T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DUT VE KIZILCIK EKSTRELERİNİN PENİSİLİN İLE UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Filiz TUBAŞ

KAYSERİ-2013

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DUT VE KIZILCIK EKSTRELERİNİN PENİSİLİN İLE UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Filiz TUBAŞ

Danışman
Doç. Dr. Hüseyin PER

Bu Uzmanlık Tezi Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi Tarafından TSU–12–3901 No'lu Proje ile Desteklenmiştir.

KAYSERİ-2013

TEŞEKKÜR

2008-2013 yılları arasında Pediatri eğitimim boyunca emekleri geçen Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları bünyesinde çalışmakta olan bütün hocalarıma, asistan arkadaşlarıma ve beraber çalıştığımız tüm mesai arkadaşlarıma;

Desteğini ve bilgisini eksik etmeyen, saygı değer hocam Doç.Dr. Hüseyin Per'e,

Tezin planlanması, çalışılmasında yardımcı olan Prof.Dr. Mustafa Ayyıldız'a, elektrokortikogram istatistik değerlendirmelerinde yardımını gördüğüm Doç.Dr. Mehmet Yıldırım'a, tezin çalışması sırasında büyük desteklerini gördüğüm ve beraber çalışmaktan onur duyduğum, Yrd. Doç.Dr. Sedat Per, Uzm. Biyolog Abdulkadir Taşdemir, Uzm. Biyolog Mehmet Taşkıran ve Biyolog Vedat Baştürk'e,

İstatistik çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç.Dr. Ferhan Elmalı'ya, biyokimyasal çalışmalarda desteklerini esirgemeyen Uzm. Dr.Recep Saraymen'e, Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi Araştırma Laboratuar sorumlusu Prof.Dr. Nusret Ayyıldız'a, dut ve kızılcık özütlerinin temin edilmesini sağlayan Doç.Dr. Aydın Uzun'a ve Doç.Dr. Kadir Uğurtan'a,

Pediatri hayatının bana kattığı, akademik konularda her zaman kendisinden feyz aldığım dostum Dr.Tuba Kurt'a,

Desteklerini ve ilgilerini tüm pediatri hayatım boyunca hissettiğim eşimin ailesine,

Her zaman yanımda olan, acısıyla tatlısıyla tam 17 yıldır böldüğüm ekmeğin, içtiğim suyun, acılarımın ve sevinçlerimin ortağı, kardeşim, can dostum Dr. Duygu Ekinci'ye ve kendisi kadar değerli eşi Dr.Yakup Ekinci 'ye,

Desteklerini her zaman hissettiğim ve hiçbir zaman fedakarlık yapmaktan çekinmeyen, evlatları olmaktan gurur duyduğum, başarılarımın sahipleri anneme ve babama,

Hayatım boyunca beni koruyup kollayan kardeş olmayı bana öğreten ablam Dr.Aslıhan Kiraz'a ve kardeşim Zeynep Sıla Cingitaş'a,

Beraber büyüdüğümüz, ömrümüzü verdiğimiz bu yolda elimi hiç bırakmayan sevgili eşim Şaban Tubaş'a ve

Başka çocuklar iyi olsun diye annesinden fedakarlık eden, yüreğimin en derin parçası Duru'ma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Filiz TUBAŞ

Haziran 2013, Kayseri

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i

İÇİNDEKİLER iii

KISALTMALAR v

TABLO LİSTESİ viii

ŞEKİL LİSTESİ ix

ÖZET x

ABSTRACT xii

1. GİRİŞ ve AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1. EPİLEPSİ 4

2.1.1. Tanım ve Tarihçe 4

2.1.2. Epilepsi ve Epileptik Sendromların ILAE Sınıflaması (1989): 6

2.1.3. Epilepsi ve Semiyolojik Nöbet Sınıflaması: 12

2.1.4. Epilepsinin Etyolojisi: 14

2.1.5. Epilepsinin Patofizyolojisi: 15

2.1.6. Epilepsinin Tanısı ve Tedavisi: 17

2.1.7. Elektroensefalogram ve Elektrokortikogram: 18

2.2. DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ: 20

2.3. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANLAR: 21

2.3.1. Reaktif Oksijen Partikülleri: 21

2.3.2. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Sınıflandırılması: 21

2.3.3. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları: 23

2.3.4. Reaktif Oksijen Partiküllerinin in vivo etkileri: 24

2.3.5. Enzimatik antioksidanlar: 25

2.3.6. Oksidan stresin belirlenmesinde kullanılan diğer enzimler: 28

2.3.7. Non-enzimatik antioksidanlar: 29

2.4. KIZILCIK: 30

2.5. DUT:.....31
3. MATERYAL ve METOD.....33
3.1. Deney Hayvanları.....33
3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri 33
3.3. Meyve Örneklerinin Hazırlanması: 34
3.4. Meyve Örneklerinin Fenolik Bileşiklerinin Belirlenmesi:.....34
3.5. Deney Grupları.....35
3.6. Cerrahi İşlem.....36
3.7. Elektrofizyolojik Kayıtlar 38
3.8. İstatistiksel Analiz 40
3.9. Biyokimyasal analizler 41
4. BULGULAR.....43
4.1. BİYOKİMYASAL SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ: 43
4.1.1. Eritrositlerde Yapılan Çalışma Sonuçları:.....43
4.1.2. Plazmada Yapılan Çalışma Sonuçları: 46
4.2. ELEKTROKORTİKOGRAM SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ:.....49
4.2.1. Kızılcık için değerlendirmeler:.....49
4.2.2. Dut için değerlendirmeler: 51
5. TARTIŞMA.....53
6. SONUÇLAR.....60
KAYNAKLAR.....61

KISALTMALAR

µg : Mikrogram

µm : Mikrometre

µmol : Mikromol

µL : Mikrolitre

µU : Mikroünite

ºC : Santigrad derece

AED : Antiepileptik İlaç

Ag : Gümüş

AgCl : Gümüş Klorür

ATP : Adenozin trifosfat

Ca^{+2} : Kalsiyum

CAT : Katalaz

Cl^{-} : Klor

Cu : Bakır

dk : Dakika

DNA : Deoksiribonükleik Asit

ECoG : Elektrokortikogram

EEG : Elektroensefalografi

eNOS : Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

EPSP : Eksitatör Postsinaptik Potansiyel

Fe : Demir

FRAP : Ferrik Azaltıcı Antioksidan Gücü

fw	**:** Meyve ağırlığı
g	**:** Gram
GAE	**:** Gallik Asit Ekivalanı
G-protein	**:** Guanil Nükleotidi Bağlayan Protein
GABA	**:** γ-Aminobütirik Asit
$GABA_B$	**:** γ-Aminobütirik Asit B Reseptörü
GPx	**:** Glutatyon Peroksidaz
GSE	**:** Üzüm çekirdeği ekstresi
H_2O_2	**:** Hidrojen Peroksid
Hgb	**:** Hemoglobin
HPLC	**:** Yüksek Performanslı (Basınçlı) Sıvı Kromatografisi
ILAE	**:** International League Against Epilepsy
IPSP	**:** İnhibitör Postsinaptik Potansiyel
IU	**:** Uluslararası Ünite
i.c.	**:** İntrakortikal
i.p.	**:** İntraperitoneal
iNOS	**:** Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
K^+	**:** Potasyum
L	**:** Litre
MDA	**:** Malondialdehit
Mg	**:** Miligram
mL	**:** Mililitre
Mn	**:** Manganez
MSS	**:** Merkezi Sinir Sistemi
Na^+	**:** Sodyum
NADH	**:** Nikotinamid adenin dinükleotid (indirgenmiş)
NADPH	**:** İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

NMDA	**:** N-metil-D-aspartat
nmol	**:** Nanomol
nNOS	**:** Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	**:** Nitrik oksit
NOS	**:** Nitrik Oksit Sentaz
pO_2	**:** Parsiyel oksijen basıncı
PTZ	**:** Pentilentetrazol
RNA	**:** Ribonükleik Asit
ROP	**:** Reaktif Oksijen Partikülleri
ROOH	**:** HidroPeroksit
SF	**:** Serum Fizyolojik
SOD	**:** Süperoksit dismutaz
TMA	**:** Total Monomerik Antosiyanin
TEAC	**:** Trolox Ekivalan Antioksidan
U	**:** Ünite
XO	**:** Ksantin Oksidaz
Zn	**:** Çinko

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1. Semiyolojik Nöbet Sınıflaması 13

Tablo 2. Reaktif oksijen partikülleri 22

Tablo 3. Hücredeki ROP Kaynakları 23

Tablo 4. Eritrositlerde XO için Ortalama Değerler.....43

Tablo 5. Eritrositlerde CAT için Ortalama Değerler 43

Tablo 6. Eritrositlerde SOD için Ortalama Değerler 44

Tablo 7. Eritrositlerde NO için Ortalama Değerler.....44

Tablo 8. Eritrositlerde MDA için Ortalama Değerler 45

Tablo 9. Plazmada CAT için Ortalama Değerler.....46

Tablo 10. Plazmada SOD için Ortanca Değerler 47

Tablo 11. Plazmada NO için Ortanca Değerler 47

Tablo 12. Plazmada XO için Ortalama Değerler 47

Tablo 13. Plazmada MDA için Ortanca Değerler.....48

Tablo 14. Kızılcık Grubu Amplitüd Değerleri.....50

Tablo 15. Dut Grubu Amplitüd Değerleri 51

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa no

Şekil 1. EEG'de kaydedilen beyin dalgaları 20

Şekil 2. Poliansature yağ asitlerinden MDA oluşumunun şematik basamakları 29

Şekil 3. Deneklere intraperitoneal yolla üretan verilmesi.....37

Şekil 4. Hayvanların tıraş edilmesi.....37

Şekil 5. Elektrofizyolojik kayıt düzeneği.....39

Şekil 6. Elektrofizyolojik kayıt için kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü 40

Şekil 7. Epileptik aktivite de spike frekansı ve amplitüdün hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem penceresi görüntüsü. 41

Şekil 8. Eritrosit NO Değerlerinin Karşılaştırılması 45

Şekil 9. Eritrosit MDA Değerlerinin Karşılaştırılması.....46

Şekil 10. Plazma XO Değerlerinin Karşılaştırılması.....48

Şekil 11. Plazma MDA Değerlerinin Karşılaştırılması 49

Şekil 12. Kızılcık Grubu Spike Frekans Değerlendirmesi.....51

Şekil 13. Dut Grubu Spike Frekans Değerlendirmesi 52

DUT VE KIZILCIK EKSTRELERİNİN PENİSİLİN İLE UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Kızılcık ve dut özütünün penisilinle uyarılan epileptiform aktivite üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve metod: Çalışmada 66 adet albino erkek Wistar sıçan kullanıldı. Kızılcık ve dut özütünün etkisini değerlendirmek için Grup 1 kontrol, Grup 2 sham, Grup 3 penisilin grubu olarak belirlendi. Denekler üretan ile anesteziye alınarak kraniyotomi yapılıp stereotaksik cihaza yerleştirildi. Elektrokortikogram ile kayıt alındı. Deneklerde penisilin modeliyle epileptiform aktivite oluşturulup kararlı bir düzeyde amplitüd ve spike frekans elde edildikten sonra Grup (4-5-6-7) sırasıyla penisilin + (2,5-5-10-20) mg/kg dut özütü, Grup (8-9-10-11) sırasıyla penisilin + (2,5-5-10-20) mg/kg kızılcık özütü intraperitoneal olarak verildi. Konvülsiyonların amplitüdlerinde ve spike frekanslarında azalma oluşturan etkin doz belirlendi. Etkin dozda kan örnekleri alındı. Lipid peroksidasyonu Malondialdehit ile; oksidan stres Nitrik oksit, Ksantin Oksidaz, Süperoksit dismutaz ve Katalaz ile değerlendirildi.

Bulgular: Penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivitede hem kızılcık hem de dut için 10 mg/kg etkin doz olarak tespit edildi. Amplitüd çalışmalarında gruplar arasında fark bulunmazken epileptiform aktivitenin spike frekansını her iki maddenin de azalttığı tespit edildi.

Eritrosit çalışmalarında; Ksantin oksidaz (p=0.087), Katalaz (p=0.134), Süperoksit dismutaz(p=0.835) için fark saptanılmazken Nitrik oksit açısından kontrol-sham (p=0.01), kontrol-penisilin (p=0.008) grupları arasında fark vardı. Malondialdehit açısından sham-kontrol (p<0.001), penisilin-kontrol (p<0.001), penisilin-sham (p<0.001), penisilin-kızılcık (p<0.001), penisilin-dut (p<0.001), dut-kızılcık (p<0.001)grupları arasında anlamlı fark vardı.

Plazmada Katalaz (p=0.115), Süperoksit dismutaz (p=0.37), Nitrik oksit (p=0.066) açısından fark saptanılmadı. Ksantin oksidaz açısından penisilin-kızılcık (p=0.008),

penisilin-dut *(p*=0.02) gruplarında fark vardı. Malondialdehit açısından penisilin-kızılcık *(p*<0.001), dut-kızılcık *(p*<0.001) grupları arasında fark vardı.

Sonuç: Kızılcık ve dut özütünün, epileptiform aktivitenin frekansı ile Malondialdehit düzeyini hem eritrositlerde hem de plazmada azalttığı tespit edilmiştir. Nitrik oksitin de stres ve epileptik aktivite ile eritrositlerde azaldığı ancak dut ve kızılcık uygulanması ile tekrar yükselmediği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Epilepsi, Deneysel epilepsi modelleri, Dut, Kızılcık, Antioksidan.

EFFECTS OF MULBERRY AND CORNELIAN CHERRY EXTRACTS ON EPILEPTIFORM ACTIVITY INDUCED BY PENICILLIN

ABSTRACT

Objective: It was aimed to evaluate effects of mulberry and cornelian cherry extracts on penicillin-induced epileptiform activity.

Material and method: Sixty-six male Wistar-Albino rats were used in the study. To assess effects of mulberry and cornelian cherry extracts, the rats were assigned into groups as follows: Group 1 (control), Group 2 (sham) and Group 3 (penicillin). Subjects were anesthetized by using urethane; and they were placed to stereotactic device after craniotomy. Electrocorticograph recordings were performed. Epileptiform activity was induced by using penicillin model and stabile amplitude and spike frequency was obtained. Then, penicillin plus mulberry extract (2,5 – 5 -10 - 20 mg/kg) were intraperitoneally given to groups 4, 5, 6, 7 whereas penicillin plus cornelian cherry extract (2,5 - 5- 10 - 20 mg/kg) to groups 8, 9, 10, 11, respectively. The effective dose that decreased amplitudes and spike frequencies of convulsions was determined. Blood samples were drawn at the effective dose. Lipid peroxidation was assessed by malonyldialdehyde, whereas oxidant stress by nitric oxide, xanthine oxidase, superoxide dismutase and catalase.

Findings: In the epileptiform activity induced by penicillin, 10 mg/kg was detected as effective dose for both mulberry and cornelian cherry extract. While no significant difference was detected between groups in amplitude studies, it was found that spike frequency of epileptiform activity was decreased by both substances.

In the erythrocyte studies, no significant difference was detected regarding xanthine oxidase (p=0.087), catalase (p=0.134) and superoxide dismutase (p=0.835) among groups, while there was a significant difference regarding nitric oxide in control-sham (p=0.01) as well as control-penicillin (p=0.008) groups. There was also a significant difference regarding malonyldialdehyde in sham-control (p<0.001), penicillin-control (p<0.001), penicillin-sham (p<0.001), penicillin-cornelian cherry

(p<0.001), penicillin-mulberry (p<0.001) and mulberry-cornelian cherry (p<0.001) groups.

In the plasma, no significant difference was detected regarding catalase (p=0.115), superoxide dismutase (p=0.37) and nitric oxide (p=0.066) among groups. There was a significant difference groups regarding xanthine oxidase in penicillin-cornelian cherry (p=0.008) and penicillin-mulberry (p=0.02) groups. There was also a significant difference regarding malonyldialdehyde in penicillin-cornelian cherry (p<0.001) and mulberry-cornelian cherry (p<0.001) groups.

Conclusions: It was found that mulberry and cornelian cherry extracts decreased the frequency of epileptiform activity as well as malonyldialdehyde level in both erythrocytes and plasma. It was detected that nitric oxide was also reduced by stress and epileptic activity in erythrocytes but didn't elevated by administration of mulberry and cornelian cherry extracts.

Keywords: Epilepsy, Experimental epilepsy models, Mulberry, Cornelian cherry, Antioxidant.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi; tekrarlayan nöbetlerle insan yaşamını mental ve fiziksel olarak olumsuz etkileyen, en önemli kronik hastalıklarından birisi olup genel prevalansı %0,5-1 olarak kabul edilmektedir (1-4). Beynin belli bölgelerinde bulunan eksitatör ve inhibitör kontrol sistemleri arasındaki dengenin bozulması epilepsinin oluşumuyla sonuçlanır (5).

Epileptik nöbet veya konvülsiyon beyinde zaman zaman ortaya çıkan anormal elektriksel deşarjların sonucu olarak görülen, geçici nörolojik fonksiyon bozukluğunun olduğu dönemdir (6).

Antiepileptikler adı altında bir grup ilaç hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde kullanılmaktadır (7). Ayrıca henüz insanda kullanımı olmayan ancak antiepileptik etkileri bilinen veya laboratuvarlarda deneysel olarak kullanılan maddeler mevcuttur. Mevcut antiepileptik ilaçlarla tedaviye rağmen hastaların halen %10-20 sinde dirençli nöbetler görülmektedir ve bu nöbetler kontrol altına alınamamaktadır (8-13). Geliştirilecek yeni molekül ve ilaçların antiepileptik tedaviye katılması mortalite ve morbitide açısından önemlidir.

Epilepsi ile ilgili olarak insanlar üzerinde yapılabilecek çalışmalar sınırlıdır. Özellikle de hastalığın temeline yönelik incelemeler hayvan deneylerini zorunlu hale getirmektedir. Bu çalışmalar için çeşitli hayvan epilepsi modelleri geliştirilmiştir (11-14). Deneysel epilepsi modelleri, konvülzan etki yapan ilaçlar, GABA'erjik antagonistler, nörotoksinler ve lezyon uygulamaları ile ortaya çıkarılabilir (11).

Penisilin kaynaklı deneysel epilepsi modeli bu modeller içerisinde oldukça yaygın kullanılanlardan birisidir (11).

Antioksidan maddeler, aktif oksijen oluşumunu engelleyerek ya da oluşan reaktif oksijen partiküllerini (ROP) temizleyerek, oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararları hücresel düzeyde engellemekte, dolayısıyla dejeneratif hastalıkların oluşumunu durdurmaktadır. Antioksidanlar; enzimatik antioksidanlar [Süperoksit dismutaz, katalaz ve Glutatyon peroksidaz] ve non-enzimatik antioksidanlar [vitamin E, vitamin C, vitamin A (a-karoten), fenolik bileşikler, selenyum, transferrin ve laktoferrin] olarak sınıflandırılabilir (15-17).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak ikiye ayrılabilir ve bitkilerde fazla miktarda bulunurlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Bir kısmı meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında etkilidir. Bir kısmı ise meyve ve sebzelerin sarı, sarı-esmer, kırmızı-mavi tonlardaki renklerinin oluşmasını sağlamaktadırlar (17,18).

Polifenoller; çok çeşitli bileşiklerden oluşur ve birçok sınıfı vardır. Bunlara örnek olarak; hidroksibenzoik asitler, hidroksisinnamik asitler, antosiyanidinler, proantosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanoller, flavanonlar, isoflavonlar, stilbenler ve lignanlar verilebilir (19). Flavonoidlerin ksantin oksidaz, glutatyon redüktaz, NADH-oksidaz, protein kinaz gibi bazı enzimleri inhibe ettiğine dair yayınlar vardır (20-25).

Birçok antioksidan bileşiğin nöbet şiddetini ve frekansını azaltma yeteneği çeşitli deneysel modellerde çalışılmıştır (26,27).

Cornus mas L. (kızılcık meyvesi), Anadolu da kızılcık ağacında yetişen bir bitkidir. Türkiye'de yetiştirilen kızılcık meyvesinin fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerini gösteren çalışmada bu bitkinin çok yüksek oranda antosiyaninlerle beraber birçok fenolik bileşik ve askorbik asitten zengin olduğu gösterilmiştir (28).

Morus rubra (kırmızı dut) Moracea ailesine aittir. Morus çeşitleriyle yapılan önceki fitokimyasal çalışmalarda dut meyvesinde, yağ ve yağ asitleri, C vitamini, mineraller, fenolikler ve flavonoidlerin varlığı saptanmıştır (29).

Süperoksit dismutaz süperoksidin, hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen en önemli hücre içi antioksidanlardan birisidir. Katalaz, bir hemoproteindir. Hücre içi hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar. Nitrik oksit, L-arjininden sentezlenen nöronal bir habercidir. Oksidan (peroksinitrit) ve antioksidan (süperoksidi bağlama özelliğinden dolayı) özelliği vardır (30). Ksantin

oksidaz, pürin katabolizmasının terminal enzimidir. Hipoksantinin ksantine onun da ürik asite hidroksilasyonunu katalizler. Malondialdehit, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür.

