UYARILAN
DENEYSEL EPİLEPSİ ÜZERİNE ETKİSİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hazırlayan
Zeynep OĞUZ**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir TAŞDEMİR**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FYL-2023-12245 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Şubat 2024
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Zeynep Oğuz

“Hyaluronik Asitin Penisilinle Uyarılan Deneysel Epilepsi Üzerine Etkisi” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Zeynep OĞUZ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir TAŞDEMİR

Biyoloji ABD Başkanı

Prof. Dr. Abdurrahman AYVAZ

TEŞEKKÜR

Birçok yeni çalışmaya ve hayata dokunmasını umduğum bu tezin başından sonuna kadar süreçlerin her birinde fazlaca insanın desteği, teşviği ve emeği var. Benden yardımlarını esirgememiş güzel insanlara gönülden teşekkürlerimi sunmak için bu sayfayı bir fırsat olarak kullanmak isterim. Ayrıca bu sürecin ortalarında epilepsi nedeniyle çok genç yaşta yitirdiğimiz canım kuzenim Sezgin'im, tez çalışmam boyunca kalbimin, vicdanımın ve umudumun en büyük ışığı sendin.

Danışmanlığımı üstlenen, sürecin başından sonuna kadar merakımı, gayretimi canlandıran ve hep öyle kalması için desteğini esirgemeyen, karamsarlığa kapıldığım anlarda bana ışık olan, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım çok değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir TAŞDEMİR'e, yol göstericiliği, çok kıymetli perspektif ve destekleri için Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ'a,

Hakkını asla ödeyemeyeceğim, bugünlere gelmemde kuşkusuz en büyük emeğe sahip olan kıymetlim, annem Gülşen Yılmaz'a, hayatım boyunca beni hep destekleyen babam Sedat Yılmaz'a; tüm olgunluğu ve sakinliğiyle bana her daim güç olan canım kız kardeşim Aylin'e;

Desteğini, motive edici konuşmalarını eksik etmeyen, her daim anlayışlı ve ne zaman düşsem kaldıran güç kaynağım, hayat arkadaşım, eşim Çağatay'a; süreç boyunca ona ayırmam gereken vakitlerden aldığım, buna rağmen hep uyumlu olan hayatımın ışığı güzel kızım Güneş'ime;

Çalışma boyunca beni hep destekleyen, yoldaşlık eden kıymetli arkadaşım Büşra ARIK'a;

Gönülden, samimi ve minnet dolu teşekkürlerimi sunarım.

Zeynep OĞUZ

Şubat 2024, KAYSERİ

HYALURONİK ASİTİN PENİSİLİNLE UYARILAN DENEYSEL EPİLEPSİ ÜZERİNE ETKİSİ

Zeynep OĞUZ

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Yüksek Lisans Tezi, Şubat 2024

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir TAŞDEMİR

ÖZET

Epilepsi, her yaş grubunu etkileyebilen ve bulaşıcı olmayan bir sinir sistemi rahatsızlığıdır. Bu durum, beyin korteksindeki sinir hücrelerinde ani, aşırı ve/veya eş zamanlı elektriksel deşarjların tekrarlanması ile karakterize edilir. Penisilin indüklü epilepsi modeli nöbet aktivitelerinin nasıl yayıldığını analiz etmek için kullanılan temel modellerden biri olup deneysel epilepsi araştırmalarında yaygın olarak kullanılan akut modeller arasında yer alır. Hyaluronik asit (HA), canlı organizmaların hücre dışı matriksinde bulunan bir glikozaminoglikandır. Hücreler arası bağlantıları güçlendirmede, dokuların esnekliğini ve sağlamlığını sürdürmede, hücrelerin beslenmesi ve büyümesi için gerekli olan moleküllerin taşınmasında rol oynamaktadır. Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden temin edilen 40 adet albino erkek Wistar sıçan kontrol, penisilin, intraperitoneal HA, intraserebroventriküler HA olmak üzere dört gruba ayrıldı. Çalışmada, sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite sonrasında hyaluronik asitin intraperitoneal ve intraserebroventriküler enjeksiyonun etkisinin araştırılması amaçlandı. Epileptiform aktivite intrakortikal penisilin uygulaması ile uyarıldıktan 30 dakika sonra 7.5 µg HA intraserebroventriküler yoldan ve 20 mg/kg HA ise intraperitoneal yoldan uygulandı. Deney gruplarından kaydedilen elektrofizyolojik kayıtlar LabChart 7 (AD Instruments, Avustralya) yazılımı ile kayıt altına alınarak analiz edildi. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics (V29) ile yapıldı. Sonuç olarak; hyaluronik asit hem intraserebroventriküler hem de intraperitoneal yoldan uygulandığında spike frekansını ve spike amplitüdünü azaltmıştır. Beynin hücre dışı matriks miktarının artırılması epileptik nöbetleri önlemede yeni hedefler arasında yer alabilir.

Anahtar Kelimeler: Epilepsi, Penisilin modeli, Hyaluronik asit, Elektrofizyoloji.

EFFECT OF HYALURONIC ACID ON PENICILLIN-INDUCED EXPERIMENTAL EPILEPSY

Zeynep OĞUZ

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master Thesis, February 2024

Supervisor: Assist. Prof. Abdulkadir TAŞDEMİR

ABSTRACT

Epilepsy is a non-contagious nervous system disorder that can affect all age groups. This condition is characterized by sudden, excessive and/or simultaneous repeated electrical discharges in nerve cells in the cerebral cortex. These discharges can lead to loss of consciousness, disturbances in sensory perception, abnormal movements and changes in mental functions, or a combination of these symptoms. The penicillin-induced epilepsy model is one of the basic models used to analyze how seizure activities spread and is among the acute models widely used in experimental epilepsy research. Hyaluronic acid (HA) is a glycosaminoglycan found in the extracellular matrix of living organisms. It plays a role in strengthening intercellular connections, maintaining the flexibility and strength of tissues, and transporting necessary molecules for the nutrition and growth of cells. Forty albino male Wistar rats obtained from Erciyes University Hakan Çetinsaya Experimental and Clinical Research Center were divided into four groups as control, penicillin, intraperitoneal HA, intracerebroventricular HA. The study aimed to investigate the effect of intraperitoneal and intracerebroventricular injection of hyaluronic acid on penicillin-induced epileptiform activity in rats. Thirty minutes after epileptiform activity were induced by intracortical penicillin application, 7.5 µg HA was administered intracerebroventricularly, and 20 mg/kg HA was administered intraperitoneally. Electrophysiological recordings from the experimental groups were recorded and analyzed with LabChart 7 (AD Instruments, Australia) software. Statistical analyzes were performed with IBM SPSS Statistics (V29). In conclusion, hyaluronic acid reduced spike frequency and spike amplitude when applied both intracerebroventricularly and intraperitoneally. Increasing the amount of extracellular matrix of the brain may be among the new targets in preventing epileptic seizures.

Keywords: Epilepsy, Penicillin model, Hyaluronic acid, Electrophysiology.

İÇİNDEKİLER

HYALURONİK ASİTİN PENİSİLİNLE UYARILAN DENEYSEL EPİLEPSİ ÜZERİNE ETKİSİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
KABUL VE ONAY	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Hyaluronik Asit	5
1.2. Epilepsi.....	8
1.3. Penisilinle Uyarılan Deneysel Epilepsi Modeli	11

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Deney Grupları.....	13
2.2. Cerrahi İşlem.....	14
2.3. Penisilin G	15
2.4. Hyaluronik Asit	15
2.4.1. I.P Hyaluronik Asit Uygulaması.....	15
2.4.2. I.C.V Hyaluronik Asit Uygulaması	15
2.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar	15
2.6. Kaydedilen Elektrofizyolojik Kayıtların İncelenmesi	15
2.7. İstatistiksel Analiz.....	18

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. Bazal Beyin Aktivitesinin İncelenmesi	19
3.2. Penisilinle İndüklenen Epileptiform Aktivitenin İncelenmesi	19
3.3. I.C.V ve I.P Hyaluronik Asit Gruplarının Epileptiform Aktiviteye Etkisi	20
3.3.1. I.C.V Hyaluronik Asit Uygulamasının Epileptiform Aktiviteye Etkisi	20
3.3.2. I.P Hyaluronik Asit Uygulamasının Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	20

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1.Tartışma-Sonuç ve Öneriler	24
KAYNAKÇA	33
ÖZGEÇMİŞ.....	42

KISALTMALAR

ILAE	: Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (International League Against Epilepsy)
HA	: Hyaluronik Asit
GAG	: Glikozaminoglikan
DA	: Dalton
HAS	: Hyaluronik asit sentaz
HAS2	: Hyaluronik asit sentaz 2
HMW	: Yüksek moleküler ağırlıklı hyaluronan (high molecular weight)
LMW	: Düşük moleküler ağırlıklı hyaluronan (low molecular weight)
KO	: Knock Out
GABA	: Gama aminobütirik asit
GABA _A R	: Gama aminobütirik asit reseptörü
EEG	: Elektroensefalografi
NCSE	: Konvülsif olmayan status epileptikus
ECoG	: Elektrokortikogram
BBB	: Kan Beyin Bariyeri
ICV	: İntraserebroventriküler
IP	: İntraperitoneal
IC	: İntrakortikal
ECM	: Hücre dışı matriks (extracellular matrix)
COX	: Siklooksijenaz
NMDA	: N-metil D-aspartat
KA	: Kainik asit
AMPA	: α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
IU	: International Unit (uluslararası birim)

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1.	Deney gruplarının gerçek spike frekanslarının 10 dakikalık periyotlara göre değerleri (Gerçek değer $\pm$ SEM-Standart hata)	22
Tablo 3.2.	Deney gruplarının gerçek amplitüdlerinin 10 dakikalık periyotlara göre değerleri (Gerçek değer $\pm$ SEM-Standart hata)	23



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Hyaluronik asitin kimyasal yapısı.....	6
Şekil 1.2.	<i>Streptococcus zooepidemicus</i> 'ta HA'nın iki bloklu sentez yolağı.....	8
Şekil 1.3.	ILAE tarafından 2017 yılında nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırılması	10
Şekil 1.4.	ILAE tarafından 2017 yılında epilepsilerin sınıflandırılması için önerilen çerçeve	10
Şekil 1.5.	Penisillin G kimyasal yapısı	12
Şekil 2.1.	Hayvanların kafa derileri açılarak elektrot vidalamaya hazır hale getirilmesi.	14
Şekil 2.2.	Hayvanlar ile veri kazanım ünitesi BioAmp-PowerLab 16/SP arasında bağlantıların kurulması.	16
Şekil 2.3.	LabChart yazılımı ile elektrokortiyografi (ECoG) kayıtlarının alınması. .	17
Şekil 2.4.	LabChart yazılımı ile ECoG kayıtlarının makrolar kullanılarak DataPad aracılığı ile sayısal verilere dönüştürülmesi.....	17
Şekil 3.1.	Kontrol, penisilin, ICV-HA ve IP-HA gruplarından alınan gerçek spike ECoG kayıtlarının zamana göre değişimi.	20
Şekil 3.2.	Kontrol, penisilin, ICV-HA ve IP-HA gruplarından alınan gerçek amplitüd ECoG kayıtlarının zamana göre değişimi.....	21

GİRİŞ

Merkezi sinir sistemi, beyin ve omurilikten oluşur ve bu iki sistem vücut ile beyin arasında iletişimi sağlar. Omurilik, vücudumuzun merkezi ve periferik sinir sistemleri arasındaki ana iletişim kanalıdır. Beyin, vücuttaki en büyük ve en kompleks yapıdır ve milyarlarca nöronal hücre ve glial hücrelerden oluşur (Lakhan, 2023). Nöronlar, bilgiyi ileten sinir hücreleridir ve hem kimyasal hem de elektriksel sinyallerle yaşamsal işlevleri düzenlerler. Nöronlar, sinir sisteminin temel yapı taşlarıdır ve vücut fonksiyonlarında değişiklik yapabilirler, davranışlarımızı yönlendirirler ve çevremizdeki olayları anlamamızı ve hatırlamamızı sağlarlar (Hopfield, 1984). Nöronlar her biri binlerce diğer nöron ile bağlantı kurarak son derece kompleks bir ağ oluşturur. Elektroensefalografi (EEG) sinyalleri bu nöronların elektriksel aktivitesi sayesinde kaydedilir (Lewis vd., 2005; Schultz, 1998).

Epilepsi, merkezi sinir sistemi içinde anormal elektriksel aktivite nedeniyle ortaya çıkan bir dizi nörolojik durumun genel adıdır. Bu anormal elektriksel aktivite, beyindeki nöronlar arasındaki iletişimi etkiler ve çeşitli semptomlara neden olabilir. En belirgin semptomlardan biri çeşitli süreler boyunca kas kontrolünün kaybı ile karakterize nöbetlerdir. Epilepsinin nedenleri arasında genetik faktörler, travmatik beyin hasarı, beyin tümörleri, enfeksiyonlar ve nörolojik hastalıklar bulunabilir. Ancak, birçok epilepsi vakasında kesin neden belirlenememektedir (Scharfman, 2007).

Nörolojik işlevler merkezi sinir sistemi aracılığıyla kontrol edilir. Bu sistemin en temel bozukluklarından biri epilepsidir. Çünkü epileptik nöbetler sırasında, merkezi sinir sistemindeki nöronlar arasındaki normal iletişim yolları bozulur. Bu bozulma, beyindeki elektriksel aktivitenin aşırı ve senkronize bir şekilde artmasına yol açar. Bu sebeple ani, kontrol edilemeyen kas spazmları ve bilinç kaybı gibi semptomlarla nöbetler meydana gelir. Epilepsi tedavisi, genellikle antiepileptik ilaçlar, cerrahi müdahaleler ve diyet değişiklikleri gibi yöntemlerle yapılarak, merkezi sinir sistemindeki anormal aktiviteyi kontrol altına almayı amaçlar. Bu tedaviler, nöbet sıklığını ve şiddetini azaltmayı

hedeflerken, aynı zamanda hastanın yaşam kalitesini artırmayı da amaçlar (Sheng vd., 2018).

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (International League Against Epilepsy-ILAE) 2014 yılında yaptığı tanımla “tekrarlayan provoke olmayan nöbetler, 24 saatten daha uzun arayla iki veya daha fazla provoke olmayan nöbet ya da, tekrarlayan provoke olmayan nöbetlere yüksek eğilim, 10 yıl içinde tekrar nöbet geçirme riskinin, klinik, elektroensefalografi (EEG) ve nörogörüntüleme ile yüksek (>%60) olduğunun gösterildiği tek nöbet ya da, epilepsi sendromu tanısı varlığı olarak epilepsiyi tanımlamıştır (Fisher vd., 2014). Dünya çapında 70 milyonu aşkın kişiyi etkileyen geniş çaplı ve karmaşık bir sağlık durumu olarak bilinmektedir (Sing ve Trevick, 2016). Epilepsi beyin korteksindeki sinir hücrelerinde ani, aşırı ve/veya eş zamanlı elektriksel deşarjların tekrarlanması ile karakterize edilir. Bu deşarjlar, bilinç kaybı, duyuşsal algıda bozulmalar, anormal hareketler ve zihinsel fonksiyonlarda değişiklikler veya bu belirtilerin birleşimine yol açabilir (Bowman vd., 2001).

