

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜNÜN PENİSİLİNLE
UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Sedat PER**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ
Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Eylül 2010
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜNÜN PENİSİLİNLE
UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Sedat PER**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ
Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
FBA-09-720 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Eylül 2010
KAYSERİ**

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ ve Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ danışmanlığında **Sedat PER** tarafından hazırlanan “**Üzüm Çekirdeği Özütünün Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktiviteye Etkisi**” adlı çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

07.09.2010

JÜRİ:

Başkan: Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Üye : Doç. Dr. Coşkun TEZ

Üye : Doç. Dr. Abdurrahman AYVAZ

Üye : Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM

Üye : Doç. Dr. Hakan GÜMÜŞ

N. Ayyıldız
Coşkun Tez
Abdurrahman Ayvaz
Mehmet Yıldırım
Hakan Gümüş

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulunun **24.09.2010** tarih ve **2010/34-15** sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Necmettin Maraşlı
Prof. Dr. Necmettin MARAŞLI
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmada, tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen tez yöneticilerim Sayın Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ ve Sayın Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm Prof. Dr. Erdal AĞAR'a, Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM'a ve laboratuarda gece geç saatlere kadar yardımlarını esirgemeyen Abdulkadir TAŞDEMİR'e teşekkür ederim.

Çalışmalarımın bir kısmını yapmak üzere laboratuvarlarında çalışma imkânı sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Cafer MARANGOZ'a ve fizyoloji laboratuvarlarının yardımcı elamanı Mehmet ÖZLAN'a, doktora öğrenimimin başlangıç aşamasında yardımlarını gördüğüm Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Orhan ERMAN'a teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmalarım esnasında kolaylıklar gösteren Bozok Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU'na ve mesai arkadaşlarımın hepsine teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında kullanılan Wistar cinsi sıçanları temin eden Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan ÇETİNSAYA Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi çalışanlarına teşekkür ederim.

Manevi desteklerini gördüğüm MİAS Yönetim Kurulu Başkanı Nuri Kuzan'a teşekkür ederim.

Yaşamlarımdan büyük fedakârlık yaparak her zaman benim için verimli bir çalışma ortamı sağlayan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili anne ve babama teşekkür etmeyi mutlu bir görev addederim.

Bu çalışmayı, EÜBAP-FBA-09-720 kodlu proje ile destekleyen Erciyes Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

ÜZÜM ÇEKİRDEĞİ ÖZÜTÜNÜN PENİSİLİNLE UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ

Sedat PER

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Doktora Tezi, Eylül 2010

Tez Danışmanları: Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ

ÖZET

Sıçanlarda penisilinle uyarılan epileptiform aktivite üzerine üzüm çekirdeği özütünün (Grape Seed Extract; GSE) etkisi ve GSE'nin etkisi üzerindeki nitrik oksit (NO) yolağının muhtemel rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 98 adet erkek Wistar sıçan üretan ile anesteziye alınarak sol somatomotor korteksleri açılıp stereotaksik cihaza yerleştirildi. Korteks yüzeyine kayıt elektrotları yerleştirilerek dijital kayıt düzeneğine bağlandı. Penisilin + 50 mg/kg GSE, penisilin + 100 mg/kg GSE, penisilin + 200 mg/kg GSE, penisilin + 400 mg/kg GSE, penisilin + 60 mg/kg aminoguanidin, penisilin + 100 mg/kg aminoguanidin, penisilin + etkin doz GSE grubu + 500 mg/kg L-arjinin, penisilin + etkin doz GSE grubu + 60 mg/kg L-NAME, penisilin + etkin doz GSE grubu + 40 mg/kg 7-Nitroindazol, penisilin + 60 mg/kg aminoguanidin + etkin doz GSE, penisilin + 500 mg/kg L-arjinin + 60 mg/kg aminoguanidin + etkin doz GSE grupları oluşturuldu.

Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra 50, 100, 200 mg/kg dozlarda uygulanan GSE'nin epileptiform aktivitenin ortalama frekansını azalttığı, fakat amplitüd de değişikliğe neden olmadığı; GSE'nin 400 mg/kg dozunun, epileptiform aktivitenin amplitüdünü ve frekansını değiştirmedığı; 200 mg/kg dozunun ise epileptiform aktivitenin frekansını değiştiren en etkili doz olduğu belirlendi. GSE'nin antikonvulsan etkisi, seçici indüklenebilir nitrik oksit sentaz inhibitörü olan ve aynı zamanda NO substratı L-arjinin tarafından inhibe edilen aminoguanidinin varlığında önemli ölçüde azaldı. Seçici olmayan nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME kısmi olarak GSE'nin antikonvulsan aktivitesini tersine çevirdi. Seçici nöronal nitrik oksit sentaz inhibitörü 7-Nitroindazol ve L-arjinin GSE varlığında benzer antikonvulsan aktivite gösterdi.

Elektrofizyolojik bulgular, GSE'nin epileptiform aktivitenin ortalama frekansını azalttığını ve GSE'nin antikonvulsan etkisinin iNOS'dan kaynaklanabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Deneysel epilepsi, üzüm çekirdeği özütü, nitrik oksit, aminoguanidin, penisilin.

THE EFFECT OF GRAPE SEED EXTRACT ON PENICILLIN-INDUCED EPILEPTIFORM ACTIVITY

Sedat PER

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences

Ph.D. Thesis, September 2010

Thesis Supervisors: Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ

ABSTRACT

The effect of grape seed extract (GSE) on penicillin-induced epileptiform activity in rat and the potential role of nitric oxide (NO) pathway in the effect of GSE were investigated. For this reason, male Wistar rats (n=98) were anesthetized with urethane. The left somatomotor cortex were opened and were placed on stereotaxic equipment. Recording electrodes were put on their cortex and connected to the digital recording system. Penicillin + 50 mg/kg GSE, penicillin + 100 mg/kg GSE, penicillin + 200 mg/kg GSE, penicillin + 400 mg/kg GSE, penicillin + 60 mg/kg aminoguanidine, penicillin + 100 mg/kg aminoguanidine, penicillin + the effective dose of GSE + 500 mg/kg L-arginin, penicillin + the effective dose of GSE + 60 mg/kg L-NAME, penicillin + the effective dose of GSE + 40 mg/kg 7-Nitroindazole, penicillin + 60 mg/kg aminoguanidine + the effective dose of GSE, penicillin + 500 mg/kg L-arginin + 60 mg/kg aminoguanidine + the effective dose of GSE groups were formed.

Thirty minutes after penicillin injection, 50, 100 and 200 mg/kg dose of GSE caused a decrease in the mean frequency of epileptiform activity, but did not changed the amplitude. A dose of 400 mg/kg GSE did not change the amplitude and frequency of epileptiform activity. The most effective GSE dose was 200 mg/kg in changing the frequency of epileptiform activity. The occurrence of anticonvulsant activity caused by GSE was significantly reduced in the presence of selective inducible nitric oxide synthase inhibitor, aminoguanidine, which was inhibited by NO precursor, L-arginine. The administration of non-selective nitric oxide synthase inhibitor, L-NAME partially reversed the anticonvulsant activity of GSE. Selective neuronal nitric oxide synthase inhibitor, 7-NI and L-arginine showed a similar anticonvulsant activity in the presence of GSE.

The electrophysiological evidences indicated that GSE decreases the mean frequency of epileptiform activity and the anticonvulsant effect of GSE could be originated from the iNOS.

Keywords: Experimental epilepsy, grape seeds extract, nitric oxide, aminoguanidine, penicillin.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
KISALTMALAR ve SEMBOLLER	x
TABLolar LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
1. BÖLÜM	
GİRİŞ	1
2. BÖLÜM	
GENEL BİLGİLER	4
2.1. Sinir Sistemi	4
2.1.1. Merkezi Sinir Sistemi (MSS).....	7
2.2. Epilepsi	11
2.2.1. Epilepsi Nedenleri	13
2.2.2. Nöbet Aktivitesi Başlaması ve Sönmesi	14
2.2.2.1. Nöronal Membranların Eksitasyonu ve İnhibisyonu	14
2.2.2.2. Nöronların Nörotransmitterler Tarafından Eksitasyon ve İnhibisyonu	15
2.2.3. Nöbetler ve Epileptik Sendromların Sınıflaması	15
2.3. Deneysel Epilepsi Modelleri	22
2.4. Elektroensefalogram (EEG)	25
2.5. Elektrokortikogram (ECoG)	30
2.6. Antioksidanlar	30
2.7. Nitrik Oksit	33
3. BÖLÜM	
MATERYAL VE YÖNTEM	37
3.1. Deney Hayvanları	37
3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri	37
3.2.1. Penisilin G Potasyum	37
3.2.2. L-arjinin	38
3.2.3. L-NAME	38
3.2.4. 7-Nitroindazol (7NI)	38

3.2.5. Aminoguanidin (AG)	39
3.2.6. Üzüm Çekirdeği Özütü (GSE)	39
3.3. Deney Grupları	39
3.4. Cerrahi İşlem	41
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar	43
3.6. İstatistiksel Analiz	45
4. BÖLÜM	
BULGULAR	48
4.1. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivitenin İncelenmesi	48
4.2. Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi	48
4.2.1. 50 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi	48
4.2.2. 100 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi	49
4.2.3. 200 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi	49
4.2.4. 400 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi	49
4.3. Nitrik Oksit Agonist ve Antagonistlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisinin İncelenmesi.	50
4.3.1. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörü Aminoguanidin'in Epileptiform Aktiviteye Etkisi	50
4.3.2. Üzüm Çekirdeği Özütünün Nitrik Oksit Agonist ve Antagonistleri ile Etkileşimlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	50
4.3.2.1. Üzüm Çekirdeği Özütü + L-arjinin Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	50
4.3.2.2. Üzüm Çekirdeği Özütü + L-NAME Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	53
4.3.2.3. Üzüm Çekirdeği Özütü + 7-Nitroindazol Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	53
4.3.2.4. Aminoguanidin + Üzüm Çekirdeği Özütü Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	53

4.3.2.5. L-arjinin + Aminoguanidin +Üzüm Çekirdeği Özütü Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	59
5. BÖLÜM	
TARTIŞMA ve SONUÇLAR	60
5.1. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivitede Üzüm Çekirdeğinin Etkisi.....	60
5.2. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivite Üzerine Üzüm Çekirdeği Özütünün Gösterdiği Antikonvulsant Etkide Nitrik Oksit Yolunun Rolü	64
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	83

KISALTMALAR ve SİMGELER

GSE	: Üzüm çekirdeği özütü (= Grape Seed Extract)
GPSE	: Üzüm çekirdeği proantosiyanidin özütü
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
eNOS	: Entotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
cNOS	: Yapısal nitrik oksit
L-NAME	: N _ω -nitro-L-arjinin metil ester hidroklorid
7NI	: 7-Nitroindazol
AG	: Aminoguanidin
MSS	: Merkezi sinir sistemi
EEG	: Elektroensefalogram
ECoG	: Elektrokortikogram
GABA	: γ -aminobütirik asit
EPSP	: Eksitator postsinaptik potansiyel
IPSP	: İnhibitör postsinaptik potansiyel
ILAE	: Uluslararası Epilepsiyle Savaşım Birliği
REM	: Hızlı göz hareketleri (= Rapid eye movement)
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
NMDA	: N-metil-D-aspartat
i.c.	: İntrakortikal
i.p.	: İntraperitoneal
aCSF	: Yapay beyin-omurilik sıvısı (= Artificial cerebrospinal fluid)
IU	: Uluslararası ünite (= International Unit)
SEM	: Ortalamanın standart hatası
SF	: Serum fizyolojik

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Sinir sistemindeki nöronların tipleri	6
Tablo 2.2. EEG'nin dalga bandları	28
Tablo 4.1. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin frekansı üzerine farklı dozlardaki üzüm çekirdeği özütünün her 30 dakikadaki etkisi	51
Tablo 4.2. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin amplitüd üzerine farklı dozlardaki üzüm çekirdeği özütünün her 30 dakikadaki etkisi	51
Tablo 4.3. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin frekansı üzerine üzüm çekirdeği özütünün etkin dozu ile NO agonist ve antagonistlerinin her 30 dakikadaki etkisi	54
Tablo 4.4. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin amplitüd üzerine üzüm çekirdeği özütünün etkin dozu ile NO agonist ve antagonistlerinin her 30 dakikadaki etkisi.	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Bir nöronun genel yapısı.....	5
Şekil 2.2. Merkezi sinir sistemindeki nöron tipleri.....	6
Şekil 2.3. İnsan beyninin genel anatomik yapısı.....	8
Şekil 2.4. Beyin korteksinin yapısı	11
Şekil 2.5. Nöbet sınıflandırma algoritması	22
Şekil 2.6. 10-20 Elektrot yerleştirme sistemine göre elektrot yerleştirme noktaları.....	26
Şekil 2.7. Dört temel beyin dalgası	27
Şekil 2.8. Farklı durumlar süresince elde edilen EEG kayıtları.....	29
Şekil 2.9. Beynin bir bölgesinin gösterilmesi ve elektrotların yerleştirilmesi	30
Şekil 2.10. Proantosiyanidin kimyasal yapısı	32
Şekil 2.11. Endotel hücrelerde NO sentezi ve düz kas hücrelerindeki etkisi.....	36
Şekil 2.12. NO oluşumu	34
Şekil 2.13. NO'nun sentezlenmesinin kimyasal formülasyonu	34
Şekil 3.1. A) Hayvanlara intraperitoneal (ip) yolla üretilen verilmemesi, B) Hayvanların tıraş edilmesi	42
Şekil 3.2. Hayvanların kafatası kemiğinin beyin korteksine kadar açılması	43
Şekil 3.3. Hayvanların beyin korteksine iki adet Ag/AgCl top elektrot ve sağ kulak kepeğine referans elektrot yerleştirilmesi	44
Şekil 3.4. Sol korteksi açılmış hayvanın kayıt anındaki görüntüsü	44
Şekil 3.5. Elektrofizyolojik kayıt düzeneği.....	46
Şekil 3.6. Elektrofizyolojik kayıt için kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü	47
Şekil 3.7. Elipseptik aktivite de spike frekansı ve amplitüdün hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem penceresi görüntüsü	47
Şekil 4.1. A) Kortekse herhangi bir madde enjekte edilmeden önceki bazal ECoG aktivite, B) penisilinin 500 IU i.c. enjeksiyonu ile epileptiform aktivitenin başlaması	52
Şekil 4.2. Üzüm çekirdeği özütünün 50, 100, 200 ve 400 mg/kg (i.p.) dozlarının, GSE enjeksiyonu yapıldıktan sonra 20., 40., 80., dakikalarda epileptiform aktivite de ortalama spike frekansları	56

Şekil 4.3. AG'nin 60, 100 mg/kg (i.p.) dozlarının penisilinle uyarılan epileptiform aktivitede ortalama spike frekansları	57
Şekil 4.4. L-NAME, 7-NI, AG ve L-arjinin penisilinle uyarılan epileptiform aktivitede GSE'nin antikonvülsant aktivitesine etkisi	58

1. BÖLÜM

GİRİŞ

Epilepsi; tekrarlayan nöbetlerle karakterize, insan yaşamını mental ve fiziksel olarak olumsuz etkileyen en yaygın sinir sistemi hastalıklarından birisidir [1]. Beynin belli bölgelerinde bulunan eksitator ve inhibitör kontrol sistemleri arasındaki dengenin bozulması epilepsinin oluşumuna yol açmaktadır [2]. Epileptik nöbetlerin çoğu kortikal ve hipokampal yapılarda ortaya çıkan deşarjlarla oluşur [3]. Epilepsinin de dâhil olduğu şiddetli mental ve nörolojik hastalıkların patofizyolojisinde eser elementlerin, elektrolit ve antioksidan metabolizmasındaki anormalliklerin rol aldığı gösterilmiştir [4]. Epilepsi tedavisi her zaman sinir hücrelerinin korunmasıyla ilişkilidir ve bu durum, nöbetleri tamamen baskılamak ya da süresini azaltmak suretiyle gerçekleştirilebilir [5].

Serbest radikallerin biyolojik etkileri en iyi şekilde *in vivo* olarak E, C ve A vitaminleri ve glutatyon gibi antioksidanlarla kontrol edilir [6]. E ve C vitamininin nöron koruyucu etkilerinin yanında epilepsi tedavisinde de etkili olduğunu gösteren deneysel ve klinik çalışmalar vardır [7-14]. Belirtilen çalışmalar incelendiğinde, epilepsinin deneysel modellerinde uygulanan ve ortaya çıkan etkin dozlarda farklılıkların olduğu göze çarpmaktadır. Diğer taraftan üzüm çekirdeği özütünün (Grape Seed Extract; GSE) oksidan hasarı önlemede görev yapan en güçlü antioksidanlardan biri olduğu bilinmektedir [15-24]. Dokuz hafta süreyle 25, 50 ve 75 mg/kg GSE verilen ergin sıçanlarda lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu önleyen etkin dozun 75 mg/kg GSE olduğu tespit edilmiştir [24]. Sıçan merkezi sinir sistemindeki yaş ile ilgili oksidatif protein ve DNA hasarını inhibe etmede 100 mg/kg GSE dozunun etkili olduğu bulunmuştur [21-23].

Nitrik oksit (NO) memelilerde nöron, endotel ve makrofaj gibi farklı hücre tiplerinde nitrik oksit sentaz (NOS) olarak adlandırılan üç izoenzim ailesi tarafından

sentezlenmektedir. Nöronlarda bulunan nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) yapısal olarak üretilir ve aktivitesi Ca^{+2} tarafından düzenlenir. Diğer bir yapısal ve Ca^{+2} 'a bağımlı NOS tipi olan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) damarların endotel hücrelerinde bulunmaktadır. Ayrıca makrofajlar, indüklenebilen, Ca^{+2} 'dan bağımsız ve sitokinlerin etkisiyle üretilen bir NOS tipini yani indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimini içermektedir. Hipokampus ve diğer beyin bölgelerinin nöronları ayrıca nNOS'un yanında eNOS'da içermektedir. Bu üç izoenzimin hepsi moleküler oksijen ve nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat'ı (NADPH) ko-substrat gibi kullanarak L-arjininden NO üretirler [25].

Ayrıca, GSE'nin NO üretimini artırdığı da bulunmuştur [26, 27]. NO hücrel üretim hızına bağlı olarak düzenleyici, koruyucu veya toksik etki gösterebilir [28]. NO üretiminin düşük olması reaktif oksijenle ilişkili hasara karşı koruyucu olmaktadır [29]. NO'nun konvulsif veya antikonvulsif etkiye sahip olduğunu bildiren çalışmalar vardır [30-36]. NO'nun E ve C vitaminlerinin antikonvulsif etkisine karıştığı da bildirilmiştir [12-14]. Beyinde reaktif oksijen ve azot ürün artışının epilepsiye yol açtığı göz önünde bulundurulduğunda en güçlü antioksidanlardan biri olan GSE'nin de epilepsiye önlemede en azından E ve C vitaminleri kadar etkili olacağı kaçınılmaz görünmektedir. Diğer taraftan GSE'nin güvenli doz kullanım aralığı E vitaminine göre oldukça geniştir. Öyle ki 2-4 gr/kg oral dozlarda alınan GSE'nin toksik olmadığı ve herhangi bir mutajenite göstermediği tespit edilmiştir [17].

Arjinin, doğada çok yaygın olarak bulunan esansiyel olmayan bir amino asittir [37]. L-arjinin, NOS'un katalitik etkisiyle NO oluşumunda önemli bir moleküldür [38]. Karaciğer dışı dokularda ornitinden dönüştürülerek elde edilebilir. Her ne kadar tüm insanlar sentez edebiliyorsa da bazılarının diyetle almaları gerekebilir (idiyopatik hipospermi). Özellikle büyüme dönemindeki çocuklarda, yaşlılarda ve iyileşme sürecindeki hastalarda besinlerle alınması gerektiği belirlenmiştir. Arjinin yıkılması büyük ölçüde üre sentezi sırasında görülen son reaksiyonla gerçekleşir. Bu reaksiyonda arjinin, üre ve ornitine dönüşür ve hem üre sentezi hem de arjinin katabolizması gerçekleşir. Arjinin hücre bölünmesi, yara iyileşmesi, amonyağın vücuttan uzaklaştırılması yolu olan üre döngüsü, immun fonksiyonlar ve hormonların salgılanmasında önemli rol oynar. Et, süt ürünleri, kümes hayvanları ve balıkta bol miktarda bulunur. Vücutta kan damarlarının gevşemesinde kullanılan nitrik oksit

arjininden sentezlenir. Bu özelliği nedeniyle kardiyovasküler yetmezlikler, impotans ve kadınlarda eşeyssel yetersizliklerin tedavisinde kullanılmaktadır [37].

L-NAME (N_ω-nitro-L-arjinin metil ester hidroklorid), NO üretimini engelleyen bir arjinin analogudur. NOS enzimlerinin tamamını etkileyerek NO üretimini engelleyen nonspesifik bir antagonisttir [25].

7-Nitroindazol (7NI), nNOS'un seçici inhibitörüdür [39]. 7NI'ün kainik asit ve pilokarpini baskılayarak antikonvulsan etkiye neden olduğu belirtilmiştir [40].

Aminoguanidin (AG), L-arjinine (NOS substratı) yapısal olarak çok benzer olduğundan dolayı iNOS'ı diğer inhibitörler kadar inhibe edebilir. Nitekim Corbett [38] tarafından, L-arjinin ve AG'nin kimyasal yapılarının benzer olduğu (her iki kimyasal yapıda da eşdeğer guanidin azotu bulunur) ve AG'nin yarışmalı olarak enzimin substratı yerine geçtiği ileri sürülmüştür. İnhibisyon, ortamdaki L-arjinin konsantrasyonunu artırarak ortadan kaldırılabilir.

Literatürde GSE ile epilepsi arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerindeki intraperitoneal GSE enjeksiyonun etkisinin araştırılması ve bu süreçte NO substratı L-arjinin, non-spesifik NOS inhibitörü L-NAME, spesifik nNOS inhibitörü 7-nitroindazol ve indüklenabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) inhibitörü aminoguanidin kullanılarak NO'nun rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. BÖLÜM

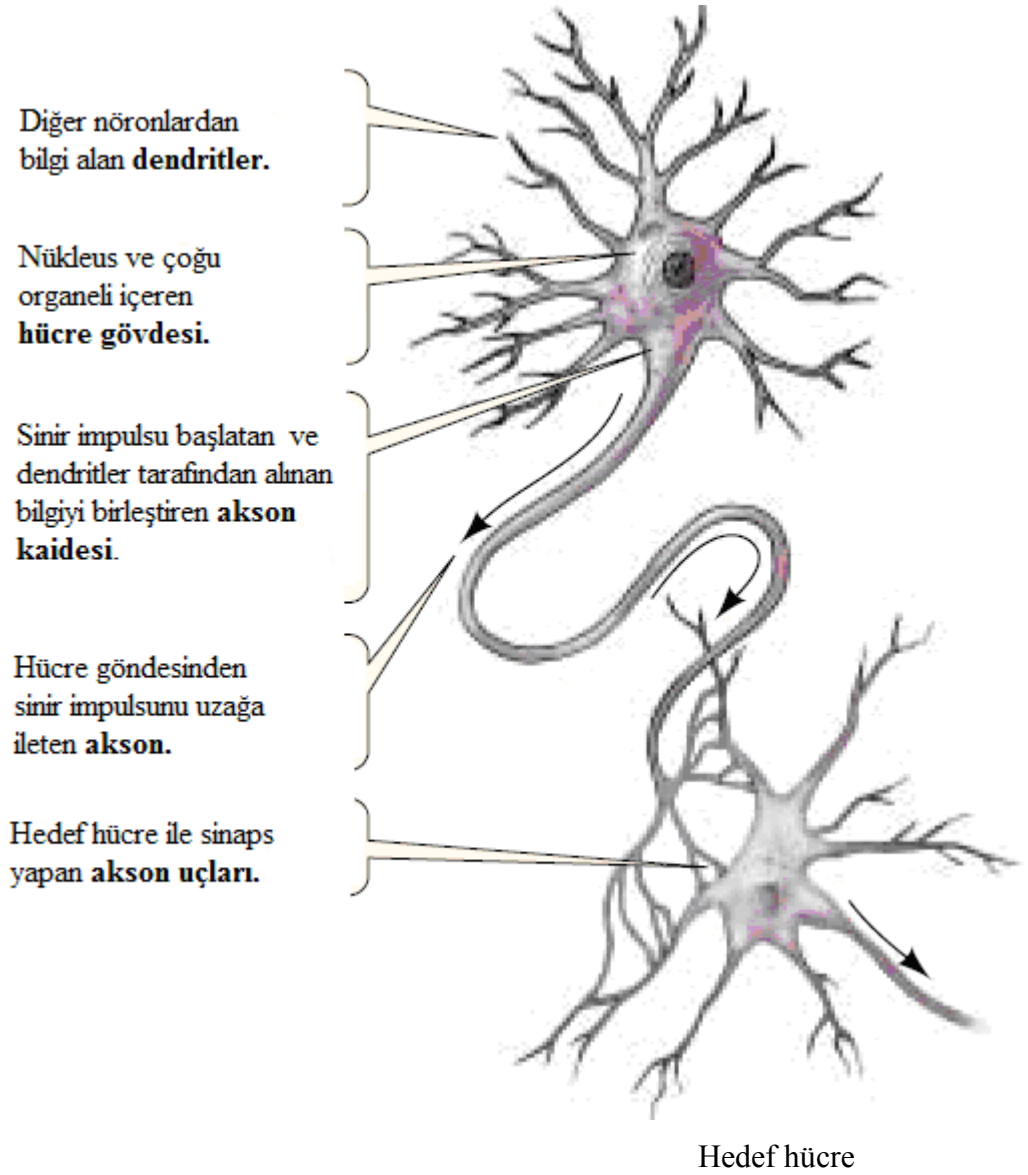
GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

Döllenmeden sonraki üçüncü haftanın sonunda insan embriyosu oval bir plak şeklinde, amnion boşluğu ve yolk kesesi adı verilen iki boşluk arasında bulunmaktadır. Bu embriyonun dıştan içe doğru üç tabakası vardır. 1. Ektoderm, 2. Mesoderm, 3. Endoderm. Embriyonun mid-dorsal hattında bulunan ektoderm hücreleri fazlaca çoğalarak, önden arkaya uzanan nöral plağı meydana getirirler. Merkezi sinir sistemi bu nöral plaktan gelişir [41]. Gelişim ilerlerken dördüncü ve sekizinci haftalar arasında, embriyonik beyin üç noktada katlanma veya bükülmeye uğrar. Ondördüncü haftada serebral hemisferlerin lopları belirir, bunlar frontal, pariyetal, temporal ve oksipital loplardır. Yirmi sekizinci haftada, üç büyük kortikal sulkus görünür hale gelir. Bunlar santral, lateral ve kalkarin sulkuslarıdır [42].

Sinir sistemi, sinir hücreleri ya da nöronlardan ve onların destek hücreleri olan gliadan kurulmuştur. Nöronlar elektriksel olarak uyarılabilir ve aksiyon potansiyeli oluşturup yayabilir. Nöron perikaryon ya da soma denilen bir hücre gövdesi içerir, buradan uzantılar ışımsal olarak çıkar. Bu uzantılar dendritleri içerir; dendritler dallanarak geniş yüzey alanları ile diğer nöronlardan gelen çok yönlü sinyallerin algılanmasını kolaylaştıran dendritik ağaçları oluşturur. Ayrıca somadan diğer hücrelere sinir impulsunu ileten ana uzantıyı ya da aksonu içerir (Şekil 2.1). Nöronal hücre gövdesi boyandığı zaman, belirgin bir nükleolus ile birlikte büyük bir nükleus görülür. Sitoplazma; ATP oluşumu için gerekli sayısız mitokondriyi, serbest ribozomları ve protein sentezi yapan kaba endoplazmik retikulum ile yeni sentezlenen proteinleri değiştiren ve paketleyen Golgi aparatını içerir. Aksonun somayı terk ettiği kısmına akson tümseği denir. Aksonlar, ileti hızı lif çapına bağlı olmak üzere elektriksel

impulsları iletir. İletim etkinliği myelin kılıf tarafından sağlanan iyi izolasyona bağlıdır. Myelin kılıf aksonal membran ya da aksolemmayı örter. Myelin, esas olarak lipid ve proteinlerden oluşur ve periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri tarafından, merkezi sinir sisteminde ise oligodendrositler tarafından yapılır [42].

