

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİTYUM-PİLOKARPİNLE İNDÜKLENEN  
DENEYSEL STATUS EPİLEPTİKUS  
MODELİNDE SIÇANLARDA SİTOKİN  
SEVİYELERİ VE UZAMSAL BELLEK  
ÜZERİNE PROPOLİSİN ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gül Büşra KAYA**

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. M. Hanifi EMRE**

**MALATYA-2015**

**T.C.**  
**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LİTYUM-PİLOKARPİNLE İNDÜKLENEN  
DENEYSEL STATUS EPİLEPTİKUS  
MODELİNDE SIÇANLARDA SİTOKİN  
SEVİYELERİ VE UZAMSAL BELLEK  
ÜZERİNE PROPOLİSİN ETKİLERİ**

**Gül Büşra KAYA**

**Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. M. Hanifi EMRE**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından 2014/14 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA-2015**

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Fizyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sedat YILDIZ

Danışman

Prof. Dr. M. Hanifi EMRE

Üye

Doç. Dr. Özden KAMIŞLI

ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu ...../...../..... tarih ve ...../.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

2014/14 nolu yüksek lisans tez projeme maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Kooordinasyon Birimi'ne,

Tez çalışmalarım süresince, tezimin her aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer tez danışmanım Sayın Prof. Dr. M. Hanifi EMRE'ye ve Eğitim Fakültesi Öğretim Üyesi Arş. Grv. Dr. Fatma Bilge EMRE'ye, değerli bilgileriyle yüksek lisans eğitimime katkı sağlayan İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sedat YILDIZ başta olmak üzere bölümümüz tüm öğretim üyelerine, Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na, tezimin deney aşamasında katkı ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ergül ALÇİN'e, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Birimi'nin tüm imkanlarını sağlayan Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ'e, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nigar VARDI'ya, Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ahmet GÜLTEK'e, Nöroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Özden KAMIŞLI'ya, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yusuf TÜRKÖZ'e, Dr. Fatma ÖZYALIN'a, lab.tek. Necmettin KELEŞ'e,

Çalışmamın her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi personellerinden laboratuvar teknikeri Zeynal SARIKAYA'ya, veteriner teknikeri Onur ÖZKAYA'ya ve veteriner teknikeri Gamze KARAKUŞ ile yardımcı personeller Erol ÇALIKUŞU ve Murat AÇILDI'ya, Zonguldak Arı Yetiştiricileri Birliği Başkanı Selaattin GÜNEY'e, tez yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Korkut Ata Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu Öğretim Üyesi Okutman Emrah ŞAVRAN'a, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve destek olan sevgili arkadaşlarım Berna ÖZYAZGAN'a, Mehmet KARAOĞLAN'a ve Güler ORHAN'a,

Hayatım boyunca benden desteğini, sevgisini esirgemeyen ve evlatları olmaktan gurur duyduğum anneme ve babama, çok sevdiğim kardeşime, tez çalışmalarım süresince gösterdikleri anlayış ve desteklerinden dolayı sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

**Gül Büşra KAYA**

## ÖZET

Status epileptikus (SE), 30 dakikadan daha uzun süre tekrarlayan jeneralize konvulziyonlarla birlikte çocuklarda oldukça yaygın bir şekilde görülen nörolojik bir hastalıktır ve kontrol edilmediğinde, beyinde nöronal hasarlar meydana gelir. SE'un lityum-pilokarpin (Li-Pc) modeli, SE'un patofizyolojik değişikliklerini görmek için en uygun ve sıklıkla kullanılan bir modeldir. Çinko (Zn) ve bakır (Cu) gibi iz elementlerin beyinde azaldığı gösterilirken, IL-6 ve IL-1 $\beta$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin, nöbetlerin oluşumunun gerçekleştiği beyin bölgelerinde aşırı ekspresyonu gösterilmiştir.

Bu çalışmada, lityum-pilokarpinle indüklenen SE'li sıçanlarda propolisin koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırıldı. Morris su labirentinde uzamsal bellek üzerine propolisin etkileri incelendi. İz elementlerin (Zn<sup>2+</sup> ve Cu<sup>2+</sup>) ve sitokinlerin seviyeleri ölçüldü.

50 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan 5 gruba ayrıldı. Grup 1 (Kontrol), grup 2 (oral gavajla deney öncesi propolis verilen grup+Li-Pc intraperitoneal olarak), grup 3 (Li-Pc +diazepam+propolis), grup 4 (Li-Pc+propolis) ve grup 5 (sadece Li-Pi intraperitoneal, epileptik grup)

Morris su tankında yapılan uzamsal bellek testinden elde edilen sonuçlara göre, propolis verilen gruplarda (3. ve 4.grup), epileptik grupla karşılaştırıldığında (5.grup), kadranslarda kalış süresi artarken, platforma olan gecikme süresi ve platforma varışta katedilen yol istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı (p<0.05).

Epileptik gruptaki sıçanlarda serum sitokin seviyeleri, kontrol grubu ve propolis grupları ile karşılaştırıldığında, anlamlı şekilde yüksek bulunurken; epileptik grupta bakır ve çinko seviyelerinin diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğu saptandı (p<0.05).

Sonuçlarımız, propolisin, çocuklarda SE'nin uzamsal bellekte oluşturduğu nörolojik hasarı tamir edici bir özelliğinin olduğunu, bu maddenin SE tedavisinde koruyucu ve antiepileptik bir ajan olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar kelimeler:**Status epileptikus, propolis, sitokin, uzamsal bellek, sıçan

## ABSTRACT

### **Effects of Propolis on Cytokine Levels and Spatial Memory Induced by Lithium Pilocarpine in the Experimental Status epilepticus Model in the Rats**

Status epilepticus (SE), with generalized convulsions recurring for more than 30 minutes, is an extremely common neurological condition seen in children, and if it is not controlled, neuronal injury occurs in the brain. The lithium-pilocarpine (Li-Pc) model of SE is the most suitable and frequently used method for pathophysiological changes of SE. Proinflammatory cytokines such as IL-1 $\beta$  and IL-6 have been shown to be overexpressed in brain areas of seizure generation, while trace elements such as zinc (Zn) and copper (Cu) have been shown to decrease in brain.

In this study, neuroprotective and therapeutic effects of propolis in Li-Pc induced SE in rats were studied. The effect of propolis was examined on spatial memory in Morris water maze. The levels of trace elements (Zn and Cu) and cytokine (IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-17) were measured in rat serum.

50 Sprague-Dawley female rats were divided into five groups (n=10). Group 1 (control), group 2 (propolis (orally)+Li-Pc i.p.), group 3 (Li-Pc+ diazepam+propolis), group 4 (Li-Pc+propolis) and group 5 (Li-Pc i.p alone; epileptic group).

According to the results obtained from the spatial memory in the Morris water maze test was carried out, in propolis-treated group (3 and Group 4), compared epileptic group (Group 5), increased length of stay in the quadrant, latency and distance from platform, which decreased in a statistically significantly. Serum cytokine levels in epileptic rats compared with the control group and propolis groups, significantly higher and; copper and zinc levels in epileptic group were found to be significantly lower than the other groups.

Our results, propolis, where children create your spatial memory is a feature of neurological damage repair agent, reveals the substance can be used as a protective and antiepileptic agent in the treatment of SE.

**Keywords:** Status epilepticus, propolis, cytokine, spatial memory, rat

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsi	3
2.1.1. Epilepsi sınıflandırması	5
2.1.2. Epilepsi epidemiyolojisi	8
2.1.3. Epilepsinin fonksiyonel anatomisi	9
2.1.4. Epilepsi fizyopatolojisi	11
2.1.5. Sekonder epilepsiler	18
2.1.6. Temporal lob epilepsisi	19
2.2. Status epileptikus	21
2.2.1. Status epileptikus sınıflandırması	21
2.2.1.1. Konvulsif SE	22
2.2.1.2. Non-konvulsif SE	23
2.2.2. Status epileptikus fizyopatolojisi	24
2.3. Sitokinler	26
2.3.1. IL-1 $\beta$ 'nin epileptogenez sürecine etkileri	26
2.3.2. IL-6'nın epileptogenez sürecine etkileri	27
2.3.3. IL-17'nin epileptogenez sürecine etkileri	28
2.4. İz elementler ve epilepsi	28
2.5. Propolis	29
2.6. Deneysel epilepsi modelleri	30

2.6.1.	Status epileptikus modelleri	30
2.6.1.2.	Lityum-pilokapın ya da pilokarpın ile indüklenen SE modeli	31
2.7.	Racine skalası	31
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	33
3.1.	Deney hayvanları	33
3.2.	Hazırlık	33
3.2.1.	Sulu propolis özütünün hazırlanması	33
3.2.2.	Lityum ve pilokarpinin hazırlanması	35
3.2.3.	Diazepamın hazırlanması	36
3.2.4.	Morris su tankı	36
3.2.4.1.	Morris su tankı platformuna sıçanların alıştıırılma süreci	38
3.3.	Deney protokollerinin uygulanması	40
3.3.1.	Kan alma işlemi	40
3.3.2.	Lityum-pilokarpınle indüklenen deneysel SE modelinin oluşturulması	42
3.3.3.	SE sonrasında tüm grupların Morris su tankı ölçümleri	44
3.3.4.	Propolis sonrası tüm grupların Morris su tankı ölçümleri	46
3.4.	Analizlerin yapılması	47
3.4.1.	Serum IL-1 $\beta$ seviyelerinin belirlenmesi	47
3.4.2.	Serum IL-6 seviyelerinin belirlenmesi	48
3.4.3.	Serum IL-17 seviyelerinin belirlenmesi	49
3.4.4.	Serum bakır ve çınko seviyelerinin belirlenmesi	50
3.4.5.	İstatistiksel analiz	51
4.	BULGULAR	52
4.1.	Deney öncesi Morris su tankı alıştıırma test sonuçlarının değerlendirilmesi	52
4.2.	Deney sonrası Morris su tankı alıştıırma test sonuçlarının değerlendirilmesi	55
4.3.	Serum sitokin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17) seviyelerinin değerlendirilmesi	61
4.4.	Serum bakır (Cu) ve çınko (Zn) seviyelerinin değerlendirilmesi	62



5.	TARTIŞMA	64
5.1.	Propolisin öğrenme ve uzamsal bellek üzerine etkileri	64
5.2.	Propolisin serum sitokin seviyelerine etkileri	65
5.3.	Propolisin serum bakır ve çinko seviyelerine etkileri	67
6.	SONUÇ ve ÖNERİLER	69
	KAYNAKLAR	70
	EK: Etik Kurul Onayı	83
	ÖZGEÇMİŞ	84

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropik hormon
<b>ACh</b>	: Asetilkolin
<b>AMPA</b>	: $\alpha$ -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoxazolpropionat
<b>AAS</b>	: Atomik absorpsiyon spektrometresi
<b>BOS</b>	: Beyin omurilik sıvısı
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>cAMP</b>	: Siklik adenozin mono fosfat
<b>cGMP</b>	: Siklik guanozin mono fosfat
<b>Cu</b>	: Bakır
<b>DDD</b>	: Diken dalga deşarjları
<b>EEG</b>	: Elektroensefalografi
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immuno sorbent assay
<b>FK</b>	: Febril konvulziyon
<b>GABA</b>	: Gama amino bütirik asit
<b>GAD</b>	: Glutamik asit dekarboksilaz
<b>ILTN</b>	: İntrolaminar talamik nukleus
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>İp</b>	: İntroperitoneal
<b>K</b>	: Potasyum
<b>LGN</b>	: Lateral genikulat nukleus
<b>MSS</b>	: Merkezi sinir sistemi
<b>MS</b>	: Multipl sklerozis
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NRT</b>	: Nukleus retikularis
<b>NMDA</b>	: N-metil-D-aspartat
<b>PRL</b>	: Prolaktin
<b>SE</b>	: Status epileptikus
<b>TCN</b>	: Talamokortikal network
<b>TNF</b>	: Tümör nekrozis faktör
<b>TLE</b>	: Temporal lob epilepsisi
<b>Zn</b>	: Çinko

## ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.** Beyin anatomisi
- Şekil 2.** Talamokortikal (TC) ritimdeki anormal dönüşümler
- Şekil 3.** GABA ve glutamat aktivitesiyle inhibisyon ve eksitasyonun ortaya çıkışı
- Şekil 4.** Nöronal inhibisyon ve eksitasyon arasındaki denge durumu
- Şekil 5.** Glutamat reseptörleri ve sinaptik plastisite
- Şekil 6.** Limbik epilepside limbik nöbetlerin bağımsız jeneratör hipotezi
- Şekil 7.** Limbik sistem ve yakınında yer alan beyin yapıları
- Şekil 8.** Propolisin arı kovanındaki görüntüsü
- Şekil 9.** Racine skalasına göre nöbet evreleri
- Şekil 10.** %95'lik etanolik propolis ekstraktı
- Şekil 11.** Propolis sıvı özütünün manyetik karıştırıcıda hazırlanışı
- Şekil 12.** Morris su tankı ve test odası
- Şekil 13.** Bir sıçanın Morris su tankı ile öğrenme sürecinin ilk 4 gününde ve 5. gün probe- test periyodunda izlediği yollar
- Şekil 14.** Sıçan kuyruğundan kanatarak kan alma işlemi
- Şekil 15.** Oral gavajda kullanılan kanülün görünüşü
- Şekil 16.** Status epileptikus esnasında sıçanların hareketleri
- Şekil 17.** Epilepsili bir sıçanın Morris su tankında izlediği yol
- Şekil 18.** Sıçanlara oral gavaj ile propolis özütü verilmesi
- Şekil 19.** Epileptik nöbetlerle propolis verilme dönemlerinin kıyaslanması
- Şekil 20.** Deney öncesi 4 günlük alıştırmaya süresince sıçanların kadranda kalış süresi (Ort±SH)
- Şekil 21.** 5.gün platformsuz probe –trial testinde sıçanların kadranda kalış süresi (Ort±SH)
- Şekil 22.** Deney öncesi 4 günlük alıştırmaya süresince sıçanların platforma varışta katedilen yol (Ort ±SH)
- Şekil 23.** 5.gün probe –trial testinde sıçanların platforma varışta katedilen yol (Ort ±SH)
- Şekil 24.** SE sonrası sıçanların kadranda kalış süreleri (Ort±SH)

**Şekil 25.** Propolis verildikten sonra sıçanların kadranlarda kalış süreleri  
(Ort±SH)

**Şekil 26.** SE sonrası sıçanların platforma gecikme süresi (Ort±SH)

**Şekil 27.** Propolis verildikten sonra sıçanların platforma gecikme süresi  
(Ort±SH)

**Şekil 28.** SE sonrası sıçanların platforma varışta katedilen yol (Ort±SH)

**Şekil 29.** Propolis verildikten sonra sıçanların platforma varışta katedilen yol  
(Ort±SH)

## TABLULAR DİZİNİ

**Tablo 1.** Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması-ILAE 1981

**Tablo 2.** Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması-ILAE 1989

**Tablo 3.** Status epileptikus sınıflaması

**Tablo 4.** Deney öncesi Morris su tankı alıştırmalarında tüm grupların kadranlarda kalış süresi

**Tablo 5.** Deney öncesi Morris su tankı alıştırmalarında ve 5.gün probe trial testinde tüm grupların platforma hareket mesafeleri

**Tablo 6.** Kontrol grubu, SE geçiren ve propolis verilen grupların kadranlardakalış süreleri

**Tablo 7.** SE geçiren ve propolis verilen grupların kadranlarda kalış süreleri

**Tablo 8.** SE geçiren ve propolis verilen grupların platforma olan gecikme süresi ve platforma varışta katedilen yollar

**Tablo 9.** Serum sitokin seviyelerinde meydana gelen değişiklikler

**Tablo 10.** Serum bakır ve çinko seviyelerinde meydana gelen değişiklikler

## 1. GİRİŞ

Epilepsi, dünyada %1 prevalansa sahip olduğu öngörülen, yaygın ve ciddi nörolojik bir hastalıktır. Epilepsi insidansının çocukluk çağında ve yaşlılıkta en yüksek düzeyde olduğu gözlemlenirken, erken erişkinlikte daha düşük düzeyde olduğu gözlemlenmiştir (1).Dünyada yaklaşık 50 milyon epilepsi hastasının olduğu ve bunların %20 - %30'unun mevcut antiepileptik ilaçlarla kontrol altına alınamayan nöbetler geçirdikleri bilinmektedir (1,2).

Status epileptikus (SE), epileptik tek nöbet aktivitesinin 30 dakikadan daha uzun sürmesi durumunda ortaya çıkmaktadır. SE'a, özellikle çocuklarda çok sık rastlanmaktadır. SE, gerek hayatı tehdit etmesi, gerekse ciddi nörolojik hasarlar oluşturması nedeniyle hızla tanınıp tedavi edilmesi gereken bir hastalıktır.

Epilepsinin altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılammakla birlikte, bu konuda çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Çalışmalarda sitokinlerin nöronal ölümü tetiklediği ve özellikle limbik sistemi etkileyerek hipereksitabiliteye neden olduğu gösterilmiştir (3). Proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17 gibi sitokinlerin enfeksiyon sırasında akut-faz reaksiyonuna katılıp, termoregülatör merkezdeki prostaglandinlerin sentezini uyararak ateşe de neden oldukları ortaya konulmuştur (3,4).Ancak SE'da sitokin seviyelerinin değişimi hakkındaki çalışmalar sınırlı sayıdadır (4).

Propolis, bal arılarından elde edilen reçinemsi bir madde olup; anti-mikrobia, anti-oksida ve anti-tümör özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, anti-oksida özelliği olan propolisin, beyni çeşitli nöron kaynaklı hastalıklardan koruduğu gösterilmiştir (5,6). Bu bulgular propolisin SE üzerinde de koruyucu ve tedavi edici önemli etkilere sahip olabileceğini düşündürmektedir.

SE'un tekrarlayan nöbetler nedeniyle çocuklarda psiko-sosyal ve nöronal gelişimi olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (6,7,8). Bu durum öğrenme güçlüğü ve hafızanın gerilemesi gibi güçlükleri de beraberinde getirmektedir.

Tüm canlılarda hücrelerin proliferasyonu için dengeli beslenmenin yanında vitaminlere ve eser elementlere de gereksinim olduğu bilinmektedir (9). Özellikle 6 ay- 5 yaş arası çocuklarda görülen febril konvülsiyonlarda (FK), çinko ( $Zn^{2+}$ ) düzeylerinin düşük olduğundan bahsedilmiştir (10). Buna ilaveten, FK geçiren çocuklar ile ateşli ama FK geçirmeyen çocukların, serum ve BOS  $Zn^{2+}$  düzeyleri düşük bulunmuştur (11,12,13).

Çinko (Cu), vücutta en yaygın bulunan ikinci eser elementtir ve memeli beyninde yüksek miktarda bulunur (14). Yapılan çalışmalarda vücut ateşinin yükselmesinin  $Cu^{2+}$  konsantrasyonunda azalmaya yol açarak, inhibitör bir nörotransmitter olan GABA üretiminde aksamaya yol açtığı, bu durumun da FK'ü tetiklediği savunulmuştur (15,16).

$Zn^{2+}$ 'nin bir diğer fonksiyonu hipokampus ve amigdaladaki sinapsların gelişimini destekleyerek, öğrenme ve özellikle uzaysal belleğin oluşumuna katkıda bulunmaktır (17,18,19). Dube CM ve arkadaşları, 21 günlük Sprague-Dawley sıçanlara deneysel FK oluşturmuşlar ve 90 gün sonra Morris su tankında öğrenme ve belleği test etmişlerdir. Testin sonunda öğrenme ve bellek fonksiyonlarının azaldığını göstermişler, buna ilaveten FK geçiren çocuklarda zihinsel gelişimin olumsuz yönde etkilendiğini açıklamışlardır (19).

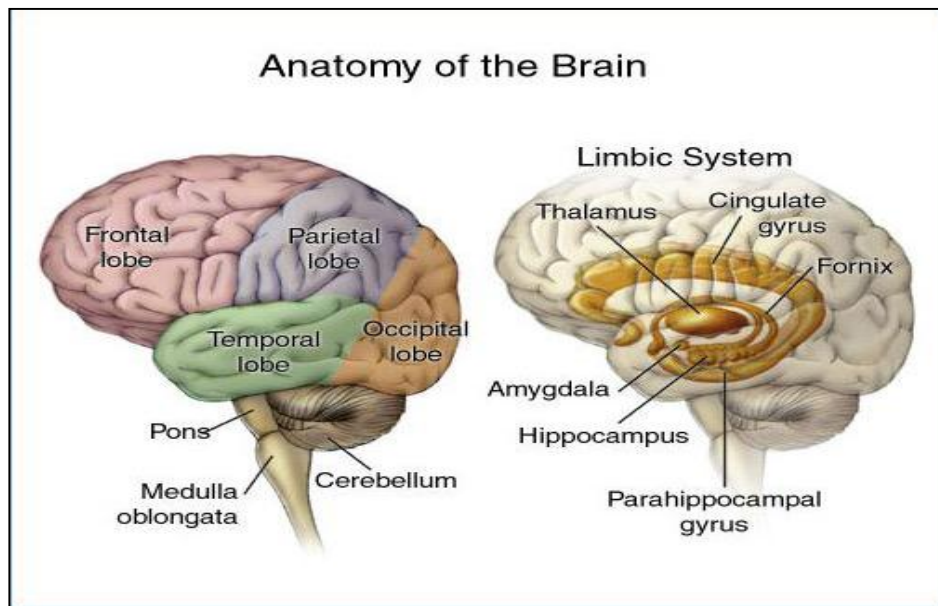
Bu çalışmada amaç, çocukluk çağlarında yaygın olarak görülen status epileptikusun çocuklarda uzamsal belleği nasıl etkilediğini, çeşitli fonksiyonların işleyişinde önemli ve düzenleyici etkileri saptanan propolis maddesinin, epileptik süreçte tedaviedici ya da koruyucu etkisinin olup olmadığını; ayrıca status epileptikusun sitokin ve iz elementlerden olan bakır ve çinko seviyelerindeki değişimleri saptamaktır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Epilepsi

Epilepsi, tüm kortekste (jeneralize epilepsiler) ya da lokalize beyin bölgelerindeki (parsiyel epilepsiler sinir hücrelerinin aşırı uyarımı (hipereksitabilite) sonucu istemsiz olarak tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir bozukluktur ( Şekil1).

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği (International League Against Epilepsy-ILAE) epileptik bir nöbeti “beyindeki aşırı veya senkron nöronal aktiviteden kaynaklanan geçici semptomlar” olarak tanımlanmaktadır(21).Epilepsi, primer olarak beynin tespit edilebilen bir hasarı veya risk faktörü olmadan ortaya çıkabildiği gibi (primer epilepsiler), altta yatan başka nörolojik, sistemik, metabolik, toksik veya travmatik nedenlerle sekonder olarak gelişebilir (semptomatik epilepsiler) (22).



Şekil 1.Beyin anatomisi (20).



Epilepsidünya nüfusunun % 1'ini etkilemektedirve ciddi ölüm oranlarına sahiptir. Türkiye'deise 700.000 epilepsi hastası olduğu tahmin edilmektedir. Epilepsi hastalarının yaklaşıkçte biri mevcut medikal tedavilere cevap vermemektedir (23,24).