Epileptiform aktivite çeşitli hayvan modelleri ile araştırılır. Günümüzde, farmakolojik çalışmalarda epilepsi ya da epileptik nöbetler için sınırlı sayıda akut/kronik epilepsi modelleri tercih edilmektedir. Kronik epilepsi modelleri, semptomatik ve idiyopatik olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmaktadır. Söz konusu semptomatik epilepsi modellerinde, sağlıklı (epileptik olmayan) hayvanlarda, genellikle sıçanlarda, elektriksel ya da kimyasal yöntemler kullanılarak epilepsi veya epilepsiye benzer modeller oluşturulmaktadır. Akut epilepsi modeli (reaktif veya provoke edilmiş), sağlıklı (epileptik olmayan) hayvanlarda elektriksel veya kimyasal uyarıyla bir nöbetin indüklendiği model anlamına gelir. “Antikonvülsan” veya “antiepileptik” terimleri eşanlamlı olarak nöbet karşıtı ilaç etkilerini ifade etmek için kullanılırken “antiepileptojenik” terimi epilepsiyi önlemek veya değiştirmek için kullanılır (Löscher, 2002). Penisilin indüklü epilepsi modeli, deneysel epilepsi araştırmalarında yaygın olarak kullanılan akut modeller arasında yer alır. Penisilin modeli epilepsinin nöronal fizyolojik temellerini araştırmada kullanılan temel modellerden biridir. Penisilinle uyarılan deneysel epilepsi modeline ilişkin kimyasal konvülsanlar, nöbetleri etkin ve hızlı bir biçimde tetiklemek amacıyla sıklıkla kullanılır. Penisilin, GABA_Aerjik (gama aminobütirik asit) inhibisyon sistemini engelleyerek etki eder (Marangoz, 1997; Akdoğan ve Yonguç, 2011; Özkan, 2020).

Hyaluronik asit (HA) ve hyaluronan terimleri, aynı bileşiği ifade eden iki farklı terimdir. Hyaluronik asit, Yunanca “hyalos” (camsı, cam gibi) ve “üronik asit” terimlerinin birleşimiyle oluşmuştur. Hyaluronan ise “üronik asit içeren” anlamına gelen “hyaluronate” kelimesinin Türkçe karşılığıdır. Hyaluronan, hyaluronik asidin doğal bir formudur (Neudecker vd., 2000). Glikozaminoglikanlar (GAG’lar), çoğunlukla şeker polimerlerinden meydana gelen hücre dışı matriks (ECM) bileşenlerinin bir grubudur. Bu moleküllerin çoğu sülfatlandırılır ve bir çekirdek protein ile kovalent bağ kurarak proteoglikan molekülleri oluşturur (Imberty vd., 2007). ECM içinde üç temel bileşen vardır. Bunlardan ilki gerilme direnci sağlayan kollajenler, ağ oluşturan adhezif proteinler ve boşlukları örten proteoglikanlardır (Koolman ve Röhm, 2003). Hyaluronik asit ya da hyaluronan ise, çoğu dokuda yaygın olarak bulunan bir GAG türüdür. D-glukuronik asit ve N-asetil-D-glukozamin birimlerinin β -(1–4) ve β -(1–3) glikozidik bağlarla (Weissmann vd., 1954; Brown ve Jones, 2005) birleşerek oluşturduğu bir polimer olan HA, milyonlarca dalton (Da) ağırlığa ulaşabilir ve diğer GAG’ların aksine, sülfatlanma ya da amino gruplarına kovalent bağlanarak yapısının değiştirilmez oluşuyla farklılık gösterir (Almond, 2007). Diğer GAG’ların golgi enzimleri tarafından sentezlenirken HA tüm memeli hücrelerinin, amfibilerin ve bakterilerin plazma zarında üretilir (Ng., 1989; Chen., 1999) ve bu süreç, bir organizmanın gelişim sürecinin farklı evrelerinde farklı dokularda değişik biçimlerde ifade edilen üç hyaluronik asit sentaz (HAS) tarafından yürütülür (Tien vd., 2005). HA’nın biyosentezi, ana öncü olan glikoz-6-fosfatın üretilmesi için glikozun heksokinaz tarafından fosforilasyonu ile başlar. Buradan HA sentez yolu, HA’nın iki yapı bloğunu, glukuronik asit ve N-asetilglukozamini sentezleyen iki farklı yola ayrılabilir (Chong vd., 2005). Hyaluronik asit, canlılarda yaygın olarak bulunan ve çok çeşitli etkilere sahip bir moleküldür. Bu biyomolekül, doku yapısında ve bileşiminde önemli bir rol oynar. Beyindeki HA seviyesi sıkı bir şekilde düzenlenmekte ve hücresel gelişim, büyüme ve bozulma üzerinde çeşitli etkilere sahip olabilmektedir. HA’nın merkezi sinir sisteminde (MSS) terapötik bir hedef olarak kullanım potansiyeli henüz tam anlamıyla keşfedilmemiştir.

Bu çalışmanın amacı, hyaluronik asitin penisilinle indüklenen deneysel epilepsi üzerine etkisini incelemektir. Araştırma, penisilin kullanılarak laboratuvar ortamında sıçanlarda oluşturulan deneysel epileptik aktiviteye, hyaluronik asidin potansiyel elektrofizyolojik etkilerini belirlemeye odaklanmıştır. Bu bağlamda, hyaluronik asidin epileptik nöbetlerin

sıklığı ve şiddeti üzerindeki olası düzenleyici ve koruyucu rolleri değerlendirilmiştir. Ayrıca, hyaluronik asidin nöroprotektif özelliklerinin ve epileptik nöronal aktiviteyi modüle etme kapasitesinin belirlenmesi çalışmanın hedefleri arasındadır.



1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

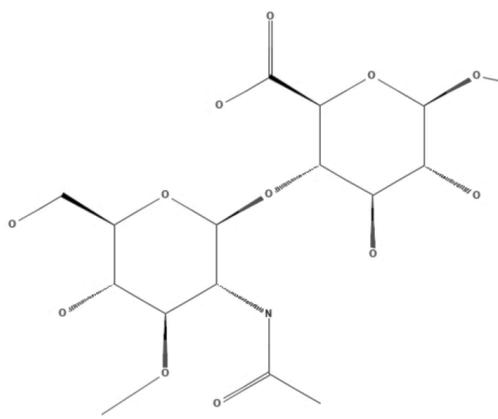
1.1. Hyaluronik Asit

Plazma membranı dışındaki proteinlerin çoğu translasyon sonrası endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksi tarafından eklenen kovalent bağlı oligosakkarit birimleri taşır. Stoplazmik proteinler ise nadiren glikozillenmiştir ve glikoproteinler olarak bilinirler. Bir grup asidik heteropolisakkarit olan glikozaminoglikanlar proteoglikanların temel bileşenleridir ve bağ dokusu matriksinin en önemli bileşenleridir. Glikozaminoglikanlar bir amino şeker ve glukorinik asit ya da iduronik asitten oluşan asidik heteropolisakkaritlerdir. Basit esterleşmemiş bir hyaluronik asit (HA), canlı organizmaların hücre dışı matriksinde bulunan bir N-asetilglukozamin ve glukorinik asitin değişimli olarak β 1-4 ve β 1-3 bağlı olduğu disakkarit ünitelerinden oluşan bir glikozaminoglikandır. Glukorinik asit birimlerinin dışa bakan hidrofilik karboksilat grupları Ca^{+2} iyonlarını bağlayıcı özelliktedir (Koolman ve Röhm, 2003). HA, canlı organizmaların gelişiminde kritik bir rol oynayan bir bileşiktir. Örneğin, embriyonik gelişimin erken aşamalarında, HA, hücrelerin bir arada kalmasına ve embriyonun şekillenmesine yardımcı olmaktadır. Ayrıca, yara iyileşmesi ve kemik oluşumu gibi süreçlerde de önemli bir rol oynar. Spermin yumurtayı döllemesi sırasında, HA, spermin yumurtanın zarını geçmesine yardımcı olur. Sperm, taşıdığı hyalüronidaz enzimi aracılığıyla HA'yı parçalayarak, yumurtaya daha kolay ulaşabilmektedir (Stern vd., 1998).

HA, özel reolojik karaktere sahip bir maddedir. Yüksek molekül ağırlığı, polianyonik karakteri ve dallanmayan zincir yapısı nedeniyle dikkat çeker. pH ve elektrolit düzeyine bağlı olarak özellikleri değişen bu madde, su moleküllerini mekanik olarak tutar ve moleküler hacmi hidrate olduğunda kuru duruma göre yaklaşık 10.000 kat büyür.

Hyaluronik asit, hayvansal kaynaklardan, bakteri fermentasyonu veya doğrudan izolasyon yoluyla elde edilebilir (Liao, 2005).

Hyaluronik asit ilk kez 1934 yılında Karl Meyer ve John Palmer tarafından sığır gözünün vitröz sıvısından izole edilmiştir. Kimyasal yapısı ise 1950'li yıllarda Meyer ve arkadaşları tarafından aydınlatılmıştır (Şekil 1.1). Hyaluronik asit, canlı organizmalarda doğal olarak bulunan bir polisakkarittir (Pavlichko, 1990).



Şekil 1.1. Hyaluronik asitin kimyasal yapısı (NCBI, 2024).

Hayvansal kaynaklardan elde edilen HA, en yaygın kullanılan kaynaklardır. Horoz ibiği, omurilik, deri ve eklem sıvısı gibi dokular, yüksek oranda HA içerdiği için tercih edilir. Mikroorganizmalardan fermentasyon tekniği ile elde edilen HA ise yüksek saflığa sahiptir. Bu yöntem, hayvansal kaynaklara olan bağımlılığı azaltmak ve HA üretimini daha verimli hale getirmek için geliştirilmiştir (Prestwich, 1998).

Hyaluronik asitin kullanım alanlarından biri de perkütan embolizasyondur. Perkütan embolizasyon, kan damarlarını tıkayarak kanamayı veya kan akışını durdurmak için kullanılan bir işlemdir. Hyaluronik asit, bu işlemde kan damarlarını tıkamak için kullanılarak, arteriovenöz malformasyonlar, vasküler tümörler ve hemoraji gibi durumların tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (Band, 1985).

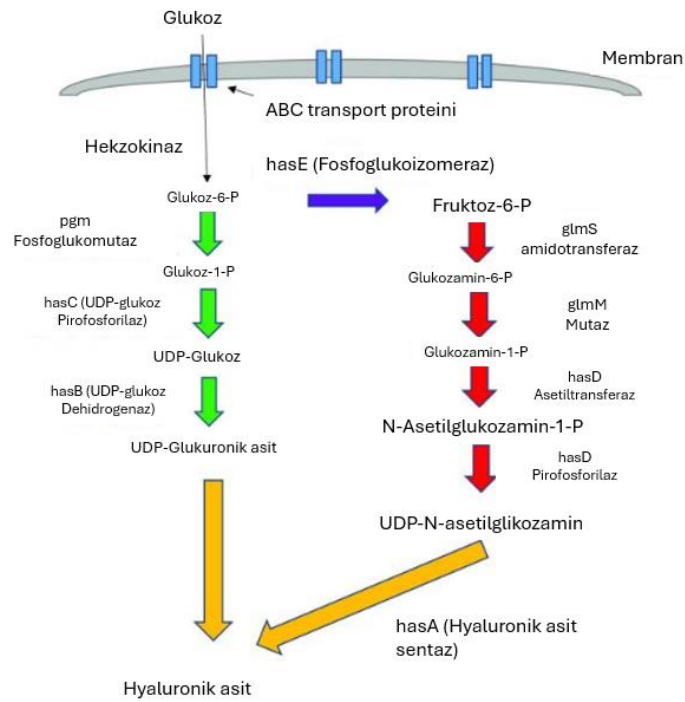
Doğum sonrası erken dönemde, özellikle ilk günlerde, sıçan beyinde hyaluronik asit seviyeleri önemli ölçüde yükselir. Hyaluronik asit, doğumdan sonraki ilk haftada en yüksek seviyeye ulaşır ve ardından 18. güne kadar sıçan beyinde yetişkin düzeylerine düşene dek hızla azalır (Margolis vd., 1975). Bu dönemde, doğum sonrası sıçan

korteksinde doğal olarak gerçekleşen nöral apoptoz de benzer bir zaman aralığında meydana gelir (Ferrer vd., 1990). Önemle belirtilmesi gereken bir diğer nokta, HA polimerinin hacim artırıcı etkisinin, nöronal gelişimdeki kritik rolüdür. Yetişkin sıçan beyinde, insan beyniyle benzer bir biçimde, HA'nın çeşitli beyin bölgelerine yayıldığı ve esas olarak parvalbumin pozitif nöronlar ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (Takechi vd., 2020; Ueno vd., 2018; Yasuhara vd., 1994). Hücre dışı matriksin yaşlanma ve yaşa bağlı nörolojik bozulmalar üzerindeki etkisi tam olarak anlaşılamamıştır. Özellikle, malignite ve iltihaplanma süreçlerindeki rolü anlaşılmaya başlanan hyaluronan bir hücre dışı matriks glikozaminoglikanıdır. Yüksek moleküler ağırlıklı (high molecular weight - HMW) ve düşük moleküler ağırlıklı hyaluronan (low molecular weight-LMW) arasındaki biyolojik etkilerin farklılıkları ve bu farklılıkların altında yatan mekanizmalar henüz keşfedilmeye başlanmıştır.

Memeli genomları, gelişim, yaşlanma, yara iyileşmesi, normal veya patolojik koşullar altında veya kanser gibi hastalıklar sırasında belirli zamanlarda ve belirli dokularda eksprese edilen üç farklı HAS genine (HAS1, HAS2 ve HAS3) sahiptir. İlk HAS geninin 1993 yılında klonlanmasından bu yana bu alanda ilerlemeler kaydedildi (Weigel, 2015). Hyaluronik asitin gelişimsel ve patolojik süreçlerdeki işlevlerini daha ayrıntılı anlamak adına, farelerde HA metabolizmasını etkileyen bir dizi genin silinmesi gerçekleştirilmiştir. Çeşitli araştırmalar, HAS2 (Hyaluronan synthase 2) enziminin ana HA sentezleyici olduğunu göstermiştir (Camenisch vd., 2000; Kessler vd., 2015). Ayrıca, HAS2 knock-out (KO) farelerde ciddi kalp ve damar anormallikleri nedeniyle normal embriyonik gelişime uygun olmadığı rapor edilmiştir (Camenisch vd., 2000). Mezenkimal dokuda HAS2 geninin hedefli olarak devre dışı bırakılması, Prx1-Cre rekombinaz sistemi kullanılarak yapıldığında, fokomeli ve bozuk eklem yapıları gibi ciddi uzuv gelişim bozukluklarına yol açmış ve HAS2'nin gelişimdeki kritik rolünü ortaya koymuştur (Matsumoto vd., 2009). Farelerde HAS2 geninin beyindeki koşullu devre dışı bırakılması, Nestin-Cre transgeni (HAS2 Nestin-cKO fareleri) kullanılarak yapılmış ve HAS3 KO hayvanlarına kıyasla daha hafif bir nöbet fenotipi gözlemlenmiştir. HAS2 Nestin-cKO'da, yabanıl tip beyinlerle kıyaslandığında hipokampal HA dağılımı önemli farklılıklar göstermese de korpus kallozum ve singulat demeti gibi beyin bölgelerinde HA boyamasının görünür olmaması belirlenmiştir (Arranz vd., 2014). Bu

bulgular, HAS2'nin sağlıklı yetişkin dokuda HA içeriğinin korunmasının yanı sıra merkezi sinir sistemi (MSS) gelişiminde de önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Hyaluronan veya hyaluronik asit (HA), bakterilerden memelilere kadar çok çeşitli organizmalar tarafından sentezlenen yüksek molekül ağırlıklı dallanmamış bir polisakkarittir ve hücre dışı matriksin bir bileşenidir. Prokaryotlarda HA biyosentezine ilişkin çalışmaların çoğu, HA öncüllerini sentezlemek için iki farklı yol kullanan *Streptococcus zooepidemicus*'a odaklanmıştır. (Chong vd., 2005). HA'nın biyosentezi, ana öncül olan glikoz-6-fosfatın üretilmesi için glikozun heksokinaz tarafından fosforilasyonu ile başlar. Buradan HA sentez yolu, HA'nın iki yapı bloğunu, glukuronik asit ve N-asetilglukozamini sentezleyen iki farklı yola ayrılabilir (Şekil 1.2).



