



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**EPİLEPTİK SIÇANLARDA KEDİ OTU (*Valeriana officinalis*)
EKSTRAKTININ KARDİYOVASKÜLER SİSTEM
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Ayşegül KAPUCU
Biyoloji Anabilim Dalı
Zooloji Programı**

**Danışman
Doç. Dr. Kadriye AKGÜN DAR**

Mayıs 2012

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**EPİLEPTİK SIÇANLARDA KEDİ OTU (*Valeriana officinalis*)
EKSTRAKTININ KARDİYOVASKÜLER SİSTEM
ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Ayşegül KAPUCU
Biyoloji Anabilim Dalı
Zooloji Programı**

**Danışman
Doç. Dr. Kadriye AKGÜN DAR**

Mayıs 2012

İSTANBUL

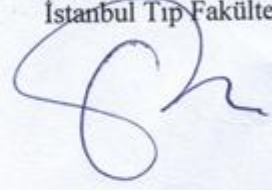
Bu çalışma 15/05/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Zooloji programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

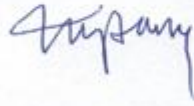
Doç. Dr. Kadriye AKGÜN-DAR (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakültesi



Prof. Dr. Gülay ÜZÜM
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi



Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ
Bilim Üniversitesi
Tıp Fakültesi



Prof. Dr. Ziya ZİYLAN
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi



Prof. Dr. Nurbay ATEŞ
Kocaeli Üniversitesi
Tıp Fakültesi



Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 3883 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans, yüksek lisans ve doktora öğrenimim sırasında ve tez çalışmalarım boyunca deneyimlerimden ve bilgilerimden yararlandığım çok değerli hocam Doç. Dr. Kadriye AKGÜN DAR'a gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı en içten dileklerle teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ, Prof. Dr. Gülay ÜZÜM ve Prof. Dr. Muammer ÜNAL'a katkılarından ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım olan Araş. Gör. Dr. Ebru GÜREL, Araş. Gör. Dr. Aslı KANDİL, , Araş. Gör. Ayşe KARATUĞ, Biyolog Levent DALYAN ve Araş. Gör. Engin KAPTAN'a teşekkürü borç bilirim. Ayrıca, çalışmamın uygulama kısmında destek olan Uzman Biyolog Savaş ÜSTÜNOVA, Uzman Biyolog Bülent ERGİN, Biyolog Samet ACAR, Biyolog Deniz EROL, Biyolog İ. Yasin AKPINAR, Biyolog Neslihan FERAK ve İ. Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğrencisi olan A. Buğra KUTUCU'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, kapılarını bize açan Oksante AR-GE Laboratuvarlarına ve Huri DEDEAKAY'a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen aileme ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs, 2012

Ayşegül KAPUCU

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	ix
SUMMARY	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. EPİLEPSİ.....	3
2.1.1. Nöbet Tipleri.....	4
2.2. EPİLEPTOGENEZ VE ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARIN MEKANİZMALARI.....	6
2.3. EPİLEPSİ VE SUDEP	8
2.4. KEDİ OTU BİTKİSİ VE EPİLEPSİ.....	10
2.5. NİTRİK OKSİT VE EPİLEPSİ.....	12
2.6. HOMOSİSTEİN VE EPİLEPSİ	15
3. MALZEME VE YÖNTEM	17
3.1. KİNDLİNG EPİLEPSİ MODELİ VE VERİLERİN SKORLANMASI.....	18
3.2. DENEYİN SONLANDIRILMASI.....	18
3.3. DOKU HOMOJENİZASYONU, FRAKSİYONLARIN VE ENZİM AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ.....	21
3.3.1. Plazma ve Sitozolik Fraksiyonlarda Biyokimyasal Ölçüm Metodları ..	22

3.3.1.1. <i>Plazma ve Sitolik Fraksiyonlarda Total Nitrik Oksit Düzeylerinin Belirlenmesi</i>	22
3.3.1.2. <i>Plazmada Homosistein Düzeylerinin Belirlenmesi</i>	22
3.3.1.3. <i>Plazma ve Sitolik Fraksiyonlarda Miyeloperoksidaz Düzeylerinin Belirlenmesi</i>	23
3.3.1.4. <i>Plazma ve Sitolik Fraksiyonlarda Süper Oksit Dismutaz Düzeylerinin Belirlenmesi</i>	24
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	24
4. BULGULAR	25
4.1. KİNDLİNG EPİLEPSİ MODELİ SONUCU ELDE EDİLEN VERİLERİN SKORLANMASI.....	25
4.2. FİZYOLOJİK KAYIT ÖRNEKLERİ VE PARAMETRELER.....	29
4.2.1. Kan Basıncı.....	33
4.2.2. Kalp Vurum Sayısı.....	35
4.2.3. QTc Değerleri	36
4.2.4. QRS Değerleri	38
4.2.5. ST Segmentinin Yüksekliği	39
4.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	39
4.3.1. Plazma ve Sitolik Total Nitrik Oksit Düzeyleri	40
4.3.1.1. <i>Plazma Total Nitrik Oksit Düzeyleri</i>	40
4.3.1.2. <i>Sitolik Total Nitrik Oksit Düzeyleri</i>	41
4.3.2. Plazma Homosistein Düzeyleri	42
4.3.3. Plazma Miyeloperoksidaz Düzeyleri	43
4.3.4. Plazma Süper Oksit Dismutaz Aktivite Düzeyleri	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR	58
EKLER.....	63
EK A: ELEKTROKARDİYOGRAM VE BÖLÜMLERİ	63
ÖZGEÇMİŞ.....	66

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.2.1: Deney sonlandırılmasına ait protokol.....	19
Şekil 3.2.2: Deneyin sonlandırılması sürecine ait bir fotoğraf.....	20
Şekil 3.2.3: Bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	20
Şekil 4.1.1: Kindling model oluşturulurken hayvanlarda gözlemlenen nöbetlerin şiddetleri.....	26
Şekil 4.1.2: Kindling model oluşturulurken hayvanların geçirdikleri nöbetlerin frekansları.....	27
Şekil 4.1.3: PTZ verilmesinden sonra hayvanların latans süreleri.....	28
Şekil 4.2.1: Kontrol grubundaki bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	29
Şekil 4.2.2: PTZ grubundaki bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	29
Şekil 4.2.3: Valerian uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	30
Şekil 4.2.4: 7-NI uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	30
Şekil 4.2.5: 7-NI+PTZ uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	31
Şekil 4.2.6: VAL+PTZ uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	31
Şekil 4.2.7: VAL+7-NI uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	32
Şekil 4.2.8: VAL+7-NI+PTZ uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.....	32
Şekil 4.2.1.1: Tüm grupların kan basıncı değerlerinin üç farklı örnekleme zaman aralığındaki değerleri	33
Şekil 4.2.2. 1: Tüm grupların kalp vuruş sayılarının üç farklı örnekleme aralığındaki değerleri	35
Şekil 4.2.3. 1: Tüm gruplarda üç farklı zaman aralığı için QTc süreleri	36
Şekil 4.2.4. 1: Tüm gruplarda QRS aralıklarına ait sürelerin üç farklı örnekleme aralığında gösterilmesi	38
Şekil.4.2.5.1: Tüm gruplarda ST segmenti yüksekliklerinin üç farklı örnekleme aralığında gösterilmesi	39
Şekil 4.3.1. 1: Plazma total NO konsantrasyonları	40
Şekil 4.3.1. 2: Sitozolik total NO konsantrasyonları	41
Şekil 4.3.2. 1: Plazma homosistein düzeyleri	42
Şekil 4.3.3. 1: Plazma MPO düzeyleri.....	43

Şekil 4.3.4. 1: Plazma SOD düzeyleri	44
--	----

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1.1: Epileptik Nöbet Tipleri ve Refleks Nöbetlere Neden Olan Uyaranlar (Engel, 2006)	5
Tablo 4.1.1: PTZ uygulamasından sonra hayvanlarda gözlemlenen nöbet şiddetlerindeki değişikliklerin gruplara göre karşılaştırılması	26
Tablo 4.1.2: PTZ uygulamasından sonra hayvanlarda gözlemlenen nöbet frekanslarındaki değişikliklerin gruplara göre karşılaştırılması.....	27
Tablo 4.1.3: PTZ uygulamasından sonra hayvanlarda gözlemlenen latans sürelerindeki değişikliklerin gruplara göre karşılaştırılması.....	28
Tablo 4.2.1.1: Tüm gruplara ait kan basıncı değerlerinin üç farklı zaman aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması.....	33
Tablo 4.2.2.1: Tüm gruplara ait kalp vuruş sayılarının üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması.....	35
Tablo 4.2.3. 1: Tüm gruplara ait QTc değerlerinin üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması.....	36
Tablo 4.2.4. 1: Tüm gruplara ait QRS aralıklarına ait sürelerin üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması.....	38
Tablo 4.2.5.1: Tüm gruplara ait ST segmenti yüksekliklerinin üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması.....	39

SEMBOL LİSTESİ

7-NI	: 7-nitroindozol
AMPA	: Alfa-3 amino-3 hidroksi-5 metil-4 izoksazolepropionik asit
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
DTT	: DL-dithiothreitol
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
EEG	: Elektroensefalogram
EKG	: Elektrokardiyogram
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
GABA	: Gama aminobütirik asit
GABA_A	: Gama amino-bütirik asit A tip reseptörü
GABA_B	: Gama amino-bütirik asit B tip reseptörü
GPx	: Glutasyon peroksidaz
Hcy	: Homosistein
HDL	: (High density lipoprotein) Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HEPES	: 4-(2-Hidroksietil)piperazin-1-etansülfonik asit hemisodyum tuzu
ip	: İntraperitoneal
iv	: İntravenöz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
K	: Potasyum
KCl	: Potasyum klorür
L-NAME	: NG-nitro-L-arjinin metil ester
L-NIO	: N5-(1-iminoetil)-L-ornitin, dihidroklorid
L-NNA	: NG-nitro- L-Arjinin
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MgCl₂	: Magnezyum klorür
MPO	: Miyeloperoksidaz
NADH	: Nikotinamid adenin dinukleotit
NMDA	: N-metil-d-glutamik asit
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NR	: Nitrat Redüktaz
PMSF	: Fenilmetansülfonil florür

PR aralığı	: Atrium depolarizasyonunun sonundan ventriküllerin depolarizasyonuna kadar geçen süre
PTZ	: Pentilentetrazol
QRS süresi	: Ventriküllerin depolarizasyonu için geçen süre
QRS	: Ventriküllerin depolarizasyonu
QT aralığı	: Ventriküllerin depolarizasyon ve repolarizasyonu için geçen süre
QTc	: Düzeltilmiş ventrikül depolarizasyon ve repolarizasyon süresi
RR aralığı	: Sol ventrikülün iki depolarizasyonu arasında geçen süre
SD	: Standart sapma
SOD	: Süperoksit dismutaz
ST segmenti	: Ventriküllerde depolarizasyon bitip repolarizasyon başlayıncaya kadar geçen süre
SUDEP	: (Sudden unexpected death in epilepsy) Tramva ve boğulma olmaksızın epilepsili kişilerde görülen ani, beklenmeyen, nöbet geçirerek veya geçirmeksizin ölüm
TMB	: 3, 3', 5, 5'-tetrametil benzidin

ÖZET

EPİLEPTİK SIÇANLARDA KEDİ OTU (*Valeriana officinalis*) EKSTRAKTININ KARDİYOVASKÜLER SİSTEM ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Epilepsi, en ciddi nörolojik hastalıklardan biridir ve merkezi sinir sisteminin bir kısmının veya tümünün denetlenemeyen aşırı etkinliği olarak tanımlanır. Epilepsiye bağlı olarak kardiyak ritim, kalp vurumu, kan basıncı, solunum hızı ve biçimi, vazomotor aktivite, gastrointestinal motilite ve sfinkterlerin tonusunda değişiklikler görülür. Ayrıca, kardiyak aritmilerin görüldüğü epilepsili hastalarda beklenmeyen ani ölümler de meydana gelmektedir.

Nitrik oksit (NO)'in, deneysel hayvan modellerinde nörodejenaratif hastalıklarda, kalp krizinde ve epilepside fonksiyonel olduğu bildirilmektedir. NO'in, epilepsinin patofizyolojisinde rol oynadığı bilinmekle beraber, bu konu araştırmacılar tarafından hala tartışılmaktadır. Uyku düzenleyici ve sedatif etkileri olan *Valeriana officinalis* (kedi otu) bitkisinin, gama amino bütirik asit (GABA) üzerinden etkili olduğu düşünülmeyle beraber, nasıl etki ettiği tam olarak bilinmemektedir. Kedi otu ve NO ile ilgili çalışma yok denecek kadar azdır.

Biz de çalışmamızda çok eski yıllarda antiepileptik olduğuna inanılan ve daha sonra sedatif ve uyku düzenleyici olarak Avrupa ilaç farmakopisine kayıtlı olan kedi otu kökü ekstresi ve öncelikli olarak nöronal nitrik oksit (nNOS) inhibitörü olan 7-Nitroindozol (7-NI) kullanarak, pentilentetrazolium (PTZ) ile kindling epilepsi modeli oluşturduğumuz sıçanlardaki kardiyovasküler etkilerini ve birlikte uygulandığındaki etkilerini araştırdık.