Farklı antiepileptikilaçlar cevap yanıtlarına bağlı olarak hastalarda denenmek zorunda kalınmakta ve cevap alınan vakalarda da ilaç tedavisi, nöbetleri semptomatik olarak engelleyebilmektedir. Mevcut antiepileptojenik ilaçların epilepsiye neden olan beyin anormalliklerini düzeltebileceği ya da epilepsinin doğal gelişimini değiştirebileceğine dair yeterli bir kanıt yoktur. Dolayısıyla epileptogenezi engelleyen veya hücrel ve moleküler mekanizmaları tersine çeviren (antiepileptojenik aktiviteye sahip) yeni tedavi yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır (24,25,26).Bu tedavilerin geliştirilmesi ise epileptogenezi şekillendiren biyolojik süreçlerin daha iyi anlaşılmasıyla gerçekleşebilir (26,27). Ayrıca epileptogeneze yatkınlık durumunda bireysel farklılıkların olması kişiye özgü tedavi yaklaşımlarına da gerek olduğunu göstermektedir.

Epilepsi, genetikve / veya çevresel etkenlere bağlı bir bozukluktur (28). Çok sayıda hastalık epilepsiyeneden olabilir ancak epilepsi hastalarının % 50'den fazlasında belirginbir nedenbulunmamaktadır ve bu vakalar “idiyopatik epilepsi hastaları” olarak adlandırılmaktadır. İdiyopatik epilepsilerin patogenezi hala bilinmemekle beraber, bu vakaların % 80'i ilaçla kontrol edilmekte, geriye kalan %20' de ise ilaca dirençli epilepsi gelişmektedir( 29). Epilepsi tüm yaşam boyunca sürebilir.Bu nedenle epilepsi hastaları, yaşam boyu süren ilaç tedavisine ihtiyaç duyabilirler (30).

### 2.1.1. Epilepsi sınıflandırması

İnsanlık tarihi kadar eski olan ve Hipokrat zamanından beri bilinen epilepsi hastalığının sınıflandırılması, antik çağlardan beri uğraşılan konulardan biridir. 19.yy'ın sonlarında sınıflandırma, olguların yaş, cinsiyet, nöbet özellikleri ile sınırlıyken, 20.yy'ın ikinci yarısından sonra EEG ve diğer görüntüleme olanaklarının artmasıyla, 21.yy'da ise insan genom çalışmaları ve teknolojik gelişmelerin ışığında daha detaylı hale gelmiştir (31). İlk olarak 1964 yılında uluslararası epilepsi uzmanlarının bir araya gelmesiyle, epileptik nöbetleri sınıflandırma çalışmaları başlamıştır (31,32).

Mevcut bilgiler ve EEG değişikliklerine göre epileptik nöbetler basitçe; jeneralize nöbetler (tonik klonik, miyoklonik, absans), parsiyel nöbetler (basit parsiyel, kompleks parsiyel ) ve sınıflandırılmayan nöbetler (uykuda oluşan tonik klonik nöbetler) olarak ayrılmıştır (32).

Beyin korteksinin sınırlı bir alanından kaynaklanan nöbetler parsiyel; nöbetin başlangıcından itibaren aynı anda vesimetrik olarak tüm kortekse yayılan nöbetler ise jeneralize nöbetler olarak adlandırılmaktadır. Parsiyel nöbetin epileptik aktivitesinin yayılarak tüm korteks tutmasıyla da sekonder jeneralize nöbetler ortaya çıkar.

Kompleks parsiyel nöbetler başlangıçta veya sonradan bilinç bozulması ve az çok belirgin, nöbetten hemen sonra bellek bozulması ile nitelenir. Genellikle başlangıçta ya da sonradan temporal veya frontal lobu tutar. Jeneralize nöbetlerde bilinç bozukluğu, simetrik bulgular ve EEG'de her iki hemisferde bilateral senkron deşarj vardır.

“International League Against Epilepsy” (ILAE), ilk olarak 1970' te epileptik nöbetler ve epilepsi sınıflarını oluşturmuştur. Uzun yıllar süren çalışmaları sonucunda 1981 yılında epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflaması yapılmıştır ( Tablo 1).

**Tablo 1.** Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması-ILAE 1981 (33).

<b>I. Parsiyel Nöbetler:</b>
<b>A. Basit Parsiyel Nöbetler</b> (bilinç tutulumu yok)
1. Motor semptomlu
2. Duyumsal ya da duyuşsal semptomlu
3. Otonomik semptomlu
4. Psişik semptomlu
<b>B. Kompleks Parsiyel Nöbetler</b> (bilinç tutulumu var)
1. Başlangıcı basit parsiyel olup sonradan bilinç tutulumu olanlar
2. Bilinç tutulması ile başlayanlar
<b>C. Sekonder Jeneralizasyon Gösteren Parsiyel Nöbetler</b>
<b>II. Jeneralize Nöbetler:</b>
<b>A. Absans Nöbetleri</b>
1. Tipik absans
2. Atipik absans
<b>B. Miyoklonik Nöbetler</b>
<b>C. Klonik Nöbetler</b>
<b>D. Tonik Nöbetler</b>
<b>E. Tonik-Klonik Nöbetler</b>
<b>F. Atonik Nöbetler</b>
<b>III.Sınıflandırılmayan Nöbetler</b>

Epilepsi ve epileptik sendromlar; nöbet tipi, etyolojisi, nöbeti uyaran faktörler, başlangıç yaşı, tedavi seçimi gibi faktörleri de kapsayacak şekilde 1989 yeniden düzenlenmiştir (Tablo 2). Bu sınıflama tüm dünyada genel kabul görmüş ve epileptik sendromların tanımlanmasında ortak bir dil oluşumunu sağlamıştır (33,34).

**Tablo 2.**Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması-ILAE 1989 (34).

<b>Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması</b>	
<b>I. Parsiyel (lokal-kısmi) epilepsi</b>	<b>II. Jeneralize epilepsi</b>
1.Basit	1.Petit-mal (absans)
a.Motor	2.Grand-mal (tonik-klonik)
b.Duyu	3.Miyoklonik
c.Duyu-motor	4.Tonik
d.Otonomik-viseral	5.Klonik
e.Kognitif	6.Atonik
2.Kompleks (psikomotor)	<b>III. İdiyopatik epilepsi</b>
3.Sekonder jeneralize	

### 2.1.2. Epilepsi epidemiyolojisi

Epilepsi ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar, hastalığın tüm dünyada yaygın bir şekilde görüldüğünü ve hiçbir etnik fark, cinsiyet ayrımı ve yaş sınırı tanımadığını göstermektedir. Ancak epilepsi epidemiyolojisi ile ilgili çalışmalardan elde edilen sonuçlar büyük farklılıklar gösterebilmektedir (35). Bu farklılıkların ülkeler, bölgeler arasında olabildiği kadar, aynı ülkede farklı bölgelerde de izlenmesi dikkat çekicidir. Farklı metodolojiler ile yapılan çalışmalar bu farklılıkların oluşmasından sorumlu olabilir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde aynı metodu kullanarak yapılan bir takım çalışmalarda da sonuçların farklılık göstermesi, çevresel ve genetik etkilere bağlı olarak epilepsi görülme sıklığının etkilendiğini düşündürmektedir (36,37,38). Gelişmiş ülkelerdeki epilepsi insidansı 40-70/100 000 olup, gelişmekte olan ülkelerde 100-190/100 000 oranındadır (39,40,41).

Doğumdan 20 yaşına kadar olan zaman diliminde epilepsinin ortaya çıkma riski yaklaşık %1 civarında olup, bu oran 75 yaşında %3'e kadar çıkar. Yani epilepsinin insidansı hayatın ilk 20 yılı içinde ve 65 yaşından sonra iki kez pik yapar (41,42). Epilepsi, çocuklarda erişkinlerden daha sık olarak görülür. Bütün nöbetlerin yaklaşık %75'ine 20 yaş altında rastlanır. En yüksek insidans ise 10 yaş altındadır (43).

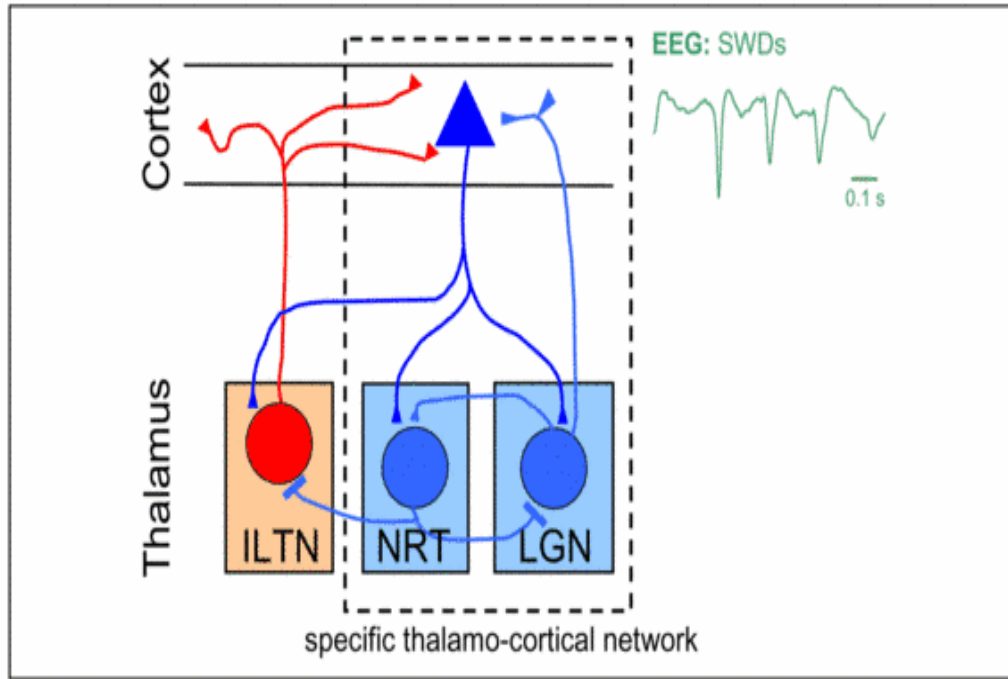
Epilepsi tipleri içinde parsiyel nöbetler, sekonder jeneralizasyon olsun ya da olmasın en sık rastlanan nöbet tipidir. Parsiyel nöbetleri, jeneralize tonik-klonik nöbetler izler. Bunun dışındaki nöbet tipleri olan absans, tonik, atonik ve miyoklonik ise daha seyrek görülen nöbetlerdir (40).

### 2.1.3. Epilepsinin fonksiyonel anatomisi

Fonksiyonel anatomi nöbetlerin doğduğu ve yayıldığı fiziksel ve fizyolojik durumlar için kullanılan bir terimdir. Bu terim nöbetlerin başlamasında daha karmaşık yolların var olabileceğini ve nöbetlerin gelişiminde farklı beyin bölgelerinin belirli roller oynadığı olabileceğini ve nöbetlerin gelişiminde farklı beyin bölgelerinin belirli roller oynadığı önermesini içermektedir. Bertram, derlemesinde jeneralize epilepsilerdeki ve limbik epilepsilerdeki olası nöronal yollara ilişkin hipotezleri detaylı bir şekilde ele almıştır (65).

Epileptik nöbetlerin fonksiyonel anatomisi nöbet tipiyle yakından ilişkilidir; bazı nöbetler için başlangıç evrelerinde kritik olan ve gerektiğinde cerrahi müdahalede hedef olarak seçilen tek bir nöbet odağından bahsedilebildiği gibi, birden fazla bölgenin de sorumlu olabildiği nöbet şekilleri bilinmektedir (65). Diğer bir ifadeyle bir nöbet odağından bahsedildiğinde nöbetin başladığı yer ve cerrahi müdahale için hedef olarak seçilen yer ifade edilir ancak nöbet fonksiyonel anatomisine göre nöbetlerin ilkbaşlangıç basamaklarında kritik rol oynayan muhtemel başka bölgeler de vardır. Nöbet odağını harekete geçiren ya da izin veren *nöromodülatör* girdiler olduğu düşünülmektedir. Nöbet odağı girdileri nöbet gelişiminde anahtar role sahiptir, elektrografik nöbet aktivitesine direkt olarak katılmasalar da fonksiyonel anatominin önemli birer bileşenidirler. Bu nöromodülatör subkortikal yapılar henüz varsayımdır ve nöbetlerin fonksiyonel anatomisinin daha iyi anlaşılmasında üzerinde çok çalışılan konuları içermektedir (65).

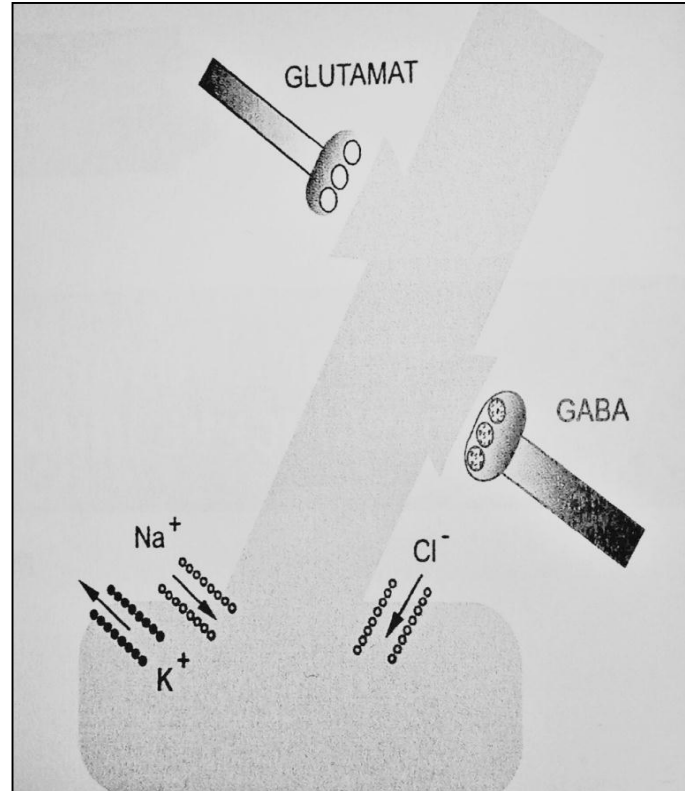
Jeneralize epilepsiler grubunda bulunan *absans epilepsilerde* nöbetler izole nöronlar yerine lokal ve farklı nöron topluluklarında/döngülerinde meydana gelir (Şekil 2). Bu sonuç Nottidge ve arkadaşları tarafından net olarak tanımlanmış, korteks ve talamus arasındaki döngüsel etkileşimler olmadan *absans nöbetlerin* diken dalga deşarjlarının (DDD) oluşmayacağı gösterilmiştir (36). Bir seri çalışmada DDD'lerin talamokortikal döngüye dayandığı ve her bir bileşenin deşarjlarda ayrı rollere sahip olduğu belirtilmiştir. Korteks eksitator girdiyi sağlar; talamik çekirdek ise bu girdiyi iktal deşarja organize eder. Her iki bileşen de var olmalıdır; eğer biri inaktif durumdaysa ya da yoksa, nöbetler oluşmayacaktır. Bu döngüsel ilişkiler pek çok araştırmada bildirilmiştir ve ayrıca spontan diken dalga deşarjları hayvan modellerinde de gösterilmiştir (66,67,68).



**Şekil 2.** Talamokortikal (TC) ritimdeki anormal dönüşümler. ILTN: intralaminar talamik nükleus, NRT: Nucleus reticularis, LGN: Lateral genikülat nükleus (67).

### 2.1.4. Epilepsi fizyopatolojisi

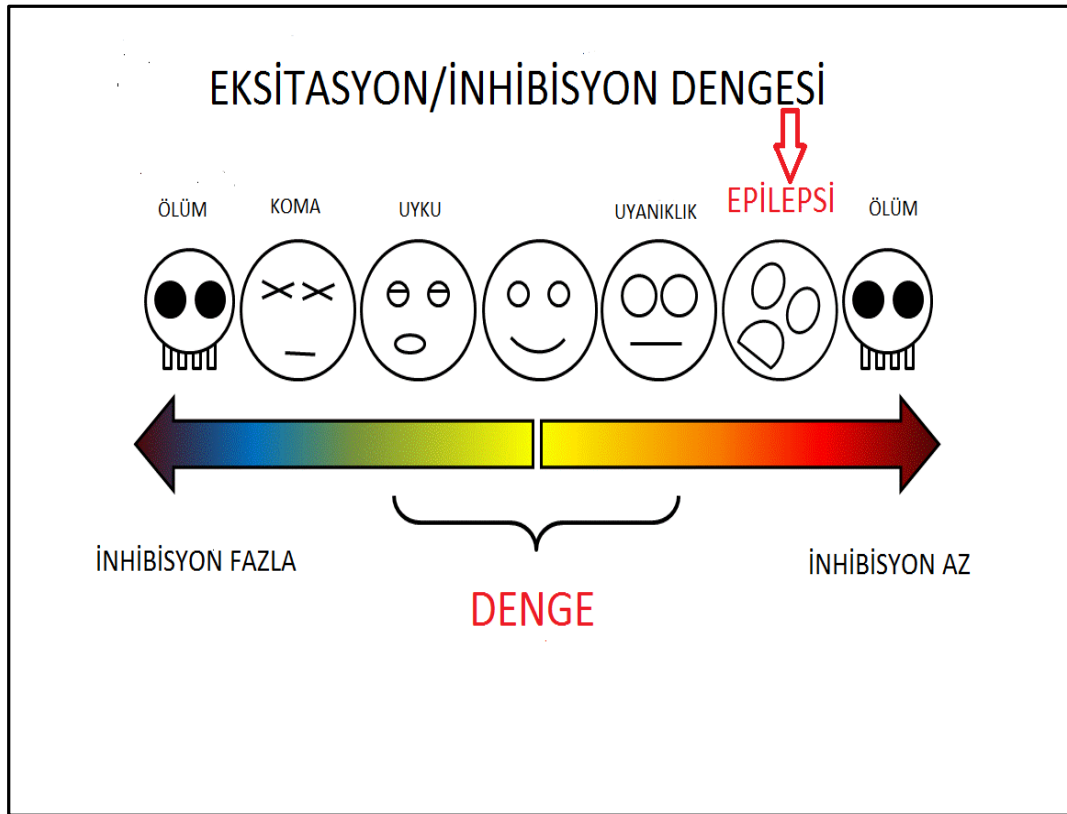
Beynin fonksiyonel aktivitesi uyarılma ve inhibisyon arasındaki karşılıklı bir etkileşimin sonucunda ortaya çıkar. Nöronal ağdaki senkronizasyonun uyarı ve inhibisyon arasındaki bir denge ile gelişen sinaptik aktiviteye bağımlı olduğuna inanılmaktadır (44,45). Nöronal elektriksel aktivitenin başlıca glutamat ve gama amino bütirik asit (GABA) olmak üzere birçok nörotransmitter veya nöromodülatör tarafından düzenlendiği ve bu düzenleyici maddelerin iyon kanalları ve metabotropik reseptörler üzerine etki yaparak, başta nöronal uyarılabilirlik ve inhibisyon olmak üzere birçok nöronal aktiviteyi değiştirebildiği bilinmektedir (46, Şekil 3).



Şekil 3. GABA ve glutamat aktivitesiyle inhibisyon ve eksitasyonun ortaya çıkışı(46).



Nöronal inhibisyon ve uyarılma arasındaki denge, inhibisyon dan ziyade uyarılma lehine değiştiği zaman, nöronal devredeki senkronize patlama aktivitesinin ortaya çıkmasında kritik bir rol oynar (47; Şekil4). Aynı zamanda, uyarıcı ve inhibe edici sinapslar arasındaki dengesizliğin piramidal nöronlardaki patlama aktivitesinin yaratılmasında önemli olduğu düşünölmektedir. Nöronal ağdaki senkronize ateşlemenin insanda ve hayvan modellerinde epileptik nöbetler ile karakterize olduğu bilinir (46,48).



**Şekil 4.**Nöronal inhibisyon ve eksitasyon arasındaki denge durumu (47).

Epilepside çeşitli fizyopatolojik mekanizmalar tanımlanmakla birlikte, bazı epileptik sendromlarda genetik faktörlerin rolü gösterilmiştir. Örneğin gen mutasyonları, anormal iyonik kanal fonksiyonlarına yol açabilmekte ve anormal ağ bağlantılarına neden olabilmektedir (49). Fakat monogenetik kalıtım örneği gösterenler, (otozomal X'e bağlı, mitokondrial) hariç tutulursa; genetik analizler, fenotipik (aynı mutasyonun farklı klinik sendromlara neden olması) heterojenitenin işe karışması nedeniyle, epileptik sendromların kalıtım özelliklerini açıklamakta çoğu kez yetersiz kalmaktadır. Bir çok epileptik durum için kompleks veya poligenik kalıtım söz konusudur. Tek gen epilepsilerinin çoğu, nöronal iyon kanallarını kodlayan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır (50,51). İyon kanallarındaki mutasyonlar eksitator ve inhibitör nörotransmisyonun etkinliğinin değişmesine yol açmakta; bunun sonucunda eksitator nörotransmisyonun artmasına ya da inhibitör fonksiyonun kaybına neden olmaktadır (52).

Epilepsili kişilerin beyinlerinde genellikle hipokampus piramidal hücrelerin CA1, CA3 nöronları ve belki CA2, CA4 nöronlarının "pacemaker" merkezler olabileceği kabul edilmektedir (53). Bu nedenle araştırmalar, hipokampal kesitlerin bu bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Ayrıca epileptik nöbetlerde hormon değişikliklerine bakıldığında nöbetlerin şiddetlendiği dönemde prolaktin (PRL) ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılanmasında anlamlı artış bulunmuştur. Status epileptikusta PRL düzeyi genellikle yükselir (63). Muhtemelen status sırasındaki azalmış nöbet aktivitesi, PRL seviyesinin düşmesine neden olmaktadır. Bu etki aynı zamanda ardışık meydana gelen nöbetlerde de gözlenebilir. Temporal loblardan kaynaklanan sürekli eksitasyonlar, anterior hipofizi regüle eden ventromedial hipotalamus üzerinden nöbetlerin frekans ve yoğunluğunu arttırdığını da düşündürmektedir (54).