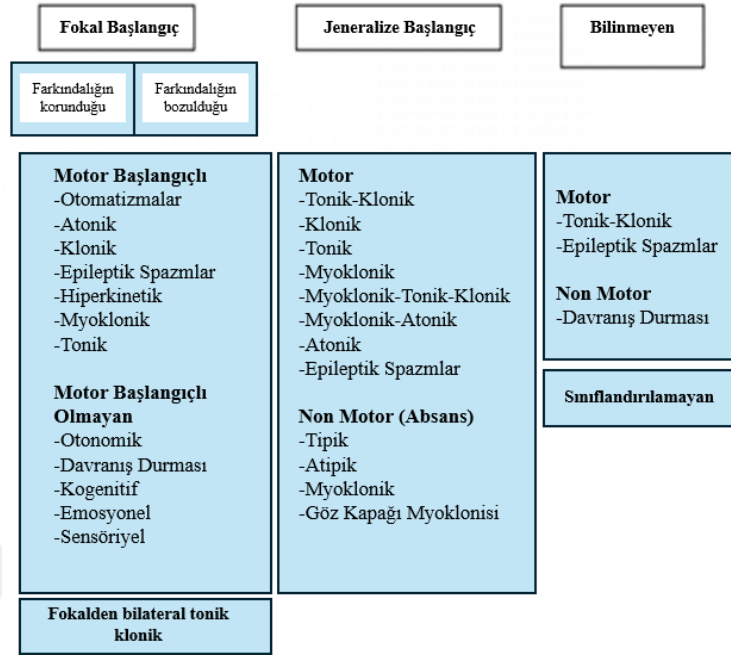
Şekil 1.2. *Streptococcus zooepidemicus*'ta HA'nın iki bloklı sentez yolağı (Sze vd., 2016'dan değiştirilerek).

1.2. Epilepsi

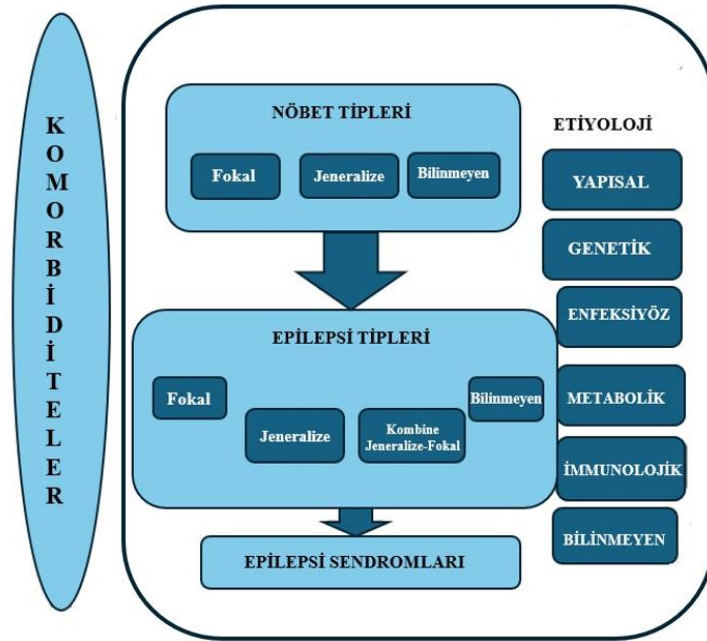
Kavramsal olarak epilepsi, Yunan dili kökenli bir kelime olmakla birlikte, "Epilipsis" kelimesinden türeyen bir kavram olarak karşımıza çıkmaktadır. Kavram ilk anlamı itibariyle, "hastalığın şeytanların yakalaması sonucunda saldırı, atak biçiminde ortaya

çıkacağı inancı” şeklindedir ve bu anlamıyla kişinin bilincinin kaybolması, vücudunun titremesi ve sarsılması durumu bir başkası tarafından “ele geçiriliyormuş” gibi yorumlandığından kişinin geçirdiği epileptik nöbetler halk arasında “şeytan yakalanması” olarak adlandırılmasına neden olmuştur. Kavram diğer bir anlamıyla, “*ani olarak ortaya çıkan nöbet ve sonrasındaki olaylardan kaçma şansı olmadan bir bireyi etkileyen bir hastalık*” şeklinde ifade edilmektedir (O’Donohoe, 1985). Geçmiş dönemlerde epilepsi hastalığının dini anlamda ele alındığı ve hastalığın kötü ruhlarla ilişkilendirildiği görülmektedir. Epilepsi modern dönemlere kadar, “kalbin hastalanması ile oluşan mukaddes bir hastalık” şeklinde ifade edilmiş ve bu hastalığa sahip kişiler kötü ruhlu olarak nitelendirilmiştir (Engel, 2001). Hastalık tarih boyunca çoğunlukla dini ritüeller aracılığı ile tedavi edilmeye çalışılmıştır. Bu bağlamda özellikle antik dönemlerde epilepsi nöbetlerinden sonra hastalara keçiboynuzu tütsünün koklatılmış, ziftli kömür koklatılmış ve parlak çömleklere bakma gibi işlemler uygulanmıştır (Per, 2010). Modern tıp tarihi içerisinde epilepsi kavramı 1874 senesinde ortaya çıkmış ve anlam olarak, “*gri maddenin zaman zaman ortaya çıkan ani, aşırı hızlı ve lokal boşalmalarının adı*” şeklinde ifade edilmiştir (Jackson, 1988). 1920 senesine gelindiğinde Hans Berger tarafından “elektroensefalogram (EEG)” kullanılmış ve epilepsi nöbetlerinin neden ortaya çıktığı daha net anlaşılmaya başlanmıştır (Per, 2010).

Nöbetler ve epilepsi, terminolojik açıdan birbirlerine alternatif olmamakla birlikte, farklı bozuklukları ifade ederler. Her ne kadar epilepsi içerisinde nöbetler bulunsun da epilepsi öz olarak, “*tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalık*” şeklinde tanımlanabilir iken nöbet kavramı, “*nöronların anormal istemsiz, ritmik deşarjlarından kaynaklanan zaman sınırlı paroksizmal belirtiler*” şeklinde farklı bir yapıda karşımıza çıkmaktadır. Nöbetler istemsiz olaylardır ve genellikle 5 dakikadan daha kısa sürerler. Tüm nöbetler konvülsif olmayabilir, aynı şekilde tüm konvülsiyonlar da nöbet değildir. Epilepsi, konvülsiyonların belli bir paroksizm içinde tekrarlaması durumunu ifade eder ve epilepsinin tanısının konulabilmesi için en az iki nöbet geçirilmesi gerektiği kabul edilir. Bununla birlikte merkezi sinir sistemi ile bağlantılı olmayan birçok değişim özellikle çocuklarda epileptik bir nöbet oluşumuna sebep olabilmektedir (Blume, 2001; Engel, 2001).



Şekil 1.3. ILAE tarafından 2017 yılında nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırılması (Fisher vd., 2017'den değiştirilerek)

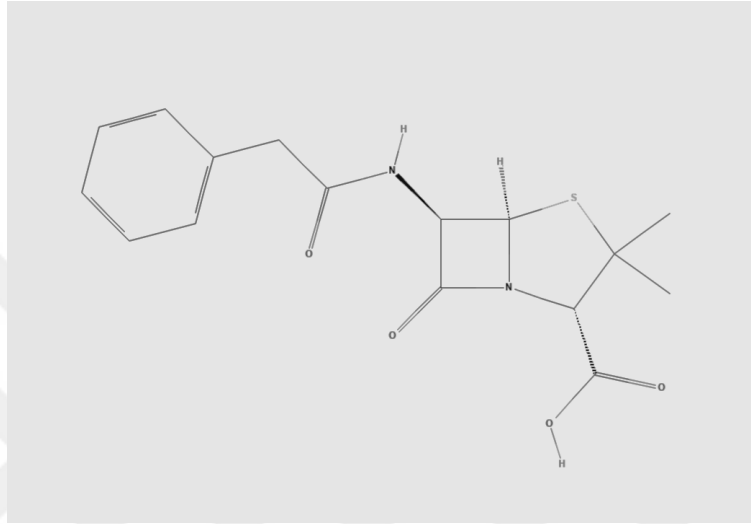


Şekil 1.4. ILAE tarafından 2017 yılında epilepsilerin sınıflandırılması için önerilen çerçeve (Scheffer vd., 2017'den değiştirilerek)

1.3. Penisilinle Uyarılan Deneysel Epilepsi Modeli

Penisilinler, klinik uygulamada halen yaygın olarak kullanılan en eski antibiyotik gruplarından biridir. Bakterisidal etki gösterirler ve duyarlı organizmalara karşı oldukça etkilidirler. Penisilin G uygun olmayan kullanımlarda ya da aşırı doz kullanımlarında konfüzyon, oryantasyon bozukluğu, miyoklonik nöbetler, konvülsif olmayan status epileptikus (NCSE) ve ensefalopati gibi nörolojik ve psikolojik yan etkilerle ilişkilendirilmiştir (Rezaei vd., 2018). Penisilinün nörotoksik etkileri ilk olarak penisilin G'nin intraventriküler uygulanmasından sonra tanımlanmış ve ardından miyoklonik kasılma gelişmiştir (Johnson vd., 1945). Penisilinler, bir tiyazolidin halkası ve C-6 pozisyonunda bir amino grubu taşıyan bir β -laktam halkasından oluşan 6-aminopenisilanik asit gibi ortak bir temel yapıyı paylaşırlar (Grøndahl vd., 1993). β -laktam halkasının enzimatik bölünmesinden sonra epileptojenik aktivite kaybı gözlemlenmesi bu antibiyotiğin konvülsiyonların indüklenmesinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir (Gutnick vd., 1971). Penisilinün nöbet tetikleyici etkisinin, gama aminobütirik asit (GABA) reseptörleri ile reseptörlerine eş zamanlı bir şekilde bağlanarak etkili olduğu düşünülmektedir. GABA, beyinde yaygın olarak bulunan bir inhibitör nörotransmitterdir. Penisilin, GABA reseptörlerine bağlanarak GABA'nın etkisini azaltır. Bu mekanizma aşırı uyarılabilirliğe ve nöbetlerin tetiklenmesine neden olmaktadır. GABA'nın GABA_AR'a bağlanmasının inhibisyonu yoluyla inhibitör sinaptik aktarıma müdahale, β -laktam kaynaklı merkezi sinir sistemi uyarımının patogenezi açıklayan yaygın olarak kabul edilen bir mekanizmadır. Transmembran GABA_AR kompleksleri, birden fazla alt birimden oluşan ligand kapılı klorür kanallarıdır ve klorür akışı, ligandın farklı bağlanma bölgelerine bağlanmasıyla modüle edilir. Klorür akışının azalmış GABA aracılı inhibisyonu, klorür iyonoforlarına bağlanma yoluyla doğrudan blokaj, GABA bağlanma bölgesine bağlanma, allosterik inhibisyon yoluyla klorür iletiminin azaltılması veya benzodiazepin bağlanma bölgesine bağlanma dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla meydana gelebilir (Sutter vd., 2015; Barrons vd., 1992; Chow vd., 2005). Penisilin kaynaklı nöbetlerin gelişimi için risk faktörleri arasında önceki MSS hastalıkları, böbrek yetmezliği, yenidoğanda düşük doğum ağırlığı ve kan-beyin bariyerinin (Blood-Brain Barrier -BBB) geçirgenliğinin artması yer alır (Lin vd., 2007). Penisilinle indüklenen bir diğer deneysel epilepsi modeli topikal model olup bu modelde, penisilin emdirilmiş pamuk, rat korteksine topikal olarak uygulanır. Bu

uygulama, ratlarda nöbetlerin tetiklenmesine neden olmaktadır (Postnova vd., 2010). Penisilinin nöron kaybına da neden olduğu gösterilmiştir. Bu nöron kaybı, nöbetlerin şiddetini ve sıklığını artırabilir. Penisilinle uyarılan deneysel epilepsi modeli, epilepsi araştırmaları için önemli bir araçtır. Bu model, epilepsinin patogenezi ve tedavisini daha iyi anlamak için kullanılmaktadır (Fariello, 1976).



Şekil 1.5. Penisillin G kimyasal yapısı (NCBI, 2024)

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (07.10.2020 Tarih ve 20/140 no'lu onay) ve FYL-2023-12245 numaralı Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi desteği ile gerçekleştirilmiştir. Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden temin edilen 40 adet albino erkek Wistar sıçan dört gruba ayrıldı. Hayvanların ağırlıkları 250-330 g arasında olup, 80-100 günlük olana kadar yetiştirilmiştir. Bu merkezde hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış ve 22 ± 4 °C'lik oda sıcaklığında tutulmuşlardır. Deneysel çalışmalar başlamadan üç gün önce araştırma merkezinden alınan hayvanlar üçerli gruplar halinde saydam plastik kafeslere konularak Erciyes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Nörofizyoloji Laboratuvarı'na nakledilmiştir. Çalışmada, sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite sonrasında hyaluronik asitin intraperitoneal ve intraserebroventriküler enjeksiyonun etkisinin araştırılması amaçlandı.

2.1. Deney Grupları

HA ile epilepsi arasındaki ilişkiyi göstermek için aşağıdaki deney grupları oluşturuldu.

1. Grup: Kontrol grubu (n=10); Herhangi bir madde verilmeden 180 dk. kayıt alındı.
2. Grup: Penisilin G (500 IU) grubu (n=10); 500 IU (2.5 µl, intrakortikal-i.c.) penisilin G uygulandıktan sonra 180 dk. kayıt alındı.
3. Grup: Penisilin G + 20 mg/kg HA grubu (n=10); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dk. sonra 20 mg/kg HA intraperitoneal-i.p. yoldan verilerek 180 dk. kayıt alındı.
4. Grup: Penisilin G + 7.5 µg HA grubu (n=10); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dk. sonra 5 µl distile su içinde çözödürölen 7.5 µg HA intraserebroventriköler-i.c.v. yoldan verilerek 180 dk. kayıt alındı.