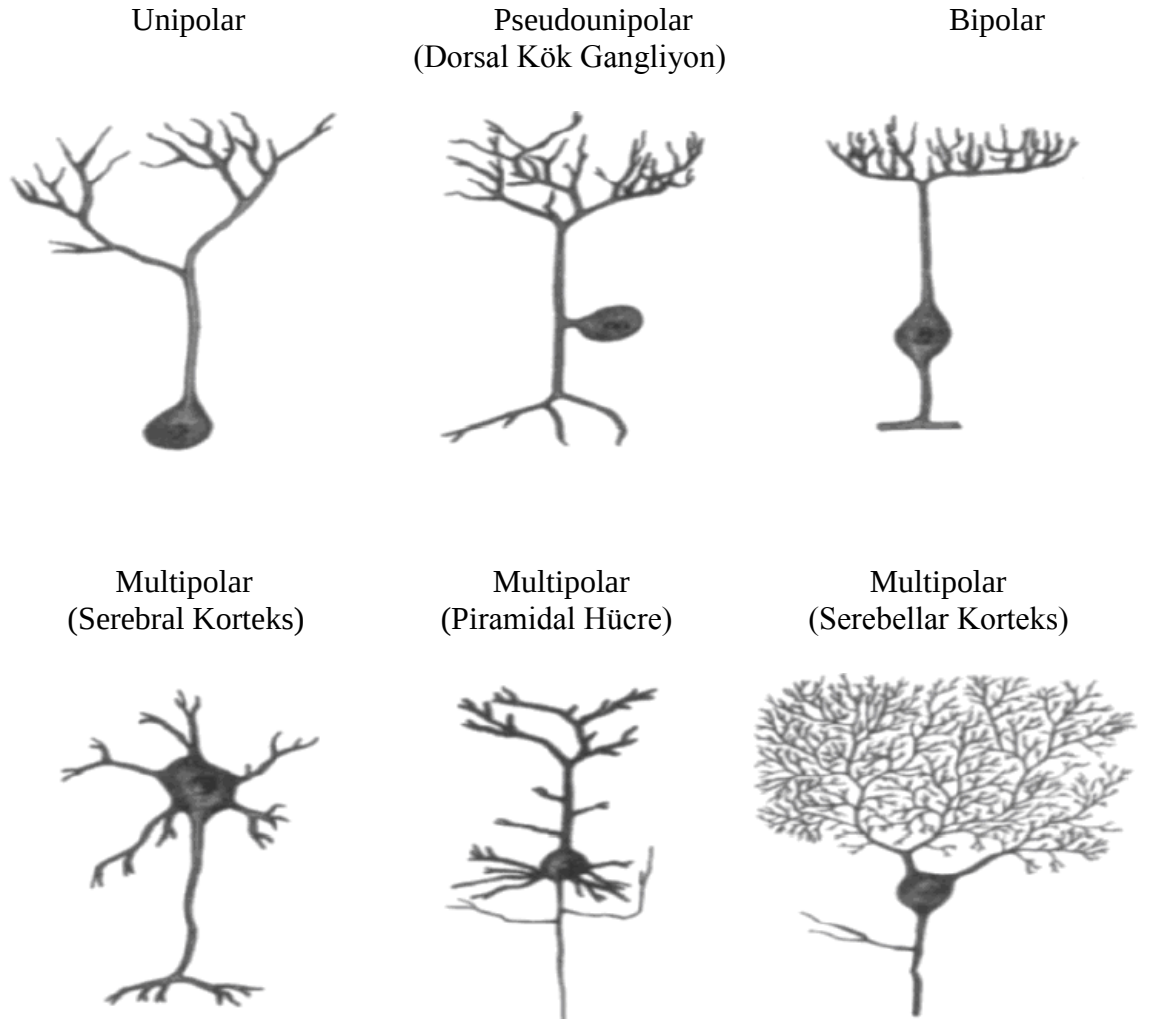


Şekil 2.1. Bir nöronun genel yapısı [43].

Sinir sistemindeki hücreler şekillerine göre: unipolar, bipolar ve multipolar olarak sınıflandırılır (Tablo 2.1 ve Şekil 2.2).

Tablo 2.1. Sinir sistemindeki nöronların tipleri [44].

Nöron tipi	Nöronun bulunma yüzdesi	Bulunduğu yer
Unipolar	0.5	Omuriliğin dorsal kök gangliyonu Beyin kökünün kranial sinir gangliyonu Orta beyindeki 5. kranial sinirin mezensefalik nükleusu
Bipolar	0.05	Retina, iç kulak, tat alma cisimciği
Multipolar: Çevresel	0.1	Otonom gangliyon
Merkezi	99.8	Beyin ve omurilik



Şekil 2.2. Merkezi sinir sistemindeki nöron tipleri [44].

Sinir sistemi beyin ve omuriliği içeren merkezi sinir sistemi ile kraniyal ve spinal sinirleri ve bunların gangliyonlarını içeren periferik sinir sistemi şeklinde iki ana bölümden oluşur. Dura mater, araknoid mater ve pia mater olmak üzere üç membran hem omuriliği hem de beyni sarar[42]

Dura mater: Kollagen bağ dokusundan oluşmuş çok kalın ve sağlam bir zardır.

Araknoid mater: Örümcek ağı şeklinde, ince şeffaf bir zardır. Beyni torba gibi sarar.

Altındaki pia mater ile arasında içi beyin omurilik sıvısı ile dolu belirli bir aralık vardır.

Pia mater: Çok damarlı, ince bir bağ dokusu zarıdır. Beynin yüzeyine sıkıca yapışmıştır [41].

2.1.1. Merkezi Sinir Sistemi (MSS)

Bilateral simetri gösteren merkezi sinir sistemi altı ana kısımdan meydana gelmiştir (Şekil 2.3).

1. Omurilik: MSS'nin en kaudal kısmıdır. Kaslardan eklemlerden ve deriden bilgi alır ve buralara refleks veya istemli hareketlerin yapılması için motor emirler verir.

2. Medulla Oblangata: Omuriliğin en rostral kısmında bulunur.

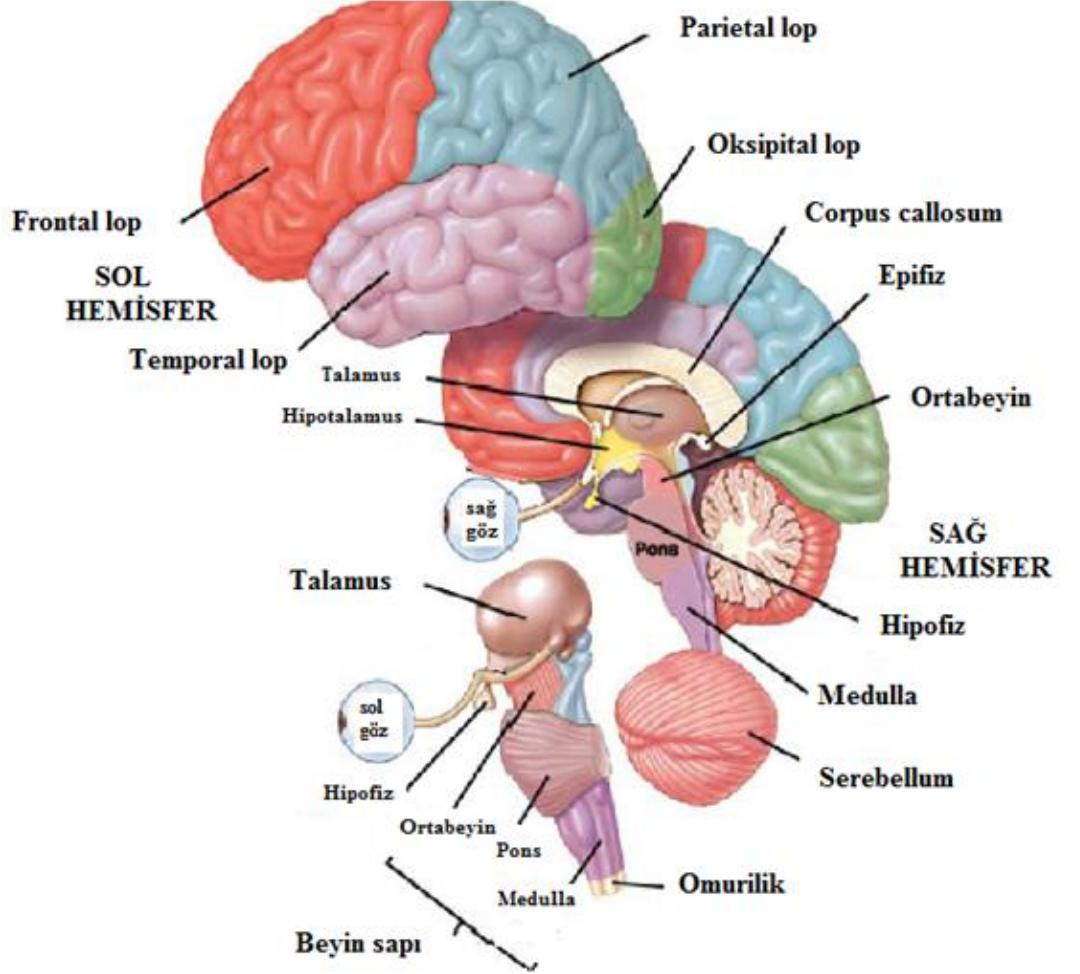
3. Pons ve Serebellum: Medullanın önünde bulunurlar. Ponsun dorsalinde bulunan serebellum hareketleri düzenlemekle görevlidir.

4. Mezensefalon (orta beyin): Ponsun önünde (rostral) bulunur. Medulla, pons ve mezensefalonun hepsine birden beyin sapı denir. Beyin sapının birçok fonksiyonu vardır. Kafa çiftleri denir sinirlerin nukleusları burada bulunur. Bu nukleuslardan bazıları deriden ve baştaki kaslardan bilgi alır. Ayrıca tat, işitme ve denge duyusuna ait impulsları da alır. Bazı nukleuslar ise yüz, boyun ve göz kaslarına çıkan motor emirleri verir. Beyin sapının diğer önemli bir yapısı merkezde bulunan retiküler formasyondur. Retiküler formasyon uyanıklığa sebep olur.

5. Diensefalon (ara beyin): Talamus ile hipotalamusu ihtiva eder. İki anahtar ara durak nukleustan biri olan talamus, beyin korteksine ulaşan hemen hemen bütün bilginin hazırlandığı ve aktarıldığı bir merkezdir. Hipotalamus ise, otonom, endokrin ve viseral fonksiyonların düzenlenmesinden sorumludur.

6. Serebral Yarımküreler (hemisferler): Serebral korteks ile derinde bulunan üç ayrı yapıdan ibarettir. Bu yapılar; bazal gangliyonlar, hipokampus ve amigdaloid nukleustur. Bazal gangliyonlar motor fonksiyonların düzenlenmesinde rol alırlar. Hipokampus

hafızanın depolanmasıyla ilgilidir. Amigdaloid nukleus ise emosyonel duruma bağlı olarak otonom ve endokrin sistemlerin etkileşimini ve koordinasyonunu sağlar [45].



Şekil 2.3. İnsan beyninin genel anatomik yapısı [46].

Beyin Korteksi: Beynin his, irade, hafıza, düşünce, zekâ, muhakeme, yaratıcılık gibi ruhsal fonksiyonlarını beyin korteksi yapar. Ayrıca iskelet kaslarının motor aktivitelerini idare eden motor merkezler ve duyuların idrak edilmesini sağlayan duyu merkezleri beyin korteksinde bulunur [47]. İnsan beynini diğer omurgalıların beyninden ayıran en önemli özellik korteksin aşırı ölçüde geniş olmasıdır. Nörofizyolojinin uğraştığı önemli konulardan biri beyin korteksinin organizasyonunu aydınlatmak ve hafıza, his, hareket ve ifade kabiliyeti gibi davranışların beyin korteksiyle olan ilişkisini çözmektir [45].

Yetişkin bir insan beyni, yaklaşık 1350-1400 gram ağırlığındadır [48]. 28×10^9 nöron ve aynı sayıda glia hücresi içeren beyin korteksinin alanı yaklaşık 2600 m^2 'dir. Korteksin kalınlığı 3-4 mm aralığında değişmektedir [49].

Sinir hücrelerindeki göç beyinin çoğu bölgesinde meydana gelir. Fakat insanları da içine alan primatlarda özellikle serebral kortekste gözlenir [50]. Beyin korteksinin her kısmına impulslar gelmekte ve buralardan impulslar çıkarak başka yerlere gitmektedir. Buna göre, korteksin her bölgesi afferent yolların sonu ve efferent yolların başlangıcıdır [47].

Korteksteki nöronların aksonları ak maddeye geçerek aynı hemisferin değişik kısımlarına veya omurilik gibi çok daha uzakta bulunan korteks altı yapılara kadar uzayabilir. Kortekste bulunan bazı nöronlar korteksin dışına akson göndermezler. Yani, korteksteki nöronlar anatomik ve histolojik yönden farklılık gösterirler. Yapı ve şekil ayrılığına rağmen dağılımlarında düzenlilik görülür. Bundan dolayı korteks pia yüzeyinden alta doğru farklı tabakalara ayrılır. Bu tabakaları insan fetüsünde yedinci aydan itibaren ayırt etmek mümkündür [25].

En ilkel keseli sıçan dahil memeli türlerinin tamamında neokorteks benzer yapıdadır ve altı tabakaya sahiptir [51].

Moleküler tabaka; pia materin altından başlar ve ortalama kalınlığı 250 μm 'dir. Dış granüler hücre tabakası, dış piramidal hücre tabakası ve iç granüler hücre tabakasında yer alan piramidal hücrelerin dikey dendritlerin son kısımları ve bazı akson uçları moleküler tabakada son bulur [52, 53].

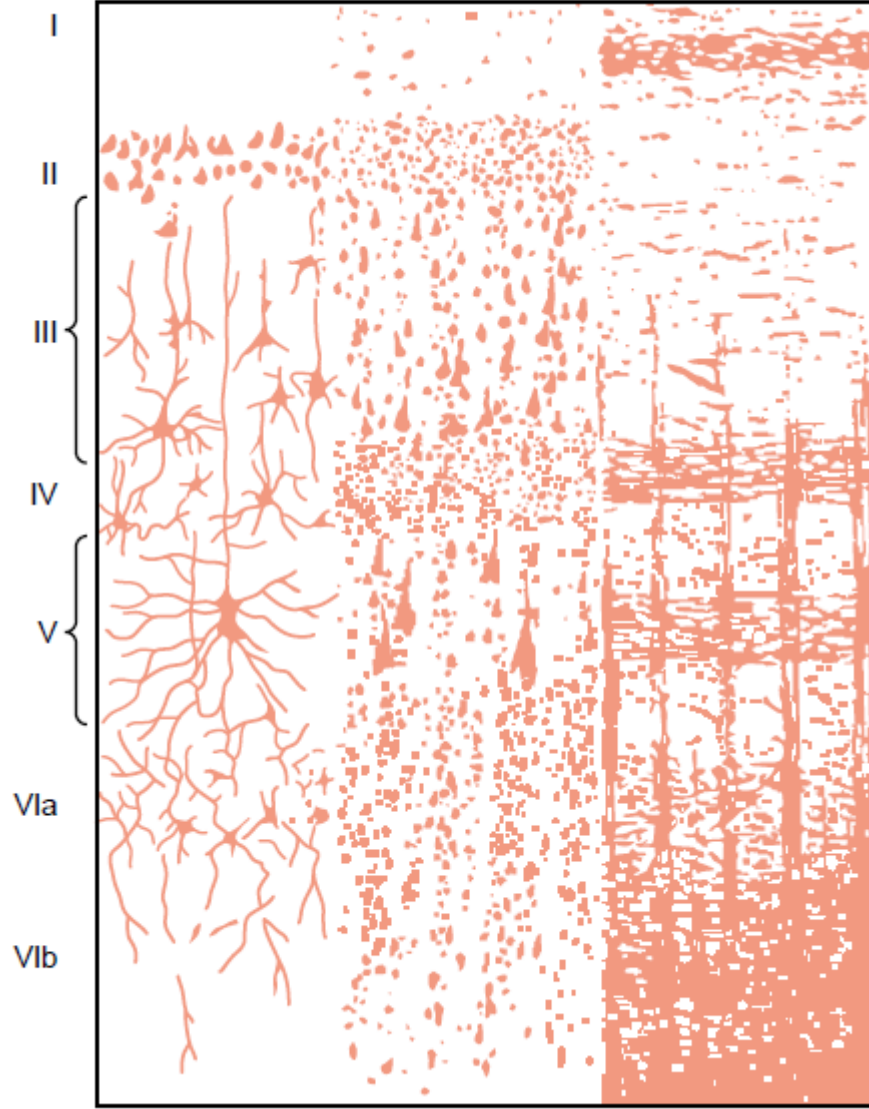
Dış granüler hücre tabaka; moleküler tabakaya göre daha büyük ve daha yoğun hücreler içerir. Hücrelerin şekli piramide benzediği için bu tabakaya küçük piramidal hücre tabakası da denilmektedir. Bu tabakadan çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanır. Hücre gövdeleri iç piramidal hücre tabakası ve iç granüler hücre tabakasında bulunan piramidal hücrelerden apikal dendritler içerir. Aksonlar hücrenin kaudesinden çıkar ve iç piramidal hücre tabakası ile iç granüler (fusiform) hücre tabakasında son bulur [46, 52].

Dış piramidal hücre tabaka; dış granüler hücre tabakasından, bu tabakada ki piramidal hücrelerin büyüklüğü ile ayırt edilir. Dikey dendritler moleküler tabakanın sinaptik alanlarına uzanır, yatay dendritler bu tabaka içerisinde uzanır [53].

İç granüler hücre tabaka; granüler hücreler denilen küçük ve yoğun şekilde paketlenmiş multipolar hücreler içerir. Aksonları kısadır ve kortekste sonlanır. Bu tabakada yer alan yıldızlı hücrelerin aksonları dış piramidal hücre tabakasına çıkarken, dendritleri dallanma yaparak bu tabakada yer alır. Yıldızlı hücrelerin kısa aksonları iç piramidal hücre tabakası ile iç granüler hücre tabakasından gelen dendritler ve bulunduğu iç granüler hücre tabakasında yer alan dendritler ile sinaps yapar [53].

İç piramidal hücre tabaka; en büyük piramidal hücrelerin bu tabakada yer almasından dolayı dev piramidal hücre tabakası olarak da adlandırılır. Bu büyük piramidal hücrelerin dikey dendritleri moleküler tabakaya kadar uzanır ve orada büyük bir dallanma gösterir [54, 55].

İç granüler hücre tabaka; çeşitli nöronların kademeli olarak ak maddeye karıştığı heterojen bir tabakadır. İç granüler hücreler bulunur. Bu hücrelerin dendritleri iç piramidal hücre tabakasına geçmemektedir. Bu tabakadaki hücrelerin çoğu aksonlarını talamusa aktaran büyük piramidal hücrelerdir [46, 53].



Şekil 2.4. Beyin korteksinin yapısı, I. moleküler tabaka; II. dış granüler hücre tabakası; III. dış piramidal hücre tabakası; IV. iç granüler hücre tabakası; V, iç piramidal hücre tabakası ve VI. iğsi hücre tabakası [56].

2.2. Epilepsi

Epilepsi en ciddi beyin hastalıklarından birisidir. Dünya sağlık örgütüncə epilepsi birçok etyolojik nedenin yol açtığı kronik serebral fonksiyon bozukluğu sonucunda görülen tekrarlayıcı nöbetler şeklinde tanımlanmıştır. Genel popülasyonda görülme sıklığı her 1000 kişide 5-8 arasındadır [57]. Ondört yaş altındaki çocuklarda 46-83/100000 civarında olmakla birlikte adolesan döneme kadar tüm popülasyonun % 4-10 kadarı en az bir kez nöbet geçirmektedir. Tüm dünyada en az 50 milyon insanı etkilemekte olup bunların %80'i gelişmekte olan ülkelerdedir. Bu ülkelerde insanların

% 80-90'ı ya yetersiz tedavi görmekte yada hiç tedavi görmemektedir. [58-63]. Ülkemizde 0-16 yaş arasında yapılan bir çalışmada epilepsi prevalansı % 0.8 olarak bulunmuştur [64]. Lord Byron, Dostoevsky, Napoleon Bonaparte, Julius Sezar, Vincent van Gogh, Alfred Nobel, Vladimir Ilyich Lenin, Tchaikovsky gibi ünlülerin de muzdarip olduğu epilepsi tarih boyunca insanları etkilemiştir.

Epilepsi ismi eski Yunancada Epi-lipsis (**επιλαμβανειν-epilambanein**) kuşatmak, tutmak anlamına gelmektedir. Kelimenin birinci anlamı hastalığın şeytanların yakalaması sonucunda saldırı, atak hamle şeklinde oluşan bir kavram olduğu inancıdır. Bu kavram özellikle hastaların bilinçlerinin kaybolduğu vücutlarının sarsıldığı ve sanki başka biri tarafından kontrol ediliyormuşçasına hareket ettiği epileptik nöbetlerin tanımlanması için kullanılmıştır [65]. İkinci anlamı olan yakalanmak ise aniden oluşan nöbet ve sonrası olaylardan kaçma şansı vermeden yakalayan hastalık olarak yorumlanmıştır. Eski çağlarda epilepsi; Tanrı tarafından gönderilen tehlikesi büyük kötü ruhlarla bağlantılı bir hastalık olup kalbin hastalanması ve ters duruşu ile oluşan mukaddes bir hastalık gibi değerlendirilmiştir [66, 67]. Ülkemizde halk arasında sara, tutar, tutarik adları da kullanılmaktadır.

İlk kez Hipokrat tarafından bir beyin hastalığı olarak öngörülen epilepsi tıp terminolojisine ise İbn-i Sina tarafından sokulmuş ve "Epileptik nöbet beyinden kaynaklanır, duyunların kaybı ve düşme olur" şeklinde tanımlanmıştır [68, 69]. Tarihte, nöbet olunca hastalara dönen ve parlayan bir çömleğe baktırma, ziftli kömür koklatma ve keçiboynuzu tütsüsü koklatma gibi işlemler uygulanmıştır.

Tedavide, bağış, kurban kesme, dua, dini ayinler, türbe ziyareti, kutsal obje kullanma (zincir, kolye, şapka), fitoterapi (kedi otu, ayı gülü, beyaz şeytan otu, kınakına, güzel avrat otu) kullanılmıştır. Akşemsettin Efendi (1390–1459) epilepsi için ilaç hazırlamış ve müzik tedavisi (Rast makamı) uygulamıştır. Epilepsiyi İbn-i Şerif "Epilepsi gözlerin tutulması, organların kenetlenmesi" şeklinde tariflemiş ve tedavide afyon kullanmıştır. Şerafettin Sabuncuoğlu (1385–1470) ise epilepsi için cerrahi teknikler tanımlamıştır. Paracelsus (1493–1541) epilepsi mistik bir hastalık değil, organik bir hastalıktır, hayvanlarda da epilepsi olabilir; hastalık ortadan kalkmaz, ancak semptomlar önlenebilir şeklinde tariflemiştir. S. Tissot (1728–1797) idiyopatik-semptomatik epilepsi ayırımından bahsetmiştir. Rönesansla birlikte bitki tedavisi, kimyasal tedavi: bakır,

çinko, gümüş nitrat, civa, bizmut kalay tedavileri verilmiş, 1857'de brom tedavisi başlanmıştır [69-73].

Epilepsi terimi ilk defa 1874 yılında Jackson tarafından “epilepsi gri maddenin zaman zaman ortaya çıkan ani, aşırı hızlı ve lokal boşalımının adıdır.” Şeklinde tanımlanmıştır [74]. Klinik ayrımlarını yapmak güç olsa da bu tanım modern epileptik fenomenleri anlamının temeli olarak kalmıştır. İlk kez 1920 yılında Hans Berger tarafından elektroensefalogram (EEG) kullanımı ile epileptik nöbetler anlaşılmaya başlanmıştır [75]. EEG ile epilepsi tipleri Grandmal, psikomotor, petitmal diye gruplandırılmıştır [76]. Lennox, elektroklinik sınıflama yaparak epileptik nöbetleri; petitmal triadı (saf petitmal, myoklonik, atonik), konvulsif triad (jeneralize, fokal, Jaksonien, temporal lob triadı (subjektif, tonik fokal, otonomik) olarak tanımlamıştır [77,78].

Nöbetler ve epilepsi farklı bozukluklardır ve terminolojik açıdan alternatif olarak kullanılamazlar. Epilepsi için “nöbet hastalığı” olarak bahsedilmesine rağmen nöbetlerden epilepsi olarak bahsedilmesi doğru değildir. Nöbetler bulgudur, oysa epilepsi tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbetler nöronların anormal istemsiz, ritmik deşarjlarından kaynaklanan zaman sınırlı paroksizmal belirtilerdir. Nöbetler istemsiz olaylardır. Hastalar genellikle nöbetlerin başlangıç ve bitişlerini kontrol edemezler. Nöbetler genellikle 5 dakikadan daha kısa sürmektedirler. Tüm nöbetler konvulsif olmadığı gibi tüm konvülsiyonlarda nöbet değildir. Konvülsiyonlar sürekli veya kesintili istemsiz kas kontraksiyonları ile giden ataklardır. Epilepsi konvülsiyonların belli bir paroksizm içinde tekrarlaması olayıdır. Epilepsinin varlığından söz edilebilmesi için en az iki nöbet geçirilmesi gerekir. Merkezi sinir sistemi dışından kaynaklanan birçok değişiklik (özellikle çocuklarda) epileptik nöbetleri uyabilir [79, 80].

2.2.1. Epilepsi Nedenleri

Hipoksik iskemik ensefalopati, serebrovasküler hadiseler, beyin içine kanama ve infarkt, travma, ensefalit, menenjit, abse, intrauterin enfeksiyonlar, postnatal enfeksiyonlar, hiperamonyemi, hipoglisemi, hiperglisemi, hiponatremi, hipokalsemi, hipomagnezemi, selenyum eksikliği, glikojen depo hastalıkları, merkezi sinir sisteminin

dejeneratif hastalıkları (Tay-Sachs, Seroid lipofusinozis vb), peroksizomal hastalıklar, metabolik hastalıklar, mitokondrial hastalıklar, piridoksin eksikliği, piridoksin bağımlılığı, polimikrogri, heterotopiler, lisensefali, holoprosensefali, hidransefali, kortikal displaziler, annenin kullandığı ilaçların ani kesilmesine bağlı yenidoğanlarda görülen yoksunluk sendromu, idyopatik benign neonatal nöbetler, tubero sklerozis, incontinentia pigmenti, nörofibromatozis, intrakraniyal tümörler, porfiri, hipertansiyon, karaciğer yetmezliği, böbrek yetmezliği, toksinler, mesial temporal skleroz, ilaç tedavisinin kesilmesi epilepsiye neden olabilir [80-93].