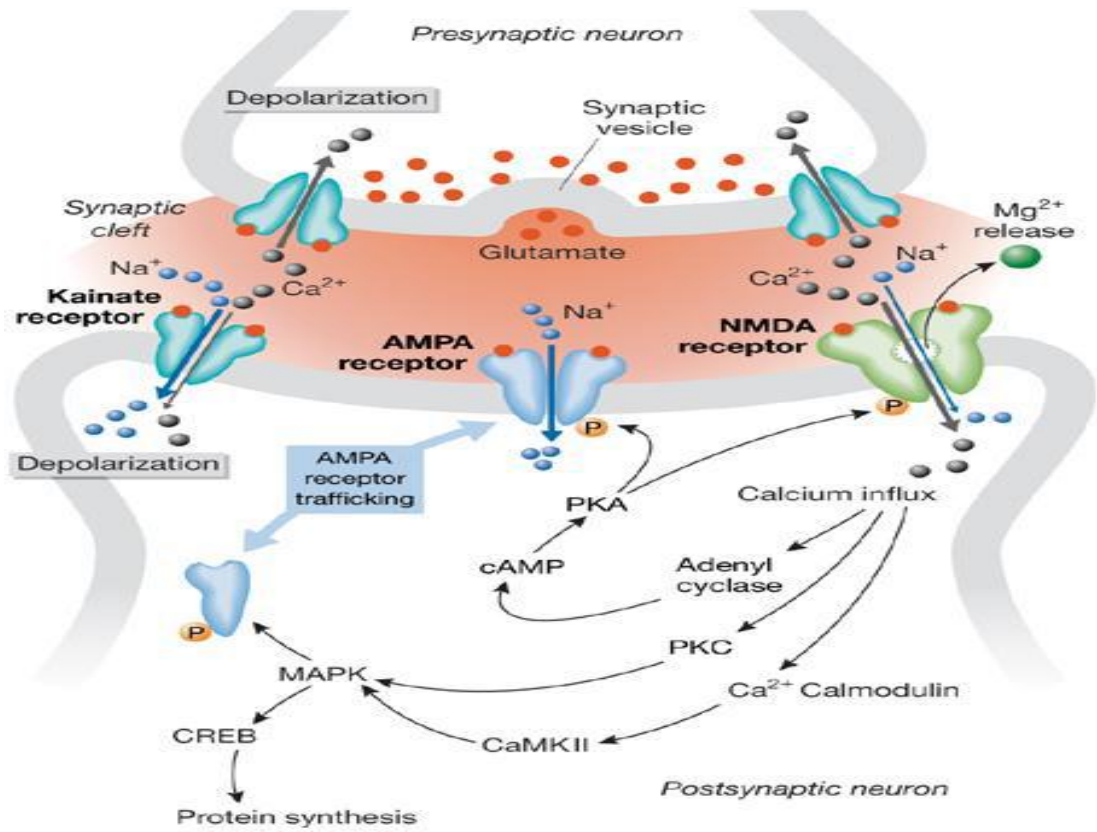
Yukarıda sözü edilen birçok faktör CA1, CA3 gibi nöronları "pacemaker" yapmaktadır. Epileptik deşarjlar hücrenin biyoelektrik deşarjlarının anomalisi olduğuna göre, hücre membranındaki potansiyelin devamı ve potansiyelin yayılmasında rol oynayan kimyasal ve hormonal ileticilerin de epileptojenik aktivitede rol oynaması olasıdır.

Öte yandan bilinen en önemli inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın eksikliği, epileptik nöbetlerin patogenezinde önemli ölçüde sorumlu tutulmaktadır. GABA, bu etkisini GABA<sub>A</sub> ve GABA<sub>B</sub> reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir. GABA<sub>A</sub> reseptörleri pentamerik yapıdadır ve çeşitli alt birimlerin, alt tiplerinden ( $\alpha 1$ - $\alpha 6$ ,  $\beta 1$ - $\beta 3$ ,  $\gamma 1$ - $\gamma 3$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\pi$ ,  $\theta$  ve  $\rho 1$ - $\rho 3$ ) oluşmaktadır (51). GABA'nın GABA<sub>A</sub> reseptörüne bağlanması, klor iyonunun ( $Cl^-$ ) hücre içine girmesine izin verir. Bu da nöronal elektriksel aktivitenin hızlı bir şekilde inhibisyonunu sağlar (55).

GABA'nın GABA<sub>B</sub> reseptörüne bağlanması ise potasyum ( $K^+$ ) iyonu geçişini artırır, kalsiyum ( $Ca^{2+}$ ) iyon girişini azaltır ve diğer nörotransmitterlerin presinaptik salınımını inhibe eder (56). GABA<sub>A</sub> iletimindeki azalmanın *in vitro* ortamda memeli neokorteksinde (beyin hemisferinin en dış tabakası) epileptiform aktiviteye neden olduğu çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir. Ayrıca, epilepsi gelişimi esnasında anormal GABA<sub>A</sub> reseptörlerinin aşırı eksprese olduğu bulunmuştur. GABA<sub>B</sub> reseptörleri primer jeneralize epilepsiler ile ilişkilendirilirken, fokal epilepsilerdeki rolleri tartışmalıdır. GABA<sub>B</sub> reseptörlerinin blokajı, *in vivo*da odyojenik (ses ile tetiklenen) nöbetlere duyarlı sıçanlarda nöbetlerin oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Bununla birlikte GABA<sub>B</sub> agonisti olan baklofenin prokonvulzan özelliği (konvulsif etki yaratan) de gösterilmiştir (57).

Sekonder epilepsi sendromlarında, glutamerjik sistem önemli bir yer tutmaktadır. Birçok epilepsi çeşidinin aşırı glutamerjik sinaptik iletim bozukluğundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (57,58). Glutamat, GABA'nın aksine beyindeki en önemli eksitator nörotransmitterlerden biridir (59). Glutamat, etkilerini NMDA (N-metil-D-aspartat), AMPA ( $\alpha$ -amino-3- hidroksi-5-metil-4-isoxazol propionat) ve kainat reseptörleri olmak üzere 3 farklı reseptör alt tipiyle sağlamaktadır ( Şekil 5).

Metabotropik veya iyonotropik glutamat reseptör agonistlerinin, beyin kesitlerinde, konvulsif ve nonkonvulsif nöbetlere neden olduğu bildirilmektedir. Buna ilaveten hayvan modellerinde de, aşırı glutamaterjik aktivitenin belirtisi olan nöbet aktivitesi ile ilişkili olarak, glutamat ve aspartat düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (58).



**Şekil 5.** Glutamat reseptörleri ve sinaptik plastisite (60).

Temporal lob yapıları; özellikle hipokampus, amigdala ve piriform korteks, nöbet oluşturan veya epileptogenezi tetikleyen, beyin hasarına en duyarlı yapılardır (61).

Hipokampal dilimlerde muskarinik asetilkolin (ACh) reseptörlerinin aktivasyonunun, senkronize nöronal boşalmalar oluşturduğu gösterilmiştir (61,62). Nikotinik ACh reseptör aktivasyonunun hem eksitator hem de inhibitör modülatörleri etkileyebileceği öne sürülmektedir. Nörokimyasal bulgular, presinaptik ACh reseptörlerinin aktivasyonunu asetilkolin, GABA ve glutamat gibi nörotransmitterlerin salınımını arttıracaklarını göstermektedir (62).

Biyojenik aminlerin de epileptik nöbetlerin patogeneğinde önemli olduğu, katekolaminlerin antikonvulzan etki gösterdiği bilinmektedir. Alfa, beta adrenerjik reseptörlerin bloke edilmesi, nöbet eşliğini düşürmektedir. Siklik nükleotidlerden siklik adenosin mono fosfat (cAMP) artışının nöbetleri önlediği, siklik guanosin mono fosfat (cGMP) artışının nöbetleri başlattığı, adenosin ve biyojenik aminlerin ise MSS'nde cAMP düzeyini yükselterek, inhibitör etki gösterdikleri bilinmektedir. ACh ise guanil siklazı aktive ederek veya  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  geçişini etkileyerek depolarizasyon oluşturmaktadır. Burada  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  pompasının önemi de karşımıza çıkmaktadır. Bu pompanın hücre içi  $\text{Na}^+$ -  $\text{Ca}^{2+}$  miktarını düzenlediği bilinmektedir. Hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  miktarı artışı ise nörotransmitter salınımını ve sinaptik iletiyi bozmaktadır (62,63). Hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  artışı, hücre hasarının en önemli göstergesidir. Nitekim epileptik nöbetlerin oluşumunda beynin en önemli pacemaker merkezi kabul edilen hipokampus CA3 piramidal hücrelerinde sınırlı  $\text{Ca}^{2+}$  artışının NMDA reseptörlerinin aktivasyonuna neden olduğu ve Mg'un da bu reseptörler üzerinde  $\text{Ca}^{2+}$  geçişini modüle ettiği de çeşitli araştırmalarda rapor edilmiştir. Bu aşamada güçlü bir membran stabilizatörü olan Mg'un önemini vurgulamak gerekir.

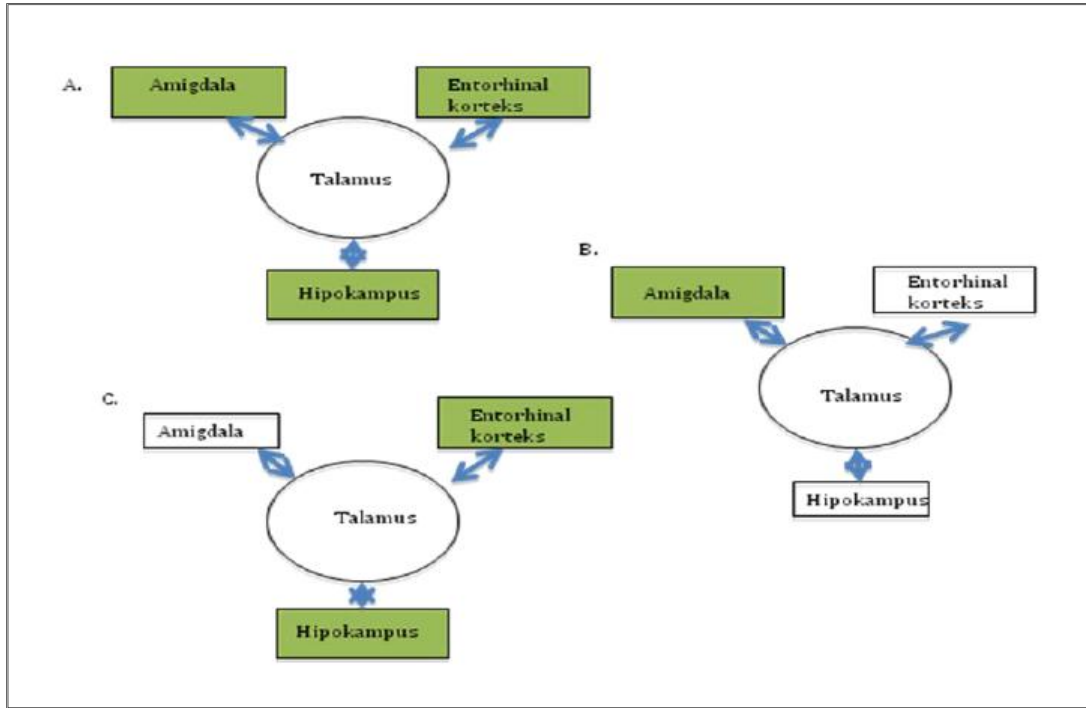
$\text{Mg}^{2+}$ , çeşitli ATPazların aktivatörüdür. Güçlü epileptojenik ajanların katabolizması için gerekli taurinin hücre içine alınmasını artırır. İki ana siklik nükleotid olan "ikincil haberci" cAMP ve cGMP oluşumu üzerinde de etkilidir. Siklik nükleotidlerin oranı (cAMP/cGMP), Mg eksikliğinde azalır. Özellikle hipokampusta cGMP'de predominant bir artış olmaktadır (64). Tüm bunlar dikkate alındığında epileptik nöbet oluşumunda  $\text{Mg}^{2+}$  eksikliği birçok olayı aktiflemesi açısından göz ardı edilmemelidir.

Son yıllarda sitokinlerin, febril konvulziyonların (FK) patogenezindeki rolü üzerinde durulmaktadır. Viral ve bakteriyel enfeksiyonlarda, genetik yatkınlığı olan çocuklarda yaşa bağımlı konvulziyon duyarlılığının tetiklendiği ileri sürülmektedir. Proenflamatuvar sitokinler ( IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-17 gibi) enfeksiyon sırasında akut faz reaksiyonuna katılarak hipotalamik reseptörlerle, termoregülatör merkezdeki prostaglandinlerin sentezini uyarak ateşe neden olmaktadır (3).

FK'lu çocuklarda serum IL-1 $\beta$ 'nın yüksek olduğu bildirilmektedir. Patogeneizde serum IL-1 $\beta$ 'nin yüksekliğinin inflamasyon ya da eksitasyon sırasında nörotransmitterleri modüle ederek, genetik yatkınlığı olan ve ateşle birlikte konvulziyon duyarlılığı artan küçük çocuklarda FK oluşumunu kolaylaştırdığı ileri sürülmektedir (4). Epileptik aktivite oluşumundan anlaşılacağı üzere, tek bir neden sorumlu tutulamaz. Bu durumun oluşmasında birçok faktör etkilidir.

TLE'nin bulunduğu lokalizasyona bağlı epilepsilerde, kortikal-subkortikal döngü ilişkileri jeneralize epilepsilerdeki kadar detaylı incelenmemiştir. Bu grup epilepsiler ilk olarak kortikal-limbik yapılarla ilişkili bir bozukluk olarak nitelendirilmiş ancak yeni çalışmalar talamusun burada da kritik bir rol oynadığını önermektedir (68). TLE'lerde (daha yaygın kullanımıyla limbik epilepsilerde) talamusun katılımını öneren çalışmalar artmaktadır (69,70,71,72,73)

Sonuç olarak, talamik çekirdekle limbik korteksin seçilen bölgeleri arasında potansiyel nöbet döngüsü için bir bağlantı bulunmaktadır. Bertram, limbik nöbete neden olan birden fazla bağımsız jeneratörün var olabileceğini öne sürmüştür. Bu hipotezin açılımı şudur: Her bölge nöbet oluşturmak için bağımsız hareket edebilir ya da potansiyel olarak birbirini tetikleyebilir. Örneğin; bir nöbet hipokampus tarafından bir başkası ise amigdala tarafından başlatılabilir (Şekil 6).



**Şekil 6.** Limbik epilepside limbik nöbetlerin bağımsız jeneratör hipotezi. A. Her 3 bölgede eşit olarak nöbete katılım. B. Amigdalanın teorik olarak dominant olduğu nöbet tipi. C. Amigdalanın minör rol aldığı nöbet tipi (65).

### 2.1.5 Sekonder epilepsiler

İnsanlarda kazanılmış epilepsiler, beyin travması, inme, merkezi sinir sistemi enfeksiyonu, neoplazma, beyin kanaması, kompleks febril nöbetler ve status epileptikus gibi nedenlerle gelişebilmektedir (74,75). Epilepsi gelişimi için bir ya da dahafazla tetikleyici olay gerekli olabilir (76). Epilepsi oluşumunda, aile hikayesi, yaş, cinsiyet, mevcut organik bir beyin hastalığı ve psikiyatrik birliktelik gibi faktörlerin etkili olduğu gösterilmiştir (77,78,79). Epilepsinin genetik formlarında dahi, tekrarlayan epileptiform olaylar anormal aktiviteye bağlı plastisiteye yol açar ki ikisi birlikte nöbetlere daha fazla yatkınlığa ve sinir sisteminde kronik değişikliklere neden olur (80,81,82).

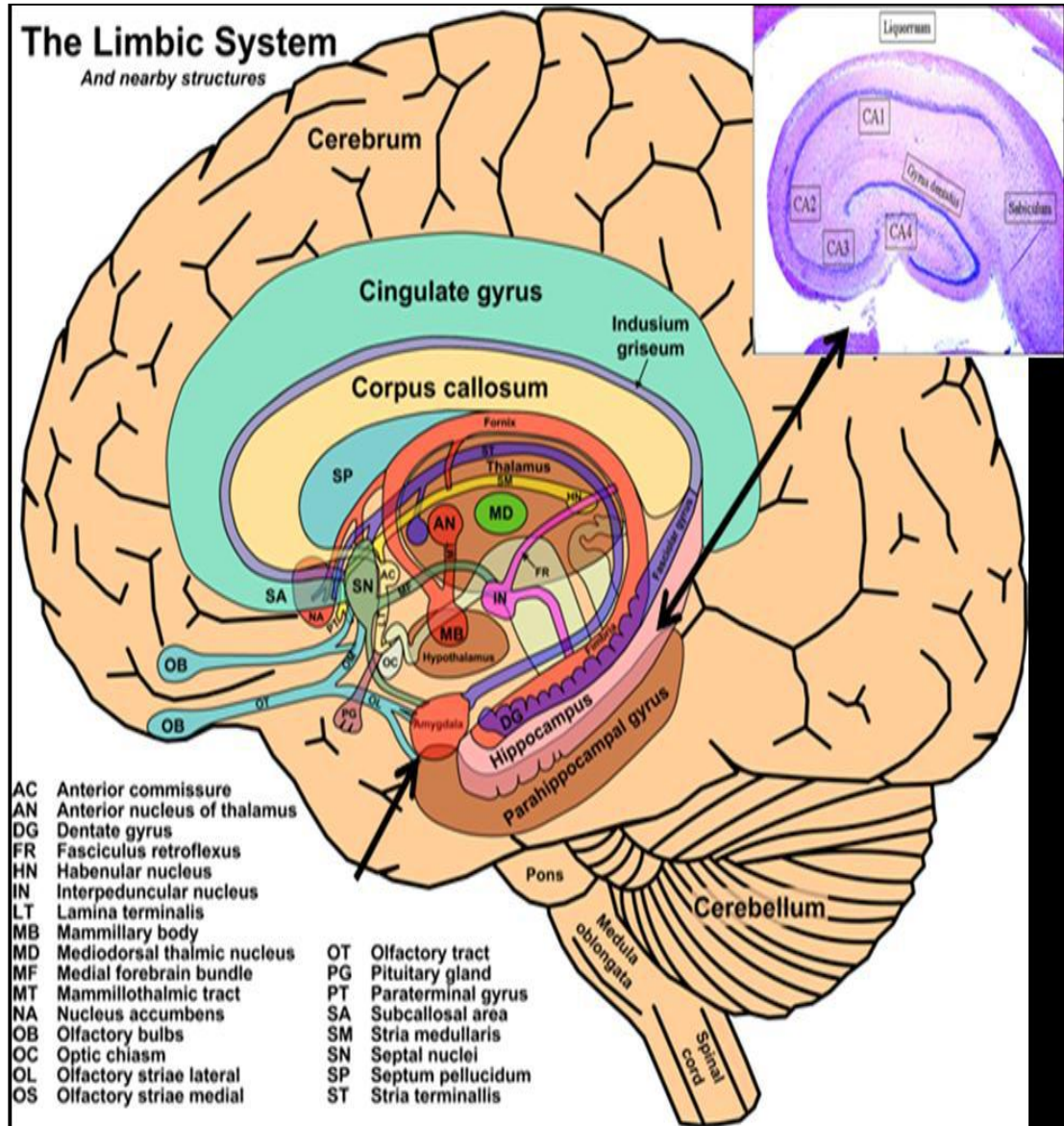
### 2.1.6 Temporal lob epilepsisi

Dünya sağlık örgütünün verilerine göre tüm dünyada yaklaşık olarak 50 milyon insan epilepsi hastasıdır (83). Bu hastaların ise yaklaşık %40' ının temporal lobepilepsisi tahmin edilmektedir. TLE, parsiyel (bölgesel) başlayan nöbetlerin yayılarak ilerlemesiyle karakterizedir. Bu nöbetler limbik sistemden, özellikle de hipokampus kaynaklanmaktadır (84,85). Temporal nöbetlerin yaklaşık %70' inin hipokampal nöbetler olduğu ve sıklıkla amigdala nöbetleri ile birlikte görüldüğü ifade edilmiştir (86).

TLE' nin kesin nedenleri çoğu vakada tam olarak bilinmemekle beraber, hipokampal sklerozisle birlikte seyreden TLE' nin, beyin hasarı, tümörler, menenjit, ensefalit, status epileptikus (SE) veya çocukluk çağı febril nöbetleri gibi bir başlangıç hasarı nedeniyle sekonder olarak meydana geldiği düşünülmektedir (30,84,87). Nöron kaybı genellikle hipokampusun CA1 ve dentat girusun hilusundadır ancak bazı varyantları da bulunmaktadır (65).

Temporal lob ifadesi, amigdala, hipokampus ve anatomik olarak bağlantılı olan korteksi (entorhinal, perirhinal ve parahippokampal korteksler, subikular korteks ve lateral korteks) kapsamaktadır (88; Şekil 7). Bu beyin yapılarından kaynaklanan spontan nöbetler genellikle epigastrik bölgede his değişikliği, duygu-durum değişiklikleri (genellikle korku) ve koku ya da tat halüsilasyonları gibi semptomlar üretirler. Öğrenme ve hafıza bozuklukları da TLE' nin diğer semptomları arasında yer alır (87).





**Şekil 7.** Limbik sistem ve yakınında yer alan beyin yapıları. Okla gösterilen yapılar hipokampus ve amigdalayı işaret etmektedir. Hipokampusun CA1, CA2, CA3, CA4, subikulum ve dentat gyrus bölümleri detaylı olarak gösterilmektedir (89).

## **2.2.Status epileptikus**

Status epileptikus tanımı, uzamış nöbet aktivitesi şeklinde yapılabilir. SE, 30 dakika veya daha uzun süren nöbet aktivitesi veya arasında bilincin açılmadığı iki veya daha fazla nöbetin ard arda gelmesi olarak tanımlanır (90). Uzamış veya tekrarlayan nöbet aktivitesi nöron hasarına yol açar. Klinik uygulamada nöbetin 5-10 dakika sürmesi, SE tanısı ve tedavisine başlamak için yeterli görülmektedir; çünkü bu kadar süre devam eden nöbetler, büyük oranda SE'a dönüşmektedir. SE, gerek hayatı tehdit etmesi, gerekse bireylerde ciddi hasarlar oluşturması nedeniyle hızla tanınıp tedavi edilmesi gereken bir hastalıktır (91).

### **2.2.1. Status epileptikus sınıflandırması**

SE'un sınıflaması güçtür; çünkü 1) Atakların çoğunluğu statik değildir. Klinik ve elektrofizyolojik bulgularında birbirini izleyen değişiklikler içerir. 2) Benzer olmayan sendromlarda klinik olarak benzer SE tipleri görülebilir. 3) Bazı tip SE'lar, sadece spesifik sendromlarda görülür.

Acil tedavi kararında klinik ve EEG (elektroensefalografi) bulgularına göre basitleştirilmiş sınıflama kullanılır. Burada SE, konvulsif ve nonkonvulsif olarak iki ana gruba ayrılabilir (Tablo 3). Ana sınıflamadan sonra; uykuda gelen elektriksel SE, çocukluk çağının benign fokal epilepsisine eşlik eden SE, uzamış febril konvulziyonun komplikasyonu olarak SE gibi pek çok SE sendromu tanımlanmıştır. (91,92).

**Tablo.3** Status epileptikus sınıflaması (90).

<b>A.KONVÜLZİF</b>	<b>B. NON KONVÜLZİF</b>
1. Parsiyel konvülfif Tonik Klonik	1. Parsiyel non-konvülfif Basit parsiyel Kompleks parsiyel
2. Generalize konvülfif Tonik-klonik Tonik Klonik Myoklonik	2. Generalize non-konvülfif Absans

**2.2.1.1.Konvulsif SE**

Konvulsif SE, en sık rastlanan formdur. Konvulsif status için bildirilen rakamlar, tüm epilepsi hastalarında %1,3 ile %6 arasında değişmektedir (93). Erişkinlerdeki durumun aksine, konvulsif status süt çocuklarında ve çocuklarda ilk epileptik nöbet olarak sıkça görülebilmektedir.

Parsiyel SE, tonik veya klonik olarak ortaya çıkabilmektedir. Devamlı unilateral olarak ortaya çıkan ve daha çok yüz ile ellerde görülen bir durumdur. Herhangi bir kas grubu da etkilenebilir. Jeneralize konvulsif SE, statusun en yaygın ve en tehlikeli tipidir. Hastalarda bilinç yitiminin eşlik ettiği konvulsif hareketler görülür.

Tonik veya klonik SE, çocuklarda özellikle Lennox Gastaut Sendromu'nda görülür ve tedaviye iyi yanıt vermez. Vücutta bilateral asenkron hareketler ortaya çıkar. Nadiren benzodiazepinler tonik nöbetleri tetikleyebilir.