2.2. Cerrahi İşlem

Sıçanlar, cerrahi işlemler başlamadan 24 saat önce aç bırakıldı. Deney günü işlemler yapılmadan önce her birinin ağırlıkları yeniden ölçülerek günlük hazırlanan 1.25 g/kg üreten i.p. yoldan verilip anestezi altına alındı. Anestezi 3-4 saat boyunca ek doz ihtiyacı hissetmeden devam etti. Sıçanların kafa derileri bistüri ile orta hattan rostra-kaudal doğrultuda 3-4 cm uzunluğunda açıldı. Kafa kemiği üzerinde bulunan tendon ve fasyalar bistüri ucu ile uzaklaştırıldı (Şekil 2.1.). Dokuda oluşan kanamalar spanç ve kemik mumu yardımıyla önlendi. Pozitif ve negatif vida elektrotlar için bregmaya göre referans alınarak sırasıyla 3 mm lateral, 4 mm anterior ve 3 mm lateral, 4 mm posterior koordinatlarında, topraklama için pense sarılan elektrot kullanıldı. Penisilin enjeksiyonunun uygulanabilmesi için bregmaya göre 2 mm lateral, 1 mm posterior ve 1.2 mm vertikal koordinatları kullanılarak el matkabı yardımıyla kafatası kemiğine delikler açıldı.



Şekil 2.1. Hayvanların kafa derileri açılarak elektrot vidalamaya hazır hale getirilmesi.

2.3. Penisilin G

Epileptiform aktivite oluşturmak için Hamilton mikroenjektör ile hayvanların beyin korteksine 500 ünite (IU) doz ve 2.5 µl hacimde i.c. yoldan Penisilin G uygulandı.

2.4. Hyaluronik Asit

2.4.1. I.P Hyaluronik Asit Uygulaması

Çalışmada hyaluronik asit, penisilinle epileptiform aktivite oluşturulduktan 30 dk. sonra 20 mg/kg dozda intraperitoneal yoldan uygulandı.

2.4.2. I.C.V Hyaluronik Asit Uygulaması

Hyaluronik asit, penisilinle epileptiform aktivite oluşturulduktan 30 dk. sonra 7.5 µg HA intraserebroventriküler yoldan olarak uygulandı.

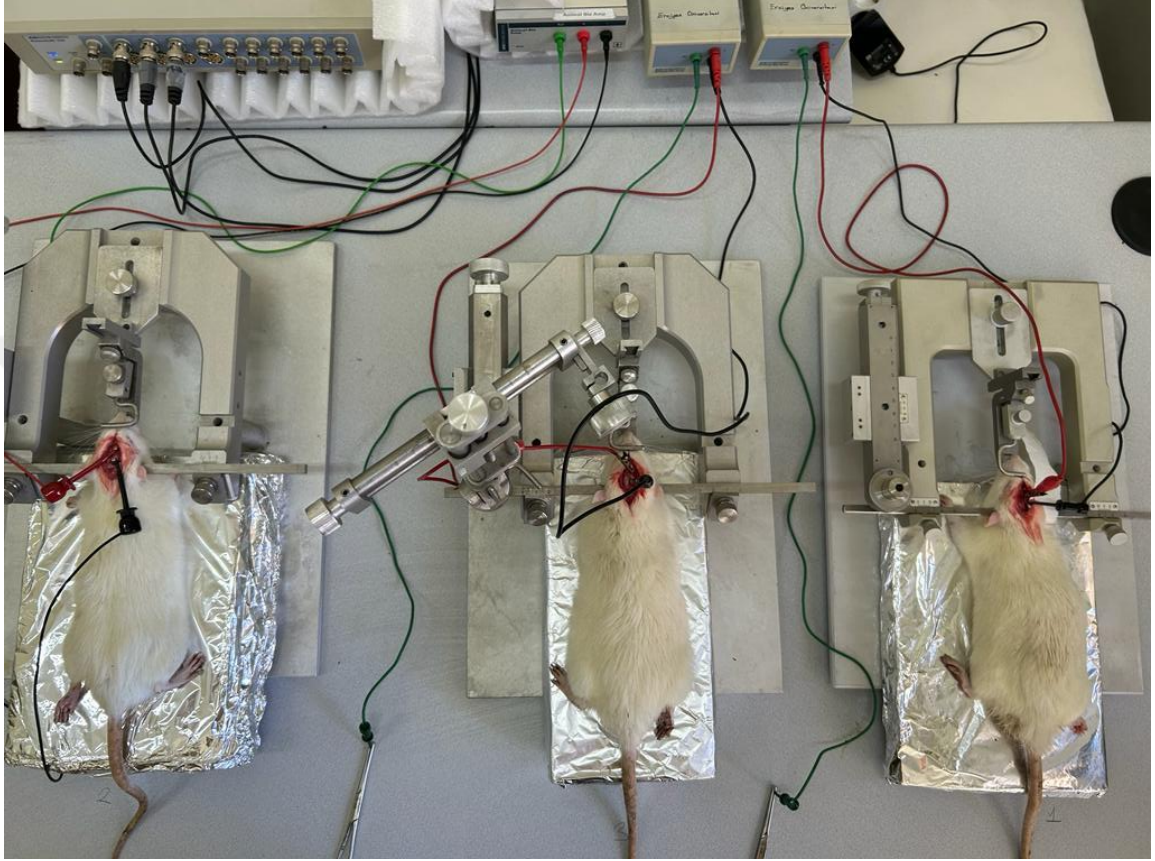
2.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar

Cerrahi işlemlerden sonra hayvanlar stereotaksik cihaza sabitlendi (Şekil 2.2.) Elektrofizyolojik kayıt için 2 adet 1.2 mm x 2.5 mm x 2 mm ebatlarında elektrik akımına karşı geçirgen vidaların saatçi tip ince tornavida yardımıyla kafatasına vidalaması yapıldı. Elektrotlar ile alınan aktivite BioAmp (ADInstruments, Avustralya) arabiriminde yükseltilerek PowerLab 16/SP (ADInstruments, Avustralya) veri kazanım ünitesine senkronize olarak aktarıldı. Deney gruplarından kaydedilen elektrofizyolojik kayıtlar LabChart 7.1 (AD Instruments, Avustralya) yazılımı ile kayıt altına alınarak analiz edildi. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics (Version 29) ile yapıldı.

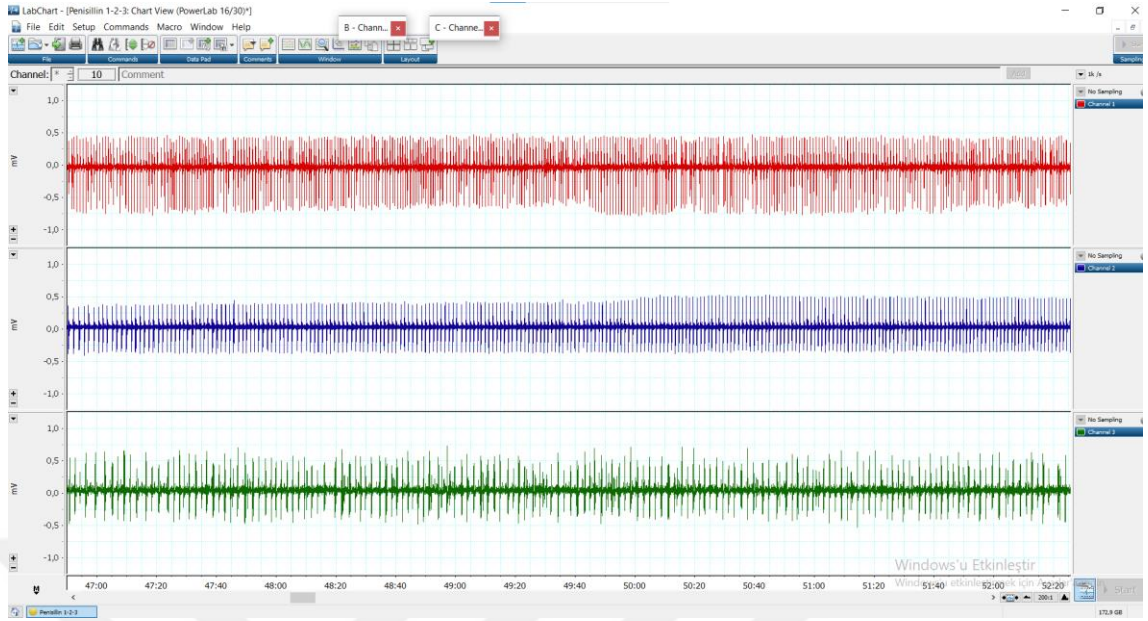
2.6. Kaydedilen Elektrofizyolojik Kayıtların İncelenmesi

Deneyler bittikten sonra elde edilen epileptiform aktivite kayıtları çevrimdışı olarak spike frekansı ve amplitüd açısından analiz edildi. Kaydedilen spike aktivitelerinin frekansları ve amplitüdüleri LabChart 7.1 yazılımındaki (Şekil 2.3.) makrolar kullanılarak uygun eşik değerlere dikkat edilerek yazılımın Data Pad bölümüne aktarıldı (Şekil 2.4). Programın Data Pad bölümünden hem penisilin grubu hem de HA grubu için penisilin enjeksiyonundan deneyin sonuna kadar geçen süre (min. 180 dk.) birer dakikalık spike ve amplitüdü hesaplayacak şekilde alındı. Daha sonra alınan bu veri Microsoft Excel

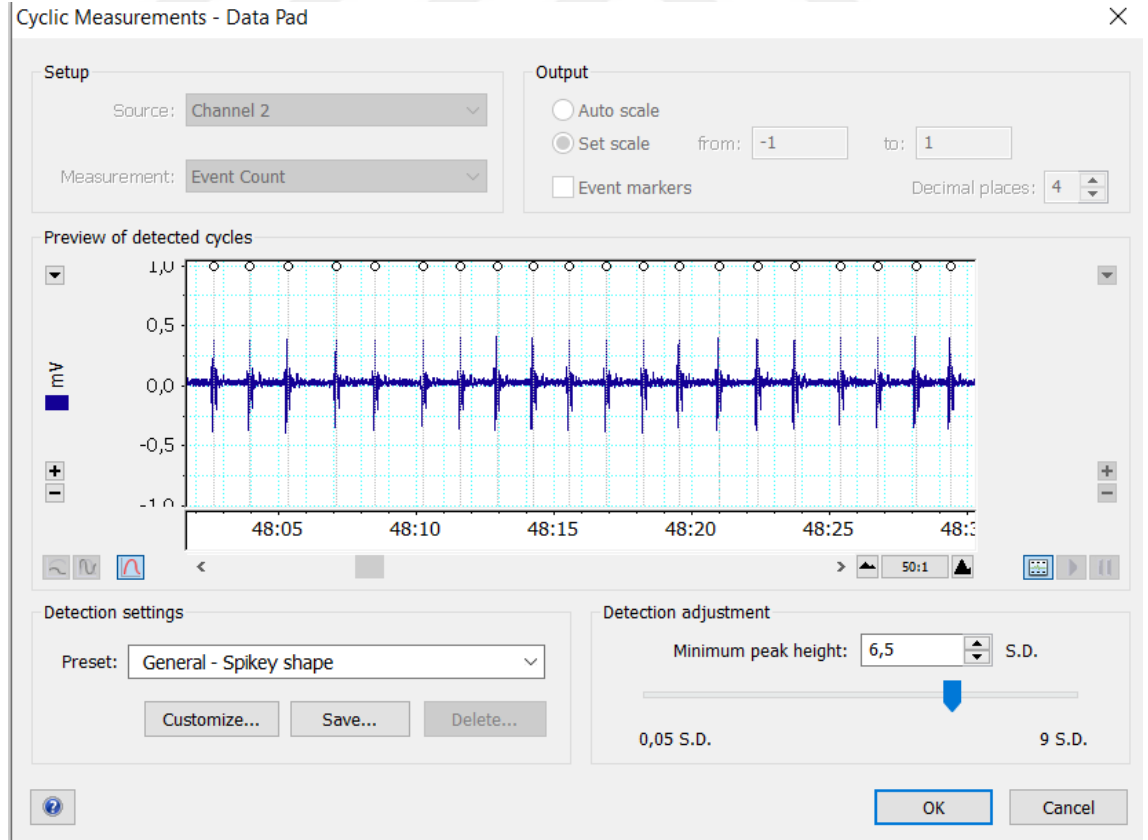
programına aktarıldı. Microsoft Excel’de bu verilerin 10’ar dakikalık dilimlere bölünerek ortalamaları hesaplandı. Elde edilen sayısal veriler penisilin enjeksiyonundan sonraki 30. dakika ilk dakika kabul edilerek gerçek spike ve amplitüd değerleri hesaplandı.



Şekil 2.2. Hayvanlar ile veri kazanım ünitesi BioAmp-PowerLab 16/SP arasında bağlantıların kurulması.



Şekil 2.3. LabChart yazılımı ile elektrokortiyografi (ECoG) kayıtlarının alınması.



Şekil 2.4. LabChart yazılımı ile ECoG kayıtlarının makrolar kullanılarak DataPad aracılığı ile sayısal verilere dönüştürülmesi.

2.7. İstatistiksel Analiz

Kayıtları alınan ECoG verilerinin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics (V29) yazılımı kullanıldı. Deney gruplarındaki elektrofizyolojik verilerin öncelikle normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro–Wilk testi ile belirlendi. Normal dağılım göstermeyen veriler için Kruskal-Wallis uygulandı. Grafik, tablo ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler, ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Elde edilen sonuçlara göre $p<0.05$ olanlar anlamlı kabul edildi.



3. BÖLÜM

BULGULAR

Bu çalışmada penisilinle indüklenmiş epileptiform aktivitede hyaluronik asitin intraperitoneal ve intraserebroventriküler uygulamalarının etkilerini incelemek amacıyla ECoG kayıtları alındı. Analiz programı LabChart ile kayıtlar sayısal verilere dönüştürüldükten sonra Microsoft Excel’de diken dalgaların frekansı ve genliği, normal değer ve yüzde değerlere dönüştürülerek tablolar ve şekiller hazırlandı. Analiz sonuçlarında amplitüd değerleri birimi $mV \pm SEM$, frekans değerleri ise spike/dk. $\pm SEM$ olarak ifade edildi.

3.1. Bazal Beyin Aktivitesinin İncelenmesi

Deney gruplarından ilki bazal beyin aktivitesinin kaydı için kullanıldı. Kayıtlar en az 180 dk. sürdü. Bu grupta korteks içerisine herhangi bir kimyasal madde uygulaması yapılmadı. Gerçek spike amplitüdü ortalaması 0.245 ± 0.007 olarak tespit edildi. Gerçek spike frekansı ise 6.58 ± 0.0287 olarak ölçüldü. Bu gruptan kayıt esnasında hayvan kaybı yaşanmadı. Bazal beyin aktivitesi bakımından deneyin başından sonuna kadar gerek gerçek spike frekansı gerekse gerçek spike amplitüdü açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı ($p > 0.05$).

3.2. Penisilinle İndüklenen Epileptiform Aktivitenin İncelenmesi

500 IU i.c. penisilin verildikten sonra ortaya çıkan diken dalgalar yaklaşık 3-4 saat devam etmektedir ve deney sonuna kadar kararlılığını korumaktadır. Enjeksiyondan 2-4 dk. sonra epileptiform aktivite hem spike frekansı bakımından hem de amplitüd 30. dakikadan sonra stabil hale geldi. Gerçek spike frekansı kararlı seviyeden sonra ortalama 68.83 ± 2.99 olarak bulundu. Gerçek spike amplitüdü ise kararlı seviyeden sonra ortalama 0.595 ± 0.233 olarak bulundu. Bu gruptan kayıt esnasında bir hayvan kaybı yaşandı. Deney

süresince penisilin kontrol grubu içerisinde gerek gerçek spike frekansı gerekse gerçek spike amplitüdü bakımından onar dakikalık periyotlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmedi ($p>0.05$). Elde edilen sonuçlara göre hiçbir kimyasal madde verilmeyen kontrol grubu ve penisilin grubu arasında ilk değerden 180. dakikaya kadar olan onar dakikalık periyotlarda fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$).