Literatürde kızılcık ve dut ile epilepsi arasındaki ilişkiyi gösteren herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada Wistar cinsi sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerindeki intraperitonal olarak verilen *Cornus mas L.* ve *Morus rubra* özütünün etkisinin araştırılması ve bu süreçte enzimatik antioksidanlardan Süperoksit dismutaz, Katalaz, Nitrik Oksit ve oksidan stresi belirlemek için Ksantin oksidaz ve Malondialdehit ile nonenzimatik olarak flavonoidlerin, fenolik bileşiklerin rolünün belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. EPİLEPSİ

2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Epilepsi Dünya Sağlık Örgütünce birçok etyolojik nedenin yol açtığı kronik serebral fonksiyon bozukluğu sonucunda görülen tekrarlayıcı nöbetler şeklinde tanımlanmıştır. Genel populasyonda görülme sıklığı her 1000 kişide 5-8 arasındadır (31).

Tüm dünyada en az 50 milyon insan epilepsiden etkilemekte olup bunların %80'i gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanlardır. Bu ülkelerde insanların % 80-90'ı ya yetersiz tedavi görmekte ya da hiç tedavi görmemektedir (1-3,32,33).

Epilepsi nörolojik hastalıklar arasında çocukluk ve ergenlik çağında en sık, erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci hastalık olarak belirtilmektedir. Üçüncü dünya ülkelerinde ve birinci dünya ülkelerinin bazı bölgelerinde görülme oranı iki katına kadar çıkmaktadır (34).

Epilepsinin tarihi insanlık tarihi kadar eskidir. İslamlaşma öncesinde Şaman'ın (kam/baksı) yanısıra, Otacı adı verilen ve hekimin o dönemdeki rolünü yüklenmiş kişiler de bitkisel ve hayvansal ürünler, bazı tuzlar ve metallerden yararlanarak hastalıkları iyileştirmeye ve önlemeye çalışmıştır. Ayrıca, Altay Şamanları arasında epilepsisi olanlara Irımcı dendiği ve bu kişilerin nöbetleri tuttuğunda gaipten haber

verdikleri bildirilmektedir. Divanü Lûgat-it Türk'te (XI. yy) saranın karşılığı olarak Talgan-ig sözcüğü verilmiştir. Türklerin İslamı kabul etmelerinden sonra Anadolu'da XIV. yy sonlarında ve XV. yy'da Türkçe yayınlanmış tıp kitaplarında epilepsiye önemli yer ayrıldığı ve bunlarda genellikle Galen'in, Dioskorides'in ve İbn-i Sina'nın etkileri olduğu görülmektedir. Bu yapıtlarda başa (beyne) ait hastalıklar arasında incelenen epilepsinin açıklanmasında ve tedavisinde genel olarak mistik olmayan (seküler) yaklaşımların yer aldığı ayrıca, bu yapıtlarda sara sözcüğünün Türklerdeki karşılığı olarak uçuk veya tutarık dendiği dikkati çekmiştir. XIX. yy ikinci yarısından itibaren batıya yönelen Türk tıbbında epilepsiye yaklaşımda batıdaki değişikliklerin, özellikle çeviri eserler aracılığı ile izlendiği görülmektedir. Örneğin, 1889 yılında İstanbul'da çevirisi yayınlanmış Dr. Adolf E. Strumpel'in İç Hastalıkları kitabının sinir hastalıkları bölümünde, epilepsi patogenezinde Amon boynuzdan da bahsedilmektedir (35).

Epilepsi, tıp terminolojisine ilk kez İbni Sina tarafından sokulmuştur. İbni Sina tarafından 'Epileptik nöbet beyinden kaynaklanır, duyuların kaybı ve düşme olur.' şeklinde tariflenmiştir (36). Eski çağlarda ise bu hastalığın Tanrı tarafından gönderilen bir hastalık olduğu düşünülmüştür. Kutsal kitaplarda da epilepsiden bahsedilmektedir. İncil'de epileptik bir çocuğun klinik bulguları ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır:

'Ve kalabalığa vardıkları zaman, bir adam gelip İsa'ya diz çökerek dedi: Ya Rab, oğluma merhamet eyle, çünkü o saralıdır ve çok sıkıntıdadır; çünkü birçok defalar ateşe, çok defalar da suya düşüyor. Ve senin şakirtlerine onu getirdim, iyi edemediler ve İsa cevap verdi: Ey imansız ve sapık nesil, ne vakte kadar sizinle beraber olacağım? Size ne vakte kadar dayanacağım? Onu buraya, bana getirin. Ve İsa onu azarladı ve cin ondan çıkıp oğlan o saatte iyi oldu. O zaman şakirtler ayrıca İsa'ya gelip dediler:' Niçin biz onu çıkaramadık?' İsa'da onlara dedi: 'İmanınız az olduğu için…' [Matta İncili-17:14-20] (37).

Epilepsi terimi ilk defa 1874 yılında Jackson tarafından "epilepsi gri maddenin zaman zaman ortaya çıkan ani, aşırı hızlı ve lokal boşalımlarının adıdır." şeklinde betimlenmiştir (38).

Hans Berger tarafından elektroensefalogramın (EEG) 1920 yılında ilk kez kullanımı ile epileptik nöbetler anlaşılmaya başlanmıştır (39).

Nöbet ve epilepsi farklı bozukluklardır ve terminolojik açıdan alternatif olarak birbirlerinin yerine kullanılamaz. Epilepsi için "nöbet hastalığı" olarak bahsedilmesine rağmen nöbetlerden epilepsi olarak bahsedilmesi doğru bir tanımlama değildir. Nöbet, kortikal nöronlardaki anormal ve aşırı elektriksel deşarj sonucu oluşur (40).

Nöbet bulgudur, oysa epilepsi tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbet nöronların anormal istemsiz, ritmik deşarjlarından kaynaklanan ve sınırlı bir zaman diliminde görülen paroksismal belirtidir. Hastalar genellikle nöbetin başlangıcını ve bitişini kontrol edemez. Tüm nöbetler konvülsif 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 gerekmektedir (41,42).

Epileptik nöbet kliniği bilinç düzeyinde değişiklik ile beraber motor, duyusal, otonomik veya psişik olayları içeren ani ve geçici anormal fenomenleri kapsamaktadır. Epilepsi, beynin bilinen hiçbir hasarı veya risk faktörü olmadan ortaya çıkabildiği gibi, altta yatan başka nörolojik, sistemik, metabolik, toksik veya travmatik nedenlere ikincil olarak meydana gelebilir (43).

2.1.2. Epilepsi ve Epileptik Sendromların ILAE Sınıflaması (1989):

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği'nin (International League Against Epilepsy, ILAE) 1981 yılında yayınladığı sınıflandırma sistemine göre epileptik nöbetler parsiyel (fokal), jeneralize ve sınıflandırılamayan olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır (42).

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 sunmuştur (44).

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 konvülsiyonları

* 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

* 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 konvülsiyonlar

* İzole nöbetler veya izole status epileptikus

* Akut toksik veya metabolik nedene bağlı nöbetler (alkol, ilaç, gebelik, non-ketotik hiperglisinemi 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 (42).

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 duyusal nöbetler

- Elementer duyusal semptomlar ile (oksipital ve parietal lob nöbetler)

- Karmaşık duyusal semptomlar ile (temporo parieto oksipital bileşke nöbetler)

*Fokal motor nöbetler

- Elementer klonik bulgular ile

- Asimetrik tonik motor bulgular ile

- Tipik otomatizmalar (mezial temporal lob nöbetler)

- Hiperkinetik otomatizmalar

- Fokal negatif miyokloni ile

- İnhibitör motor semptomlar ile

* Jelastik nöbetler

* Hemiklonik nöbetler

* Sekonder jeneralize nöbetler

* Fokal epilepsilerde görülen refleks nöbetler

Süregelen nöbetler

Jeneralize status epileptikus

* Jeneralize tonik-klonik status epileptikus

* Klonik status epileptikus

* Absans status epileptikus

* Tonik status epileptikus

* Myoklonik status epileptikus

Fokal status epileptikus

* Kojevnikov"un Epilepsi partialis kontinuası

* Aura kontinua

* Limbik status epileptikus

* Hemiparezi ile giden hemikonvulsif status

Refleks nöbetlere yol açan uyaranlar

* Görsel uyaranlar

* Düşünme

* Müzik

* Yeme

* Praksi

* Somatosensoriyel

* Proprioseptif

* Okuma

* Sıcak su

* İrkilme

2.1.3. Epilepsi ve Semiyolojik Nöbet Sınıflaması:

Epilepsi sınıflaması ile ilgili henüz tam bir görüş birliğine varılamamıştır. Günümüzde, Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneğinin yapmış olduğu sınıflandırma sistemi kullanılmaktadır. Ancak bu sınıflandırmanın nörolog ve epileptologlar tarafından bile oldukça karmaşık olduğu ve nöbet tanımlaması için pratik bir sınıflandırma olmadığı konusunda görüşler oldukça fazladır. Bu nedenle modern sınıflama çalışmaları başlamış ve Lüders ve Noachtar 1998 yılında Semiyolojik Nöbet Sınıflamasını hazırlamışlardır (45).

Semiyolojik Nöbet Sınıflamasında epileptik nöbetler beş ana grupta toplanmıştır (Tablo 1) (46).

1. Aura
2. Otonomik Nöbetler
3. Dialeptik Nöbetler
4. Motor Nöbetler
5. Özel Nöbetler

Tablo 1. Semiyolojik Nöbet Sınıflaması

Epileptik nöbet
1. Aura
Somatosensoryal aura İşitsel aura Koku aurası Abdominal aura Görsel aura Gustatuar (tad duyusuyla ilişkili) aura Otonomik aura Psişik aura
2. Otonomik Nöbetler
3. Dialeptik Nöbetler
3.1. Tipik dialeptik nöbet
4. Motor Nöbetler
4.1. Basit motor nöbet Myoklonik nöbet Epileptik spazm Tonik-klonik nöbet Tonik nöbet Klonik nöbet Versif nöbet
4.2. Kompleks motor nöbet Hipermotor nöbet Otomotor nöbet Jelastik nöbet (gülme nöbeti)
5. Özel Nöbetler
Atonik nöbet Hipomotor nöbet Negatif myoklonik nöbetler Astatik nöbet Akinetik nöbet Afazik nöbet

2.1.4. Epilepsinin Etyolojisi:

Epilepsiler etyolojik olarak başlıca iki gruba ayrılabilir:

1. Primer veya idiyopatik epilepsi: Nedeni bilinmeyen epilepsiler bu grup içindedir. Jeneralize nöbetlerin çok büyük bir bölümü idiopatik grupta değerlendirilmektedir. Bu epilepsi genellikle çocukluk ve genç erişkinlik döneminde başlar. Çoğunda genetik bir yatkınlıktan bahsedilmektedir (47).

2. Sekonder epilepsi: Beyinde yapısal veya metabolik bir hastalık nöbetlere sebep olmaktadır. Değişik etyolojik nedenlerden kaynaklanan kronik serebral fonksiyon bozukluğunda görülen tekrarlayıcı nöbetler olarak tanımlanır (48).

Epilepsinin etyolojisinde yer alan bazı faktörler;

A. Kalıtım: Epilepsinin oluş nedenlerinde kesin olmamakla birlikte, genetik bir yatkınlığın varlığını düşündüren kanıtlara çalışmalarda rastlanmıştır. İkizler üzerinde yapılan araştırmalarda tek yumurta ikizlerindeki epilepsi olasılığının, çift yumurta ikizlerine göre daha fazla olduğu görülmüştür (49,50).

Bazı ailelerde epilepsi oranının fazlalığı genetik geçişin etkileri hakkındaki bulguları destekleyici niteliktedir. Kalıtım, idiyopatik epilepsileri ortaya çıkaran önemli bir belirleyicidir. Kalıtsal beyin hastalıklarında ve kalıtımsal metabolik hastalıklarda da epilepsi daha sık görülmektedir (51).

B. Beyin Patolojileri: Doğum öncesi travmalara bağlı patolojiler, kalıtsal metabolik hastalıklar, kafa travması, serebral hastalıklar, beyinde bulunan ve gelişebilen kitleler epilepsiye neden olabilmektedir. Doğum öncesi ve doğum sırasında, henüz immatür olan beyinde oluşabilecek anormallikler (doğum travması vb.) ya da epileptik nöbetlerin kendisinin yol açtığı yaygın ve lokal hasarlar daha sonraki yaşlarda ortaya çıkan epilepsinin temelini oluşturmaktadır (52,53).

C. Sistematik Patolojik Süreçler: Kalp ve merkezi sinir sisteminden kaynaklanan hastalıklar, metabolik anormallikler, eklampsi, alkol yoksunluğu, antiepileptik ilacın kesilmesi ya da doz aşımı bu kapsamda değerlendirilmektedir (52,54,55). Hipoglisemi, hipokalsemi, hiponatremi, menenjit, enfesalit, intrauterin enfeksiyonlar,

travmalar, toksinler, kurşun, tallium ve fenatiazinler, tümör ve diğer bazı endokrin bozukluklar konvülsiyonların oluş nedenleri arasında sayılmaktadır (52,56,57).

2.1.5. Epilepsinin Patofizyolojisi:

Nöronal Membranların Eksitasyonu ve İnhibisyonu

Nöronal membranlar çift katlı lipid tabakadan meydana gelir. Lipid tabaka membranı çaprazlayarak iyon kanalları oluşturan proteinleri içerir. Nöronlarda hücrenin içi ve dışı arasındaki voltaj farkını gösteren bir istirahat potansiyeli vardır. Potansiyel fark, hücre membranının iç ve dış ortamdaki pozitif ve negatif yüklerin ayrılması sonucu oluşur. Membran boyunca ekstrasellüler aralıkta ağırlıklı olarak Na^+ ve Cl^- iyonları bulunur. K^+, proteinler ve organik asitler de intrasellüler olarak bulunur. Membranlar Na^+, Cl^- ve K^+'a geçirgendir ancak büyük organik iyon ve proteinlere geçirgen değildir. 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 (58).

Membranda iyon akımı yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru olur: Na^+ içeri, K^+ dışarı akar. Membranın içi ve dışındaki konsantrasyon zamanla 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 (58).

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 GABA ve Na^+ ve Ca^{++}'a geçirgenliği arttıran NMDA iyonotrofik nörotransmitterlere örnek olabilir (58).

Hiperpolarizasyona yol açan GABA gibi nörotransmitterler inhibitör postsinaptik potasiyellerin (IPSP) belirmesine yol açar ve hücre içinde negativite başlangıca göre artar. Eksitatör amino asitler gibi depolarizasyona neden olan nörotransmitterler ise eksitatör postsinaptik potansiyelleri (EPSP) arttırarak pozitif yüklerin sinaptik membrandan içeri akımına, dolayısıyla hücre dışında nisbeten daha negatif ortamın oluşmasına sebep olur. Bir nöronun aksiyon potansiyeli oluşturması EPSP ve IPSP arasındaki dengeye bağlıdır (58).

İkinci bir nörotransmitter reseptör tipi metabotrofik reseptördür. Transmitter metabotrofik reseptöre bağlanınca ikinci bir haberci sistemi aktive eder (G-protein). Aktive G-proteini ise bir iyon kanalını açar veya hücre içinde daha fazla haberci molekülün oluşması için siklaz ya da hidrolaz gibi bir enzimi aktive eder. İkinci haberci sistemleri aktive eden reseptörlere 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 (58).

Epileptogenezden sorumlu hücresel mekanizmalar halen tam olarak bilinmemektedir. Tüm epilepsi nöbetlerinde aynı mekanizmadan bahsedilmemekle birlikte hepsi artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronite gibi ortak bir özelliğe sahiptir. Epileptojenik odak olarak adlandırılan beyin bölgelerinde yer alan hücreler tam olarak bilinmeyen nedenlerle, artmış eksitabilite ve anormal ateşlenme özelliği gösterirler ve etrafındaki hücreleri de ateşlenmeye ortak ederler. Nöronlardaki bu değişiklik, EEG'de bir interiktal dikenle sınırlı kalmasını ya da yeterli miktara ulaşabildiğinde elektrofizyolojik ve klinik nöbet aktivitesinin oluşmasını belirler (59).

Yapılan çalışmalarda epileptik odakta yer alan nöronların dendritik çıkıntılarında azalma olduğu, epileptojenik fokusta yeni sinapslar oluştuğu, astrositlerin artmasıyla gliozis oluştuğu gösterilmiştir (60-61).

Epileptojenik odaktaki gliozisli hücrelerin, hücre dışı K^+ iyonlarını tamponlama kabiliyetleri bozulduğundan, hücre dışında K^+ iyon artışı olarak, nöronların uyarılabilme eşiğinin düşmesine ve epilepsi nöbetlerinin oluşmasına sebep olur.

Ayrıca epileptojenik bölgelerde Na^+ K^+ /ATP'az aktivitesinin azalması nedeniyle de hücre dışı K^+ iyon konsantrasyonu artar (62).

Bu mekanizmalar sonucunda nöronların membran potansiyelleri bozulmakta, bu nöronlar normalden daha kolay depolarize olmakta, bir başka deyişle nöronun uyarılma eşiği düşmektedir (62).

2.1.6. Epilepsinin Tanısı ve Tedavisi:

Epilepsi tanısı ve sınıflandırılması primer olarak nöbetlerin tanımı da dâhil olmak üzere hastanın tıbbi öyküsünü ve fizik muayene bulgularını temel almaktadır. EEG, görüntüleme teknikleri ve diğer tanı yöntemleri tanıyı desteklemek ve kesinleştirmek için yardımcı olmaktadır.

EEG, epilepsi hastalarının tanısında en bilgilendirici olan tetkiktir. EEG'de gözlenen hem nöbet sırasında (iktal) hem de nöbet aralarında (interiktal) anormallikler, epileptik nöbetlerin ayırıcı tanısında kullanılabilir. EEG aynı zamanda nöbet tipini ve beyindeki epileptik odağın yerini belirlemede kullanılmaktadır (63).

Epilepsi tedavisinde ilk yapılması gereken tanının doğru konması ve ilaç tedavisine gerek olup olmadığının belirlenmesidir. Ayırıcı tanı kesin olarak yapılmalı, epilepsi ile karışabilen organik veya psikiyatrik hastalıklar ekarte edilmelidir. Tedavinin amacı nöbetleri kontrol altına almak, nöbet sayısını mümkün olduğunca en aza indirmek, ilaçların yan etkilerini en az oranda tutup hastaların yaşam kalitelerini yükseltmektir. Antiepileptik ilaçların (AED), epilepsiyi oluşturan temel mekanizmaları engelleyemediği, ancak nöbetleri azaltabildiği veya ortadan kaldırabildiğini bilmek tedaviyi belirlemek açısından önemlidir. Tekrarlayan nöbetler nöronlarda hasar oluşması ve hatta ölüm için belirgin bir risk oluştururlar. Ek olarak, nöbetleri tamamen kontrol altına alınamayan epilepsi hastalarının yaşam kalitelerinin düşük olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle epilepsi tedavisinin hedefi hastaların nöbetsiz yaşamasına yardımcı olmaktır. Ancak tüm AED'lerin tedaviyi sınırlayan yan etkilerinin olması nedeniyle, AED ile nöbet kontrolü dikkatli değerlendirme gereken bir konudur (63,64).

Antiepileptik ilaç seçimi için öncelikle hastanın nöbetlerinin ve epilepsi tipinin sınıflanması şarttır. Tedaviye başlanırken önemli bir nokta, nöbetlerin tümüyle

baskılanmasının yanı sıra istenmeyen ilaç yan etkilerinin de mümkün olan en az oranda tutulmasıdır. Epilepside %80 oranında tedavi ile nöbetler kontrol altına alınabilmektedir. Bazı hastalarda çoklu tedavi rejimlerine rağmen nöbetler dirençli olabilir (63,64).

2.1.7. Elektroensefalogram ve Elektrokortikogram:

Epilepsi ile ilgi çalışmalarda Elektroensefalogram (EEG) ve Elektrokortikogram (ECoG) en çok kullanılan metodlardır. EEG kafatası üzerine yerleştirilmiş elektrodlarla beyinde bulunan nöronların ürettiği elektriksel potansiyellerin kaydedilmesi işlemidir. ECoG ise aynı işlemin korteks üzerinden yapılmasıdır.

EEG üzerindeki her bir çizgi veya kanal, bir çift elektrodun altında kalan serebral korteks alanları arasında, zaman içinde ölçülen potansiyel farkını yansıtmaktadır. EEG sinapstaki EPSP ve IPSP'nin toplamını kaydetmektedir. Potansiyellerin amplitüdü senkron şekilde impuls alan nöronların sayısını göstermektedir. Eksitatör-inhibitör postsinaptik potansiyel kompleksinin süresi, ritm frekansıyla; yani belirli bir zaman dilimindeki olayların sayısıyla gösterilmektedir. Sıklık, hertz (Hz) adı verilen birimlerle ifade edilmektedir ve bir saniyede bir siklusa eşittir.