Her grupta 6 hayvan olacak şekilde kontrol grubu (serum fizyolojik tuzlu su, ip), pentilentetrazolium (PTZ, 40 mg/kg, ip), Valerian ekstraktı (VAL, 200 mg/kg, gavaj

yoluyla), 7-NI (25 mg/kg, ip), PTZ+VAL, PTZ+7-NI, 7-NI+VAL, PTZ+VAL+7-NI grupları oluşturuldu. Kindling model oluşturmak için PTZ gün aşırı, diğer maddeler her gün olacak şekilde dört hafta boyunca uygulandı. PTZ uygulamasından sonra tüm hayvanlar 30 dakika gözlemlenerek grupların nöbet şiddetleri, frekansları ve latans süreleri karşılaştırıldı.

VAL+PTZ uygulanan grup, sadece PTZ uygulanan grup ile karşılaştırıldığında, frekans, nöbet şiddeti ve latans süreleri bakımından çok anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. 7-NI+PTZ ve VAL+7-NI+PTZ grupları, PTZ'ye göre nöbet şiddeti ve frekansları bakımından anlamlı olarak düşük, latans değerleri yüksek olmasına karşın anlamlı bulunmadı.

Kalp vuruş sayısı açısından gruplar kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırıldığında, VAL+7-NI+PTZ ve PTZ gruplarına göre yüksek olduğu; PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında ise VAL, 7-NI, 7-NI+PTZ, VAL+PTZ ve VAL+7-NI uygulanan gruplara ait değerler ise düşüktü, kontrole yakındı. Kalp hızına göre düzeltilmiş olan QT (QTc) değerleri kontrole göre kıyaslandığında PTZ, VAL, VAL+PTZ ve VAL+7-NI+PTZ grupları yüksek olduğu belirlendi. PTZ'ye göre karşılaştırıldığında ise, 7-NI ve 7-NI+PTZ gruplarının QTc süreleri anlamlı olarak daha düşük ve kontrol değerlere daha yakın olduğu gözlemlendi. QRS süreleri ve ST segment yüksekliklerinde kontrol ve PTZ grubuna göre belirgin değişiklikler yoktu.

Plazma total NO konsantrasyonu, 7-NI+PTZ grubunda hem kontrol grubuna hem de PTZ grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktü. VAL+7-NI+PTZ grubunun plazma total NO düzeyi sadece kontrol grubuna ait değerlerden anlamlı olarak düşüktü. Kalp homojenatından elde edilen sitozolik fraksiyonun total NO düzeyleri, tüm 7-NI uygulanan gruplar ile VAL+PTZ grubu; kontrol ve PTZ gruplarına nazaran anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi. Homosistein (Hcy) düzeyleri, 7-NI+PTZ grubu kontrole göre ve VAL+7-NI+PTZ grubu ise hem kontrol hem de PTZ grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Miyeloperoksidaz (MPO) seviyeleri kontrole göre, VAL+7-NI ve VAL+7-NI+PTZ gruplarında düşük, VAL+PTZ grubunda ise arttığı; 7-NI, VAL, VAL+7-NI, 7-NI+PTZ ve VAL+7-NI+PTZ gruplarının ise PTZ grubuna göre anlamlı

olarak düşük olduğu saptandı. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite değerleri, kontrole göre diğer tüm gruplarda düşük, PTZ grubuna göre kıyaslandığında VAL+PTZ grubunda anlamlı olarak yüksek iken, VAL+7-NI+PTZ grubunda ise anlamlı olarak düşüktü.

Çalışmamızın verilerine dayanarak, epilepsili sıçanlara hem valerian ekstraktı hem 7-NI uygulamak yerine sadece 7-NI uygulamanın çok daha etkin olduğunu söyleyebiliriz. Valerian ekstraktı etkilerini daha hafif olarak sergilemektedir. Nöbet latansını düşürme eğiliminde olmasına karşın, frekans ve şiddet üzerinde belirgin etkilere sahip değildir. Vazodilatör etkileriyle kan basıncını düşürme eğilimindedir. Bu nedenle, uzun süreli kullanımında kalp üzerine olan antiaritmik etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Epilepsi üzerine hafif derecede etkilidir denilebilir. 7-Nitroindazolün nöbet şiddeti ve frekansını da belirgin olarak düşürme eğiliminde olması, ayrıca kalp vurumu, QTc süreleri ve RR aralığına bakıldığında 7-NI+PTZ grubuna ait değerleri kontrole yakın olarak tutması, 7-NI'ün epilepsiyi tedavi edici bir kimyasal olabileceği düşüncesini öne çıkarmaktadır. Bu nedenle, gelecekte yapılacak daha ayrıntılı çalışmalar sonucunda, 7-NI'ün antiepileptik ilaçların içeriğinde kullanılabilme ihtimali olabilir.

SUMMARY

EFFECTS OF *Valeriana officinalis* EXTRACT ON CARDIOVASCULAR SYSTEM IN EPILEPTIC RATS

Epilepsy is one of the most serious neurological disease and characterized as an uncontrolled excessive activity of the central nervous system totally or partly. Depending on the type of epilepsy, it has been seen to change cardiac ritm, heart beating, blood pressure, respiration rate and form, vasomotor activity, gastrointestinal motility and sphincter tonus. Moreover, in the patients had cardiac aritmia with epilepsy arise sudden unexpected deaths.

It has been reported that nitric oxide (NO) in animal models is functional in neurodegenerative deseases, heart failure and epilepsy. Although, NO is known to play a role in pathophysiology of epilepsy, it has been still discussed by researchers. *Valeriana officinalis*, which has sedative effects and promotes sleep, has been thought to affect gama amino butiric acid (GABA). However, it is not known exactly how it plays role in it. There has been limited study on the relationship between *Valeriana officinalis* and NO.

In this study, we aimed to investigate effects of *Valeriana officinalis* root extract, which was believed to be antiepileptic in ancient times and recorded to European Medicine Farmacopy as sedative and sleep regulator later on, and 7-Nitroindozol (7-NI), which is inhibitor of neuronal nitric oxide, on cardiovascular system both individually and together in the rat model made kindling epilepsy with pentylentetrazolium (PTZ).

For this purpose, we composed of 8 groups with six animals in each group. They were control group given only physiological saline intraperitonally (ip), kindling group given PTZ (40 mg/kg, ip), Valerian extract (VAL, 200 mg/kg, via gavage), 7-NI (25 mg/kg, ip) PTZ+VAL, PTZ+ 7-NI, 7-NI+ VAL, PTZ+VAL+ 7-NI. PTZ were given every other

day in order to make Kindling epilepsy model, but applications of the other groups were daily for four weeks. After PTZ application, the groups were compared by observing intensity of convulsions, their frequency and latency times throughout 30 minutes. When the group given VAL+PTZ was compared with the group given only PTZ, we did not determine any significant differences in terms of convulsions intensity, frequency and latency times. Although, intensity and frequency of 7-NI+PTZ and VAL+7-NI+PTZ groups were significantly lower than PTZ administrated group, their higher latency times than PTZ administrated group were not significant.

When the groups were compared with control and PTZ groups considering heart beating, VAL+7-NI+PTZ and PTZ groups values were higher than control group. VAL, 7-NI, 7-NI+PTZ, VAL+PTZ and VAL+7-NI groups values lower than PTZ group. However, were close to those of control animals. Besides, and administrated groups values were lower than control group. QTc values of PTZ, VAL, VAL+PTZ and VNP groups were detected to be higher when compared with control group. However, when they were compared with PTZ, QTc times of 7-NI and 7-NI+PTZ were significantly lower and closer to those of control values. QRS times and ST segment heights had not significant difference when the groups were compared with control and PTZ groups.

Plasma total NO concentration of 7-NI+PTZ group was significantly lower than both control and PTZ. Total NO level of VAL+7-NI+PTZ was significantly lower than those of control values only. All 7-NI administrated and VAL+PTZ groups of total NO level of cytosolic fractions obtained from heart extract were significantly lower than control and PTZ groups. Homosistein levels (Hcy) of the groups administrated 7-NI+PTZ was lower than control group. However, VAL+7-NI+PTZ group was significantly lower than PTZ and control groups. Miyeloperoxidase (MPO) levels of VAL+7-NI and VAL+7-NI+PTZ groups were lower than control group but those of VAL+PTZ group increased. Also, MPO levels of 7-NI, VAL, VAL+7-NI, 7-NI+PTZ ve VAL+7-NI+PTZ groups were lower than PTZ group. Süperoxide dismutase (SOD) activity levels of Valerian+PTZ was significantly higher than PTZ group, whereas, those of VAL+7-NI+PTZ group was significantly lower. Also, SOD levels of all groups higher than control.

Considering our findings, we can say that 7-NI administration alone to the rats with epilepsy is more effective than administration of 7-NI and Valerian extract together. Valerian extract exhibited its antiepileptic effect more faintly. Although it tend to decrease in attac latency, it had not an evident effect on attac frequency and degree. Also, it tend to drop blood pressure with its vasodilator effect. Thus, its antiaritmia effects on heart have to take into account in its long term usage. We can say that it is effective on epilepsy faintly. According to our findings, evident decrease in attac degree and frequency in 7-IN group, also being close to control group parameters such as heart beating, QTc times and RR range values in 7-NI+PTZ group have highlighted thought of 7-NI usage as a therapeutic agent in epilepsy. Therefore, more detailed studies in the future can provide to usage of 7-NI in antiepileptic medicine content.

1. GİRİŞ

Epilepsi, beyindeki sinir hücrelerinin anormal elektriksel deşarjları sonucu ortaya çıkan nöbetlerle karakterize nörolojik bozukluktur. Dünyada yaşlı veya genç pek çok insan epilepsi hastasıdır ve her yıl bu sayı biraz daha artmaktadır. Epilepsi hastalarında nedeni belli olmayan ani ölümler görülmektedir ve bu ölümlerin kardiyovasküler sistemle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Biz de çalışmamızda, kindling epilepsi modeli oluşturduğumuz sıçanlarda çok eski yıllarda antiepileptik olduğuna inanılan kedi otu kökü ekstresinin ve öncelikli olarak nöronal nitrik oksit sentaz inhibitörü olan 7-nitroindozolün kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini ve birbirleriyle olan etkileşimlerini araştırıldı.

Genel Kısımlar bölümünde, epilepsi ve tipleri, epilepsi hastalarında meydana gelen beklenmeyen ani ölümler, nitrik oksit ve ve epilepsi ile olan ilişkisi hakkında genel ve literatüre dayalı bilgi verildi. Ayrıca bu bölümde vasküler hastalıklarda bir belirteç olarak kabul edilen homosistein proteini ve epilepsi ile olan ilişkisine de değinildi.

Malzeme ve Yöntem başlığı altında, tez çalışmasını oluşturan deneysel model, deney hayvanlarının özellikleri ve deney grupları, deney sonlandırılmasının nasıl yapıldığı ve alınan kan ile kalp dokusunun nasıl işlendiği ve biyokimyasal metodlar hakkında bilgi verildi. Ayrıca, elde edilen verilerin değerlendirilmesinde kullanılan istatistik programıyla ilgili bilgi de bu bölümde verildi.

Bulgular kısmında ise, deneyde kindling epilepsi oluşturmak için uygulanan pentilentetrazolden (PTZ) sonra hayvanlarda gözlenen nöbet şiddetleri ve frekansları ile latans süreleri istatistiksel olarak kontrol ve PTZ grubuna göre karşılaştırıldı. Yine bu bölümde tüm gruplardan deney sonlandırılırken alınan fizyolojik kayıtlara bağlı olarak kan basıncı, kalp vurumu, düzeltilmiş QT aralıkları, QRS süreleri ve STsegmentinin yüksekliği kontrol ve PTZ grubuna göre karşılaştırılmasına yer verildi. Ayrıca alınan

kandan elde edilen plazmada bakılan total nitrik oksit, homosistein, miyeloperoksidaz ve süperoksit dismutaz ile kalp homojenatından elde edilen sitozolik fraksiyonda bakılan total nitrik oksit düzeyleri kontrol ve PTZ grubuna göre karşılaştırıldı ve anlamlılık değerleriyle birlikte bu bölümde belirtildi.

“Tartışma ve Sonuç” bölümünde ise, çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirilerek, bu konu ile ilgili literatür bilgileri karşılaştırılıp yorumlanarak literatürlerle karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Epilepside kontrol edilemeyen nöbetler sonucu ani ölümler meydana gelebilmektedir ve meydana gelen bu ani ölümler çoğunlukla solunum sistemi ve kardiyovasküler sistemle ilişkilendirilmektedir. Yapılan çalışmalar epilepsinin hücresel temelini anlamaya ve buna bağlı olarak etkin veya kesin tedavi yöntemlerini oluşturmaya yöneliktir. Ancak, hala bu konuyla ilgili olarak yapılan çalışmalar devam etmektedir.