2.2.2. Nöbet Aktivitesi Başlaması ve Sönmesi

2.2.2.1. Nöronal Membranların Eksitasyonu ve İnhibisyonu

Nöronal membranlar çift katlı lipid tabakadan oluşur. Lipid tabaka membranı çaprazlayarak iyon kanalları oluşturan proteinleri içerir. Her nöronun hücrenin içi ve dışı arasındaki voltaj farkını gösteren bir istirahat potansiyeli vardır. Potansiyel farkı hücre membranının iç ve dış ortamdaki pozitif ve negatif yükleri ayırması nedeniyle oluşur. Membran boyunca ekstrasellüler aralıkta ağırlıklı olarak Na^+ ve Cl^- iyonları bulunur. K^+ , proteinler ve organik asitler hücre içinde bulunur. Membranlar Na^+ , Cl^- ve K^+ 'a geçirgendir ancak büyük organik iyon ve proteinlere geçirgen değildirler. Lipid çift tabaka iyonların difüzyonuna karşı bariyer görevi gördüğü için dış ortamdaki pozitif ve iç ortamdaki negatif yükler yaklaşık -50 ile -80 mV civarında bir membran istirahat potansiyeli oluşturur [94].

Membranda iyon akımı yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru olur: Na^+ içeri, K^+ dışarı akar. Zamanla membranın içi ve dışındaki konsantrasyon değişebilir. Na^+ - K^+ pompası Na^+ 'u dışarı, K^+ 'u içeri sokarak dengeyi tersine döndürür. Na^+ ve K^+ 'u net elektrokimyasal gradyanlarının aksine hareket ettiren pompa adenozin trifosfatın hidrolizi sonucu oluşan enerjiye gereksinim duyar. Polarize konumdaki negativitenin azalması depolarizasyon, istirahat potansiyelinin negativitesinde artış ise hiperpolarizasyon olarak adlandırılır. Na^+ 'un hücre içine girmesine yol açan membran permeabilite değişiklikleri depolarizasyona, K^+ 'u hücre dışına veya Cl^- 'u hücre içine sokan membran değişiklikleri ise hiperpolarizasyona yol açar. Hücre içinde negativite yeteri kadar azalırsa bir aksiyon potansiyeli oluşur.

2.2.2.2. Nöronların Nörotransmitterler Tarafından Eksitasyon ve İnhibisyonu

Protein segmentler membrandan dışarı çıkarak reseptör alanlarını oluşturur. İyonotrofik reseptörler bir nörotransmittere bağlanınca iyon kanalının iletkenliği değişir. Cl^- iletimini artıran γ -aminobütirik asit (GABA) ve Na^+ ve Ca^{++} 'a geçirgenliği arttıran N-metil-D-aspartat (NMDA) iyonotrofik nörotransmitterlere örnek olabilir. Hiperpolarizasyona yol açan GABA gibi nörotransmitterler inhibitör postsinaptik potansiyellerin (IPSP) belirmesine neden olur ve hücre içinde negativite başlangıca göre artar. Eksitator amino asitler gibi depolarizasyona neden olan nörotransmitterler ise eksitator postsinaptik potansiyelleri (EPSP) arttırarak pozitif yüklerin sinaptik membrandan içeri akımına, dolayısıyla hücre dışında nisbi bir negatif ortamın oluşmasına yol açar. Bir nöronun aksiyon potansiyeli oluşturmada EPSP ve IPSP arasındaki dengeye bağlıdır.

İkinci bir nörotransmitter reseptör tipi metabotrofik reseptördür. Transmitter metabotrofik reseptöre bağlanınca ikinci bir haberci sistemi aktive eder [guanil nükleotidi bağlayan protein (G-protein)]. Aktive G-proteini ise bir iyon kanalını açar veya hücre içinde daha fazla haberci molekülün oluşması için siklaz (siklik adenosin monofosfat) yada hidrolaz gibi bir enzimi aktive eder. İkinci haberci sistemleri aktive eden reseptörler örnek olarak GABA_B reseptörleri, peptid veya katekolaminerjik reseptörler ve glutamat ile aktive olan metabotrofik reseptörler verilebilir. Deneysel epilepsi modellerinde epileptik nöronun en belirleyici özelliği membran depolarizasyonudur [94].

2.2.3. Nöbetler ve Epileptik Sendromların Sınıflaması

Epileptik sendromlar; nöbet tipi, nöbet başlangıç yaşı, aile hikâyesi, fiziki inceleme, iktal, interiktal EEG ve görüntüleme tetkikleri gibi pek çok faktörle tanımlanır. Her epileptik sendromun kendine özel bir hikâye, prognoz ve tedavisi vardır. Epileptik sendromların terminolojisi ve tanımı sağlık personeli arasında hastalığı tanımda iletişimi kolaylaştırır; prognoz ve tedavide yol gösterici olabilir. Epileptik sendromlar, bir arada oluşan belirtiler ve semptomlar topluluğudur. Bu bulgu ve semptomlar nöbetin tipini, rekürrens sıklığını, nörolojik bulgularını ve nöroradyolojik özelliklerini içerir. Bir

sendromun birden çok nedeni ve değişik sonuçları olabilir. Bazı epileptik sendromlar ortak klinik-EEG bulgularını içermekle kalmaz, belirgin ortak seyir gösterir [83-89].

İlk insan EEG'sinin kaydından bu yana nöbet ve epilepsi sendromlarının sınıflaması için pek çok çalışma yapılmıştır. Epileptik nöbet geçiren bir hastayı değerlendirirken ilk yapılması gerekenlerden biri nöbetin tipini ve mümkünse hangi epileptik sendroma uyduğunu saptamak olmalıdır. Epileptik sendromlar nöbetlerin tipi, nöbetlerin başlangıcındaki yaş, ailesel geçmişin dahil olduğu birçok faktör ve sağlık muayenesi, iktal-interiktal EEG ve nörolojik görüntüleme bulgularınca tanımlanmaktadır.

Epileptik nöbetlerin ilk sınıflandırması Uluslararası Epilepsiyle Savaşım Birliği (ILAE) tarafından 1969 yılında kabul edilmiştir [95]. 1969 ILAE sınıflaması altı kritere dayanır. Bunlar; nöbetin klinik tipi, EEG'nin interiktal ve iktal özellikleri, anatomik durum, etyoloji ve yaşıdır. 1969 ILAE sınıflandırması 1981 yılında yeniden düzenlenmiştir [96]. Son yıllarda epilepsi sınıflandırmasından çok epileptik sendromları şekillendirecek bir tablo yapmak için çalışmalar yoğunlaştırılmıştır. ILAE, 1989 yılında epileptik sendromları bir arada toplayan uluslararası epilepsi ve epileptik sendrom sınıflaması ortaya çıkarmıştır [97].

Epilepsi ve Epileptik Sendromların ILAE Sınıflaması (1989)

1. Lokalizasyona bağlı (fokal, lokal, parsiyel) epilepsiler

A. İdiyopatik Epilepsiler:

- * Sentro-temporal dikenli benign çocukluk epilepsisi
- * Oksipital paroksizmleri olan çocukluk epilepsisi.
- * Primer okuma epilepsisi.

B. Semptomatik Epilepsiler:

- * Kronik progresif epilepsia parsiyalis kontinü (Kojewnikow Sendromu, Rasmussen Ensefaliti)
- * Temporal, frontal, parietal ve oksipital lob epilepsileri.
- * Özel biçimlerde ortaya çıkan nöbetlerle karakterize sendromlar

C. Kriptojenik Epilepsiler:

- * Temporal, frontal, parietal ve oksipital lob epilepsileri.

2. Jeneralize epilepsiler

A. İdiopatik Epilepsiler

- * Benign familyal/nonfamilyal yenidoğan konvulsiyonları
- * Benign infantil myoklonik epilepsi.
- * Çocukluk çağı absans epilepsisi/juvenil absans epilepsisi
- * Juvenil myoklonik epilepsi (impulsif petit-mal)
- * Uyanıklıkta jeneralize tonik-klonik nöbetli epilepsi
- * Diğer idyopatik jeneralize epilepsiler

B. Kriptojenik veya semptomatik

- * West sendromu (infantil spazm)
- * Lennoux-Gastaut sendromu
- * Myoklonik astatik nöbetlerle karakterize epilepsiler
- * Myoklonik absansla karakterize epilepsiler

C. Semptomatik

C. 1. Nonspesifik etyoloji

- * Erken myoklonik ensefalopati
- * İnfant döneminde süpresyon-burst ile giden erken epileptik ensefalopati

C. 2. Spesifik etyoloji

- * Nonketotik hiperglisinemi
- * Fenilketonüri, pridoksin bağımlılığı veya eksikliği
- * Geç infantil seroid lipofuksinozis
- * Progresif myoklonik epilepsi
- * Erişkin seroid lipofuksinozis

3. Fokal veya jeneralize olduğu belirlenemeyen epilepsi ve sendromlar.

A. Hem generalize hem fokal nöbetler

- * Yenidoğan nöbetleri
- * Ciddi bebeklik dönemi myoklonik epilepsisi
- * Uyku yavaş dalgası esnasında sürekli diken dalgalar gösteren epilepsi
- * Akkiz epileptik afazi (Landau-Kleffner sendromu)
- * Diğer belirlenemeyen epilepsiler

B. Fokal veya generalize görünüşün belirgin olmadığı durumlar

4. Özel sendromlar

A. Duruma bağlı nöbetler

- * Febril konvulsiyonlar
- * İzole nöbetler veya izole status epileptikus
- * Akut toksik veya metabolik nedene bağlı nöbetler (alkol, ilaç, gebelik, non-ketotik hiperglisemi vb.)

ILAE tarafından oluşturulan çalışma grubu tarafından 2001 yılında epileptik nöbet tipleri ve refleks epilepsiye yol açan uyaranlar için yeni bir sınıflandırma önerilmiş, fakat henüz ILAE tarafından benimsenmemiştir [80];

Kendini sınırlayan nöbetler

Jeneralize nöbetler

- * Tonik-klonik nöbetler
- * Klonik nöbetler
 - Tonik komponenti olmayanlar
 - Tonik komponenti olanlar
- * Tipik absans nöbetleri
- * Atipik absans nöbetleri
- * Myoklonik absans nöbetleri
- * Tonik nöbetler
- * Spazmlar
- * Myoklonik nöbetler
- * Masif bilateral myoklonus

* Göz kapağı myoklonusu

- Absanslı

- Absanssız

* Myoklonik atonik nöbetler

* Negatif myokloni

* Atonik nöbetler

* Jeneralize epileptik sendromlarda görülen refleks nöbetler

Fokal nöbetler

* Fokal duyuşal nöbetler

- Elementer duyuşal semptomlar ile (oksipital and parietal lob nöbetler)

- Karmaşık duyuşal semptomlar ile (temporo parieto occipital bileşke nöbetler)

*Fokal motor nöbetler

- Elementer kloik bulgular ile

- Asimetrik tonik motor bulgular ile

- Tipik otomatismalar (mesial temporal lob nöbetler)

- Hiperkinetik otomatismalar

- Fokal negatif miyokloni ile

- İnhibitör motor semptomlar ile

- * Jelastik nöbetler
- * Hemiklonik nöbetler
- * Sekonder jeneralize nöbetler
- * Fokal epilpillerde görülen refleks nöbetler

Süregelen nöbetler

Jeneralize status epileptikus

- * jeneralized tonik-klonic status epileptikus
- * Klonic status epileptikus
- * Absans status epileptikus
- * Tonik status epileptikus
- * Myoklonick status epileptikus

Fokal status epileptikus

- * Kojevnikov'un Epilepsi partialis kontinuası
- * Aura kontinua
- * Limbik status epileptikus (psikomotor status)
- * Hemiparezi ile giden hemikonvulsif status

Refleks nöbetlere yol açan uyaranlar

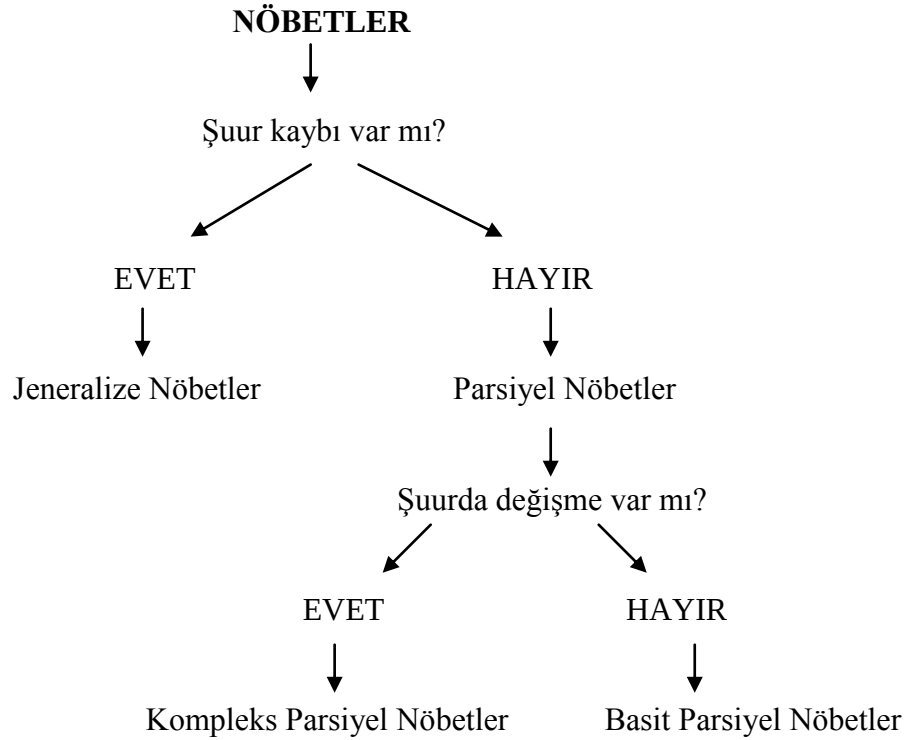
- * Görsel uyaranlar
- * Düşünme
- * Müzik

- * Yeme
- * Praksi
- * Somatosensoriyel
- * Proprioseptif
- * Okuma
- * Sıcak su
- * İrkilme

Nöbetler parsiyel ve jeneralize olarak iki ana grupta incelenir. Nöbet anındaki bulgular esas alınarak sınıflama yapılır. Bu nedenle sınıflama daha çok klinisyenin gözlemlerine dayanılarak yapılır. Sınıflama için bazı vakalarda interiktal EEG bulgularına ihtiyaç duyulur [98]. Jeneralize nöbetler primer ve sokender jeneralize olmak üzere iki şekilde olabilir. Beyinde bir bölgeden başlayan parsiyel nöbetler yayılarak sekondere jeneralize nöbetler meydana getirebilir. Primer jeneralize nöbetler her iki hemisferin senkron tutulumu ile meydana gelen ve kliniğinde EEG kaydında veya herhangi şekilde parsiyel başlangıç kanıtı olmayan nöbetlerdir. Bilinç bozukluğu çok kısa olan miyoklonik nöbetler dışında tüm korteksin tutulması nedeniyle nöbet başlangıcında tam şuur kaybı ile karakterlidir. Primer jeneralize nöbetler içinde en sık jeneralize tonik-klonik görülür bunu absans nöbetleri, myoklonik nöbetler ve atonik nöbetler izler. Jeneralize epilepsiler ayrıca idiyopatik ve semptomatik olmak üzere ikiye ayrılır. İdiyopatik jeneralize epilepsilerde genetik yatkınlıktan başka bir etiyolojik neden bulunamazken semptomatik jeneralize epilepsilerde nöbetler bilinen bir patolojiye sekonder olarak ortaya çıkar ve elektroensefalografik bulgular daha irregüler ve hasta klinik belirtileri de daha atipikdir. Nöbetler çoğu zaman spontan olarak bazen de hiperventilasyon ve fotik stimülasyonla aktive olurlar [99-101].

Parsiyel nöbetler beynin bir bölgesindeki nöronların anormal deşarjı sonucu ortaya çıktığı için şuur korunur. Şuurun nöbet başlangıcında kaybolup kaybolmamasına göre ilk ayırım yapılır. Parsiyel nöbetler, şuur kaybı olmadığı zaman basit, şuur kaybı olduğu zaman kompleks olarak tanımlanır. Basit parsiyel nöbetler kompleks parsiyel nöbetlerin

içine girebilir ve bunların her ikisi de sekonder jeneralize nöbete dönüşebilir. Basit ve kompleks parsiyel nöbetlerin kaynaklandığı anatomik bölgeye göre klinik ve elektroensefalografik bulguları değişkenlik gösterir. Parsiyel epilepsiler idyopatik parsiyel epilepsiler ve semptomatik parsiyel epilepsiler olarak da sınıflandırılır. Parsiyel nöbetlerin %70'i temporal lob, %20'si frontal lob, %10'u diğer beyin loblarından kaynaklanır [102-108].



Şekil 2.5. Nöbet sınıflandırma algoritması [109].

2.3. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsi çalışmalarında kullanılan deneysel model çeşidi oldukça fazladır. Bunun birkaç önemli nedeni vardır:

1. Modeli oluşturulacak klinik nöbetler çeşitlidir.
2. Modellerin hiçbirisi klinik epilepsiyle tamamen aynı değildir.
3. Çeşitli modellerden elde edilen sonuçların karşılaştırılarak test edilmesi gerekir.

4. Geliştirilen yeni metotlara ve yeni şartlara daha uygun yeni modeller oluşturulmaktadır.

İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır.

1. Spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olmalıdır.
2. Nöbetler insan epilepsisindekine benzemelidir.
3. Modeldeki EEG'nin biçimi ilgili epilepsi çeşidindekine benzemelidir.
4. Nöbetlerin frekansı, ilaçların etkisini akut veya kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır.
5. Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzer olmalıdır.
6. Antiepileptiklerin etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar olmalıdır.

Bu kriterlerin tümünü karşılayan tek bir model şimdilik bilinmemektedir [110].

Epilepsinin mekanizmalarını ortaya koymak ve tedavisinde yeni yaklaşımlar sağlamak amacıyla deneysel epilepsi modelleri sınıflandırılmıştır [111];

1. Parsiyel epilepsi modelleri

a. Neokortikal

- * Elektrik stimülasyonu (akut)
- * Topikal konvülsan ilaç (penisilin, bikukulin, pikrotoksin, pentilentetrazol) uygulaması
- * Parsiyel olarak izole edilmiş kortikal dilimler
- * Dondurularak oluşturulan lezyonlar
- * Metallerin (Alüminyum, kobalt, tungstik asit, demir klorür) topikal uygulanması
- * Neokortikal kindling

b. Limbik

- * Elektrik stimülasyonu (akut)
- * Hipokampusta uzun süreli potansiyasyon (LTP)
- * Topikal metal uygulaması
- * İntraserebral veya sistemik kainik asit
- * Amigdala veya hipokampal kindling
- * Polikarbin modeli

2. Jeneralize epilepsi modelleri

a. Konvülsif modeller

- * Maksimal elektroşok nöbetleri (MES)
- * Maksimal pentilentetrazol nöbetleri
- * Flurotil ile oluşturulan maksimal nöbet
- * Maksimal odiojenik nöbetler
- * Kedi omuriliğinde posttetanik potansiyasyon
- * İmmatür hayvanlara hipertemi uygulaması

b. Konvülsif olmayan “Petit mal” nöbetler

- * Sistemik pentilentetrazol uygulaması
- * Felin jeneralize penisilin epilepsi modeli
- * İntraserebroventriküler opioid (enkefalin ve endorfin)
- * Sistemik gamahidroksibütirant uygulaması
- * THIP (tetrahidroksiizooksolopridin) modeli
- * Subkortikal stimülasyon, lezyon veya konvülzan madde uygulaması
- * CO₂ kesilmesi nöbetleri
- * Kedi omuriliğinin tekrarlayan stimülasyonları

3. Genetik modeller

- **Papio papio babun* (bir maymun türü)
- *Odiyojenik fare
- *Genetik olarak epilepsiye eğilimli sıçan (GEPR)
- *Nöbete eğilimli gerbil
- *Diğer mutant fare modelleri (totering)
- *Beagle suşu köpek
- *Epileptik kuşlar
- *Spontan diken-dalga deşarjlı sıçan modeli

Penisilin Modeli: Basit parsiyel nöbetlerle ilgili çalışmalarda topikal olarak en çok kullanılan konvulsan madde bir antibiyotik olan penisilindir. Penisilin sistemik olarak verildiğinde, sistemik fokal epilepsi ile jeneralize (petit mal) epilepsi modelleri oluşmaktadır. Penisilinin konvulsiv özelliği ilk kez Walker ve Johnson tarafından gözlenmiştir. Topikal penisilin modeli, epilepsinin nasıl yayıldığını araştırma bakımından da uygun bir metottur. Muhtemelen penisilin GABA'nın etkisini bloklayarak epileptiform aktiviteye sebep olmaktadır. Penisilin *in vitro* hipokampus dilimlerinde inhibitör postsinaptik potansiyelleri önler; asetilkolinin uyarıcı etkisini ve presinaptik uçlardan asetilkolin salgısını artırır. Penisilinin korteks dilimlerinden glutamat salgısını artırdığı da bildirilmiştir. Ayrıca, penisilinin parasinaptik yollardan ve kalsiyum üzerinden de etki ederek börsst aktivitesine yol açabileceği tespit edilmiştir [110].

2.4. Elektroensefalogram (EEG)

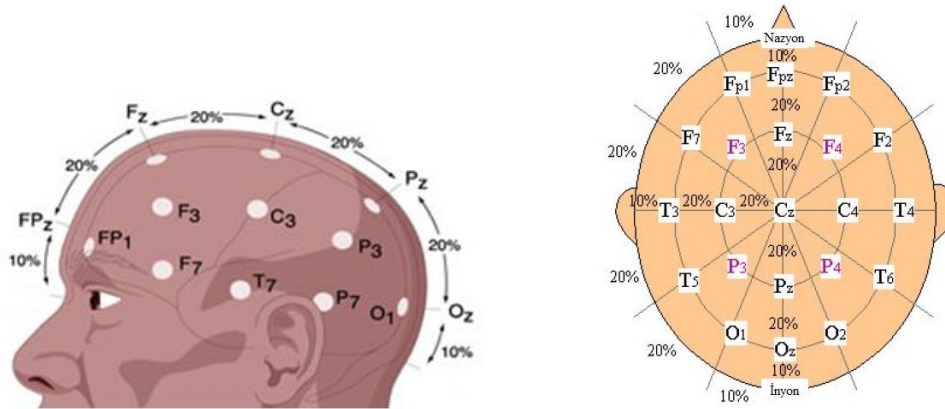
Carlo Matteucci (1811–1868) ve Emil Du Bois-Reymond (1818–1896) bir galvanometre yardımıyla kas sinirlerinin yaydığı elektriksel sinyali ölçerek nörofizyoloji fikrini ilk kez ortaya atmışlardır. İngiliz bilim adamı Richard Caton 1875 yılında insan kafa derisine iki elektrot yerleştirerek galvanometrede ilk beyin aktivitesini kaydetmiştir. Hans Berger 1929 yılında Siemens çift bobinli galvanometre (130 $\mu\text{V}/\text{cm}$ duyarlılıkta) kullanarak fotoğraf kâğıdı üzerine üç dakikalık kayıt almıştır. Bu tarihten itibaren, EEG terimi Electro (beynin elektriksel aktivitesinin kaydedilmesinin karşılığı) Ensefalo (baştan orjinlenen sinyallerin ortaya çıkmasının karşılığı) ve Gram yada grafi (çizme yada yazmanın karşılığı) kelimelerinin kombine edilmesiyle oluşturulmuş olup beynin elektriksel nöral aktivitesini anlamak için kullanılır.

İngiliz W. Gray Walter beyin anormalliklerin tanısında ve önemli klinik hastalıkları başlatan yavaş beyin aktivitesini (delta dalgalar) keşfederek klinik elektroensefalogramın öncüsü olmuştur. EEG için diğer bir önemli öncülüğü Hallowel ve Pauline Davis ilk kez uyuyan insanda EEG kaydı alarak yapmışlardır [112].

Mikro ya da makro elektrotlar kullanılarak, beyin korteksinde nöron gruplarının davranışları kaydedilip gözlemlenebilir. Makro elektrotlarla yoğun hücre gruplarının toplam aktivitesi

kaydedilirken, mikroelektrotlarla tek hücre davranışı kaydedilir. Kafatasının üzerinden, saçlı deriden beyin dalgalarının kaydedilmesine EEG adı verilir. EEG pek çok fizyolojik ve epilepsi gibi patolojik olay üzerinde araştırma yapmak için kullanılır [113].

1958 yılında, elektroensefalografi ve klinik nörofizyoloji uluslararası federasyonu “10-20 elektrot yerleştirme sistemini” elektrot yerleştirmenin standardizasyonunu benimsemiştir. Bu sistem kafatası üzerine elektrotların yerlerinin belirtilmesi ve fiziksel yerleştirilmesini standart haline getirmiştir [112]. Bu sisteme göre baş dört standart nokta ile işaretlenmiştir. Bunlar burun (nasion), başın arka kısmı (inion), sol ve sağ kulak arkalarıdır (preauriculars). Elektrotlar nazyon ve inyon arasına % 10–20–20–20–20–10 olacak şekilde bölünerek yerleştirilir. Sistemin 10–20 sistemi olarak adlandırılmasının sebebi de buradan gelmektedir [114]. Genellikle uygulamada 19 elektrot kullanılmaktadır (Şekil 2.6) [115].

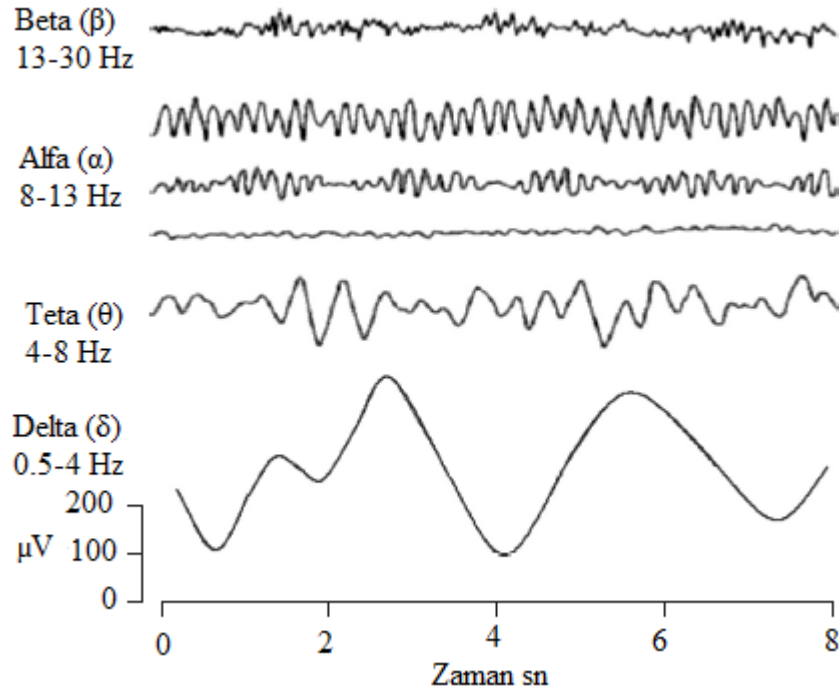


Şekil 2.6. 10-20 Elektrot yerleştirme sistemine göre elektrot yerleştirme noktaları. F: Frontal lob, T: Temporal lob, C: Merkezi lob, P: Parietal lob, O: Oksipital lob, Z: Orta hat üzerine refereans elektrot [116,117].

EEG üzerindeki her bir çizgi veya kanal, bir çift elektrodun altında kalan serebral korteks alanları arasında, zaman içinde ölçülen potansiyel farkını yansıtmaktadır. EEG sinapstaki membran potansiyellerinin toplamını (EPSP ve IPSP) kaydetmektedir. Potansiyellerin amplitüdü (genliği) senkron şekilde ateşlenen nöronların sayısını göstermektedir. Eksitator-inhibitör postsinaptik potansiyel kompleksinin süresi, ritm frekansı; yani belirli bir zaman dilimindeki olayların sayısı ile gösterilmektedir. Frekans (sıklık), hertz (Hz) adı verilen birimlerle ifade edilir ve bir saniyede bir sıklusa eşittir. EEG ağrısız ve zararsız bir inceleme yöntemidir. Saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin çoğu piramidal hücrelerdeki toplam sinaptik potansiyellerin ekstraselüler

akımlarla ilişkisinin sonucudur. Normalde çok zayıf olan bu elektriksel potansiyeller saçlı deri üzerine yerleştirilen elektrotlarca kaydedilir ve amplifikatörlerle güçlendirilir. Beyin dalgaları eksitator ve inhibitör postsinaptik potansiyellerin (EPSP ve IPSP) cebirsel toplamı sonucu artı kalan sinaptik aktivitenin senkronizasyonu yoluyla oluşur ve yüzeydeki kaydedici elektrot yardımıyla yazdırılır. Epileptik desarjlar EEG'nin aşırı senkronizasyonunu ifade eder [48].