EEG ağrısız ve zararsız bir yöntemdir. Saçlı deriden kaydedilen potansiyellerin çoğunluğu piramidal hücrelerdeki toplam sinaptik potansiyellerin ekstraselüler akımlarla ilişkisinin sonucu olarak ortaya çıkar. Normalde çok zayıf olan bu potansiyeller saçlı deri üzerine yerleştirilen elektrodlar tarafından kaydedilir ve amplifikatörlerle güçlendirilir. Elektrodların yerleştirileceği noktalar uluslararası 10-20 sistemine göre belirlenir. (54).

Beyin dalgaları EPSP ve IPSP cebirsel toplamı neticesinde arta kalan sinaptik aktivitenin senkronizasyonu yoluyla oluşur ve yüzeydeki kaydedici elektrod yardımıyla yazdırılır. Epileptik deşarjlar EEG'nin aşırı senkronizasyonunu ifade eder (54).

EEG'de Beyin Dalgaları

Beyin dalgalarının kafatası yüzeyinden kaydedilen şiddetleri 0-200 mikrovolt arasında, frekansları ise birkaç saniye ile saniyede 50 veya üstü arasında değişir. Dalgaların karakteri serebral korteksin etkinlik düzeyine bağlıdır.

Frekans ve yüksekliğine göre EEG'de 4 tip dalga ayırt edilir (Şekil 1).

1. Alfa Dalgaları

Düşük frekanslı (8-12 Hz) ritmik dalgalardır. Yükseklikleri en fazla 50 mikrovolt düzeyindedir. En güçlü olarak oksipital bölgeden ölçülmekle birlikte paryetal ve frontal bölgelerde de gözlenirler. Sakin ve sessiz durumdaki genç, uyanık erişkinlerin neredeyse tümünün EEG'sinde bulunur. Uyanık bir kişinin dikkati zihinsel bir etkinliğe yöneldiğinde, gözler parlak ışıkta açıldığında alfa dalgalarının yerini yüksek frekanslı, düşük voltajlı dalgalar alır. Bu olaya 'alfa blokajı' veya 'desenkronizasyon' denir.

2. Beta dalgaları

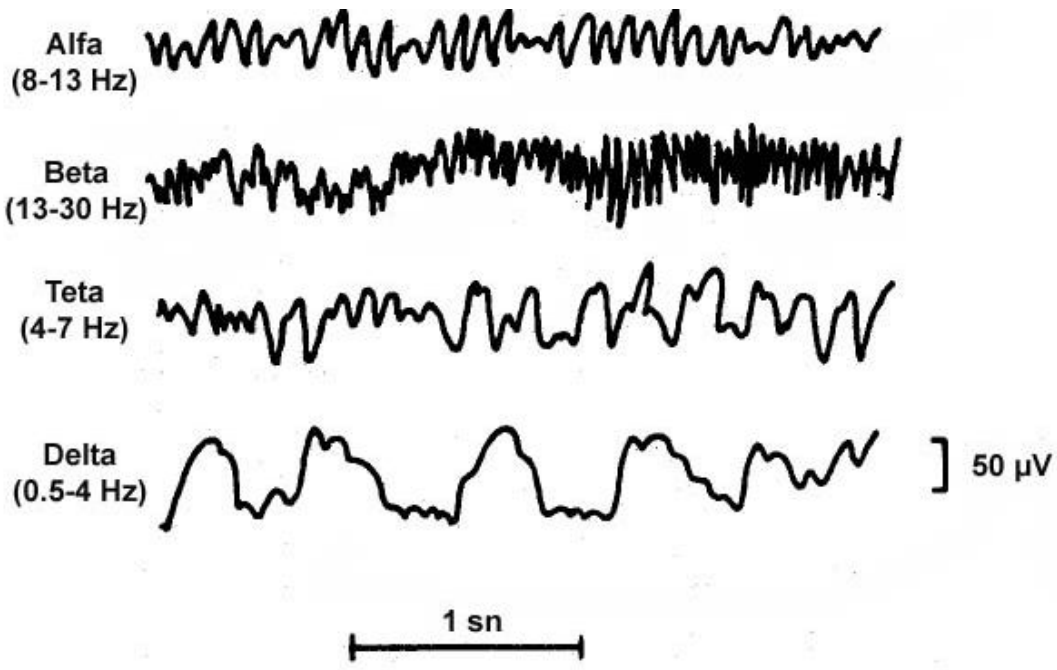
Frontal ve paryetal bölgelerde daha belirgin olan, yüksek frekanslı (13-30 Hz), düşük voltajlı (10-20 μV) dalgalara denilmektedir. Zihinsel aktivite durumunda belirgin hale gelir. Beynin hasara uğrayan bölgelerinde azalır veya tamamen kaybolur.

3. Delta dalgaları

EEG'nin frekansı saniyede 3,5'tan az olan tüm dalgalarını içerir. Çok derin uykuda, çocuklukta ve ciddi organik beyin hasarında ortaya çıkar. Subkortikal kesiyle korteksi talamustan ayrılan deney hayvanlarında da görülür. Bu nedenle delta dalgalarının beynin aşağı bölgelerindeki etkinliklerden bağımsız olarak kortekste oluşabildiği bilinmektedir.

4.Teta dalgaları

Frekansı 4-7 Hz, yüksekliği 40-80 mikrovolttur. Özellikle çocukların paryetal ve temporal bölgelerinde görülmekle birlikte erişkinlerde de duygusal streslerde görülebilir. Bunun dışında beynin dejeneratif durumlarında gözlenirler (65).



Şekil 1. EEG'de kaydedilen beyin dalgaları

EEG, epilepsilerin tanısında, tip ayrımında ve izlenmesinde vazgeçilmez bir yöntemdir. Epilepsi hastalarında öykü, muayene, EEG bulguları ve diğer incelemeler beraberce değerlendirilmelidir. Epileptiform deşarjlar ve nöbetler arasında ilişki olmasına rağmen epilepsi olgularındaki epileptiform deşarjların doğası ve önemi halen bilinmemektedir.

2.2. DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ:

Epilepsi ile ilgili olarak insanlar üzerinde yapılabilecek çalışmalar sınırlıdır. Epilepsinin fizyolojik temellerini aydınlatmak ve daha etkili tedavi yolları bulabilmek için hayvanlar üzerinde oluşturulan deneysel epilepsi modelleri kullanılmıştır. Deneysel bir epilepsi modelinde şu özellikler olmalıdır (66):

1- Nöbetler spontan olarak tekrarlayabilmelidir.
2- İnsanlardaki epilepsi çeşitlerine benzemelidir.
3- Modeldeki EEG' nin biçimi, ilgili epilepsi ile benzer olmalıdır.
4- Nöbetlerin frekansı, ilaçların etkisini akut veya kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır.
5- Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insanlardaki farmakokinetiğe benzer olmalıdır.
6- Antiepileptiklerin etkili olduğu plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar olmalıdır.

Epilepsi çalışmalarında çok sayıda deneysel modelden faydalanılmaktadır. Bunun sebepleri; modeli oluşturacak klinik nöbetlerin çeşitliliği, modellerin klinik epilepsiyle tamamen aynı olmaması, çeşitli modellerden elde edilen sonuçların karşılaştırılarak test edilmesi ve geliştirilen yeni metodlara ve yeni şartlara daha uygun yeni modeller oluşturulması gerekliliğidir (66).

Çeşitli dozlarda birçok konvülsif ajanla (pentilenetrazol, bikukulin, pikrotoksin, penisilin vb.), elektro şoklarla, ses ve ışık gibi fiziksel uyaranlarla veya genetik olarak epilepsiye yatkın hayvanlar kullanılarak epileptik modeller meydana getirilebilmektedir. Deney hayvanlarında konvülsan bir maddeyi korteksin yüzeyine tatbik ederek epileptik bir odak meydana getirilebilir. Bu maksatla çok kullanılan maddelerden birisi de kristalize penisilindir (11,67).

Bikukuline yapısal olarak benzeyen ve GABA sistemiyle etkileşerek epileptik aktivite oluşmasını sağlayan penisilin, bu etkisini hem sistemik hem de lokal olarak sağlamaktadır (11,68,69).

Muhtemelen penisilin GABA'nın etkisini bloklayarak epileptiform aktiviteye sebep olmaktadır. Penisilin *in vitro* hipokampus dilimlerinde inhibitör postsinaptik potansiyelleri önlemekte; asetilkolinin uyarıcı etkisini ve presinaptik uçlardan asetilkolin salgısını artırmaktadır. Penisilinin korteks dilimlerinden glutamat salgısını artırdığı da bildirilmiştir. Ayrıca, penisilinin parasinaptik yollardan ve kalsiyum üzerinden de etki ederek börst aktivitesine yol açabileceği tespit edilmiştir (11).

2.3. OKSİDATİF STRES VE ANTİOKSİDANLAR:

2.3.1. Reaktif Oksijen Partikülleri:

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde mevcuttur. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelir ve moleküler yapılar oluşur. Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bulunduran yapılara denilmektedir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP)'de denmektedir (70).

2.3.2. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Sınıflandırılması:

Organizmada pek çok türde ROP oluşabilir (Tablo 2). Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa

lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girerek lipid peroksi radikalini oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur (71).

Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere dönüşebilmektedir. Bunlar arasında en çok bilinen, aldehid grubundan malondialdehiddir (MDA).

Hidrojen peroksit (H_2O_2) membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak nitelendirilemez. Bu nedenle "reaktif oksijen partikülleri", süperoksit gibi radikaller, ayrıca H_2O_2 gibi radikal olmayan bileşikler için ortak olarak kullanılan bir terimdir (72).

Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa 'süperoksit radikali' olarak adlandırılır. Diğer ROP grubunda ise normal oksijenden çok daha hızlı bir molekül olan "singlet oksijen" bulunmaktadır. Singlet oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşımaktadır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asidleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna sebep olur (70).

Nitrik oksit (NO) bir adet çiftlenmemiş elektrona sahiptir ve bu nedenle ROP olarak kabul edilebilir (73).

Tablo 2. Reaktif oksijen partikülleri (74-75)

1 - Radikaller:
Süperoksit radikal (O_2 -) Hidroksil radikal (OH -) Alkoksil radikal (LO -) Peroksil radikal (LOO -)
2 - Radikal olmayanlar:
Hidrojen peroksit (H_2O_2) Lipid hidroperoksit (LOOH) Hipoklorikasit (HOC1)
3 - Singlet oksijen

2.3.3. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları:

Mitokondrilerde oksijenli solunumla beraber birçok anabolik ve katabolik işlemler gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlar sırasında moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada ROP'lar oluşur. **Tablo 3**'de ROP'ların hücredeki kaynakları görülmektedir (76).

Tablo 3. Hücredeki ROP Kaynakları

1.	**Endojen kaynaklar**
	Mitokondriyal elektron transport zinciri
	Mikrozomal elektron transport zinciri
	Oksidan enzimler
	Ksantin oksidaz İndolamin dioksijenaz Triptofan dioksijenaz Galaktoz oksidaz Siklooksijenaz Lipoksijenaz Monoamin oksidaz
	Fagositik hücreler
	Nötrofiller Monositler ve makrofajlar Eozinofiller Endotel hücreleri
	Oksidasyon reaksiyonları (ör: Fe^{2}+, epinefrin)
2.	**Eksojen kaynaklar**
	Redoks Siklusu (ör: parakuat, dikuat, aloksan, doksorubisin)
	İlaç oksidasyonları (ör: parasetamol; Karbontetraklorür)
	Sigara dumanı
	İonize radyasyon
	Güneş ışığı
	Isı şoku
	Glutatyonu okside eden ajanlar

2.3.4. Reaktif Oksijen Partiküllerinin in vivo etkileri:

Serbest radikaller, proteinlerdeki ve DNA makromoleküllerindeki alkilleyici ajanlar için esas hedeftir ve bu moleküllere irreversible olarak bağlanır. Ayrıca DNA ve nükleotidlerde, hücre ve dokulardaki yapısal koenzimlerde degradasyona sebep olabilirler. Diğer taraftan kovalent olarak proteinleri, lipidleri ve enzimleri bağlayabilir, enzimlerin aktivitesini değiştirebilir. Hücre membranlarını ve transport sistemlerini yıkabilir (77).

Serbest radikaller; ateroskleroz, diabetes mellitus, inme, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi hastalıklar gibi çok çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynar (78-82).

Serbest radikallerin en önemli etkisi lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu ile hücre membranları hasarlanır ve bu olay hücre yıkımı ile sonuçlanır (83).

Serbest radikallerin biyolojik etkileri in vivo olarak; vitamin E, vitamin C, vitamin A, glutatyon gibi antioksidanlarla ve glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, SOD ve katalaz gibi antioksidan enzimlerle kontrol edilir (84).

Artan bilgiler ışığında epilepsinin oksidatif stres aracılı olduğu hipotezi öne sürülmektedir. Bu oksidatif stres; hücresel proteinlerde, membran lipidlerinde, DNA ve RNA da anormal yapısal değişikliklere sebep olabilmektedir. (85-87).

Reaktif oksijen partikülleri, moleküler oksijenden köken alır. Kaynağı da mitokondri ve ksantin oksidaz sistemi olabilir. Süperoksit anyon radikali, selüler sistemdeki esas radikaldir. Ksantin dehidrojenazın ksantin oksidaza dönüşümü sırasında artabilir. Dahası oksijen radikalleri birçok selüler elementle etkileşip hücre yapısı ve fonksiyonlarında hasara yol açıp hücre ölümüne sebep olabilirler.

Lipidler serbest radikallerin hasar verici etkilerinden en çok etkilenen biyomoleküllerdir. MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünüdür ve yakınındaki veya uzağındaki dokulara çok zararlı etkisi olabilir.

Beyin oksidatif strese maruziyet açısından daha risklidir. Çünkü oksijen ihtiyacı fazladır. Oksijene, mitokondriyal solunumsal zincirlerde oksidatif fosforilasyonla enerji üretimi sırasında ihtiyaç vardır (88-90).

Serbest radikaller bazı epilepsi türlerini arttırabilir. Lipid peroksidasyonunun son ürünleri, oksidatif hasarda en çok çalışılan markırlar olan protein karbonil grupları ve nitrik oksittir. Hayvan çalışmaları ile yapılan deneysel epilepsi modellerinde epileptik nöbetleri takiben artmış oksidatif stres (artmış lipid peroksidasyonu ve protein karbonilasyonu) olduğuna dair bulgular vardır (83,91,92).

Hayvan çalışmalarında antikonvülsanlara ek antioksidan kullanımının (oksidatif stresi azaltarak) nöbet sıklığını azalttığı saptanmıştır (90,93,94). Epileptogenezin karmaşık mekanizması halen tam açıklanamamıştır ancak nöronal hücre ölümü önemli sebeplerden biridir ve bu ölümü arttıran veya nöronlarda değişikliğe sebep olan faktörlerin önemli olduğu düşünülmektedir. Esasen; serbest radikallerin oluşumuyla ortaya çıkan oksidatif stres mitokondriyal disfonksiyona ve hücre ölümüne sebep olabilir (95). En önemli üç serbest oksijen radikali; süperoksit ($O_2^{-)}$, hidrojen peroksit(H_2O_2), ve hidroksil iyonlarıdır (OH-). Serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşan lipid peroksidasyonu, hücre membran hasarının önemli bir nedenidir, membran geçirgenliğini etkileyerek hücre içinde aşırı Ca^{+2} birikimine yol açar (96).

Hayvan çalışmalarının sonucunda edinilen bilgilerde; nöronal hücre ölümü, glutamaterjik sistemlerin artmış aktivitesi ile epilepsiye sebep olmaktadır (97).

Generalize epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize reküren havalelerin olduğu bir durum olarak tanımlanabilir. Beyinde reaktif oksijen çeşitleri ve süperoksit oluşumunun bu duruma sebep olduğu düşünülmektedir (98-100).

Serbest radikal oluşumu, nöbet aktivitesine; direk glutamin sentazın inaktive olmasıyla birlikte eksitatör bir nörotransmitter olan glutamik asit seviyesinde artış sonucunda sebep olabilir (100).

2.3.5. Enzimatik antioksidanlar:

2.3.5.1. Süperoksit dismutaz:

Süperoksit dismutaz (SOD) endojen olarak oluşturulan süperoksit radikallerinin toksik etkilerinden hücreleri koruyan bir grup metalloenzimdir. Süperoksidin hidrojen peroksid ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Selüler bölmelerdeki süperoksid düzeylerini kontrol etmede önemli rol oynar.

$$2O_2 + 2H \Longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

SOD'un katalize ettiği reaksiyonun hızı spontan reaksiyonun yaklaşık 4000 katıdır. İnsanda SOD'un iki tipi bulunmaktadır. Bunlar sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn ihtiva eden izomer (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik Mn ihtiva eden izomerlerdir (MnSOD).

Her 2 SOD'un katalizlediği reaksiyon aynıdır. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksid serbest radikallerine karşı korumaktır. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde intraselüler süperoksid düzeyleri düşük tutulur. SOD'un ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür.

Süperoksit dismutaz aşırı üretimi olan transgenetik farelerin iskemik beyin hasarına karşı olduça dirençli olduğu, yine bu farelerde iskemi süresince peroksinitrit oluşumunun ve mitokondriyal disfonksiyonun daha az olduğu gösterilmiştir (101).

2.3.5.2. Katalaz:

Katalaz (CAT), doğada özellikle bitkilerde bolca bulunan, 4 adet hem grubu içeren bir hemoproteindir. Görevi, hidrojen peroksidi oksijen ve suya indirgemektir (102). Peroksidaz aktivitesine ek olarak, bu enzim bir molekül hidrojen peroksidi elektron verici bir substrat olarak, diğerini de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir. Peroksizomların yapısal bir bileşeni olan oksidaz enzimlerden birisidir (84,103).

$$2H_2O_2 \Longrightarrow 2H_2O + O_2$$

Katalaz, H_2O_2 yi yisubstrat olarak, hem elektron alıcısı hemde elektron vericisi olarak kullanmaktadır (104).

Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksid ve metil, etil hidroperoksidleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksidlerine ise etki etmez (105).

Katalazın temel fonksiyonu, moleküler oksijen mevcudiyetinde metabolizmanın bazı kademelerinde sentezlenen, H_2O_2 nin ve ROOH gibi bir peroksidin giderek, özellikle

membranlarda oluşturabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemektir (106,107).

2.3.5.3. Nitrik oksit:

Nitrik oksit sentezi, L-Arginin'in guanido grubundaki nitrojenin hidroksilasyonu ile oluşur. Bu reaksiyon Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından katalize edilir. Reaksiyonda L-Arginine moleküler O_2 eklenir ve sitrülin oluşur. Bu reaksiyon için O_2 yanında indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), L-Arginin, guanido nitrojen atomuna ihtiyaç vardır (108). Nitrik Oksit birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol alan, hücre içi ve hücreler arasında mediatör olarak görev yapan, yarı ömrü çok kısa olan (t ½ =4 saniye) bir mediatördür. NOS'un üç farklı izoformu bulunmaktadır: nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS), endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) olarak adlandırılır (109,110)

Beynin NOS içeriğinin diğer dokulara göre oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca çeşitli hastalıklar, ilaçlar ve beslenmenin de serum NO düzeyleri üzerinde farklı etkilerinin olduğu bildirilmektedir (109,111).

NO bazı durumlarda bir antioksidan gibi davranır ve lipid peroksidasyonundan korur. Bununla birlikte süperoksid düzeylerinin arttığı durumlarda süperoksidle reaksiyona girerek prooksidan olan peroksinitrit oluşur (112). Peroksinitritin, lipid, protein ve DNA üzerine son derece toksik etkileri olduğu bilinmektedir (109,111,113,114)

NO'in esas nörotoksik etkisi peroksinitrit oluşumunda prekürsör olmasından kaynaklanmaktadır. NO'in Santral Sinir Sisteminde önemli nörotransmitter olan glutamat ile çok sıkı ilişkisi vardır. Nöronlardaki presinaptik terminallerden salgılanan glutamat, postsinaptik membrandaki N-Metil-D-Aspartat (NMDA)'a bağlandığında, membranın Ca^{++} iyon kanalları açılarak hücre içindeki Ca^{++}'da artma meydana getirir. Ca^{++} bağımlı nNOS uyarılarak NO üretimi başlar. İskemi sırasında ortaya çıkan ve birer serbest radikal olan süperoksit anyonu ile NO'in reaksiyonu ile peroksinitrit oluşur (114-118).

2.3.6. Oksidan stresin belirlenmesinde kullanılan diğer enzimler:

2.3.6.1. Ksantin Oksidaz:

Ksantin oksidaz (XO) veya ksantin oksidoredüktaz, kompleks bir molibdoflavo enzimdir.

Pürin katabolizmasının terminal enzimidir. Hipoksantinin ksantine onun da ürik asite hidroksilasyonunu katalizler. Ksantin oksidaz hasarlanmamış dokularda bir dehidrojenaz olarak vardır, pürinlerin yıkılım yolunda hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit oluşumu basamaklarında elektron alıcısı olarak moleküler oksijenden (O_2) daha çok NAD^+ kullanır. Oksijensizliğe bağlı olarak ADP'nin ATP'ye fosforilasyonunun azaldığı durumlarda (iskemi durumlarında) ADP yıkılır ve pürin bazı, ksantin oksidazın bir oksidaz olarak etkili olmasıyla hipoksantine dönüştürülür. Ksantin oksidazın oksidaz olarak aktivite göstermesi durumunda hipoksantin ksantine ve ksantin ürik aside dönüşürken moleküler oksijen kullanılmakta, moleküler oksijen hidrojen perokside indirgenmektedir. İskemi durumlarında oksijen seviyesi düşük olduğundan önemli hasar olmaz. Ancak oksijen seviyesi reperfüzyon sırasında normale dönünce iskemi yerinde ksantin oksidaz etkisiyle fazla miktarda H_2O_2 ve O_2- oluşur, bunların etkisiyle de iskemi/reperfüzyon hasarı denen durum ortaya çıkar.(119-121).