Çalışmamızda; PTZ uygulanmasıyla epileptik nöbet geçiren sıçanlarda, çok eski yıllarda antiepileptik olduğuna inanılan kedi otu kökü ekstresi, öncelikli olarak nNOS inhibitörü olan 7-NI ve kedi otu ekstresi ile 7-NI birlikte uygulandığında kardiyovasküler değişiklikleri ve nöbetler üzerine olan etkilerini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. EPİLEPSİ

Epilepsi, en ciddi kronik nörolojik hastalıklardan biridir (Sahin ve diğ., 2009; Arida ve Cavalheiro, 2007; Scorza ve diğ., 2008a; Yuen and Sander, 2004) ve nöronların elektriksel aktivitelerindeki bozukluk sonucu oluşur (Guyton ve Hall, 2007). Dünyada yaklaşık 50 milyon insan epilepsi hastasıdır (Arida ve Cavalheiro, 2007; Scorza ve diğ., 2008a) ve bu sayıya her yıl yenileri eklenmektedir. Epilepsi için en bilinen risk faktörleri; serebrovasküler hastalıklar, beyin tümörleri, alkol, travmatik kafa yaralanmaları, kortikal gelişim düzensizlikleri, genetik yatkınlık ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarıdır. Ayrıca, fakir ülkelerde malarya ve tenyaların beyin ve omuriliğe ulaşması sonucu hasar oluşturması (neurocysticercosis) gibi endemik enfeksiyonlar da önemli risk faktörleri arasındadır (Arida ve Cavalheiro, 2007; Scorza ve diğ., 2008a-b; Aiken ve Brown, 2000). Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda, epilepsi hastalarının antiepileptik ilaçlar kullanmalarına rağmen, % 70-80 oranında nöbet geçirmeye devam ettikleri bildirilmiştir (Arida ve Cavalheiro, 2007; Scorza ve Arida, 2009).

Epilepsi, merkezi sinir sisteminin bir kısmının veya tümünün denetlenemeyen aşırı etkinliği olarak tanımlanır (Guyton ve Hall, 2007) ve fokal ya da jeneralize tekrarlayan nöbetlerle karakterizedir (Scorza ve diğ., 2008b). Epilepsiye eğilimli kişi, sinir sisteminin veya sinir sisteminin bir kısmına bağlı olarak bazal uyarılabilirlik düzeyinin eşik düzeyi aşması ile nöbet geçirir. Uyarılabilirlik bu eşğin altında tutulduğu sürece nöbet oluşmaz (Guyton ve Hall, 2007; Scorza ve Arida, 2009).

Epilepsiler, kortekste aşırı uyarılabilir nöronların bulunması nedeniyle, korteksteki anormal aktivitelerin sonucunda nörolojik fonksiyonların tetiklenmesi şeklinde de tanımlanabilir. Epilepsi patogenezi ve eş zamanlı olarak nöronal aktivitenin oluşumu ile

inhibe edici (GABA, gama amino bütirik asit, aracılı) ve uyarıcı (glutamat aracılı) nörotransmisyon arasındaki dengesizlikle ilgili olarak gerçekleşir (Scorza ve Arida, 2009; Scorza ve diğ., 2008b).

2.1.1. Nöbet Tipleri

İlk olarak 1960'larda epileptik nöbetlerin sınıflanmasının temelleri atılmıştır. Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Derneği (International League Against Epilepsy (ILAE)' nin çalışmaları sonucunda 1981 yılında epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflaması yapılmıştır. Burada ana bölünme nöbetin parsiyel ya da jeneralize olarak başlamasına göredir (Öge, 2004).

Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Derneği'nin kabul ettiği nöbetlerin uluslararası sınıflandırması ve refleks nöbetlere neden olan uyaranlar Engel tarafından 2006 yılında güncellenerek yeniden düzenlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 2.1.1: Epileptik Nöbet Tipleri ve Refleks Nöbetlere Neden Olan Uyarılar (Engel, 2006)

Epileptik Nöbet Tipleri ve Refleks Nöbetlere Neden Olan Uyarılar

Kendiliğinden sınırlı olan nöbet tipleri

Jeneralize nöbetler

- Tonik-klonik nöbetler
- Klonik nöbetler
 - Tonik belirtiler olmadan
 - Tonik belirtilerle
- Tipik nöbet absansı
- Atipik nöbet absansı
- Miyoklonik nöbet absansı
- Tonik nöbetler
- Kasılmalar (Spazmlar)
- Miyoklonik nöbetler
- Göz kapağı miyoklonusu
- Miyoklonik atonik nöbetler
- Atonik nöbetler

Fokal nöbetler

- Fokal duysal nöbetler
 - Basit duysal semptomlarla (oksipital ve parietal lop nöbetleri)
 - Ampirik duysal semptomlarla
- Fokal motor nöbetler
 - Basit motor belirtilerle
 - Asimetrik tonik motor nöbetlerle (tamamlayıcı motor nöbetler)
 - Tipik (temporal lop) otomatizmi (orta temporal lop nöbetleri)
 - Hiperkinetik otomatizmi
 - Fokal negatif miyoklonus
 - İnhibe edici motor nöbetlerle
- Jelastik nöbetler
- Hemiklonik nöbetler
- İkincil jeneralize nöbetler

Devamlı nöbet tipleri

Jeneralize epileptik durum

- Jeneralize tonik-klonik durum
- Klonik epileptik durum
- Absans epileptik durum
- Tonik absans durum
- Miyoklonik absans durum

Fokal epileptik durum

- Kojevnikov'un parsiyel epilepsi durumu
- Avra durumu
- Limbik epileptik durum
- Hemikonvulsif durum

Refleks nöbetlere neden olan uyarılar

Görsel Uyarılar

- Titreşen ışık
- Desenler
- Diğer görsel uyarılar

Düşünmek

Müzik

Yemek yemek

Okumak

Sıcak su

Duysal uyarılar

Propriyosetif

Korkmak, irkilmek

2.2. EPİLEPTOGENEZ VE ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARIN MEKANİZMALARI

Epileptogenez normal bir beynin zaman içinde moleküler, yapısal ve fonksiyonel değişiklikler sonucu epileptik bir beyin haline dönüşmesi, kalıcı bir şekilde ve spontan olarak nöbet oluşturabilme özelliği kazanması sürecini ifade eder. Genetik malformasyon, kafa travması, inme veya enfeksiyon gibi nedenlerin latent dönemden sonra epileptogeneze neden olabildikleri ve sonrasında kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler ortaya çıkmaktadır (Stula ve diğ., 2003). Kullanılan antiepileptik ilaçlarla nöbetlerin kontrolü ortalama %65 civarındadır ve epileptik hastaların birçoğunda ilaçlara direnç gözlenmektedir. Kontrol edilemeyen nöbetler sonucu ölümlerde sıkça görülmektedir. Son yıllarda deneysel oluşturulan epilepsi modellerinde epileptogenesis mekanizması ve nöbetleri engelleyebilecek potansiyel antiepileptik ilaçlar üzerine çalışmalar dikkat çekmektedir.

Epilepsinin temel mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar, epileptogenez sırasında farklı mekanizmaların etkilendiğini göstermiştir. Epilepsiye neden olan çok sayıda mekanizma öne sürülmüştür (Bora ve Taşkapıoğlu, 2003, McNamara, 1999).

Günümüzde 20'den fazla antiepileptik ilaç bulunmaktadır. İlk kuşak ilaçlar arasında fenitoin, fenobarbital, karbamezapin, valproik asit; yeni ilaçlar arasında oksokarbamezapin, lamotrijin, vigabatrin, tiagabin, topiramet, gabapentin, levatirasetam gibi ilaçlar bulunmaktadır.

Antiepileptik ilaçların başlıca etki mekanizmaları:

1. Nöron membranında yer alan voltaja bağlı sodyum kanallarını bloke ederek, yüksek frekanslı tekrarlayıcı aksiyon potansiyellerinin ateşlenmesini önleyenler: Karbamezapin, fenitoin, lamotrijin, oksokarbamezapin, valproat (Deckers ve diğ. 2003; Hovinga, 2002)
2. GABA'ya bağımlı inhibisyonun allosterik yolla artırılması: Fenobarbital, benzodiazepin, topiramet (Deckers ve diğ. 2003; Hovinga, 2002)

3. Sinir sisteminde kalsiyum kanalları dendritler, hücre gövdesi, ve sinir terminalleri olmak üzere geniş bir alana yayılmıştır. Bu kanallar Na-, P ve Q- tipi olmak üzere ayrılır ve sinir sonlanmalarındaki nörotransmitter salınımını sağlarlar. Özellikle talamusta yer alan ve T- tipi kalsiyum kanalının jeneralize absans tipi oluşumunda rol aldığı ve bu nedenle etosüksimid gibi antiepileptiklerin T tipi kalsiyum kanalını bloke ederek nöbeti engellediği düşünülmektedir (Deckers ve diğ. 2003; Hovinga, 2002).
4. GABA transaminaz inhibisyonu: Vigabatin, inhibitör nörotransmitter olan GABA analogudur ve yıkımını sağlayan GABA–transaminaz enzimini geri dönüşümsüz olarak inhibe eder (Bora ve Taşkapıoğlu, 2003).
5. Eksitator aminoasid olan glutamatın reseptörünü bloke ederek ya da bizzat glutamatın salınımını inhibe ederek etki edenler: Topiramet, lamotirigin (Deckers ve diğ. 2003; Hovinga, 2002) .
6. Olası bir başka antiepileptik mekanizma da, etkinliği henüz tam olarak gösterilmemiş K kanal açılımıdır. İstirahat membran potansiyeli, sinaptik uyarılara yanıt, spike frekans adaptasyonu ve nörotransmitter serbestlenmesi gibi olayları içeren nöronal eksitabilitenin kontrolünde K kanalları önemli rol oynar (Bora ve Taşkapıoğlu, 2003).

2.3. EPİLEPSİ VE SUDEP

Epilepsi sinir sistemi fonksiyonlarını etkiler. Bu durum da, kalp vurumu, kardiyak ritim, kan basıncı, solunum hızı ve biçimi, vazomotor aktivite, gastrointestinal motilite ve sfinkterlerin tonusunda değişikliklere neden olur. Kan basıncı, kalp vurumu ve ritimdeki değişiklikler nöbet süresince motor aktiviteden bağımsız olarak meydana gelebilir. Ayrıca, kardiyak aritmilerin görüldüğü epilepsili hastalarda beklenmeyen ani ölümler meydana gelebilir. Buna karşın, otonom sinir sistemindeki bozukluk epilepside beklenmeyen ani ölümlere neden (sudden unexpected death in epilepsy, SUDEP) olabilir, bu konu hala tartışılmaktadır (Aker ve Onat, 2002).

Epilepsi hastalarında genel popülasyona göre ölüm oranı 2-3 kat daha yüksektir (Scorza ve diğ., 2008 a-b; Kaya ve diğ. 2005) ve epilepside beklenmeyen ani ölümler direkt olarak epilepsiyle ilgili en önemli ölüm nedenlerindedir (Scorza ve diğ., 2008 b). SUDEP, tramva ve boğulma olmaksızın epilepsili kişilerde görülen ani, beklenmeyen, nöbet geçirerek veya geçirmeksizin ölüm olarak tariflenmektedir (Arida ve Cavalheiro, 2007; Scorza ve diğ., 2008 b). SUDEP için risk faktörleri çelişkili olmakla beraber; erken ergenlik, erken yaşta epilepsiye yakalanmak, uzun süreli epilepsi, kontrol edilemeyen nöbetler, yüksek nöbet sıklığı (frekansı) ve yüksek sayıda antiepileptik ilaç kullanımı, bradiaritmiler ve asistol, taşikardiler, kanın pH'ının artması potansiyel risk faktörleri olarak kabul edilmektedir (Kaya ve diğ., 2005; Arida ve Cavalheiro, 2007; Scorza ve Arida, 2009; Yuen ve Sander, 2004, Surges ve diğ., 2009). SUDEP'in olası oluşum mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat, büyük olasılıkla nöbetler sırasındaki ve nöbetler arasındaki kardiyak aritmiler, elektrolit bozuklukları, aritmigenik ilaçlar veya otonom sinir sistemi aracılığıyla epileptik aktivitenin kalbe iletilmesi ve kardiyovasküler sistem-solunum sistemi arasındaki düzensizlikler olası nedenler arasındadır (Kaya ve diğ., 2005; Arida ve Cavalheiro, 2007; Scorza ve Arida, 2009). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, kullanılan ilaçlarla birlikte epilepsi hastalarının nöbet şiddetini %70-%80 oranında hafifletmesi beklenmektedir (Arida ve Cavalheiro, 2007.)

Kısmi ve jenarilize klonik nöbetler sıklıkla sinir sistemi belirtileri ile birlikte görülür. Bununla beraber hayvanlardan elde edilen bilgilere göre, nöbet sırasında meydana gelen epileptogenik aktivite, kardiyak aritmilere neden olabilen otonomik nöral boşalmalar gibi otonomik dengesizliği indükleyebilir (Beig ve diğ., 2007).

Yapılan çalışmalarda, nöbet süresince anestezi edilmeyen ve serbest olarak hareket edebilen sıçanlarda kardiyovasküler sistem üzerine kindling nöbetlerin ani etkileri, nöbetle ilgili olarak artan kan basıncı ve bradikardi ile çeşitli aritmiler gösterilmiştir. Buna ilaveten, kindling hayvanlarda nöbete bağlı olarak gelişen kardiyovasküler fonksiyon değişikliklerinin, otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik kollarının aktivasyonundan kökenlendiği de rapor edilmektedir ve bu otonom bozukluğun, epilepsi hastalarındaki beklenmeyen ani ölümlerin nedeni olabileceği ileri sürülmektedir (Kaya ve diğ., 2005; Tóth ve diğ., 2008).