Beyin dalgalarının kafatası yüzeyindeki amplitüdleri 0-200 mikrovolt arasında, frekansları ise birkaç saniyede bir ile saniyede 50 veya üstü arasında değişir [118]. EEG'de beyin dalgaları frekans ve amplitüdlere göre temelde dört tipte sınıflandırılır (Şekil 2.7 ve Tablo 2.2) [25,48,119-121].



Şekil 2.7. Dört temel beyin dalgası [112].

a) Alfa dalgaları

Saniyede 8-13 arası frekanslardaki ritmik dalgalardır. Sakin dinlenme durumundaki genç uyanık erişkinlerin hemen hemen tümünün EEG'sinde bulunurlar. Sadece bir çift elektrotla görülebilen bu dalgalar en güçlü olarak oksipital bölgede ölçülmekle birlikte, parietal ve frontal bölgelerde de gözlenirler. Amplitüdləri genellikle 50 mikrovolt civarındadır. Derin uyku sırasında alfa dalgaları ortadan kalkar. Görsel uyarılar alfa dalgaları ani olarak durdurur ve bunların yerine düşük amplitüdlü senkron olmayan beta dalgaları ortaya çıkmasına neden olur [115,118].

b) Beta dalgaları

Saniyede 14'ten yüksek, 80'den düşük frekanslardaki dalgalardır. Başlıca beynin parietal ve frontal alanlarından bu bölgelerin özgül aktivasyonu sırasında kaydedilirler.

c) Teta dalgaları

Saniyede 4-7 arasında frekansa sahiptirler. Özellikle çocukların parietal ve temporal bölgelerinde gözlenmekle birlikte, bazı erişkinlerde düş kırıklığı gibi duygusal stres koşullarında da ortaya çıkabilirler. Teta dalgaları sıklıkla beynin dejeneratif bozuklukları olmak üzere birçok beyin hastalıklarında da oluşurlar.

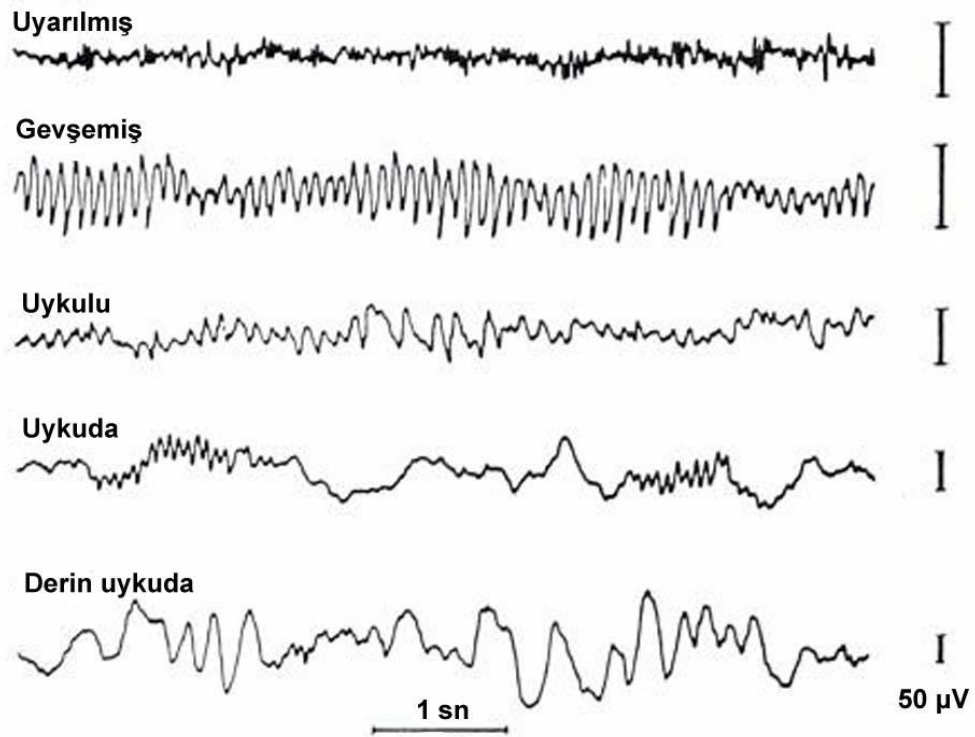
Tablo 2.2. EEG'nin dalga bandları [122].

Dalga Adı	Sembol	Frekansı (Hz)
Delta	δ	0.5-4
Teta	θ	4-8
Alfa	α	8-13
Beta	β	13-30

d) Delta dalgaları

EEG'nin frekansı saniyede 3.5'tan az olan tüm dalgalarını içerirler ve amplitüdləri genellikle diğer beyin dalgalarına göre 2-4 kez daha yüksektir. Çok derin uykuda, çocuklukta ve ciddi organik beyin hasarlarında ortaya çıkarlar. Subkortikal kesiyle korteksi talamustan ayrılan deney hayvanlarının kortekslerinde de oluşur. Delta dalgaları beynin daha aşağı bölgelerindeki etkinliklerden bağımsız olarak kortekste oluşabilir [118].

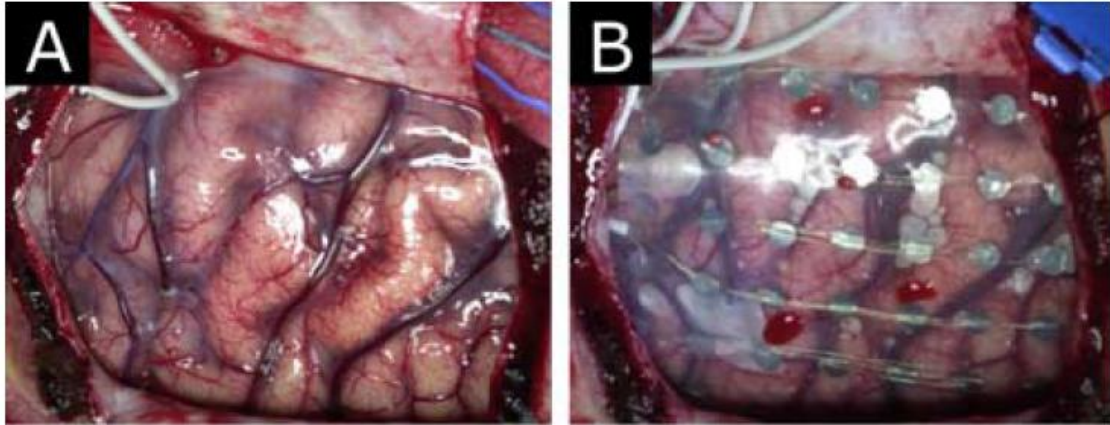
Normal uyku sırasında EEG’de beş ayrı dönem izlenir. Birinci dönem uyku-uyanıklık arası geçiş dönemidir, alfa ritmi kaybolurken yerini düşük voltajlı yavaş aktivitelere bırakır ardından verteks bölgesinde yüksek amplitüdlü keskin dalgalar belirir. Deneyimsiz bir göz uyanıklık sırasında oluştuğunu sanarak bu dönemi patolojik olarak yorumlayabilir. İkinci dönemin işareti frontosantral yerleşimli 12-14 Hz sinüzoidal yapıdaki uyku iğleridir. Üçüncü ve dördüncü dönemler yavaş dalgalı uyku olarak anılır, yüksek amplitüdlü, yaygın ve düzensiz yavaş dalgalardan oluşur. REM (rapid eye movement = hızlı göz hareketleri) dönemi ise düşük voltajlı, değişken frekanslı bir aktivitedir ve rüyaların görüldüğü ve hızlı göz hareketlerinin ve kaslarda atoninin kaydedildiği dönemdir. REM uyku başlangıcından sonra yaklaşık 90 dakika sonra belirdiği için gündüz yapılan kısa süreli uyku incelemelerinde genellikle görülmez (Şekil 2.8) [25].



Şekil 2.8. Farklı durumlar süresince elde edilen EEG kayıtları [25].

2.5. Elektrokortikogram (ECoG)

Epilepsinin cerrahi tedavisinde beyin korteksinin yüzeyinden elektrotlarla direk olarak alınan elektriksel aktivitelere elektrokortikogram (ECoG) denilmektedir [123]. ECoG ile ilgili ilk çalışma 1929 yılında Hans Berger tarafından kafatası hasarı olan hastanın dura mater yüzeyine elektrotlar yerleştirerek kayıt almasıyla yapılmıştır. ECoG, epilepsinin cerrahisinde ameliyat sırasında hasarlı bölgeyi ve epileptogenik bölgenin sınırlarını belirlemek için kullanılmaktadır. ECoG ile interiktal epileptik bozukluğun dağılımının genellikle frontal, merkezi motor ve parietal bölgelerde olduğu belirlenmiştir. Ameliyathanede ECoG'la 16-21 kanallı elektroensefalografi kullanarak kağıt üzerine kayıt yapılır. Kayıt elektrotları gümüş platin ya da paslanmaz çelik olmalı ve tam olarak korteks yüzeyine temas etmelidir. Sert olanlardan ziyade esnek olan elektrotlar tercih edilmelidir. Beyin dokusuna temas eden elektrot bölgesi top şeklinde olmalıdır [124].



Şekil 2.9. Beynin bir bölgesinin gösterilmesi ve elektrotların yerleştirilmesi.
A) Kafatası uzaklaştırılmış beynin görüntüsü, B) Subdural kortekse elektrotların yerleştirilmesi [125].

2.6. Antioksidanlar

Tüm aerobik organizmaların hücresel metabolik süreçlerinde oksijenin suya indirgenmesi sırasında canlı dokulara toksik özellikle serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Bu serbest radikal maddelerin en önemlileri süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit radikalleridir [126].

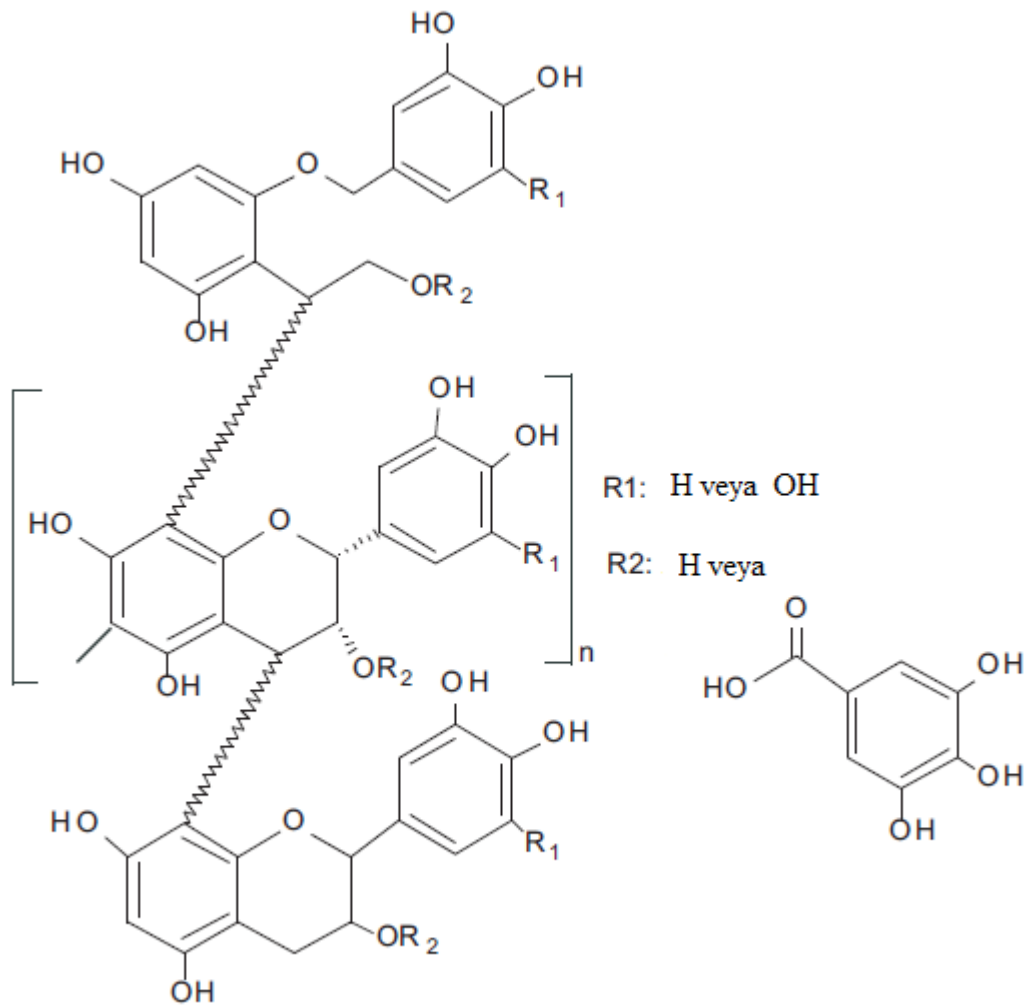
Serbest radikaller, bir atom ya da molekül yörüngesinde eşleşmemiş bir elektron içeren yüksek oranda reaktif kimyasal türlerdir. İnsan vücudunda doğal metabolik yollarla serbest radikaller oluşur, ancak radikal parçalayan (antioksidan) sistemlerle bu oluşan serbest radikaller yok edilerek herhangi bir sitotoksiste neden olmaz. Bu işleyişin radikaller lehine bozulduğunda (oksidatif stress) serbest radikaller DNA, protein ve lipidlerde yapısal bozukluklara neden olur. Dolayısıyla hücre membranının yapı ve fonksiyonunda bozulma meydana gelir ve bunun sonucunda serbest radikaller damar tıkanıklığı, kireçlenme, dokulardaki kansızlık, merkezi sinir sisteminde ki rahatsızlıklar, gastrit, kanser ve AIDS gibi yüzlerce hastalığa neden olabilir [127-131].

Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan aktif oksijenleri temizleyerek, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararları hücresel düzeyde engellemekte (DNA bozulmalarını ve yağların peroksidasyonunu azaltan, meydana gelen hasarın tamirinde görev alan), dolayısıyla dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır. Antioksidanlar, iki grupta sınıflandırılırlar: enzimatik ve non-enzimatik. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), non-enzimatik antioksidanlar ise vitamin E, vitamin C, vitamin A (a-karoten), fenolik bileşikler, selenyum, transferin ve laktoferrindir [132-134].

Fenolik bileşikler, benzenin hidroksi türevleri olan sekonder metabolitlerdir ve bitkilerde fazla miktarda bulunurlar. Fenollerin antioksidant etkileri de benzen halkasında hidroksi gruplarının bulunmasından kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik bileşiklerin bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında, özellikle ağızda acılık ve burukluk gibi iki önemli tat unsurunun oluşmasında etkilidirler. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar [134, 135].

Üzüm Çekirdeği: Vitaceae (asmağiller) familyasının üyelerinden olan üzüm (*Vitis* spp.)’de bulunan fenolik bileşiklerinden en önemlileri fenolik asitler, antosiyanidinler, flavanol glukozitleri, sinamik asit türevleri, katesinler ve protoantosiyanidinlerdir (Şekil 2.10) [136].

GSE, proantosiyanin içeren doğal antioksidandır [23]. GSE en etkili antioksidan aktiviteye sahip benzer flavanoidlerin bir karışımıdır [24, 137,138].



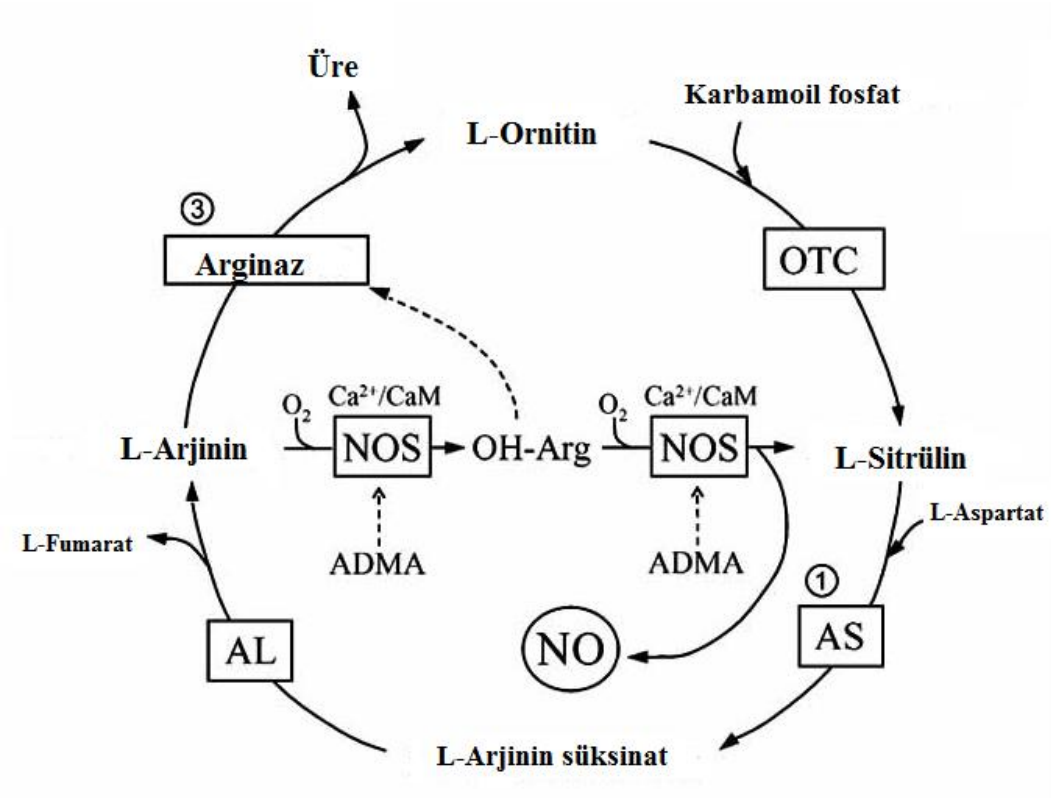
Şekil 2.10. Proantosiyanidin kimyasal yapısı [139].

GSE serebral yaralanmalar esnasında sinirleri koruyucu etkiye sahiptir [20,140-142]. Ayrıca, GSE'nin yapılan bir çalışmada; ratların omurilik, serebral korteks ve hipokampus da yaşlanma ile ilgili oksidatif DNA zararını inhibe ettiği gözlenmiştir [23]. Yüksek dozlarda üzüm çekirdeği proantosiyanın özütü, NO'nin sebep olduğu oksidatif stresi artırarak sitotoksiteyi uyardığı belirlenmiştir [16].

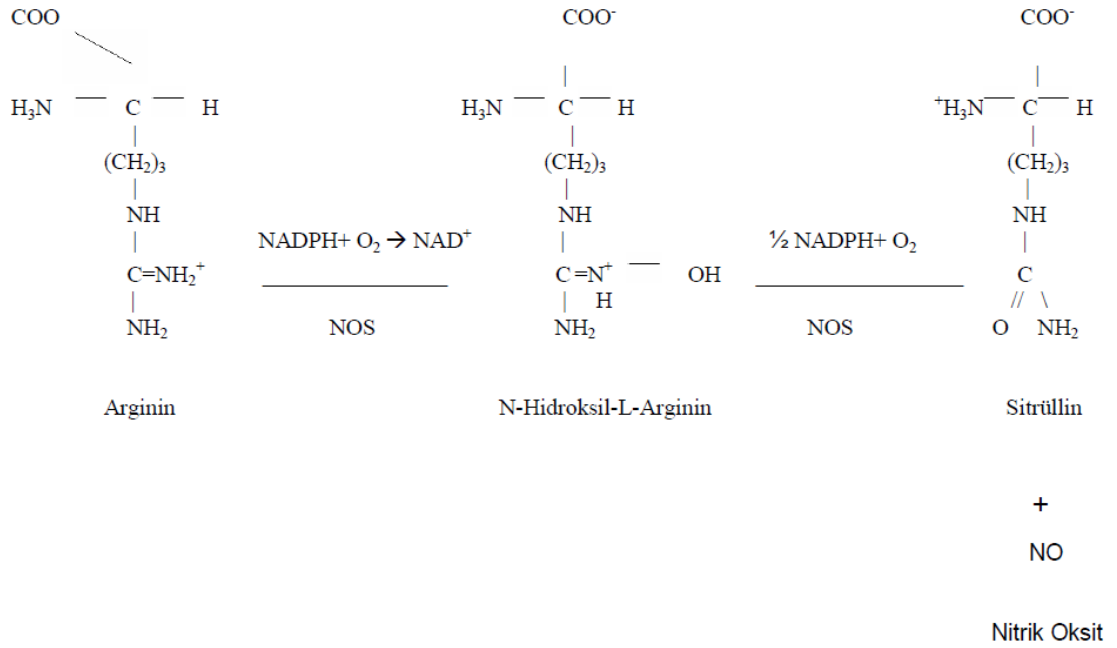
2.7. Nitrik Oksit

Nitrik Oksit molekül ağırlığı 30, kaynama noktası -151°C olan, hem yağda hem suda çözünebilme yeteneği ve üzerinde yük taşımaması ve çiftleşmemiş elektron bulundurmasıyla biyolojik membranlardan hiçbir bariyerle karşılaşmadan çok rahat geçebilen renksiz bir gazdır. Havdaki NO, kısa sürede O_2 'le oksitlenerek nitrojen dioksit'e dönüşür. Nitrojen dioksit dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir. Serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken NO düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol alır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olmaktadır[143-145].

NO memelilerde nöron, endotel ve makrofaj gibi farklı hücre tiplerinde NOS olarak adlandırılan 3 izoenzim ailesi tarafından sentezlenir. Nöronlarda bulunan nNOS, damarların endotelyal hücrelerinde bulunan eNOS (Şekil 2.11) yapısal olarak üretilir ve yapısal nitrik oksit (cNOS) olarak isimlendirilirler. cNOS, hücre içinde sürekli bir şekilde var olan ve vasküler tonus ile nöronal aşırım için aralıklarla ve küçük miktarlarda NO üretir. cNOS, kofaktör olarak Ca^{+2} / kalmoduline bağımlı olup intraselüler Ca^{+2} düzeyini yükselten agonistlerle aktive edebilir. Ca^{+2} 'un yükselmesi kalmodulinin NOS'a bağlanmasını uyarır ve süratli bir şekilde pikomolar düzeylerde NO sentezlenir (Şekil 2.12). Makrofajlar indüklenebilen, Ca^{+2} 'dan bağımsız ve sitokinler etkisiyle üretilen iNOS içermektedir. Bu üç izoenzim, moleküler oksijen ve NADPH'yı ko-substrat gibi kullanarak L-arjininden NO üretir (Şekil 2.13). NO, bütün vücudun organ ve dokuların da fonksiyonel düzenlenmelere katılır [25, 146,147].



Şekil 2.12. NO oluşumu [147].

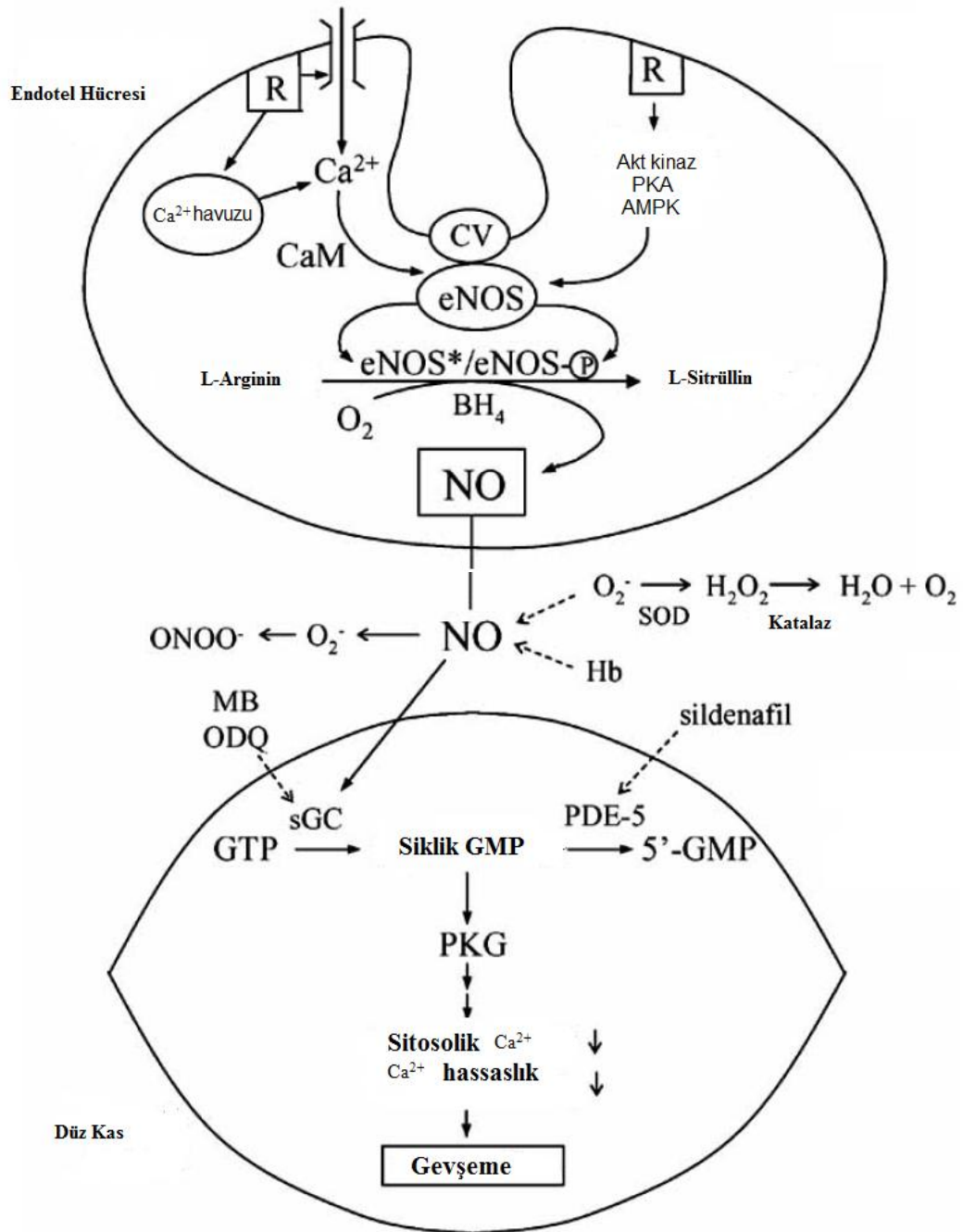


Şekil 2.13. NO'nın sentezlenmesinin kimyasal formülasyonu [143].

L-arjininden NO oluşumu, N-monometil-L-arjinin (L-NMMA), N-nitro-L-arjinin metal ester (L-NAME), N-nitro-L-arjinin (L-NA), N-amino-Larjinin (L-NAA) ve N-iminoetil-L-ornitin (L-NIO) tarafınfan inhibe edilir [146,147].