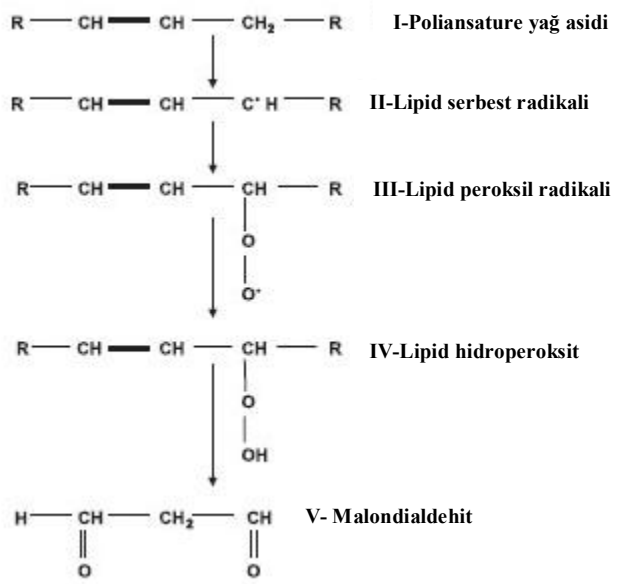
Dokuda belli stres koşulları altında tiyol gruplarını okside eden ve proteolizise neden olan bir oksidaz enzimine dönüşür. Ksantin oksidazın faaliyeti sonucunda süperoksit anyonu ve hidroperoksit radikalleri oluşmaktadır. Ksantin oksidazın beyinde ödem, iskemi, damar geçirgenliğinde değişkenlik gibi oksidatif hasarlara neden olduğu ayrıca hepatit ve beyin tümörü vakalarında da serum düzeylerinin arttığı aktarılmaktadır (122).

2.3.6.2. Malondialdehit:

Malondialdehit, poliansatüre yağ asitlerinin, ROP ile indirgenmesi sonucunda oluşan son üründür (123).

$$\mathbf{CH_2(CHO)_2 \Longrightarrow HOCH{=}CH\text{-}CHO}$$

Reaktif bir aldehit olarak görev yapmaktadır. Protein yapılara kovalent olarak bağlanarak hücrelerde toksik hasara sebep olabilmektedir (124).
Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA, kimyasal olarak aktif bir moleküldür. Çevresindeki hücre ve daha sonrasında dokulara kolayca difüze olarak moleküler düzeyde özellikle proteinler üzerine zararlı etkiler gösterebilir (125).



Şekil 2. Poliansature yağ asitlerinden MDA oluşumunun şematik basamakları

2.3.7. Non-enzimatik antioksidanlar:

Hücre içi ortamın aksine hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır. Bu nedenle hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan minör olarak enzimler, major olarak E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, β karoten, ürik asit, glukoz, sistein sorumludur (70).

Fenolik bileşiklerin, karotenoidlerin, selenyum ve laktoferrinin de antioksidan olarak görev yaptığı bilinmektedir (16,17). Fenolik bileşikler, benzenin hidroksi türevleri olan sekonder metabolitlerdir ve bitkilerde fazla miktarda bulunur. Fenollerin antioksidan etkileri de benzen halkasında hidroksi gruplarının bulunmasından kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılır. 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 (17,18).

Polifenoller; çeşitli meyve ve sebzelerde bulunur. Çok çeşitli bileşiklerden oluşur ve birçok sınıfı vardır. Bunlara örnek olarak; hidroksibenzoik asitler, hidroksisinnamik asitler, antosiyanidinler, proantosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanoller, flavanonlar, isoflavonlar, stilbenler ve lignanlar verilebilir (19).

Flavonoidlerin aynı zamanda ksantin oksidaz, glutatyon redüktaz, NADH-oksidaz, protein kinaz gibi bazı enzimleri inhibe ettiğine dair yayınlar vardır (20-25).

2.4. KIZILCIK:

Kızılcık meyvesi, Asya ve Avrupa'da büyüyen yabani bir bitki olup Anadolu'da da kızılcık ağacında yetişen bir meyvedir. Kızılcık cinsi içinde 65 çeşit tür vardır. Türkiye'de yılda yaklaşık 12,800 ton kızılcık meyvesi üretilmektedir. Kızılcık meyvesi direk olarak yenilebildiği gibi, reçel, marmelat, pestil, şerbet olarak da tüketilebilir (28,128).

Çin bitkisel tedavisi uygulamalarında kızılcık meyvesi tonik, analjezik ve diüretik olarak kullanılmaktadır (129).

Ayrıca antibakteriyel, antihistaminik, antiallerjik, antimikrobiyal ve antimalaryal aktivitesi olduğu da bildirilmiştir (130).

Taze kızılcık meyveleri, portakala göre 2 kat daha fazla askorbik asit içermekte olup şekerden, antosiyaninden, organik asitten ve tanenlerden zengindir (131). Kızılcık yapraklarında antioksidan özellikli gallik asit, ellajik asit bulunmaktadır (132). Türkiye'de yetiştirilen kızılcık meyvesinin fizikokimyasal ve antioksidan özelliklerini gösteren bir çalışmada bu bitkinin çok yüksek oranda antosiyaninlerle beraber birçok fenolik bileşik ve askorbik asitten zengin olduğu gösterilmiştir (27).

Daha önceki çalışmalarda kızılcık meyvesinin esas olarak 5 antosiyanin içerdiği kâğıt kromatografik, spektofotometrik ve peroksit oksidasyon analizi ile gösterilmiştir. Bu antosiyaninler; delfinidin 3-galaktozid, siyanidin 3-galaktozid, siyanidin 3-ramnozilgalaktozid, pelargonidin 3-galaktozid ve pelargonidin 3-ramnozilgalaktozid olarak belirlenmiştir (133,134).

Daha sonraki çalışmalardan elde edilen verilerde kızılcık meyvesi içerisindeki flavonoidler; aromadendrin 7-O-β-D-glukozid, kuersetin 3-O-rutinosid, kuersetin 3-O-β-D glukronid, kuersetin 3-O-β-D-ksilosid, kuersetin 3-O-α-L-ramnozid, kuersetin 3-O-β-D-galaktozid, kuersetin 3-O-β-D-glukozid, kaempferol 3-O-β-D-galaktozid, siyanidin 3-O-galaktozid, pelargonidin 3-O-glukozid ve pelargonidin 3-O-rutinosid şeklinde belirtilmiştir (135).

2.5. DUT:

Moracea; (Dut ailesi) 40 çeşit ve 1000 türden oluşan bir bitki ailesidir. Bu aileden olan Morus (dut)'un 10-16 çeşidi vardır (136). Tropikal bölgelerde, subarktik bölgelerde ve deniz seviyesinden 4000 metreye kadar olan bütün alanlarda yetiştirilebilir (137). Türkiye'de beyaz dut (*Morus alba*), kırmızı dut (*Morus rubra*) ve karadut (*Morus nigra*) yetiştirilebilir (138). Dut meyvesi direk olarak yenilebildiği gibi pestil, pekmez şeklinde de tüketilebilir (29).

Birçok dut çeşidinde, dut meyvesi öncelikli olarak açık sarı renginde olur ve olgunlaşma aşamasında önce kırmızı sonra da koyu mor ya da siyaha dönüşür (139,140).

Dut yaprakların diüretik, hipoglisemik ve hipotansif aktiviteleri vardır (139-142).

Dut ağacının kök kabuğu da çok uzun zamandır antiinflamatuar, antitüsif ve antipiretik amaçlı kullanılmaktadır (143).

Dut meyvesi dizanterinin tedavisinde, tonik, sedatif, laksatif, odontaljik, antihelmintik, ekspektoran ve emetik olarak kullanılabilmektedir (144,145).

Dut türleri ile yapılan daha önceki çalışmalarda dut meyvesinde yağların ve yağ asitlerinin, C vitamininin, minerallerin, fenoliklerin ve flavonoidlerin olduğu gösterilmiş (29), dahası özellikle bazı organik asitlerin ve antosiyaninlerin olduğu görülmüştür (146).

Kırmızı dutun; yağ asitlerinden, (linoleik asit, palmitik asit, miristik asit, stearik asit gibi), askorbik asitten, fenoliklerden ve flavonoidlerden zengin bir gıda olduğu gösterilmiştir (29). Dut çeşitlerinde görülen esas yağ asidi linoleik asittir. Yapılan bir çalışmada dut çeşitlerinde bulunan mineraller; azot (N), fosfor (P), potasyum (K),

kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), sodyum (Na), demir (Fe), bakır (Cu), mangan (Mn) ve çinko (Zn) olarak sayılabilir. Fosfor, potasyum, kalsiyum açısından beyaz dut daha zenginken azot ve mangandan karadut zengindir. Magnezyum, sodyum ve demir içeriği ise en fazla kırmızı dutta bulunmuştur (29).

Dut çeşitleri ile yapılan başka bir çalışmada beyaz dut ve karadutta kuersetin 3-O-rutinosid, kaempferol 3-O-rutinosid ve kuersetin 3-O-glukozid olduğunu, beyaz dutta bunlardan farklı olarak değişik içeriklerinde olduğu bildirilmiştir (147).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından TSU–12–3901 proje kodu ile desteklenmiş ve 12/16 no'lu Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'nın onayı alınarak gerçekleştirilmiştir.

3.1. DENEY HAYVANLARI

Çalışmada 66 adet albino erkek Wistar sıçan kullanıldı. Hayvanlar Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden temin edildi. 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış ve 22 ± 4°C'lik oda sıcaklığında, ortalama ağırlıkları 225-260 g arasında 8-12 haftalık olana kadar yetiştirilen denekler, deneysel çalışmalar başlamadan 10 gün önce araştırma merkezinden alındı ve üçerli gruplar halinde saydam plastik kafeslere konularak Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi Araştırma Laboratuarına nakledildi.

3.2. KİMYASAL MADDELER VE UYGULANIŞ ŞEKİLLERİ

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 eksitabiliteyi artırmakta ve epileptiform aktiviteye neden olmaktadır.

Bu çalışmada penisilin, epileptiform aktivite oluşturmak üzere 500 ünite (IU) doz ve 2,5 mikrolitre (µL) hacimde i.c. yoldan uygulandı (Penisilin kan–beyin bariyerini geçemediği için intrakortikal olarak verildi). 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).

3.3. MEYVE ÖRNEKLERİNİN HAZIRLANMASI:

Ülkemizde tescilli *Cornus mas* (Kızılcık) ve *Morus rubra* (Kırmızı Dut) çeşidi bulunmadığı için çalışmamızda, seleksiyon çalışmaları ile elde edilmiş ve Malatya Meyvecilik Araştırma İstasyonu Koleksiyonunda bulunan ümitvar tipler kullanılmıştır. *Cornus mas* türünde "44-01" tipinden ve *Morus rubra* türünde ise "R7 ve R8" tipinden meyvelerin tam olarak olgunlaştığı dönemde hasat yapılmıştır. Toplanan meyvelerden her tür için 1 kg alınmış ve bunlar buz kutusu içerisinde laboratuara getirilmiştir. Yıkanarak temizlenen meyve örnekleri (*Cornus mas*'da meyve çekirdekleri çıkarıldıktan sonra) meyve öğütücüde parçalanarak yoğun kıvamlı meyve suyu haline getirilmiştir. Elde edilen meyve suları analiz zamanına kadar -80ºC de muhafaza edilmiştir.

3.4. MEYVE ÖRNEKLERİNİN FENOLİK BİLEŞİKLERİNİN BELİRLENMESİ:

Kızılcık için daha önce yapılan çalışmalarda fenolik komponent içeriği için gallik asit bir standart olarak belirlendi. Total fenolik içerik, kuru meyve ağırlığı baz alınarak mg gallik asit olarak belirlendi. Örneklerin total antioksidan kapasitesi için hidrojen atom transfer reaksiyonu için (beta karoten ağartma değerlendirilmesi=beta carotene bleaching asssay) ve elektron transferini baz alan değerlendirme (ferrik azaltıcı antioksidan gücü, FRAP assay) kullanıldı. Askorbik asit içeriği ve 100 g meyve ağırlığındaki total antosiyanidin içeriğinin de mg olarak verildiği bu çalışmaya göre 44-01 genotipinin 65.73b mg gallik asit ekivalanı/gram meyve ağırlığı (GAE/g fw) içerdiği, %88.90 a-c Beta karoten ağartma değerlendirmesine sebep olduğu görüldü. FRAP analizinde 109 a-c mikromol (µmol) L-Askorbik asit standart solüsyonu/gram kuru meyve olarak hesaplandı. Askorbik asit miktarı 37 kl

mg/100g idi. Total antosiyanidinler ise 100 gram meyve ağırlığı için 172 fg mg olarak bulundu. Bu çalışma baz alınarak total fenolik içerik hesaplandı (148).

Dut için yapılmış çalışmalarda R7 için total fenolik içerik 1005±87 mikrogram (µg) GAE /g fw ve R8 için 2388± 87 µg GAE/g fw olarak hesaplandı. Total monomerik antosiyanin miktarı (TMA) R7 için 3±1 ve R8 için 200±5 µg siyanidin-3-glukozid/ fw ekivalanı olarak bulundu. Trolox ekivalan antioksidan kapasite (TEAC) R7 için 5.1±1.6 ve R8 için 7.1±0.2 mikrometre (µm) TE/g fw olarak hesaplandı. FRAP değeri R7 için 3.7±0.2 ve R8 için 6.7 ±1.1 µm TE/g fw olarak hesaplandı. Bu çalışma baz alınarak total fenolik içerik hesaplandı (149).

3.5. DENEY GRUPLARI

Dut ve kızılcık özütü ile epilepsi arasındaki ilişkiyi göstermek ve cerrahi işlemler ve epileptik aktivite oluşturulup etkin doz bulunduktan sonra kanda Nitrik oksit, Süperoksit dismutaz, Katalaz, Ksantin oksidaz ve MDA'nın değerlerine bakmak için aşağıdaki deney grupları oluşturuldu.

1. Grup — Kontrol grubu (n=6); Herhangi bir madde verilmeden beyin korteksi açılarak minimum 210 dakika kayıt alındı.
2. Grup — Sham grubu (n=6); Beyin korteksi açıldıktan sonra intraperitoneal olarak SF uygulanıp cerrahi strese maruz bırakıldı.
3. Grup — Penisilin grubu (n=6); 500 IU (2,5 µL i.c) penisilin uygulandıktan sonra minimum 210 dakika kayıt alındı.
4. Grup — Penisilin + 2,5 mg/kg dut özütü grubu (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 2,5 mg/kg dut özütü intraperitoneal (i.p.) yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.
5. Grup — Penisilin + 5 mg/kg dut özütü grubu (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 5 mg/kg dut özütü i.p. yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.
6. Grup — Penisilin + 10 mg/kg dut özütü (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 10 mg/kg dut özütü i.p. yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.

7. Grup Penisilin + 20 mg/kg dut özütü grubu (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 20 mg/kg dut özütü i.p. yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.

8. Grup Penisilin + 2,5 mg/kg kızılcık özütü grubu (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 2,5 mg/kg kızılcık özütü i.p. yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.

9. Grup Penisilin + 5 mg/kg kızılcık özütü grubu (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 5 mg/kg kızılcık özütü i.p. yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.

10. Grup Penisilin + 10 mg/kg kızılcık özütü grubu (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 10 mg/kg kızılcık özütü i.p. yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.

11. Grup Penisilin + 20 mg/kg kızılcık özütü grubu (n=6); 500 IU penisilin uygulandıktan 30 dakika sonra 20 mg/kg kızılcık özütü i.p. yoldan verilerek minimum 210 dakika kayıt alındı.

3.6. CERRAHİ İŞLEM

Deneylere başlamadan 24 saat önce aç bırakılan sıçanların ağırlıkları belirlenerek 1,25 gr/kg üretan i.p. yoldan verilerek anesteziye alındı ve kulaklarının arkalarına kadar başlarının üst kısmındaki kılların tıraşları yapıldı (Şekil 3 ve 4).

Sıçanların tıraşları yapıldıktan sonra operasyon masasına sabitlendi. Hayvanların kafa derisi rostro-kaudal doğrultuda, bir bistüri ile yaklaşık 3 cm uzunluğunda açılıp, kafa derisi altındaki yumuşak dokuda oluşabilecek kanamalar elektrokoter vasıtasıyla önlendi. 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 önlendi.

Şekil 3. Deneklere intraperitoneal yolla üretan verilmesi

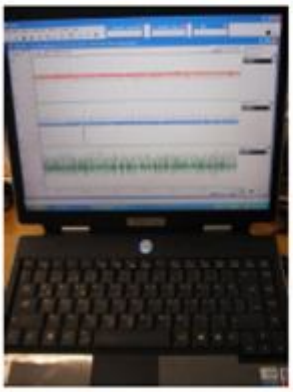
Şekil 4. Hayvanların tıraş edilmesi

3.7. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYITLAR

Korteks açığa çıkarıldıktan sonra hayvanlar stereotaksik cihaza sabitlenerek 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 ısısını 37 °C'de sabit tutabilmek için homeotermik bir battaniye (Harvard Instrument) kullanıldı. Elektrofizyolojik kayıt için 2 adet gümüş (Ag)/ gümüşklorür (AgCl) top elektrot kullanıldı. Top elektrotlardan pozitif olanı Bregmanın 1 mm anterior, sagital sütürün 2 mm lateraline, negatif olanı ise Bregmanın 5 mm posterior, sagital sütürün 2 mm lateraline yerleştirildi. Topraklama için 1 adet Ag/AgCl klemp elektrot kayıt jeli sürülerek sağ kulak kepçesine sabitlendi.