SUDEP, sıklıkla uyku sırasında veya yatakta yatarken meydana gelmektedir. SUDEP'in semptomatik veya idiopatik epilepside meydana gelip gelmediği açık değildir. Bazı araştırmacılar, sodyum kanal blokerleri gibi kardiyak ritmi etkileyen spesifik antiepileptik ilaçların etkisinden bahsetmektedirler (Timnings, 1998). Buna karşın pek çok çalışmada spesifik antiepileptik ilaçların SUDEP de rol oynamadığı belirtilmektedir (Vlooswijk ve diğ., 2007). Fakat, çoklu antiepileptik ilaçlarla tedavinin SUDEP için risk oluşturabileceği (Nilson ve diğ., 2001; Yuen ve Sander, 2004) düşünülmele beraber bu durum tam olarak doğrulanmamaktadır. SUDEP'in altında yatan patofizyolojik mekanizmaların santral apne (Vlooswijk ve diğ., 2007) veya kardiyak aritmi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Vlooswijk ve diğ., 2007; Jehi ve Najm, 2008).

2.4. KEDİ OTU BİTKİSİ VE EPİLEPSİ

Halk arasında kedi otu olarak bilinen *Valeriana officinalis* bitkisi, latince “sağlıklı olmak” anlamına gelen Valere’den türetilmiştir. *Valerian*’ın toprak altı kısımlarının kurutulması ile elde edilen ekstraktın, 1000 yılı aşkın süredir sakinleştirici ve uyku düzenleyici olarak kullanıldığına dair kayıtlar vardır (Spinella, 2001; Kemper, 1999).

Genelde kedi otu kökü, öncelikle uyku düzenleyici olarak kullanılmakla beraber, baş ağrısı, migren, mide bulantısı, sinirsel kalp çarpıntıları, sinirsel mide şişkinlikleri, histeri, huzursuzluk, sinirlilik, epilepsi (Malva ve diğ., 2004), anksiyete, korku, karamsarlık gibi durumlarda da halk arasında kullanılmaktadır. Avrupa farmakopisine kayıtlı (Eadie, 2004; Kemper, 1999) olan bu bitkinin bilimsel olarak da orta şiddetli sedatif ve uykuyu destekleyen bir ajan olduğu kabul edilmektedir (Eadie, 2004; Malva ve diğ., 2004; Kemper, 1999). Ayrıca, antihipertansif, koroner spazmları önleyici etkilerinden de söz edilmektedir (Circosta ve diğ., 2007).

Avrupa’da 18. ve 19. yüzyılda *Valerian*’ın antikonvulsan etkilerinden yararlandığına dair kayıtlar vardır (Spinella, 2001; Eadie, 2004). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, kedi otu ekstraktının elektroensefalogram (EEG) aktivitesi üzerine sedatif etki gösterdiği ve diazapem ve klorpromazin ile karşılaştırıldığında daha zayıf antikonvulsif etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Eadie, 2004; Kemper, 1999). *Valerian* ekstraktının tavşanlarda, farelerde ve kedilerde koroner dilatasyon ve antiaritmik etkileri vardır. İçeriğindeki bileşiklerin akut koroner yetersizliği, vazopressin kökenli aritmeyi önleyerek kısa süreli kan akımının artışına neden olduğu bildirilmektedir (Kemper, 1999).

Valerian’ın kabul edilen özellikleri içeriğindeki bileşenleri sayesinde. *Valerian*, 150’den fazla kimyasal bileşen içermektedir ve bunların pek çoğu fizyolojik olarak aktiftir. Bunlar:

- **İridoid Valporiatlar (%0.5- 2):** Valtratlar, isovaltrat, didrovaltrat, valerosidat ve diğ.

- **Volatil Esas Yağı (%0.2- 2.8):** Bornil isovalarenat ve boril asetat; valerinin, valerik, isovalerik ve asetoksivalerinin asitleri; valeranal, valerenon, kriptofaurinol; ve diğler monoterpenler ve seskuiterpenler.
- **Alkoloidler (%0.01- 0.05):** Valerinin, katinin, alfa-metil pirilketon, aktinidin, skayntin ve naftidridilmetilketon.
- **Lignanlar:** Hidroksipinoresinol

İsovalerinin asit, bitkinin hoş olmayan aromatik kokusundan sorumludur. Aktinidin ise kediler için oldukça güçlü çekici etkiye sahiptir. İçeriğindeki yağlar, valerian'ın sedatif etkilerinin kaynağıdır. Valerinin asitin spazmolitik ve kas gevşetici etkileri vardır ve merkezi sinir sisteminde GABA'nın yıkılımını inhibe eder (Kemper, 1999).

Hidroksipinoresinol lignanı da aynı zamanda amigdalaadaki benzodiazepin reseptörlerine bağlanmaktadır ve bu da bornil asetat, valerinin asit ile sinerjik olarak çalıştığını ve valepotriatların tüm sedatif etkilerini sergiler niteliktedir (Kemper, 1999).

Valerian alkoloidlerinin kolinesteraz aktivitesine sahip olduğu invitro çalışmalarda gösterilmiştir fakat, hayvanlarda ve insanlardaki varlığı henüz gösterilmemiştir (Kemper, 1999).

Valerian ekstraktının sedatif ve yatıştırıcı etkilerini GABA ve GABA_A reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Kennedy ve diğ., 2006). GABA'nın enzimatik yıkımını inhibe ederek veya içeriğindeki serbest aminoasitlerin kan- beyin bariyerini geçerek GABA'ya çevrilmesi suretiyle GABA konsantrasyonunun yüksek olabileceği düşünülmektedir. Bunun dışında valerian ekstraktının GABA_A reseptörlerine zayıf olarak bağlandığı ve bunun sonucunda GABA'nın alınması ve salınması inhibe edilerek GABA konsantrasyonunda artışa yol açtığı ileri sürülmektedir (Kemper, 1999).

Ancak, bu mekanizmanın nasıl işlediği halen tam olarak bilinmemektedir. Bunun dışında, kardiyovasküler sistem üzerindeki vazodilatör ve antiaritmik etkilerini nasıl gerçekleştirdiği açık değildir ve bu konuyla ilgili çalışma yok denecek kadar azdır.

2.5. NİTRİK OKSİT VE EPİLEPSİ

NO, memrandan diffüze olabilen, memeli dokularında yaygın olarak bulunan ve çeşitli dokularda rolü olan küçük bir gaz molekülüdür. Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-arjininden NO ve sitriline çevirerek üretilir. NO, kimyasal olarak aktif ve kısa ömürlüdür. Hem ikincil haberci hem de nörotransmitter olarak çeşitli fizyolojik ve patolojik fonksiyonlarda etkindir. NO'in hücre içi başlıca görevi, merkezi sinir sisteminde siklik guanin monofosfat (cGMP)'ı oluşturacak olan çözülebilir guanil siklazı aktive etmektir. cGMP artışını, başta NMDA tip olmak üzere, glutamat reseptörlerinin aktivasyonu takip eder. NO, cGMP artışından başka ayrıca, NMDA reseptörlerinin inhibisyonunun geri bildirimini, reseptör kompleksini indirgeyerek teşvik eder. NO nöronlar arası iletişimde, sinaptik plastisitede, uzun dönem potansiyelizasyonda, uzun dönem baskıda (depresyon), AMPA reseptörlerinin duyarlılığını azaltmakta, hücre içi sinyal iletiminde ve aracı salınmasında evrensel bir modulatör gibi davranmaktadır. Ayrıca, NO'in Parkinson veya Huntington hastalıkları ve beyin iskemisi sonucunda meydana gelen nöronal hasar gibi bazı nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde de rolü olabilir (Wojtal ve diğ., 2003).

Endotelyumdan salınan NO'in çeşitli dokulardaki kan akımının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Büyük damarların dışında, NO'in ayrıca kan-beyin bariyerinin kılcal damarlarında da önemli rolü olduğu bilinmektedir (Wojtal ve diğ., 2003). NO'in, hayvan modellerinde, nörodejeneratif hastalıklarda, kalp krizinde ve epilepside fonksiyonel olduğu da bildirilmektedir. Sıçanda NMDA reseptörlerinin aktivasyonunun NO salınmasına yol açtığı düşünülmektedir (Smith ve diğ., 1996).

Nöronlarda NO'in sentezi glutamat reseptörlerinin, tercihen NMDA reseptörünün aktivasyonu sonucu hücre içine Ca^{+2} girişiyle uyarılır. NO birkaç yol aracılığıyla sinyal iletimiyle ilişkili fonksiyonlar açısından nöronlarda değişikliklere neden olur. Uyarılabilirlik üzerine NO'in etkisinin oğunluğu cGMP'ye bağlıdır. NO aracılığı ile cGMP sentezi serebellumdaki $GABA_A$ reseptörlerinin ve beyin sapı, serebellum ile retinanın horizontal hücrelerindeki AMPA fonksiyonlarını azaltır. Bir diğer mekanizma da cGMP'den bağımsız olarak uyarılabilirliği artırarak GABA aracılı Cl^- akımını

azaltmasıdır. Beynin çeşitli bölgelerinde aynı reseptörler farklı mekanizmalar yoluyla NO tarafından düzenlenebilir. NO bir redoks düzenleyici bölgenin oksidasyonunu sağlayarak veya henüz tanımlanmamış bir başka mekanizmayla hücre içi Ca^{+2} artışını ve NMDA reseptörü aracılı akımı azaltır (Yıldırım, 2005). NO sinaptik iletiyi, cGMP seviyesini artırarak uyarılabilirliği etkileyerek, kalsiyum iyon dengesinde değişiklikler yaparak, protein fosforilasyonuna neden olarak hücrel aktivitede değişikliğe neden olarak ve G proteinlerini ribozilleyerek aktivitelerini etkileyerek artırıyor olabilir (Marangoz,1996)

NO'nin, epilepsinin patofizyolojisinde rol oynadığı bilinmektedir. Bununla birlikte, deney sonuçları araştırmacılar tarafından hala tartışılmaktadır. NO'nin hem prokonvulsan hem de antikonvulsan olabileceği belirtilmektedir (Uzum ve diğ., 2005). Ulaşılabilir bilgilere göre, NOS inhibitörlerinin uygulanmasından sonra nöbete yatkınlıkta etkinin yokluğu, azalması veya artışı tartışılmaktadır. NOS inhibitörlerinin etkileri inhibitörün çeşidine, verilmiş yöntemine, süresine, nöbet tipine ve deneylerde kullanılan hayvanların türüne bağlı olarak değişmektedir (Wojtal ve diğ., 2003).

NO'nin, bazı anti-epileptik ilaçların antikonvulsan etkilerinin ekspresyonunda aracılık etmesi olasıdır. NOS inhibitörlerinin anti-epileptik ilaçların antikonvulsif etkisi vardır. Deneysel bilgiler; yükselttiği, inhibe ettiği ve ayrıca etkisiz olduğu yönündedir. L-Arjinin; 7-NI ve N (G)-nitro-L- arginine methyl ester (L-NAME)'in etkilerini geri çeviremezken, NG-nitro- L-Arjinin (L-NNA)'nin etkilerini geri çevirebilir (Wojtal ve diğ., 2003). L-arginin (NO prokürsörü), kainatın neden olduğu nöbetlerde antikonvulsan, NMDA'nın neden olduğu nöbetlerde ise konvulsan gibi davranır (Wojtal ve diğ., 2003).

7-NI'ün öncül bileşeni, nöronal NOS (nNOS) için endotelial NOS (eNOS)'a göre daha seçicidir (Bush ve Pollack, 2001). Ayrıca 7-NI ile striatal, serebellar, hipokampal, serebral korteks ve olfaktor bulb'da NOS aktivitesini in vitro ve in vivo olarak inhibe edildiği gösterilmiştir. 7-NI; L-NAME , L-NNA veya L-nitroargininden'den farklı olarak, anestezi altındaki veya uyanık haldeki kemirgenlerde hipertansif etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Ferraro ve diğ., 1999; Smith ve diğ., 1996).

Wojtal ve diğ. (2003) tarafından yapılan çalışmada; 7-NI'ün, farelerde pilokarpin, ses veya enoksin ile oluşturulan konvulsiyonları azalttığı; ayrıca, genetik olarak epilepsili sıçanlarda ve sıçanlar ile hiberbarik oksijen ile oluşturulan nöbetlerde koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada, 7-NI'ün, farelere intraserebroventriküler NMDA uygulaması sonucu oluşan nöbetleri önlemediği ancak konvulsizyonları ertelediği bildirilmiştir. Ayrıca, 7-NI'ün klonik konvulsiyonların oluşması için gerekli olan NMDA dozunu belirgin olarak azalttığı rapor edilmiştir.

Nöbetlerde NO'in rolü tartışmalıdır, prokonvulsan ve antikonvulsan özellikleri bakımından çeşitli olaylardaki nNOS aktivasyonu ile NO üretimi nöbetleri tetiklemektedir (Shi ve Heavner, 2000). Nöbet süresince NO ve serbest radikal üretimi arasındaki etkileşim, nöbete bağlı nöronal hasar oluşmasında potansiyel etkili olabilir. NO diğer reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek nöronal hasara neden olabilir. Ayrıca, GABA_A reseptörleri (antikonvulsan ilaçların ana hedefi), oksidatif strese karşı oldukça duyarlıdır (Rajasekaran, 2005).