Miyoklonik SE, birçok nöbet tipi ile birlikte bulunabilir. Miyoklonik sızramaların sürekli tekrar etmesi ile karakterizedir ve seyrek rastlanılan bir durumdur (93,94).Bu gibi olgularda saatlerce süren sızramalara rağmen, bilinç korunabilmektedir (94).

### 2.2.1.2. Non-konvulsif SE

Non-konvulsif status, hemen daima epilepsinin varlığı önceden bilinen çocuklarda görülen bir durumdur. Birçok epilepsi sendromunun bir parçası olabilir. Konvulsif status epileptikus (KSE) sık karşılaşılan ve kolay tanınan bir klinik durumken, non-konvulsif status epileptikus (NKSE) konusunda tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tanı sorunları yaşanmaktadır. NKSE durumuna yol açan etyolojik nedenlerin farklılığının yanı sıra, klinik belirtilerin çeşitliliği de sorunu artırmaktadır.

Parsiyel NKSE, aralarında tam düzelme olmaksızın, üst üste tekrarlayan nöbetler veya tam yanıtızlık ya da kısmi yanıtızlık döneminin 30 dakikadan uzun sürmesidir. Bu arada EEG bulgularının genellikle artan ve azalan döngüsel görünümü vardır. Parsiyel NKSE çocuklarda nadiren bildirilmekte ve temporal lob epilepsisi ile ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır (90).

Jeneralize NKSE, mental fonksiyonların, basit bir düşünce yavaşlamasından tam bir bilinç kaybına kadar, değişik ölçülerde bozulması ve elektriksel olarak da bilateral diken dalga kompleksleri şeklindeki boşalımmlarla karakterizedir (96).

Absans statusunana klinik semptomu bilinç kaybıdır ve bu durum, günlük işlerin otomatik olarak yapılmasında sorun yaşanmaması, hatta yüksek bilişsel fonksiyonların normal ama biraz daha yavaş olması gibi fark edilemeyecek kadar hafif olabilir (96,97).

ABD’de, yılda ortalama 65.000-100.000 SE’lu birey olduğu bildirilmiştir. Görülme sıklığı yılda 41/100.000 olarak verilmektedir. Dünyanın diğer ülkelerinde de oranın buna benzer veya bundan daha fazla olduğu düşünülebilir. Türkiye’yi esas alırsak, bu durumda yılda 60.000 vaka söz konusu olabileceği hesap edilmektedir (98).

SE, her yaş grubunda görülmekle birlikte, bu duruma en sık süt çocuğu, küçük çocuklar ve yaşlılarda rastlanılmaktadır. Epilepsi hastalarının üçte birini SE’lu bireyler oluşturur.

Genellikle epilepsinin etyolojisi gibi, SE etyolojisi de değişkenlik gösterir. Çocuklarda SE'un %25'i herhangi bir neden olmadan, %25'i ateş sonrası (febril konvulziyon), %25'i akut nörolojik zedelenme (menenjit, anoksi, travma gibi) ve %25'i diğer nedenlerle gelişir (97,98). Çocuklarda sınırlı SE serilerinde, semptomatik SE vakaların büyük çoğunluğu, ateşli hastalıklar, hipoksik iskemik ensefelopati ve MSS enfeksiyonları oluştururken, yetişkinlerde tümör ve travma ile ilişkili nedenler çoğunluğu oluşturmaktadır. Özellikle çocukluk çağındaki etyolojik nedenler ve bunların sıklıkları, yaşla değişkenlik göstermektedir (96,98).

### **2.2.2. Status epileptikus fizyopatolojisi**

Kronik nöbetlerin SE'a dönüşmesine neden olan biyokimyasal ve fizyopatolojik mekanizmalar tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. SE sistemik olduğu gibi, beyinde de birtakım değişikliklere neden olur.

Glutamat, primer eksitator nörotransmitter madde olup, NMDA reseptörü de dahil olmak üzere depolarizasyonla aktive edilen birçok nöronal reseptöre bağlanır. Bunların sonucu olarak oluşan nöron içi  $Ca^{2+}$  girişide polarizasyonu ve nöbetleri daha da artırır. Glutamat ayrıca  $Na^+$  ve  $Ca^{2+}$ 'un hücre içine girmesi için kanalları açan reseptörleri de aktive eder. Bu aşırı nörotransmisyon sonucunda daha fazla nöronal hasar oluşur.

GABA, beyinde inhibitör nörotransmitter olarak rol alır. Ancak aşırı miktarda artmış GABA uyarısı,  $GABA_A$  ve  $GABA_B$  reseptörlerinin her ikisi üzerinde de aktivite artışına yol açar. Presinaptik yerleşimli  $GABA_B$  reseptörleri,  $GABA_A$  reseptörlerini negatif feedback mekanizmasıyla inhibe ederek, paradoksal olarak nöbetlerin artmasına neden olurlar. ACh, adenosin ve nitrik oksiti de içine alan diğer nörotransmitterler ve modülatörler de SE'un başlama ve devamında önemli rol oynayabilirler (95,96).

SE'taki nöron hasarı ve ölümü, NMDA glutamat reseptörlerinin çok fazla olduğu limbik alanda belirgindir. Hücre içi  $Ca^{2+}$  artışı proteaz ve lipazı aktive ederek; fetal hücre nekrozu, mitokondrial disfonksiyon ve hücre içi elementlerde yıkımla giden nöron ölümüne neden olurlar. Epileptogenez süreci, literatürde oldukça iyi tanımlanmıştır (97).

- Başlangıç hasarı (genellikle akut nöbet aktivitesi eşlik eder.)
- Latent periyot (nöbetlerin görülmediği sessiz dönem)
- Kronik epileptik dönem (ciddi ve sık spontan nöbetlerin olduğu final dönem)

SE'un sistemik etkileri kan basıncı, kalp hızı, vücut ısısı ve solunum fonksiyonlarında olan değişikliklerdir. SE'ta konvulziyon 20-30 dakikadan daha uzun sürerse, beyinde zedelenmeye yol açabilir. Pek çok sistemik faktör, tek başlarına veya bir araya gelerek bu olumsuz durumlara sebep olabilirler. SE'un başlangıç dönemi olan ilk 30 dakikada, dolaşıma bol miktarda epinefrin ve norepinefrin (97). Bu dönemde beyinde belirgin olarak oksijen tüketiminde artış ile birlikte, kardiyak debide artış, taşikardi, sistemik ve pulmoner basınçta artış, bunların sonucu olarak da serebral kan akımında 2-3 kat artış oluşur. Yine bu dönemde plazma glikozu ve beynin glikoz kullanımı artar.

SE, 20-30 dakikadan daha uzun devam ederse, dekompanasyon gelişir. Bu andan itibaren serebral otonöregülasyon bozulur, kardiyak debi düşer, arteriyel hipotansiyon gelişir ve serebral perfüzyon düşer (96). Artmış oksijen ihtiyacı ve bunun beyne yetersiz temini sonucu, hücresel enerji metabolizmasında azalma ve mitokondrial yetersizlik gelişir. Organlar anaerobik metabolizmaya dönerler ve bunun sonucu olarak da hücresel asidoz gelişir.

Anormal elektriksel boşalmanın kendisi, nöronal yıkıma neden olur. Bunun mekanizması tam olarak bilinmese de muhtemelen artmış glutaminerjik eksitator ileti ve  $Ca^{2+}$ 'un aracılık ettiği hücre yıkımı söz konusudur (96,97).

### 2.3.Sitokinler

Sitokinler, çeşitli hücre tipleri tarafından üretilen ve salgılanan polipeptidlerdir. Enflamasyon, hücre büyümesi, iyileşmesi ve yaralanmaya kadar sistemik yanıtı da içine alan bağışıklık ve enflamatuvar olayları düzenlerler. Sitokinler, diğer polipeptit hormonlarda olduğu gibi, hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak, etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran proteinler olup, ekstrasellüler domainleri vardır. Özel olarak sitokinler ile büyüme faktörlerini tanır ve bağlarlar (98).

Yapılan son çalışmalarda, sitokinlerin, özellikle IL-1 $\beta$ 'nın, epilepsi süresince meydana gelen nöronal disfonksiyonlarda önemli etkilerinin olduğu düşünülmektedir (99). Benzer şekilde deneysel modellerde inflamatuvar sitokinlerin seviyelerindeki önemli artış olması, sitokinlerin epileptik nöbet oluşumuyla ilişkili olabileceği fikrini destekler niteliktedir.

Bu anlamda akla gelen en önemli sorular; sitokinlerin hücre hasarı sonrası veya sırasında sentezlenme ve salınımının olup olmadığı, epileptik sürece katkıda bulunup bulunmadığı, eğer böyle bir durum varsa, bunun nasıl olduğudur. Epileptogenez sürecindeki etkileri araştırılan en önemli sitokinler; IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17 ve TNF- $\alpha$ 'dır.

#### 2.3.1. IL-1 $\beta$ 'nin epileptogenez sürecine etkileri

IL-1 sitokin ailesi, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-1 reseptör antagonisti olan IL-1Ra'dan oluşmaktadır. Felç, travma ve Alzheimer hastalığı gibi nörolojik durumlar, MSS'deki IL-1 $\beta$  artışı ile yakından ilişkilidir. Düşük konsantrasyonlarda IL-1 $\beta$  nöro-protektif etkiye sahipken, patolojik durumlarda yüksek konsantrasyonları nörotoksik etkilere yol açmaktadır. Bu yüzden IL-1 $\beta$ , nöbetlerin sürekliliği ve epileptogenez süreciyle yakından ilişkilidir ve proinflamatuvar etkisi olan IL-1 $\beta$ 'nin epilepside anahtar bir rolünün olduğu belirtilmektedir (99).

Deneysel olarak oluşturulan epilepsi modellerinde, epileptik nöbet sürecinde IL-1 $\beta$  mRNA ve IL-1Ra seviyelerinde bir artış olduğu gözlenmiştir (98). Ancak bazı klinik çalışmalarda, IL-1 $\beta$  seviyeleri post-iktal periyot süresince değişmeden kalmıştır. IL-1Ra seviyesinin epileptik nöbetler esnasındaki artışını gösteren çalışmalar tartışmalıdır.

IL-1 $\beta$ 'nın epileptik süreçteki bir başka etkisinin, fosforilasyonda NMDA aracılığıyla hipokampal piramidal hücrelere Ca<sup>2+</sup> geçişini hızlandırmak olduğu da düşünülmektedir. Bu geçirgenliği düzenleyen NMDA reseptör kompleksinin alt ünitesi olan NR2B'dir (100).

### **2.3.2. IL-6'nın epileptogenez sürecine etkileri**

IL-6, ilk olarak 1986 yılında klonlanan ancak son yıllarda önemi giderek daha fazla anlaşılan bir sitokindir (98). Gerek doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemleri üzerine etkisi gerekse sistemik etkileri açısından inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynamakta, bunun sonucunda da cazip bir tedavi hedefi konumuna gelmektedir.

IL-1 $\beta$ 'da olduğu gibi, IL-6' da da multiple skleroz (MS), Alzheimer, travma gibi nörolojik hastalıklarda seviye artışı görülmektedir. IL-6 seviyesinde artış olan transgenik farelerde nörolojik bozukluklar gözlemlenmiştir. Ancak bazı çalışmalarda, sıçan beyin kültürlerinde IL-6'nın nöro-protektif etkilerinin olduğu gösterilmiştir (98,99).

Klinik çalışmalarda özellikle fokal ve sekonder jeneralize nöbetlerden sonra IL-6 seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır (100). Beynin özel bölgelerinin kontrolünde ve nöbetlerin oluşumunda sitokin yanıtlarının rolleri, henüz tam olarak tanımlanamamıştır.



### 2.3.3. IL-17'nin epileptogenez sürecine etkileri

IL-17 sitokin ailesinin altı üyesi vardır: IL-17A (sıklıkla IL-17 olarak adlandırılır), IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E ( IL-25 olarak da bilinir) ve IL-17F. Üyelerin arasında biyolojik fonksiyon ve düzenleme bakımından fonksiyonları en iyi anlaşılabilirler IL-17A ve IL-17F'dir. Bu iki yakın ilişkili sitokin, son zamanlarda immunoloji alanında oldukça dikkat çekmektedir. IL-17A ve IL-17F bakteriyel enfeksiyonlara karşı konak savunmasında ve inflamatuvar hastalıklarda düzenleyici olarak anahtar bir rol oynar. IL-17A'nın aktiflenen nötrofillerin ve IL-6 ile IL-1 $\beta$  gibi proinflamatuvar sitokinlerin uyarılmasıyla inflamatuvar cevabı başlattığı gösterilmiştir (101). MS gibi birçok inflamatuvar hastalığın patogenezinde rol oynadığı düşünülse de, epileptogenez sürecindeki rolü hala tartışmalıdır.

### 2.4. İz elementler ve Epilepsi

İz elementler, organizmada pek çok önemli olayda katalitik, enzimatik ve yapısal faaliyetlere katılan, besin ve su ile dışarıdan alınması gereken anorganik maddelerdir. Organizmaya giren iz elementler, çeşitli kan proteinlerine bağlanarak bütün dokulara dağılırlar (102). Çinko ( $Zn^{2+}$ ) ve bakır ( $Cu^{2+}$ ); hücre membranı bütünlüğünde, bir antioksidan olarak immünyetede, immün sistem fonksiyonunda, hücre solunum, redoks işlemleri, protein sentezi ve büyüme faktörlerinin gen ekspresyonunda önemlidir. Bu elementler, antioksidan enzimlerin yapısına katılarak, serbest radikal üretim zincirini kırarlar ve peroksidasyon oranını azaltarak, serbest radikal oluşumunu baskırlar. Böylece kanser ve kronik hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynarlar (102,103).

Lipit peroksidasyon için önemli mediyatörler olarak işlev gören  $Zn^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$ , süper oksit dismutaz (SOD) enzimi izoformlarının aktivitesi için kofaktörlerdir. Vücutta bakır ve çinko eksikliği, enzimatik ve immünolojik reaksiyonlarda bir azalmayla ilişkilidir. Dolayısıyla vücut için bu denli önemli olan bu iki elementin, epileptik süreçte meydana gelen nöronal hasarda da etkili olabileceği düşünülmektedir (103).

## 2.5. Propolis

Propolis, eski çağlardan beri tıp alanında kullanılan ve Doğu Avrupa ülkeleri başta olmak üzere yaygın bir şekilde üzerinde bilimsel çalışma yapılan birmaddedir. Son yıllarda yapılan pek çok çalışmada, propolisin anti-bakteriyal, anti-viral, anti-inflamatuvar, anti-kanserojen, anti-fungal ve anti-tümöral etkileriyle, birçok biyolojik aktivitede rol oynadığı rapor edilmiştir (104,105). Bu nedenle propolis; inflamasyon, diyabet, kanser gibi hastalıklarda iyileştirici etkileri olduğu için yiyecek ve içeceklerle birlikte tüketilen, tıp ve kozmetik alanında da kullanımı yaygınlaşan bir madde haline gelmiştir.

Propolis, polifenoller (flavonoidler, fenolik asitler ve diğer esterler), terpenoidler, steroidler ve amino asitler gibi 300'den fazlasayıda kimyasal bileşen içermektedir. Bu çeşitliliğin en önemli sebebi, propolis maddesinin elde edildiği bölgelerdeki coğrafik özelliklerin ve bitki çeşitliliğinin farklı olmasıdır (105).



**Şekil 8.** Propolisin arı kovanındaki görüntüsü (105).

## 2.6.Deneysel epilepsi modelleri

Epilepsi çalışmalarında kullanılan deneysel model çeşidi oldukça fazladır. Bu çeşitlilik, modeli oluşturacak klinik nöbetlerin farklılığından ileri gelmektedir. İyi karakterize edilmiş hayvan modelleri, epileptogenezin altında yatan moleküler ve hücrel değişikliklerin aydınlatılmasına, epilepsinin tedavisinde yeni ve alternatif tedavi edici yaklaşımların belirlenmesine olanak sağlayabilmektedir. Dolayısıyla deneysel çalışmalarda insandaki epilepsi hastalığının fizyopatolojik temelini iyi derecede yansıtabilen uygun modelin seçimi son derece önemlidir (106).

Deneysel epilepsi modellerinde beklenen özellikler; insandaki durumu davranışsal olarak ve EEG açısından iyi taklit etmesi, tekrarlanabilir olması, niceliksel özelliklerinin olması, bir laboratuardan diğerine değişkenlik göstermemesi ve farmakolojik profilinin insana benzer özellikler göstermesidir ( 106,107).

### 2.6.1. Status epileptikus modelleri

Status epileptikus deneysel modelleri ile ortaya çıkan durumun, akut nöbetlerin ardından hipokampusta, özellikle dentat girus gibi örselenmeye duyarlı alanlarda hasarlanma, buna eşlik eden yosunsu (mossy) liflerin filizlenmesi, nöronal yeniden yapılanma, davranışsal anormallikler şeklindeki belirtileri ile insanda görülen temporal lob epilepsi modelini iyi taklit ettiği kabul edilir (106). Statustan sonra, haftalar ya da aylar süren sessiz bir latent dönem süresince çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aşırı ekspresyonu ve bunun ardından sinaptik plastisite ile birlikte, çeşitli nörotransmitter sistemlerinin yeniden organizasyonu gerçekleşir. Status epileptikus modelleriyle, nöronal yapılanmanın yeniden gerçekleşme sürecini oluşturmak mümkündür (107).

Çok çeşitli SE deneysel modelleri mevcuttur. Bunlardan bazıları; kainik asit ile indüklenen SE modeli, uzun süreli elektriksel uyarı ile tetiklenen SE modeli, kobalt-homosistein modeli gibi modellerdir (108). Ancak SE deneysel modelleri içinde en çok tercih ve en uygun olan model, lityum-pilokarpin ya da pilokarpinle indüklenen SE modelidir.

### 2.6.1.2 Lityum-pilokarpin ya da pilokarpin ile indüklenen SE modeli

SE'un bilinen en iyi modeli olan bu model, iki şekilde gerçekleştirilebilir. Pilokarpin yüksek dozlarda (300-400 mg/kg) uygulanır ve bu dozun yol açtığı otonomik etkileri ortadan kaldırmak için skopolamin verilir. Diğer bir yol da intraperitoneal (ip) lityum uygulamasından 24 saat sonra, pilokarpin verilmesidir. Bu yöntemin en büyük avantajı; epileptogenez sürecinin iyi bilinmesi, kolayca kontrol edilebilmesi ve güvenilir olarak ölçülebilmesidir (106).

Statusa bağlı ölüm, genellikle 12 saatin üstünde görüldüğünden, hayvanlar diazepam verilerek yaşam oranlarının artması sağlanır. Diazepam, etkisini MSS'nde major inhibitör nörotransmitter olan GABA üzerinden gösterir. GABAerjik sinaptik inhibisyonun etkisini artırarak, beynin pek çok bölgesinde kritik nöronların ateşlenmesini azaltır (106,108).

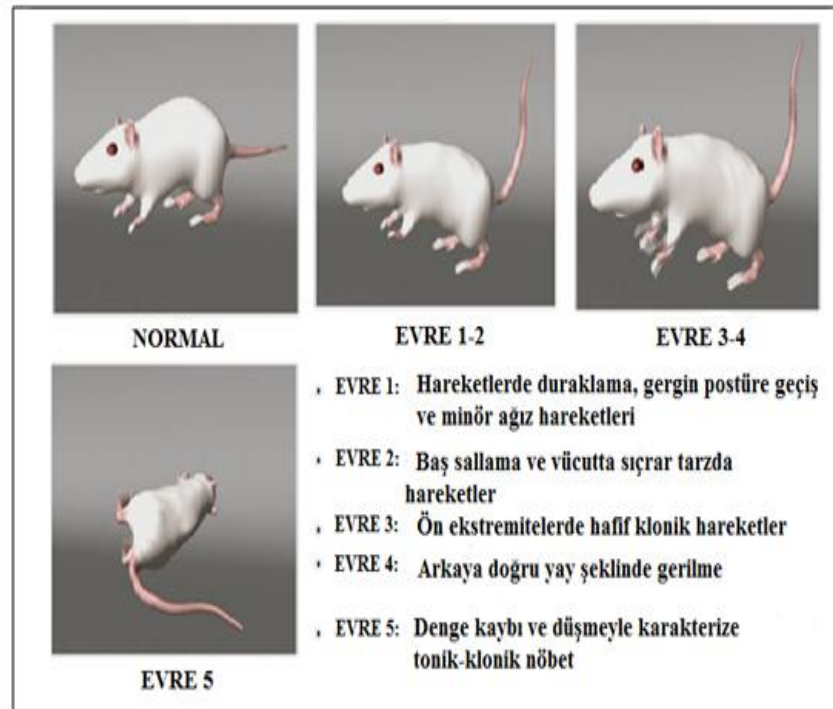
SE modelleri arasında lityum- pilokarpin modelinin tercih edilmesinde pek çok neden vardır:

- Spontan olarak tekrarlayan nöbetler rahatlıkla görülebilmektedir.
- Nöbetler, insan epilepsisindeki benzer şekilde gerçekleşir.
- Lityum ve pilokarpin çok güçlü kolinerjik ajanlardır.
- Kullanılan antiepileptik ilacın farmakokinetik özelliği, diğer bir deyişle gösterdiği etki, insandakiyle aynıdır.

### 2.7. Racine skalası

Racine, 1972 yılında gerçekleştirdiği amigdala kindling modeli çalışmasında, her stimülasyondan sonra sıçanların davranışsal aşamalarını belirli basamaklara ayırmıştır. Bir denek hayvanının nöbet esnasında, ilk basamak sonrası basamak 5'e ulaşması, denge kaybı ve düşmeyle karakterize şiddetli nöbet evresini gösterir (109; Şekil 9).

- Basamak 1.Davranışsal duraklama
- Basamak 2.Ritmik kafa hareketleri, kafa sallama ve baş oynatma
- Basamak 3.Tek taraflı ön üyenin klonik hareketi
- Basamak 4.İki taraflı ön üyenin klonik hareketi ve ayağa kalkma
- Basamak 5.Düşme ve klonik konvulziyon



Şekil 9. Racine skalasına göre nöbet evreleri (109).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Tez çalışması, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde (İNÜTF-DEHÜM) ve Tıp Fakültesi Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanan (Protokol no: 2013/A-84) çalışmadaki bütün uygulamalar, etik kurul protokolünde belirtildiği şekilde yapıldı.

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada ortalama ağırlıkları 200-300 gram olan 12 haftalık Sprague-Dawley cinsi toplam 50 adet dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 5 gruba ayrıldı:

- 1.Grup :(n=10) Kontrol grubu
- 2.Grup:(n=10) Propolis özütü 0.012 gr/ml/kg+(1 hafta sonra)+ lityum 100 mg/kg i.p.(24 saat sonra)+ pilokarpin 25mg/kg i.p
- 3.Grup: (n=10) Lityum+pilokarpin+diazepam (5mg/kg)+ propolis özütü
- 4.Grup: (n=10) Lityum+pilokarpin+propolis özütü
- 5.Grup: (n=10) Lityum+pilokarpin (Epileptik grup)

Deney hayvanları,  $21\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık,12 saat karanlık ortamda tutuldular. Sıçanların birbirlerine ve ortama alışması için 3 gün beklenildi. Sıçanlar *ad libitum* olarak standart sıçan yemi ile beslendiler ve normal musluk suyu içtiler.