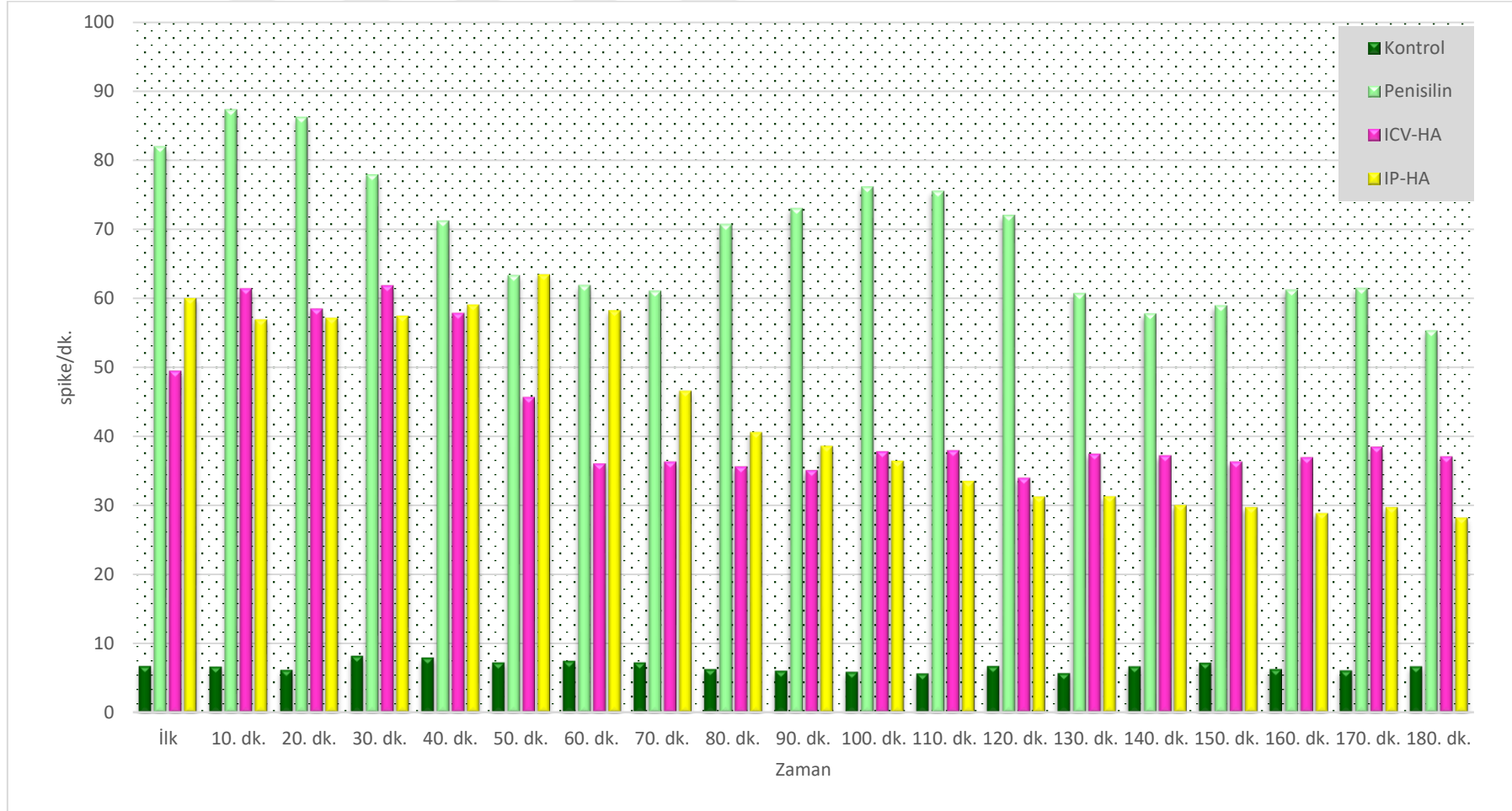
3.3. I.C.V ve I.P Hyaluronik Asit Gruplarının Epileptiform Aktiviteye Etkisi

3.3.1. I.C.V Hyaluronik Asit Uygulamasının Epileptiform Aktiviteye Etkisi

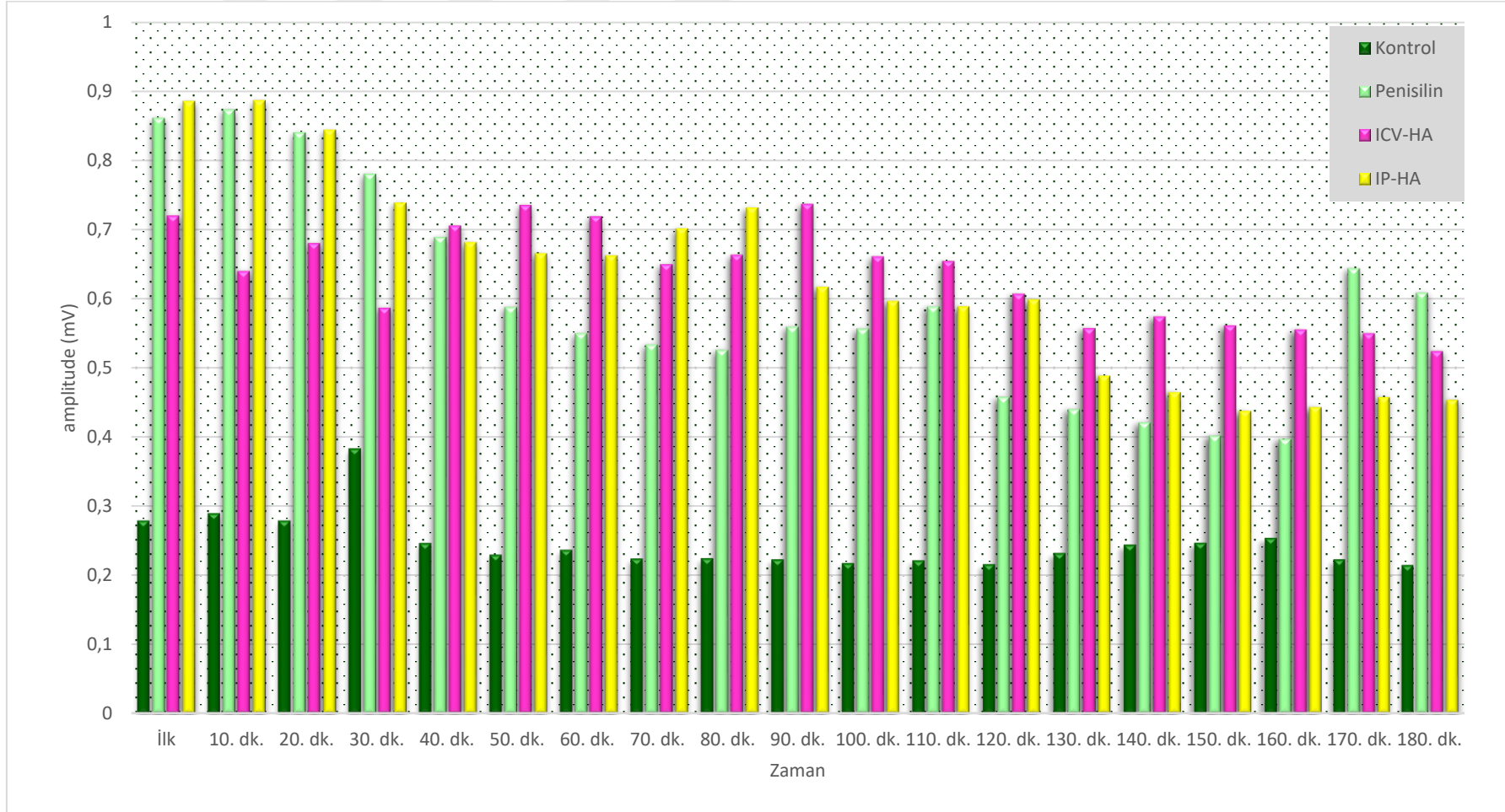
Penisilin G enjeksiyonundan 30 dk. sonra 7.5 µg HA intraserebroventriküler olarak uygulandı ve en az 180 dk. olmak üzere kayıt alındı. Gerçek spike frekansı kararlı seviyeden sonra ortalama 42.719 ± 1.93 olarak bulundu. Gerçek spike amplitüdü ise kararlı seviyeden sonra ortalama 0.635 ± 0.034 olarak bulundu. Bu gruptan kayıt esnasında iki hayvan kaybı yaşandı. Deney süresince penisilin grubu ile ICV-HA grubu karşılaştırıldığında spike frekansı bakımından ilk dakikadan başlayarak deney sonuna kadar kararlı bir düşüş gözlemlendi (Şekil 3.1). İstatistiksel olarak anlamlı ilk düşüş ise 80. dakikada başladı ($p=0.014$). 130. dakikada geçici bir anlamlılık kaybı olmasına rağmen ($p=0.063$) bu dakikadan sonra deney sonuna kadar anlamlı düzeyde düşüş devam etti ($p<0.05$). Spike amplitüdü bakımından deney başından deney sonuna kadar çok az bir azalma görülmesine rağmen hiçbir dakikada bu düşüş anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

3.3.2. I.P Hyaluronik Asit Uygulamasının Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin G enjeksiyonundan 30 dk. sonra 20 mg/kg HA i.p yoldan verildi ve bu enjeksiyon sonrası en az 180 dk. olmak üzere kayıt alındı. Gerçek spike frekansı kararlı seviyeden sonra ortalama 43.02 ± 1.91 olarak bulundu. Gerçek spike amplitüdü ise kararlı seviyeden sonra ortalama 0.628 ± 0.024 olarak bulundu. Bu gruptan kayıt esnasında hayvan kaybı yaşanmadı. Deney süresince penisilin grubu ile IP-HA grubu karşılaştırıldığında spike frekansı bakımından ilk dakikadan başlayarak deney sonuna kadar kararlı bir düşüş gözlemlendi (Şekil 3.1). İstatistiksel olarak anlamlı ilk düşüş ise 80. dakikada başladı ($p=0.008$). 130., 160. ve 170. dakikalarda geçici bir anlamlılık kaybı olmasına rağmen (sırasıyla $p=0.061$, 0.085 , 0.093) 180. dakikada ise anlamlı şekilde sonlandı ($p=0.019$). Spike amplitüdü bakımından deney başından deney sonuna kadar çok az bir azalma görülmesine rağmen hiçbir dakikada bu düşüş anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil 3.1. Kontrol, penisilin, ICV-HA ve IP-HA gruplarından alınan gerçek spike ECoG kayıtlarının zamana göre değişimi.



Şekil 3.2. Kontrol, penisilin, ICV-HA ve IP-HA gruplarından alınan gerçek amplitüd ECoG kayıtlarının zamana göre değişimi.

Tablo 3.1. Deney gruplarının gerçek spike frekanslarının 10 dakikalık periyotlara göre değerleri (Gerçek değer $\pm$ SEM-Standart hata)

Gerçek Spike	Kontrol	Penisilin	ICV-HA	IP-HA
İlk	6.64 $\pm$ 1.26	82 $\pm$ 15.4	49.5 $\pm$ 4.00	60 $\pm$ 7.88
10. DK	6.55 $\pm$ 1.16	87.36 $\pm$ 24.15	61.42 $\pm$ 10.46	56.91 $\pm$ 7.27
20. DK	6.06 $\pm$ 1.00	86.28 $\pm$ 22.66	58.47 $\pm$ 9.34	57.16 $\pm$ 7.37
30. DK	8.07 $\pm$ 0.76	77.94 $\pm$ 19.55	61.85 $\pm$ 11.59	57.46 $\pm$ 8.05
40. DK	7.82 $\pm$ 1.13	71.26 $\pm$ 17.21	57.87 $\pm$ 11.22	59.08 $\pm$ 9.57
50. DK	7.13 $\pm$ 1.18	63.36 $\pm$ 6.20	45.7 $\pm$ 7.32	63.43 $\pm$ 11.45
60. DK	7.36 $\pm$ 1.35	61.92 $\pm$ 3.63	36.07 $\pm$ 8.02	58.25 $\pm$ 13.12
70. DK	7.12 $\pm$ 1.27	61.12 $\pm$ 2.60	36.35 $\pm$ 7.24	46.6 $\pm$ 5.77
80. DK	6.21 $\pm$ 1.12	70.76 $\pm$ 4.67	35.65 $\pm$ 4.54	40.61 $\pm$ 3.53
90. DK	5.94 $\pm$ 1.33	73.04 $\pm$ 5.34	35.12 $\pm$ 6.51	38.65 $\pm$ 4.05
100. DK	5.82 $\pm$ 1.34	76.18 $\pm$ 5.68	37.85 $\pm$ 6.79	36.46 $\pm$ 4.17
110. DK	5.58 $\pm$ 1.35	75.54 $\pm$ 6.47	38.02 $\pm$ 4.96	33.55 $\pm$ 3.35
120. DK	6.62 $\pm$ 1.64	72.08 $\pm$ 6.44	34.02 $\pm$ 2.25	31.26 $\pm$ 3.35
130. DK	5.62 $\pm$ 1.06	60.75 $\pm$ 8.4	37.5 $\pm$ 4.00	31.33 $\pm$ 3.95
140. DK	6.57 $\pm$ 0.95	57.83 $\pm$ 3.34	37.25 $\pm$ 2.04	30.08 $\pm$ 3.13
150. DK	7.1 $\pm$ 1.10	59 $\pm$ 3.18	36.27 $\pm$ 3.52	29.75 $\pm$ 3.02
160. DK	6.18 $\pm$ 0.94	55.33 $\pm$ 4.83	37 $\pm$ 6.45	28.91 $\pm$ 2.85
170. DK	5.98 $\pm$ 1.32	49 $\pm$ 4.76	38.5 $\pm$ 6.21	29.75 $\pm$ 2.68
180. DK	6.58 $\pm$ 1.64	51.7 $\pm$ 4.27	37.12 $\pm$ 4.08	28.25 $\pm$ 2.64

Tablo 3.2. Deney gruplarının gerçek amplitüdlerinin 10 dakikalık periyotlara göre değerleri (Gerçek değer $\pm$ SEM-Standart hata)