Serbest radikaller, GABA_A aracılı nöronal inhibisyon ile uzaklaşabilir. Ayrıca, lipid peroksidasyonu (LPO) sonucu sinaptosomal GABA salınması ve alınmasında azalma görülür (Rajasekaran, 2005). 7-NI uygulamasıyla, NO ve LPO düzeyleri azalır. Antiepileptik ilaçlar olan fenobarbitol ve diazepam, nöbete bağlı olarak artan NO ve LPO düzeylerinin artışını önler. Nöbetler antioksidan enzimlerin aktivitesinde anlamlı bir artışla sonuçlanır (frontal kortekste ve hipokampüste, SOD). Diğer taraftan hipokampusta ve orta beyinde glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi azalır. Antiepileptik ilaçların, antioksidan enzimleri modülasyonunda önemli bir rolü olmayabilir ancak, LPO'yu azaltarak serbest radikal oluşmasını engelleyebilir (Rajasekaran, 2005).

2.6. HOMOSİSTEİN VE EPİLEPSİ

Homosistein (Hcy), metiyoninin metabolizmasında ara bir role sahiptir. Nükleik asit, metillenmiş protein, nörotransmitter ve fosfolipid sentezi için önemlidir ve metil transfer reaksiyonlarının ara ürünlerince oluşturulur (Elliott ve diğ., 2007). Hcy, vasküler hastalıklar için bir risk faktörüdür ve aynı zamanda demans, psikoz, ataksi veya nöropati görülen hastalarda B12 eksikliğine duyarlı bir belirteçtir (Diaz, 2000). Plazma Hcy seviyelerinin yükselmesi, genetik ve/veya edinilmiş faktörlerin etkileşimi sonucu oluşur. Edinilen faktörler çoğunlukla folat, vitamin B6 ve vitamin B12 eksikliği ile ilişkilidir (Diaz, 2000). Hiperhomosisteinemi bu vitaminlerin düşük olmasına bağlı olarak oluşur, yani bu vitaminler ile homosistein düzeyleri arasında ters bir bağlantı vardır.

Hiperhomosisteinemi, mikrovasküler inme ile oldukça yakından ilişkilidir. Hiperhomosisteineminin neden olduğu damar tıkanmasının patofizyolojik mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bununla ilgili olarak bazı mekanizmalar ileri sürülmektedir: Hcy hızlıca homosistine oksitlenir, karışık disülfidler ve Hcy laktonu plazmaya salındığında aterosikleroza neden olan reaktif oksijen türleri üretimine yol açar. Ayrıca, bu toksik ürünlerin nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde de rol oynadığı düşünülmektedir. Hcy ve onun metaboliti olan homosisteik asit, potansiyel NMDA reseptörlerinin potansiyel agonisti ve merkezi sinir sisteminde kan-beyin bariyerinde meydana gelen bozulmalardan sonrası için nörotoksiktir (Diaz, 2000).

Hcy'nin sistemik olarak yüksek dozlarda hayvanlara verilmesi, hayvanlarda konvulsif nöbetlere neden olmaktadır ve epilepsi modeli bu şekilde oluşturulabilir. Ayrıca, genetik olarak homozigot sistasyon β -sentaz yoksunluğunda doğan bireyler nöbetler geçirmektedir ve bu bireyler yüksek Hcy seviyesine sahiptir (Diaz, 2000).

Ayrıca, iki farklı açıdan epilepside Hcy düzeyleri önemlidir. Birincisi pek çok antikonvulsanlar plazma folat seviyelerini düşürmektedir ve dolayısıyla Hcy seviyesi artarak vasküler hastalıklar için risk oluşturmaktadır. Bir diğer etkisi de, hamileliğin ilk üç ayında alınan antikonvulsanlar, homosistein düzeylerinin yüksek olmasına bağlı

olarak, yüksek seviyede konjenital risk oluşturmaktadır (Diaz, 2000). Antiepileptik ilaçların dahil olduğu folik asit birikimi ile ilgili olası mekanizmalar: (1) pH artışına bağlı olarak folik asitin intestinal absorpsiyonunun engellenmesi, (2) dokulara folat transportunun engellenmesi, (3) hepatik mikrozomal indüksiyon ve artan folat katabolizması. Valproat ve karbamezapin belirgin olarak Hcy düzeylerini kontrole kıyasla artırmaktadır (Elliott ve diğ., 2007).

Plazma Hcy düzeylerindeki yükselmesinin, iskemik kalp krizinin de dahil olduğu vasküler hastalıklar için önemli bir risk faktörü oluşturduğu pek çok çalışmada belirtilmektedir. Hiperhomosistenemi; sigara içmek, hipertansiyon, diyabet, hiperlipidemi gibi nedenlerden bağımsız olarak meydana geldiği görülmektedir ve çoğunlukla polivitamin terapisi ile bu düzey aşağı çekilmektedir. Bu da doğal beslenme yollarıyla kontrol edilebilir (Diaz, 2000).

Yapılan çalışmalar epilepsinin hücrel temelinin anlamaya ve buna bağlı olarak etkin veya kesin tedavi yöntemlerini oluşturmaya yöneliktir. Ancak halen bu konuyla ilgili olarak yapılan çalışmalar devam etmektedir.

Biz de çalışmamızda; PTZ uygulanmasıyla epileptik nöbet geçiren sıçanlarda, çok eski yıllarda antiepileptik olduğuna inanılan kedi otu kökü ekstresi, öncelikli olarak nNOS inhibitörü olan 7-NI'ün epileptogenez sürecinde nasıl etki ettiğini ve kardiyovasküler değişiklikler üzerine olan etkilerini araştırmayı amaçladık. Ayrıca epileptogenez sürecinde ortaya çıkan oksidatif stresin uygulanan maddelerle birlikte hangi yönde etkilendiğini belirlemeyi hedeflemekteyiz.

3. MALZEME VE YÖNTEM

Çalışmamızda deney hayvanı olarak erişkin, yaklaşık ağırlıkları 250–310 g arasında değişen, yetişkin 48 *Wistar albino* sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar deney öncesinde ve deney süresince plastik kafeslerde tutularak, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda, standart pelet yem ve musluk suyu ile beslendi. Çalışma için, İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Etik Kurulu (DHEK)' ndan onay alındı (Tarih: 03/04/2009, Sayı: 44). DETAM'dan temin edilen hayvanların bakımı ve kedi otu ekstresi ile diğer kimyasalların uygulanması kendi birimimizde bulunan deney hayvanları barındırma ünitesinde her gün aynı saatte yapıldı.

Deney grupları aşağıda belirtildiği şekildedir.

Kontrol grubu (n:6): Her gün serum fizyolojik tuzlu su (FTS) 0,5 cc ip olarak,

Pentilentetrazol (PTZ) (n:6): 13 doz, gün aşırı 40 mg/kg, ip olarak,

Valerian ekstraktı (n:6): 200 mg/kg her gün ip olarak,

7-Nitroindozol (7-NI) (n:6): 25 mg/kg her gün ip olarak,

Valerian ekstraktı + PTZ (n:6) : Valerian ekstraktı 200 mg/kg gavaj yolu ile her gün; PTZ, 40 mg/kg ip gün aşırı olarak,

7-NI +PTZ (n:6): 7-NI, 25 mg/kg her gün ip; PTZ, 40 mg/kg her gün ip olarak,

7-NI+ Valerian ekstraktı (n:6): Valerian ekstraktı 200 mg/kg gavaj yolu ile her gün; 7-NI, 25 mg/kg her gün ip olarak,

Valerian ekstraktı + 7-NI+ PTZ (n:6): Valerian ekstraktı 200 mg/kg gavaj yolu ile her gün; 7-NI, 25 mg/kg ip her gün; PTZ, 40 mg/kg gün aşırı ip olarak uygulandı.

Uygulanan maddelerden PTZ (Sigma, P6500), her hayvan için 0.5 cc FTS içinde sulandırılarak, dört hafta boyunca gün aşırı ip olarak, valerian ekstraktı ise Münir Şahin İlaç Sanayi ürünü Cirkulin Valerian tablet (1 tablet 140 mg valerian ekstresi içermektedir) 1.5 cc FTS de çözülerek 200 mg/kg olacak şekilde gavaj yoluyla ve 7-NI (Sigma, N7778) ise yer fıstığı yağında çözülerek ip olarak dört hafta boyunca her gün

uygulandı (Daha önce yaptığımız çalışmalarda yer fıstığı yağı ile kontrol gruplar arasında fark olmadığı tespit edildiğinden, gereksiz hayvan kullanılmasını önlemek için yeni grup oluşturulmadı).

Kindling epilepsi modeli oluşturmak amacıyla PTZ gün aşırı olacak şekilde toplamda 13 doz verildi ve her gün valerian ekstraktı ile 7-NI uygulamaları yapıldı. Epileptik model oluşturmak için uygulanan PTZ'den bir saat önce kedi otu ekstraktı uygulandı ve bu uygulamaya PTZ çoklu doz uygulaması süresince devam edildi. 7-NI ise, PTZ'den yarım saat önce uygulandı. Deney süresince PTZ uygulanan hayvanlar gözlemlenerek nöbet skorlamaları yapıldı ve buna bağlı olarak nöbet frekansları, nöbet evreleri ve nöbet latansları değerlendirildi.

3.1. KİNDLİNG EPİLEPSİ MODELİ VE VERİLERİN SKORLANMASI

Her PTZ enjeksiyonundan sonra, 30 dakika boyunca hayvanlar izlenerek, nöbet şiddetlerinin, latans sürelerinin ve frekanslarının skorlamaları yapıldı. Racine tarafından yapılan nöbet şiddetlerinin derecelendirilmesi:

Evre 0: Cevap yok;

Evre 1: Kulak hareketleri, yüzde kısa kasılmalar;

Evre 2: Kısa miyoklonik vücut kasılmaları;

Evre 3: Miyoklonik kasılmalar, ön ekstremitelerde konvülsiyonlar;

Evre 4: Tonik- klonik nöbetler;

Evre 5: Jeneralize tonik-klonik nöbetler ve postur duruşunun kaybı.

Nöbet Latansı: PTZ enjeksiyonundan sonra evre 1-2'ye geçene kadar olan süre.

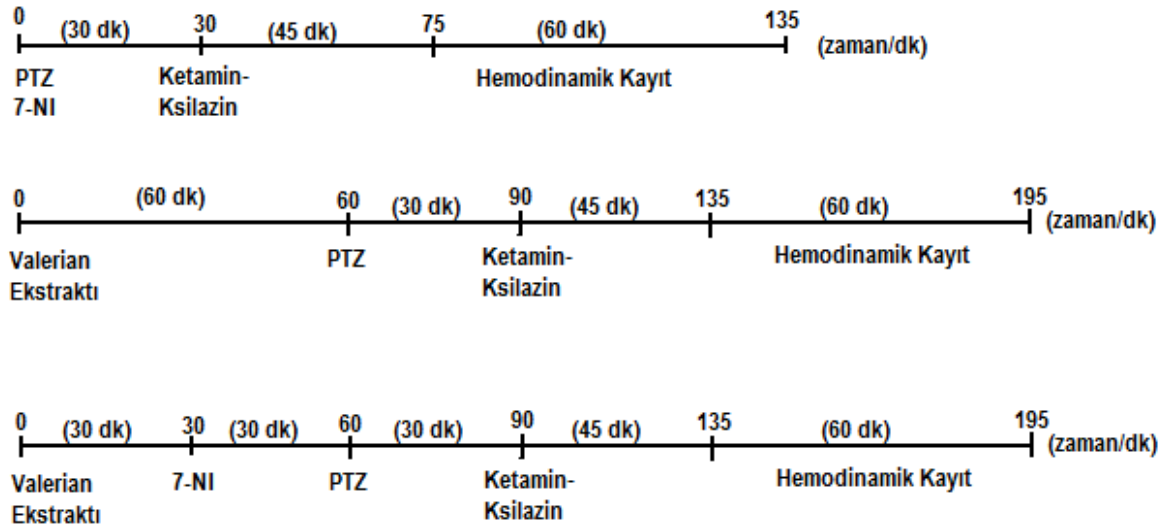
Nöbet Frekansı: PTZ enjeksiyonundan sonra evre 3 şeklinde görülen nöbetlerin 60 saniye içindeki sayısı.