#### 3.2. Hazırlık

##### 3.2.1.Sulu propolis özütünün hazırlanması

Çalışmada kullanılmak üzere, Zonguldak İli Arı Yetiştiriciliği Birliği'nden tıbbi çalışmalar için uygun şekilde ekstrakte edilmiş propolis temin edildi. Koyu renklili cam şişe içindeki ekstrakt, deney öncesi karanlık bir ortamda ve oda sıcaklığında saklandı (Şekil 10).



**Şekil 10.** %95'lik etanolik propolis ekstraktı.

Sulu propolis özütü hazırlık aşamasında, Şekil.11'de gösterildiği gibi manyetik karıştırıcı (IKA-C-MAG HS7, Almanya) kullanılarak sulandırma işlemi gerçekleştirildi. Bu aşamada özüt hazırlanırken her aşama literatüre uygun şekilde yapıldı. Propolisin sıvı forma gelmesi ve içindeki partiküllerin tam olarak çözünmesi için yaklaşık 40 dk boyunca manyetik karıştırıcıyla karıştırıldı.

Tam olarak çözünmeden kalan partiküller, filtre kâğıdından geçirildi ve tekrar ortama katılarak, karıştırma işlemine devam edildi. Bu işlem sonrası, sıvı formdaki propolisten alkolün uzaklaştırılması için, propolis konan kabın ağzı 1 hafta açık bırakıldı ve alkolün uzaklaştırılması sağlandı. Her hayvan için 0.012 gr/ml/kg propolis özütü, günlük olarak hazırlandı (5,6).



**Şekil 11.** Propolis sıvı özütünün manyetik karıştırıcıda hazırlanışı.

### **3.2.2. Lityum ve pilokarpinin hazırlanması**

Deneyde sıçanlarda epileptik nöbet aktivitesini başlatmak amacıyla kullanılacak olan maddeler literatüre uygun şekilde hazırlandı. Toz formdaki lityum-kloridin (Alfa Aesar, Almanya ) 1250 mg'ı tartıldı ve 50 ml distile suda çözüldü. Sonrasında toz formdaki pilokarpin- hidroklorid (Alfa Aesar, Almanya) 125 mg gelecek şekilde tartıldı ve üzerine 10 ml distile su eklenerek, deneyde kullanıma hazır hale getirildi. Distile suda çözümlenerek hazır hale getirilen maddeler, cam balon jöjelere konularak, +4 derecede buzdolabında muhafaza edildi (3).



### 3.2.3. Diazepamın hazırlanması

Epileptik nöbet aktivitesini baskılamak için kullanılan diazepam, literatüre uygun dozda hazırlandı. Kullanılan diazepam, sıvı formda olduğu için herhangi bir çözücü madde kullanılmadı (3).

### 3.2.4. Morris su tankı

Morris su tankı, Richard G.Morris tarafından 1984 yılında geliştirilmiş, fare ve sıçanlarda uzamsal öğrenmenin değerlendirilebildiği bir düzenektir (110). Testte kullanılan deney hayvanına 5 gün boyunca günde 4 deneme yaptırılarak, havuz içinde görünmez haldeki platformun yeri öğretilir. Görünmez durumdaki platformun yerini öğrenmek, kognitif stratejiyi kullanmayı gerektirir (111). Bunun için denek, havuz dışındaki ipuçlarını kullanır. 4 gün boyunca deneklerin gösterdikleri performans, çalışma belleğinin (working memory) değerlendirilmesini sağlar. 5. gün yapılan hatırlatma testinde platform havuzdan çıkarılır, denek platformun bulunduğu kadranda geçirdiği süre kaydedilerek bellek (referans memory) değerlendirilir (112).

Tankın çapı 150 cm, yüksekliği 60 cm ve su yüksekliği 40 cm'dir. Tanka su doldurma işlemi yapıldıktan sonra, alt kısmında bulunan ısıtıcı çalıştırılarak, havuzdaki suyun sıcaklığının  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  olması sağlandı. Tank yüzey alanı sanal olarak 4 eşit kadrana bölündü (Kuzeydoğu-NE, kuzeybatı-NW, güneydoğu-SE ve güneybatı-SW). Kadranlardan gelişigüzel birine (hedef kadran güneybatı-SW olarak belirlendi), su yüzeyinin 2 cm altına, çapı 10 cm ve havuz kenarından uzaklığı 30 cm olacak şekilde bir platform yerleştirildi. Sıçanların platformu görmemesi için, havuzun içine toksik olmayan siyah boya (Mixol, Almanya) ilave edildi ve su opak hale getirildi. Platform, sıçanlar üzerine çıktığında kendini emin hissetmesi ve pençeleriyle tutunması için lifli bir kumaşla kaplandı. Platformun yeri ardışık 4 gün sabit tutuldu.

Şekil 12’de gösterdiği gibi su tankının bulunduğu test odasında tankın çevresine, sıçanların mekânsal konumu saptamada görsel ipucu olarak kullanabileceği, her yön için değişik renklerde geometrik şekiller yapıştırıldı. Ayrıca tankın etrafına dış ortamın sıçanlar tarafından görülmesini engelleyecek şekilde paravanlar yerleştirildi. Ortamdaki ışık ayarları kontrol edildi. Test süresince kullanılan ipuçları ve yerleri sabit tutuldu. Testin yapıldığı tüm günler boyunca, dış görünüme, ortamdaki konuma ve kullanılan parfüm vb. kokulu kozmetik ürünlerinin hep aynı olmasına özen gösterildi (111).



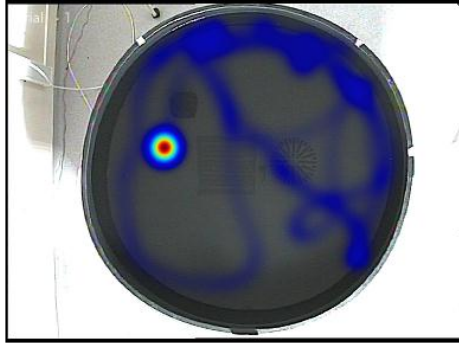
Şekil 12. Morris su tankı ve test odası.

### 3.2.4.1.Morris su tankı platformuna sıçanların alıştırılma süreci

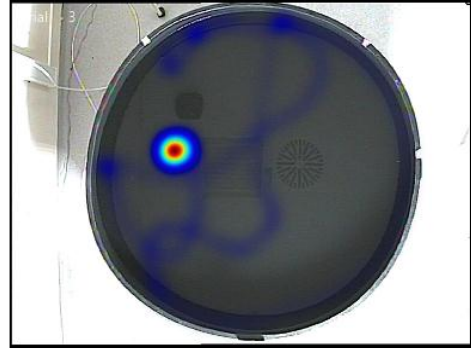
Morris su tankındaki uzamsal öğrenme testi, ilk 4 gün öğrenme periyodu ve 5.gün probe- test periyodu şeklinde yapıldı. Her bir sıçana öğrenme periyodundaki her gün 20 dakika aralıklarla 4 yüzdürme denemesi yaptırıldı. Böylece sıçanlar gizli platformu bulabilmeleri için eğitildiler. Her yüzdürme denemesinde sıçanlar, dört farklı kadrandan suya bırakıldılar. Sıçanların tankta 90 saniye yüzmelerine izin verildi. Bu süre içinde platformu bulamadıkları zaman, yardımla platforma çıkartıldılar. Çevre ipuçlarını tanıyıp öğrenmeleri için 30 saniye platformda bekletildiler. 30 saniyelik bekletme süresi sonunda sıçanlar tanktan çıkartılıp kurutma kâğıdı ve kurutma makinesi ile kurutulularak kafeslerine alındılar. 4 günlük alıştırma süresi boyunca sıçanların kadranda kalış süresi ve hedef kadrana olan mesafeleri ölçüldü.

Kaçış platformunun kaldırıldığı 5.günde, her bir sıçana 90 saniye süren tek bir yüzdürme yaptırıldı ve sıçanlar platform noktasının tam karşısına düşen noktadan suya bırakıldılar. Değerlendirmede sıçanların platform bulunmadığı halde, platformun bulunduğu alanda geçirdiği (probe trial) süre ve platforma varışta katedilen yol ölçüldü.

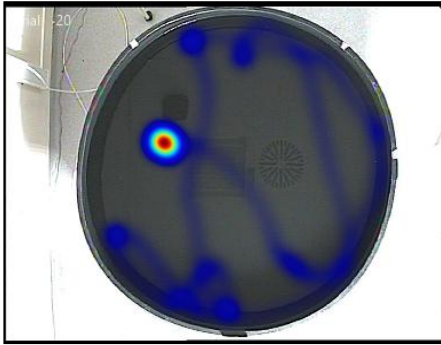
Sıçanın tank içindeki hareketlerini izlemek, kaydetmek ve analiz etmek için bilgisayarlı video kamera sistemi (Ethovision, Noldus) kullanıldı. Şekil.13'te bir sıçanın Morris su tankı ile öğrenme sürecinin ilk 4 gününde ve 5.gün probe- test periyodunda izlediği yollar gösterilmiştir.



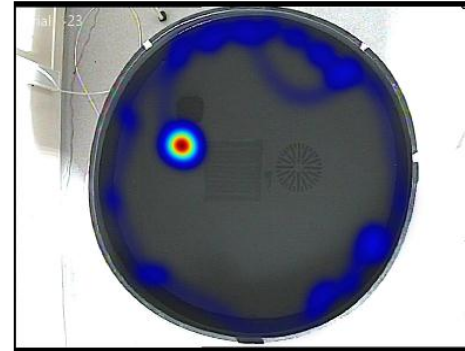
1.gün



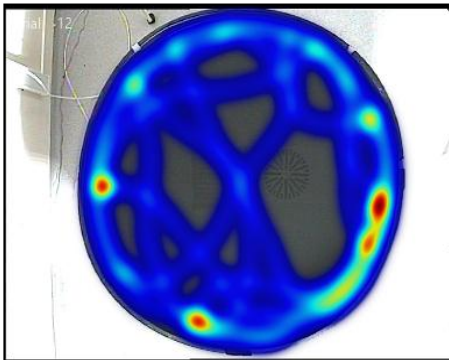
2.gün



3.gün



4.gün



5.gün (Probe-test)

**Şekil 13.** Bir sıçanın Morris su tankı ile öğrenme sürecinin ilk 4 gününde ve 5.gün probe- test periyodunda izlediği yollar.

### 3.3. Deney protokollerinin uygulanması

#### 3.3.1. Kan alma işlemi

Sıçanlarda deneysel SE modeli oluşturulmadan önce, Morris su tankı ile yapılan 4 günlük deneme ve 5. gün yapılan öğrenme testinin ardından, kuyruktan kanatarak kan alma işlemi gerçekleştirildi.

Kan alımı öncesinde sıçanlara eter anestezisi yapıldı. Her bir sıçanın anestetik soluması için, içine konulacağı hayvanın büyüklüğüne göre yeterli olabilecek hacimde bir kavanoz seçildi. Kabın tabanına yeterli miktarda pamuk yerleştirildi ve pamuğun üzerine eter döküldü. Sıçan, kuyruğundan kavrandı ve fazla havada dolaştırılmadan baş kısmı kaba bakacak şekilde tutuldu ve bu sırada sol elde bulunan kapak da hayvanı kavanoz içine itmede yardımcı oldu. Sıçanın ilk baygınlık aşamasından hemen sonra, sıçanın baş kısmı kavanoz içinde, gövde ve kuyruk kısmı dışarıda kalacak şekilde pozisyon değiştirildi. Sıçanın ağrı duymadığından emin olduğunda, kavanoz bir miktar geri çekildi.

Anestezi uygulanmış sıçanın kuyruğuna sıcak su uygulanarak, kuyruğun temizlenmesi ve venlerin dilate olması sağlandı. Keskin cerrahi makas ile kesi en az 0,5 cm içerden olacak şekilde kuyruk ucu kesildi. Kanın mümkün olduğunca kendi kendine damlaması sağlanarak, jelli tüplere (Vacuette, Almanya) alındı. 1 ml kan alındıktan sonra, kuyruk pamuk ile tamponlandı ve kuyrukta enfeksiyon oluşmaması için kuyruk ucu batikonla temizlendi. Kuyruğun ucu flasterle sarılarak, kan alma işlemi tamamlandı (Şekil 14).



**Şekil 14.**Sıçan kuyruğundan kanatarak kan alma işlemi.

Kanların aktarıldığı jelli tüpler, hemen 5000 rpm’de 10 dk süreyle santrifüj (Nüve NF 615, Türkiye) edildi ve ayrılan serumlar, ependorf tüplerine aktararak, sitokin ve iz element analizleri için  $-80^{\circ}\text{C}$ ’de derin dondurucuda (Nuair IF, Japonya) saklandı.

Kuyruktan kan alma işleminden bir gün sonra, 2.gruptaki sıçanlara, insülin enjektörüne metal gavaj kanülü (Şekil.15) takılarak, oral gavaj ile 0.012g/ml/kg sulu propolis özütü verildi ve işlem sonrası 1 hafta beklenildi. Bu işlemin yapılmasındaki amaç; sıçanlarda epilepsi nöbeti oluşturmadan önce, propolisin epilepsi nöbetine karşı koruyucu bir etkisinin olup olmadığını saptamaktır.



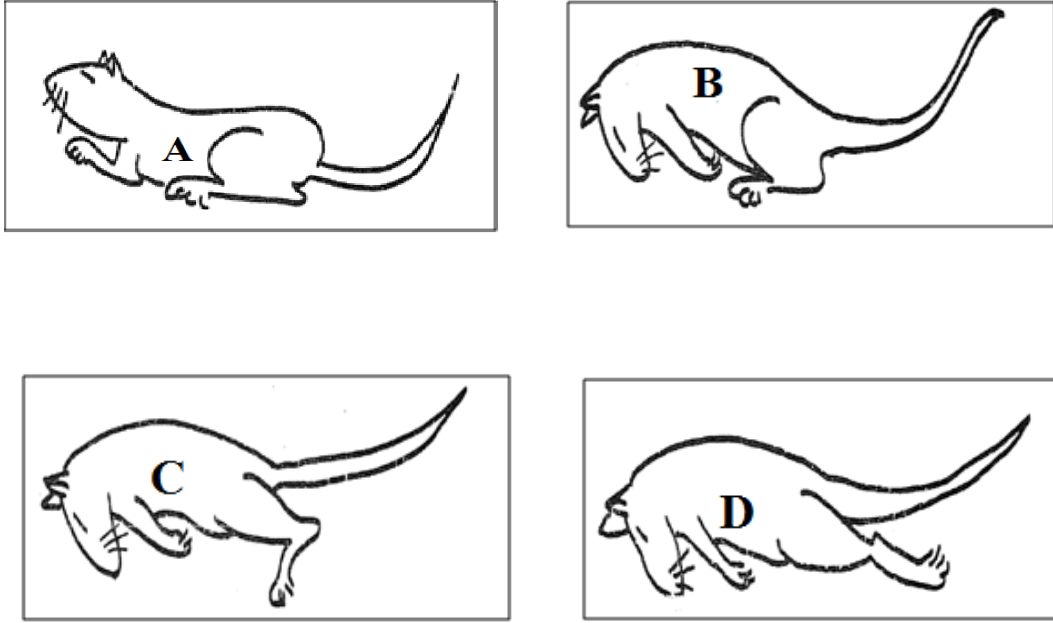
**Şekil 15.** Oral gavajda kullanılan kanülün görünüşü.

### 3.3.2. Lityum-pilokarpinle indüklenen deneysel SE modelinin oluşturulması

2.gruptaki sıçanlara oral gavajla propolis verildikten 1 hafta sonra, kontrol grubu hariç tüm gruplardaki sıçanlara, her bir sıçana 100 mg/kg lityum-klorid olacak şekilde, i.p.(intraperitoneal ) olarak enjekte edildi. Lityum-klorid enjeksiyonundan 24 saat sonra, lityum verilen tüm gruplara 25 mg/ kg pilokarpin –hidroklorid i,p. olarak enjekte edildi ve iki maddenin kolinerjik etkileşimi sayesinde tüm gruplardaki sıçanlarda epileptik nöbetler meydana geldi. Racine skalasına göre, epileptik nöbetler esnasında sıçanlarda meydana gelebilecek tüm değişimler gözlemlendi ve görüntüleri kamera ile kaydedildi (Şekil 16).

3.gruptaki sıçanlara, epileptik nöbet aktivitesi başladıktan sonra yarım saat içerisinde antikonvulzan bir madde olan diazepam verildi. Diazepam, literatüre uygun olarak her bir sıçana 5 mg/kg olacak şekilde i.p.olarak verildi. İlacın nöbet aktivitesini durdurucu etkisini gösterebilmesi için 30 dakika içinde enjekte edildi. (3).

Diazepam verildikten sonra, 3.gruptaki tüm sıçanlarda nöbetler duruncaya kadar beklendi. Bu sırada diğer gruplardaki epileptik nöbetlerin takibinin yapılmasına devam edildi. Sıçanlarda nöbet aktivitesi tam olarak durduktan hemen sonra, 3.gruptaki sıçanların her birine 0.012 gr/ml/kg sulu propolis özütü, oral gavajla verildi. Nöbet aktivitesi durdurulduktan sonra sıçanlara propolis verilmesindeki amaç, propolisinepileptik nöbeti iyileştirme sürecine herhangi bir katkısının olup olmadığını saptamaktır.



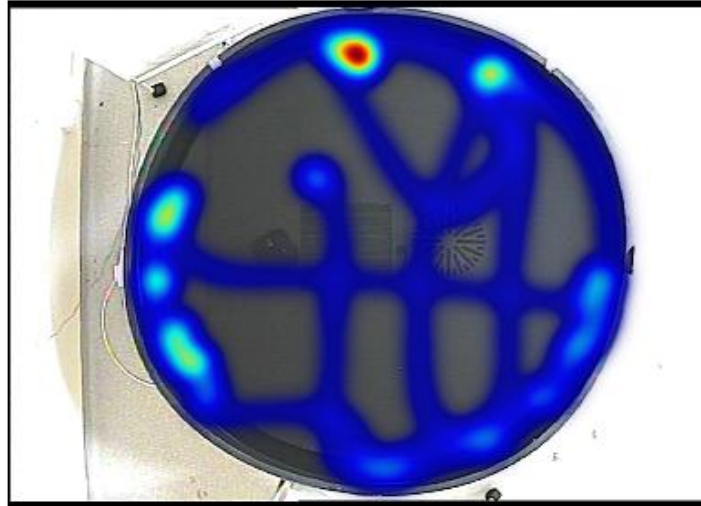
**Şekil 16.** Status epileptikus esnasında sıçanların hareketleri. (A) Ön ve arka ekstremiteleri, kulakları ve bıyıkları etkileyen kasılmalar, (B) Boyun, gövde ve ön ekstremitelerde tonik fleksiyon ve arka ekstremitelerde kasılma, (C) ekstremitelerde parsiyel tonik ekstensiyon, (D) Arka ekstremitelerde tam ekstensiyon ve maksimum konvulziyona geçiş.

4.gruptaki sıçanlarda SE nöbetleri devam ederken, diazepam gibi herhangi bir antikonvulzan etkiye sahip bir ilaç verilmeden her bir sıçana 0.012g/ml/kg sulu propolis özütü, oral gavajla verildi. Buradaki amaç ise propolisin epileptik nöbet üzerinde tedavi edici bir etkisinin olup olmadığını saptamaktır. 5.gruptaki sıçanlara, epileptik nöbet aktivitesi oluşturmak için sadece lityum ve pilokarpin verildi.



### 3.3.3. SE sonrasında tüm grupların Morris su tankı ölçümleri

Tüm gruplara lityum-pilokarpin verilerek, sıçanların status epileptikus nöbetleri takip edilirken, aynı gün deney öncesi yapılan Morris su tankı öğrenme testi, deneysel model oluşturulduktan sonra da uygulandı. Kontrol grubu hariç, epilepsili sıçanların her biri 4 ayrı kadrandan 4 kez havuza bırakıldı. Sıçanların kadranda kalış süresi, platforma gecikme süreleri, platforma olan mesafeleri ölçüldü ve video kamera sistemi ile kayıt altına alındı.



**Şekil 17.**Epilepsili bir sıçanın Morris su tankında izlediği yol.

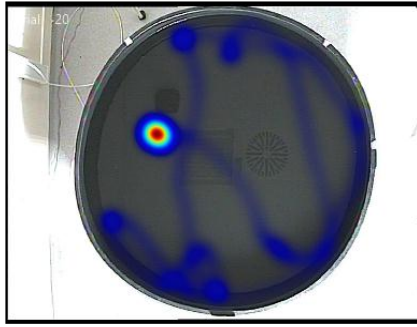
Yapılan tüm işlemlerin ardından, 3. ve 4. gruplara 1 ay boyunca her gün oral gavaj yoluyla ve deney esnasında verilen miktarla aynı olarak sulu propolis özütü verilmeye devam edildi (Şekil 18). Gavaj saatlerinin aynı saatler olmasına özen gösterildi. Sadece iki gruba yapılan bu işlemle propolisin koruyucu ya da tedavi edici etkinliğinin zamana bağlı olarak gözlemlenmesi ve bu süre zarfında diğer gruplarla aralarında nasıl bir farklılık olacağını ortaya çıkarılabilmesi amaçlandı.



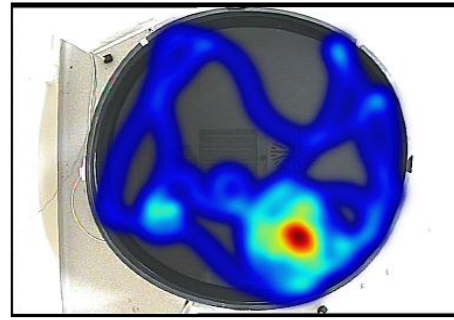
**Şekil 18.** Sıçanlaraoral gavaj ile propolis özütü verilmesi.

### 3.3.4. Propolis sonrası tüm grupların Morris su tankı ölçümleri

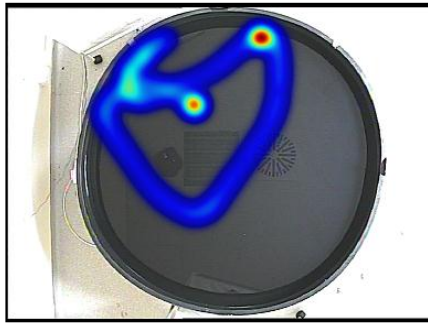
3. ve 4.gruplara oral gavajla 1 ay boyunca propolis verilmesinin ardından, ertesini gün tüm gruplar, bu süre zarfında sıçanlarda öğrenme ve hafızada meydana gelen değişikliklerin gözlemlenebilmesi amacıyla yeniden Morris su tankı testine girdiler. Kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm gruplar, daha önceki test prosedürlerine uygun bir şekilde sırayla her sıçan 4 farklı kadrandan havuza bırakıldı. Aynı parametreler ölçülerek video kamera sistemi ile kayıt altına alındı (Şekil 19).