Elektrotlar ile alınan aktivite BioAmp (ADInstruments, Avustralya) arabiriminde yükseltilerek PowerLab 16/SP (ADInstruments, Avustralya) veri kazanım ünitesine anında aktarıldı. PowerLab ile korteksten elde edilen analog sinyaller sayısal hale dönüştürüldükten sonra bilgisayara aktarıldı. Beyin aktivitesi Chart v7.0 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ile görüntülenerek deney sonrası analiz için bilgisayara kaydedildi. (Şekil 5 ve Şekil 6)

A

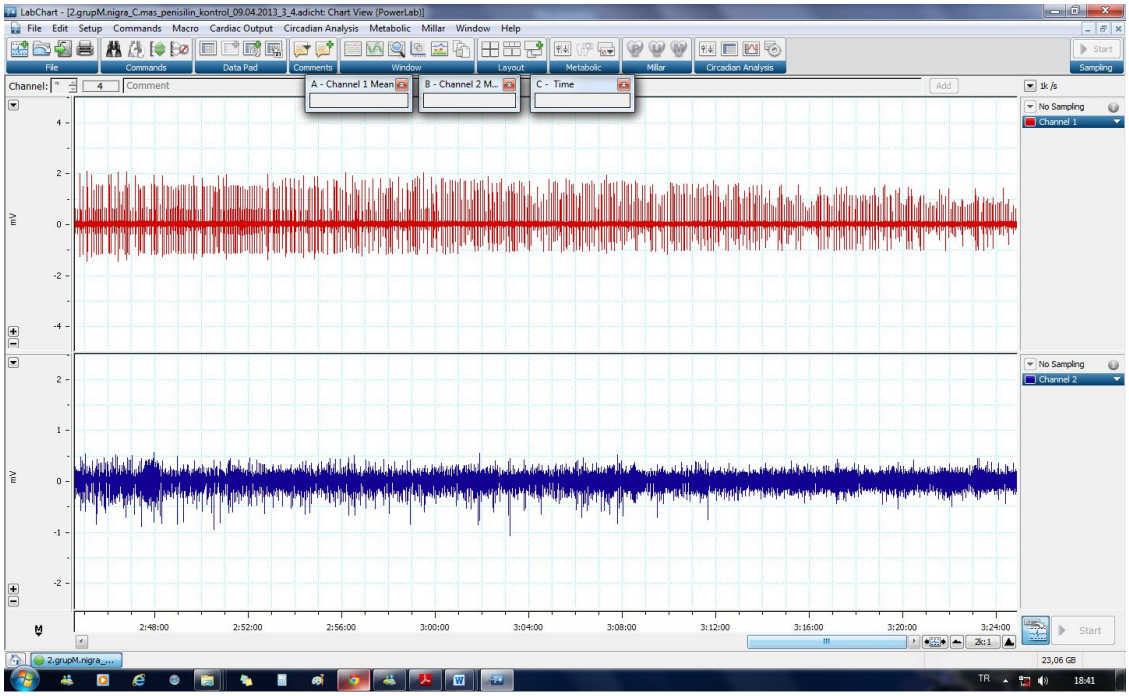


B

C

Şekil 5. Elektrofizyolojik kayıt düzeneği

A. Hayvanların sterotaksik cihaza yerleştirilmesi,
B. Verilerin bilgisayara aktarılması,
C. Kayıt esnasında hayvanların vücut ısılarını 37°C'de sabit tutabilmek için kullanılan homeotermik battaniye



Şekil 6. Elektrofizyolojik kayıt için kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü

3.8. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

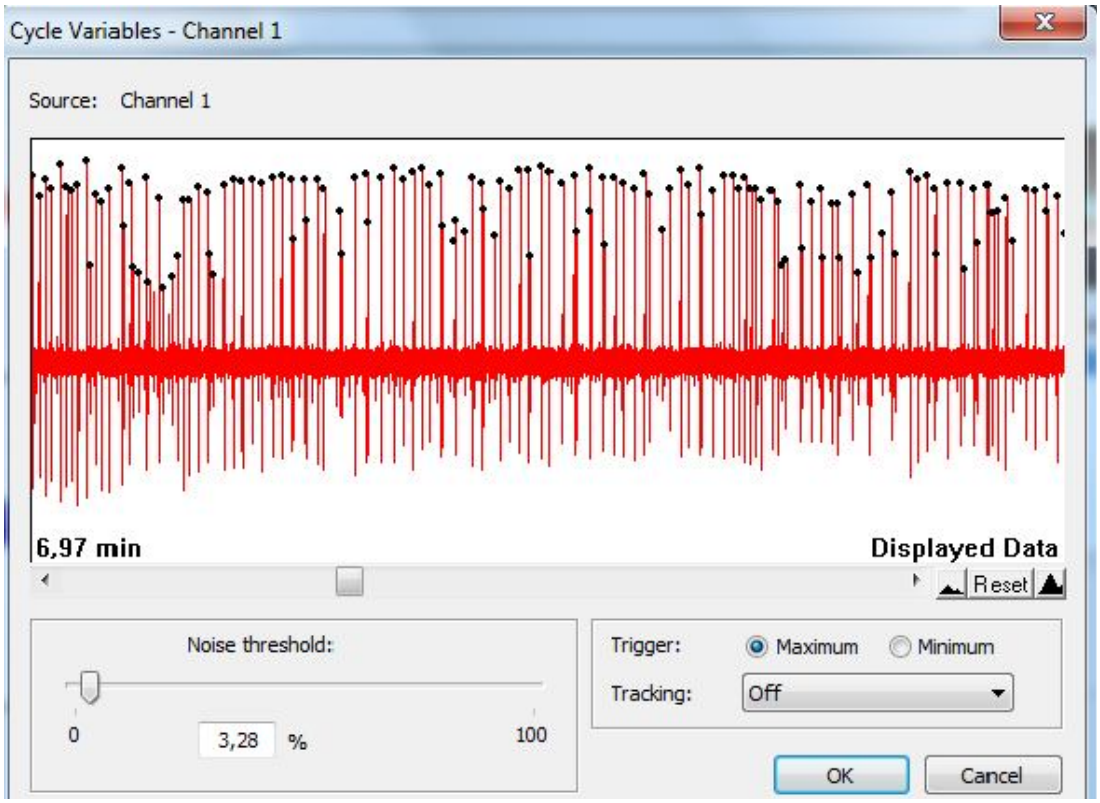
Bilgisayara kaydedilen elektrofizyolojik kayıtlar Chart v7.0 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık bölümlere ayrıldı. Her bir dakika başına düşen spike sayısı ve spike'ların ortalama amplitüdleri (peak-to-peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 5). 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.

Kızılcık amplitüd ve frekans sonuçları için 10'ar dakikalık aralıkla değerlendirmeler yapıldı. 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg özüt verilmesinin ardından elde edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Varyans analizi için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Grup karşılaştırması için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Dut amplitüd ve frekans sonuçları için 10'ar dakikalık aralıklarla değerlendirmeler yapıldı. 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg özüt verilmesinin ardından elde

edilen verilerin normal dağılıma uygunluğu için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Varyans analizi için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Grup karşılaştırması için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı.

$p \leq 0.0125$ altı değerler anlamlı olarak kabul edildi.



Şekil 7. Epileptik aktivite de spike frekansı ve amplitüdün hesaplanmasında kullanılan kayıt programının işlem penceresi görüntüsü.

Nokta bulunan diken dalgalar hesaplamada kullanılanları göstermektedir.

3.9. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Elektrofizyolojik kayıtlar sırasında gruplardan örnekler tam kan şeklinde alınıp sitratlı tüplere konuldu. Kontrol grubundan ve sham grubundan kan örnekleri alındı. Penisilin grubundan, kararlı bir düzeyde amplitüd ve spike frekans elde edildikten sonra kan örnekleri alındı. Kayıtlar sırasında etkin doz elektrokortikogram ile belirlendikten sonra, belirgin olarak konvülsiyonların spike frekansında ve amplitüdünde düşme yapan dozlar belirlendiğinde, deneklerden örnekler alındı.

İşlemler tamamlandıktan sonra deneklere servikal dislokasyon yapıldı. Tam kan 1000 devirde, 4 santigrad derecede 10 dakika santrifüj edildi. Pipetle üst kısımdaki plazma alındı. Sonrasında eritrositler 2 kez SF ile yıkandı. Eritrosit paketleri hazırlanarak -80 derecede numuneler saklandı. Lipid peroksidasyonunu değerlendirmek amacıyla plazma ve eritrosit MDA (plazma için nmol/mL eritrosit için nmol/g Hgb) seviyelerine bakıldı. MDA değerlendirmesi, IMMUNDIAGNOSTIK marka kit (Katalog No:KC1900) ile HPLC yöntemiyle yapıldı. Oksidan stresi değerlendirmek amacıyla Nitrik Oksit (NO), Katalaz (CAT), Ksantin Oksidaz (XO) ve Süperoksid Dismutaz (SOD) seviyelerine bakıldı. Nitrik oksit değerlendirilmesi (µmol/L) CAYMAN marka kit (Katalog No:780001) ile eritrositlerde ve plazmada ELISA yöntemi ile yapıldı. XO değerlendirilmesi [mikroünite (µU)/mL] CAYMAN marka kit (Katalog No:10010895) ile eritrositlerde ve plazmada ELISA yöntemi ile yapıldı. SOD değerlendirilmesi (U/mL) CAYMAN marka kit (Katalog No:706002) ile eritrosit ve plazmada ELISA yöntemi ile yapıldı. Katalaz değerlendirilmesi (nmol/dk/mL) CAYMAN marka kit (Katalog No:707002) ile eritrositlerde ve plazmada ELISA yönemi ile yapıldı.

Biyokimyasal çalışmaların verileri IBM SPSS Statistics 20 ve Sigmastat 3.5 istatistik paket programlarında değerlendirildi. Verilerin normal dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Grupların karşılaştırılmasında Tek yönlü varyans analizi ile Kruskal-Wallis Analizi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testleri olarak Student-Newman-Keuls ile parametrik olmayan Dunn testi kullanıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ:

4.1.1. Eritrositlerde Yapılan Çalışma Sonuçları:

Ksantin oksidaz için eritrositlerde yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 4. Eritrositlerde XO için Ortalama Değerler

Grup Adı	Ortalama Değerleri (µU/mL)
Kontrol	7,898
Sham	7,758
Penisilin	11,283
Dut	7,017
Kızılcık	4,802

Gruplar arası p=0.087

Ksantin oksidaz için eritrositlerde yapılan istatistiksel analiz sonucunda anlamlı fark saptanmadı *(p*=0.087).

Katalaz için eritrositlerde yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 5. Eritrositlerde CAT için Ortalama Değerler

Grup Adı	Ortalama Değerleri (nmol/dk/mL)
Kontrol	75,502
Sham	98,646
Penisilin	89,687
Dut	103,972
Kızılcık	94,573

Gruplar arası p=0.134

Katalaz için eritrositlerde yapılan istatistiksel analiz sonucunda anlamlı fark saptanmadı *(p*=0.134).

Süperoksit dismutaz için eritrositlerde yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 6. Eritrositlerde SOD için Ortalama Değerler

Grup Adı	Ortalama Değerleri (U/mL)
Kontrol	48,397
Sham	42,272
Penisilin	45,100
Dut	44,743
Kızılcık	35,588

Gruplar arası p=0.835

SOD için eritrositlerde yapılan istatistiksel analiz sonucunda anlamlı fark saptanmadı *(p*=0.835).

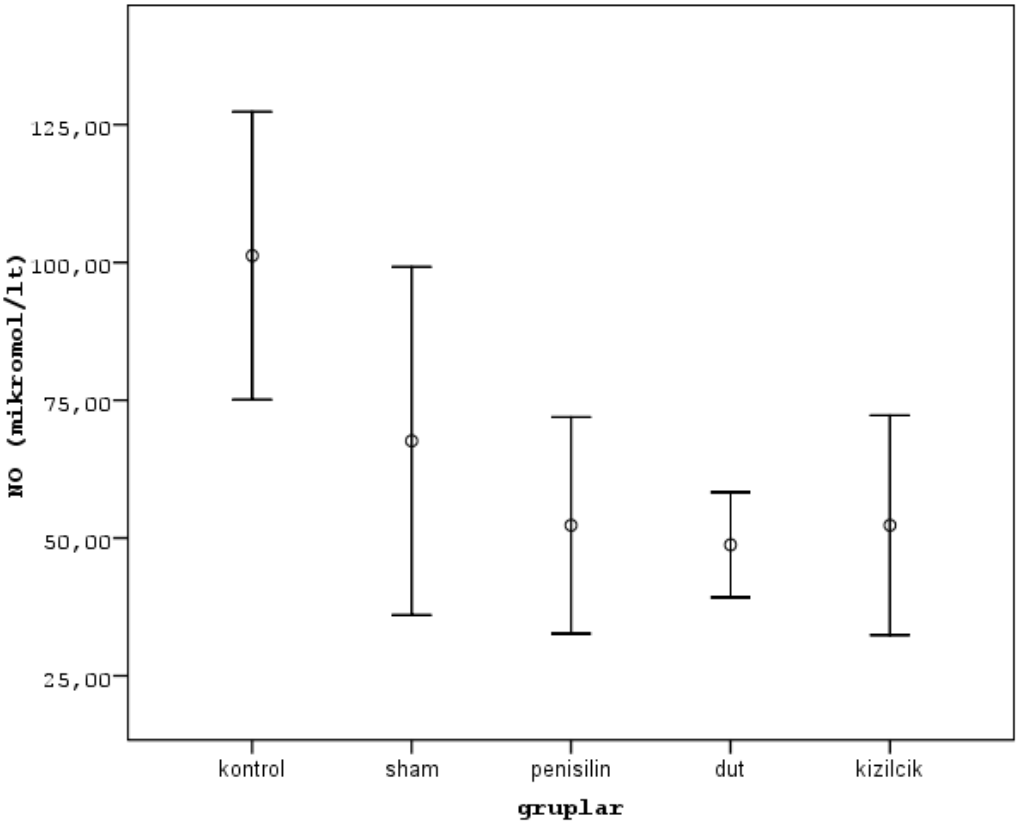
Nitrik oksit için eritrositlerde yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 7. Eritrositlerde NO için Ortalama Değerler

Grup Adı	Ortalama Değerleri (µmol/L)	*p* değerleri
Kontrol	101,233	
Sham	67,626	Kontrol-Sham için *p*=0.001
Penisilin	52,313	Kontrol-Penisilin için *p*=0.008
Dut	48,763	Kontrol-Dut için *p*=0.001
Kızılcık	52,317	Kontrol-Kızılcık için *p*=0.001

Penisilin-dut için p=0.77, kızılcık-dut için p=0.93, sham-penisilin için p=0.46

NO açısından kontrol grubuyla sham grubu arasında istatistiksel açıdan fark vardı *(p*=0.001). Kontrol grubunda bu değerin ortalaması 101,233 µmol/L iken sham grubunda 67,626 µmol/L idi. Kontrol grubuyla penisilin grubu arasında anlamlı fark vardı *(p*=0.008). Penisilin grubunda bu değerin ortalaması 52,313 µmol/L idi. Penisilin- dut, penisilin-kızılcık grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu *(p*>0.05). Dut grubunda ortalama 48,763 µmol/L, Kızılcık grubunda ortalama 52,317 µmol/L idi.



Şekil 8. Eritrosit NO Değerlerinin Karşılaştırılması

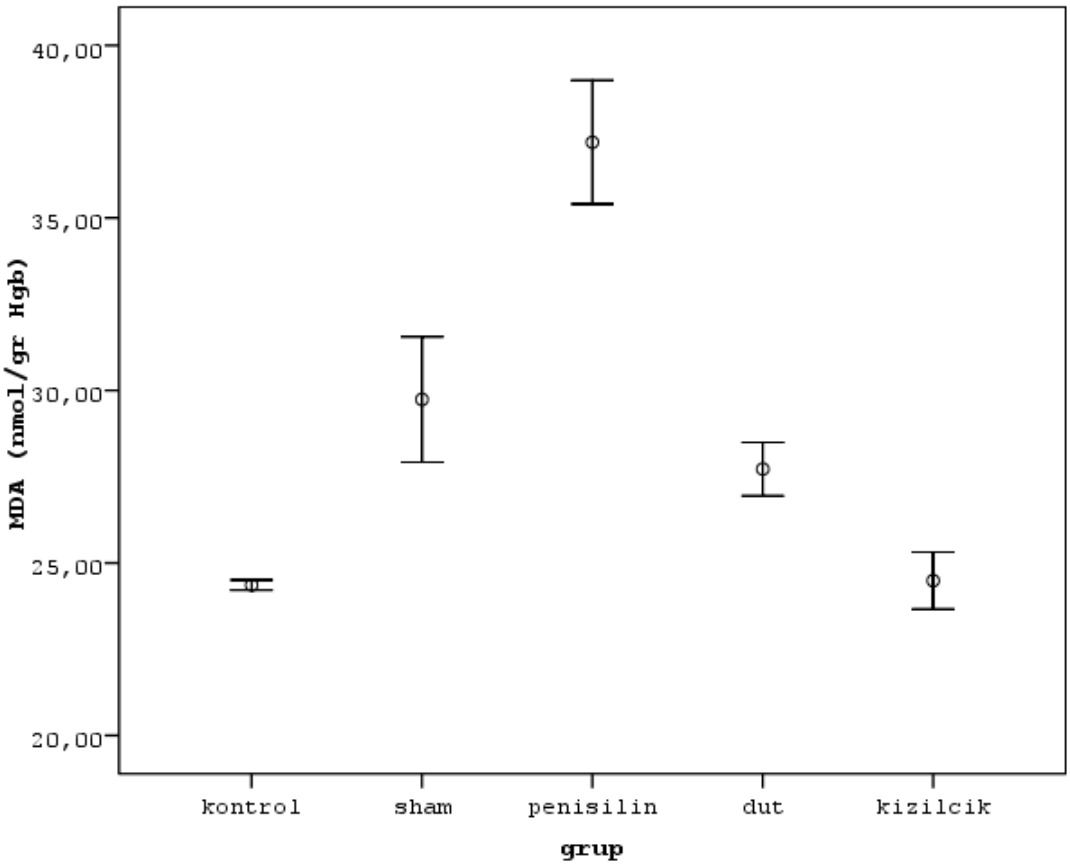
Malondialdehit için eritrositlerde yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 8. Eritrositlerde MDA için Ortalama Değerler

Grup Adı	Ortalama Değerleri (nmol/g Hgb)	p Değerleri
Kontrol	24,360	Kontrol-Penisilin için $p<0.001$
Sham	29,740	Sham-Kontrol için $p<0.001$
Penisilin	37,193	Penisilin-Sham için $p<0.001$
Dut	27,722	Dut-Penisilin için $p<0.001$
Kızılcık	24,488	Kızılcık-Penisilin için $p<0.001$ Kızılcık-Dut için $p<0.001$

MDA için eritrositlerde yapılan çalışmalarda sham-kontrol ($p<0.001$), penisilin-kontrol ($p<0.001$), penisilin-sham ($p<0.001$), penisilin-kızılcık ($p<0.001$), penisilin-dut ($p<0.001$), dut ve kızılcık ($p<0.001$) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı

fark vardı. En yüksek MDA değeri penisilin grubundaydı (37,193 nmol/g Hgb). En düşük değer kızılcık grubundaydı (24,488 nmol/g Hgb).



Şekil 9. Eritrosit MDA Değerlerinin Karşılaştırılması

4.1.2. Plazmada Yapılan Çalışma Sonuçları:

Katalaz için plazmada yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 9. Plazmada CAT için Ortalama Değerler

Grup Adı	Ortalama Değerleri (nmol/dk/mL)
Kontrol	10,720
Sham	40,790
Penisilin	59,883
Dut	43,117
Kızılcık	32,425

Gruplar arası p=0.115

Katalaz için plazmada yapılan istatistiksel analiz sonucunda anlamlı fark saptanmadı (*p*=0.115).

Süperoksit dismutaz için plazmada yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 10. Plazmada SOD için Ortanca Değerler

Grup Adı	Ortanca Değerleri (U/mL)
Kontrol	11,150
Sham	5,810
Penisilin	6,120
Dut	7,110
Kızılcık	8,715

Gruplar arası p=0.37

Süperoksit dismutaz için plazmada yapılan istatistiksel analiz sonucunda anlamlı fark saptanmadı *(p*=0.37).

Nitrik oksit için plazmada yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 11. Plazmada NO için Ortanca Değerler

Grup Adı	Ortanca Değerleri (µmol/L)
Kontrol	13,430
Sham	56,945
Penisilin	59,720
Dut	48,380
Kızılcık	71,760

Gruplar arası p=0.066

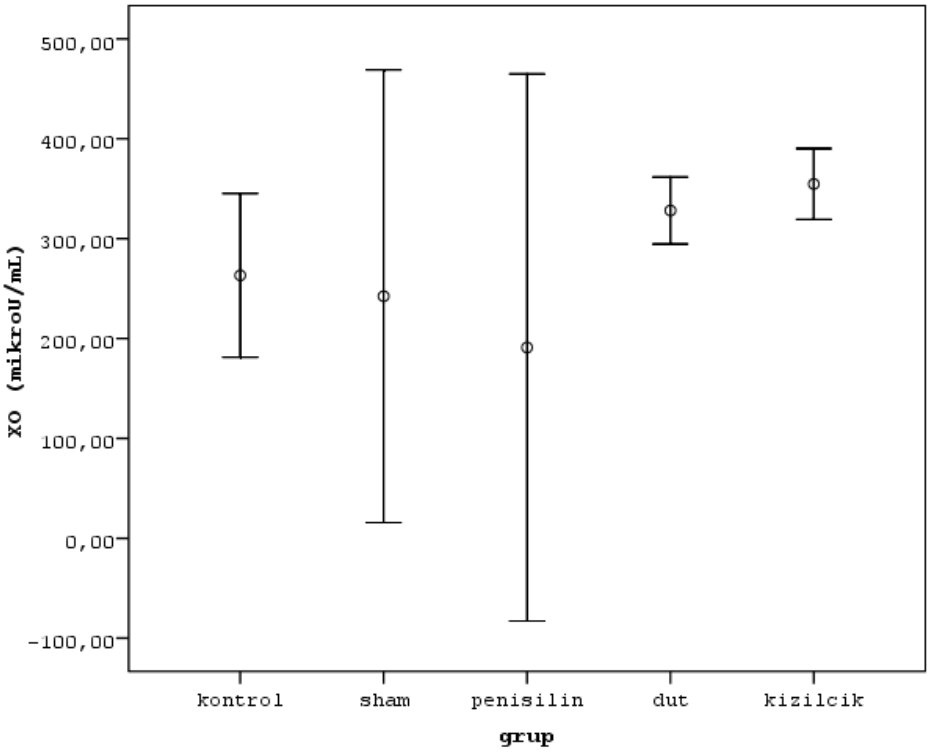
Nitrik oksit için plazmada yapılan istatistiksel analiz sonucunda anlamlı fark saptanmadı *(p*=0.066).

Ksantin oksidaz için plazmada yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 12. Plazmada XO için Ortalama Değerler

Grup Adı	Ortalama Değerleri (µU/mL)	p Değerleri
Kontrol	263,227	Kontrol-Sham için *p*=0.666
Sham	242,360	Sham-Penisilin için *p*=0.295
Penisilin	191,057	Penisilin-Kontrol için *p*=0.307
Dut	328,172	Dut-Penisilin için *p*=0.02
Kızılcık	354,753	Kızılcık-Penisilin için *p*=0.008

Ksantin oksidaz açısından bakıldığında kızılcık ve penisilin grubu (*p*=0.008) ile penisilin ve dut grubu (*p*=0.02) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. Penisilin grubunun ortalaması 191,057 µU/mL iken kızılcık grubunda ortalama değer belirgin yüksekti (354,753 µU/mL). Dut grubunda ortalama değer 328,172 µU/mL olarak kızılcıktan sonra ikinci yüksek değer olarak bulunmuştu. Tüm gruplar içinde en yüksek ortalama kızılcık grubundaydı.