Fizyolojik olarak NO, hedef hücrede yapısında hem içeren guanilat siklazın (GC) aktif merkezine bağlanır ve hem demirinin porfirin halka düzleminin dışına çekilmesiyle enzimi aktifler. Aktif guanilat siklaz, siklik guanozin monofosfatı (cGMP) oluşturan reaksiyonu katalizler ve bir ikinci haberci olan cGMP'nin miktarı artar. Nitrik oksit etkisiyle artan cGMP, protein kinazları, fosfodiesterazları ve iyon kanallarını etkiler [148-151]. NO'nun ayrıca cGMP'ye bağlı yoldan başka, cGMP'den bağımsız olarak nöronal fonksiyonları düzenlediği düşünülmektedir. İkinci mekanizma NO tarafından reseptörlerin düzenlenmesi ve onun toksik etkileriyle ilgilidir. NO'nun cGMP'den bağımsız mekanizması nitrosilasyona yol açan proteinler ile doğrudan reaksiyonunu ve peroksinitrit oluşumu sebebiyle süperoksit ile NO'nun reaksiyonunu kapsar. Kortikal nöronlardaki NO kısa bir süre için uyarılabilirliği artırarak cGMP'den bağımsız GABA aracılıklı Cl⁻ akımını azaltır [25].

NO, hücre içi cGMP seviyesini artırması, kalsiyum homeostasını değiştirmesi, protein fosforilasyonuna sebep olması ve G protein ribozilasyonuna sebep olması gibi dört farklı yolla sinaptik iletiye etkisi gösterebilir. NO muhtemelen lokal nöron devrelerinde glutamat ve diğer uyarıcı nörotransmitterlerin salgılanmasını artırarak eksitator etki göstermektedir. Diğer taraftan, NO, negatif geribesleme yoluyla NMDA reseptörlerinde duyarsızlığa ve inhibitör transmitter salınmasına yol açarak duraklatıcı etki gösterebilir [151].



Şekil 2.11. Endotel hücrelerde NO sentezi ve düz kas hücrelerindeki etkisi. Aralıksız çizgi, uyarı; noktalı çizgi, indirgenme. R, kimyasal ve mekanik uyarılara hassas reseptörler; CV, caveola'da caveolin-1; CaM, calmodulin; PKA, siklik AMP-bağımlı protein kinaz; AMPK, AMP-aktive protein kinaz; eNOS*, Ca ve kalmodulin tarafından aktive olan eNOS; eNOS-(P), Ser¹¹⁷⁷ fosforilasyon ile aktif hale gelen eNOS; BH_4 tetrahidrobiopterin; O_2^- , superoksit anyonu; $ONOO^-$, peroksinitrit; SOD, superoksit dismutaz; H_2O_2 , hidrojen peroksit; MB, metilen mavisi, sGC, çözünür guanilil siklaz; PDE-5, fosfodiesteraz tip 5; PKG, siklik GMP-bağımlı protein kinaz [147].

3. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan 98 adet albino erkek Wistar sıçan, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış ve $22 \pm 4^{\circ}$ C'lik oda sıcaklığında, ortalama ağırlıkları 225-260 g arasında 80-100 günlük olana kadar yetiştirilmiştir. Deneysel çalışmalar başlamadan 10 gün önce araştırma merkezinden alınan hayvanlar üçerli gruplar halinde saydam plastik kafeslere konularak Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Beyin Araştırma Laboratuvarına nakledilmiştir.

3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

3.2.1. Penisilin G Potasyum

Moleküler ağırlığı 372,48 gr/mol ve moleküler formülü $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ olan penisilin (4-Tia-1-azabisiklo (3.2.0) heptan-2-karboksilik asit, 3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenilasetamid)), hücre duvarı mukopeptidinin biyosentezini inhibe etmek suretiyle etkisini gösterir. Epileptiform aktiviteyi başlatma etkisi, yapısal olarak bikukuline benzerliğinden kaynaklanmaktadır. GABA reseptörleri üzerindeki bikukulinin bağlanma bölgesine tutunan penisilin bu reseptörleri inhibe etmek suretiyle eksitabilitiyi artırmakta ve epileptiform aktiviteye neden olmaktadır [25].

Sunulan çalışmada penisilin, epileptiform aktivite oluşturmak üzere 500 ünite (IU) doz ve 2,5 µl hacimde intrakortikal (i.c.) yoldan uygulandı. Sol beyin korteksine, Bregma'dan 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 2 mm ventral koordinatlarda Hamilton mikroenjektörü kullanılarak verildi (penisilinin infüzyon hızı; 0,5 µl/dk).

3.2.2. L-arjinin

Moleküler ağırlığı 174,2 g/mol ve moleküler formülü $C_6H_{14}N_4O_2$ olan L-arjinin, doğada çok yaygın olarak bulunan esansiyel olmayan bir amino asittir. Karaciğer dışı dokularda ornitinden dönüştürülerek elde edilebilir. Arjinin yıkılması büyük ölçüde üre sentezi sırasında görülen son reaksiyonla gerçekleşir. Bu reaksiyonda arjinin üre ve ornitine dönüşür ve bu sırada hem üre sentezi hem de arjinin katabolizması gerçekleşir [37].

Serum fizyolojikte (SF) çözülen L-arjinin, epileptiform aktivite başladıktan 30 dakika sonra hayvan başına 500 mg/kg doz olacak şekilde intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı.

3.2.3. L-NAME

Moleküler ağırlığı 269,69 gr/mol ve moleküler formülü $C_7H_{15}N_5O_4 \cdot HCl$ olan L-NAME (N_ω -nitro-L-arjinin metil ester hidroklorid), NO üretimini engelleyen bir arjinin analogudur. NOS enzimlerinin tamamını etkileyerek NO üretimini engelleyen nonspesifik bir antagonisttir [25].

SF'de çözülen L-NAME, epileptiform aktivite başladıktan 30 dakika sonra hayvan başına 60 mg/kg doz olacak şekilde i.p. olarak uygulandı.

3.2.4. 7-Nitroindazol (7NI)

Moleküler ağırlığı 163,1335 gr/mol ve moleküler formülü $C_7H_5N_3O_2$ olan 7NI, nNOS'un seçici inhibitörüdür [39,152].

7-Nitroindazol 3:7 hacim:hacim oranında dimetilsülfoksit (DMSO) / SF'de çözüldükten sonra epileptiform aktivite başladıktan 30 dakika sonra hayvan başına 40 mg/kg doz olacak şekilde i.p. olarak uygulandı.

3.2.5. Aminoguanidin (AG)

Moleküler ağırlığı 74,09 gr/mol ve moleküler formülü CH_6N_4 olan AG, iNOS'un inhibitörüdür [38]. AG, SF'de çözüldükten sonra 60 mg/kg ve 100 mg/kg dozlarda i.p. yoldan uygulandı.

3.2.6. Üzüm Çekirdeği Özütü (GSE)

Çalışmada kullanılan GSE, Solgar® Vitamin (Solgar Co., Türkiye)'den temin edilmiştir ve % 95'i monomerik polifenol, sitrik, gallik ve malik asidi içeren oligomerik proantosiyanidinlerden oluşmaktadır.

100 mg GSE, 4 ml distile suda çözüldü. Etkin doz belirleme çalışmaları için epileptiform aktivite başladıktan 30 dakika sonra 50, 100, 200, 400 mg/kg uygulamaları gerçekleştirildi. Ayrıca, belirlenen GSE etkin dozunun diğer kimyasal maddeler ile etkileşimlerini incelemek için i.p. yoldan uygulamaları gerçekleştirildi.

3.3. Deney Grupları

GSE ile epilepsi arasındaki ilişkiyi göstermek ve NO agonist ve antagonistleriyle etkileşimini araştırmak için aşağıdaki deney grupları oluşturuldu:

1. Grup Kontrol grubu (n=7); Herhangi bir madde verilmeden 2 saat kayıt alındı.
2. Grup Suni beyin-omurilik sıvısı (Artificial cerebrospinal fluid (aCSF)) grubu (n=7): aCSF 2.5 µl, i.c. yoldan verilerek 2 saat kayıt alındı.
3. Grup Penisilin (500 IU) grubu (n=7); 500 IU (2,5 µl i.c) penisilin uygulandıktan sonra 2 saat kayıt alındı.
4. Grup Penisilin + 50 mg/kg GSE grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 50 mg/kg GSE i.p. yoldan verilerek 2 saat kayıt alındı.
5. Grup Penisilin + 100 mg/kg GSE grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 100 mg/kg GSE i.p. yoldan verilerek 2 saat kayıt alındı.

6. Grup Penisilin + 200 mg/kg GSE grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 200 mg/kg GSE i.p. yoldan verilerek 2 saat kayıt alındı.
7. Grup Penisilin + 400 mg/kg GSE grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 400 mg/kg GSE i.p. yoldan verilerek 2 saat kayıt alındı.
8. Grup Penisilin + 800 mg/kg GSE grubu (n=7) (Bu grup etkin doz belirlendiği ve 400 mg/kg doz etkisiz olduğundan doz yükseltmesi yapılmamıştır.)
9. Grup Penisilin + 60 mg/kg aminoguanidin grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 60 mg/kg aminoguanidin i.p., yoldan uygulanarak 2 saat kayıt alındı.
10. Grup Penisilin + 100 mg/kg aminoguanidin grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 100 mg/kg aminoguanidin i.p. yoldan uygulanarak 2 saat kayıt alındı.
11. Grup Penisilin + etkin doz GSE grubu + 500 mg/kg L-arjinin grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 500 mg/kg L-arjinin i.p., L-arjininden 10 dakika sonra 200 mg/kg GSE i.p. yoldan uygulanarak 2 saat kayıt alındı.
12. Grup Penisilin + etkin doz GSE grubu + 60 mg/kg L-NAME grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 60 mg/kg L-NAME i.p., L-NAME'den 10 dakika sonra 200 mg/kg GSE i.p. yoldan uygulanarak 2 saat kayıt alındı.
13. Grup Penisilin + etkin doz GSE grubu + 40 mg/kg 7-Nitroindazol grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 40 mg/kg 7-Nitroindazol i.p., 7NI'den 10 dakika sonra 200 mg/kg GSE i.p. yoldan uygulanarak 2 saat kayıt alındı.

14. Grup Penisilin + 60 mg/kg aminoguanidin + etkin doz GSE grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 200 mg/kg GSE i.p., GSE'den 10 dakika sonra 60 mg/kg aminoguanidin i.p. yoldan uygulanarak 2 saat kayıt alındı.
15. Grup Penisilin + 500 mg/kg L-arjinin + 60 mg/kg aminoguanidin + etkin doz GSE grubu (n=7); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 500 mg/kg L-arjinin i.p., L-arjininden 5 dakika sonra 60 mg/kg aminoguanidin i.p. aminoguanidin'den 5 dakika sonra 200 mg/kg GSE i.p. yoldan uygulanarak 2 saat kayıt alındı.

3.4. Cerrahi İşlem

Deneylere başlamadan 24 saat önce aç bırakılan sıçanların ağırlıkları belirlenerek 1,25 gr/kg üretan i.p. yoldan verilerek anestezide alındı ve kulaklarının arkalarına kadar başlarının üst kısmındaki kılların tıraşları yapıldı (Şekil 3.1).

Sıçanların tıraşları yapıldıktan sonra operasyon masasına sabitlendi. Hayvanların kafa derisi rostro-kaudal doğrultuda, bir bistüri ile yaklaşık 3 cm uzunluğunda açıldı. Kafa derisi altındaki yumuşak dokuda oluşabilecek kanamalar elektrokoter vasıtasıyla önlemlendi. Sol korteks üzerindeki yumuşak doku uzaklaştırıldıktan sonra kafatası bir tur motoru ile dairesel hareketler yaparak inceltildi ve kafatası kemiği uzaklaştırıldı. Tur motoru kullanırken oluşacak sürtünmeden meydana gelebilecek ısınmayı engellemek için belirli aralıklarla spanç yardımıyla serum fizyolojik tampon uygulandı. Kafatası kemiğinde oluşabilecek küçük kanamalar bonewax (kemik mumu) sürülerek önlemlendi (Şekil 3.2).



A



B

Şekil 3.1. A) Hayvanlara intraperitoneal yolla üretan verilmesi,
B) Hayvanların tıraş edilmesi.



Şekil 3.2. Hayvanların kafatası kemiğinin beyin korteksine kadar açılması.

3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar

Korteks açığa çıkarıldıktan sonra hayvanlar stereotaksik cihaza sabitlendi. Beyin ve diğer dokulardan sıvı kaybının önlenmesi, ısının muhafaza edilmesi ve parazit kayıtların önlenmesi amacıyla hayvanların kafa derisi 4 köşeden makaslar kullanılarak 37 °C' lik sıvı vazelin havuzu oluşturuldu. Deney anında hayvanların vücut ısını 37 °C'de sabit tutabilmek için homeotermik bir battaniye (Harvard Instrument) kullanıldı. Elektrofizyolojik kayıt için 2 adet Ag/AgCl top elektrot kullanıldı. Top elektrotlardan pozitif olanı Bregmanın 1 mm anterior, sagital suturen 2 mm lateraline, negatif olanı ise Bregmanın 5 mm posterior, sagital suturen 2 mm lateraline yerleştirildi. Topraklama için 1 adet Ag/AgCl klemp elektrot kayıt jeli sürülerek sağ kulak kepçesine sabitlendi (Şekil 3.3 ve 3.4).



Şekil 3.3. Hayvanların beyin korteksine iki adet Ag/AgCl top elektrot ve sağ kulak kepçesine referans elektrot yerleştirilmesi.



Şekil 3.4. Sol korteksi açılmış hayvanın kayıt anındaki görüntüsü.

Elektrotlar ile alınan aktivite BioAmp (ADInstruments, Avustralya) arabiriminde yükseltilerek PowerLab 4/SP (ADInstruments, Avustralya) veri kazanım ünitesine anında aktarıldı. PowerLab ile korteksten elde edilen analog sinyaller sayısal hale dönüştürüldükten sonra bilgisayara aktarıldı. Beyin aktivitesi Chart v5.1 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ile görüntülenerek deney sonrası analiz için bilgisayara kaydedildi (Şekil 3.5 ve 3.6). İntrakortikal enjeksiyonların hepsi, Bregma noktasından 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 1 mm ventrale bir Hamilton mikroenjektör ile yapıldı. Enjeksiyon sırasında enjektör ucunun damarı zedelememesine dikkat edildi.

3.6. İstatistiksel Analiz

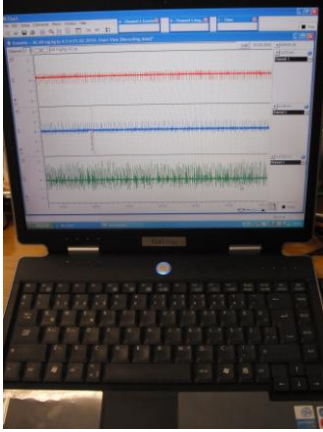
Bilgisayara kaydedilen elektrofizyolojik kayıtlar Chart v5.1 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık bölümlere ayrıldı. Her bir dakika başına düşen spike sayısı ve spike'ların ortalama amplitüdleri (peak-to-peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 3.7). Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan elde edilen kayıtlar için bu hesaplama teker teker yapıldı. Elektrofizyolojik kayıtların tamamı rakamsal verilere dönüştürüldü ve SPSS v12.0 yazılımından yararlanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. Deney grupları üç ayrı karşılaştırma için gruplandırıldı. Kontrol grubu ile GSE doz grupları, kontrol grubu ile aminoguanidin grupları ve kontrol grubu ile GSE-NO etkileşim grupları ayrı ayrı istatistiksel olarak analiz edildi. Elde edilen veriler normal dağılıma uyduğu için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Varyans analizi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptandı ve grup varyanslarının heterojen oldukları görüldü bunun için farkın nereden kaynaklandığını saptamak maksadıyla bir Post Hoc testi olan Tamhane kullanıldı. Grafik ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Testlerden elde edilen sonuçlara göre p değeri 0.05'in altında olan değişimler anlamlı kabul edildi.



A



B

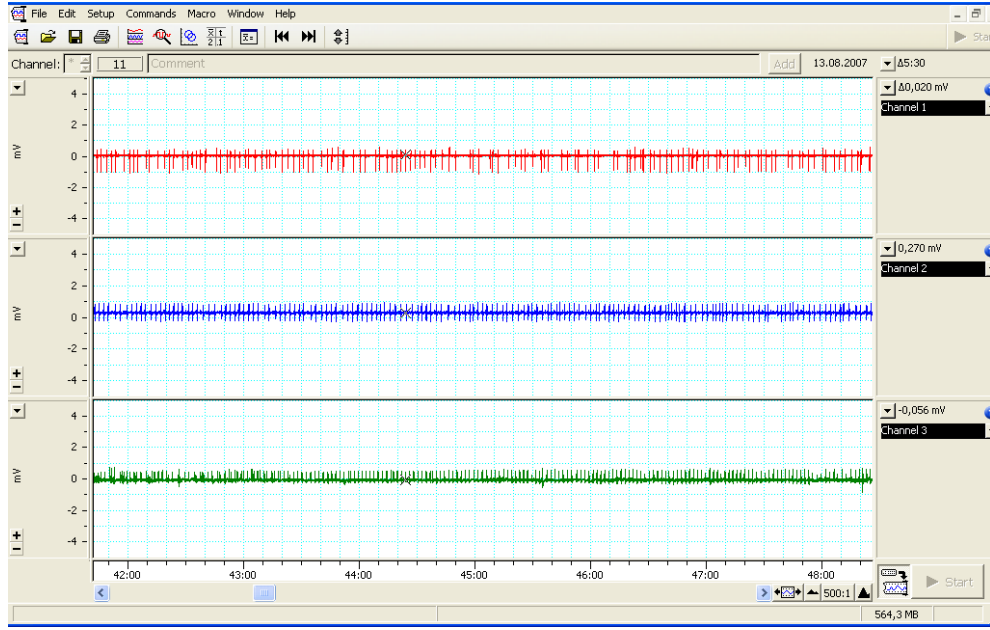


C

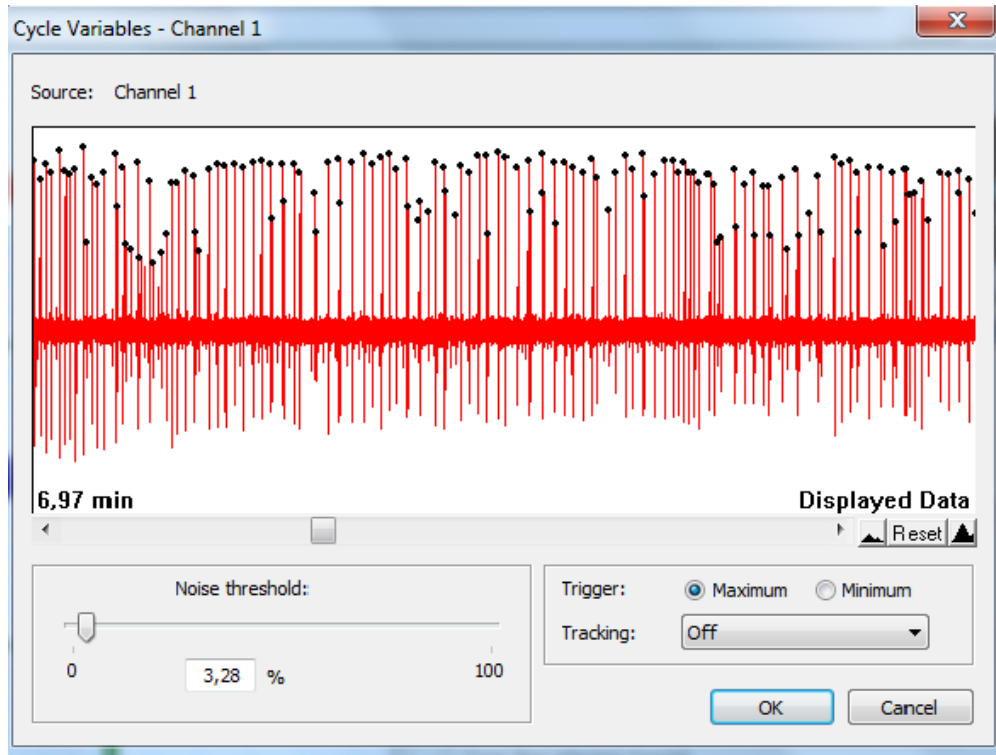


D

Şekil 3.5. Elektrofizyolojik kayıt düzeneği; A) Hayvanların sterotaksik cihaza yerleştirilmesi, B) Power Lab 4/SP, C) Verilerin bilgisayara aktarılması, D) Kayıt esnasında hayvanların vücut ısılarını 37 °C’de sabit tutabilmek için kullanılan homeotermik battaniye.



Şekil 3.6. Elektrofizyolojik kayıt için kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü.



Şekil 3.7. Elipeptik aktivite de spike frekansı ve amplitüdün hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem penceresi görüntüsü. Nokta bulunan diken dalgalar hesaplamada kullanılanları göstermektedir.

4. BÖLÜM

BULGULAR

Sunulan çalışmanın ilk bölümünde penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivitede GSE'nin farklı dozları uygulanarak etkin doz belirlendi; ikinci bölümde ise GSE'nin NO agonist ve antagonistleriyle etkileşimi incelendi.

4.1. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivitenin İncelenmesi

Epileptiform aktiviteyi başlatmak için 500 IU penisilin i.c. yoldan korteks içine enjekte edildi. Enjeksiyondan sonraki 2-4 dakika içinde epileptiform aktivite başladı. Spike frekansı ve amplitüdü 30 dakikada kararlı bir düzeye ulaştı ve yaklaşık 4 saat sürdü. Kararlı düzeyde ortalama spike frekansı 29 ± 2 spike/dk., amplitüdü ise $1,007 \pm 193$ μ V olarak belirlendi (Şekil 4.1-B).

4.2. Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi

4.2.1. 50 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra GSE 50 mg/kg dozda i.p. yoldan enjekte edildi. Enjeksiyon yapıldıktan 80 dakika sonra epileptiform aktivitenin ortalama frekansında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma oldu ($p < 0.05$, Şekil 4.1-C ve Şekil 4.2). Sekseninci dakikada ortalama frekansın değişiminin % 49.03 olduğu belirlendi (Şekil 4.2). Bu gruptaki ortalama amplitüd (960 ± 69 μ V) ile kontrol grubu ($1,007 \pm 193$ μ V) karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 4.1-C ve Tablo 4.2). GSE'nin 50, 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarının uygulanmasından sonraki her 30 dakikada tespit edilen spike frekansı değerleri de Tablo 4.1'de görülmektedir.

4.2.2. 100 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra GSE 100 mg/kg dozda i.p. yoldan enjekte edildi. Enjeksiyon yapıldıktan sonra 40 dakika sonra epileptiform aktivitenin ortalama frekansında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma oldu ($p < 0.05$, Şekil 4.1-D ve Şekil 4.2). Kırkıncı dakikada ortalama frekansın değişiminin % 44.06 olduğu belirlendi (Şekil 4.2). Bu grup ile kontrol grubunun ($1,007 \pm 193 \mu V$) ortalama amplitüdü ($980 \pm 78 \mu V$) arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$, Şekil 4.1-D ve Tablo 4.2).

4.2.3. 200 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra GSE 200 mg/kg dozda i.p. yoldan enjekte edildi. Enjeksiyon yapıldıktan 20 dakika sonra epileptiform aktivitenin ortalama frekansında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma oldu ($p < 0.05$, Şekil 4.1-E ve Şekil 4.2). Yirminci dakikada ortalama frekansın değişiminin % 36.21 olduğu belirlendi (Şekil 4.2). Bu grubun ortalama amplitüdü ($750 \pm 85 \mu V$) ile kontrol grubu ($1,007 \pm 193 \mu V$) karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılığın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$, Şekil 4.1-E ve Tablo 4.2). 200 mg/kg GSE'nin antikonvulsan etkiyi gösteren en etkili ve bu etkiyi en erken ortaya çıkaran doz olduğu tespit edildi.

4.2.4. 400 mg/kg Dozda Uygulanan Üzüm Çekirdeği Özütünün Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra GSE 400 mg/kg dozda i.p. yoldan enjekte edildi. Enjeksiyon yapılmasından deney sonuna kadar epileptiform aktivitenin ne frekansında ne de amplitüdünde kontrol grubuna (ortalama spike frekansı 29 ± 2 spike/dk., amplitüdü ise $1,007 \pm 193 \mu V$) göre önemli bir değişikliğe neden olmadı ($p > 0.05$, Şekil 4.1-F, Şekil 4.2). GSE'nin 400 mg/kg i.p. enjeksiyonundan 90 dakika sonra epileptiform aktivitede ortalama spike frekansının 30.50 ± 5.6 spike/dk, ortalama amplitüdün 983 ± 144 olduğu bulundu (Tablo 4.2).

4.3. Nitrik Oksit Agonist ve Antagonistlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisinin İncelenmesi

4.3.1. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörü Aminoguanidin'in Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Seçici indüklenebilir NOS inhibitörünün rolünü değerlendirmek için iki farklı aminoguanidin dozu (60, 100 mg/kg, i.p.) kullanıldı. 500 IU penisilin i.c. yoldan uygulandıktan 30 dakika sonra AG'nin 60 ve 100 mg/kg (i.p.) dozlarının enjeksiyonu yapıldı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 60 mg/kg AG'nin 60. dakikadan itibaren ($p<0.001$) ve 100 mg/kg AG'nin 70 dakikadan itibaren ($p<0.05$) epileptiform aktivitenin frekansını anlamlı düzeyde azalttığı (Şekil 4.1-G-H, Şekil 4.3), amplitüdünü ise değiştirmedığı belirlendi ($p>0.05$, Şekil 4.1-G-H). En iyi ve erken etki AG'nin 60 mg/kg dozunda olduğu tespit edildi (Şekil 4.1-G, Şekil 4.3).

AG'nin 60 mg/kg i.p. enjeksiyonundan 60 dakika sonra epileptiform aktivitede ortalama spike frekansının 25.6 ± 10.4 spike/dk, ortalama amplitüdün 800 ± 80 μ V, AG'nin 100 mg/kg i.p. enjeksiyonundan 70 dakika sonra epileptiform aktivitede ortalama spike frekansının 22.5 ± 6 spike/dk, ortalama amplitüdün 786 ± 78 μ V olduğu bulundu.