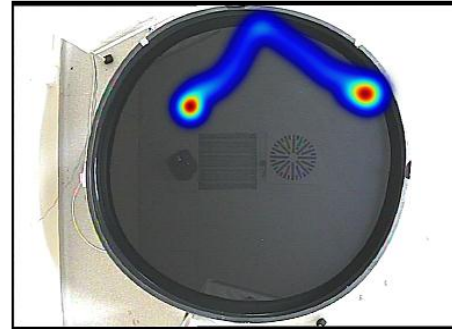
Epilepsi öncesi



Epilepsi sonrası



Propolis verilmeden önce



Propolis verildikten sonra

**Şekil 19.** Epileptik nöbetlerle propolis verme dönemlerinin kıyaslanması.

Deney sona erdikten sonra sıçanlara dekapitasyon işlemi uygulandı. İşlem öncesinde sıçanlara 75 mg /kg ketamin (Richter pharma ag, Avustralya) ve 5 mg /kg ksilazin (Alfazyne, Hollanda) i.p. olarak verildi. Sıçanların spontan hareketlerinin kaybolduğundan emin olunduktan sonra, kalplerinden 5 ml kadar kan alındı. Alınan kanlar, jelli tüplere aktarıldıktan sonra, 5000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj (NF 615, Türkiye) edildi ve ayrılan serumlar, ependorf tüplerine aktararak, sitokin ve iz element analizleri için, -80°C'de derin dondurucuda (Nuaire IF, Japonya) saklandı. Bu işlemlerin hemen ardından, deney öncesi ve sonrasında alınan serum numuneleri alınarak analiz yapıldı.

### **3.4. Analizlerin yapılması**

#### **3.4.1. Serum IL-1 $\beta$ seviyelerinin belirlenmesi**

Serum IL-1 $\beta$  seviyeleri, ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Essay) yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu işlem için uygun olan ELISA kiti (DIAsource, Belçika) kullanıldı.

- 50  $\mu$ l serum numunesi, 150  $\mu$ l bovine serum albumin, benzamidin ve timol içerikli sulandırma tamponu (buffer) kullanılarak 1/4 oranında dilüe edildi.
- Plakta, ilk basamakta kuyucuklara eklenen numuneler üzerine, 200'er  $\mu$ l serum numunesi ile benzamidin ve timol içeren kontroller pipetlendi.
- Pipetleme işleminin ardından, plaktaki tüm kuyucuklara 50  $\mu$ l IL-1 $\beta$ -HRP (Horseradish peroxidase) konjugatı eklendi.
- Konjugat ilavesiyle, her kuyucuktaki sıvının birbiri içerisine geçmesi sağlandı.
- Plaktaki her bir kuyucuğa 0.4 ml Tris-HCl içeren yıkama solüsyonu konuldu ve yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Her seferinde yıkanan kuyucuklar boşaltıldı.

- Yıkama işlemini takiben, her bir kuyucuğa 15 dakika içerisinde oluşan reaksiyon sonucu, 200µl tetrametilbenzidin içeren kromojen TMBkonjugatı eklendi ve plak yüzeyinde renk oluşumu sağlandı.
- Hazırlanan plak, 700 rpm  $\pm$  100 rpm yatay şekilde konularak oda sıcaklığında 15 dakika çalkalamalı inkübatöre konuldu ve kuyucuklardaki solüsyonların iyice karışması sağlandı. Bu işlem yapılmadan önce, ışıkla maruziyetinin engellenmesi için plağın üzeri plastik film ile kaplandı.
- İnkübasyon işleminin ardından plaktaki her bir kuyucuğa, 50µl stop solüsyonu (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pipetlenerek reaksiyon durduruldu.
- İşlemler tamamlandıktan sonra plak, 3 saat içerisinde ELISA cihazına (Brio Seac, İtalya) konuldu ve 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. Çıkan değerler, dilüsyon katsayısı olan ile çarpılarak hesaplandı.

### 3.4.2. Serum IL-6 seviyelerinin belirlenmesi

Serum IL-6 seviyeleri, ELISA yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu işlem için uygun olan ELISA kiti ( DIAsource, Belçika) kullanıldı.

- Plaktaki her bir kuyucuğa 50µl inkübasyon tamponu (Borat tamponlu Bovine serum albumin, benzamidin ve timol ) pipetlendi.
- 50 µl serum numunesi, 50µl bovine serum albumin, benzamidin ve timol içerikli sulandırma tamponu (buffer) kullanılarak 1/2 oranında dilüe edildi.
- Plakta, ilk basamakta kuyucuklara eklenen numuneler üzerine, 200'er µl serum numunesi ile benzamidin ve timol içeren kontroller pipetlendi.
- Hazırlanan plak, 700 rpm  $\pm$  100 rpm yatay şekilde konularak oda sıcaklığında 1 saat çalkalamalı inkübatöre konuldu ve kuyucuklardaki solüsyonların iyice karışması sağlandı.
- Plaktaki her bir kuyucuğa 0.4 ml Tris-HCl içeren yıkama solüsyonu konuldu ve yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Her seferinde yıkanan kuyucuklar boşaltıldı.

- Yıkama işlemini takiben, her bir kuyucuğa 15 dakika içerisinde 200 µl tetrametilbenzidin içeren kromojen TMB konjugatı pipetlendi ve plak yüzeyinde renk oluşumu sağlandı.
- Hazırlanan plak, 700 rpm  $\pm$  100 rpm yatay şekilde konularak oda sıcaklığında 15 dakika çalkalamalı inkübatöre konuldu ve kuyucuklardaki solüsyonların iyice karışması sağlandı. Bu işlem yapılmadan önce, ışıkla maruziyetinin engellenmesi için plağın üzeri plastik film ile kaplandı.
- İnkübasyon işleminin ardından plaktaki her bir kuyucuğa, 100µl stop solüsyonu (HCl) eklenerek reaksiyon durduruldu.
- İşlemler tamamlandıktan sonra plak, 3 saat içerisinde ELISA cihazına (Brio Seac, İtalya) konuldu ve 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. Çıkan değerler, dilüsyon katsayısı ile çarpılarak hesaplandı.

### 3.4.3. Serum IL-17 seviyelerinin belirlenmesi

Serum IL-17 seviyeleri, ELISA yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu işlem için uygun olan ELISA kiti ( Boster Immunoleader, Kaliforniya) kullanıldı.

- Plaktaki her bir kuyucuğa 50µl inkübasyon tamponu (Borat tamponlu Bovine serum albumin, benzamidin ve timol ) pipetlendi.
- 50 µl serum numunesi, 50µl bovine serum albumin, benzamidin ve timol içerikli sulandırma tamponu (buffer) kullanılarak 1/2 oranında dilüe edildi.
- Plakta, ilk basamakta kuyucuklara eklenen numuneler üzerine,100'er µl serum numunesi ile benzamidin ve timol içeren kontroller pipetlendi.
- Hazırlanan plak, 700 rpm  $\pm$  100 rpm yatay şekilde konularak 37 °C'de 90 dakika çalkalamalı inkübatöre konuldu ve kuyucuklardaki solüsyonların iyice karışması sağlandı. Yıkama işlemi yapılmadı.
- Plaktaki kuyucuklara biyotinlenmiş antikolar eklendi ve plak, 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası plak, Tris-HCl içeren yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkandı.

- Yıkama işlemini takiben, her bir kuyucuğa bovine serum albumin, benzamidin ve timol içeren çalıştırıcı solüsyon eklendi ve plak 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Sonrasında plak yeniden 5 kez yıkandı.
- Plaktaki her bir kuyucuğa, plak yüzeyinde renk oluşumu için tetrametilbenzidin içeren kromojen TMB konjugatı eklendi ve 37 °C'de karanlık ortamda 25-30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon işleminin ardından plaktaki her bir kuyucuğa, 100µl stop solüsyonu (HCl) pipetlenerek reaksiyon durduruldu.
- İşlemler tamamlandıktan sonra plak, 3 saat içerisinde ELISA cihazına (BrioSeac, İtalya) konuldu ve 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. Çıkan değerler, dilüsyon katsayısı ile çarpılarak hesaplandı.

#### **3.4.4. Serum bakır ve çinko seviyelerinin belirlenmesi**

Serum bakır (  $Cu^{2+}$  ) ve çinko (  $Zn^{2+}$  ) seviyelerinin ölçümü için, eser miktardaki metallerinkantitatif analizleri için kullanılan alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS) kullanıldı.

- İşlem öncesi polipropilen tüpler içerisine 1000 µl nitrik asit konuldu ve üzerine 200µl serum numunesi eklenerek karıştırıldı.
- Analizi yapılacak örneklerin çözeltisi hazırlandıktan sonra, bakır ve çinko analizi için ayrı ayrı standartlar hazırlandı. Metallerin absorbans yaptığı dalga boyunda okuma yapılarak standart eğrisi oluşturuldu.
- AAS'de (Perkin Elmer Analyst 800, ABD) bakır ve çinko değerleri µg/dl olarak ölçüldü.

### 3.4.5. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler, SPSS 12.0for Windows paket programında yapıldı. Veriler ortalama±standart hata şeklinde ifade edildi. Nicel verilere ilişkin değişkenlerin normal dağılım göstermediği, Shapiro-Wilk normallik testi ile test edildi ( $p<0.05$ ).

Gruplar arası serum sitokin, bakır ve çinko seviyeleri ile Morris su tankı testi verilerinin karşılaştırılmasında, Mann-Whitney U testi,Kruskal-Wallis Varyans Analizi ve Conover Post Hoc Analizi kullanıldı.  $p<0.05$  değeri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Deney öncesi Morris su tankı alıştırmaya test sonuçlarının değerlendirilmesi

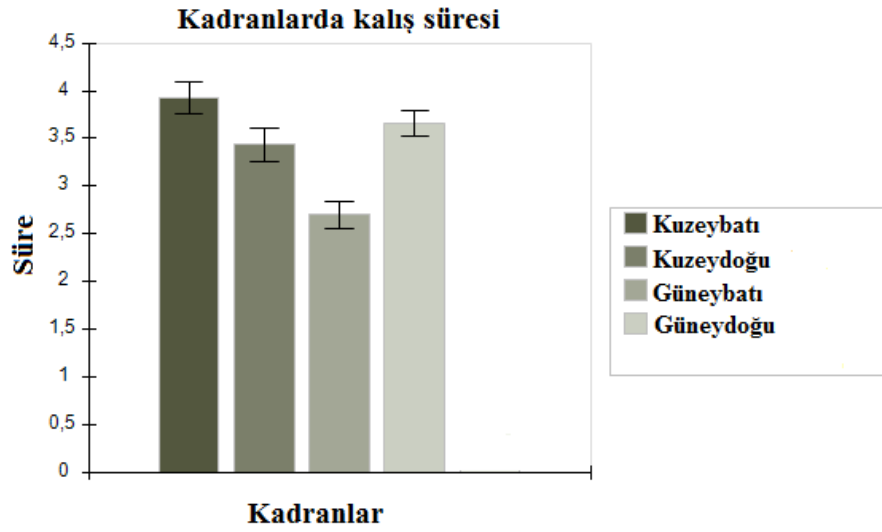
Deney protokolü uygulanmadan önce, sıçanlar Morris su tankında 4 günlük alıştırmaya ve öğrenme periyoduna alındı. Bu süre zarfında tüm gruplardaki sıçanların kadranslarda kalış süreleri ve platforma varışta katedilen yol ölçüldü.

Morris su tankı alıştırmaya testinde, tüm grupların kadranslarda kalış süresi Tablo.4'te gösterilmiştir. Alıştırmaların 1. gününde, kadranslarda kalış süresi kısa iken, 2.,3., ve 4. günlerde kadranda kalış süresinin anlamlı olarak arttığı görüldü ( $p<0.05$ ). 2.,3., 4.günde sıçanların, platformun bulunduğu kadranda olan güneybatı (SW) da bulunma süresinin artış gösterdiği bulundu ( $p<0.05$ ).

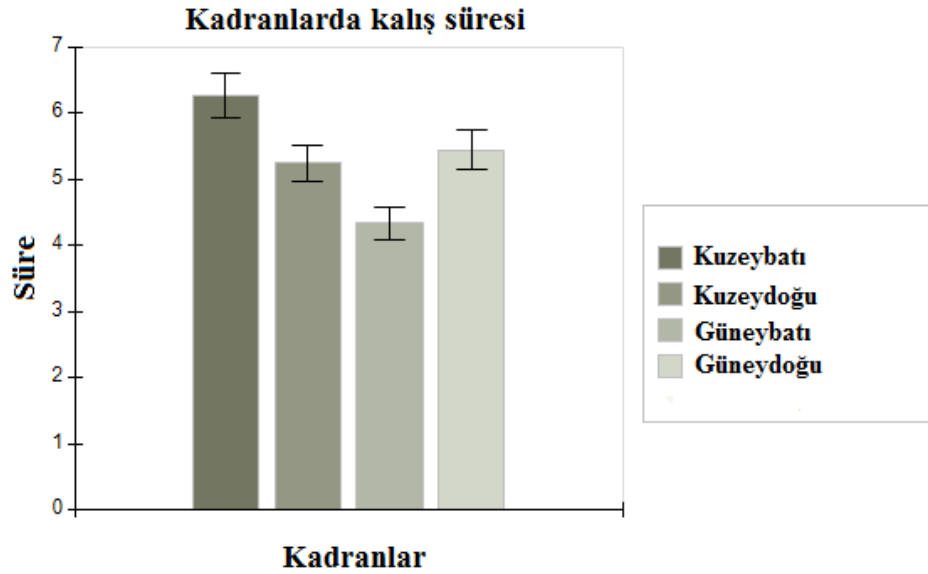
5.gün platform kaldırılarak yapılan probe-trial hafıza testinde tüm gruplardan elde edilen sonuçlar, ilk 4 günlük alıştırmaya periyodunun sonuçlarıyla kıyaslandığında, 5.günde platforma varışta katedilen yolun, diğer günlere göre kısaldığı ve hedef kadranda kalış süresinin arttığı bulundu ( $p<0.05$ ).

**Tablo 4.**Deney öncesi Morris su tankı alıştırmalarında tüm grupların kadranslarda kalış süresi (Ortalama  $\pm$  Standart hata ).

Günler	Kuzeybatı (NW)	Kuzeydoğu (NE)	Güneybatı (SW)	Güneydoğu (SE)
1.gün	1,93 $\pm$ 0,16	2,43 $\pm$ 0,17	2,72 $\pm$ 0,14	3,65 $\pm$ 0,12
2.,3., ve 4. gün	2,56 $\pm$ 0,083	3,07 $\pm$ 0,37	4,63 $\pm$ 0,16	2,46 $\pm$ 0,06
5. gün	6,26 $\pm$ 0,33	5,24 $\pm$ 0,26	6,32 $\pm$ 0,28	5,44 $\pm$ 0,31



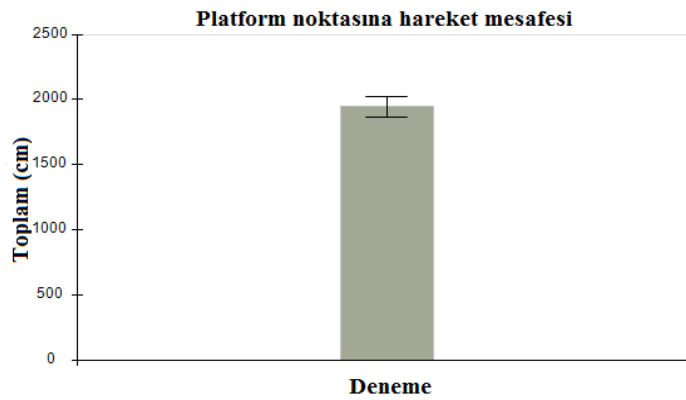
**Şekil 20.**Deney öncesi 4 günlük alıştırma süresince sıçanların kadranlarda kalış süresi (Ort±SH, saniye).



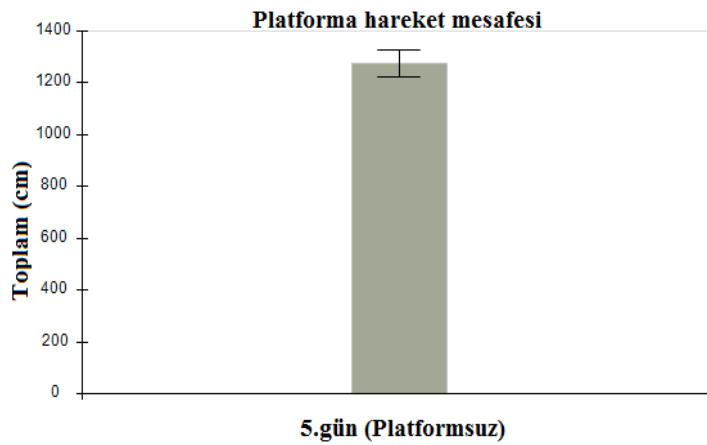
**Şekil 21.**5.gün platformsuz probe –trial testinde sıçanların kadranlarda kalış süresi (Ort±SH,saniye).

**Tablo 5.**Deney öncesi Morris su tankı alıştırmalarında ve 5.gün probe trial testinde tüm grupların platforma varışta katedilen yol (Ortalama±Standart hata, \* $p<0.05$ ).

Günler	Platforma varışta katedilen yol (cm)
1.gün	1572,09±51,55
2.,3.,ve 4. gün	855,6±26,9*
5.gün	245,9±16,85*



**Şekil 22.** Deney öncesi 4 günlük alıştırma süresince sıçanların platforma varışta katedilen yol (Ort ±SH).



**Şekil 23.** 5.gün probe-trial testinde sıçanların platforma varışta katedilen yol (Ort±SH).

#### 4.2. Deney sonrası Morris su tankı test sonuçlarının değerlendirilmesi

Deney protokolleri uygulandıktan sonra, Morris su tankında öğrenme-hafıza testine alınan tüm gruplar arasında karşılaştırma yapıldı. Değerlendirmede sıçanların kadrarlarda kalış süreleri, platforma gecikme süreleri ve platforma varışta katedilen yollar ayrı ayrı değerlendirildi.

Kontrol grubu, epileptik grup ve propolis verilen tüm gruplardaki sıçanların, Morris su tankı testinde kadrarlarda kalış süreleri Tablo. 6'da gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel analizde, epileptik grup ile kontrol grubu ve diğer gruplar kıyaslandığında, epileptik gruptaki (5.grup) sıçanların kadrarlarda kalış süresi, anlamlı biçimde düşük olarak bulundu (\* $p<0.05$ ).

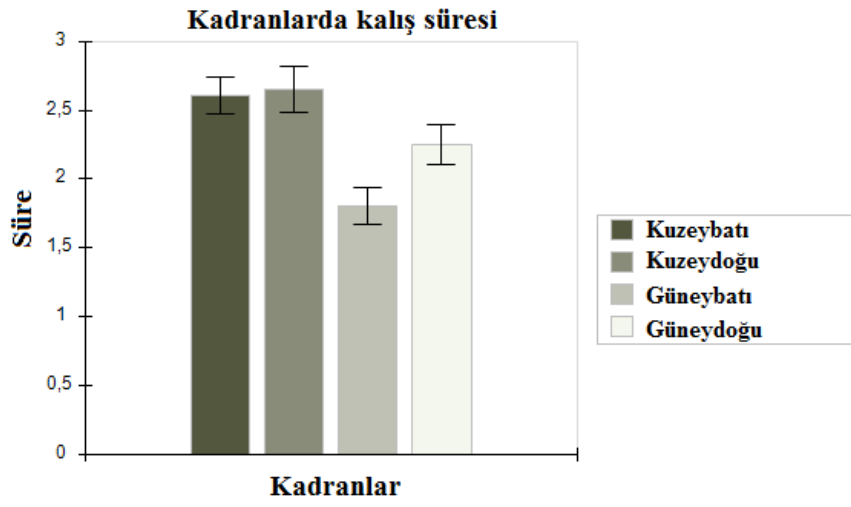
**Tablo 6.**Kontrol grubu, SE geçiren ve propolis verilen grupların kadrarlarda kalış süreleri (Ortalama±Standart hata).

	Gruplar (n=8)	Kuzeybatı (NW)	Kuzeydoğu (NE)	Güneybatı (SW)	Güneydoğu (SE)
1	<b>Kontrol</b>	5,25±0,14	6,60±0,121	6,80±0,132	5,65±0,16
2	<b>Propolis+lityum+pilokarpin</b>	2,32±1,71 **	1,07±0,36 **	2,19±0,89 **	1,24±0,12 **
3	<b>Lityum+pilokarpin+diazepam+propolis</b>	3,23±0,59	3,12±0,34	3,49±0,52	2,52±0,61
4	<b>Lityum+pilokarpin +propolis</b>	3,1±0,61	3,21±0,41	4,42±0,12	2,23±0,32
5	<b>Lityum+pilokarpin (epileptik grup)</b>	0,31±0,08 *	0,42±0,15 *	0,2±0,12 *	0,41±0,16 *

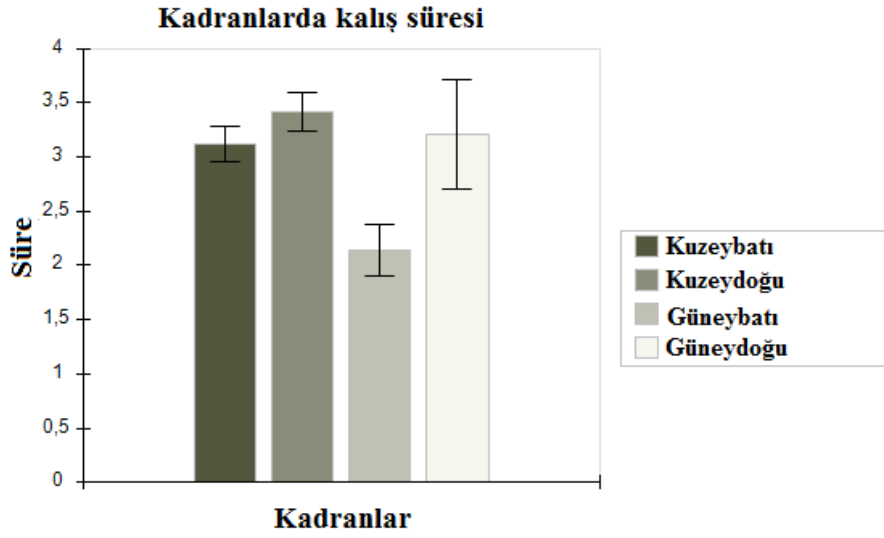
Diazepamla nöbet aktivitesi durdurulduktan sonra propolis verilen 3.grupla, nöbet sonrası direkt olarak propolis verilen 4.grup kıyaslandığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. ( $p>0.05$ ). 3. ve 4. gruplarla, nöbetten 1 hafta önce propolis verilen 2.grup kıyaslandığında, 2.grubun kadrarlarda kalış süresi, 3.ve 4.gruba göre anlamlı ölçüde düşük bulunurken, epileptik gruba (5.grup) göre değerler anlamlı olarak yüksek bulundu ( $*p<0.05$ ). (Tablo.6).