3.2. DENEYİN SONLANDIRILMASI

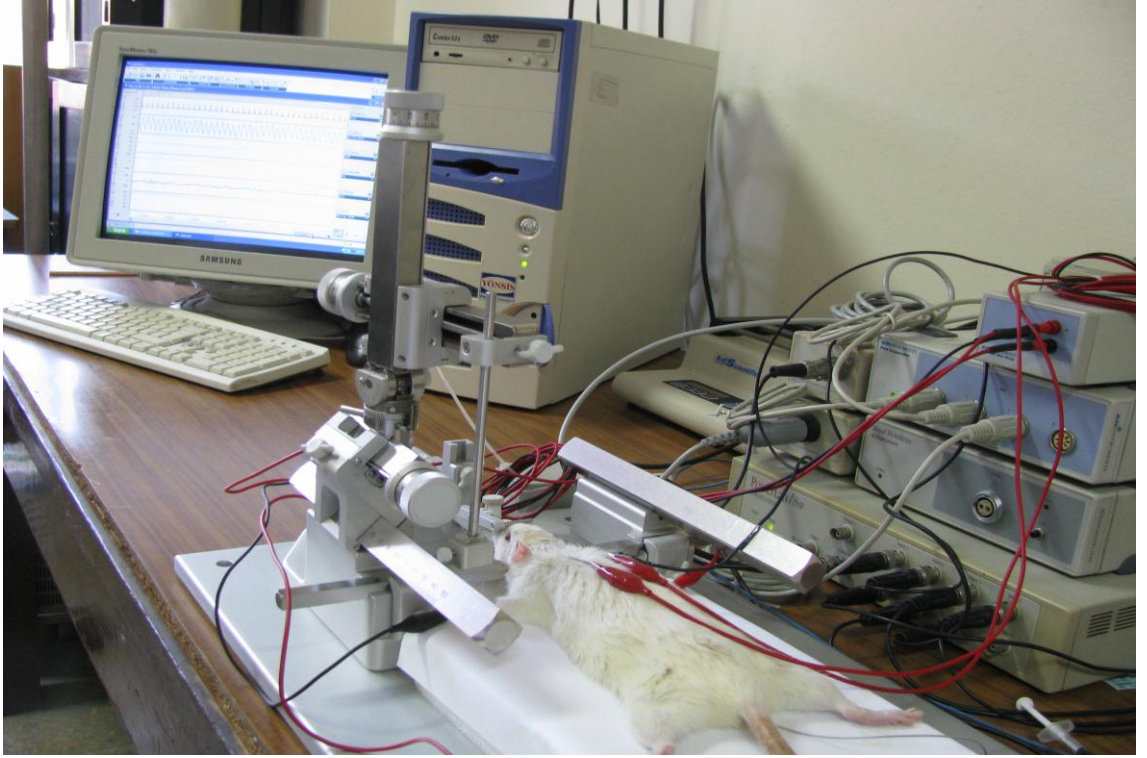
Uygulamaların sonunda hayvanlara ketamin (70 mg/kg) + ksilazin (7 mg/kg) anestezisi altında trakeostomi yapıp, sağ femoral artere kanülasyon yapıldı. Artere yapılan

kanülasyona bağlı olarak ortalama arteriyal basıncı ve bu parametreye bağlı olarak kalp vurumu ile ön ekstremite ile sol arka ekstremiteye bağlanan iğne elektrotlar aracılığıyla elektrokardiyograf (ikinci derivasyon) ve stereotaksi ile sabit hale getirilen kafaya, serebral hemisferlerin üzerine yüzeysel olarak yerleştirilen iğne elektrotlar aracılığıyla yaklaşık bir saat süreyle EEG kayıtları PowerLab bilgisayar programı aracılığıyla alındı.

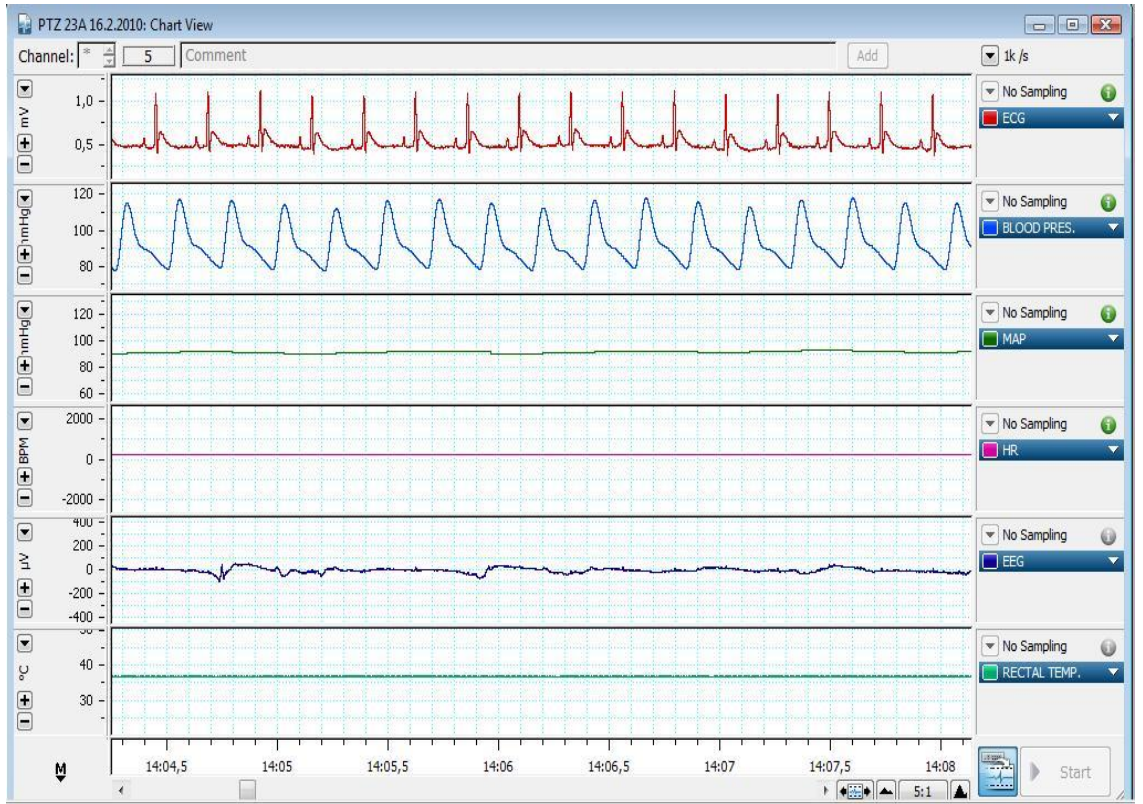
Hemodinamik kayıtları alınan hayvanların kalplerinden kan alındıktan sonra hızla FTS ile perfüze edilerek, kalbin küçük bir parçası ışık mikroskobu çalışmaları için %10 nötral formaldehit fiksatifine, geri kalan bölümü ise biyokimyasal ve moleküler biyolojik çalışmalar için homojenizasyon medyumuna alınarak fraksiyonlarına ayrıştırıldı. Çalışmalarda kullanılmak üzere -20°C 'de tutuldu.



Şekil 3.2.1: Deney sonlandırılmasına ait protokol



Şekil 3. 2. 2: Deneyin sonlandırılması sürecine ait bir fotoğraf.



Şekil 3. 2. 3: Bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği

3.3. DOKU HOMOJENİZASYONU, FRAKSİYONLARIN VE ENZİM AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Deney sonunda kalplerden kan alınarak, hızla FTS ile perfüzyon işlemi gerçekleştirildi. Perfüzyon işleminin ardından kalpler, 10 ml soğuk *izolasyon medyumu* (pH 7,4) [250 mM sükröz, 20 mM HEPES (4-(2-Hidroksietil)piperazin-1-etansülfonik asit hemisodyum tuzu), 10 mM Potasyum klorür (KCl), 1,5 mM magnezyum klorür (MgCl₂) ve 1 mM etilen diamin tetra asetik asit (EDTA, pH 8,0)] ile buz üzerinde hızla parçalanarak homojenize edildi.

Homojenizasyon medyumundan, homojenizasyondan önce 10 ml alındı ve içerisine proteaz inhibitörlerinden 5 µl pepstatin A (Sigma, P5318), 10 µl leupeptin hemisülfat tuzu (Sigma, L8511) ve 10 µl aprotinin (Sigma, A1153) eklendi ve homojenizasyon işleminden hemen önce 10 µl (0,1 mM) fenilmetansülfonil florür (PMSF) (Sigma, P7626) ve 100 µl (1 mM) DL-dithiothreitol (DTT) (Sigma, D5545) inhibitörlerinden ilave edildi. Bu işlemlerin tümü, buz üzerinde gerçekleştirildi.

Doku homojenizasyonu 15 ml hacimli borosilikat cam içerisinde, teflon pistonlu homojenizatör ile yapıldı. Homojenizasyon ve soğutmalı mikrosantrifüjde farklı santrifüleme hızları sonucunda mikrotüplerde homojenat, mitokondriyal fraksiyon ve sitozolik fraksiyon olmak üzere 3 farklı fraksiyon elde edildi.

- 1) Kalbin homojenizasyonu sonucunda elde edilen tüm hücre fraksiyonları; *homojenat*,
- 2) Homojenatın 10.000xg'de 10 dakika ve 4 °C'de santrifüjlenmesi ile elde edilen pellet *mitokondriyal fraksiyon*,
- 3) Homojenatın 10.000xg'de 10 dakika ve 4 °C'de santrifüjlenmesi ile elde edilen süpernatant ise *sitozolik fraksiyondur*.

Bu işlemlerin ardından, mikrotüplerdeki tüm fraksiyonlar ile EDTA'lı tüplere alınan kanlardan elde edilen plazma örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C'de tutuldu.

3.3.1. Plazma ve Sitozolik Fraksiyonlarda Biyokimyasal Ölçüm Metodları

3.3.1.1. Plazma ve Sitozolik Fraksiyonlarda Total Nitrik Oksit Düzeylerinin Belirlenmesi

Çalışmaya başlamadan otuz dakika öncesinden total NO (Arbor Assays, K023-H1) kolorimetrik kit oda ısısına geldikten sonra plazmalar 1:5, kalp dokusununun homojenatından elde edilen sitozolik fraksiyonlar ise 1:10 oranında ölçüm solüsyonu ile seyreltildi.

- Nitrat Redüktaz (NR) Hazırlanması: 500 µl NR, 1,5 ml ölçüm tamponundan eklenerek nitrat redüktaz çalışma solüsyonu elde edildi.
- Nikotinamid adenin dinukleotit (NADH) hazırlanması: 1 ml NADH+1 ml ölçüm solüsyonu eklenerek 2 ml'lik NADH çalışma solüsyonu elde edildi.
- Seyreltilmiş olan örneklerden ve standartlardan 50'şer µl 96 kuyucuktan oluşan ölçüm kaplarına konulur.
- Seyreltilerek hazırlanmış olan NADH çalışma solüsyonundan 10 µl her kuyucuğa eklenir.
- Hazırlanmış olan nitrat redüktaz çalışma solüsyonundan 10 µl eklendi.
- Oda ısısında 20 dakika inkübe edildi.
- 25 µl renkli ayıraç A ve sonrasında 25 µl renkli ayıraç B'den ilave edilerek 5 dakika bekletildi.
- 545 nm'de optik okuyucuda okundu.

3.3.1.2. Plazmada Homosistein Düzeylerinin Belirlenmesi

Homosistein (Cusabio, E13376r) ölçümünde kullanılan 96 kuyucuklu ölçüm kabı Hcy'e duyarlı antikor ile kaplanmış olarak bulunmaktadır.

- Her kuyucuğa 100 µl standart, kör veya örnekler eklendi. 37 °C'de 2 saat bekletilerek antijenlerin yüzeye tutunması sağlandı.
- Yıkama işlemi yapılmadan kuyucuklardan sıvılar uzaklaştırıldı.
- 100 µl biotin-antikor çalışma solüsyonu eklenerek 1 saat 37 °C'de inkübe edildi.
- Her kuyucuk aspire edilerek yıkanır. Yıkama işlemi üç kez tekrarlandı (Yıkama işlemi her kuyucuğa 200 µl yıkama solüsyonu konularak 2 dakika bekletilerek yapılır ve sonrasında sıvılar uzaklaştırılarak hafifçe kurutuldu).

- 100 µl attan elde edilmiş peroksidaz (Horse Radish Peroxidase, HRP) avidin çalışma solüsyonu her kuyucuğa eklendi ve 1 saat 37 °C'de inkübe edilerek yüzeye tutunması sağlandı.
- Aspire edilerek 5 kez yıkama işlemi yapıldı.
- 90 µl TMB (3,3',5,5' tetrametil benzidin) substratı her kuyucuğa ilave edildi ve karanlıkta 10-30 dakika 37 °C'de bekletildi.
- 50 µl durdurma solüsyonu her kuyucuğa eklendi. Reaksiyon sonucu oluşan mavi renk, durdurma solüsyonu ilave edildikten sonra sarıya döndü.
- 450 nm'de optik densitede okundu.

3.3.1.3. *Plazma ve Sitozolik Fraksiyonlarda Miyeloperoksidaz Düzeylerinin Belirlenmesi*

MPO (Hycult, HK105) elisa metodu ile çalışılacak olan 96 kuyucuk içeren ölçüm kabı MPO'ya duyarlı antikolar ile kaplanmıştır. Örnekler 1:4 oranında seyreltme solüsyonu ile polipropilen tüplerde seyreltildi.

- Yıkama solüsyonu: 40 ml yıkama tamponuna 760 ml distile su ilave edilerek yıkama solüsyonu hazırlanır.
- Seyreltme Solüsyonu:
 - Seyreltme Solüsyonu A: 10 ml dilüsyon tamponu A'ya 40 ml distile su ilave edilerek hazırlandı.
 - Seyreltme Solüsyonu B: 10 ml dilüsyon tamponu B'ye 40 ml distile su ilave edilerek hazırlandı.
- Hazırlanan seyreltme solüsyonu A ve B birbirine karıştırılarak toplam 100 ml seyreltme solüsyonu elde edildi.
- Tracer solüsyonu: 1 ml distile su ile sulandırılıp üzerine 11 ml seyreltme solüsyonu eklenerek 12 ml tracer solüsyonu hazırlandı.
- Stretavidin Peroksidaz Solüsyonu: 1 ml distile su ile sulandırılıp 23 ml seyreltme solüsyonu eklenerek hazırlandı.
- Seyreltilerek hazırlanmış olan standartlar ve örneklerden 100 µl konularak 1 saat 20-25 °C'de (oda ısısında) inkübe edildi.