4.3.2. Üzüm Çekirdeği Özütünün Nitrik Oksit Agonist ve Antagonistleri ile Etkileşimlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

4.3.2.1. Üzüm Çekirdeği Özütü + L-arjinin Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

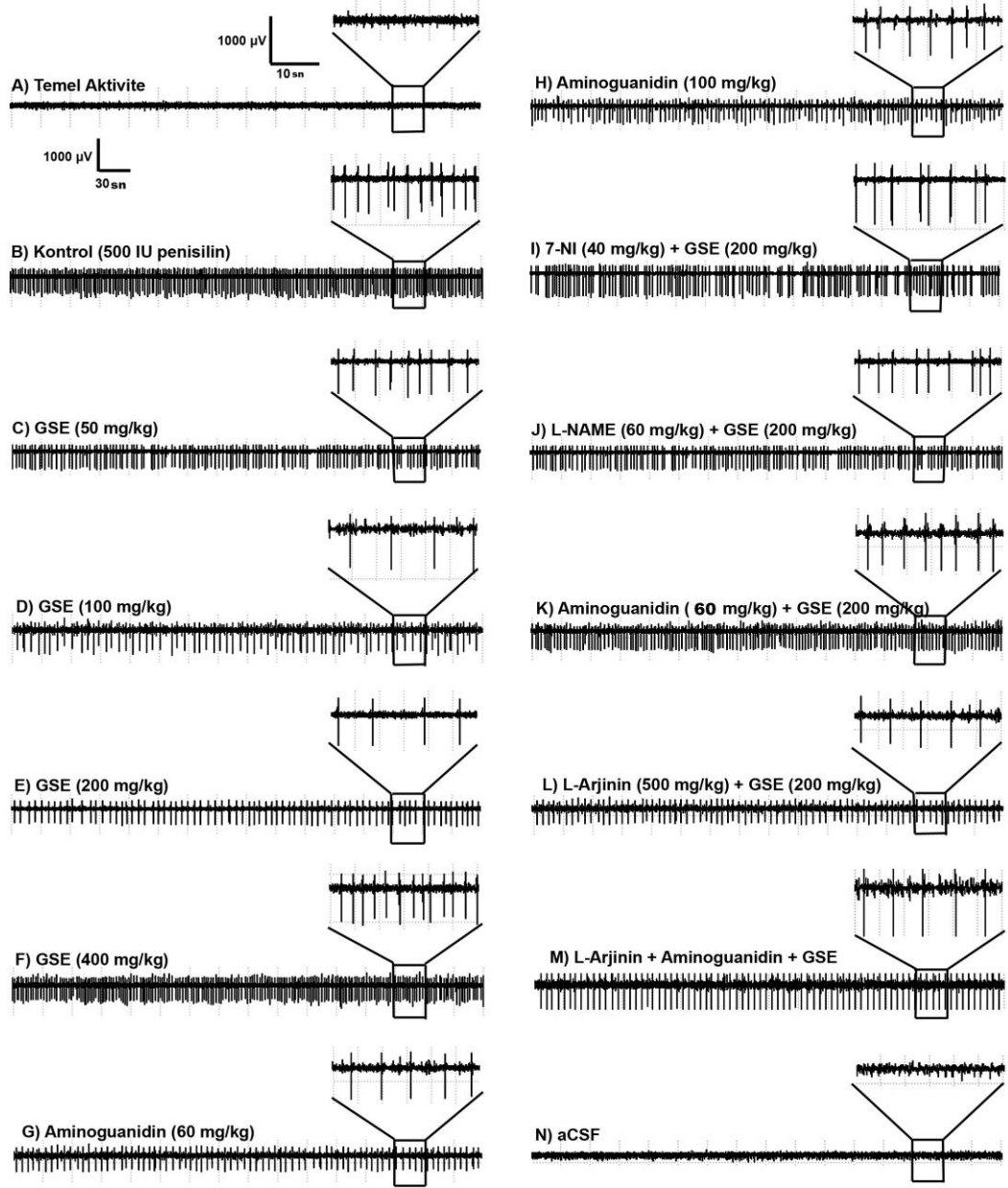
500 IU penisilin i.c. yoldan uygulandıktan 30 dakika sonra 500 mg/kg L-arjinin i.p., L-arjininden 10 dakika sonra 200 mg/kg GSE (i.p.) enjekte edildi. L-arjinin + GSE varlığında 50. dakikada epileptiform aktivitenin ortalama frekansında (23.5 ± 5.8 spike/dk) kontrol grubuna göre (26.7 ± 1.8 spike/dk) anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p<0.05$, Şekil 4.1-M, Şekil 4.4 ve Tablo 4.3). Ortalama amplitüde (1150 ± 239 μ V) kontrol (920 ± 153 μ V) grubuna göre önemli bir değişme olmadı ($p>0.05$, Şekil 4.4 ve Tablo 4.4). GSE'nin enjeksiyonundan 80 dakika sonra epileptiform aktivitede ortalama spike frekansı 11.0 ± 2.9 spike/dk, ortalama amplitüd 787 ± 59 μ V'dur (Şekil 4.1-M).

Tablo 4.1. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin frekansı üzerine farklı dozlardaki üzüm çekirdeği özütünün her 30 dakikadaki etkisi.

Gruplar	Ortalama frekans (spike / dk)				
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk
Kontrol grubu	26.76±1.8	28.23±2.5	30,43±2.6	31.56±3.3	30.78±1.1
50 mg/kg GSE	34.80±7.1	25.20±4.6	20,60±6.2	15.4±4.8	12±3.8
100 mg/kg GSE	22±5.7	13.50±3.1	10,83±2.2	10.33±2.7	9.33±2,2
200 mg/kg GSE	26.83±4.4	18.66±3.9	15,33±3.9	12.33±3.8	13.33±3.3
400 mg/kg GSE	37.83±3.1	36.16±3.8	30.50±5.6	26±7.1	24±6.6

Tablo 4.2. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin amplitüd üzerine farklı dozlardaki üzüm çekirdeği özütünün her 30 dakikadaki etkisi.

Gruplar	Ortalama amplitüd (µV)				
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk
Kontrol grubu	940±178	880±166	900±177	880±127	920±157
50 mg/kg GSE	800±100	700±68	640±66	600±57	620±54
100 mg/kg GSE	850±111	850±95	700±77	666±162	700±182
200 mg/kg GSE	783±107	666±111	700±106	650±92	650±92
400 mg/kg GSE	916±107	1000±121	983±144	1083±149	950±140



Şekil 4.1. **A)** Kortekse herhangi bir madde enjekte edilmeden önceki bazal ECOG aktivite, **B)** penisilinin 500 IU i.c. enjeksiyonu ile epileptiform aktivitenin başlaması, **C)** 50 mg/kg GSE i.p. enjeksiyonu sonrasında 80. dakika da epileptiform aktivitede amplitü değişmeksizin ortalama frekansın önemli derecede azalması **D)** 100 mg/kg GSE i.p. enjeksiyonu sonrasında 40. dakika da epileptiform aktivitede amplitü değişmeksizin ortalama frekansın önemli derecede azalması, **E)** 200 mg/kg GSE i.p. enjeksiyonu sonrasında 20 dakika da epileptiform aktivitede amplitü değişmeksizin ortalama frekansın önemli derecede azalması, **F)** 400 mg/kg GSE i.p. enjeksiyonu sonrası epileptiform aktivitede ne ortalama frekans ne de amplitü değişmemesi, **G)** 60 mg/kg AG i.p. enjeksiyonu sonrasında 60 dakika da epileptiform aktivitede amplitüdü değişmeksizin ortalama frekansın önemli derecede azalması, **H)** 100 mg/kg AG i.p. enjeksiyonu sonrasında 70 dakika da epileptiform aktivitede amplitüdü değişmeksizin ortalama frekansın önemli derecede azalması, **I)** 7-NI + GSE ve **J)** L-NAME + GSE gruplarında 90 dakika da epileptiform aktivitede amplitüdü değişmeksizin ortalama frekansın önemli derecede azalması, **K)** AG (60 mg/kg) + GSE grubunda, AG GSE'nin antikonvulsan etkisini tersine çevirmesi, **L)** L-arjinin + GSE grubunda 50 dakika da epileptiform aktivitede amplitüdün değişmeksizin ortalama frekansın önemli derecede azalması, **M)** L-arjinin + AG (60 mg/kg) + GSE grubunda, L-arjinin epileptiform aktivitede GSE'nin antikonvulsan etkisinde AG'nin etkisini durdurması, **N)** DMSO i.p. ve SF i.c. enjeksiyonu (2.5 µl) ile epileptiform aktivitede frekans ve amplitüdün değişmemesi.

4.3.2.2. Üzüm Çekirdeği Özütü + L-NAME Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilin i.c. yoldan uygulandıktan 30 dakika sonra 60 mg/kg L-NAME (i.p.), L-NAME'den 10 dakika sonra 200 mg/kg GSE (i.p.) enjekte edildi. L-NAME + GSE nin varlığında 90. dakikadan itibaren deney sonuna kadar epileptiform aktivitenin ortalama frekansının (14.2 ± 2.6 spike/dk) kontrol grubuna (30.43 ± 2.6 spike/dk) göre istatistik açıdan anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p < 0.05$, Şekil 4.1-J, Şekil 4.4 ve Tablo 4.3). Ortalama amplitüdde (840 ± 55 μ V) kontrol grubuna (900 ± 177 μ V) göre önemli bir değişme olmadı ($p > 0.05$, Şekil 4.1-J, Şekil 4.4 ve Tablo 4.4).

4.3.2.3. Üzüm Çekirdeği Özütü + 7-Nitroindazol Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilin i.c. yoldan uygulandıktan 30 dakika sonra 40 mg/kg 7-Nitroindazol (i.p.), 7-NI'den 10 dakika sonra 200 mg/kg GSE (i.p.) enjekte edildi. 7-NI + GSE nin varlığında 90. dakikadan itibaren deney sonuna kadar epileptiform aktivitenin ortalama frekansının (16 ± 2.7 spike/dk) kontrol grubuna (30.43 ± 2.6 spike/dk) göre istatistik açıdan anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p < 0.05$, Şekil 4.1-I, Şekil 4.4 ve Tablo 4.3). Ortalama amplitüdde (800 ± 81 μ V) kontrol grubuna (900 ± 177 μ V) göre önemli bir değişme olmadı ($p > 0.05$, Şekil 4.1-I, Şekil 4.4 ve Tablo 4.4).

4.3.2.4. Aminoguanidin + Üzüm Çekirdeği Özütü Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

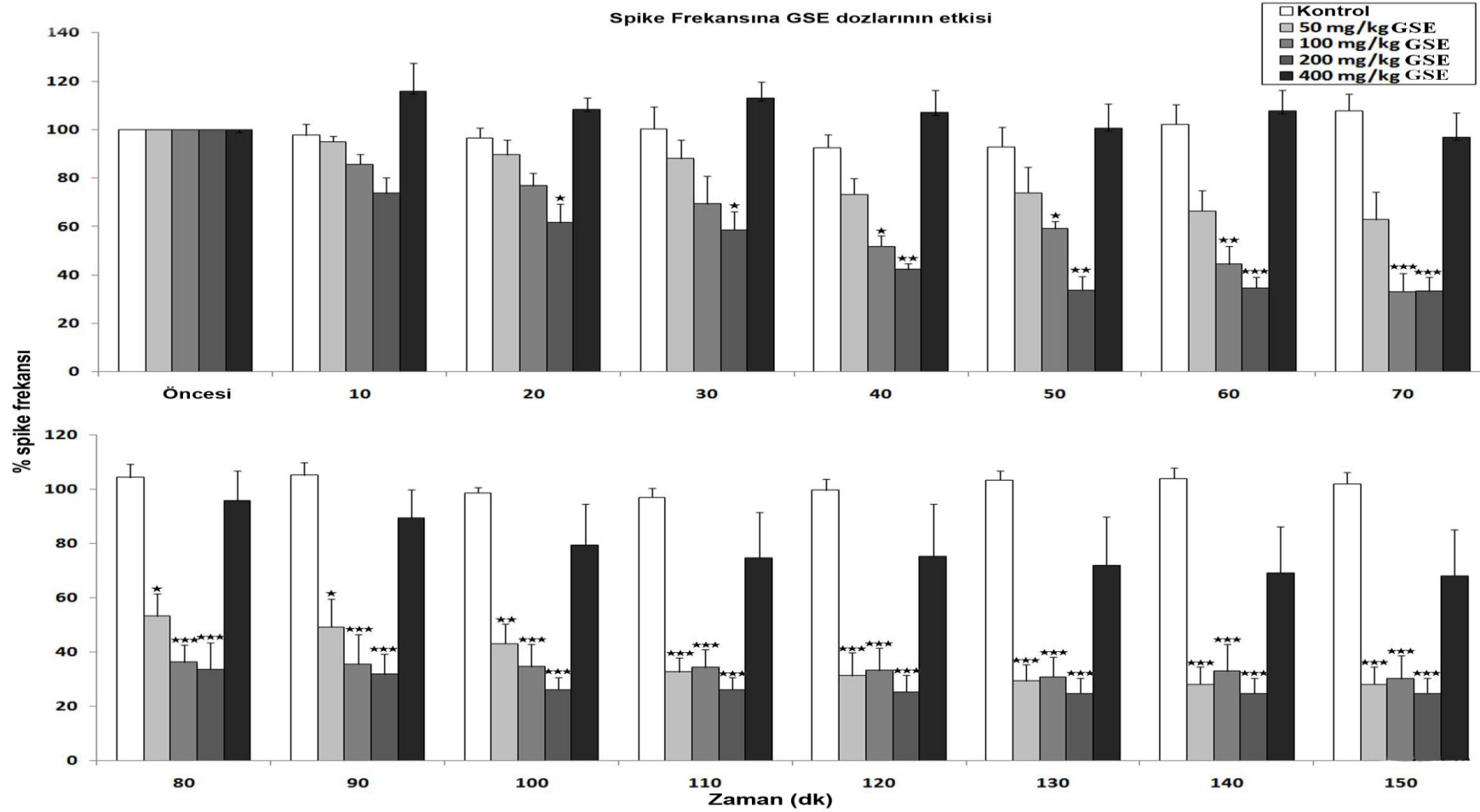
500 IU i.c. yoldan uygulandıktan 30 dakika sonra 200 mg/kg GSE (i.p.), GSE'den 10 dakika sonra 60 mg/kg aminoguanidin (i.p.) enjekte edildi. AG'nin etkin dozu (60 mg/kg, i.p.), GSE'nin antikonvulsan etkisini kısmen tersine çevirdi (Şekil 4.4). Öyle ki GSE'nin enjeksiyonundan 110 dakika sonra epileptiform aktivitenin ortalama frekansının (13.8 ± 4.6 spike/dk) kontrol grubuna (31.3 ± 3.8 spike/dk) göre istatistik açıdan anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p < 0.05$, Şekil 4.1-K, Şekil 4.4 ve Tablo 4.3). Ortalama amplitüdde (520 ± 110 μ V) kontrol grubuna (940 ± 147 μ V) göre önemli bir değişme olmamıştır ($p > 0.05$, Şekil 4.1-K, Şekil 4.4 ve Tablo 4.4).

Tablo 4.3. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin frekansı üzerine üzüm çekirdeği özütünün etkin dozu ile NO agonist ve antagonistlerinin her 30 dakikadaki etkisi.

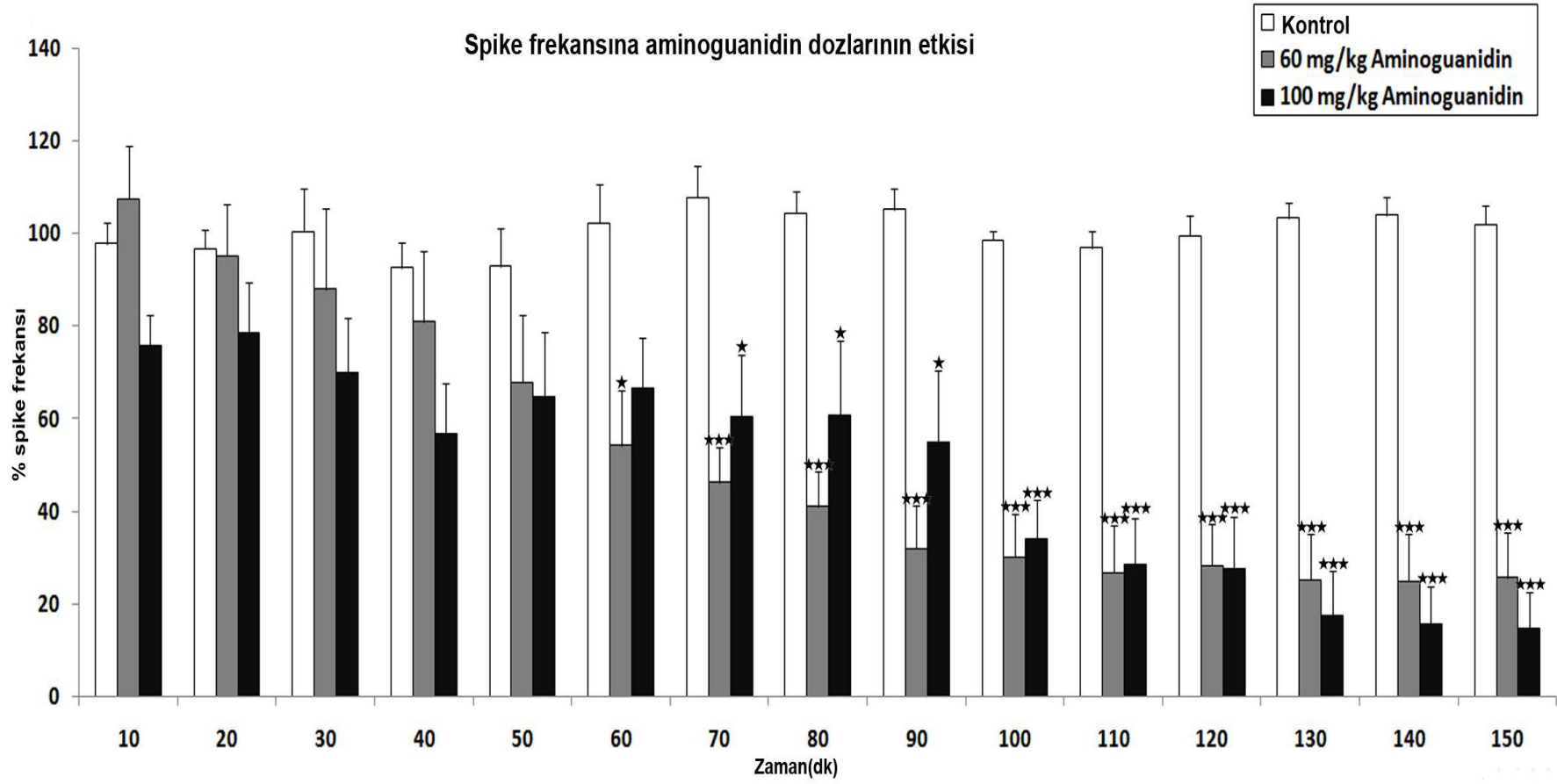
Gruplar	Ortalama frekans (spike / dk)				
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk
Kontrol grubu	26.76±1.8	28,23±2.5	30.43±2.6	31.56±3.3	30.78±1.1
GSE (200 mg/kg)	26.83±4.4	18.66±3.9	15,33± 3.9	12,33±3.8	13,33±3.3
AG (60 mg/kg)	40.2±15.1	25.6±10.4	15.4±7	14.4±7.1	13±6.7
AG (100 mg/kg)	25.5±7.8	25±5.9	20.4±6.2	10.8±4.3	6.1±3
7-NI (40 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	27.2±3.6	22.8±3.8	16±2.8	12.8±2.5	9.6±1.9
L-NAME (60 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	24±4.8	15.8±2.4	14.2±2.6	13.4±1.9	13.8±2.1
AG (60 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	32.2±6.6	33±10.3	30±8.2	12.4±3.6	5.4±1.3
L-arjinin (500 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	29±4.7	19±5.8	15.1±5.9	11±3.8	10.5±3.6
L-arjinin (500 mg/kg) + AG (60 olacak mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	52.2±7	49±9.3	19.7±5.4	17.5±11.2	10±3.9

Tablo 4.4. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin amplitüd üzerine üzüm çekirdeği özütünün etkin dozu ile NO agonist ve antagonistlerinin her 30 dakikadaki etkisi.

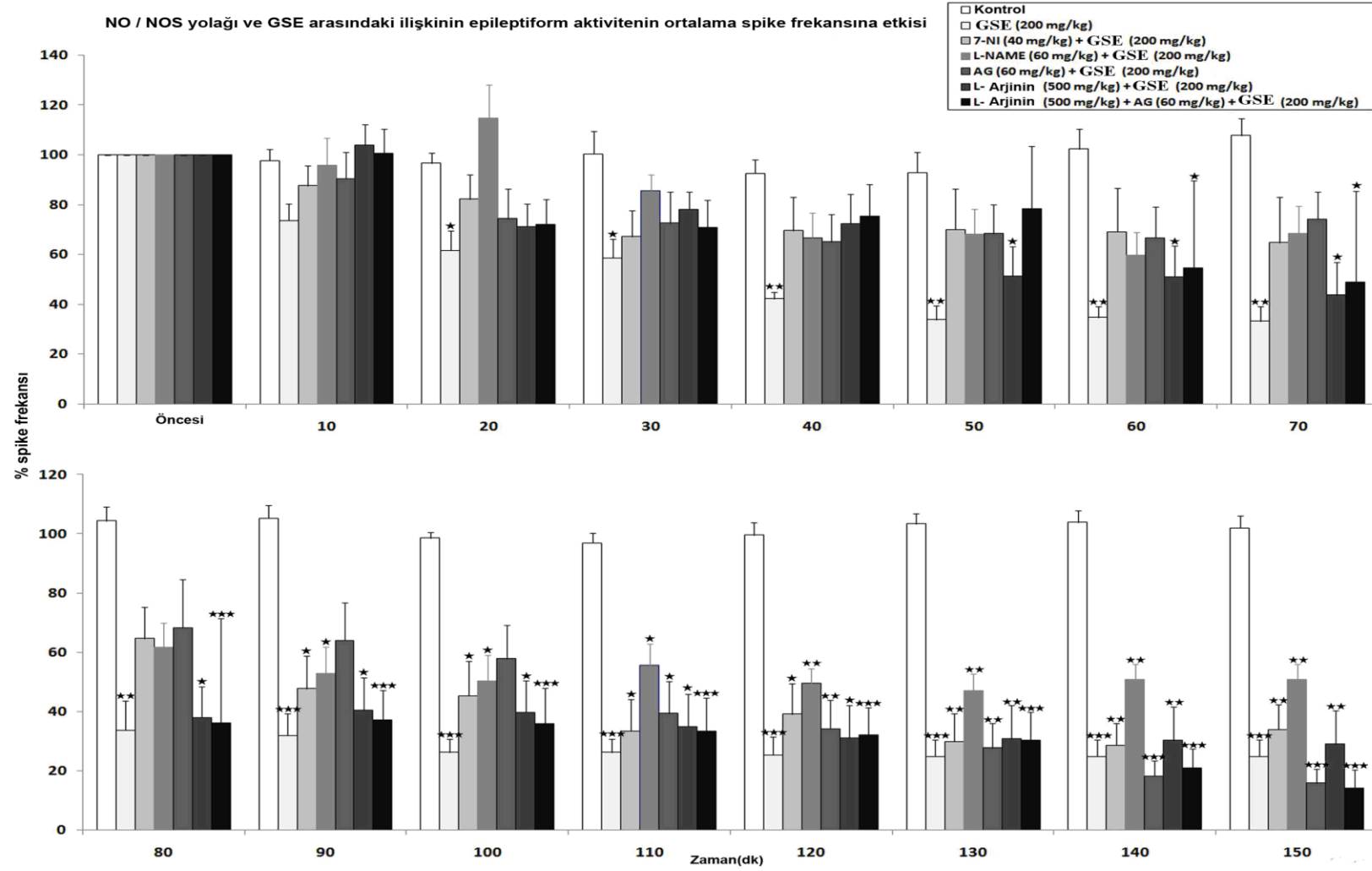
Gruplar	Ortalama amplitüd (μ V)				
	30. dk	60. dk	90. dk	120. dk	150. dk
Kontrol grubu	940 $\pm$ 178	880 $\pm$ 166	900 $\pm$ 177	880 $\pm$ 127	920 $\pm$ 157
GSE (200 mg/kg)	783 $\pm$ 107	666 $\pm$ 111	700 $\pm$ 106	650 $\pm$ 92	650 $\pm$ 92
AG (60 mg/kg)	920 $\pm$ 92	800 $\pm$ 80	740 $\pm$ 74	700 $\pm$ 70	600 $\pm$ 60
AG (100 mg/kg)	829 $\pm$ 82	814 $\pm$ 81	671 $\pm$ 67	429 $\pm$ 42	300 $\pm$ 30
7-NI (40 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	1040 $\pm$ 80	820 $\pm$ 70	800 $\pm$ 81	900 $\pm$ 103	820 $\pm$ 83
L-NAME (60 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	920 $\pm$ 87	920 $\pm$ 60	840 $\pm$ 55	780 $\pm$ 90	760 $\pm$ 95
AG (60 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	900 $\pm$ 106	900 $\pm$ 118	780 $\pm$ 113	480 $\pm$ 101	520 $\pm$ 107
L-arjinin (500 mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	1200 $\pm$ 217	1183 $\pm$ 246	1150 $\pm$ 234	1050 $\pm$ 140	916 $\pm$ 218
L-arjinin (500 mg/kg) + AG (60 olacak mg/kg) + GSE (200 mg/kg)	1000 $\pm$ 137	850 $\pm$ 74	625 $\pm$ 48	625 $\pm$ 168	575 $\pm$ 149



Şekil 4.2. Üzüm çekirdeği özütünün 50, 100, 200 ve 400 mg/kg (i.p.) dozlarının, GSE enjeksiyonu yapıldıktan sonra 20., 40., 80. dakikalarda epileptiform aktivite de ortalama spike frekansları (* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001).



Şekil 4.3. AG'nin 60, 100 mg/kg (i.p.) dozlarının penisilinle uyarılan epileptiform aktivitede ortalama spike frekansları (* $p<0.05$; *** $p<0.001$).



Şekil 4.4. L-NAME, 7-NI, AG ve L-arjinin penisilinle uyarılan epileptiform aktivitede GSE'nin antikonvulsant aktivitesine etkisi (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)

4.3.2.5. L-arjinin + Aminoguanidin + Üzüm Çekirdeği Özütü Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU i.c. yoldan uygulandıktan 30 dakika sonra 500 mg/kg L-arjinin (i.p.), L-arjininden 5 dakika sonra 60 mg/kg AG (i.p.), AG'den 5 dakika sonra 200 mg/kg GSE (i.p.) enjekte edildi. NO substratı L-arjinin (500 mg/kg, i.p.), GSE'nin etkin dozundan (200 mg/kg, i.p.) 10 dakika önce verildiğinde, penisilinle uyarılan epileptiform aktivitede GSE'nin antikonvulsan etkisindeki AG'nin etkinliğini engelledi. AG varlığında GSE'nin antikonvulsan etkisi 110. dakikada ortaya çıkarken, L-arjininin AG'yi baskılaması neticesinde GSE'nin etkisinin 60. dakikada ortaya çıktığı belirlendi ($p<0.05$, Şekil 4.1-L, Şekil 4.4 ve Tablo 4.3). GSE'nin enjeksiyonundan 60 dakika sonra epileptiform aktivitede ortalama spike frekansı 49 ± 9.3 spike/dk, ortalama amplitüd 850 ± 74 μ V'dur (Şekil 4.4 ve Tablo 4.4).

Ayrıca penisilin enjekte edilmemiş hayvanları kontrol grubu olarak değerlendirdiğimizde, dimetil sülfoksit (DMSO)'in intraperitoneal enjeksiyonu ve serum fizyolojik (SF)'in intrakortikal enjeksiyonu (2,5 μ l) epileptiform aktivitenin frekansında ve amplitütünde hiçbir değişiklik meydana getirmemiştir (Şekil 4.1-N).

5. BÖLÜM

TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Sunulan çalışma ile ilk kez sıçanlarda penisilinle uyarılan epileptiform aktivite üzerine üzüm çekirdeği özütünün etkisi araştırıldı. Öncelikle GSE'nin farklı dozlarının etkisi araştırıldı. Ardından etkin doz GSE ile nitrik oksit sisteminin etkileşimini içeren deneyler yapıldı. Bunun için çalışmada non-spesifik NOS inhibitörü L-NAME, seçici indüklenabilir NOS inhibitörü aminoguanidin, seçici nöronal NOS inhibitörü 7-NI ve NO substratı L-arjinin kullanıldı

5.1. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivitede Üzüm Çekirdeğinin Etkisi

Üzüm çekirdeği proantosiyanidin özütü (GPSE), 50 µg/ml dozda kardiyomiyositlerde iskemi/reperfüzyonla oluştururulan hücre ölümüne karşı çok belirgin ve önemli bir koruma sağlamıştır [137]. GSPE'nin (10, 20, 40, 60 µg/ml) doza bağlı olarak adenokarsinoma hücrelerinin (A549) göç etme kapasitelerini azalttığı bulunmuştur [153]. Başka bir çalışmada ise GSE, asetaminofenininden neden olduğu apoptotik ve non-apoptotik akciğer hücre ölümlerini önlemiş ve puromisininden neden olduğu nefrozda proteinüriyi azaltmıştır [154]. *In vitro* olarak yapılan bir çalışmada GSE'nin lipoprotein lipaz ve pankreatik lipaz aktivitelerini inhibe ettiği bildirilmiştir [155]. Yine laboratuvar ortamında yapılan bir çalışmada, insan göbeği toplardamar endotel hücre kültürüne 10, 25 ve 50 µg/ml dozlarda GSE verilmiş ve GSE'nin hücre büyümesine ve hücre canlılığına etkisi incelenmiştir. 25 ve 50 µg/ml dozlardaki GSE'nin, % 91 oranında hücre büyümesini azalttığı tespit edilmiştir. Trypan mavisi boyama yöntemi ile ölen hücrelerin skorlaması yapılmış ve GSE'nin 25 ve 50 µg/ml dozlarda hücre canlılığını % 64 oranında azalttığı, 10 µg/ml dozunun hücre büyümesine ve hücre canlılığına etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır [156]. Bir başka çalışmada ise 30 gün boyunca ağız yoluyla 100 mg/kg dozda üzüm çekirdeği özütü ile beslenen yaşlı sıçanlarda (24-26

aylık 400 ± 20 g) DNA protein çapraz-bağ seviyesinin yaşlı kontrollere göre önemli derecede azaldığı bulunmuştur [23]. Bu çalışmaların aksine Shao, Z.H. ve ark., [15] civciv kardiyomiyosit modelinde yüksek doz GSE'nin (100, 500 µg/ml) efektör kaspaz-2 aktivasyonu ve sonuçta reaktif oksijen türlerinin oluşturulması yoluyla apoptotik hücre yaralanmasına sebep olduğunu belirtmiştir [15].