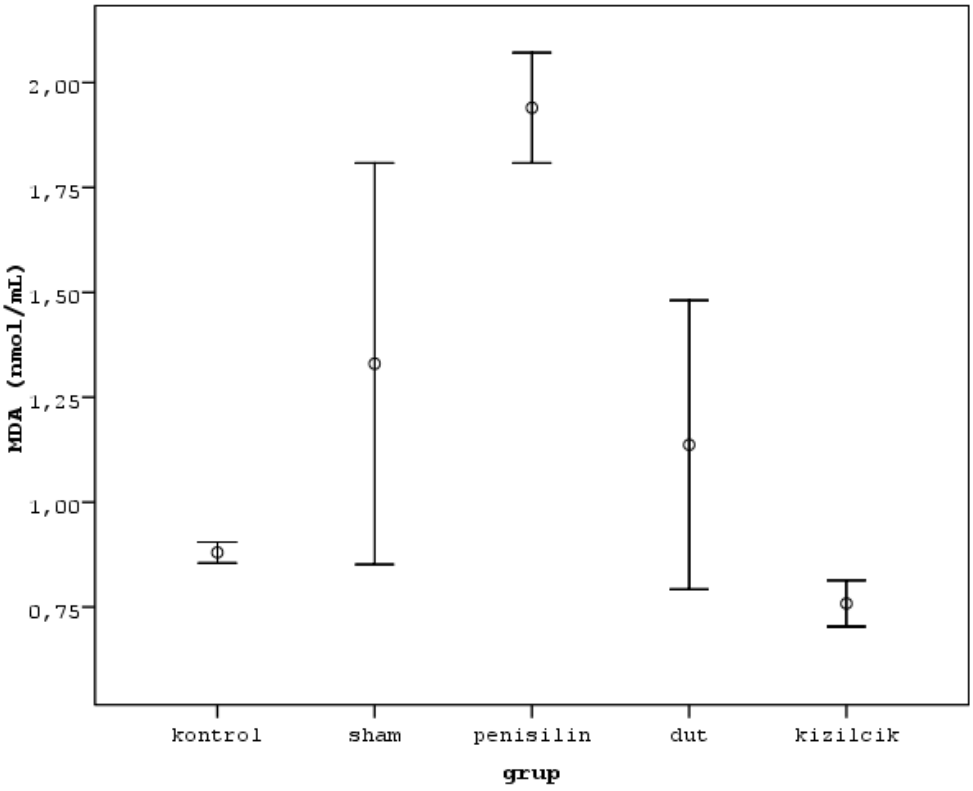
Şekil 10. Plazma XO Değerlerinin Karşılaştırılması

Malondialdehit için plazmada yapılan çalışma sonuçlarında aşağıdaki değerler bulundu:

Tablo 13. Plazmada MDA için Ortanca Değerler

Grup Adı	Ortanca Değerleri (nmol/mL)	p Değerleri
Kontrol	0,880	
Sham	1,295	
Penisilin	1,960	
Dut	0,995	Dut-Kızılcık için *p*<0.001
Kızılcık	0,745	Kızılcık-Penisilin için *p*<0.001

Malondialdehit açısından yapılan çalışmalarda penisilin-kızılcık *(p*<0.001) ve dut-kızılcık grupları arasında fark vardı *(p*<0.001). En yüksek ortanca değer penisilin grubundayken (1,96 nmol/mL), en düşük değer kızılcık grubundaydı (0,745 nmol/mL). Kontrol grubundaki ortanca değer ise kızılcıktan sonra ikinci düşük değerdi (0,880 nmol/mL).



Şekil 11. Plazma MDA Değerlerinin Karşılaştırılması

4.2. ELEKTROKORTİKOGRAM SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

4.2.1. Kızılcık için değerlendirmeler:

4.2.1.1. Amplitüdlerin değerlendirilmesi:

Amplitüd değerlendirmeleri için kontrol grubu, 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg kızılcık özütü verilerek kayıt alındı. 10'ar dakikalık verilerin değerlendirilmesi yapıldığında Tablo 14'deki değerler bulundu.

Tablo 14. Kızılcık Grubu Amplitüd Değerleri (Amplitüd=mV)

AMPLİTÜD(mV)	Kontrol	2.5mg/kg Kızılcık	5mg/kg Kızılcık	10mg/kg Kızılcık
İlk	1,207	0,925	1,153	1,051
10. dakika	1,273	0,950	1,122	0,980
20. dakika	1,425	0,912	1,00	0,960
30. dakika	1,399	0,876	1,038	0,969
40. dakika	1,263	0,841	0,923	0,788
50. dakika	1,311	0,798	0,979	0,834
60. dakika	1,252	0,755	0,855	0,794
70. dakika	1,260	0,685	0,876	0,747
80. dakika	1,231	0,769	0,860	0,679
90. dakika	1,251	0,716	0,879	0,668
100. dakika	1,251	0,722	0,813	0,697
110. dakika	1,115	0,673	0,771	0,627
120. dakika	1,176	0,672	0,755	0,632

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda kontrol grubuna göre amplitüdler açısından anlamlı fark bulunmadı.

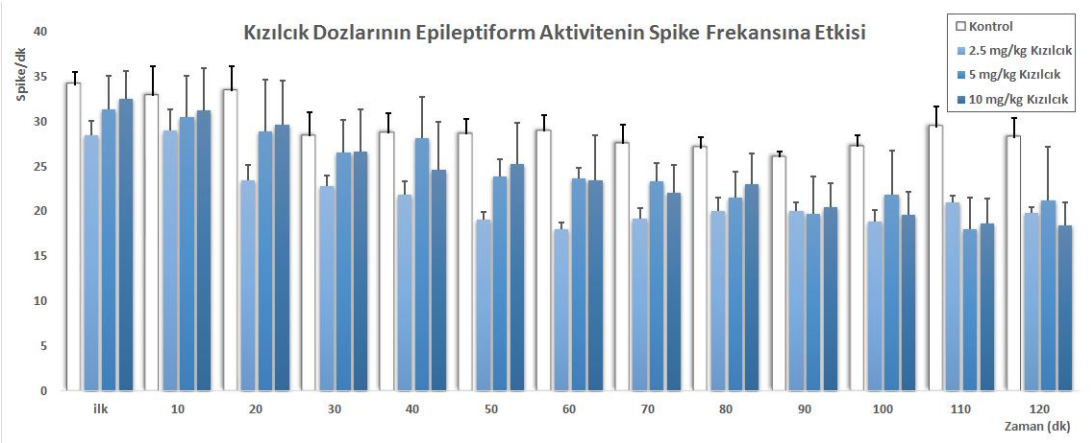
4.2.1.2. Spike Frekansların Değerlendirilmesi:

Kızılcık grubunda yapılan çalışmalarda, kontrol grubu ile 2,5 mg/kg özüt verilen grup arasında fark yoktu.

Kontrol grubu ile 5 mg/kg özüt verilen grup arasında 100. ve 110. dakikada fark bulundu. Bu fark 120. dakikada devam etmiyordu (*p* değerleri sırasıyla 0.003 ve 0.010 olarak bulundu.).

Kontrol grubu ile 10mg/kg özüt verilen grup arasında 20. dakikada bir fark bulundu (*p*=0.010). Bu fark takip eden 30., 40., 50. dakikalarda gözlenmedi. 60. dakikada anlamlı fark bulunurken (*p*=0.005) 70. dakikaya girildiğinde bu fark yeniden kayboldu (*p*=0.53). 80. dakikadan sonraki bütün spike frekans grubunda anlamlı fark vardı (*p* sırasıyla=0.008, 90. dakika için *p*=0.003, 100. dakika için *p*=0.008, 110. dakika için 0.003 ve 120. dakika için *p*=0.004 olarak hesaplandı.).

Kontrol grubu ile 20 mg/kg özüt verilen grup arasında 100. dakikada (*p*=0.004) ve 110. dakikada (*p*=0.010) bir fark bulundu. Diğer gruplarla kontrol grubu arasında fark yoktu.



Şekil 12. Kızılcık Grubu Spike Frekans Değerlendirmesi

4.2.2. Dut için değerlendirmeler:

4.2.2.1. Amplitüdlerin Değerlendirilmesi:

Amplitüd değerlendirmeleri için kontrol grubu, 2,5 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg dut özütü verilerek kayıt alındı. 10'ar dakikalık verilerin değerlendirilmesi yapıldığında Tablo 15'deki değerler bulundu.

Tablo 15. Dut Grubu Amplitüd Değerleri (Amplitüd=mV)

AMPLİTÜD(mV)	Kontrol	2.5mg/kg Dut	5mg/kg Dut	10mg/kg Dut	20mg/kg Dut
İlk	1,198	1,061	1,666	1,051	1,051
10. dakika	1,196	0,992	1,639	0,850	1,057
20. dakika	1,129	0,952	1,604	0,830	1,049
30. dakika	1,490	0,941	1,570	0,813	1,162
40. dakika	1,136	0,807	1,547	0,854	1,178
50. dakika	1,229	0,763	1,474	0,846	1,151
60. dakika	1,323	0,721	1,446	0,879	1,148
70. dakika	1,276	0,707	1,410	0,806	1,123
80. dakika	1,376	0,698	1,362	0,793	1,098
90. dakika	1,428	0,665	1,344	0,773	1,163
100. dakika	1,433	0,634	1,310	0,766	1,144
110. dakika	1,447	0,664	1,287	0,731	1,035
120. dakika	1,420	0,650	1,218	0,725	0,755

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda kontrol grubuna göre amplitüdler açısından anlamlı fark bulunmadı.

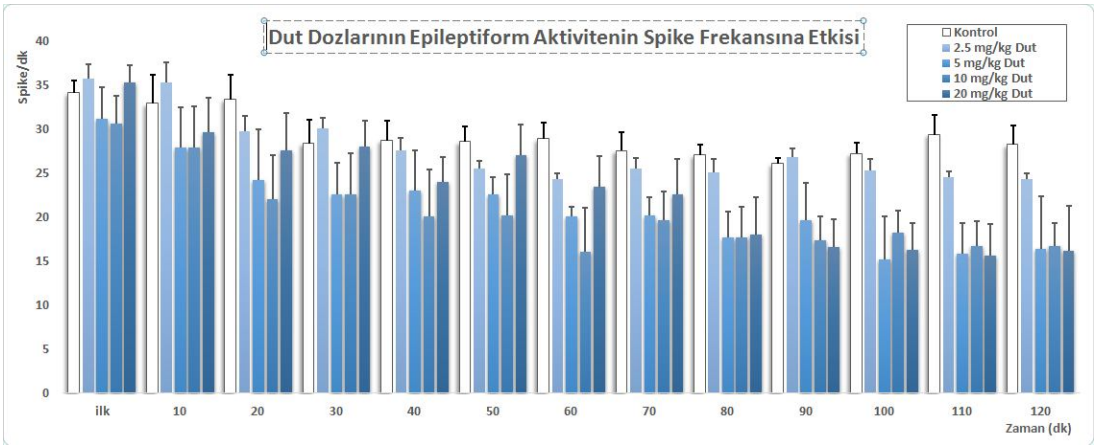
4.2.2.2. Spike Frekansların Değerlendirilmesi:

Dut grubunda yapılan çalışmalarda, kontrol grubu ile 2,5 mg/kg özüt verilen grup arasında fark yoktu.

5 mg/kg özüt verilen grupta 100. ve 110. dakikalarda azalma görülürken *(p*<0.0125) 120. Dakikada bu fark devam etmiyordu.

Kontrol grubu ile 10 mg/kg özüt verilen grupta 20. dakikada azalma görüldü *(p*=0.0125). Bu fark takip eden 30., 40., 50. dakikalarda gözlenmedi. 60. dakikada tekrar azalma fark edildi *(p*=0.0125). 70. dakikaya girildiğinde bu fark ortadan kayboldu. Takip eden 10'ar dakikalık kısımlarda bütün gruplarda anlamlı fark bulundu. (80-120. dakikalar) *(p*=0.0125)

20 mg/kg özüt verilen grupta 100. ve 110. dakikalarda anlamlı fark bulundu *(p*=0.0125). Diğer aralıklarda anlamlı bir fark bulunamadı.



Şekil 13. Dut Grubu Spike Frekans Değerlendirmesi

5. TARTIŞMA

Epileptik nöbet beyinde bir nöron grubunun aşırı deşarjı, elektrofizyolojik anormalliği sonucunda oluşan bir klinik durumdur. Epilepsi ise tekrarlayan nöbetler ile karakterize bir hastalıktır. Epilepsinin varlığından söz edilebilmesi için en az iki nöbet geçirilmesi gerekmektedir (41,42). Epilepsi, beynin bilinen hiçbir hasarı veya risk faktörü olmadan ortaya çıkabildiği gibi, altta yatan başka nörolojik, sistemik, metabolik, toksik veya travmatik nedenlere ikincil olarak meydana gelebilir (43). Epilepside altta yatan patofizyolojik mekanizmalar halen tam olarak bilinmemektedir.

Cockerell ve ark. (151)'nın yaptığı çalışmada uygun ilaçlarla tedavi alan hastalarda epileptik nöbetlerin 1/3'ünde fayda sağlanılamadığı ve progresif epileptojenik değişikliğin önüne geçilemediği gösterilmiştir. Bu yüzden bu hastalık için yeni ve güvenli antikonvülsan ilaçlara ihtiyaç vardır. Halen kullanılmakta olan antiepileptik ilaçlar (AED) semptomatik olarak etki göstermektedir. Yapılan çalışmalar oksidatif stresin epilepsi patofizyolojisinde rolü olduğunu göstermektedir (152). Artan bilgiler ışığında deneysel epilepsi modellerinin oksidatif stresle bağlantılı olduğu hipotezi öne sürülmüştür. Bu oksidatif stresin sellüler proteinlerde, membran lipidlerinde, DNA ve RNA'da anormal yapısal değişikliklere yol açtığı görülmüştür (153-155).

Bu çalışmada ilk kez sıçanlarda penisilin ile uyarılan epileptiform aktivite üzerine antioksidan özellikleri bilinen dut ve kızılcık özütünün etkisi araştırıldı. Öncelikle dut ve kızılcık özütünün farklı dozları karşılaştırıldı. Ardından dut ve kızılcık

özütüyle ECoG çalışmaları ile etkin doz bulunduktan sonra biyokimyasal analizler için ilk kez tüm hücresel yapıların hepsindeki hasar ortak olarak değerlendirildi (Lipid peroksidasyonu için MDA, DNA ve RNA hasarı için XO ve diğer sistemler için SOD, CAT ve NO değerlendirildi.) .

Flavonoidler antioksidan özellikleri bilinen polifenolik bileşiklerdir. Dut ve kızılcıkta da başta kuersetin olmak üzere birçok flavonoid bulunmaktadır (131,144). İlhan ve ark. (156)'nın yaptığı çalışmada, antioksidan özelliği bilinen *Nigella sativa* (çörek otu) yağının pentilentetrazol (PTZ) kindling nöbetlerde nöroprotektif bir ajan olarak etkin olduğu görülmüştür. Bir antikonvülzan olan valproat tedavisinden daha etkin olduğu aynı çalışmada gösterilmiştir. Aynı çalışmada PTZ-kindled farelerde MDA seviyesinin artmış olduğu ve çörek otu yağı ile tedavi edilen grupta MDA seviyelerinin belirgin olarak beyin dokusunda azalmış olduğu bulunmuştur. SOD aktivitesinde ise belirgin bir azalma görülmüştür. Aynı çalışmada ksantin oksidaz aktivitesinde de artış görülmüştür. Bu durumu antioksidan enzim aktivitesindeki değişikliğe cevap olarak lipid peroksidasyonunda artışa atfetmişler ve şöyle açıklamışlardır: 'ATP katabolizması sonucu ortama yıkım ürünü olarak adenozin, bunun da ileri yıkımı ile inozin oluşur. İnozinin, ksantin oksidazla yıkımı sonucunda da ürik asit meydana gelir. Ksantin oksidaz serbest oksijen radikallerinin başında gelen maddelerden birisidir. XO ile indüklenen serbest radikal oluşumu, çok miktarda substratı ortaya çıkararak adenin nükleotidlerinde degradasyona sebep olmaktadır.' denilmiştir. Çörek otu yağı ile tedaviden sonra XO düzeyinde de azalma görülmüştür. Bu çalışma sonucunda XO daki artışın DNA hasarı sonucu ortama çok miktarda pürin yıkım ürünü çıkmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu çalışma da bu bulguların tersi olarak XO değerleri için plazmada yapılan çalışmalarda dut ve penisilin grubu ile kızılcık ve penisilin grubu açısından farklıydı (sırasıyla p=0.02 ve p=0.008). Penisilin grubunda ortalama değerler, dut ve kızılcık gruplarına göre belirgin düşük olarak görülüyordu. XO ortalama değeri en yüksek kızılcık grubundaydı. MDA için yapılan çalışmalarda ise ortanca değer en düşük kızılcık grubunda görülmekteydi. Daha önce yapılan çalışmalarda, reaktif oksijen partiküllerinin kaynağı aynı ancak oksidatif hasarı belirlemek için bakılan hedefler farklı ise sonuçların farklı olabileceği belirtilmiştir. Young ve ark. (157)'nın yaptığı bir çalışmada, Frenk üzümü ve elma suyu tüketen sağlıklı gönüllülerde lipid peroksidasyonu azalırken, oksidatif protein hasarında artma saptanmıştır. Bunun

sonucu olarak; bir antioksidanın herhangi bir biyolojik sisteme karşı koruyucu olabilirken başka sistemleri koruyamadığı gibi bazen bu sistemlere zarar da verebileceği düşünülmüştür. Örneğin; Halliwell ve ark. (158)'nın yaptığı çalışmada lipid peroksidasyonunu önleyen antioksidan inhibitörlerin, diğer moleküler hedeflere (DNA ve proteinler gibi) karşı zarar verici olabileceği hatta meydana gelen hasarı şiddetlendirebildiği gösterilmiştir. Schildermann ve ark. (159)'nın yaptığı başka bir çalışmada *in vitro* ortamda çok güçlü bir lipid peroksidasyon inhibitörü olan bütil hidroksitoluenin yüksek dozlarda ratların önmidesinde oksidatif DNA hasarına ve kanser gelişimine yol açtığı gösterilmiştir. Bu çalışmada yukardaki çalışmalara benzer olarak kızılcık ve dutun lipid peroksidasyon ürünü olan MDA üzerine olumlu etkileri varken, DNA yıkımının bir göstergesi olan XO üzerine olumsuz etkisi vardı.

İlhan ve ark. (156)'nın yaptığı çalışmaya benzer olarak bu çalışmada penisilin grubunda MDA seviyesi en yüksekti. Dut ve kızılcık grubunda ortalama değerler penisilin grubuna göre daha düşüktü. Kızılcık ve dut grubu arasında da istatiksel açıdan fark bulunmuştu ($p<0.01$). Kızılcık grubunda hem eritrosit hem de plazma MDA değerlerindeki düşmenin dut grubuna göre daha fazla olduğu görüldü. Bu durum bize kızılcığın duttan daha belirgin olarak lipid peroksidasyonunu azaltmakla beraber her iki maddenin de lipid peroksidasyonu üzerine olumlu etkisi olduğunu düşündürdü.

Bu çalışmada MDA değeri hem plazma hem de eritrosit çalışmalarında kontrol grubunda düşük iken sham grubunda daha yüksekti. En yüksek değer penisilin grubundaydı. Bu bulgular sonucunda sham grubunda MDA değerinin kontrole göre yüksek olması nedeni ile cerrahi stresin de lipid peroksidasyonunu arttırdığı düşünüldü. Yıldırım ve ark. (160)'nın yaptığı bir çalışmada fiziksel travmalardan sonra serum MDA düzeylerinde artış olduğu görülmüştür. Bu çalışmada da yapılan çalışmadaki gibi oksidatif stresin artmasıyla bağlantılı olduğu belirtilmiştir.

Sudha ve ark. (161)'nın yaptığı çalışmada 50 normal ve 29 epileptik hasta karşılaştırılmış ve epileptik hasta grubunda eritrosit lipid peroksidasyonunun arttığı görülmüştür. Aynı çalışmada epileptik hasta grubunda eritrosit SOD ve CAT konsantrasyonlarında normal gruba göre istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır. Bu çalışmada diğer çalışmalara benzer olarak SOD ve CAT seviyelerinde fark bulunmamıştı. Erol ve ark. (162)'nın oksidatif stres ve migren ilişkisini incelendiği

başka bir çalışmada ise bu çalışmaya benzer olarak SOD açısından gruplar açısından fark bulunamamıştır. CAT'da aynı çalışmada incelenmiş ve kronik başağrısı olan hastalarda belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur.

Arhan ve ark. (163)'nın yaptığı bir çalışmada epilepsi tanısı alan ve antiepileptik kıllanmaya yeni başlayan idiyopatik epilepsili çocuklarda NO, lipid peroksidasyonu ve XO sistemi incelenmiştir. XO ve MDA açısından fark bulunmazken NO seviyesinin tedavi almadan önce daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu yüzden NO'nun epilepsi patogenezinde rolü olabileceği düşünülmüştür.