Gerçek Amplitüd	Kontrol	Penisilin	ICV-HA	IP-HA
İlk	0.278 $\pm$ 0.012	0.861 $\pm$ 0.133	0.720 $\pm$ 0.293	0.885 $\pm$ 0.112
10. DK	0.288 $\pm$ 0.014	0.873 $\pm$ 0.118	0.640 $\pm$ 0.048	0.886 $\pm$ 0.109
20. DK	0.277 $\pm$ 0.014	0.840 $\pm$ 0.109	0.680 $\pm$ 0.097	0.843 $\pm$ 0.123
30. DK	0.382 $\pm$ 0.097	0.780 $\pm$ 0.108	0.586 $\pm$ 0.127	0.738 $\pm$ 0.122
40. DK	0.245 $\pm$ 0.015	0.689 $\pm$ 0.115	0.705 $\pm$ 0.170	0.681 $\pm$ 0.083
50. DK	0.228 $\pm$ 0.018	0.587 $\pm$ 0.098	0.735 $\pm$ 0.169	0.665 $\pm$ 0.088
60. DK	0.235 $\pm$ 0.019	0.549 $\pm$ 0.076	0.719 $\pm$ 0.116	0.662 $\pm$ 0.096
70. DK	0.223 $\pm$ 0.024	0.533 $\pm$ 0.080	0.649 $\pm$ 0.087	0.701 $\pm$ 0.127
80. DK	0.223 $\pm$ 0.015	0.525 $\pm$ 0.074	0.663 $\pm$ 0.105	0.731 $\pm$ 0.136
90. DK	0.222 $\pm$ 0.020	0.559 $\pm$ 0.075	0.736 $\pm$ 0.119	0.617 $\pm$ 0.097
100. DK	0.216 $\pm$ 0.024	0.556 $\pm$ 0.082	0.661 $\pm$ 0.100	0.596 $\pm$ 0.089
110. DK	0.220 $\pm$ 0.024	0.588 $\pm$ 0.078	0.654 $\pm$ 0.118	0.589 $\pm$ 0.083
120. DK	0.215 $\pm$ 0.028	0.457 $\pm$ 0.063	0.607 $\pm$ 0.114	0.599 $\pm$ 0.108
130. DK	0.231 $\pm$ 0.016	0.440 $\pm$ 0.078	0.557 $\pm$ 0.105	0.489 $\pm$ 0.036
140. DK	0.243 $\pm$ 0.019	0.421 $\pm$ 0.078	0.574 $\pm$ 0.111	0.465 $\pm$ 0.034
150. DK	0.246 $\pm$ 0.020	0.401 $\pm$ 0.069	0.561 $\pm$ 0.108	0.438 $\pm$ 0.038
160. DK	0.253 $\pm$ 0.020	0.397 $\pm$ 0.073	0.555 $\pm$ 0.111	0.443 $\pm$ 0.042
170. DK	0.222 $\pm$ 0.024	0.643 $\pm$ 0.050	0.550 $\pm$ 0.108	0.458 $\pm$ 0.046
180. DK	0.213 $\pm$ 0.032	0.608 $\pm$ 0.048	0.524 $\pm$ 0.100	0.454 $\pm$ 0.052

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1.Tartışma-Sonuç ve Öneriler

Penisilinin intrakortikal enjeksiyonu ve bunun sonucunda gözlemlenen abnormal spike aktivitesi, sinir biliminde önemli bir araştırma konusudur. Penisilin, beyin korteksinde GABAerjik sistemleri inhibe ederek epileptiform aktivitelere neden olur. GABA, merkezi sinir sisteminde önemli bir inhibitör nörotransmitterdir ve inhibisyonun azalması nöronal hiperaktiviteye yol açar. Penisilinin bu etkisi, kortikal nöronlarda anormal elektriksel aktiviteye yol açar ve bu aktivite epilepsi modellerinde sıkça kullanılan bir fenomen olarak kabul edilir. Sunulan tez çalışmasında penisilinin intrakortikal enjeksiyonu ile abnormal spike frekansı 2-4 dakika içinde başlamıştır. Bu bulgu daha önce yapılan çalışmalarla (Kocacan vd., 2022; Al-Kaleel, 2023) uyumluluk göstermektedir. Penisilin korteks içinde GABAerjik sistemleri inhibe ederek spike aktivitesine neden olmuştur.

Penisilin tarafından indüklenen epileptiform aktivite yaklaşık 30 dakika sonra stabil bir seviyeye ulaşır. Bu süre zarfında GABAerjik inhibisyonun azalması sonucu kalsiyum iyonlarının hücre içine aşırı akışı gözlemlenir. Bu durum, nöronlar arasında artan bir elektriksel aktiviteye ve bu aktivitenin korteks boyunca yayılmasına neden olur. Bu süreç, Inoue vd. (1986) tarafından yapılan çalışmada da benzer şekilde rapor edilmiştir. Çalışmalar, penisilinin bu etkisinin nöronal hiperaktivite ve epileptiform aktiviteler üzerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Çalışmamızda da penisilin enjeksiyonundan yaklaşık 30 dakika sonra kararlı seviyeye ulaştı. Bu bulgu bakımından çalışmamız önceki çalışmalar ile uyum içerisindedir.

Akdoğan vd. (2008) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Sprague-Dawley sıçanlarında epilepsi nöbetini indüklemek için kullanılan penisilin dozunun doz-yanıt

ilişkisini, hipokampal nöron sayısı ve hipokampal hacim açısından değerlendirilmiştir. Sıçanlara intrakortikal olarak 300, 500, 1500 ve 2000 IU Penisilin-G enjekte edilerek dört deney grubunda sırasıyla epileptik nöbetler indüklenmiştir. Kontrol grubuna intrakortikal olarak salin enjekte edilmiştir. Hayvanlar tedaviden 7 gün sonra dekapite edilmiş ve beyinleri çıkarılmıştır. Sıçan hipokampüsünün piramidal hücre tabakasındaki toplam nöron sayısı, optik fraksiyonator yöntemi kullanılarak tahmin edilmiştir. Aynı hipokampal alanların hacmi Cavalieri yöntemi kullanılarak tahmin edilmiştir. Üç deney grubunda (300, 500 ve 1500 IU Penisilin-G) hipokampal nöron sayısında doza bağlı azalma gözlenmiş ve bu etkiler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer yandan, hipokampal hacimde doza bağlı azalma, bu üç grubun hepsinde gözlenmiştir; ancak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece 1500 IU Penisilin-G enjekte edilen grupta fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 2000 IU Penisilin-G dozunda, tüm hayvanlar status epileptikus nedeniyle ölmüştür. Bu sonuçlar, uygun penisilin dozunun, ilgili epileptik nöbet ve etkilerini göstermek üzere belirli bir deneysel epilepsi çalışması için seçilmesi gerektiğini önermektedir. İntrakortikal 1500 IU penisilin ile indüklenen epilepsi modeli, antiepileptik ilaçların nöroprotektif mekanizmalarını araştıran çalışmaları uygulamak için iyi bir seçenek olabilir. Ancak çok daha fazla çalışma intrakortikal enjeksiyonun 500 IU'da optimal epileptiform aktiviteye sebep olduğunu ve 3-4 saate kadar aktivitenin korunur olduğunu göstermiştir (Arık vd., 2014; Kocacan vd., 2022; Musuroğlu Keloglan vd., 2023). Bu sebeple çalışmamızda da 500 IU penisilinin intrakortikal enjeksiyonu yapılmasına karar verilmiştir.

Hyaluronan, bir polisakkarit olan ve ekstrasellüler matriksin önemli bir bileşeni olarak görev yapan, yüksek molekül ağırlıklı bir glikozaminoglikandır. HA, nöronlar ve astrositler tarafından sentezlenir ancak özellikle astrositlerin yüksek molekül ağırlıklı HA sentezinde önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır. HA'nın birikimi ve lokalizasyonu, gelişimsel nöroplastisite ve beyin olgunlaşmasına katkıda bulunan perinöron ağları oluşturur. Bu ağlar, nöronal hücreleri çevreleyen ve miyelinli liflerin etrafında meydana gelen kafes benzeri yapılar olarak tanımlanır (Fowke, 2017). HA'nın bu özellikleri, sinir dokusunun yapısal bütünlüğü ve işlevi için hayati öneme sahiptir, aynı zamanda nöronal hücrelerin birbirleriyle ve çevreleriyle olan etkileşimlerini düzenler. Penisilin indüklü epileptiform aktivite ve HA'nın ekstrasellüler matrikste oynadığı rol,

sinir biliminin önemli yönlerini aydınlatır ve nöroplastisite, beyin olgunlaşması ve epilepsi gibi durumların daha iyi anlaşılmasına katkı sağlar (Jensen vd., 2020). Çalışmada kullandığımız düşük moleküler ağırlıklı (~10.000 Da) hyaluronik asitin yukarıda bahsedilen perinöron ağırları oluşturarak miyelin lifleri destekleyerek aşırı aktiviteyi baskılamada rolü olduğu kanısındayız.

Çalışmada hem intrakortikal hem de intraperitoneal yoldan hyaluronik asit enjeksiyonu epileptiform aktivitenin spike frekansında ve spike amplitüdünde anlamlı bir azalmaya sebep olmuştur. İntraperitoneal uygulamada daha etkin bir azalma gözlemlenmiştir. Bunun sebebi metabolik olarak sisteme dahil olan düşük ağırlıklı HA'nın daha fazla katabolik süreçlere dahil olarak kan beyin bariyerini geçmesi ve düşük ağırlıklı molekülün daha etkin biyolojik aktiviteye sahip olmasıdır. Nörodejeneratif hastalıklarda ve MSS yaralanmalarını takiben nöronal ve glial hücre farklılaşmasında, nöronların aktivitesini ve sinir sistemi onarımını düzenlemede HA'nın rolleri olduğu bilinmektedir. Kortikal nöronlar, gelişimleri boyunca birden fazla nöronal yapı üzerinde bağımsız olarak hyaluronanı sentezleme kapasitesine sahiptir. Wakao vd., (2011) tarafından yapılan bir çalışmada sıçanlarda spinal kord hasarı oluşturulduktan sonra motor nöronlarda HA aracılığı ile iyileşme yanıtı incelenmiştir. Yapılan in vitro deneylerde, NMDA'nın neden olduğu nöronal hücre ölümünün HA tarafından kısmen bloke edildiğini ancak diğer oligosakkaritler tarafından bloke edilmediğini gösterdi. Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde nöroprotektif aktivitenin bir parçası olmasından dolayı HA'nın omurilik yaralanmasından sonra motor fonksiyonların iyileşmesini desteklediğini ortaya çıkardı. Çalışmamızda da HA'nın bu nöroprotektif etkisinin epileptiform aktivitenin baskılanmasına katkı sağladığını düşünmekteyiz.

Hyaluronik asitin gelişim ve patoloji sürecindeki rollerini daha derinlemesine incelemek için, fare modellerinde HA metabolizmasını düzenleyen bir dizi genin silinmesi (knockout, KO) çalışmaları yapılmıştır. HAS2 enziminin, HA'nın başlıca sentezleyicisi olduğunu ortaya konmuştur. (Camenisch vd., 2000; Kessler vd., 2015). Mezenkimal dokuda HAS2 geninin olarak silinmesi ağır uzuv gelişim kusurlarına neden olmuştur (Matsumoto vd., 2009). Hyaluronik asitin sadece merkezi sinir sistemi için değil organizmanın önemli yaşamsal faaliyetleri sürdürmede de önemli görevlere sahip olduğu anlaşılmaktadır. Hyaluronik asitin yaşamsal faaliyetlerin sürdürülmesinde farklı rollerinin ortaya çıkarılması için çalışmada ana öge olarak hyaluronik asit kullanılmıştır.

Aygün (2020) tarafından yapılan çalışma, trazodonun epilepsi modelleri üzerindeki etkilerini incelemiştir. Wistar sıçanlarında penisilinle oluşturulan fokal nöbet modelinde, trazodonun yüksek dozları nöbet sıklığını azaltırken, düşük dozu etkisiz kalmıştır. Ancak, WAG/Rij sıçanlarında, genetik yokluk epilepsisi modelinde, trazodonun tüm dozları nöbet sayısını ve süresini artırarak prokonvülsan etki göstermiş ve aynı zamanda depresyon ve anksiyete benzeri davranışları tetiklemiştir. Bu bulgular, trazodonun epileptik hastalarda kullanımının potansiyel risklerini ve etkilerini vurgulamaktadır. Çalışmada sunulduğu gibi epileptik aktivite üzerine etken maddelerin dozlarının farklı etkiler gösterdiği bilinmektedir. Buna karşın Taşdemir vd. (2018) tarafından aspirinin farklı dozlarının epilepsi üzerinde benzer etkiler yaptığı da görülmüştür. HA'nın moleküler ağırlığının belirtilmediği bir çalışmada, kortikal kusuru olan kemirgenlere %3'lük HA jellerinin intrakortikal enjeksiyonunun yalnızca salin solüsyonu alan kontrol hayvanları ile karşılaştırıldığında astrosit proliferasyonunda bir azalma sergilediği bildirilmiştir (Lin vd., 2007). Çalışmamızda hyaluronik asitin dozundan ziyade moleküler ağırlığının önemli olduğu kanaatine varılarak yaklaşık 8.000-15.000 Dalton'luk düşük-orta moleküler ağırlıktaki formunun kullanılmasına karar verildi.

Acungil ve Nacar (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmanın amacı, spontan tekrarlayan nöbetlerle karakterize edilen ve en yaygın kronik nörolojik hastalıklardan biri olan epilepsi üzerine yapılan birçok çalışmada, çeşitli deneysel epilepsi modelleri kullanılarak, resveratrolün epileptiform aktiviteyi azalttığını ve nöroprotektif etkileri olduğunu göstermiş olmasıdır. Bu bağlamda, penisilin ile oluşturulan bir epilepsi modeli kullanılarak, sıçanlarda resveratrolün epileptiform aktivite üzerine etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar kısmında, elektrofizyolojik kayıt verilerinden elde edilen çentiklerin sayısı ve çentiklerin ortalama amplitüdü üzerinden yapılan değerlendirmelerde, resveratrol grubunda çentik frekansı ve amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmezken; resveratrol+sodyum valproat grubunda çentik frekansı değerlerinin 30. dakikadan itibaren ve amplitüd değerlerinin 60. dakikadan itibaren anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Bu bulgular, penisilin ile oluşturulan sıçan deneysel epilepsi modelinde, resveratrolün tek başına uygulanmasının epileptiform aktivitede istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmadığını; ancak resveratrol ile sodyum valproatın birlikte uygulanmasının epileptiform aktiviteyi anlamlı olarak azalttığını göstermektedir. Bu çalışma güçlü bir antioksidan olan resveratrolün etkisini ortaya koymaktadır. Per vd.