**Tablo 7.** SE geçiren ve propolis verilen grupların kadrarlarda kalış süreleri (Ortalama±Standart hata)

Yönlör	Kuzeybatı (NW)	Kuzeydoğu (NE)	Güneybatı (SW)	Güneydoğu (SE)
<b>SE sonrası tüm gruplar</b>	2,60±0,133	2,65±0,16	1,80±0,13	2,25±0,14
<b>Propolis verilengruplar</b>	3,12±0,16	3,41±0,18	3,54±0,23*	3,20±0,51*



**Şekil 24.** SE sonrası sıçanların kadranlarda kalış süreleri (Ort±SH).

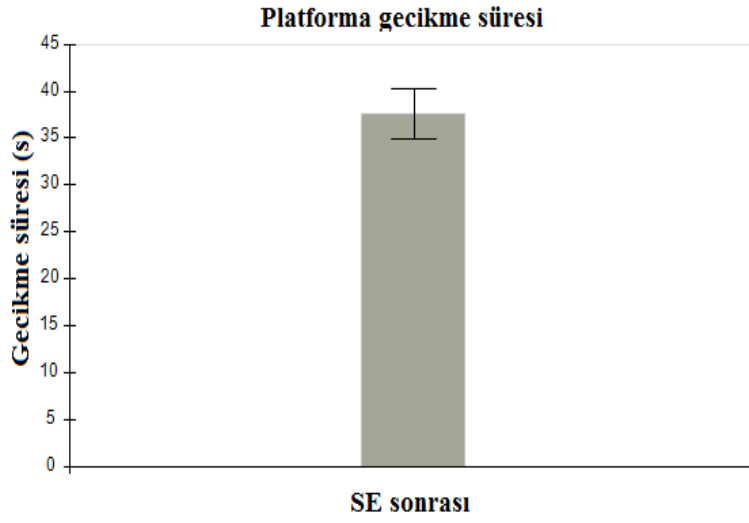


**Şekil 25.** Propolis verildikten sonra sıçanların kadranlarda kalış süreleri (Ort±SH).

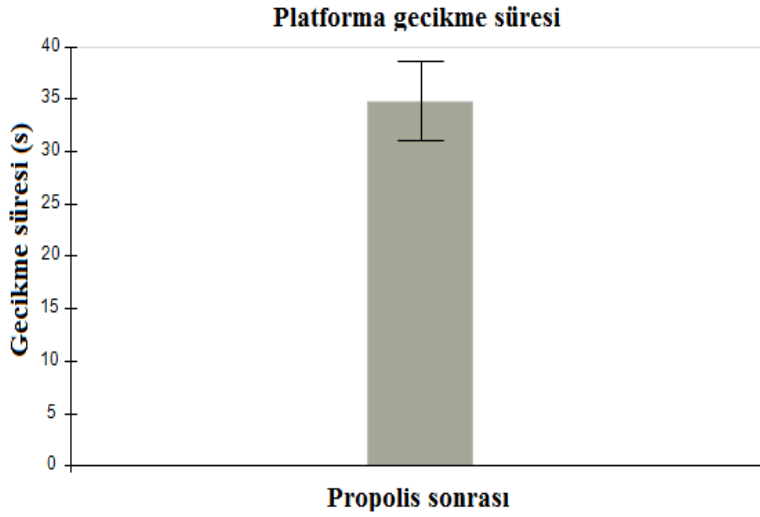
Deney öncesinde, deney sırasında ve sonrasında propolis verilen 2.,3., ve 4. gruplarda, epileptik grup olan 5.gruba göre, kadrarlarda kalış süreleri anlamlı ölçüde yüksek bulunurken,platforma gecikme süresi ve platforma olan hareket mesafesi anlamlı ölçüde düşük bulundu (\* $p<0.05$ ).

**Tablo 8.**SE geçiren ve propolis verilen grupların platforma olan gecikme süresi ve platforma varışta katedilen yollar (Ortalama±Standart hata).

	SE sonrası tüm gruplar	Propolis verilen gruplar
<b>Platforma olan gecikme süresi (saniye)</b>	34,8±3,76	30,5±2,66*
<b>Platforma varışta katedilen yol (cm)</b>	37719,5±2160,91	35033,7±1897,9*

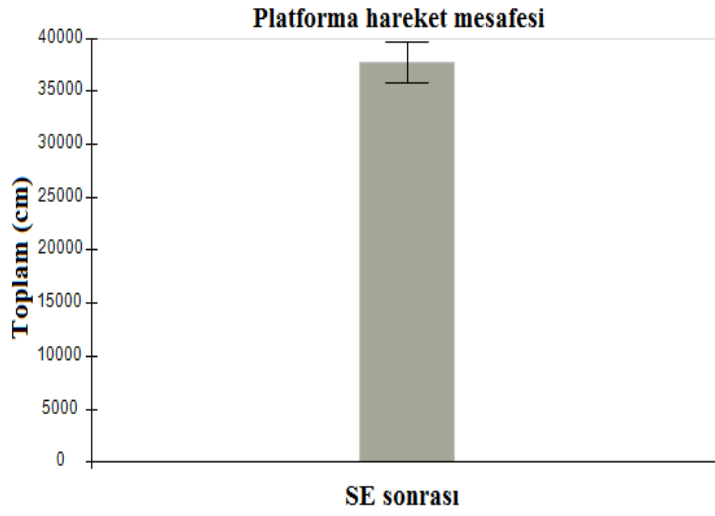


**Şekil 26.**SE sonrası sıçanların platforma gecikme süresi (Ort±SH).

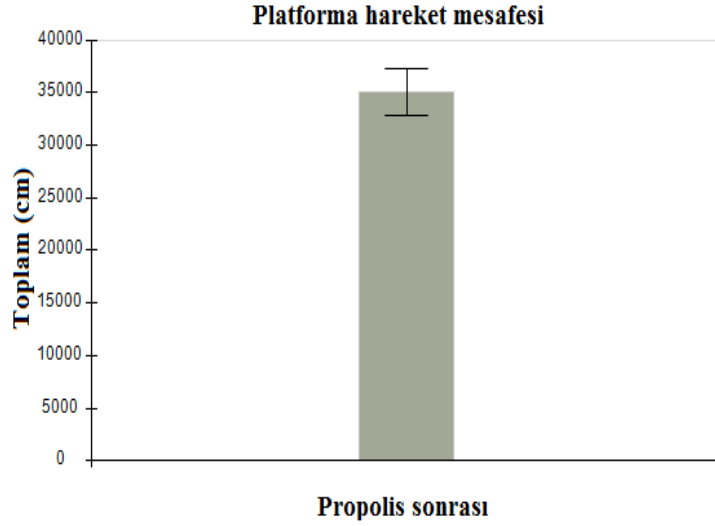


**Şekil 27.**Propolis verildikten sonra sıçanların platforma gecikme süresi (Ort±SH).





**Şekil 28.** SE sonrası sıçanların platforma varışta katedilen yol (Ort±SH).



**Şekil 29.** Propolis verildikten sonra sıçanların platforma varışta katedilen yol (Ort±SH).

### 4.3. Serum sitokin (IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17) seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney öncesi ve sonrası ölçülen serum sitokin seviyelerinin değerlendirilmesinde Wilcoxon testi kullanıldı. Kontrol grubunda önceki ve sonraki sitokin seviyeleri arasında ve deney öncesi propolis verilen gruptaki (2.grup) IL-1 $\beta$  önceki ve sonraki seviyeleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Diğer tüm gruplarda sitokin seviyeleri değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi. ( $p<0.05$ ; Tablo 9).

**Tablo 9.** Serum sitokin seviyelerinde meydana gelen değişiklikler (Ortalama $\pm$ standart hata, Wilcoxon Testi, \* $p<0,05$ ).

Grup n=8	IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17 Sitokin Seviyeleri (pg/ml)					
	IL-1 $\beta$ Ö	IL-1 $\beta$ S	IL-6 Ö	IL-6 S	IL-17 Ö	IL-17S
1	89,32 $\pm$ 11,5	87,31 $\pm$ 10,4	236,25 $\pm$ 2,98	230,2 $\pm$ 1,92	264,3 $\pm$ 2,94	265,80 $\pm$ 1,91
2	96,29 $\pm$ 0,46	95,91 $\pm$ 1,50	230,10 $\pm$ 3,76	213,35 $\pm$ 0,89*	267,52 $\pm$ 0,78	263,43 $\pm$ 1,87*
3	95,3 $\pm$ 0,72	84,47 $\pm$ 0,99*	227,57 $\pm$ 3,24	189,53 $\pm$ 5,49*	265,77 $\pm$ 2,28	163,83 $\pm$ 4,30*
4	95,36 $\pm$ 0,79	88,14 $\pm$ 1,21*	233,24 $\pm$ 3,54	189,18 $\pm$ 1,96*	264,05 $\pm$ 1,83	112,27 $\pm$ 3,74*
5	98,63 $\pm$ 0,76	173,48 $\pm$ 30,25*	242,02 $\pm$ 11,39	445,49 $\pm$ 7,73*	263,58 $\pm$ 1,91	336,28 $\pm$ 4,25*

Grupların deney öncesi ve sonrası sitokin seviyelerinin kendi içerisinde yapılan karşılaştırılmasında, propolis verilen 2.grup (IL-1 $\beta$  seviyesi hariç), 3.grup ve 4.gruptaki tüm sitokin seviyelerinde sonraki değerler, öncekilerden istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük bulundu (\* $p<0.05$ ).

Epileptik grup olan 5.grupta ise sonraki sitokin değerleri, öncekilerden istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulundu (\* $p<0.05$ ).İstatistiksel olarak anlamlı bulunan gruplar arasındaki değerlendirme, Mann-Whitney U testi kullanılarak yapıldı. 3. ve 4. grupların tüm sitokin düzeyleri karşılaştırıldığında, eşit düzeyde farklılık gösterdikleri saptandı ( $p=0.495$ ). Kontrol grubu hariç, tüm grupların sitokin seviyeleri Kruskal-Wallis Testi ile değerlendirildi. Her grubun sitokin değerlerinde istatistik olarak anlamlı fark olduğu saptandı (\* $p<0.0001$ ).

#### 4.4. Serum bakır ( $Cu^{2+}$ ) ve çinko ( $Zn^{2+}$ ) seviyelerinin değerlendirilmesi

Deney öncesi ve sonrası ölçülen serum bakır ve çinko seviyelerinin değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile yapıldı. Tablo 10'da gösterildiği gibi, kontrol grubunda  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  değerleri deney öncesi ile sonrası seviyelerinde anlamlı fark bulunmazken, diğer dört grupta bakır ve çinko seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bulundu (\* $p<0.0001$ ).

**Tablo 10.** Serum bakır ve çinko seviyelerinde meydana gelen değişiklikler(Ortalama±standart hata, Kruskal-Wallis Varyans Analizi,\* $p<0.0001$ ).

Grup n=8	Serum bakır (Cu) seviyesi ( $\mu\text{g/dl}$ )	Serum çinko (Zn) seviyesi ( $\mu\text{g/dl}$ )
1	178,1±6,77*	128,3±3,45*
2	129,4±7,42*	112,8±5,64*
3	122,1±5,42*	187,1±48,20*
4	134,3±4,86*	208,9±45,63*
5	90,4±6,28*	96,5±1,01*

Gruplar arasındaki bakır ve çinko değerlerinin karşılaştırılarak değerlendirilmesinde, Conover Post Hoc Analizi kullanıldı. Kontrol grubu ve epileptik grup (5.grup) birbirleriyle kıyaslandığında, bakır ve çinko değerleri epileptik grupta, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde düşük bulunmuştur (\* $p<0.05$ ).

2.gruptaki (epilepsi öncesi propolis verilen grup) bakır ve çinko seviyeleri, kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşük düzeyde bulunmuştur (\* $p<0.05$ ). 3. ve 4. grupta (epilepsi sonrası 1 ay boyunca propolis verilen gruplar) bakır ve çinko seviyeleri, 5.gruba (epileptik grup) göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur (\* $p<0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Propolisin öğrenme ve uzamsal bellek üzerine etkileri

Status epileptikusun (SE), 30 dk'dan daha uzun süren nöbet aktiviteleri nedeniyle, çocuklarda nöronal ve psiko-sosyal gelişimi olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir(5,6).Bu durum, öğrenme güçlüğü ve hafızanın gerilemesi gibi güçlükleri de beraberinde getirmektedir. Son zamanlarda yapılan pek çok çalışmada, hipokampusun özellikle CA1 ve CA3 bölgesinde, dentat girusta, amigdala ve limbik sistemin tamamında meydana gelen nöron kayıplarının, öğrenme ve hafıza bozukluğuna yol açtığı gösterilmiştir ( 53,54,63 ).

Propolis, bal arılarından elde edilen reçinemsî bir madde olup; anti-mikrobiyal, anti-oksidan ve anti-tümör özellikleri olduğu bilinen bir maddedir. Yapılan çalışmalarda propolisin özellikle antioksidan özelliği dikkate alınarak, MS, Alzheimer gibi beyni çeşitli nöron kaynaklı hastalıklardan koruduğu gösterilmiştir (5,6).Bu bulgular, bize propolisin SE'un öğrenme ve uzamsal bellek üzerinde oluşturduğu hasarları iyileştirici ve SE'a karşı koruyucu yönde etki edebileceğini düşündürdü. Ancak araştırdığımız kadarıylaliteratürde, propolisin epilepsi üzerine etkilerini içeren pek çok çalışma olsa da, SE'un öğrenme ve hafıza üzerine etkilerini içeren, çalışmamız kadar geniş kapsamlı başka bir çalışma yoktur. Çalışmamızda Morris su tankını kullanarak, kontrol grubundaki ve SE deneysel modeli oluşturduktan sonra tüm gruptaki sıçanları karşılaştırdık ve uzamsal bellekte meydana gelen değişimleri değerlendirdik.

Tüm sıçanların 4 günlük öğrenme testi boyunca, platformun yerini bulma sürelerinin giderek kısaldığı görüldü. Platformun kaldırılarak, belleğin ölçüldüğü 5. günde ise sıçanların platform noktasında, diğer kadranlara göre daha çok zaman geçirdikleri ve platforma yaklaştıkları görüldü.

SE deneysel modelini oluşturulduktan sonra yapılan Morris su tankı testinde, epileptik gruptaki sıçanların (sadece lityum ve pilokarpin verilen 5.grup), kadranlarda kalış süresi, kontrol grubu ve propolis verilen gruplarla (3. ve 4.grup) karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük bulundu.

Diazepamla nöbet aktivitesi durdurulduktan sonra propolis verilen 3. grupta,nöbet sonrası direkt propolis verilen 4.grup arasında, kadranlarda kalış sıklığı bakımından anlamlı bir fark olmadığı saptandı.Ancak,SE öncesinde propolis verilen 2.grupta kadranlarda kalış süresi, paltforma gecikme süresi ve platforma hareket mesafesinin 3. ve 4.gruba göre düşük olduğu görüldü. Epileptik grup olan 5.grupla karşılaştırıldığında, 3.ve 4.gruptaki sıçanların kadranlarda kalış süresi artarken, platforma gecikme sürelerinin ve platforma varışta katettikleri yolların azaldığı görüldü.

SE nöbetleri sonrasında bir ay boyunca propolis verilen 3.ve 4. gruplarda, deney öncesi propolis verilen 2. gruba göre, öğrenme ve hafızanın iyileşmesi üzerine propolisin etkili olduğu saptandı. Epileptik grup olan 5.gruba göre, deney öncesi propolis verilen 2.gruptaki sıçanlarda hedef kadranda geçirilen sürenin daha uzun olduğu saptandı.

Epileptik nöbetler sonrası kognitif fonksiyonların olduğu beyin bölgelerinde, oksidatif strese bağlı oluşan hasarlar, öğrenme ve bellekte bozukluklar oluşturmaktadır (5,6). Literatürdeki çalışmalara paralel olarak, yaptığımız çalışmada propolisin içerdiği flavonoidler sayesinde, oluşan toksik maddeleri süpürücü özellik göstererek etki ettiği ve bu yolla nöroprotektif etki yaparak öğrenme ve bellekte oluşan bozuklukları tamir edebildiği düşünülebilir.

## **5.2. Propolisin serum sitokin seviyelerine etkileri**

Sitokinler, bağışıklık ve enflamatuvar olayları içine alan birçok sistemik yanıtı düzenleyen, çeşitli hücre tipleri tarafından üretilip salgılanan polipeptitlerdir (98).Yapılan son çalışmalarda, sitokinlerden özellikle IL-1 $\beta$ 'nın epileptik süreçte meydana gelen fonksiyon bozukluklarından sorumlu olduğu fikri ortaya çıkmıştır (3,4,100).

IL-1 $\beta$ 'nin epileptik sürece bir başka etkisinin de fosforilasyonda NMDA aracılığıyla hipokampal piramidal hücrelere Ca<sup>2+</sup> geçişini hızlandırmak olduğu ifade edilmektedir (100).

Çalışmamızda kontrol grubuyla kıyaslandığında, SE öncesi propolis verilen grupta (2.grup) IL-1 $\beta$  seviyesi değişmezken, epileptik grupta IL-1 $\beta$  seviyesi anlamlı ölçüde artmıştır. Ancak propolis verilen gruplarda, epileptik gruplara göre IL-1 $\beta$  seviyesinin düşük olduğu saptanmıştır. Bu da propolisin, IL-1 $\beta$  seviyesini düşürerek tedavi edici bir etki oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Alzheimer, MS gibi çeşitli nörolojik hastalıklarda, IL-1 $\beta$ 'da olduğu gibi, IL-6 seviyesinde de bir artış olduğu gösterilmiştir (100). Ancak beyin özel bölgelerinin kontrolünde ve nöbetlerin oluşumunda sitokin yanıtlarının rolleri henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Klinik olarak yapılan bir çalışmada, özellikle fokal ve sekonder jeneralize nöbetlerden sonra, IL-6 seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır (98). Bizim çalışmamızda da literatürdeki bu çalışmalara paralel olarak, SE geçiren epileptik grupta, kontrol grubu ve propolis verilen gruplara göre IL-6 seviyesinde anlamlı bir artış olduğu saptandı. IL-17'nin, MS gibi birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığı düşünülse de, epileptogenez sürecindeki rolü hala tartışmalıdır. Son yapılan klinik bir çalışmada, epilepsili hastaların serebrospinal sıvılarından alınan örneklerde IL-17 seviyelerine bakılmış ve özellikle interiktal dönemlerde seviyelerde artış olduğu saptanmıştır (101). Çalışmamızda, literatüre paralel bir şekilde IL-1 $\beta$  ve IL-6 seviyelerinde olduğu gibi, serum IL-17 seviyesinde de kontrol grubu ve propolis verilen gruplara kıyasla epileptik grupta artış olduğu açığa çıkmıştır. Glutamat, primer eksitator nörotransmitter madde olup, NMDA reseptörü de dahil olmak üzere depolarizasyonla aktive edilen birçok nöronal reseptöre bağlanır. Bunların sonucu olarak nöron içi Ca<sup>2+</sup> girişi depolarizasyonu ve nöbet aktivitesinin şiddetini daha da artırır (102). IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17'nin de NMDA aracılığıyla hipokampal piramidal hücrelere Ca<sup>2+</sup> geçişini hızlandırdığını ifade edebiliriz. Bu da sitokinlerin, beyinde glutamat düzeylerini yükselterek ve hipereksitabiliteye neden olarak, epileptik nöbetler esnasında bu yolla sitokin seviyelerinde bir artış oluşturabileceğini düşündürmektedir.

### 5.3. Propolisin serum bakır ve çinko seviyelerine etkileri

Çinko ( $Zn^{2+}$ ) ve bakır ( $Cu^{2+}$ ), vücutta en yaygın bulunan iz elementlerdendir. Bu iki elementle epileptik nöbetler arasında ilişkiyi konu alan pek çok yayın yapılmıştır. Yapılan son çalışmalarda, febril konvulziyonlarda  $Zn^{2+}$  düzeyinin düşük olduğundan bahsedilmiştir (102).

Öğrenme ve uzamsal bellek ile Zn/Cu oranlarının karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise, febril konvulziyonlar sonucu belleği zayıflayan bireylerde, serum  $Zn^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  seviyelerinde düşüş olduğu saptanmıştır ( 103 ).Çalışmamızda deney öncesi ve sonrasında sıçan serumlarında ölçülen  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  değerleri karşılaştırdık. Epileptik gruptaki sıçanlarda,  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  değerlerinin düşük olduğunu; ancak SE nöbetleri sonrası propolis verilen gruplarda  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  değerlerinde anlamlı ölçüde bir azalmanın olmadığını gördük. Elde ettiğimiz sonuçlara bakıldığında, epileptik grupta hem sitokin seviyelerinin yüksek olması hem de  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  seviyelerinin düşüklüğü arasında, nöbet aktiviteleri üzerindeki etkileri dikkate alınarak bir bağlantı kurulabilir.

Glutamat, primer eksitator nörotransmitter madde olup, NMDA reseptörü de dahil olmak üzere depolarizasyonla aktive edilen birçok nöronal reseptöre bağlanır. Bunların sonucu olarak nöron içi  $Ca^{2+}$  girişi depolarizasyonu ve nöbet aktivitesinin şiddetini daha da artırır (102). IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17'nin de NMDA aracılığıyla hipokampal piramidal hücrelere  $Ca^{2+}$  geçişini hızlandırdığı düşünülebilir.

Bu mekanizma ile ilişkili olarak SE durumunda,  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  seviyelerindeki azalma ele alındığında farklı bir mekanizma üzerinden bu süreci değerlendirebiliriz. Hipokampus ve amigdala bölgelerinde, yüksek yoğunlukta  $Zn^{2+}$  içeren nöron terminalleri mevcuttur. Önemli bir inhibitör nörotransmitter olan GABA, L-glutamatın dekarboksilasyonu ile üretilir. Bu işlem için glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzimi önemli rol oynar.



Enzimin aktivasyonu B6 vitaminiyle (piridoksal fosfat) sağlanır. Zn da piridoksal dan, piridoksal fosfat üretimini sağlayan “piridoksal fosfat kinaz” enzimini uyarak, GABA sentezini modüle etmiş olur (103).

Buradan yola çıkarak, Zn eksikliğinin GABA düşüklüğü ile paralel olduğu ve bu durumda epileptik nöbetleri tetikleyici yönde bir işlev gördüğünü söyleyebiliriz. Sonuç olarak, Cu ve Zn eksikliğinde GABA oluşumunun azalması, aynı anda glutamat düzeylerinin artmasına neden olmaktadır. Bu durum, sitokin seviyelerinde artışa neden olarak, hem epileptik nöbet oluşumunu kolaylaştırmasına hem de hipokampusta nöronal kayba yol açmasına neden olabileceğini düşündürmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Status epileptikus (SE), 30 dk'dan fazla süren nöbetler sebebiyle özellikle çocuklarda uzamsal bellek ve hafıza gelişimini olumsuz yönde etkileyen bir hastalıktır. Morris su tankında yaptığımız test sonuçları göz önüne alındığında, SE'un literatürdeki pek çok çalışmayla paralellik gösterdiği, beynin öğrenme ve hafıza ile ilişkili bölgeleri olan hipokampusu ve limbik sistemi olumsuz şekilde etkilediği görülmüştür.

SE öncesi propolis verilen ve SE nöbetleri sonrası propolis verilen gruplarda uzamsal bellekte ve hafızada meydana gelen ciddi hasarların önemli ölçüde ortadan kalktığı görülmüştür. Propolis, içerdiği flavonoidlerle, antioksidan özellik göstermekte olup, lipit peroksidasyonu sırasında oluşan polimer zincir reaksiyonlarını kırarak, reaksiyonu durdurucu etki yapmaktadır.  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  elementleri de lipit peroksidasyonu için önemli mediyatörler olarak işlev görmektedir. Dolayısıyla propolis,  $Cu^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$ 'nin etkinliğini artırıcı şekilde etki etmektedir.

IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-17 seviyeleri, SE süresince ciddi artış göstermekte ve beyinde aşırı uyarılmaya neden olarak, nöbet sıklığını artırmaktadır. Sitokinlerin bu işlevlerini, NMDA aracılığıyla, hipokampal piramidal hücrelere  $Ca^{2+}$  geçişini hızlandırarak yaptıkları bilinmektedir (3,4). Çalışmamızdaki sonuçlara göre, propolis, sitokin seviyelerini düşürerek SE esnasında meydana gelen aşırı nöbet aktivitesini baskılayıcı bir etki yapmıştır.