GSE'nin kan basıncı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, metabolik sendromlu 27 yetişkin (25-80 yaşları arasında, bir yıldan fazla sigara kullanmamış, vitamin ilaçları kullanmayan, koroner ve pulmoner damar hastalıkları ile mide ve böbrek hastalıkları olmayan) insana dört gün boyunca ağız yoluyla 300 mg ve 150 mg GSE verilmiş ve düzenli olarak her saat tansiyonları ölçülmüştür. GSE'nin hem sistolik hem de diyastolik kan basınçlarını düşürdüğü gözlenmiştir. Aynı çalışmada okside düşük yoğunluklu lipoprotein değerlerinde azalma olduğu diğer kan parametrelerinde ise bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir [157]. Başka bir çalışmada ise sıçanlara 45 gün boyunca ağız yoluyla 100 mg/kg GSE ve su içerisinde kurşun asetat (100 ppm) verildiğinde, sadece kurşun asetat verilen hayvanlarda kan basıncı ve kalp atış hızının önemli derecede arttığı, kurşun asetat ve GSE'nin beraber verilen hayvanlarda ise kan basıncı ve kalp atış hızının değişmediği gözlenmiştir [158].

Sıçanlara yüksek kolesterol diyeti uygulanarak, hiperkolesterolemi hastalığı üzerine GSE'nin etkisinin incelendiği bir araştırmada, ağız yolu ile beslemede yarı yarıya yüksek kolesterol diyeti ve GSE verilmiş, toplam kolesterolü % 31, iyi kolesterolü % 25, kötü kolesterolu % 41 düşürerek GSE'nin hiperkolesterolemiye karşı koruyucu etkisi belirlenmiştir [159]. Bir başka çalışmada yüksek yağ diyeti uygulanan sıçanlarda, diyetle birlikte GSE verilmiştir. Vücut ağırlığında artışın GSE verilen grupta azaldığı görülmüştür. Aynı çalışmada kan ve karaciğerden alınan örneklerde, kan yağ konsantrasyonunda azalma olduğu da belirtilmiştir [160]. Sıçanlarda yapılan bir diğer çalışmada, ağız yoluyla 14 gün boyunca 2 - 4 g/kg GSE verilmiştir. Kontrol grubundaki hayvanların vücut ağırlıklarında bir artış gözlenirken, 4 g/kg GSE verilen hayvanların vücut ağırlıklarında az miktarda azalma gözlenmiştir [161].

GSE'nin promisin-aminonükleositle uyarılan nefroz hastalığındaki etkisine bakmak için 50 sıçan kullanılan bir çalışmada, beş grup oluşturularak 30 gün süresince ilk gruba sadece su (i.p.), ikinci gruba su ve GSE (10 mg/100g, i.p.), üç, dört ve beşinci gruplara ise GSE (10 mg/100g, i.p.) verilmiştir. Dokuzuncu günden sonra GSE dozu artırılarak 40 mg/100g olarak enjekte edilmiştir. GSE üç, dört ve beşinci gruplarda idrarda protein, kanda kolestorel ve trigliserit seviyelerini azaltmış, albumin ve kreatinin seviyelerinde ise değişikliğe neden olmamıştır [162]. Yine sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada 15 gün boyunca ağız yoluyla GSE (100 mg/kg) verilmiş, onuncu günden itibaren GSE'ye ek olarak metotreksat (20 mg/kg, i.p.) enjekte edilmiştir. Onaltıncı günün sonunda derin anestezi altında karaciğer dokusundan örnekler alınmıştır. Doku homojenatında, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit, süperoksit dismutazın aktivitesi ve katalaz seviyeleri incelenmiştir. Metotreksat tek başına, malondialdehit seviyesini artırırken, süperoksit dismutaz ve katalazın aktivitelerini azaltmıştır. GSE ve metotreksat birlikte uygulandığında ise bu değişimlerin önemli derecede tersine çevrildiği, metotreksatın bütün kan parametrelerini azalttığı, GSE'nin önemli bir değişikliğe neden olmadığı bulunmuştur [163].

Son zamanlarda yapılan farklı bir çalışmada bregmanın 1.4 mm anteroposterior, 6.8 mm dorsoventral, 3.2 mm mediolateralından infüzyon pompasıyla her beş dakikada 0.2 µg/µL olmak üzere toplamda 6 µg/µL ibotenik asitle uyarılan Alzheimer modelinde, (sıçanlarda Morris su tankı kullanılarak) uzaysal hafıza üzerine GSE'nin etkisi incelenmiştir. Sıçanlarda ibotenik asidin tek başına uzaysal hafıza kapasitesinin bozulmasına neden olduğu, 30 gün boyunca ibotenik asit enjekte edilmeden önce ağız yoluyla 100 mg/kg GSE verildiğinde, uzaysal hafızada bozulmanın azaldığı tespit edilmiştir [164]. Diğer bir çalışmada dokuz hafta süreyle ağız yoluyla 25, 50, 75 mg/kg dozda GSE uygulanmış, GSE'nin 75 mg/kg'lık dozunun ergin sıçan beyninin korteks, beyincik ve hipokampus bölgelerindeki nöronları koruduğu ifade edilmiştir [24]. Buna ilaveten, kronik olarak kullanılan GSE'nin (GSE'nin toplam fenolik içeriği 9 ayda 592,5 mg/kg idi) genetik bir fare modelinde Alzheimer hastalığının gelişimini önlediği tespit edilmiştir [142].

Başka bir çalışmada genç (3 - 4 aylık 140 ± 20 g) ve yaşlı (24 aylık 400 ± 20 g) gruplara ağız yoluyla 100 mg/kg GSE verilerek sıçanlar 30 gün boyunca beslenmiştir. Yaşlı ve genç olmak üzere iki grup da kontrol grubu olarak seçilmiştir. Yaşlı kontrol grubunda sıçanların omurilik, serebral korteks, striatum ve hipokampus bölgelerindeki lipid peroksidasyonunda önemli derecede artış gözlenmiş, genç grupta ise lipid peroksidasyon seviyelerinde değişiklik gözlenmemiştir. GSE verilen yaşlı sıçanlarda lipid peroksidasyonunun azaldığı bildirilmiştir. Yaşlı ve genç grubun süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi karşılaştırıldığında yaşlı grubun omurilik, serebral korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde SOD aktivitesinin önemli derecede azaldığı görülmüştür [22].

Sunulan çalışmada 50, 100, 200 mg/kg (i.p) GSE uygulanan sıçanlarda, epileptiform aktivitenin amplitüdü değişmezken frekansı önemli derecede azaldı. GSE'nin 200 mg/kg dozu epileptiform aktivitenin ortalama frekansını azaltan en etkili doz olarak belirlendi. Yüksek doz GSE (400 mg/kg) epileptiform aktivitenin amplitüdünü de frekansını da değiştirmede.

Ayyıldız ve ark., [12] penisilin modeli deneysel epilepside penisilinden 30 dakika sonra E vitaminin 100, 300, 500 mg/kg dozlarını uygulamışlar. E vitamininin 100 mg/kg dozu epileptiform aktivitenin amplitüd ve frekansında değişikliğe neden olmamıştır. E vitaminin 300, 500 mg/kg dozları epileptiform aktivitenin amplitüdünü değiştirmezken frekansını önemli düzeyde azaltmıştır. Farklı bir çalışmada Ayyıldız ve ark., [14] penisilin modeli deneysel epilepside penisilinden 30 dakika sonra bu kez C vitaminin 25, 50, 100, 200, 400 ve 800 mg/kg dozlarını uygulamışlar. C vitamininin düşük dozunun (25 mg/kg) ve yüksek dozunun (800 mg/kg) epileptiform aktivitenin amplitüd ve frekansında değişikliğe neden olmadığını, 50, 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarının ise epileptiform aktivitenin amplitüdünü değiştirmezken frekansı önemli derecede azalttığını bildirmişlerdir. Bu iki çalışma ile Ayyıldız ve ark., [12,14] penisilin modeli deneysel epilepside penisilinden 30 dakika sonra verilen C ve E vitaminlerinin epileptiform aktiviteyi anlamlı düzeyde azalttığını ve E vitaminin etkin dozunu 500 mg/kg, C vitaminin etkin dozunu ise 100 mg/kg olarak bulmuştur. Sunulan çalışma ile Ayyıldız ve ark., [12, 14] yapmış olduğu iki çalışma karşılaştırıldığında GSE ile C ve E vitaminlerinin antikonvulsan etkinliği arasında bir fark bulunamadı.

5.2. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivite Üzerine Üzüm Çekirdeği Özütünün Gösterdiği Antikonvulsant Etkide Nitrik Oksit Yolunun Rolü

Epilepsinin NO ile ilişkisini açıklamak için çeşitli NOS inhibitörü ve NO donörü kullanılarak değişik deneysel epilepsi modellerinde çalışmalar yapılmıştır [33, 34, 36, 165]. Nöbet uyarılarına, NO'nun hücresel formuna ve spesifik NOS izoformlarının aktivasyonlarına bağlı olarak nitrik oksitin anti-konvulsant veya pro-konvulsant olarak etki gösterebileceği bildirilmiştir [31, 33, 34, 36].

Beyinde en azından üç çeşit NOS izoenzimi (nöronal NOS, indüklenebilir NOS ve endotel NOS) olduğu belirtilmiştir [166,167]. Sunulan çalışmada, sıçanlarda penisilinle uyarılan epileptiform aktivitede GSE'nin etkisinde NO/NOS yolağının rolünü değerlendirmek için üç farklı NOS inhibitörü (nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME, selektif indüklenebilir NOS inhibitörü aminoguanidin ve selektif nöronal NOS inhibitörü 7-NI) ve bir NO substratı (L-arjinin) kullanıldı.

Sunulan çalışmada 60 mg/kg dozda kullanılan L-NAME, GSE'nin antikonvulsant etkisini azalttı. Diğer taraftan Ayyıldız ve ark., [13] ile Boşnak ve ark., [152] yaptıkları çalışmalarda aynı dozda kullanılan L-NAME'nin penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin frekansını da amplitüdünü de etkilemediğini bildirmişlerdir.

GSE'nin koruyucu etkilerine NO yolunun muhtemelen karıştığını gösteren birkaç çalışma bulunmaktadır [15,137,153,168]. Shao ve ark. [137] 200 $\mu\text{mol/L}$ dozda L-NAME'nin NOS aktivasyonunun bloklanması ile kardiyomiyosit ölümünün GSE-aracılı azalmasını kısmen engellediğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada 1 mmol/L L-NAME ile inkübasyon yapılması tavşan aort yayında GSE'ye karşı oluşan gevşeme cevabını da ortadan kaldırdı [169]. Bununla birlikte 200 $\mu\text{mol/L}$ L-NAME'nin yüksek doz GSE ile ilişkili (NOS aktivasyonu ve aşırı NO üretimini işaret eden) sitotoksiste ve apoptotik hücre ölümünü önemli derecede azalttığı ifade edilmiştir [16]. Bunların tersine, Punathil ve Katiyar [153] NOS inhibitörü L-NAME ve NO öncüsü L-arjinin kullanarak küçük hücreli olmayan insan akciğer kanser hücresi göçü üzerine GSE'nin gösterdiği inhibitör etkideki NO/NOS yolunun rolünü değerlendirmişler ve NO-aracılı göçün L-NAME (1 mmol/L) tarafından bloklandığını, aşırı L-arginin (5 mmol/L) varlığında ise bu fonksiyonun geri geldiğini bulmuşlardır. Çalışmalarının sonucunda

Punathil ve Katiyar [153] GSE'nin A549 ve H1299 hücrelerinde NOS ekspresyonunu inhibe ederek NO seviyelerinde bir azalmaya neden olduğunu belirttiler.

Sunulan çalışma kapsamında penisilin modeli epileptiform aktivitede NO yolunun rolünü değerlendirmek için nispi seçici iNOS inhibitörü olan AG kullanıldı. İntraperitoneal olarak 60 ve 100 mg/kg dozlarda uygulanan aminoguanidin epileptiform aktivitenin ortalama frekansını anlamlı düzeyde azalttı. En iyi azaltıcı etki aminoguanidinin 60 mg/kg dozunda görüldü. Bu sonuç Rehni ve arkadaşlarının [170] farelerde 50 ve 100 mg/kg, (i.p.) aminoguanidinin pilokarpinle oluşturulan spontan tekrarlayıcı nöbetlerin ve PTZ ile oluşturulan tutuşma nöbetlerinin gelişimini baskıladıklarını buldukları çalışmadaki sonuçlarını desteklemektedir. Byun ve ark., [171] kainik asitle uyarılan eksitotoksistide 200 mg/kg (i.p) dozda uygulanan aminoguanidinin fare hipokampusundaki hücre ölümünü azalttığını bildirmişler, oysa aynı çalışmalarında 50 mg/kg (i.p) dozda uygulanan L-NAME'in ise CA3 bölgesindeki nöronal ölümü artırdığını ifade etmişlerdir. Yine 100 mg/kg (i.p) dozda uygulanan aminoguanidinin farede nikotinle oluşturulan konvulsiyonları etkilemediği bulunmuştur [172]. Başka bir çalışmada 50 ve 100 mg/kg dozlarda verilen aminoguanidinin normal veya strese maruz kalan farelerde nöbet etkilenebilirliğini değiştirmedeği, ayrıca stresle oluşturulan antikonvulsan etki üzerine morfin veya L-arjininin kuvvetlendirici etkilerini de değiştirmedeği tespit edilmiştir [173].

AG'nin toksik etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, sıçanlara i.p. olarak 1600 mg/kg/gün AG enjekte edildiğinde hayvanlardan birinin öldüğü diğer beşinin ise 10 gün sonunda sağ kaldığı gözlenmiştir. 1200 ve 800 mg/kg/gün i.p. dozlarda AG enjekte edildiğinde ise sıçanlarda toksik bir etki gözlenmemiştir. AG, 30 mg/kg/gün enjekte edildiğinde aşırı hareketler ve nöbet benzeri hareketler gözlenmiş ve 3 gün sonunda hayvanlar ölmüştür. Diğer taraftan on sıçana 10 mg/kg/gün AG enjekte edildiğinde kısa süreli miyoklonik benzeri hareketler gözlenmiştir. Fakat 10 gün sonunda hayatta kalan altı sıçana 3.5 mg/kg/gün dozda AG enjekte edildiğinde hiç bir yan etkinin olmadığı tespit edilmiştir [174]. Başka bir çalışmada sığır serum albumininden elde edilen glikasyon son ürünlerinin 235 mg/kg dozu ile fokal serebral iskemi modeli oluşturulmuştur. Hayvanlara 450 mg/kg dozda AG verildiğinde, AG'nin glikasyon son ürünlerinin neden olduğu nörotoksik etkileri inhibe ettiği görülmüştür [175]. Yine sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada hayvanlara ağız yoluyla 50, 150 ve 300 mg/kg

AG ve AG'den 60 dakika sonra da 100 mg/kg iminopropionitril (IDPN) verilerek Diskinetik Sendrom oluşturulmuştur. AG doza bağımlı olarak diskinetik baş hareketlerinin sıklığını ve şiddetini önemli derecede artırmıştır. İç kulağın histopatolojik incelenmesinde duyuşal kıl hücrelerinin hasar gördüğü de tespit edilmiştir [168].

Sunulan çalışmada, GSE'den 10 dakika önce 40 mg/kg dozda 7-NI enjekte edildiğinde, yalnız 7-NI grubu ile karşılaştırıldığında epileptiform aktivitede amplitüd değişmeksizin ortalama frekansında benzer bir azalma ortaya çıktı. Yine 7-NI'ün 40 mg/kg dozda enjeksiyonun yapıldığı bir çalışmada 7-NI enjeksiyonundan 40 dakika sonra epileptiform aktivite de amplitüdün değişmediği ortalama frekansın azaldığı bildirilmiştir [176]. Benzer bir çalışmada 7-NI (25 ve 50 mg/kg) ve L-arjinin (500 mg/kg) birlikte kullanıldığında epileptiform aktivite de amplitüdün değişmediği ortalama frekansın anlamlı düzede azaldığı bildirilmiştir [152]. Başka bir çalışmada PTZ ile uyarılan epileptiform aktivitede 7-NI'nin 50 mg/kg dozunun klonik nöbetin sıklığına etkisi olmamıştır. Aynı çalışmada amigdala tutuşma modeli oluşturulan sıçanlarda 7-NI (50 mg/kg) + karbamazepin (10-20 mg/kg) birlikte uygulandığında nöbette önemli bir azalma olmuştur [177]. Maksimal elektroşok modelinde (MES) 7-NI'nin 100, 150, 200 mg/kg dozları uygulandığında elektrokonvulsif eşiği önemli derecede artırmıştır. Düşük dozlarda 7-NI (50 ve 75 mg/kg) elektrokonvulsif eşiği etkilememiştir [178].

Sunulan çalışmada NO öncüsü L-arjinin (500 mg/kg), GSE (200 mg/kg) ile birlikte kullanıldığında GSE'nin antikonvulsan etkisine ek bir katkı sağlamadı. Ayyıldız ve ark., [13] L-arjininin (500 mg/kg) enjeksiyondan 70 dakika sonra epileptiform aktivitenin frekansında azalma olduğunu ancak epileptiform aktivitenin amplitüdünde ise değişiklik olmadığını ifade etmişlerdir. Diğer bir çalışmada penisilinle uyarılan epileptiform aktivitede, penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra L-arjinin (1000 mg/kg) verilmiştir. L-arjinin uygulanmasından 70 dakika sonra epileptiform aktivitenin spike frekansı azalmış, spike amplitüdünde ise değişiklik gözlenmemiştir. Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra L-arjininin inaktif izomeri olan D-arjinin (1000 mg/kg) enjekte edilmiş, epileptiform aktivitenin spike frekansı ve amplitüdünde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir [179]. Farklı bir çalışmada Sıçanlarda pikrotoksin 5 mg/kg dozla uyarılan epileptiform aktivitede 7-NI'nin 50 ve 100 mg/kg dozlarının enjeksiyonundan 30 dakika sonra L-arjinin 500 ve 1000 mg/kg dozları enjekte

edilmiştir. 7-NI, beyinde NOS aktivitesinde ve NO konsantrasyonunda önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. L-arjininin yüksek dozları NO konsantrasyonunu artırmış ve pikrotoksinin konvulsan etkisini inhibe etmiştir [180]. 5 mg/kg pikrotoksin ile sıçanlarda epileptiform aktivite oluşturulup beyinde NOS aktivitesi ve NO konsantrasyonu incelenmiştir [181]. Antikonvulsan diazepam 2 mg/kg, L-arjinin 2000 mg/kg ve L-NAME 50 mg/kg dozlarının uygulandığı çalışmada; L-arjinin tek başına uygulandığında, NO konsantrasyonunu ve NOS aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır. Diazepam tek başına uygulandığında ise NO konsantrasyonunu ve NOS aktivitesini değiştirmemiştir. Diazepam ve L-arjinin birlikte uygulandığında, NO konsantrasyonunu ve NOS aktivitesini artırmıştır. Diazepam ve L-arjinin birlikte kullanılması nöbetleri tamamen baskılamıştır. L-NAME tek başına uygulandığında nöbete hiçbir etkisi olmazken, NO konsantrasyonunu ve NOS aktivitesini önemli ölçüde azaltmıştır [181].

Sunulan çalışmada L-arjinin, AG ve GSE'nin birlikte uygulanmasında, L-arjinin GSE'nin antikonvulsan aktivitesi üzerine aminoguanidinin gösterdiği inhibitor etkiyi ortadan kaldırdı. Aminoguanidinin en etkin dozu (60 mg/kg) GSE'nin antikonvulsan etkisini 110. dakikaya kadar erteledi. Bu gözlemler, aminoguanidinin yapısal ve indüklenabilir NOS aktivitesi üzerine inhibitor etki göstermesinden dolayı penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitede GSE'nin antikonvulsan etkisine aracılık etmede yapısal ve indüklenabilir NOS'un her ikisinde potansiyel bir rolü olduğunu gösterebilir. Çünkü aminoguanidin sıçan ileum ve kolon doku homojenatlarında indüklenabilir izoform için iki kat daha fazla selektivite göstermiştir [182].

Çalışmamızda elde edilen GSE'nin antikonvulsan etkisi bulgusu, aynı zamanda GSE'nin NO üretme yeteneğine sahip olabileceğini gösteren önceki çalışmalarla da uyumludur [27, 137,179]. Bu özellikle indüklenabilir NOS ile ilgilidir. Çünkü sunulan çalışmada aminoguanidin GSE'nin antikonvulsan etkisini tersine çevirdi; L-arjinin de aminoguanidinin etkisini ortadan kaldırdı. Diğer taraftan bu çalışmada L-NAME GSE'nin antikonvulsan etkisini kısmen inhibe etti.

Bu durumda birlikte kullanıldıklarında L-arjinin GSE'nin antikonvulsan etkisini artırıcı ek bir artışı neden sağlamıyor sorusu ortaya çıkmaktadır. Bu soruya Shao ve arkadaşlarının [27, 137] çalışmalarına dayanarak bir açıklama getirebiliriz. Onlar çalışmalarında yüksek doz GSE'ye cevap olarak apoptotik hücre ölümündeki artışla

ilişkili sitotoksisistede aşırı NO üretiminin anahtar bir rol oynayabileceğini belirttiler. Ayrıca 50 µl/ml dozdaki GSE'nin kardiyomiyositlerde oksidan hasara bağlı zedelenmelere karşı koruyucu NO seviyelerini sağlayan eNOS'u aktive ettiklerini de belirttiler. Eğer olay bu şekildeyse sunulan çalışmada L-arjinin +GSE varlığında daha fazla antikonvulsan etki beklememek makul görünmektedir.

Sunulan tez çalışmasında; GSE düşük (50, 100 mg/kg) ve orta dozlarda (200 mg/kg) penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin amplitüdünü değiştirmezken ortalama frekansını anlamlı düzeyde azalttı. Yüksek doz GSE (400 mg/kg) epileptiform aktivitenin ne amplitüdünü ne de frekansını değiştirdi. Epileptiform aktivitenin frekansını azaltan en etkili doz 200 mg/kg idi. GSE'nin antikonvulsan etkisi selektif indüklenebilir NOS inhibitörü aminoguanidin tarafından azaltıldı; aminoguanidinin etkisi de L-arjinin tarafında inhibe edildi. Bundan başka nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME GSE'nin antikonvulsan etkisini kısmen blokladı. Bu yüzden bulgularımız indüklenebilir NOS'un GSE'nin antikonvulsan etkisine katıldığını göstermektedir.

Bununla birlikte yine de değişik nöbet modelleri kullanılarak GSE'nin etkisi altında yatan moleküler mekanizmayı ortaya çıkaracak daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Dichter, M. A., The Epilepsies and Convulsive Disorders, Harrison's Principles of Internal Medicine, p.2229, McGraw-Hill, 1994.
2. Brailowsky, S., Garcia, O. Ethanol, GABA and Epilepsy, Archives of Medical Research, 30, 3–9, 1999.
3. Avanzini, G., Franceschetti, S., Cellular biology of epileptogenesis. Lancet, 2, 33-42, 2003.
4. Hamed, S., Abdullah, M., Trace elements and electrolytes homeostasis and their relation to antioxidant enzyme activity in brain hyperexcitability of epileptic patients. Journal of Pharmacological Sciences, 96, 349–359, 2004,
5. Arzimanoglou, A. et al., Epilepsy and neuroprotection : An illustrated review. Epileptic Disorders, 3, 173-182, 2002.
6. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Role of free radicals and catalytic metal ions in human diseases: An overview, Methods Enzymol., 186, 1-86, 1990.
7. Niki, E., Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals, American Journal of Clinical Nutrition, 54, 1119-1124, 1991.
8. Frei, B., Stocker, R., Ames, B.N., Small molecule antioxidant defences in human extracellular fluids, Current Communications in Cell & Molecular Biology, 5, 23–45, 1992.
9. Figuera, M.R. et al., Ascorbic acid and α -tocopherol attenuate methylmalonic acid-induced convulsions, Neuroreport, 10, 2039–2003, 1999.
10. Yamamoto, N. et al., α -Tocopheryl-L-ascorbate-2-O-phosphate diester, a hydroxyl radical scavenger, prevents the occurrence of epileptic foci in a rat model of post-traumatic epilepsy, Pathophysiology, 8, 205–214, 2002.
11. Oliveira, M.S. et al., Ascorbate modulates pentylentetrazol-induced convulsions biphasically, Neuroscience 128, 721–728, 2004.
12. Ayyıldız, M., Yıldırım, M., Ağar, E., The effect of vitamin E on penicillin-induced epileptiform activity in rats, Exp. Brain Res., 174, 109—113, 2006.
13. Ayyıldız, M., Yıldırım, M., Ağar, E., The involvement of nitric oxide in the anticonvulsant effects of α -tocopherol on penicillin-induced epileptiform activity in rats, Epilepsy Research, 73, 166 - 172, 2007.

14. Ayyıldız, M., Coşkun Ş., Yıldırım, M., Açar, E., The effects of ascorbic acid on penicillin-induced epileptiform activity in rats, *Epilepsia*, 48(7), 1388–1395, 2007.
15. Shao, Z.H. et al., Grape seed proanthocyanidins induce pro-oxidant toxicity in cardiomyocytes, *Cardiovasc. Toxicol.*, 3, 331–339, 2003.
16. Shao, J. et al., Beneficial effects of candesartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, on beta-cell function and morphology in db/db mice, *Biochem Biophys Res Commun.* 344, 1224–1233, 2006.
17. Yamakoshi, J. et al., Procyanidin-rich extract from grape seeds prevents cataract formation in hereditary cataractous (ICR/f) rats, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4983–4988, 2002.
18. Bagchi, D. et al., Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract *in vitro*, *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.*, 95(2), 179-189, 1997.
19. Bagchi, D. et al., Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148, 187–197, 2000.
20. Hwang, I.K. et al., Neuroprotective effects of grape seed extract on neuronal injury by inhibiting DNA damage in the gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia, *Life Sci.*, 75, 1989–2001, 2004.
21. Balu, M. et al., Age-related oxidative protein damages in central nervous system of rats: modulatory role of grape seed extract, *Int. J. Dev. Neurosci.*, 23(6), 501-507, 2005a.
22. Balu, M. et al., Rejuvenation of antioxidant system in central nervous system of aged rats by grape seed extract, *Neurosci. Lett.*, 383, 295–300, 2005b.
23. Balu, M. et al., Modulatory role of grape seed extract on age-related oxidative DNA damage in central nervous system of rats, *Brain Res. Bull.*, 68, 469–473, 2006.
24. Devi, L. et al., Accumulation of amyloid precursor protein in the mitochondrial import channels of human Alzheimer's disease brain is associated with mitochondrial dysfunction, *J. Neurosci.*, 26, 9057–9068, 2006.
25. Yıldırım, M., Deneysel Epilepside Nitrejik ve Purinerjik Sistemlerin Etkileşimi, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2005.