- 200 µl yıkama solüsyonu ile 20 saniye muamele edilerek yapılan yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı.
- Biotinlenmiş antikordan 100 µl ilave edilerek oda ısısında bekletildi.
- 4 kez yıkama işlemi yapıldı.
- Streptavidin peroksidaz konjugatından 100 µl ilave edilerek bir saat oda ısısında bekletildi.
- 4 kez yıkama işlemi tekrar edildi.
- TMB solüsyonundan 100 µl eklenerek 20-30 dakika oda ısısında bekletildi.
- Durdurma solüsyonundan 100 µl eklenerek reaksiyon zinciri durduruldu ve 450 nm'de okutuldu.

3.3.1.4. Plazma ve Sitozolik Fraksiyonlarda Süper Oksit Dismutaz Düzeylerinin Belirlenmesi

Örnekler 1:5 oranında seyreltilerek ölçüm için kullanıldı.

- Ksantin oksidaz hazırlanması: 200 µl ksantin oksidaz'a 4,8 ml ksantin oksidaz tamponu ilave edilerek 5 ml ksantin oksidaz hazırlandı.
- Substrat Hazırlanması: 1 ml substrat'a 9 ml substrat tamponu eklenerek toplam 10 ml substrat solüsyonu hazırlandı.
- Her kuyucuğa 10'ar µl örnek veya standart aktarıldı.
- 50 µl substrat solüsyonu ilave edildi.
- 25 µl ksantin oksidaz solüsyonu ilave edildi.
- Oda ısısında 20 dakika bekletildikten sonra 450 nm'de okuma işlemi yapıldı.

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışma sonunda elde edilen veriler, ortalama±standart sapma (SD) olarak hesaplandı. Grupların dağılımları normal dağılıma uygunluğu test edilerek, nöbet skorlamaları ve hemodinamik parametrelerin analizi için çift yönlü, biyokimyasal analizlerin sonuçlarını değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrasında Benferonni çoklu karşılaştırmalar testi ile istatistiksel değerlendirme yapıldı ve $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz için Instat İstatistiksel Paket Programı (Instat Graphad Software, San Diego, CA, USA) kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. KİNDLİNG EPİLEPSİ MODELİ SONUCU ELDE EDİLEN VERİLERİN SKORLANMASI

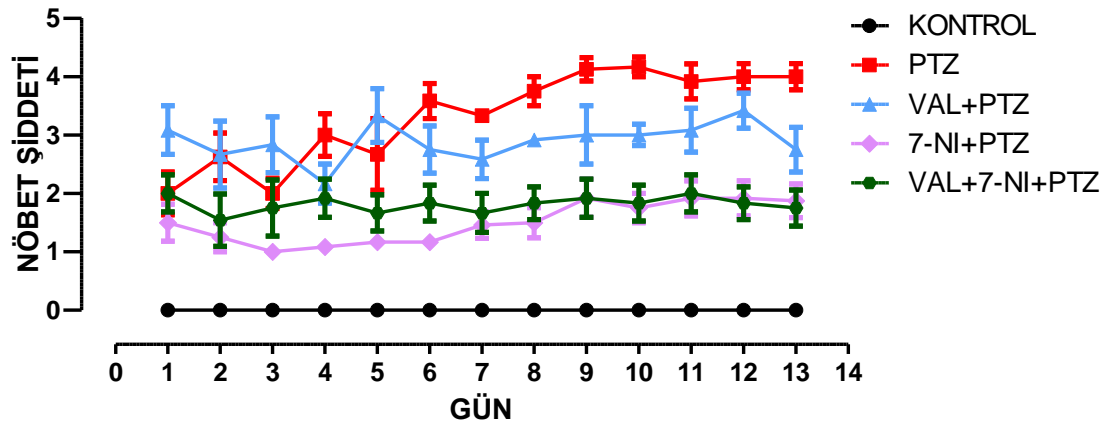
Kindling epilepsi modeli oluşturmak için kronik olarak gün aşırı olacak şekilde 13 doz PTZ (40 mg/kg) uygulandı ve tüm uygulamalardan sonra 30 dakika boyunca gözlemlenen hayvanlar latans, frekans ve nöbet şiddeti bakımından Racine (1972) tarafından yapılan derecelendirmeye göre değerlendirildi.

Tamamlanan gruplardan; kontrol, PTZ, VAL+PTZ, 7-NI+PTZ, VAL+7-NI+PTZ grupları arasında nöbet skorlamaları yapılarak, frekans, evre ve latans bakımından karşılaştırılması çift yönlü ANOVA-Benferroni testi ile yapıldı.

Nöbet şiddetleri, frekansları ve latans süreleri ile anlamlılık dereceleri şekil ve tablolar aracılığıyla gösterildi. PTZ uygulanan sıçanların latans süreleri azalırken, nöbet frekansının ve şiddetinin arttığı gözlemlendi.

Kedi otu (*Valeriana officinalis*) ekstraktı uygulanmasından sonra PTZ uygulanan grup, sadece PTZ uygulanan grup ile karşılaştırıldığında nöbet şiddeti (Şekil 4.1.1, Tablo 4.1.1), frekans (Şekil 4.1.2, Tablo 4.1.2) ve latans süreleri (Şekil 4.1.3, Tablo 4.1.3) bakımından çok anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.

Nöronal nitrik oksit sentaz inhibitörü olan 7-NI uygulandıktan sonra PTZ uygulanan grup ile kedi otu ekstraktı, 7-NI ve PTZ uygulanan gruplar sadece PTZ uygulanan grup ile karşılaştırıldığında nöbet şiddetlerinin (Şekil 4.1.1, Tablo 4.1.1) ve frekanslarının (Şekil 4.1.2, Tablo 4.1.2) anlamlı olarak azaldığı tespit edilmesine karşın, latans süreleri (Şekil 4.1.3, Tablo 4.1.3) bakımından anlamlı farklılıklar saptanmadı.

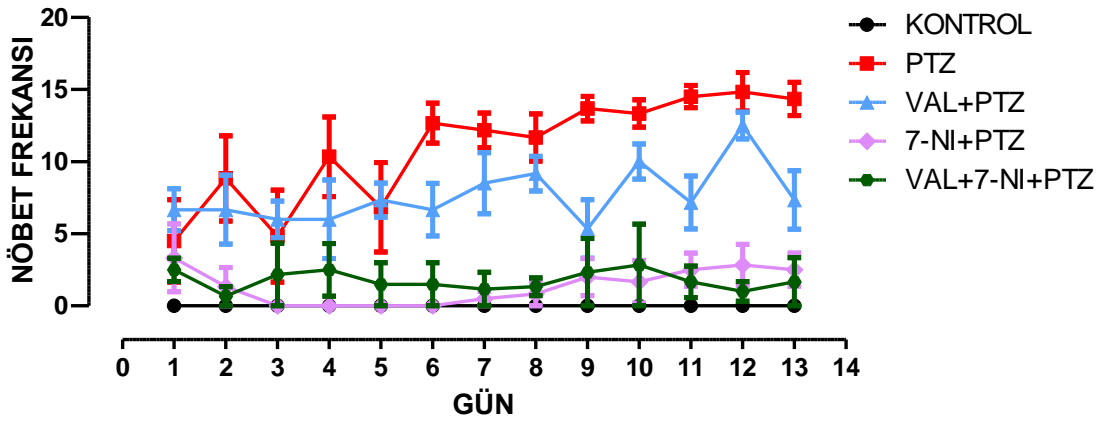


Şekil 4. 1. 1: Kindling model oluşturulurken hayvanlarda gözlemlenen nöbetlerin şiddetleri

Tablo 4. 1. 1: PTZ uygulamasından sonra hayvanlarda gözlemlenen nöbet şiddetlerindeki değişikliklerin PTZ grubuna göre karşılaştırılması

Nöbet Şiddeti	PTZ	VAL+PTZ	7-NI+PTZ	VAL+7-NI+PTZ
1. Gün	2,0±0,9	3,1±1,0	1,5±0,8	2,0±0,8
2. Gün	2,6±1,0	2,7±1,4	1,3±0,6 ^a	1,5±1,1
3. Gün	2,0±0,6	2,8±1,2	1,0±0,0	1,8±1,2
4. Gün	3,0±0,9	2,2±0,8	1,1±0,2 ^{aaa}	1,9±0,8
5. Gün	2,7±1,5	3,3±1,1	1,2±0,3 ^{aa}	1,7±0,8
6. Gün	3,6±0,7	2,8±1,0	1,2±0,3 ^{aaa}	1,8±0,8 ^{aaa}
7. Gün	3,3±0,3	2,6±0,8	1,5±0,6 ^{aaa}	1,7±0,8 ^{aaa}
8. Gün	3,8±0,6	2,9±0,2	1,5±0,6 ^{aaa}	1,8±0,7 ^{aaa}
9. Gün	4,1±0,5	3,0±1,2	1,9±0,8 ^{aaa}	1,9±0,8 ^{aaa}
10. Gün	4,2±0,4	3,0±0,4	1,8±0,6 ^{aaa}	1,8±0,8 ^{aaa}
11. Gün	3,9±0,7	3,1±0,9	1,9±0,7 ^{aaa}	2,0±0,8 ^{aaa}
12. Gün	4,0±0,5	3,4±0,7	1,9±0,7 ^{aaa}	1,8±0,7 ^{aaa}
13. Gün	4,0±0,5	2,8±0,9 ^a	1,9±0,7 ^{aaa}	1,8±0,8 ^{aaa}

PTZ grubuna göre karşılaştırılmasının istatistiksel anlamlılık değerleri (-) $p>0.05$; (a) $p<0.05$; (aa) $p<0.01$; (aaa) $p<0.001$.

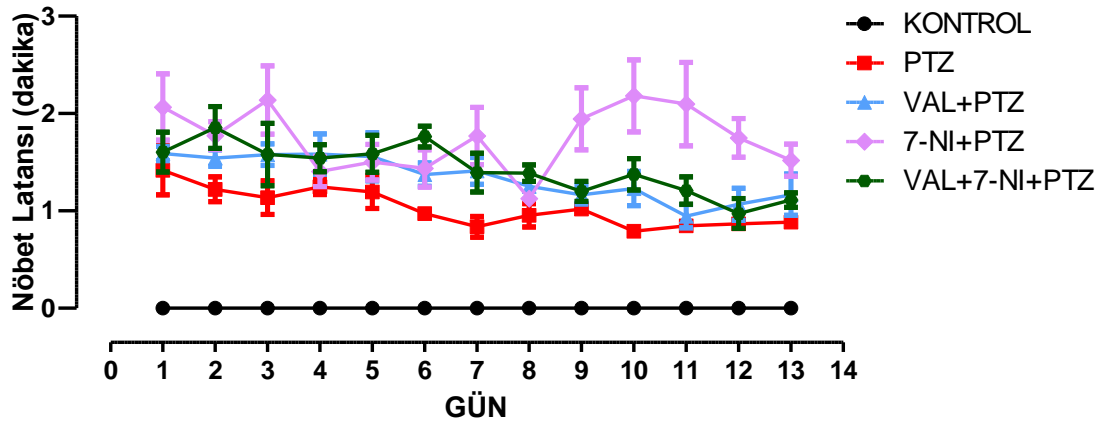


Şekil 4. 1. 2: Kindling model oluşturulurken hayvanların geçirdikleri nöbetlerin frekansları

Tablo 4. 1. 2: PTZ uygulamasından sonra hayvanlarda gözlemlenen nöbet frekanslarındaki değişikliklerin PTZ grubuna göre karşılaştırılması

Nöbet Frekansı	PTZ	VAL+PTZ	7-NI+PTZ	VAL+7-NI+PTZ
1. Gün	4,5±7,0	6,7±3,6	3,3±5,8	2,5±2,0
2. Gün	8,8±7,2	6,7±5,9	1,3±3,3 ^{aa}	0,7±1,6 ^{aa}
3. Gün	4,8±7,8	6,0±3,1	0,0±0,0	2,2±5,3
4. Gün	10,3±6,8	6,0±6,7	0,0±0,0 ^{aaa}	2,5±4,5 ^{aa}
5. Gün	6,8±7,6	7,3±2,9	0,0±0,0 ^a	1,5±3,7
6. Gün	12,7±3,4	6,7±4,5	0,0±0,0 ^{aaa}	1,5±3,7 ^{aaa}
7. Gün	12,2±2,9	8,5±5,2	0,5±1,2 ^{aaa}	1,2±2,9 ^{aaa}
8. Gün	11,7±4,0	9,2±2,9	0,8±2,0 ^{aaa}	1,3±1,5 ^{aaa}
9. Gün	13,7±2,1	5,3±5,0 ^{aa}	2,0±3,2 ^{aaa}	2,3±5,7 ^{aaa}
10. Gün	13,3±2,3	10,0±3,0	1,7±3,6 ^{aaa}	2,8±6,9 ^{aaa}
11. Gün	14,5±1,9	7,2±4,5 ^{aa}	2,5±2,8 ^{aaa}	1,7±2,7 ^{aaa}
12. Gün	14,8±3,3	12,5±2,3	2,8±3,5 ^{aaa}	1,0±1,7 ^{aaa}
13. Gün	14,3±2,8	7,3±5,0 ^a	2,5±2,8 ^{aaa}	1,7±4,1 ^{aaa}

PTZ grubuna göre karşılaştırılmasının istatistiksel anlamlılık değerleri (-) p>0.05; (a) p<0.05; (aa) p<0.01; (aaa) p<0.001.