(2013) üzüm çekirdeği özütünün epileptiform aktiviteyi baskıladığını bildirmiştir. İki çalışma birlikte düşünüldüğünde antioksidan mekanizmanın güçlendirilmesinin epilepsi üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Antioksidan enzimler epilepsi patogenezinde rol oynamaktadır. Epilepsi başlangıcında ve ilerlemesinde aşırı serbest radikal salınımının rolü bilinmektedir, bu nedenle antioksidan tedaviler epilepsi yönetiminde önemli bir yer tutar. Oksidatif stresi azaltmaya odaklanan antioksidan tedaviler epilepsi tedavisinde büyük ilgi görmektedir. Arslan ve Ağar (2022), P2X7 reseptörlerini aktivasyonu antioksidan enzimleri azaltırken, P2X7 reseptörlerinin blokajı bu enzimlerin düzeyine etki etmediğini tespit etmiştir. HA'nın doğal antioksidan kaynağı olma potansiyeline sahip olduğu da Mohammed ve Niamah (2022) tarafından ileri sürülmektedir. Çalışmamızda HA'nın bu antioksidan gücünün antiepileptik aktivitenin oluşmasına katkı sağladığı kanaati oluşmuştur. Bu mekanizmanın da aydınlatılabilmesi için antioksidan enzimler açısından incelenmesi gerekmektedir. Penisilin modeli ve inflamasyon süreci üzerinde son yıllarda giderek artan çalışmalar mevcuttur. Zhu vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada, astrositlerin beyin ve omurilikte birçok fonksiyonu yerine getirdiği ifade edilmiştir. Bulgular ışığında, AS-IV'nin astrositlerde penisiline bağlı iltihaplanma faktörleri ve p-MAPK'nın yükseltilmesini baskıladığı ve sonuç olarak epilepsiyi hafiflettiği sonucuna varılmıştır. Siklooksijenaz (COX), prostaglandinlerin oluşturulmasına yardımcı olan bir enzimdir. Prostaglandinler vücutta inflamasyon sürecini başlatmada hayati önem taşıyan doğal kimyasallardır. Siklooksijenaz-2 (COX-2), araşidonik asidin prostaglandin H'ye (PGH) metabolize edilerek prostanoide üretimindeki rolü nedeniyle doku inflamasyonunun önemli bir kolaylaştırıcısı olarak kabul edilir. Yu vd., (2021) tarafından yapılan endometriozis patogenezinin ilişkin yapılan çalışmada klinik HA kullanımından sonra çeşitli inflamatuvar yanıtlar araştırılmıştır. Çalışmada endometriozis indüklü sıçanlarda 10 mg/kg ve 20 mg/kg HA'nın etkileri incelenmiştir. Periton sıvısından kontrol grubu ve endometriozis grubunda HA konsantrasyonu bakımından anlamlı bir fark bulunmazken, ektopik endometriotik hücrelerde IL-1 β 'nin güçlendirilmesiyle COX-2 ifadesinin artan ifadesi, immünohistokimyasal sonuçlarına bakıldığında ise yüksek dozda (20 mg/kg) HA'da güçlü COX-2 ekspresyonunda azalma ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında COX-2 ekspresyonunda bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Proinflamatuvar sitokin olan interleukin IL-1 β , endometriozis hastalarında varlığı kanıtlanmış faktörlerden biridir ve COX-2 ekspresyonunu düzenler. Çalışma sonucunda HA'nın endometriozis oluşumunda

akut fazda özellikle düşük dozlarda proinflamatuvar etki ve yüksek dozlarda ise (20 mg/kg) kronik fazda antiinflamatuvar etki oluşturduğunu, bunun da klinik kullanımda mikroskobik ve makroskobik sonuçlar ile erken şiddetli inflamatuvar reaksiyon arasındaki paradoksal davranışları açıklayabileceğini öne sürmüştür. Taşdemir vd. (2018) ise COX-2 inhibitörlerinin penisilinle indüklenmiş deneysel epilepside hem yüksek doz hem düşük doz uygulamasında anti-konvulsif etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. İnflamasyonun epileptogenezdeki rolü anlaşılmaya çalışılmaktadır. Fosfolipidlerden araşidonik asit aracılığı ile COX, LOX ve p450 metabolitleri oluşturulmakta olup bunlar inflamasyonun ilk basamağını oluşturmaktadırlar. COX-2 yolağının aktifleşmesiyle artan IL-1 β astrositlerden glutamat salınımını artırır ve glutamatın yeniden alınımını da azaltır. Bu sebeple sinapslarda glutamat varlığı artar ve nöronal hipereksitabilitiyi artırır (Yıldırım vd., 2019). Sunulan tez çalışmasında HA'nın yukarıda belirtildiği gibi 20 mg/kg'da COX-2 gen ifadesini azaltması, inflamasyonu dolayısıyla da konvulsif nöbetlere sebep olabilecek IL-1 β indüklü glutamat salınımını azaltarak antiepileptik etkiyi göstermiş olabilir.

Hipokampus nöronlarının epileptik nöbetlerde kayba uğradığı bilinmektedir. Kortunay vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, oreksinlerin uyku-uyanıklık döngüsü, enerji homeostazı, içme davranışı, analjezi, dikkat, öğrenme ve bellek gibi fizyolojik işlevlerle ilişkilendirildiği ancak uyarılabilirlik üzerindeki etkilerinin tartışmalı olduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar, erişkin erkek sıçanlarda kortikal penisilin uygulamasıyla indüklenen epileptik nöbetlerin elektrofizyolojik kayıtlarda oreksin A (100 pmol) ve B (100 pmol)'nin intrakortikal enjeksiyonlarının etkilerini incelemişlerdir. Saline kıyasla, oreksin A ve B'nin kortikal penisilin tarafından indüklenen çentik sayısını, çentik amplitüdünü ve spektral güç değerlerini önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir. Çalışmanın bulguları, oreksinlerin penisilin-G uygulamasıyla indüklenen hiperuyarılabilir ve hipersenkronik kortikal epileptik aktiviteyi artırdığını göstermiştir. İyonotropik glutamat reseptörleri NMDA (N-metil D-aspartat; NMDAR), kainik asit (KA), ve AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) reseptörlerini içerir. AMPA reseptörleri uyarıldığında, hücre içine Na⁺ girişiyle depolarizasyon meydana gelir. Kainik asit reseptörlerinin aktivasyonu ise, hücre içine doğrudan Ca⁺² girişine yol açar. NMDA reseptörleri ise, eksitotoksiste gelişiminde en çok suçlanan reseptörlerdir ve uyarıldıklarında hücre içine Ca⁺² girişine neden olur (Okuyaz vd., 2001).

Postsinaptik hücreler üzerindeki NMDA reseptörlerinin artan yönde düzenlenmesinin nöbetlere yol açtığı bilinmektedir (Yıldırım vd., 2019). Genç kemirgen beyinlerinde kortikal alanları, yapısal ve işlevsel plastisitenin yüksek bir derecesini sergiler ve daha sonra gelişim sürecinde bu plastisite azalır. Plastisitenin azalmasıyla birlikte, 1) sinapsları ve nöron devrelerini stabilize eden beyin ekstrasellüler matriksi olan hyaluronik asit tabanlı yapı oluşur ve 2) sinaptik plastisitede rol oynayan N-metil-D-aspartat iyonotrop glutamat reseptörlerinin (NMDAR'lar) GluN2B'den GluN2A alt birim içeren reseptörlere geçişi gerçekleşir. Hyaluronidaz kullanarak ECM'nin deneysel olarak kaldırılması ile, GluN2B'nin yüzey ekspresyonunda bir artışa neden olduğu bunun ise yüzeyde GluN2B içeren reseptörlerin endositozunun azalmasından kaynaklandığı bildirilmiştir. (Schweitzer vd., 2017). Sunulan çalışmada intraserebreventriküler hyaluronik asit uygulaması akut model olmasına rağmen bu yol üzerinden NMDA reseptörlerinin uyarılarak hücre içine kalsiyum akışını azalttığı dolayısıyla antikonvülsif aktiviteyi sağladığı düşünülebilir.

Kochlamazashvili vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, ekstrasellüler matriksin önemli bir bileşeni olan HA sinaptik işlevini incelenmiş olup hyaluronidaz enzimi yardımı ile HA'nın enzimatik olarak uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra kalsiyum kanal blokeri olan nifedipine duyarlı hücrelerde Ca^{+2} akımlarını azalttığı tespit edilmiştir. Yine postsinaptik dendritik şaftlar ve dikenlerde L-tipi gerilime bağımlı Ca^{+2} kanalları (L-VDCC'ler) aracılığıyla Ca^{+2} geçişlerini azalttığı ve hipokampüsteki CA3-CA1 sinapslarında L-VDCC'ler tarafından bağımlı bir uzun süreli potansiyasyon (LTP) bileşenini yok ettiği belirlenmiştir. Kayıtların alındığı sinapslar yakınında, banyo perfüzyonu yoluyla veya lokal olarak doğrudan verme yoluyla eksojen HA eklenmesi, bu LTP bileşenini tamamen sonlandırmıştır. Bu heterolog ifade sisteminde, eksojen HA eklenmesi $Ca_v1.2$ alt birim aracılıklı akımları artırırken $Ca_v1.3$ alt birim içeren L-VDCC'ler tarafından aracılık edilen akımları artırmadı ancak diğer yandan hipokampüse hyaluronidaz enjeksiyonu bağlamsal korku koşullandırmasını bozdu. Perisinaptik ekstrasellüler matriksin dendritik Ca^{+2} kanallarının düzenlenmesi aracılığıyla kullanıma bağlı sinaptik plastisiteyi etkileyen daha önce tanınmayan bir mekanizmayı ortaya çıkarmışlardır. Nifedipin dahil L-VDCC blokerlerinin epilepsinin klinik ve deneysel modellerinde antiepileptik etkileri bilinmektedir. Mevcut bulgular incelendiğinde hyaluronan sentaz hyaluronik asit ekspresyonunu inhibitörlerinin veya diğer

düzenleyicilerinin, yaşlanma ve Alzheimer hastalığı hayvan modellerinde epileptogenez ve bilişsel fonksiyonları etkileyebileceğini önerilmektedir. Burada özetle hyaluronik asidin, hipokampüsteki L-VDCC (L-tipi gerilim bağımlı kalsiyum kanalları) bağımlı LTP formları için önemli olduğu, HA'nın uzaklaştırılmasının postsinaptik L-VDCC aracılı kalsiyum sinyallerini baskıladığını, hipokampüse hyaluronidaz enjeksiyonu, bağlamsal korku koşullandırmasını bozduğu bildirilmiştir. Bu noktalar, HA'nın hipokampüsteki sinaptik plastisite üzerindeki spesifik etkilerini ve L-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla bu etkilerin mekanizmasını vurgular. Bu bulgular, ekstrasellüler matriks bileşenlerinin sinirsel işlev ve öğrenme ile olan ilişkilerini anlamamıza yardımcı olur. HA ekspresyonundaki değişikliklerin epileptojenik aktiviteye sebep olabileceği ve altta yatan mekanizmaların Ca^{+2} salınımlarındaki değişiklikleri içerebileceği gösterilmiştir (Vedunova, 2013). Alıntılanan çalışmalar ışığında HA'nın uzaklaştırıldığı modeller incelendiğinde nöronal sistemlerde Ca^{+2} salınımının kontrolsüz ve aşırı olduğu belirlenmiştir. Sunulan çalışmada ise HA'nın doğrudan eksojen uygulamasının bu aşırı ve kontrolsüz akışları kontrol edebileceği hipotezini kurabiliriz. Giubertoni vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada ise iki değerlikli bir katyon olan kalsiyumun, insan dokularında her yerde bulunan bir polimer olan hyaluronan üzerinde yoğunlaşmasının moleküler mekanizmasını incelenmiştir. İki boyutlu kızılötesi spektroskopi deneyleri ve moleküler dinamik simülasyonlarla birleştirilerek kalsiyumun özellikle milimolar konsantrasyonlarda hyaluronana bağlandığı tespit edilmiştir. Hücre dışı matriks kalsiyum iyonları içerdiğinden bu iyonun HA zincirlerinin yapısına ve dolayısıyla hyaladherin proteinlerine ve reseptörlerine bağlanmasına etkisi dikkate alınmalıdır. Üstelik, ilaç dağıtımı gibi özel uygulamalarla hidrojeller tasarlamak için glikozaminoglikanların geniş kullanımı göz önüne alındığında bu durum daha da önem kazanmaktadır. Çalışmada sunulduğu gibi Ca^{+2} iyonlarının hyaluronik asit tarafından bağlanma kapasitesi onları çalışmamızla uyumlu olarak onların antiepileptik rolüne katkı sağlamış olabilir.

Sonuç olarak; HA' nın penisilin indüklü epilepside, reaktif oksijen türlerini inhibe etmesi, doku oksijenasyonunu artırması, destekleyici matriks oluşturarak aşırı iyon akışını engellemesi, COX-2 ifadesini azaltma yoluyla IL-1 β indüklü glutamat salınımını azaltmasının antikonvülsan etkiyi oluşturduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda eksojen HA uygulamasının MSS'de oluşabilecek hasarları tamir etmek için doku mühendisliği araçları ile kullanılabileceği önerilerinin yanı sıra aynı biyoaktif bileşiğin epileptogenezi

engelleme açısından güvenli bir matriks elemanı olabileceği ana fikri bu tez çalışması ile öne sürülmektedir. Önerilen bu yolların moleküler çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.



KAYNAKÇA

- Acungil, Z. K., Nacar, T., 2022. Effect of resveratrol on a penicillin-induced epilepsy model in rats. **Archives of Epilepsy**, **28**(2): 78-84.
- Akdogan, I., Adiguzel, E., Yilmaz, I., Ozdemir, M. B., Sahiner, M., & Tufan, A. C. 2008. Penicillin-induced epilepsy model in rats: dose-dependant effect on hippocampal volume and neuron number. **Brain Research Bulletin**, **77**(4): 172–177.
- Akdoğan, I., Yonguç, N. G., 2011. Experimental epilepsy models and morphologic alterations of experimental epilepsy models in brain and hippocampus. 269-282. *In: Underlying Mechanisms of Epilepsy* (Ed: Kaneez, F.S), InTech, Croatia.
- Al-Kaleel, A., Aygun, H., Al-Gailani, L., Kabak, Y., Inal, S., Ayyildiz, M., Him, A., Agar, E. 2023. The electrophysiological and behavioral evaluation of the peptide hemopressin and cannabinoid CB1 receptor agonist and antagonist in pentylenetetrazol model of epilepsy in rats. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, **475**(6): 719-730.
- Almond, A., 2007. Hyaluronan. **Cellular and Molecular Life Sciences**, **64**: 1591-1596.
- Arık, A., Bağırıcı, F., Sefil, F., Marangoz, C. 2014. Effect of levetiracetam on penicillin induced epileptic activity in rats. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, **74**(3): 266-275.
- Arranz, A. M., Perkins, K. L., Irie, F., Lewis, D. P., Hrabe, J., Xiao, F., Itano, N., Kimata, K., Hrabetova, S., Yamaguchi, Y. 2014. Hyaluronan deficiency due to Has3 knock-out causes altered neuronal activity and seizures via reduction in brain extracellular space. **Journal of Neuroscience**, **34**(18): 6164-6176.
- Arslan, G., Ağar, E. 2019. Proconvulsant effect of bisphenol A in penicillin induced epileptiform activity. **Cumhuriyet Medical Journal**, **41**(2): 244-249.
- Arslan, G. 2022. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivitede P2x7 Reseptörleri İle Kanabinoid CB1 Reseptörlerinin Etkileşimi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun. 76 s.