Çalışmadan elde edilen bulgular, propolisin SE'un çocuklarda sebep olduğu öğrenme güçlüğü ve uzamsal bellek hasarını tamir etmede kullanılabileceğini; ayrıca SE tedavisinde antiepileptik bir ajan şeklinde kullanılarak ya da antiepileptik ilaçlarla birlikte alındığında oluşan nörolojik hasarları tersine çevirici bir etki oluşturabileceğini ortaya koymaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Seino.M. Classification criteria of epileptic seizures and syndromes.Epilepsy Res 2006; 70 (suppl 1): 27-33.
2. Zaidel,D,W,Esiri,M.,Oxbury,J.M.:Regional differentiation of cell densities in the left and right hippocampi of epileptic patients.J.Neurol. 1993;240-322.
3. Marangoz C.Deneysel Epilepsi Modelleri. O.M.Ü. Tıp Dergisi.1997;14(3): 147-186.
4. Okan M.Status Epileptikus.Güncel Pediatri 2004;2:116-119.
5. M.I.Khalil,Biological activity of bee propolis in health and disease,Asian Pac .J. Cancer Prev.7 (2006) 343-348.
6. Y.Inokuchi,M.Shimazama.Y.Nakajima,S.Sucmori,H.Hara, Brazilian gren propolis against damage in vitro and in vivo, e CAM 3( 2006) 71-77.
7. Maytal J, Shinnar S. Status epilepticus in children. *Childhood Seizures* 1995: 111-122.
8. Driscoll SM, Towne AR, Pellock JM, DeLorenzo RJ. Recurrent status epilepticus in children. *Neurology* 1990; 40: 297.
9. Eeg-Olofsson, Petersen I, Sellden U. The development of the electroencephalogram in normalchildren from age of 1 through 15 years. Paroxysmal activity. *Neuropediatric* 2004:375-404.
10. Law W, Kelland EE, Sharp P, Toms NJ. Characterisation of zinc uptake into rat cultured cerebrocortical oligodendrocyte progenitor cells. *Neurosci Lett* 2003;352:113–116.
11. Mollah MAH, Rakshit SC, Anwar KZ, Arslan MI, Saha N, Ahmed S, Azad K, Hassan T. Zinc concentration in serum and cerebrospinal fluid simultaneously decrease in children with febrile seizure: Findings from a prospective study in Bangladesh. *Acta Paediatrica* 2008;97: 1707–11.

12. Tütüncüoğlu S, Kütükçüler N, Kepe L, Coker C, Berdeli A, Tekgül H. Proinflammatory cytokines, prostaglandins and zinc in febrile convulsions. *Pediatr Int.* 2001 Jun;43(3):235-9.
13. Jun-Hwa Lee and Jeong Hyun Kim. Comparison of Serum Zinc Levels Measured by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry in Preschool Children with Febrile and Afebrile Seizures. *Ann Lab Med* 2012;32:190-3.
14. Suh SW, Gum ET, Hamby AM, Chan PH, Swanson RA. Hypoglycemic neuronal death is triggered by glucose reperfusion and activation of neuronal NADPH oxidase. *J. Clin. Invest.* 2007;117: 910–918.
15. Sendrowski K, Sobaniec W, Sobaniec-Lotowska ME, Artemowicz B. Topiramate as a neuroprotectant in the experimental model of febrile seizures. *Adv Med Sci.* 2007;52 Suppl 1:161-5.
16. Obrenovitch TP, Urenjak J. Altered glutamatergic transmission in neurological disorders: from high extracellular glutamate to excessive synaptic efficacy. *Prog. Neurobiol.* 1997;51:39–87.
17. Takeda A, Fuke S, Ando M, Oku N. Positive modulation of long-term potentiation at hippocampal CA1 synapses by low micromolar concentrations of zinc. *Neuroscience* 2009; 158:585–591.
18. Dube CM, Zhou JL, Hamamura M, Zhao Q, Ring A, Abrahams J, McIntyre K, Nalcioglu O, Shatskih T, Baram TZ and Holmes GH. Cognitive Dysfunction after Experimental Febrile Seizures. *Exp Neurol.* 2009;215(1): 167–177.
19. Martinos MM, Yoong M, Patil S, Chin RFM, Neville BG, Scott RC and de Haan M. Recognition memory is impaired in children after prolonged febrile seizures. *Brain* 2012; 135; 3153–3164.

20. Liu, X., Wen, F., Yang, J., Chen, L., Wei, YQ. 2010. A review of current applications of mass spectrometry for neuroproteomics in epilepsy. *Mass Spectrom Rev.*, 29(2);197-246.
21. Fisher, RS., Boas, WvE., Blume, W., Elger, C, Genton, P., Lee, P., Engel, JJr. 2005. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Apr*;46(4):470-2.
22. Forsgren, L., Hauser, WA., Olafsson, E., Sander, JW., Sillanpää, M., Tomson, T. 2005. Mortality of epilepsy in developed countries: a review. *Epilepsia*, 46 Suppl 11;18-27.
23. Schuele, SU., Luders, HO. 2008. Intractable epilepsy: management and therapeutic alternatives. *Lancet Neurol.*, 7(6);514-24.
24. Dichter, MA. 2006. Models of epileptogenesis in adult animals available for antiepileptogenesis drug screening. *Epilepsy Res.*, 68(1);31-5.
25. Löscher, W., Schmidt, D. 2006. New Horizons in the development of antiepileptic drugs: Innovative strategies. *Epilepsy Res.*, 69(3);183-272.
26. Stefan, H., Lopes da Silva, FH., Löscher, W., Schmidt, D., Perucca, E., Brodie, MJ., Boon, PA., Theodore, WH., Moshé, SL. 2006. Epileptogenesis and rational therapeutic strategies. *Acta Neurol Scand.*, 113(3);139-55.
27. Zeng, LH., Rensing, NR., Wong, M. 2009. The mammalian target of rapamycin signaling pathway mediates epileptogenesis in a model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci.*, 29(21); 6964-72.

28. Wayne, NF. 2009. Genetics of complex neurological disease: challenges and opportunities for modeling epilepsy in mice and rats. *Trends Genet.*, 25(8);361–367.
29. Shorvon, SD. 1996. The epidemiology and treatment of chronic and refractory epilepsy. *Epilepsia*, 37(Suppl.2); S1-S3.
30. Engel, JJr. 1989. *Seizures and epilepsy*. Philadelphia, PA: Davis.
31. Lüders H, Acharya J, Baumgartner C ve ark. Semiological seizure classification *Epilepsia*, 1998 ;39(9):1006-1013.
32. Altay, EE., Bilir, E. 1999. Demans ve Epilepsi. *Demans Dizisi*, 4:116-128.
33. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes *Epilepsia*, 1989; 30:389-398.
34. Engel J Jr. ILAE classification of epilepsy syndromes. *Epilepsy Res*, 2006 ;70 (S2-3) :5-10.
35. ILAE Commission Report. The epidemiology of the epilepsies: Future directions. *Epilepsia*, 1997;38(5):614-618.
36. Osuntokun BO, Schoenberg BS, Nottidge VA, ve ark. Research protocol for measuring the prevalence of neurologic disorders in developing countries :Result of a pilot study in Nigeria. *Neuroepidemiology*, 1982;1:143-153.
37. Osuntokun BO, Adeuja AOG, Nottidge VA, ve ark. Prevalence of epilepsies in Nigerian Africans: a community –based study. *Epilepsia*, 1987;28:272-279.

38. Dada TO. Epilepsy in Lagos, Nigeria. *Afr J Med Sci*, 1970;1:161-184.
39. Alan Guberman, J. Bruni. *Essentials of Clinical Epilepsy*. Epidemiology. Second edition. USA. 1999:3.
40. Walter G. Bradley, Robert B. Daroff, Gerald M. Fenichel, C. David Marsden. *Neurology in clinical practice. The Epilepsies*. 2000; 71: 1745
41. Sander JWAS, Shorvon SD. Epidemiology of the epilepsies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 61: 433-443.
42. Wolf P. Epilepsy and catalepsy in Anglo-American literature between romanticism and realism: Tennyson, Poe, Eliot and Collins. *J. Hist. Neurosci*. 2000; 9(3) 286-293.
43. O. Charles Cockerell, Simon D. Shorvon. *Epilepsy Current Concepts*. Epidemiology. London-1996.
44. Johnston D, Hoffman DA, Magee JC, et al. Dendritic potassium channels in hippocampal pyramidal neurons. *J Physiol*. 2000;525 (Pt 1): 75-81.
45. McCormick DA, Shu Y, Hasenstaub A, et al. Persistent cortical activity: mechanisms of generation and effects on neuronal excitability. *Cereb Cortex*, 2003;13(11):1219-1231.
46. Hille B. Modulation of ion-channel function by G-protein-coupled receptors. *Trends Neurosci*, 1994;17(12):5315-53156.
47. Cline H. Synaptogenesis: a balancing act between excitation and inhibition. *Curr Biol*, 2005;15(6):R203-205.

48. Sanabria ER, Su H, Yaari Y. Initiation of network bursts by  $\text{Ca}^{2+}$  dependent intrinsic bursting in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J Physiol*, 2001; 532(Pt1): 205-216.
49. Stafstrom, CE. 2006. Epilepsy: a review of selected clinical syndromes and advances in basic science. *J Cereb Blood Flow Metab.*, 26(8); 983-1004.
50. Stafstrom, CE. 2009. Severe epilepsy syndromes of early childhood: the link between genetics and pathophysiology with a focus on SCN1A mutations. *J Child Neurol.*, 24(8 Suppl); 15S-23S.
51. Kang, JQ., Macdonald, RL. 2009. Making sense of nonsense GABA(A) receptor mutations associated with genetic epilepsies. *Trends Mol Med.*, 15(9); 430-8.
52. Sánchez-Carpintero Abad, R., Sanmartí Vilaplana, FX., Serratos Fernández, JM. 2007. Genetic causes of epilepsy. *Neurologist.*, (6 Suppl 1); S47-51.
53. Zaidel, D.W., Esiri, M., Oxbury, J.M.: Regional differentiation of cell densities in the left and right hippocampi of epileptic patients. *J Neurol.* 1993; 240: 322
54. Valdizan, J.R., Vergara, J.M., Rodriguez, J.P., Guallar, A., Garcia, C.: Nocturnal prolactin and growth hormone levels in children with complex partial and generalized tonic-clonic seizures. *Acta Neurol Scand* 1992:86
55. Dibbens, LM., Harkin, LA., Richards, M., Hodgson, BL., Clarke, AL., Petrou, S., Scheffer, IE., Berkovic, SF., Mulley, JC. 2009. The role of neuronal GABA(A) receptor subunit mutations in idiopathic generalized epilepsies. *Neurosci Lett.*, 453(3); 162-5.



56. Wallace, R. 2002. Mutations in GABA-receptor genes cause human epilepsy. *Lancet Neurol.*, 1(4);212.
57. Teichgräber, LA., Lehmann, TN., Meencke, HJ., Weiss, T., Nitsch, R., Deisz, RA. 2009. Impaired function of GABA(B) receptors in tissues from pharmaco-resistant epilepsy patients. *Epilepsia*.50(7); 1697-716.
58. Alexander, GM., Godwin, DW. 2006. Metabotropic glutamate receptors as a strategic target for the treatment of epilepsy. *Epilepsy Res.*, 71(1);1-22.
59. Moldrich, RX., Chapman, AG., De Sarro, G., Meldrum, BS. 2003. Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy. *Eur J Pharmacol.*,476(1-2);3-16.
60. Voglis, G., Tavernarakis, N. 2006. The role of synaptic ion channels in synaptic plasticity. *EMBO reports*, 7; 1104 – 1110.
61. Aroniadou-Anderjaska, V., Fritsch, B., Qashu, F., Braga, MF. 2008. Pathology and pathophysiology of the amygdala in epileptogenesis and epilepsy. *Epilepsy Res.*78(2-3);102-16.
62. Roshan-Milani, S., Ferrigan, L., Khoshnood, MJ., Davies, CH., Cobb, SR. 2003. Regulation of epileptiform activity in hippocampus by nicotinic acetylcholine receptor activation. *Epilepsy Res.*, 56(1);51-65.
63. Bauer J, Uhlig B, Schrell U et al. Exhaustion of postictal serum prolactin release during status epilepticus. *J Neurol* 1992;239:175-6.
64. Durlach, J., Poenaru, S., Rouhani, S., Bara, M., Guiet-Bara, A.: The control of central neuronal hyperexcitability in magnesium deficiency. *Nutrients and Brain Function. Central Neuronal Excitability and Magnesium Deficiency*(1987), p.48.

65. Bertram, EH. 2009. Temporal lobe epilepsy: where do the seizures really begin?. *Epilepsy Behav.*, Jan;14 Suppl 1:32-7.
66. Meeren, HK., Pijn, JP., Van Luijtelaar, EL., Coenen, AM., Lopes da Silva, FH. 2002. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci.*, 22;1480-1495.
67. Sitnikova, E., van Luijtelaar, G. 2006. Cortical and thalamic coherence during spike-wave seizures in WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.*, 71(2-3);159-80.
68. Bertram, EH., Williamson, JM., Scott, C., Mangan, PS., Zhang, DX. 2001. The midline thalamus: alterations and a potential role in limbic epilepsy. *Epilepsia*, 42;967-978.
69. Herkenham, M. 1978. The connections of the nucleus reuniens thalami: evidence for a direct thalamo-hippocampal pathway in the rat. *J Comp Neurol*, 177;589-610.
70. Su, H-S., Bentivoglio, M. 1990. Thalamic midline cell populations projecting to the nucleus accumbens, amygdala, and hippocampus in the rat. *J Comp Neurol.*, 297;582-593.
71. Zhang, DX., Bertram, EH. 2002. Midline thalamic region has widespread excitatory input to the entorhinal cortex and amygdala. *Jour Neuroscience*, 22;3277-3284.
72. Juhász, C., Nagy, F., Watson, C., da Silva, EA., Muzik, O., Chugani, DC., Shah, J., Chugani, HT. 1999. Glucose and [C-11]flumazenil positron emission tomography abnormalities thalamic nuclei in temporal lobe epilepsy. *Neurology*, 53;2037-2045.

- 73.** Natsume, J., Bernasconi, N., Andermann, F., Bernasconi, A. 2003. MRI volumetry of the thalamus in temporal, extratemporal, and idiopathic generalized epilepsy. *Neurology*, 60;1296-300.
- 74.** Shinnar, S., Berg, AT., O'Dell, C., Newstein, D., Moshe, SL., Hauser, WA. 2000. Predictors of multiple seizures in a cohort of children prospectively followed from the time of their first unprovoked seizure. *Ann Neurol.*, 48;140–147.
- 75.** Herman, ST. 2002. Epilepsy after brain insult: targeting epileptogenesis. *Neurology*, 59;S21- S26.
- 76.** Dichter, MA. 2006. Models of epileptogenesis in adult animals available for antiepileptogenesis drug screening. *Epilepsy Res.*, 68(1);31-5.
- 77.** Hauser, WA., Annegers, JF. 1991. Risk factors for epilepsy. *Epilepsy Res.*, Suppl 4;45-52.
- 78.** Hesdorffer, DC., Hauser, WA., Annegers, JF., Cascino, G. 2000. Major depression is a risk factor for seizures in older adults. *Ann Neurol.*, 47;246–249.
- 79.** Frey, LC. 2003. Epidemiology of posttraumatic epilepsy: a critical review. *Epilepsia*, 44Suppl.
- 80.** Massa, R., de Saint-Martin, A., Carcangiu, R., Rudolf, G., Seegmuller, C., Kleitz, C. 2001. EEG criteria predictive of complicated evolution in idiopathic rolandic epilepsy. *Neurology*, 57(6);1071-9.
- 81.** Staley, K., Hellier, JL., Dudek, FE. 2005. Do interictal spikes drive epileptogenesis? *Neuroscientist*, 11;272–276.

- 82.** Nicolai, J., van der Linden, I., Arends, JB., van Mil, SG., Weber, JW., Vles, JS., Aldenkamp, AP. 2007. EEG characteristics related to educational impairments in children with benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes. *Epilepsia*, 48;2093-2100.
- 83.** WHO Erişim: 30 Kasım 2014, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs999/en>.
- 84.** French, JA., Williamson, PD., Thadani, VM., Darcey, TM., Mattson, RH., Spencer, SS., Spencer, DD. 1993. Characteristics of medial temporal lobe epilepsy: I. Results of history and physical examination. *Ann Neurol.*, 34(6);774-80.
- 85.** Engel, JJr., Wiebe, S., French, J., Sperling, M., Williamson, P., Spencer, D., Gumnit, R., Zahn, C., Westbrook, E., Enos, B. 2003. Practice parameter: temporal lobe and localized neocortical resections for epilepsy. *Epilepsia*, 44(6);741-51.
- 86.** Bilginer, B., Akalan, N. 2006. Temporal Lobe epilepsies. *Türk Nöroşirurji dergisi*, Cilt:16, Sayı:3;156-159.
- 87.** Engel, JJr. 1996. Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.*, 26;141 – 150.
- 88.** Squire, LR., Zola-Morgan, S. 1991. The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253(5026);1380-6.
- 89.** Tayloredge Erişim: 7 Aralık 2014, [http:// www.tayloredge.com/ reference/ Science /index.html](http://www.tayloredge.com/reference/Science/index.html)
- 90.** Sharvon SD. Status Epilepticus :Its Clinical Features and Treatment in Children and Adults. Cambridge University Press, 1994; 21-26.

- 91.** Pellock M.J. Status epilepticus. In Swaiman K. F, Ashwal S (Eds). Pediatric Neurology Principles and Practice Third Edition St Louis: Mosby 1999; 683-91.
- 92.** Owen B, Evans Manuel of child Neurology Churchill Livingstone 1987; 403-7.
- 93.** Hauser WA. 1983. Status epilepticus: frequency, etiology and neurological sequelae. In: Delgado-Escueta AV, Westarlein CG, Treiman DM, et al. Status epilepticus. Advances in neurology, vol.34. New York: Raven Press, 3-14.
- 94.** Roger J, Lob H, Tassinari CA. 1974. Status epilepticus. In: Vinken PJ, Bruyn GW, eds. The epilepsies. Handbook of neurology, Vol.15. Amsterdam: North Holland, 145-188.
- 95.** Jayakar PB, Seshia SS. 1991. Electrical status epilepticus during slow-wave sleep: review. J Clin Neurophysiol 7:299-311.
- 96.** Matsuoka H, Okuma T, Ueno T, et al. 1986. Impairment of parietal cortical functions associated with episodic prolonged spike-and-wave discharges. Epilepsia 27:432-436.
- 97.** Pellock M.J. Status epilepticus. In Swaiman K. F, Ashwal S (Eds). Pediatric Neurology Principles and Practice Third Edition St Louis: Mosby 1999; 683-91.
- 98.** De Luca, G., Di Giorgio, R.M., Macaione, S., Calpona, P.R., Costantino, S., Di Paola, E.D., De Sarro, A., Ciliberto, G., De Sarro, G., 2004. Susceptibility to audiogenic seizure and neurotransmitter amino acid levels in different brain areas of IL-6-deficient mice. Pharmacol. Biochem. Behav. 78, 75-81.

- 99.** De Simoni, M.G., Perego, C., Ravizza, T., Moneta, D., Conti, M., Marchesi, F., De Luigi, A., Garattini, S., Vezzani, A., 2000. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur. J. Neurosci.* 12, 2623-2633.
- 100.** Casamenti, F., Prosperi, C., Scali, C., Giovannelli, L., Colivicchi, M.A., Fausone-Pellegrini, M.S., Pepeu, G., 1999. Interleukin-1beta activates forebrain glial cells and increases nitric oxide production and cortical glutamate and GABA release in vivo: implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience* 91, 831-842.
- 101.** He JJ, Li S, Shu HF, Yu SX, Liu SY, Yin Q, Yang H. (2013) The interleukin 17 system in cortical lesions in focal cortical dysplasias. *J Neuropathol Exp Neurol* 72:152-163.
- 102.** Howell, G.A., Morton, J.D., Donnini, D., Frederickson, C.J., 1986. Decreased audiogenic seizure activity following subcutaneous zinc injection. *Abstr.-Soc. Neurosci.* 12, 890.
- 103.** Kurekci, A.E., Alpay, F., Tanindi, S., Gokcay, E., Ozcan, O., Akin, R., Isimer, A., Sayal, A., 1995. Plasma trace element, serum glutathione peroxidase, and superoxide dismutase levels in epileptic children receiving antiepileptic drug therapy. *Epilepsia* 36, 600-604.
- 104.** F.D. Marquele, K.M. Stracieri, M.J. Fonseca, L.A. Freitas, Spray-dried propolis extract. I: physicochemical and antioxidant properties, *Pharmazie* 61 (2006) 325-330.
- 105.** J.M. Sforcin, E.L. Novelli, S.R. Funari, Seasonal effect of Brazilian propolis on seric biochemical variables, *J. Venomous Animals Toxins* 8 (2002) 244-254.

- 106.**Marangoz C, Deneysel epilepsi modelleri. O.M.Ü Tıp Dergisi, 14(3):147-186,1997.
- 107.**Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Moshé SL, (Eds). Models of seizures and epilepsy. Elsevier Academic Press2006:345-350.
- 108.**Sarkisian MR. Overview of the current animal models for human seizure and epileptic disorders. Epilepsy Behavior2001;2:201–216.
- 109.** S, Morrell M,C guidelines series:treatment of epilepsy. Epilepsy Behav.2001;2:1-50.
- 110.**Bayer SA. Development of the hippocampal region in the rat. II. Morphogenesis during embryonic and early postnatal life. J Comp Neurol 1980; 190: 115-34.
- 111.** Charles V Vorhees & Michael T Williams, Morris water maze: procedures for assessingspatial and related forms of learning and memory. Nature Protocols 2006; 1: 848 – 858.
- 112.** Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Methods 1984; 11: 47–60.



**İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI**

Toplantı Tarihi : 10-10-2013  
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya  
 Araştırma Protokol no.su : 2013/A-84  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Türü : Sprague Dawley  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Soyu : Sprague Dawley  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 50 Adet  
 Deneide Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : 12 haftalık 200-300gr

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Prof.Dr.M.Hanifi EMRE'nin yürütücüsü olduğu "Lityum-Pilokarpinle İndüklenen Deneysel Status epileptikus Modelinde Sıçanlarda Sitokin Seviyeleri ve Uzamsal Bellek Üzerine Propolisin Etkileri" isimli 2013/A-84 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanlar Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Başkan	 Prof. Dr. Nigar VARDI Üye	 Doç. Dr. Yılmaz ÇİĞREMİŞ Üye
 Vet.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye	Katılmadı Yrd.Doç.Dr.Mehmet KARATAŞ Üye	Katılmadı Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Salih AVCI Sivil Üye	 Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye	



## ÖZGEÇMİŞ

23.06.1990 yılında Tatvan'da doğdum. İlköğrenimimi Çanakkale ve Şanlıurfa'da, orta öğrenimimi Balıkesir'de tamamladım. 2008 yılında Ayvalık Anadolu Lisesi'nden mezun oldum. Aynı yıl lisans eğitimime İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başladım ve 2012 yılında mezun oldum. Aynı yıl, güz döneminde, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.