Royes ve ark. (164)'nın yaptığı çalışmada endojen NO'in nöroprotektif rolü olabileceği belirtilmiştir. NO'in hem nöroprotektif hem de nörodestruktif olduğuna dair birçok yayın vardır (165- 170). Nöronlardaki paradoks etkinin NO'in redoks durumundaki değişikliğe bağlı olabileceği düşünülmüştür. NO; nitrik oksit (NO') ve nitrozonyum iyonu (NO^+) şeklinde bulunabilir (171). NO^+ formu nöroprotektif olarak düşünülmektedir. NMDA reseptör aktivitesinde down regülasyon yaptığı (tiyol grupları üzerinden S-nitrozilasyon yaparak) düşünülmektedir. Tersi olarak NO'' in süperoksit ile reaksiyonu sonucu peroksinitrit oluşmakta ve böylece NO kendisi toksik etki göstermektedir (172).

Bu çalışmada da NO seviyesi eritrositlerde kontrol grubunda yüksek iken sham grubunda belirgin olarak azalmıştı. Bu azalma penisilin grubunda daha da belirginleşmişti. Kızılcık ve dut uygulamaları ile penisilin grubuna kıyasla NO seviyesinde değişiklik olmamıştı. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştı *(p* değeri sırasıyla p=1 ve p=0.776). Iadecola ve ark. (173)'nın yaptığı çalışmada selektif NOS inhibitörlerinin ilişkileri incelenmiştir. Bu çalışmada nNOS inhibitörleri olan 7-nitroindazol, ARL17477 veya S-metil-izotiyoüreido-L-norvalin kullanımıyla serebral iskemik hasarın azaldığı ancak bu etkinin eNOS'u etkilemediği görülmüştür. Benzer olarak iNOS inhibitörlerinden aminoguanidinin post-iskemik iNOS aktivitesini azalttığı ve orta serebral arter oklüzyonundan sonra infarkt alanını küçülttüğü görülmüştür (174-178). Bu deneylerde aminoguanidinin nNOS enzimatik aktivitesini, arteryal basıncı, serebral kan akımını etkilemediği görülmüştür. Bu da nNOS ve eNOS'un bu ilaç ile etkilenmediğini düşündürmüştür. Bu yüzden non-selektif NOS inhibitörleri kullanılan çalışmalara zıt olarak nNOS ve iNOS inhibitörlerinin kullanıldığı çalışmalarda infarkt alanlarında azalma görülmüştür. Bu

bulgular bize nNOS ve iNOS aktivitesinin iskemik beyin için zararlı etki gösterirken eNOS aktivitesinin en azından erken dönemlerde faydalı olduğunu düşündürmüştür (179).

Bu çalışmada eritrositlerde kontrol grubunda NO seviyesi en yüksek olarak bulunmuşken sham grubunda azalmıştı. Penisilin grubunda ise bu değer daha da azalma eğilimindeydi. İstatistiksel olarak penisilin, kızılcık ve dut grubu arasında fark yoktu. Iadecola ve ark. (173)'nın çalışması göz önünde bulundurularak yapılan değerlendirme sonucunda, kontrol grubunda NO seviyesinin yüksek olması endotelyal hasar olmadığı için eNOS seviyelerinin yüksek olmasıyla bağdaştırıldı. Sham ve penisilin grubunda giderek bu değerin azalması, artan MDA değerleri de göz önünde bulundurulursa membran hasarı ve bununla beraber endotelyal hasarın da olduğunu düşündürebilir. Bu hipotezden yola çıkarak azalmış eNOS seviyelerine bağlı NO seviyelerinde düşme olabilir. Azalmış olan NO'nun antioksidan özellikleri bilinen kızılcık ve dut uygulamaları ile değişmemesinin sebebi, hücre duvarında meydana gelen değişikliklerin kalıcı olmasından dolayı eNOS üretiminin sekteye uğraması olabileceği düşünüldü. NO açısından eritrositlerde fark bulunurken plazmada bu farkın olmaması da bu durumu destekleyici olarak düşünüldü.

Rice-Evans (180) ve diğer birçok araştırmacının yaptığı araştırmalarda, kuersetin ve kateşinlerin insan vücudunda belirli bir oranda emildiği ve plazma konsantrasyonunun 0,1-1 μM (mikromolar) arasında değiştiği gösterilmiş, bu konsantrasyonun in vitro olarak lipozomlarda, mikrozomlarda ve düşük dansiteli lipoproteinlerde (LDL) lipid peroksidasyonunu engellediği görülmüştür (181,182). Bu çalışmada da örnekteki çalışmalara benzer olarak lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA'nın, kuersetin içerdikleri bilinen dut ve kızılcık uygulanması ile belirgin olarak azaldığını bulundu.

Ratlardaki diyet çalışmalarında flavonoidlerin sadece %20'sinin gastrointestinal sistemden emildiği gösterilmiştir (183). Plazma seviyeleri uygulamadan sonra 2 saat içinde pik değerine ulaşır (20). Bu çalışmada Wistar cinsi ratlara intraperitoneal 5 mg/kg kızılcık verilmesinin ardından 100. ve 110. dakikada fark bulundu. 120. dakikada fark devam etmiyordu. Etkin doz olarak bulduğumuz 10 mg/kg kızılcığın intraperitoneal verilmesinden sonra 20. ve 60. dakikalardaki fark vardı. Sonrasında 80. dakikaya kadar spike frekanslarda değişiklik olmamıştı. 80. dakikadan sonra

bütün periyodlarda fark olması (80.-120. dakikalar) bu bilgiyi destekler nitelikteydi. Dut grubunda da etkin doz olarak belirlenen 10 mg/kg özüt intraperitoneal verildikten sonra 80. dakikada fark görülmeye başlamış yine 120. dakikaya kadar bu etki devam etmişti. 2 grupta da bulguların benzer olması nedeni ile spike frekanstaki düşüşlerin, flavanoid bileşiklerin antioksidan içeriği ile alakalı olabileceğini düşündürdü.

Per ve ark. (184)'nın yaptığı çalışmada antioksidan özelliği mevcut olan üzüm çekirdeği ekstresi (GSE), penisilin modeliyle epilepsi oluşturulduktan sonra intraperitoneal olarak 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg uygulanmıştır. Bu çalışma ile benzer olarak epileptiform aktivitenin amplitüdü değişmezken, spike frekansında belirgin olarak düşme saptanmıştır. GSE için etkinlik 50 mg/kg ve 100 mg/kg(düşük) dozda başlamıştır. Aynı çalışmada etkin doz 200 mg/kg(orta doz) olarak belirlenmiştir. 400 mg/kg (yüksek) dozda epileptiform aktivitede değişiklik olmamıştır. Benzer olarak bu çalışmada da hem kızılcık grubu hem de dut grubu için düşük dozlarda göreceli olarak etki başlıyordu (2,5 ve 5 mg/kg düşük doz olarak belirlendi. 2,5 mg/kg da herhangi bir etki görülmezken 5 mg/kg da 100. ve 110. dakikalarda spike frekansta düşme vardı.). Bu çalışmada da orta doz olarak belirlenen 10 mg/kg doz, kızılcık ve dut özütü gruplarında belirgin olarak spike frekansta azalma yarattığı için, etkin doz olarak kabul edildi. Per ve ark. (184) çalışmasından farklı olarak yüksek doz olarak belirlenen 20 mg/kg'da da spike frekanslarda düşme vardı. Aynı zamanda Per ve ark. (184)'nın etkin doz olarak belirlediği 200 mg/kg GSE'nin içerdiği flavonoid miktarı, bu çalışmada etkin doz olarak belirlenen 10 mg/kg kızılcık ve dut özütü flavonoid miktarı ile aynıydı. Bu çalışmaların ortak noktası; aynı flavonoid miktarının epileptik aktivite frekansını baskılaması idi.

Ayyıldız ve ark. (185)'nın yıptığı çalışmada penisilin modeli deneysel epilepside E vitamini uygulamasından sonra epileptiform aktivitenin amplitüdünde etkin dozda azalma yapmazken frekansında azalma yaptığı görülmüştür. Ayyıldız ve ark. (27)'nın penisilin modeli ile C vitamini ile yaptığı farklı bir çalışmada, yine epileptiform aktivitenin amplitüdünde değişiklik olmazken frekansta azalma görülmüştür. Bu durum bize antioksidan özelliği olan maddelerin epileptik aktivitenin spike frekansını etkilediğini düşündürmüştür.

Sunulan tez çalışmasında; kızılcık ve kırmızı dut özütlerinin düşük (5 mg/kg), orta (10 mg/kg) ve yüksek (20 mg/kg) dozlarda penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivitenin amplitüdünü değiştirmezken ortalama frekansını anlamlı düzeyde düşürdüğü görüldü. Epileptiform aktivitenin frekansını azaltan en etkin doz her iki grup için de 10 mg/kg olarak belirlendi. Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda her 2 maddenin de lipid peroksidasyonunu gösteren MDA üzerine olumlu etkisi olduğu bulundu. Bu yüzden mevcut bulgularla dut ve kızılcık özütlerinin MDA üzerinden antikonvülsan etki gösterdiğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte değişik deneysel epilepsi modelleri kullanılarak, dut ve kızılcık özütünün epilepsi patofizyolojisini nasıl etkilediğini ortaya çıkaracak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

1- Ksantin oksidaz açısından eritrositlerde yapılan çalışmalarda anlamlı fark bulunmamıştır.
2- Ksantin oksidaz açısından plazmada yapılan çalışmalarda penisilin grubunda bu değer en düşükken kızılcık grubunda yüksek bulundu.
3- Katalaz açısından gruplar arasında eritrosit ve plazma çalışmalarında belirgin bir fark gözlenmedi.
4- Süperoksit dismutaz açısından gruplar arasında eritrosit ve plazma çalışmalarında belirgin bir fark gözlenmedi.
5- Malondialdehit açısından gruplar arasında hem eritrositlerde hem de plazmada kontrol grubu ve penisilin grubu arasında belirgin fark vardı. Bu durum bize lipid peroksidasyonun epilepsi patogenezinde rolü olduğunu düşündürdü.
6- Kızılcık ve dut özütü ile malondialdehit seviyelerinde düşme olması bu maddelerin antioksidan özellikleri ile lipid peroksidasyonunu azalttığını düşündürdü.
7- Kızılcık ve dut özütünün MDA'yı azaltırken XO'yu arttırdığı görüldü. Bu durum, bir antioksidan maddenin herhangi bir biyolojik sisteme karşı koruyucu özellik gösterirken başka sistemler üzerine zararlı etkileri olabileceğini gösterdi.
8- Kızılcık ve dut özütü için etkin doz 10 mg/kg olarak belirlendi.
9- Kızılcık ve dut özütünün epileptik aktivitenin spike frekansını azalttığı görüldü.
10- İntraperitoneal kızılcık ve dut özütü uygulanması ile 80. dakikadan sonra spike frekanslarda azalma olması ve bu etkinin 2. saatte halen belirgin olması flavonoidlerin gastrointestinal sistemden emilimi ile alakalı olarak düşünüldü.

KAYNAKLAR

1. Kwong KL, Chak WK, Wong SN, So KT. Epidemiology of childhood epilepsy in a cohort of 309 Chinese children. Pediatr Neurol 2001;24(4):276-282.
2. Annegers JF. Epidemiology of epilepsy. In: Wyllie E (Ed), The treatment of epilepsy principles and practise (3rd ed) Lippincott Williams and Williams, Philadelphia 2001, pp. 135.
3. Eriksson KJ, Koivikko MJ. Prevalence, classification, and severity of epilepsy and epileptic syndromes in children. Epilepsia 1997;38(12):1275-1282.
4. Zupec-Kania BA, Spellman E. An overview of the ketogenic diet for pediatric epilepsy. Nutr Clin Pract 2008;23(6):589-596.
5. Brailowsky S, García O. Ethanol, GABA and epilepsy. Arch Med Res 1999;30(1):3–9.
6. Dichter MA. The Epilepsies and Convulsive Disorders. In: Isselbacher KJ (Ed), Harrison's Principle of Internal Medicine (13th ed) McGraw-Hill, New York 1994, pp. 2223-2233.
7. Bazil CW, Pedley TA. Advances in the medical treatment of epilepsy. Annu Rev Med 1998;49(1):135–162.
8. Ayyıldız M, Yıldırım M, Agar E, Baltacı AK. The effect of leptin on penicilin induced epileptiform activity in rats. Brain Res Bull 2006;68(5):374-378.
9. Chusid JG, Kopeloff LM. Epileptogenic effect of pure metals implanted in motor cortex of monkeys. J Appl Physiol 1962;17(4):697-700.
10. Donaldson J, St-Pierre T, Minnich J, Barbeau A. Seizures in rats associated with divalent cation inhibition of Na^+-K^+-ATP'ase. Can J Biochem 1971;49(11):1217-1224.
11. Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. O.M.Ü. Tıp Dergisi 1997;14(3):147-186.
12. Willmore LJ, Sypert GW, Munson JB. Recurrent Seizures induced by cortical iron injection: A model of posttraumatic epilepsy. Ann Neurol 1978;4(4):329-336.

13. Kobow K, El-Osta A, Blümcke I. The methylation hypothesis of pharmacoresistance in epilepsy. Epilepsia 2013;54(2):41-47.
14. Alonso-deFlorida F, Delgado JM. Lasting behavioral and EEG changes in cats induced by prolonged stimulation of amygdala. Am J Physiol 1958;193(1):223-229.
15. Berköz M, Yalın S, Güler VG, Yalçın A. Akut lösemilerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitesi. Erciyes Tıp Dergisi 2008;30(3):157-162.
16. McElroy JS, Kopsell DA. Physiological role of carotenoids and other antioxidants in plants and application to turfgrass stress management. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 2009;37(4):327-333.
17. Sivritepe N. Doğada oksidatif stres; Asma, Üzüm ve Şarapta Antioksidantlar. Anadolu J of AARI 2001;11(2):108-135.
18. Nizamlıoğlu NM, Nas S. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi [e-ISSN:1306-7648] 2010 [Erişim Tarihi 2013 Haz 7];5(1):20-35. Erişim Adresi: http://www.teknolojikarastirmalar.com/pdf/tr/02_2010_5_1_72_472.pdf
19. Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez L. Polyphenols: Food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr 2004;79(5):727-747.
20. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radic Biol Med 1996;20(7):933-956.
21. Chen YT, Zheng RL, Jia ZJ, Ju Y. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. Free Radic Biol Med 1990;9(1):19-21.
22. Tsujimoto Y, Hashizume H, Yamazaki M. Superoxide radical scavenging activity of phenolic compounds. Int J Biochem 1993;25(4):491-494.
23. Elliott AJ, Scheiber SA, Thomas C, Pardini RS. Inhibition of glutathione reductase by flavonoids. A structure-activity study. Biochem Pharmacol 1992;44(8):1603-1608.
24. Hodncick WF, Bohmont CW, Capps C, Pardini RS. Inhibition of the mitochondrial NADH-oxidase (NADH-coenzyme Q oxidoreductase) enzyme system by flavonoids: a structure-activity study. Biochem Pharmacol 1987;36(17):2873-2874.

25. Cushman M, Nagarathnam D, Burg DL, Geahlen RL. Synthesis and protein-tyrosine kinase inhibitory activities of flavonoid analogues. J Med Chem 1991;34(2):798-806.
26. Jerrett SA, Jefferson D, Mengel CE. Seizures, H_20_2 formation and lipid peroxides in brain during exposure to oxygen under high pressure. Aerosp Med 1973;44(1):40-44.
27. Ayyıldız M, Coşkun Ş, Yıldırım M, Ağar E. The effects of ascorbic acid on penicillin-induced epileptiform activity in rats. Epilepsia 2007;48(7):1388-1395.
28. Tural S, Koca I. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas L.*) grown in Turkey. Scientia Horticulturae 2008;116(4):362-366.
29. Ercisli S, Orhan E. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. Food Chemistry 2007;103(4):1380-1384.
30. Hiramoto K, Ohkawa T, Oikawa N, Kikugawa K. Is nitric oxide (NO) an antioxidant or a prooxidant for lipid peroxidation? Chem Pharm Bull (Tokyo) 2003;51(9):1046-1050
31. Brodie MJ, French JA. Management of epilepsy in adolescent and adults. Lancet 2000;356(9226):323-329.
32. Hirose G. An overview of epilepsy: its history, classification, pathophysiology and management. Brain Nerve 2013;65(5):509-520
33. Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. Curr Opin Neurol 2003;16(2):165-170.
34. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CCJ, Plum F. Cecil essentials of medicine (4th ed). In: Çalangu S, Sıva A, Tuzcu M (Editörler). Cecil essentials of medicine Türkçesi (4. Baskı). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2000.
35. Eşkazan E. 4. Ulusal Epilepsi Kongresi Konuşmacı Sunumları: Türklerde Epilepsinin ve Epileptolojinin Kısa Tarihi. Epilepsi 2004;10(1):15-57.
36. Naderi S, Acar F, Mertol T, Arda MN. Functional anatomy of the spine by Avicenna in his eleventh century treatise Al-Qanun fi al-Tibb (The Canons of Medicine). Neurosurgery 2003;52(6):1449-1454.
37. Yurdakök M. Kitab-ı Mukaddes'te Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 1999;42:151-161.

38. Jackson JH. 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 1958, pp. 400-405.
39. Berger H. Über das Elektrenkephalogramm des Menschen (1st report), Arch Psychiatr Nervenkr 1929;87(1):527-570.
40. Bernal B, Altman NR. Evidence-based medicine: neuroimaging of seizures. Neuroimaging Clin N Am 2003;13(2):211–224.
41. Blume WT, Lüders HO, Mizrahi E, Tassinari C, van Emde Boas W, Engel JJ. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. Epilepsia 2001;42(9):1212-1218.
42. Engel JJ. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia 2001;42(6):796-803.
43. Altay EE, Bilir E, İrkeç C. Demans ve Epilepsi. Demans Dizisi 1999;1(4):116-128.
44. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classsification of epilepsy and epileptic syndromes. Epilepsia 1989;30(4):389-399.
45. Noachtar S, Rosenow F, Arnold S, Lüders H, et al. Semiologic classification of epileptic seizures. Nervevarzt 1998;69(2):117-126.
46. Lüders H, Acharya J, Baumgartner C, et al. Semiological Seizure Classification. Epilepsia 1998;39(9):1006-1013.
47. Ottman R, Annegers JF, Risch N, Hauser WA, Susser M. Relations of genetic and environmental factors in the etiology of epilepsy. Ann Neurol 1996;39(4):442-449.
48. Nelson KB, Ellenberg JH. Predisposing and causative factors in childhood epilepsy. Epilepsia 1987;28(1):16-24.
49. Vadlamudi L, Andermann E, Lombroso CT, et al. Epilepsy in twins: insights from unique historical data of William Lennox. Neurology 2004;62(7):1127-1133.
50. Eckhaus J, Lawrence KM, Helbig I, et al. Genetics of febrile seizure subtypes and syndromes: A twin study. Epilepsy Res 2013(1-2);105:103-109
51. Yu JY, Pearl PL. Metabolic causes of epileptic encephalopathy. Epilepsy Res Treat 2013;124934:1-20.

52. Oun A, Haldre S, Magi M. Incidence of adult epilepsy in Estonia. Acta Neurol Scand 2003;108(4):245–251.
53. Chantry AA, Lopez E. Fetal and neonatal complications related to prolonged pregnancy. J Gynecol Obstet Biol Reprod 2011;40(8):717-725.
54. Renda Y, Yalaz K, Özdirim E, Aysun S. Pediatrik Nöroloji (2nci Baskı). Türkiye Saglık ve Tedavi Vakfı, Ankara 1983, pp. 1-234.
55. Siesjö BK, Memezawa H, Smith ML. Neurocytotoxicity: pharmacological implications. Fundam Clin Pharmacol 1991;5(9):755-767.
56. Apak S. Gelişim Nörolojisi. Bayrak Matbaası, İstanbul 1989, pp. 171.
57. Bale JFJ. Fetal infections and brain development. Clin Perinatol 2009;36(3):639-653.
58. Guyton AC. Textbook of medical physiology. Am J Med Sci 1961;242(2):136.
59. Coyle IT, Bird SJ, Evans RH, et al. Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specifity, and mechanism of action. Neurosci Res Program Bull 1981;19(4):1-427.
60. Jiang M, Lee CL, Smith KL, Swann JW. Spine loss and other persistent alterations of hippocampal pyramidal cell dendrites in a model of early-onset epilepsy. J Neurosci 1998;18(20):8356-8368.
61. Mathern GW, Babb TL, Pretorius JK, Leite JP. Reactive synaptogenesis and neuron densities for neuropeptide Y, somatostatin, and glutamate decarboxylase immunoreactivity in the epileptogenic human fascia dentata. J Neurosci 1995;15(5):3990-4004.
62. Heinemann U, Konnerth A, Pumain R, Wadman WJ. Extracellular calcium and potassium concentration changes in chronic epileptic brain tissue. Adv Neurol. 1986;44:641-661.
63. Baykan B, Gürses C, Gökyigit A. Epilepsi. In: Öge EA (Editör), Nöroloji Ders Kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2004, pp. 279-308.
64. Eşkazan E, Özkara Ç, Özyurt E. Epilepsilerde tanı ve tedavi (1.Basım) In: Eşkazan E (Editör) Güncel Tıp Yayınları, İstanbul 1998, pp. 57-80.
65. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology (9th Ed) W.B. Saunders, Philadelphia 1996, pp. 761-768.
66. Lösher W, Schmidt D. Strategies in antiepileptic drug development: Is rational drug design superior to random screening and structural variation?. Epilepsy Res 1994;17(2):95-134.