26. Roychowdhury, S. et al., Protection of primary glial cells by grape seed proanthocyanidin extract against nitrosative / oxidative stress, *Nitric Oxide*, 5, 137–49, 2001.
27. Shao, Z. H. et al., Cytotoxicity induced by grape seed proanthocyanidins: Role of nitric oxide, *Cell Biology and Toxicology*, 3, 159-158, 2006.
28. Wink, D.A. et al., Antioxidant effects of nitric oxide, *Methods Enzymol.*, 301, 413–424, 1999.
29. Wink, D. A. et al., Reaction kinetics for nitrosation of cysteine and glutathione in aerobic nitric oxide solutions of cysteine and glutathione in aerobic nitric oxide solutions at neutral pH. Insights into the fate and physiological effects of intermediates generated in the NO/O₂ reaction, *Chem. Res. Toxicol.*, 7, 519-525, 1994.
30. Buisson, A. et al., Nitric oxide: an endogenous anticonvulsant substance, *Neuroreport*, 4, 444–446, 1993.
31. Penix, L.P., Davis, W., Subramanian, S., Inhibition of NO synthase increases the severity of kainic acid-induced seizures in rodents, *Epilepsy Res.*, 18, 177–184, 1994.
32. Marangoz, C., Ayyıldız, M., Açar, E., Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide, *NeuroReport*, 5, 2454–2456, 1994.
33. Ferraro, L., et al., Differential effects of intrastriatal neurotensin(1-13) and neurotensin(8-13) on striatal dopamine and pallidal GABA release. A dual-probe microdialysis study in the awake rat, *Eur. J. Neurosci.*, 9, 1838-1846, 1997.
34. Mulsch, A. et al., Nitric oxide promotes seizure activity in kainate-treated rats. *Neuroreport*, 5, 2325– 2328, 1994.
35. Smith, M.A. et al., Oxidative damage in Alzheimer's, *Nature*, 382, 120-121, 1996.
36. Yasuda, K., et al., Modulation of hypoglossal motoneuron excitability by NK1 receptor activation in neonatal mice in vitro, *J. Physiol*, 534, 447–464, 2001.
37. Yılmaz, T., *Canlıda Organik Yapı*, s. 613, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 2007.
38. Özgüneş, H., Atasayar, S., Aminoguanidin ve Hastalıklardaki Önemi, *Türkiye Klinikleri, J. Med. Sci.*, 29 (4), 876-986, 2009.

39. Southan, G.J., Szabó, C., Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms, *Biochem. Pharmacol.*, 51 (4), 383–394, 1996.
40. Jarogniew, J.K. et al., 7-Nitroindazole enhances dose-dependently the anticonvulsant activities of conventional antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock-induced seizure model, *Pharmacological Reports*, 58, 660-671, 2006.
41. Dere, F., *Nöroanatomî ve Fonksiyonel Nöroloji*, s. 356, Okullar Pazarı Kitabevi, Adana, 1990.
42. Bozbuğa, M., *Nörobilim renkli Atlası*, s. 444, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2004.
43. Purves, W. K. et. al., *Life: The Science of Biology*, p. 1124, Sinauer Associates and W. H. Freeman, New York, 2003.
44. Jacobson, S., Marcus, E.M., *Neuroanatomy for the Neuroscientist*, p. 498, Springer, New York, 2008.
45. Marangoz, C., *Sinir Fizyolojisine Giriş*, s. 370, Basılmamış Ders Notu, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2004.
46. Wells, R.B., *Cortical Neurons and Circuits: A Tutorial Introduction*, April, 2005.
47. Noyan, A., *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*, s. 1157, Meteksan, Ankara, 1999.
48. Çakıl, D., *Memantin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Penisilin ile Oluşturulan Deneyisel Epilepsideki Rolü*, Uzmanlık Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2009.
49. Mountcastle, V.B., The columnar organization of the neocortex, *Brain*, 120, 701-722, 1997.
50. Brain Facts, The Society for Neuroscience, Washington, 2002.
http://www.sfn.org/skins/main/pdf/brainfacts/2008/brain_facts.pdf, Temmuz 2010.
51. Mumford, D., On the computational architecture of the neocortex, *Biol. Cybern.*, 65, 135-145, 1991.
52. Barr, M.L., Kiernan, J.A. *The Human Nervous System*, p. 224-230, Fifth Ed. Lippincott Company, Philadelphia, 1988.
53. Schmidt, R.F., Integrative functions of the central nervous system. in *Human Physiology*, Springer-Verlag, Berlin, 124-165, 1989.
54. Coulter, J.D., Ewing, L.K., Carter, C.M., Origin of primary sensorimotor cortical projections to lumbar spinal cord of the cat and monkey. *Brain Res.* 103, 366-372, 1976.

55. Rapisarda, C., Simonelli, G., Monti, S., Cells of origin and topographic organization of corticospinal neurones in the guinea pig by the retrograde HRP method. *Brain Res.*, 334, 85-96, 1985.
56. Guyton, A.C., Hall, J.E., *Medical Physiology*, p. 1116, Elsevier Saunders, Pennsylvania, 2006.
57. Brodie, M.J., French, J.A., Management of epilepsy in adolescent and adults, *The Lancet*, 356(9226), 323-329, 2000.
58. Alehan, F., *Epilepsiye Giriş, Epileptik Nöbet ve Sendromların Sınıflandırılması Türkiye Çocuk Nörolojisi Derneği Yayınları, Çocuk Nörolojisi Kitabı*, 2. baskı, 2010.
59. Eriksson, K.J., Koivikko, M.J., Prevalence, classification, and severity of epilepsy and epileptic syndromes in children. *Epilepsia*, 38, 1275-1282, 1997.
60. Annegers, J.F., Epidemiology of epilepsy. In Wyllie E, (ed). *The treatment of epilepsy principles and practise*, p. 135, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Williams. Philadelphia, 2001.
61. Kwong, K.L. et al., Epidemiology of childhood epilepsy in a cohort of 309 Chinese children, *Pediatr. Neurol.*, 24, 276-282, 2001.
62. Durá, T.T., Yoldi, P.M.E., Gallinas, V.F., Incidence of epilepsy in 0-15 year-olds. *An Pediatr (Brac)*, 67, 37-43, 2007.
63. Sander, J.W., The incidence and prevalence of epilepsy, *Current Opinion in Neurology*, 16(2), 165-170, 2003.
64. Serdaroğlu, A. et al., Prevalence of epilepsy in Turkish children between the ages of 0 and 16 years, *J. Child Neurol.*, 19(4), 271-274, 2004.
65. O'Donohoe, N.V., *Epilepsies of childhood*, 2nd ed. London Butterworth-Heinemann, 1985 .
66. Engel, J.J., ILAE Commission Report. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology, *Epilepsia*, 42, 796 -803, 2001.
67. Per, H., *Dirençli Epilepsili Çocuklarda Selenyum ve Bor Düzeylerinin Serum ve İdrarda Değerlendirilmesi, Yan Dal Uzmanlık Tezi*, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2010.
68. Griffin, J., Wyles, M., *Epilepsy Towards Tomorrow*, Office of Health Economics, London, 1991.

69. Naderi, S., Acar, F., Mertol, T., Arda, M.N., Functional anatomy of the spine by Avicenna in his eleventh century treatise “Al-Qanun fial-Tibb” (The Canons of Medicine), *Neurosurgery*, 52, 1449–1453, 2003.
70. Başağaoğlu, İ., Karaca, S., Salihoğlu, Z., Anesthesia techniques in the fifteenth century by Serafeddin Sabuncuoğlu. *Anesth. Analg.*, 102 (4), 1289, 2006.
71. Asadi-Pooya, A.A., Ghaffari, A., Do patients with epilepsy believe they need specific dietary restrictions? *Epilepsy Behav.*, 5, 945-948, 2004.
72. Majumdar, S.K., Corpus Hippocraticum 'on the sacred disease'. *Bull. Indian Inst. Hist. Med. Hyderabad*, 28, 111-118, 1998.
73. Cerić, I., Mehić-Basara, N., Ibn Sina--psychology and psychological disorders, *Med. Arh.*, 51, 21-23, 1997.
74. Jackson, J.H., On a particular variety of epilepsy (Intellectual aura): One Case with Symptoms of Organic Brain Disease. In: Taylor J, ed. *Selected writing of JH. Jakson*, Hodder and stroughton, London Vol 1, 400-405, 1958.
75. Berger, H., Über das Elektrenkephalogramm des Menschen, 1st report, *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 87, 527-570, 1929.
76. Gibbs, F.A., Lennox, W.C., Cibbs, E.L., The electro-encephalogram in diagnosis and in localization of epileptic seizures, *Arch. Neurol. Psychiatry* 36, 1225-1235, 1936.
77. Lennox, W.G., *Epilepsy and related disorders*, Little, Brown and Company, Vol 1, pp.532-574, Boston, 1960.
78. Lennox, W.G., Davis, J.P., Clinical correlates of the fast and slow spike-wave Electroencephalogram, *Pediatrics*, 5, 626-644, 1950.
79. Blume, W.T. et al., Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology, *Epilepsia*, 42(9), 1212-1218, 2001.
80. Engel, J.J., International League Against Epilepsy (ILAE). 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, 2001.
81. Baulac, S., et al., Fever, genes, and epilepsy, *Lancet Neurol*, 3, 421-430, 2004.
82. DiMario, F.J.J., Paroxysmal nonepileptic events of childhood, *Semin. Pediatr. Neurol.*, 13, 208-221, 2006.

83. Rodriguez, A.J., Pediatric sleep and epilepsy, *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 7, 342-347, 2007.
84. Mac, T.L. et al., Epidemiology, aetiology, and clinical management of epilepsy in Asia: a systematic review, *Lancet Neurol.*, 6, 533-543, 2007.
85. Raspall-Chaure, M, et al., The epidemiology of convulsive status epilepticus in children: a critical review, *Epilepsia*, 48, 1652-1663, 2007.
86. Wirrell, E., Farrell, K., Whiting, S., The epileptic encephalopathies of infancy and childhood, *Can. J. Neurol. Sci.*, 32, 409-418, 2005.
87. Gardiner, M., Genetics of idiopathic generalized epilepsies, *Epilepsia*, 46 Suppl 9, 15-20, 2005.
88. Hirsch, E., Childhood epilepsy syndromes with both focal and generalized seizures, *Acta Neurol. Scand. Suppl.*, 181, 52-56, 2005.
89. Silverstein, F.S., Jensen, F.E., Neonatal seizures, *Ann. Neurol.*, 62, 112-120, 2007.
90. Wright, N.B., Imaging in epilepsy: a pediatric perspective, *Br. J. Radiol.*, 74, 575-589, 2001.
91. Aarli, J.A., Epilepsy and the immune system, *Arch. Neurol.*, 57, 1689-1692, 2000.
92. Schwartzkroin, P.A., Walsh, C.A., Cortical malformations and epilepsy. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.*, 6, 268-280, 2000.
93. Thiele, E.A., Gonzalez-Heydrich, J., Riviello, J.J.J., Epilepsy in children and adolescents, *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am*, 8, 671-694, 1999.
94. Komşuoğlu, Ş. S., *Epilepsi El Kitabı*, s. 249, Güneş Tıp Kitabevleri, 3.baskı, 2007.
95. Gastaut, H., Clinical and electroencephalographical classification of epileptic Seizures, *Epilepsia*, 11, 102-113, 1969.
96. Anonim, Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy 1981, Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures, *Epilepsia*, 22, 489-501, 1981.
97. Anonim, Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy 1989. Proposal for revised classification of epilepsy and Epileptic syndromes, *Epilepsia*, 30, 389-399, 1989.
98. Lüders, H., et al., Semiological seizure classification. *Epilepsia*, 39(9), 1006-1013, 1998.

99. Engel, J., Pedley, T.A., Generalised convulsive seizures. In Engel J, Pedley TA, eds. *Epilepsy: A comprehensive Textbook*. 3 vol. Philadelphia: Lippincott-Raven,. p 2417-26, 1997.
100. Mattson, R.H., Overview:idiopathic generalised epilepsies, *Epilepsia*, 44, 2-6, 2003.
101. Aydın, N. et al., Classification epilepsies and epileptic syndromes in a child neurology unit, *Brain Dev.*, 18, 192-6, 1996.
102. Acharya, J.N. et al., Seizure symptomatology in infants with localization-related epilepsy. *Neurology.*, 48(1), 189-96, 1997.
103. Nabbout, R., Dulac, O., Epileptic syndromes in infancy and childhood, *Curr. Opin. Neurol.*, 21(2), 161-166, 2008.
104. Gaillard, W.D. et al., ILAE, Committee for Neuroimaging, Subcommittee for Pediatric. Guidelines for imaging infants and children with recent-onset epilepsy. *Epilepsia*, 50(9), 2147-2153, 2009.
105. Jobst, B.C., Treatment algorithms in refractory partial epilepsy, *Epilepsia*, 50 Suppl. 8, 51-56, 2009.
106. Chahine, L.M., Mikati, M.A., Benign pediatric localization-related epilepsies, *Epileptic Disord.*, 8(4), 243-258, 2006.
107. Johannessen, S.I., Ben-Menachem, E., Management of focal-onset seizures: an update on drug treatment, *Drugs*, 66(13), 1701-1725, 2006.
108. Chahine, L.M., Mikati, M.A., Benign pediatric localization-related epilepsies. Part I. Syndromes in infancy, *Epileptic Disord.*, 8(3), 169-183, 2006.
109. Shneker, B.F., Fountain, N.B., *Epilepsy, Dis Mon.*, 49, 426-478, 2003.
110. Marangoz, C., Deneysel epilepsi modelleri, *O.M.Ü. Tıp dergisi*, 14(3), 147-186, 1997.
111. Özkara, Ç., Ataklı, D., *Epilepsi 2*, s. 116, 5US yayınları, İstanbul. 2002.
112. Sanei, S., Chambers, J.A., *EEG Signal Processing*, p. 289, John Wiley & Sons Ltd, , England, 2007.
113. Marangoz, C., Bağırıcı, F., Proconvulsant effects of central and peripheral administration of L-NAME on penicillin-induced epilepsy in rats. *Neurosci. Res. Commun*, 28: 107 – 114, 2001.
114. Toprak, İ.B., *EEG Sinyallerinin Dalgacık Dönüşümü ve Yapay Sinir Ağları ile Analizi*, Yüksek lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 2007.

115. Fox, I. S., A Laboratory Guide to Human Physiology: Concepts and Clinical Applications, p. 410, McGraw-Hill, Ohio, 2002.
116. Teplan, M., Fundamentals of EEG Measurement, Measurement Science Review, Volume 2, Section 2, 2002.
117. Diagnosing Epilepsy, <http://www.cedars-sinai.edu/Patients/Programs-and-Services/Epilepsy-Program/Diagnosing-Epilepsy>, Temmuz.2010.
118. Çavuşoğlu, H., Yeğen, B.Ç., Tıbbi Fizyoloji, s. 1113, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2007.
119. Shaker, M.M., EEG waves classifier using wavelet transform and fourier transform, International Journal of Biological and Life Sciences, 1, 2, 85-90, 2005.
120. Brain Wave Signal (EEG) of NeuroSky, Inc.2009.,
http://company.neurosky.com/files/neurosky_overview12.07.pdf., Temmuz, 2010.
121. Blanco, S. et al., Time-frequency analysis of series, The American Physical Society, 51, 2624-2631, 1995.
122. Adeli, H., Zhou, Z., Dadmehr, N., Analysis of EEG Records In An Epileptic Patient Using Wavelet Transform, Journal of Neuroscience Methods, 123, 69-87, 2003.
123. Al-Qudah, A., Tahmimi, A.F., Ghanem, S., Electroencephalography in the management of surgically treated epileptic patients, Neuroscience, 5(1), 22-25, 2000.
124. Niedermeyer, E., da Silva, F.L., Electroencephalography, p.1309, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2005.
125. Miller K. J., et al., Spectral Changes in Cortical Surface Potentials during Motor Movement, J. Neurosci., 27(9), 2424-2432, 2007.
126. Gencer, S., Fakomülisifikasyon Cerrahisinde Serbest Radikal Hasarına Karşı İntraoperatif Askorbik Asit Kullanımı, Uzmanlık Tezi, İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2004.
127. Güzelhan, Y. ve ark., Şizofrenide serbest radikaller, Klinik Psikofarmakoloji Bülteni, 10, 2, 90-96, 2000.
128. Vinayaka, K.S., et al., Free radical scavenging and insecticidal activity of *Elaeagnus kologae* Schldl., Drug Invention, 1(1), 74-77, 2009.

129. Rathod, N.R. et al., Free radical scavenging activity of *Calotropis gigantea* on streptozotocin-induced diabetic rats, Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 71(6), 615-621, 2009.
130. Karaca, Ş., Güder, H., Dermatolojide Antioksidan Sistem, Turkish Journal of Dermatology, 3, 32-39, 2009.
131. Sivritepe, N., Asma, Üzüm ve Şaraptaki Antioksidantlar. Gıda. Dünya Yayınları. 12, 73-78. 2000.
132. Berköz, M. ve ark., Akut Lösemilerde Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitesi, Erciyes Tıp Dergisi, 30(3), 157-162, 2008.
133. McElroy, J.S., Kopsell, D.A., Physiological role of carotenoids and other antioxidants in plants and application to turfgrass stres management, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 37, 327-333, 2009.
134. Sivritepe, N., Doğada Oksidatif Stres; Asma, Üzüm ve Şarapta Antioksidantlar. Anadolu, J. of AARI, 11(2) 180-135, 2001.
135. Nizamlıoğlu, N.M, Nas, S., Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 20-35, 2010.
136. Uylaşer, V., İnce, K., Şaraptaki antioksidanlar ve fenolik bileşikler, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, Erzurum, 2008.
137. Shao, Z.H., et al., Grape seed proanthocyanidins protect cardiomyocytes from ischemia and reperfusion injury via Akt-NOS signaling, J. Cell Biochem., 107(4), 697-705, 2009.
138. Feng, Y. et al., Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. Brain Res Bull., 66(2), 120-127, 2005.
139. Çetin, A., Sağdıç, O., Üzümün Biyoaktif Bileşenleri ve Antioksidan Etkileriyle ilgili Kısa Bir Derleme, Erciyes Tıp Dergisi, 31(4), 369-375, 2009.
140. Feng, Y., et al., Grape seed extract given three hours after injury suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats, Pediatr. Res., 61(3), 295-300, 2007.
141. Wang, Q., et al., Dietary grape supplement ameliorates cerebral ischemia-induced neuronal death in gerbils, Mol. Nutr. Food Res., 49(5), 443-451, 2005.

142. Wang, Q., et al., Oral administration of grape polyphenol extract ameliorates cerebral ischemia/reperfusion-induced neuronal damage and behavioral deficits in gerbils: comparison of pre- and post-ischemic administration, *J. Nutr. Biochem.*, 20(5), 369-377, 2009.
143. Yılmaz, İ., Farelerde Dipirona Karşı Gelisen Analjezik Toleransta Nitrik Oksidin Rolü, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne, 2008.
144. Türköz, Y., Özerol, E., Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Roller, *Journal of Turgut Özal Medical Center*, 4(4), 453-461, 1997.
145. Davies, M.G., Fulton, G.J., Hagen, P.O., Clinical biology of nitric oxide. *Br. J. Surg.*, 82, 1598-610, 1995.
146. Atalık, K.E., Doğan, N., Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri, *Genel Tıp Derg.*, 7(3), 167-169, 1997.
147. Toda, N., Nitric Oxide and Dietary Factors: Part I-Nitric Oxide Synthesis and Action, *Vascular Disease Prevention*, 4, 39-44, 2007.
148. Tutar, Y., Geçkil, H., Karataş M., *Biyokimya*, s. 438, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2010.
149. Bulut, R., Alkol ile Uyarılan Mide Hasarına Cevapta Nitrik Oksit (NO)'in Rolü, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 1997.
150. Crawfoed, N.M., Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants, *Journal of Experimental Botany*, 57(3), pp.471-478, 2006.
151. Marangoz, C. Nitrik oksit ve deneysel epilepsi, *O.M.Ü. Tıp Dergisi*, 13, 165-183, 1996.
152. Boşnak, M. et al., The role of nitric oxide in the anticonvulsant effects of pyridoxine on penicillin-induced epileptiform activity in rats, *Epilepsy Res.*, 76 (1), 49-59, 2007.
153. Punathil, T., Katiyar, S.K., Inhibition of non-small cell lung cancer cell migration by grape seed proanthocyanidins is mediated through the inhibition of nitric oxide, guanylate cyclase, and ERK1/2, *Mol. Carcinog.*, 48(3), 232-242, 2009.
154. Feng, Y. et al., Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats, *Brain Research Bulletin*, 66, 120-127, 2005.

155. Moreno, D. A. et al., Inhibitory effects of grape seed extract on lipases, *Nutrition*, 19, 876–879, 2003.
156. Garwal, C. et al., Anti-angiogenic efficacy of grape seed extract in endothelial cells, *Oncology Reports*, 11, 681-685, 2004.
157. Sivaprakasapillai, B. et al., Effect of grape seed extract on blood pressure in subjects with the metabolic syndrome, *Metabolism*, 58(12), 1743-6, 2009.
158. Badavi, M., et al., Effect of grape seed extract of lead induced hypertension and heart rate in rat, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11 (6), 882-887, 2008.
159. El-Wahab, A. E. A., El-Adawi, H., Kasem, H.S., Towards understanding the hepatoprotective effect of grape seeds extract on cholesterol-fed rats, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(3), 412-417, 2008
160. Park, S., Park, T., Cha, Y., Grape seed extract (*Vitis vinifera*) partially reverses high fat diet-induced obesity in C57BL/6J mice, *Nutrition Research and Practice*, 2(4), 227-233, 2008.
161. Yamakoshi, J. et al., Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds, *Food and Chemical Toxicology*, 40, 599-607, 2002.
162. Mattoo, T.K., Kovacevic, L., Effect of grape seed extract on puromycin-aminonucleoside-induced nephrosis in rats, *Pediatr. Nephrol.*, 18, 872–877, 2003.
163. Çetin, A., et al., Role of grape seed extract on methotrexate induced oxidative stress in rat liver, *The American Journal of Chinese Medicine*, 36(5), 861–872, 2008.
164. Farbood, Y., Sarkaki, A., Badavi, M., Preventive effect of grape seed hydroalcoholic extract on dementia type of Alzheimer's disease in aged male rats, *International Journal of Pharmacology*, 5(4), 257-262, 2009.
165. Yıldırım, M., Ayyıldız, M., Açar, E., Endothelial nitric oxide synthase activity involves in the protective effect of ascorbic acid against penicillin-induced epileptiform activity, *Seizure*, 19(2), 102-108, 2010.
166. Bredt, D.S., et al., Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. *Neuron*, 7 (4), 615–624, 1991.
167. Moncada, S., Higgs, A., Fruchgott, R., XIV International union of pharmacology nomenclature in nitric oxide research. *Pharmacol. Rev.*, 49, 137-142, 1997.

168. Tariq, M. et al., Nitric oxide synthase inhibitor aminoguanidine potentiates iminodipropionitrile-induced neurotoxicity in rats, *Neuroscience Letters*, 276, 49-52, 1999.
169. Edirisinghe, I., Burton-Freeman, B., Tissa Kappagoda, C., Mechanism of the endothelium-dependent relaxation evoked by a grape seed extract. *Clin Sci (Lond)*. 114(4), 331-337, 2008.
170. Rehni, A.K. et al., Pharmacological inhibition of inducible nitric oxide synthase attenuates the development of seizures in mice, *Nitric Oxide*, 21(2), 120-125, 2009.
171. Byun, J.S., et al., Kainic acid-induced neuronal death is attenuated by aminoguanidine but aggravated by L-NAME in mouse hippocampus. *Korean J Physiol. Pharmacol.*, 13(4), 265-271, 2009.
172. Tutka, P., et al., Different effects of nitric oxide synthase inhibitors on convulsions induced by nicotine in mice. *Pharmacol Rep.* 59(3), 259-267, 2007.
173. Homayoun, H., Khavandgar, S., Dehpour, A.R., Anticonvulsant effects of cyclosporine A on pentylenetetrazole-induced seizure and kindling: modulation by nitricoxidergic system, *Brain Res.*, 939, 1-10, 2002.
174. Okuda, Y. et al., Aminoguanidine, a selective inhibitor of the inducible nitric oxide synthase, has different effects on experimental allergic encephalomyelitis in the induction and progression phase, *Journal of Neuroimmunology*, 81, 201-210, 1998.
175. Zimmerman, G.A. et al., Neurotoxicity of advanced glycation endproducts during focal stroke and neuroprotective effects of aminoguanidine, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 92, 3744-3748, 1995.
176. Jerrett, S.A., Jefferson, D., Mengel, C.E., Seizures, H₂O₂ formation and lipid peroxides in brain during exposure to oxygen under high pressure, *Aerosp. Med.* 44(1), 40-44, 1973.
177. Borowicz, K.K., Kleinrok, Z. and Czuczwar, S.J., 7-Nitroindazole differently affects the anticonvulsant activity of antiepileptic drugs against amygdala-kindled seizures in rats, *Epilepsia*, 41(9), 1112-1118, 2000.
178. Łuszczki, J.J., et al., 7-Nitroindazole enhances dose-dependently the anticonvulsant activities of conventional antiepileptic drugs in the Mouse maximal electroshock-induced seizure model, *Pharmacological Reports*, 58, 660-671, 2006.

179. Aslan, A., Penisilin Modeli Deneysel Epilepside Leptin ve Ghrelinin Etkileri: Elektrofizyolojik Bir Çalışma, Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2008.
180. Vanaja, P., Ekambaram, P., Demonstrating the dose- and time-related effects of 7-nitroindazole on picrotoxin-induced convulsions, memory formation, brain nitric oxide synthase activity, and nitric oxide concentration in rats, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 77, 1 –8, 2004.
181. Jayakumar, A.R. et al., Involvement of nitric oxide and nitric oxide synthase activity in anticonvulsive action, *Brain Research Bulletin*, 48(4), 387–394, 1999.
182. Laszlo, F., Evans, S.M., Whittle, B.J., Aminoguanidine inhibits both constitutive and inducible nitric oxide synthase isoforms in rat intestinal microvasculature *in vivo*. *Eur. J. Pharmacol.*, 272(2-3), 169-175, 1995.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Sedat

Soyadı: PER

Doğum yeri, yılı: Kayseri, 1977

Baba adı: Mehmet

Anne adı: Medine

1989 yılında Şükrü Malaz İlkokulu'ndan, 1991 yılında 50. Yıl Dedeman Ortaokulu'ndan, 1994 yılında da Kayseri Lisesi'nden mezun oldu. Yüksek öğrenimini 1997-2001 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde tamamladı. Yüksek Lisansını 2001-2003 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde tamamladı. 2006-2007 eğitim-öğretim yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde doktora yapmaya hak kazandı. 2007-2008 eğitim-öğretim yılında Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne yatay geçiş yaptı ve halen doktora öğrenimine devam etmektedir. 2007 yılında Bozok Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atanarak buradaki görevini sürdürmektedir.

İletişim Bilgileri:

Bozok Üniversitesi

Fen - Edebiyat Fakültesi

Biyoloji Bölümü 66200

Atatürk Yolu 7.km

Yozgat

Tlf.: (354) 242 10 21 / 2542

e-posta: sedat.per@bozok.edu.tr

sedatper@hotmail.com