- Aygun, H., 2020. Trazodone increases seizures in a genetic WAG/Rij rat model of absence epilepsy while decreasing them in penicillin-evoked focal seizure model. **Epilepsy & Behavior**, **103**: 106847.
- Band, P. 1985. Effective use of hyaluronic-acid. **Drug & Cosmetic Industry**, **137** (4): 54.
- Barrons, R. W., Murray, K. M., Richey, R. M. 1992. Populations at risk for penicillin-induced seizures. **The Annals of Pharmacotherapy**, **26**(1): 26–29.
- Blume, W.T. Lüders, H.O., Mizrahi, E., Tassinari, C., van Emde Boas, W., Engel Jr, J. 2001. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. **Epilepsia**, **42** (9): 1212-1218.
- Bowman, J., Dudek, E., Spitz, M., 2001. Epilepsy, Encyclopedia of Life Sciences, Nature Publishing Group, London, United Kingdom, 1-8.
- Brown, M.B., Jones, S.A. 2005. Hyaluronic acid: a unique topical vehicle for the localized delivery of drugs to the skin. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, **19** (3), 308-318.
- Camenisch, T. D., Spicer, A. P., Brehm-Gibson, T., Biesterfeldt, J., Augustine, M. L., Calabro, A., Kubalak, S., Klewer, S.E., McDonald, J. A. 2000. Disruption of hyaluronan synthase-2 abrogates normal cardiac morphogenesis and hyaluronan-mediated transformation of epithelium to mesenchyme. **The Journal of Clinical Investigation**, **106**(3): 349-360.
- Chen, W.Y.J., Abatangelo, G. 1999. Functions of hyaluronan in wound repair. **Wound Repair Regeneration**, **7**:79–89.
- Chong, B.F., Blank, L.M., Mclaughlin, R., Nielsen, L.K. 2005. Microbial hyaluronic acid production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, **66**: 341–351.
- Chow, K. M., Hui, A. C., Szeto, C.C. 2005. Neurotoxicity induced by beta-lactam antibiotics: from bench to bedside. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology**, **24**(10): 649–653.

- Engel Jr, J. 2001. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. **Epilepsia**, **42**(6): 796-803.
- Fariello, R. G., Portera, A., Scheffner, D. 1976. Parenteral penicillin in rats: an experimental model of multifocal epilepsy. **Epilepsia**, **17**(2): 217-222.
- Ferrer, I., Bernet, E., Soriano, E., Del Rio, T., Fonseca, M. 1990. Naturally occurring cell death in the cerebral cortex of the rat and removal of dead cells by transitory phagocytes. **Neuroscience**, **39**(2): 451-458.
- Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., Wiebe, S. 2014. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. **Epilepsia**, **55**(4): 475–482.
- Fisher, R. S., Boas, W. V. E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., Engel Jr, J., 2005. Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). **Epilepsia**, **46** (4): 470-472.
- Fisher, R.S., Cross, J.H., French, J.A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F.E., Lagae, L., Moshé, S.L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I.E. and Zuberi, S.M. 2017. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, **58**: 522-530.
- Fowke, T. M., Karunasinghe, R. N., Bai, J. Z., Jordan, S., Gunn, A. J., Dean, J. M. 2017. Hyaluronan synthesis by developing cortical neurons in vitro. **Scientific Reports**, **7**: 44135.
- Giubertoni, G., Pérez de Alba Ortiz, A., Bano, F., Zhang, X., Linhardt, R. J., Green, D. E., DeAngelis, P. L., Koenderink, G. H., Richter, R. P., Ensing, B., Bakker, H. J. 2021. Strong reduction of the chain rigidity of hyaluronan by selective binding of Ca²⁺ ions. **Macromolecules**, **54**(3): 1137–1146.

- Grøndahl, T. Ø., Langmoen, I. A. 1993. Epileptogenic effect of antibiotic drugs. **Journal of Neurosurgery**, **78**(6): 938–943.
- Gutnick, M. J., & Prince, D. A. 1971. Penicillinase and the convulsant action of penicillin. **Neurology**, **21**(7): 759–759.
- Hopfield, J. J., 1984. Neurons with graded response have collective computational properties like those of two-state neurons. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, **81** (10): 3088-3092.
- Imberty, A., Lortat-Jacob, H., Pérez, S. 2007. Structural view of glycosaminoglycan–protein interactions. **Carbohydrate Research**, **342**(3-4): 430-439.
- Inoue, M., Oomura, Y., Yakushiji, T., Akaike, N. 1986. Intracellular calcium ions decrease the affinity of the GABA receptor. **Nature**, **324**(6093): 156-158.
- Jackson, J.H. 1988. On a particular variety of epilepsy (Intellectual aura): One Case with Symptoms of Organic Brain Disease. **Brain**, **11**(2): 179-207.
- Jensen, G., Holloway, J. L., Stabenfeldt, S. E. 2020. Hyaluronic acid biomaterials for central nervous system regenerative medicine. **Cells**, **9**(9): 2113.
- Johnson, H. C. 1945. Intraventricular penicillin: A note of warning. *Journal of the American Medical Association*, **127**(4): 217.
- Kessler, S. P., Obery, D. R., de la Motte, C., 2015. Hyaluronan synthase 3 null mice exhibit decreased intestinal inflammation and tissue damage in the DSS-induced colitis model. **International Journal of Cell Biology**, **2015**: 745237.
- Kocacan, S. E., Arslan, G., Rzaev, E., Agar, E., Ayyildiz, M. 2022. The role of T-Type calcium channels in the effect of 5-HT₇ serotonin receptor on penicillin-induced epileptiform activity. **Acta Physiologica**, **234**: 14-24.
- Kochlamazashvili, G., Henneberger, C., Bukalo, O., Dvoretzkova, E., Senkov, O., Lievens, P. M., Westenbroek, R., Engel, A. K., Catterall, W. A., Rusakov, D. A., Schachner, M., Dityatev, A. (2010). The extracellular matrix molecule hyaluronic

acid regulates hippocampal synaptic plasticity by modulating postsynaptic L-type Ca^{2+} channels. **Neuron**, **67**(1): 116–128.

Koolman. J., Röhm. K.H. 2003. Renkli Biyokimya Atlası. (Çev. Yeşilkaya, A., Baykal, A. ve Özgül., A.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Kortunay, S., Erken, H. A., Erken, G., Genç, O., Şahiner, M., Turgut, S., Turgut, G. 2012. Orexins increase penicillin-induced epileptic activity. **Peptides**, **34**(2): 419-422.

Lakhan, S., 2023. The Location and Function of the Cerebellum in the Brain <https://www.verywellmind.com/what-is-the-cerebellum-2794964> (Son Erişim: 26.02.2024).

Lewis, D. A., Hashimoto, T., Volk, D. W., 2005. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. **Nature Reviews Neuroscience**, **6** (4): 312-324.

Liao, Y. H., Jones, S. A., Forbes, B., Martin, G. P., Brown, M. B. 2005. Hyaluronan: pharmaceutical characterization and drug delivery. **Drug Delivery**, **12**(6): 327-342.

Lin, C.-S., Cheng, C.-J., Lin, S.-H., & Chou, C.H. 2007. Piperacillin/tazobactam-induced seizure rapidly reversed by high flux hemodialysis in a patient on peritoneal dialysis. **The American Journal of the Medical Sciences**, **333**(3): 181–184.

Löscher, W., 2002. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. **Epilepsy Research**, **50** (1-2): 105-123.

Marangoz, C., 1997. Deneysel epilepsi modelleri. **Journal of Experimental and Clinical Medicine**, **14**(3): 147-186.

Margolis, R. U., Margolis, R. K., Chang, L. B., Preti, C., 1975. Glycosaminoglycans of brain during development. **Biochemistry**, **14**(1): 85-88.

Matsumoto, K., Li, Y., Jakuba, C., Sugiyama, Y., Sayo, T., Okuno, M., Dealy, C.N., Toole, B.P., Takeda J., Yamaguchi, Y., Kosher, R.A. 2009. Conditional

inactivation of Has2 reveals a crucial role for hyaluronan in skeletal growth, patterning, chondrocyte maturation and joint formation in the developing limb.

Development, **136**(16): 2825-2835.

Mohammed, A. A., Niamah, A. K. 2022. Identification and antioxidant activity of hyaluronic acid extracted from local isolates of *Streptococcus thermophilus*. **Materials Today: Proceedings**, **60**: 1523–1529.

Musuroglu Keloglan, S., Aycik, F. B., Kocacan, S. E., Yazgan, B., Ayyildiz, M., Agar, E. 2023. Nesfatin-1 exerts anticonvulsant effect by reducing oxidative stress in experimental epilepsy model. **Acta Neurobiologiae Experimentalis**, **83**(3): 227–235.

National Center for Biotechnology Information 2024. PubChem Compound Summary for, Hyaluronic Acid. Retrieved February 12, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hyaluronic-Acid>.

National Center for Biotechnology Information 2024. PubChem Compound Summary for CID 5904, Penicillin G. Retrieved February 13, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Penicillin-G>.

Neudecker, B. A., Csoka, A. B., Nawy, S. S., Maibach, H. I. Stern, R. 2000. Hyaluronan: History and biochemistry. **Cosmetics and Toiletries**, **115**(9): 36-43.

Ng, K. F., Schwartz, N. B., 1989. Solubilization and partial purification of hyaluronate synthetase from oligodendroglioma cells. **Journal of Biological Chemistry**, **264**(20): 11776-11783.

O'Donohoe, N.V. 1985. The EEG and neuroimaging in the management of the epilepsies. **Archives of Disease in Childhood**, **73**(6): 552.

Okuyaz, Ç., Serdaroğlu, A. 2001. Nöronal koruma ve epilepsi. **Türk Nöroloji Dergisi**, **7**(1): 153-160.

Özkan, K., 2020. Laboratuvar hayvanlarında deneysel epilepsi modelleri. **İzmir Democracy University Health Sciences Journal**, **3**(1): 38-51.

- Pavlichko, J.P. 1990. Polymer interactions to enhance the function of hyaluronic-acid. **Drug & Cosmetic Industry**, **147**(3): 20.
- Per, H., 2010. Dirençli Epilepsili Çocuklarda Selenyum ve Bor Düzeylerinin Serum ve İdrarda Değerlendirilmesi, Erciyes Üniversitesi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Kayseri, 71 s.
- Per, S., Tasdemir, A., Yildirim, M., Ayyildiz, M., Ayyildiz, N., & Agar, E. 2013. The involvement of iNOS activity in the anticonvulsant effect of grape seed extract on the penicillin-induced epileptiform activity in rats. **Acta Physiologica Hungarica**, **100**(2): 224–236.
- Postnova, S., Finke, C., Jin, W., Schneider, H., Braun, H.A. 2010. A computational study of the interdependencies between neuronal impulse pattern, noise effects and synchronization. **Journal of Physiology-Paris**, **104**(3-4): 176-189.
- Prestwich, G. D., Vercruysse, K. P. 1998. Therapeutic applications of hyaluronic acid and hyaluronan derivatives. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, **1**: 42-43.
- Rezaei, N.J., Bazzazi, A.M., Alavi, S.A.N. 2018. Neurotoxicity of the antibiotics: A comprehensive study. **Neurology India**, **66**: 1732.
- Scharfman, H. E., 2007. The neurobiology of epilepsy. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, **7**(4): 348-354.
- Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D. R., Perucca, E., Tomson, T., Wiebe, S., Zhang, Y. H., Zuberi, S. M. 2017. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. **Epilepsia**, **58**(4): 512–521.
- Sheng, J., Liu, S., Qin, H., Li, B., Zhang, X., 2018. Drug-resistant epilepsy and surgery. **Current Neuropharmacology**, **16**(1): 17-28.
- Schultz, W., 1998. Predictive reward signal of dopamine neurons. **Journal of Neurophysiology**, **80**(1): 1-27.

- Schweitzer, B., Singh, J., Fejtova, A., Groc, L., Heine, M., Frischknecht, R. 2017. Hyaluronic acid based extracellular matrix regulates surface expression of GluN2B containing NMDA receptors. **Scientific Reports**, 7(1): 10991.
- Singh, A., Trevick, S., 2016. The epidemiology of global epilepsy. **Neurologic Clinics**, 34(4): 837-847.
- Stern, R., Frost, G. I., Shuster, S., Shuster, V., Hall, J., Wong, T. 1998. Hyaluronic acid and skin: An expanding biological universe. **Cosmetics and Toiletries**, 113(4): 43-48.
- Sutter, R., Rüegg, S., Tschudin-Sutter, S. 2015. Seizures as adverse events of antibiotic drugs: A systematic review: A systematic review. **Neurology**, 85(15): 1332–1341.
- Sze, J. H., Brownlie, J. C., Love, C. A. 2016. Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review. **3 Biotech**, 6(1): 67.
- Takechi, M., Oshima, K., Nadano, D., Kitagawa, H., Matsuda, T., Miyata, S. 2020. A pericellular hyaluronan matrix is required for the morphological maturation of cortical neurons. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, 1864(10): 129679.
- Tasdemir, A., Taskiran, M., & Ayyildiz, N. 2018. Effects of low and high doses of acetylsalicylic acid on penicillin-induced epileptiform activity. **Pharmacological Reports**, 70(5), 885–889.
- Tien, J. Y., Spicer, A. P. 2005. Three vertebrate hyaluronan synthases are expressed during mouse development in distinct spatial and temporal patterns. **Developmental dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists**, 233(1): 130-141.
- Ueno, H., Suemitsu, S., Murakami, S., Kitamura, N., Wani, K., Matsumoto, Y., Aoki, S., Okamoto, M., Ishihara, T. 2018. Hyaluronic acid is present on specific perineuronal nets in the mouse cerebral cortex. **Brain Research**, 1698: 139-150.

- Vedunova, M., Sakharova, T., Mitroshina, E., Perminova, M., Pimashkin, A., Zakharov, Y., Dityatev, A., Mukhina, I. 2013. Seizure-like activity in hyaluronidase-treated dissociated hippocampal cultures. **Frontiers in Cellular Neuroscience**, 7:149.
- Wakao, N., Imagama, S., Zhang, H., Tauchi, R., Muramoto, A., Natori, T., Takeshita, S., Ishiguro, N., Matsuyama, Y., Kadomatsu, K. 2011. Hyaluronan oligosaccharides promote functional recovery after spinal cord injury in rats. **Neuroscience Letters**, **488(3)**: 299-304.
- Weigel P.H. 2015. Hyaluronan Synthase: The Mechanism of initiation at the reducing end and a pendulum model for polysaccharide translocation to the cell exterior. **International journal of Cell Biology**, 367579.
- Weissmann, B., Meyer, K., Sampson, P., Linker, A. 1954. Isolation of oligosaccharides enzymatically produced from hyaluronic acid. **Journal of Biological Chemistry**, **208(1)**: 417-429.
- Yasuhara, O., Akiyama, H., McGeer, E. G., McGeer, P. L. 1994. Immunohistochemical localization of hyaluronic acid in rat and human brain. **Brain Research**, **635(1-2)**: 269-282.
- Yıldırım, M., Değirmenci, U., Yalın, S. 2019. Epilepside inflamasyonun rolü. **Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi**, **12(3)**: 525-533.
- Yu, P. H., Chou, P. Y., Li, W. N., Tsai, S. J., Wu, M.H. 2021. The pro-inflammatory and anti-inflammatory role of hyaluronic acid in endometriosis. **Taiwanese Journal Of Obstetrics & Gynecology**, **60(4)**: 711–717.
- Zhu, X., Chen, Y., Du, Y., Wan, Q., Xu, Y., Wu, J. 2018. Astragaloside IV attenuates penicillin-induced epilepsy via inhibiting activation of the MAPK signaling pathway. **Molecular Medicine Reports**, **17(1)**: 643-647.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Zeynep Oğuz

Uyruğu: Türkiye (T.C)

Doğum Tarihi ve Yeri:

Medeni Durum:

e-mail:

Yazışma Adresi:

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Ahi Evran Üniversitesi-Biyoloji	2018
Önlisans	Erciyes Üniversitesi-Tıbbi Laboratuvar Teknikleri	2014
Lise	Kayseri Sağlık Meslek Lisesi	2012

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2017-Halen	Tuzla Devlet Hastanesi	

YABANCI DİL

İngilizce