67. Engel JJ, Schwartzkroin PA. What Should Be Modeled? In: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL (Eds), Models of Seizures and Epilepsy. Elsevier Academic Press, San Diego 2006, pp.1-14.
68. McCandless DW, FineSmith RB. Chemically induced models of seizures. In: Boulton AA, Baker GB, Butterworth RF (Eds). Animal Models of Neurological Disease, II. Human Press, New Jersey 1992, pp. 133-151.
69. Walden J, Straub H, Speckmann EJ. Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. Acta Neurol Scand Suppl 1992;86(140):41-46.
70. Halliwell B. Drug antioxidant effects. A basis for drug selection? Drugs 1991;42(4):569–605
71. Kaur H, Perkins MJ. The free radical chemistry of food additives. In: Aruoma OI, Halliwell B (Eds), Free radicals and food additives. Taylor & Francis Group, London & New York 1991, pp. 1-201.
72. McCord JM. Human disease, free radicals and the oxidant /antioxidant balance. Clin Biochem 1993;26(5):351-357.
73. Saran M, Michel C, Bors W. Reaction of NO with O2-implications for the action of endothelium-derived relaxing factor(EDRF). Free Radic Res Commun 1990;10(4-5):221-226.
74. Simic MG, Taylor KA. Introduction to peroxidation and antioxidation mechanisms. Basic Life Sci 1988;49:1-10.
75. Yerer MB, Aydoğan S. Oksidatif stres ve antioksidanlar. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2000;9(1):49-53.
76. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, et al. Oxygen radicals and human disease. Ann Intern Med 1987;107(4):526-545.
77. Del Maestro RF. An Approach to free radicals in medicine and biology. Acta Physiol Scand Suppl 1980;492:153-168.
78. Plachta H, Bartnikowska E, Obara A. Lipid peroxides in blood from patients with atherosclerosis of coronary and peripheral arteries. Clin Chim Acta 1992;211(1-2):101–112.
79. Oberley LW, Oberley TD. Role of antioxidant enzymes in cell immortalization and transformation. Mol Cell Biochem 1988;84(2):147-153.

80. Hall ED, Braughler JM. Central nervous system trauma and stroke. II. Physiological and pharmacological evidence for involvement of oxygen radicals and lipid peroxidation. Free Radic Biol Med 1989;6(3):303–313.
81. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. Am J Pathol 1982;107(3):397–418.
82. Sundström H, Korpela H, Viinikka L, Kauppila A. Serum selenium and glutathion peroxidase, and plasma lipid peroxides in uterine, ovarian or vulvar cancer, and their responses to antioxidants in patients with ovarian cancer. Cancer Lett 1984;24(1):1–10.
83. Barber AA, Bernheim F. Lipid peroxidation its measurement, occurrence , and significance in animal tissues. Adv Gerontol Res 1967;2:355–403.
84. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 1990;280(1):1-8.
85. Erakovic V, Zupan G, Varljen J, Laginja J, Simonic A. Altered activities of rat brain metabolic enzymes in electroconvulsive shock-induced seizures. Epilepsia 2001;42(2):181–189.
86. Rauca C, Zerbe R, Jantze H. Formation of free hydroxyl radicals after pentylenetetrazol-induced seizure and kindling. Brain Res 1999;847(2):347–351.
87. Bruce AJ, Baudry M. Oxygen free radicals in rat limbic structures after kainateinduced seizures. Free Radic Biol Med 1995;18(6):993–1002.
88. Bashkatova V, Narkevich V, Vitskova G, Vanin A. The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during pentylenetetrazole-induced epileptiform model seizures. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2003;27(3):487–492.
89. Erakovic V, Zupan G, Varljen J, Simonic A. Pentylenetetrazole-induced seizure and kindling: changes in free fatty acids, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activity. Neurochem Int 2003;42(2):173–178.
90. Patsoukis N, Zervoudakis G, Georgiou CD, Angelatou F,Matsokis NA, Panagopoulos NT. Effect of pentylenetetrazole-induced epileptic seizure on thiol redox state in the mouse cerebral cortex. Epilepsy Res 2004;62(1):65-74.

91. Singh R, Pathak DN. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase and glucose 6 phosphate dehydrogenase activities in FeCl3- induced epileptogenic foci in the rat brain. Epilepsia 1990;31(1):15-26.
92. Lapouble E, Montecot C, Sevestre A, Pichon J. Phosphinothricin induces epileptic activity via nitric oxide production through NMDA receptor activation in adult mice. Brain Res 2002;957(1):46–52.
93. Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, et al. Melatonin protects hippocampal neurons in vivo against kainic acid-induced damage in mice. J Neurosci Res 1998;54(3):382–389.
94. Willmore LJ, Triggs WJ, Gray JD. The role of iron-induced hippocampal peroxidation in acute epileptogenesis. Brain Res 1986;382(2):422–426.
95. Menon B, Ramalingam K, Kumar RV. Oxidative stres in patients with epilepsy is independent of antiepileptic drugs. Seizure 2012;21(10):780-784.
96. Kaçmaz A, Polat A, User Y, Tilki M, Ozkan S, Sener S. Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats. J Gastrointest Surg 2004;8(1):113-119
97. Becker A, Krug M, Schröder H. Strain differences in pentylenetetrazol-kindling development and subsequent potentiation effects. Brain Res 1997;763(1):87–92.
98. Armstead WM, Mirro R, Leffler CW, Busija DW. Cerebral superoxide anion generation during seizures in newborn pigs. J Cereb Blood Flow Metab 1989;9(2):175–179.
99. Essman WB, Wollman SB. Free radicals, central nervous system processes and brain functions. In: Das DK, Essman WB (Ed), Oxygen radicals: systemic events and disease processes Karger, Basel 1989, pp. 172–191.
100. Oliver CN, Starke-Reed PE, Stadtman ER, et al. Oxidative damage to brain proteins, loss of glutamine synthetase activity, and production of free radicals during ischemia/reperfusion-induced injury to gerbil brain. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87(13):5144–5147.
101. Fukuyama N, Takizawa S, Ishida H, Hoshiai K, Shinohara Y, Nakazawa H. Peroxynitrite formation in focal cerebral ischemia-reperfusion in rats occurs predominantly in the peri-infarct region. J Cereb Blood Flow Metab 1998;18(2):123-129.

102. Eising R, Trelease RN, Ni WT. Biogenesis of catalase in glyoxysomes and leaf-type peroxisomes of sunflower cotyledons. Arch Biochem Biophys 1990;278(1):258-264.
103. Higashi T, Kawamata F, Sakamoto T. Studies on rat liver catalase VII. Double-labeling of catalase by ^{14}C-Leucine and ^{3}H-δ-Aminolevulinic Acid. J Biochem 1974;76(4):703-708.
104. Fita I, Rossmann MG. The active center of catalase. J Mol Biol 1985;185(1):21-37.
105. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya 1995, pp. 3-24.
106. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ. Enzimler, Biyokimya kitabı (2nci Baskı), Şafak Yayınevi, Erzurum 1997, pp. 1-645.
107. Huang AHC, Trelease RN, Moore TS. Plant peroxisomes. Academic Press, New York 1983, pp. 202-206.
108. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993;329(27):2002-2012.
109. Vincent SR, Kimura H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. Neuroscience 1992;46(4):755-784.
110. Bolanos JP, Almedia A. Roles of nitric oxide in brain hypoxia-ischemia. Biochim Biophys Acta 1999;1411:415-436 .
111. Tuna R, Çağlayan GB. Nitrik oksit-I. Sendrom 1995;8:54-59.
112. Praticò D. Antioxidants and endothelium protection. Atherosclerosis 2005;181:215-224.
113. McCord JM. The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. Surgery 1983;94(3):412-414.
114. Lafon-Cazal M, Pietri S, Culcasi M, Bockaert J. NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity. Nature 1993;364(6437):535-537.
115. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. N Engl J Med 1994;330(9):613-622.
116. Bashkatova VG, Rayevsky KS. Nitric oxide in mechanisms of brain damage induced by neurotoxic effect of glutamate. Biochemistry (Mosc) 1998;63(7):866-873.

117. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. Nature 1993;364(6438):626-632.
118. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. Physiol Rev 1999;79(4):1431-1568.
119. Altınışık M. Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanlar. Adü Tıp Fakültesi Biyokimya AD., Aydın 2000, pp. 5.
120. Brown JM, Terada LS, Grosso MA, et al. Xanthine oxidase produces hydrogen peroxide which contributes to reperfusion injury of ischemic, isolated, perfused rat hearts. J Clin Invest 1988;81(4):1297-1301.
121. Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?. Free Radic Biol Med 2002;33(6):774-797.
122. Lavelli V, Peri C, Rizzolo A. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using xanthine oxidase, myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. J Agric Food Chem 2000;48(5):1442-1448.
123. Pryor WA, Stanley JP. Letter: A suggested mechanism for the production of malondialdehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. J Org Chem [PMID 1185332] 1975 [Erişim Tarihi: 2013 Haz 5];40(24):3615–3617. [Erişim Adresi:10.1021/jo00912a038]
124. Farmer EE, Davoine C. Reactive electrophile species. Curr Opin Plant Biol [PMID 17646124] 2007 [Erişim Tarihi: 2013 Haz 6];10(4):380–386. [Erişim Adresi:10.1016/j.pbi.2007.04.019]
125. Giera M, Lingeman H, Niessen WM. Recent Advancements in the LC-and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA) : A Brief Overview. Chromatographia 2012;75(79):433-440.
126. Grotto D, Maria LS, Valetini J, et al. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. Quím Nova 2009;32(1):169-174.
127. Schneider Oliveira M, Flávia Furian A, Freire Royes LF, et al. Ascorbate modulates pentylenetetrazol-induced convulsions biphasically. Neuroscience 2004;128(4):721-728.

128. Orhan E, Ercisli S, Yildirim N, Agar G. Genetic variations among mulberry genotypes (*Morus alba*) as revealed by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. Pl Syst Evol 2007;265(3):251-258.
129. Vareed SK, Reddy MK, Schutzki RE, Nair MG. Anthocyanins in Cornus alternifolia, Cornus controversa, Cornus kousa and Cornus Florida fruits w,th health benefits. Life Sci 2006;78:777-784
130. Mau JL, Chen C, Hsieh P. Antimicrobial Effect of Extracts from Chinese Chive, Cinnamon and Corni Fructus. J Agric Food Chem 2001;49(1):183-188.
131. Seeram N, Schutzki R, Chandra A, Nair MG. Characterization, quantification, and bioactivities of antocyanins in Cornus species. J Agric Food Chem 2002;50(9):2519-2523.
132. Leskovac A, Joksic G, Jankovic T, Savikin K, Menkovic N. Radioprotective properties of the phytochemically characterized extracts of Crataegus monogyna, *Cornus mas* and Gentianella austriaca on human lymphocytes in vitro. Planta Med 2007;73(11):1169-1175.
133. Du CT, Francis FJ. Anthocyanins from *Cornus mas*. Phytochemistry 1973;12(10):2487-2489.
134. Du CT, Francis FJ. A new anthocyanin from *Cornus mas*. Hort Science 1973; 8:29-30.
135. Pawlowska AM, Camangi F, Braca A. Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas L.* (Cornaceae) fruits. Food Chemistry 2010;119(3):1257-1261.
136. Watson L, Dallwitz MJ. Moraceae. In The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification and Information. Retrieval 1992
137. Machii H, Koyama A, Yamanouchi H. A list of genetic mulberry resources maintained at National Institute of Sericultural and Entomological Science. Misc Publ Natl Seric Entomol Sci 1999;26(1):1-77.
138. Yaltirik F. Morus. In: Davis PH (Ed.), Flora of Turkey. Edinburgh University Press, Edinburgh (UK) 1982, pp.641-642.
139. Hedrick U. Cyclopedia of Hardy Fruits. Applewood Books, Massachusetts 1922, pp. 351-353.
140. Huxley AJ, Griffiths M. In New RHS Dictionary of Gardening. Palgrave MacMillan, Basingstoke (UK) 1992, pp. 87-104.
141. Vines RA. In Trees of North Texas. University of Texas Press, Austin (TX) 1982, pp. 159-167.

142. Sastri BN. In The Wealth of India, Raw Materials. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi 1962, pp.429-439.
143. Kelkar SM, Bapat VA, Ganapathi TR, et al. Determination of hypoglisemic activity in Morus indica L.(mulberry)shoot cultures. Curr Sci 1996;71(1):71-72
144. Asano N, Yamashita T, Yasuda K, et al. Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees(*Morus alba* L.)and silkworms(Bombyx mori L.). J Agric Food Chem 2001;49(9):4208-4213.
145. Oki T, Kobayashi M, Nakamura T, et al. Changes in radical scavenging activity and components of mulberry fruit during maturation. J Food Sci 2006;71(1):18-22.
146. Koyuncu F. Organic acid composition of native black mulberry fruit. Chem Nat Compd 2004;40:367-369
147. Dugo P, Mondello L, Errante G, Zappia G, Dugo G. Identification of anthocyanins in berries by narrow-bore high-performance liquid chromatography with electrospray ionization detection. J.Agric.Food Chem 2001;49(8):3987-3992.
148. Pawlowska AM, Oleszek W, Braca A. Quali-quantitative Analyses of Flavonoids of Moru nigra L. and *Morus alba* L. (Moraceae) Fruits. J Agric Food Chem 2008;56(9):3377-3380.
149. Yilmaz K, Ercisli S, Zengin Y, Sengul M, Kafkas EY. Preliminary characterisation of cornelian cherry (*Cornus mas L.*) genotypes for their physico-chemical properties. Food Chemistry 2009; 114(2):408–412.
150. Özgen M, Serçe S, Kaya C. Phytochemical and antioxidant properties of anthocyanin-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. Scientia Horticulturae 2009;119(3):275-279.
151. Cockerell OC. The prognosis of epilepsy. In: Shorvon S, Dreifuss F, Fish D, Thomas D (Eds), The treatment of epilepsy Blackwell Science, Oxford 1996, pp. 97-113.
152. Devi PU, Manocha A, Vohora D. Seizures, antiepileptics, antioxidants and oxidative stress: an insight for researchers. Expert Opin Pharmacother 2008;9(18):3169-3177.
153. Eraković V, Zupan G, Varljen J, Laginja J, Simonic A. Altered activities of rat brain metabolic enzymes in electroconvulsive shock-induced seizures. Epilepsia 2001;42(2):181-189.

154. Rauca C, Zerbe R, Jantze H. Formation of free hydroxyl radicals after pentylenetetrazol-induced seizure and kindling. Brain Res 1999; 847(2):347-351.
155. Bruce AJ, Baudry M. Oxygen free radicals in rat limbic structures after kainate-induced seizures. Free Radic Biol Med 1995;18(6):993-1002.
156. Ilhan A, Gurel A, Armutcu F, Kamisli S, Iraz M. Antiepileptogenic and antioxidant effects of Nigella sativa oil against pentylenetetrazol-induced kindling in mice. Neuropharmacology 2005;49(4):456-464.
157. Young JF, Nielsen SE, Haraldsdottir J, et al. Effect of fruit juice on urinary quercetin excretion and biomarkers of antioxidative status. Am J Clin Nutr 1999; 69(1):87–94.
158. Halliwell B. Antioxidants: the basics—what they are and how to evaluate them. Adv Pharmacol 1997; 38:3–20.
159. Schildermann PAEL, ten Vaarwerk FJ, Lutgerink JT, et al. Induction of oxidative DNA damage and early lesions in rat gastro-intestinal epithelium in relation to prostaglandin H synthase-mediated metabolism of butylated hydroxyanisole. Food Chem Toxicol 1995; 33(2):99–109.
160. Yıldırım A, Aslan Ş, Ocak T, Yıldırım S, Kara F, Şahin YN. Travmalı Hastalarda Serum Paraoksonaz/Arilesteraz Aktiviteleri ve Malondialdehit Düzeyleri. Eurasian J Med 2007;39(2): 85-88.
161. Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. Clin Chim Acta 2001;303(1):19-24.
162. Erol I, Alehan F, Aldemir D, Ogus E. Increased vulnerability to oxidative stres in pediatric migraine patients. Pediatr Neurol 2010;43(1):21-24.
163. Arhan E, Serdaroglu A, Ozturk B, et al. Effects of epilepsy and antiepileptic drugs on nitric oxide, lipid peroxidation and xanthine oxidase system in children with idiopathic epilepsy. Seizure 2011;20(2):138-142.
164. Royeshttp://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920121106004256 - aff1 LFF, Fighera http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920121106004256 - aff2 MR, Furian AFhttp://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0920121106004256 - aff2, et al. The role of nitric oxide on the convulsive behavior and oxidative stress

induced by methylmalonate: An electroencephalographic and neurochemical study. Epilepsy Res 2007;73(3):228-237.

165. Dawson VL, Dawson TM, London ED, Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide mediates glutamate neurotoxicity in primary cortical cultures. Proc Natl Acad Sci USA 1991; 88(14):6368-6371.
166. Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: The free radical nitric oxide. Ann Neurol 1992;32(3):297-311.
167. Lei SZ, Pan ZH, Aggarwal SK, et al. Effect of nitric oxide production on the redox modulatory site of the NMDA receptor channel complex. Neuron 1992;8(6):1087-1099.
168. Moncada S, Lekieffre D, Arvin B, Meldrum B. Effect of NO-synthase inhibition on NMDA-induced and ischaemia-induced hippocampal lesions. Neuroreport 1992; 3(6):530-532.
169. Nowicki JP, Duval D, Poignet H, Scatton B. Nitric oxide mediates neuronal death after focal cerebral ischemia in the mouse. Eur J Pharmacol 1991; 204(3):339-340.
170. Wallis RA, Panizzon K, Wasterlain CG. Inhibition of nitric oxide synthase protects against hypoxic neuronal injury. Neuroreport 1992;3(7):645-648.
171. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. Nature 1993;364(6438):626-632.
172. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87(4):1620-1624.
173. Iadecola C. Bright and dark sides of NO in ischemic brain injury. Trends Neurosci 1997;20(3):132-139.
174. Nagafuji T, Sugiyama M, Muto A, et al. The neuroprotective effect of a potent and selective inhibitor of type I NOS (L-MIN) in a rat model of focal cerebral ıschaemia. Neuroreport 1995;6(11):1541–1545
175. Yoshida T, Limmroth V, Irikura K, Moskowitz MA. The NOS inhibitor, 7-nitroindazole, decreases focal infarct volume but not the response to topical acetylcholine in pial vessels. J Cereb Blood Flow Metab 1994;14(6):924–929.

176. Zhang ZG, Reif D, Macdonald J, et al. ARL 17477, a potent and selective neuronal NOS inhibitor decreases infarct volume after transient middle cerebral artery occlusion in rats. J Cereb Blood Flow Metab 1996;16(4):599–604.
177. Iadecola C, Zhang F, Casey R, Clark B, Ross ME. Inducible Nitric Oxide Synthase Gene Expression in Vascular Cells After Transient Focal Cerebral Ischemia. Stroke 1996;27(8):1373–1380.
178. Iadecola C, Zhang F, Xu X. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates cerebral ischemic damage. Am J Physiol 1995;268(1 PT 2):286–292.
179. Zhang F, Casey RM, Ross ME, Iadecola C. Aminoguanidine Ameliorates and L-Arginine Worsens Brain Damage From Intraluminal Middle Cerebral Artery Occlusion. Stroke 1996;27(2):317–323.
180. Halliwell B. Antioxidant activity and other biological effects of flavonoids. In: Rice–Evans C (Ed). Wake up to Flavonoids. Royal Society of Medicine, London 2000, pp.13-23.
181. Hollman PC, Tijburg LB. Bioavailability of flavonoids from tea. Crit Rev Food Sci Nutr 1997;37(8):719–738.
182. de Vries JH, Hollman PC, Meyboom S, et al. Plasma concentrations and urinary excretion of the antioxidant flavonols quercetin and kaempferol as biomarkers for dietary intake. Am J Clin Nutr 1998;68(1):60–65.
183. Ameer B, Weintraub RA, Johnson JV, Yost RA, Rouseff RL. Flavanone absorption after naringin, hesperidin, and citrus administration. Clin Pharmacol Ther 1996;60(1):34-40.
184. Per S, Tasdemir A, Yildirim M, Ayyildiz N, Agar E. The involvement of iNOS activity in the anticonvulsant effect of grape seed extract on penicilin-induced epileptiform activity in rats. Acta Physiol Hung 2013:100(2):224-36.
185. Ayyildiz M, Yildirim M, Agar E, The effect of vitamin E on penicillin-induced epileptiform activity in rats. Exp Brain Res 2006;174(1):109-113.

T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Filiz TUBAŞ'a ait "**Dut ve Kızılcık Ekstrelerinin Penisilin İle Uyarılan Epileptiform Aktiviteye Etkisi**" adlı çalışma, jürimiz tarafından **Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları** Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: ...../...../2013

Başkan : Doç. Dr. Hüseyin Per .....

Üye : Doç. Dr. Hakan Gümüş .....

Üye : Doç. Dr. Başak Akyıldız .....

Üye : ....

Üye : ....