Şekil 4.1 3: PTZ verilmesinden sonra hayvanların latans süreleri

Tablo 4.1.3: PTZ uygulamasından sonra hayvanlarda gözlemlenen latans sürelerindeki değişikliklerin gruplara göre karşılaştırılması

Nöbet Latansı	PTZ	VAL+PTZ	7-NI+PTZ	VAL+7-NI+PTZ
1. Gün	1,4±0,6	1,6±0,2	2,1±0,8	1,6±0,5
2. Gün	1,2±0,3	1,5±0,2	1,8±0,3	1,9±0,5
3. Gün	1,1±0,4	1,6±0,3	2,1±0,9 ^{aa}	1,6±0,8
4. Gün	1,2±0,2	1,6±0,5	1,4±0,4	1,5±0,3
5. Gün	1,2±0,4	1,6±0,6	1,5±0,4	1,6±0,5
6. Gün	1,0±0,1	1,4±0,3	1,4±0,5	1,8±0,3
7. Gün	0,8±0,3	1,4±0,3	1,8±0,7	1,4±0,5
8. Gün	1,0±0,3	1,3±0,1	1,1±0,2	1,4±0,2
9. Gün	1,0±0,1	1,2±0,2	1,9±0,8 ^a	1,2±0,3
10. Gün	0,8±0,1	1,2±0,4	2,2±0,9 ^{aaa}	1,4±0,4
11. Gün	0,8±0,1	0,9±0,3	2,1±1,0 ^{aaa}	1,2±0,3
12. Gün	0,9±0,1	1,1±0,4	1,8±0,5 ^a	1,0±0,4
13. Gün	0,9±0,1	1,2±0,5	1,5±0,4	1,1±0,2

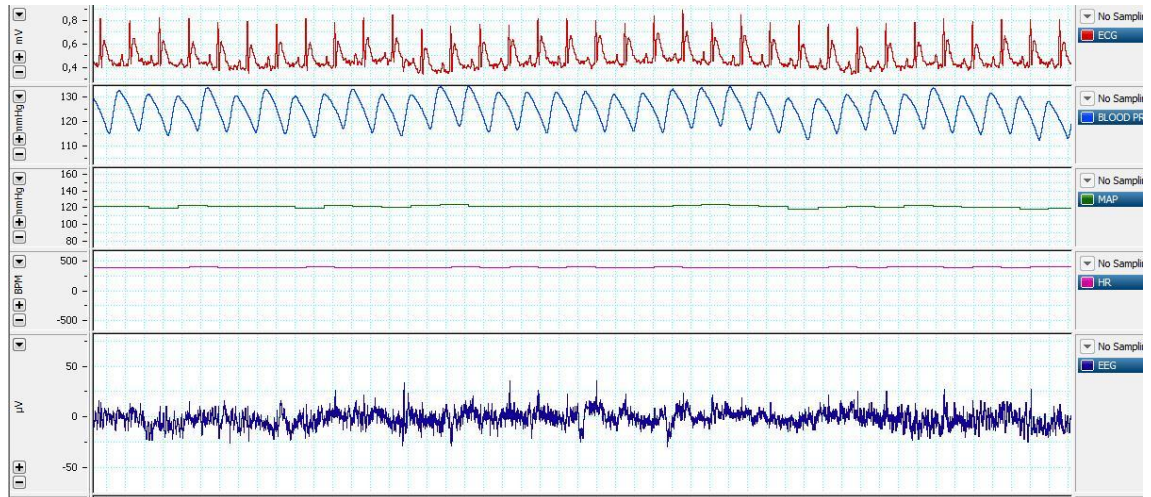
PTZ grubuna göre karşılaştırılmasının istatistiksel anlamlılık değerleri (-) $p > 0.05$; (a) $p < 0.05$; (aa) $p < 0.01$; (aaa) $p < 0.001$.

4.2. FİZYOLOJİK KAYIT ÖRNEKLERİ VE PARAMETRELER

Kontrol ve deney gruplarından uzun süreli olarak alınan fizyolojik kayıtlardan örnek kesitler aşağıda gösterilmiştir. Kayıtlardaki parametreler sırasıyla elektrokardiyogram, kan basıncı, ortalama arteriyal basınç ve elektroensefalogram şeklindedir.



Şekil 4.2.1: Kontrol grubundaki bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.



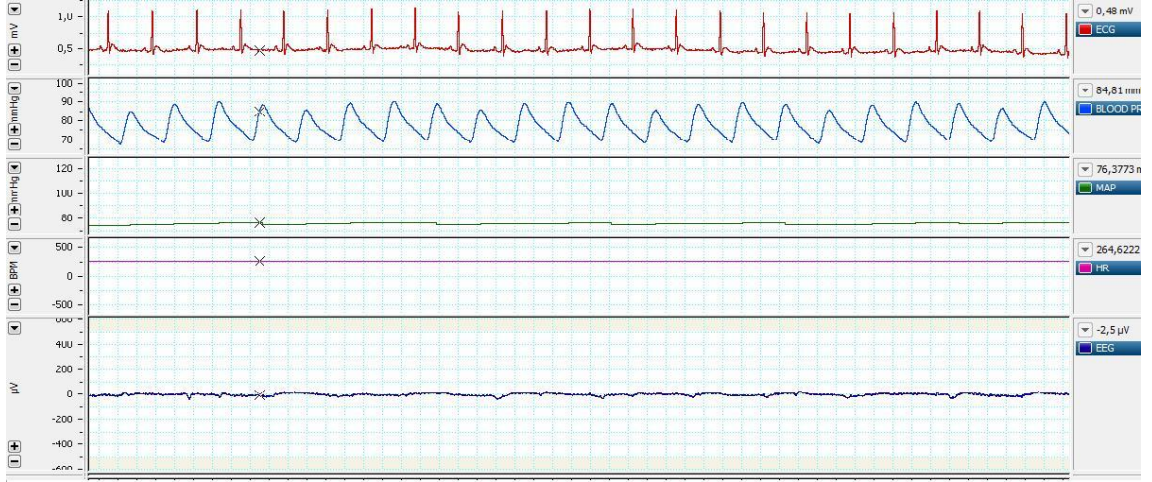
Şekil 4.2.2: PTZ grubundaki bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.



Şekil 4.2.3: Valerian uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.



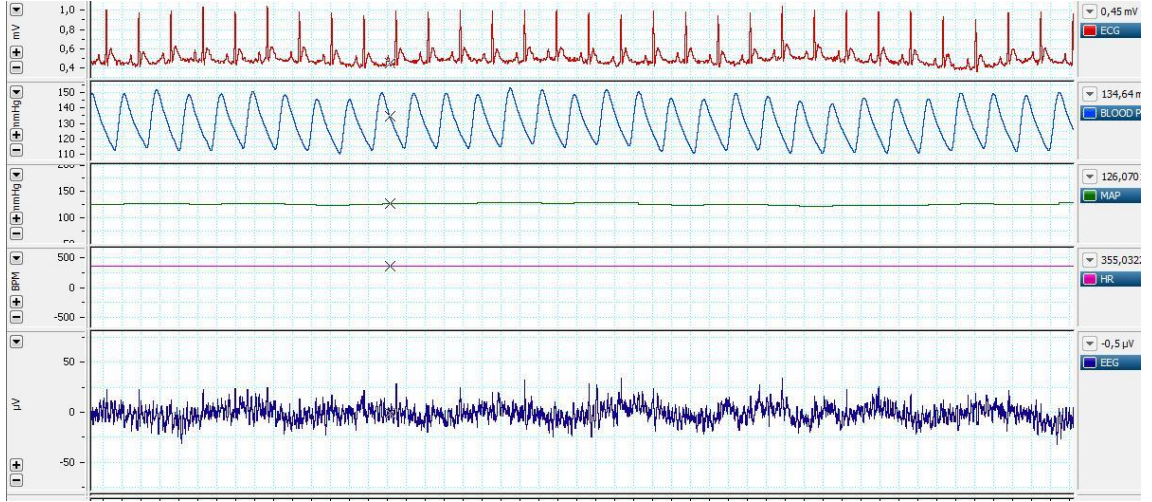
Şekil 4.2.4: 7-NI uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.



Şekil 4.2.5: 7-NI+PTZ uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.



Şekil 4.2.6: VAL+PTZ uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.

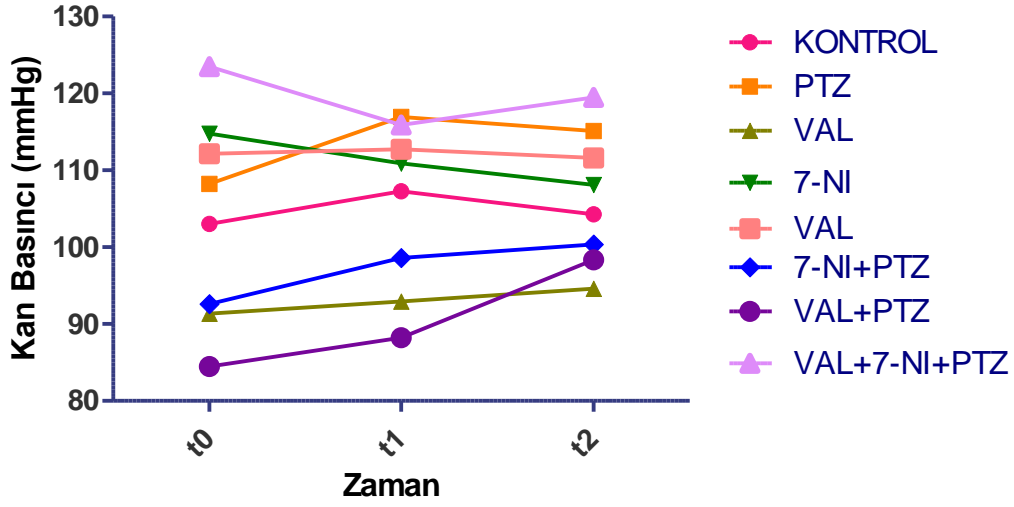


Şekil 4.2.7: VAL+7-NI uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.



Şekil 4.2.8: VAL+7-NI+PTZ uygulanan bir hayvandan alınan fizyolojik parametrelere ait kayıt örneği.

4.2.1. Kan Basıncı



Şekil 4.2.1. 1: Tüm grupların kan basıncı değerlerinin üç farklı örnekleme zaman aralığındaki değerleri

Tablo 4.2.1.1: Tüm gruplara ait kan basıncı değerlerinin üç farklı zaman aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması

Gruplar BP	T0	T1	T2
KONTROL	103±7	107±6	104±5
PTZ	108±3	117±3	115±5 ^a
VAL	91±3 ^{a,bbb}	93±4 ^{aa,bbb}	95±3 ^{bbb}
7-NI	115±2 ^a	111±3	108±4
7-NI+PTZ	93±9 ^{a,bb}	99±10 ^{bbb}	100±11 ^{bb}
VAL+PTZ	84±8 ^{aaa,bbb}	88±8 ^{aaa,bbb}	98±4 ^{bbb}
VAL+7-NI	112±9	113±6	112±5
VAL+7-NI+PTZ	123±4 ^{aaa,bb}	116±18	119±13 ^{aa}

a: Kontrol grubuna göre diğer grupların, **b:** PTZ grubuna göre diğer grupların karşılaştırılması.

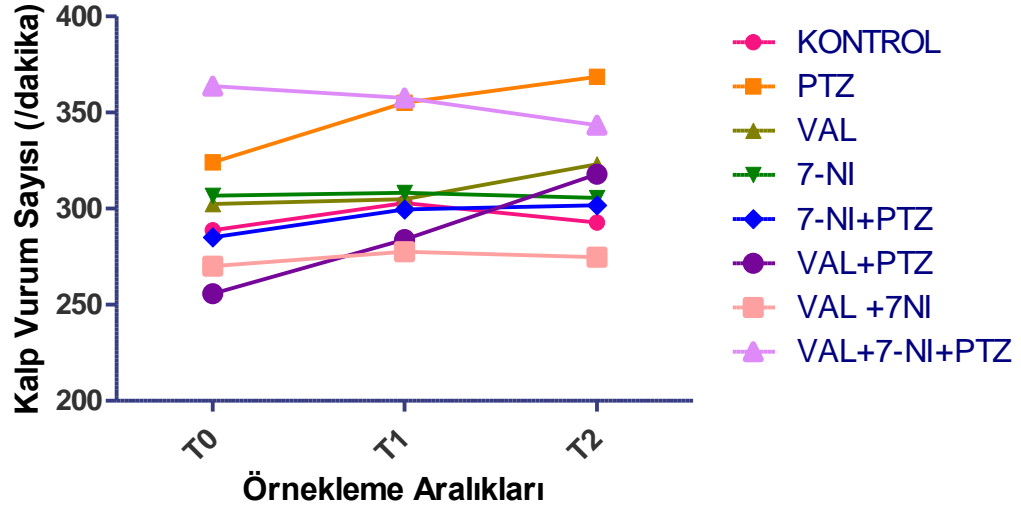
(-) $p > 0.05$; (a) $p < 0.05$; (aa) $p < 0.01$; (aaa) $p < 0.001$; (b) $p < 0.05$; (bb) $p < 0.01$; (bbb) $p < 0.001$

Kan basıncı değerleri kontrole göre karşılaştırıldığında T0 örnekleme aralığında 7-NI ($p < 0.05$) ve VAL+7-NI+PTZ ($p < 0.001$) gruplarının değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu, Valerian ve 7-NI+PTZ grupları ($p < 0.05$) ile VAL+PTZ grubuna ait değerlerin ise düşük olduğu ($p < 0.001$) saptandı. T1 örnekleme aralığında VAL ($p < 0.01$) ve VAL+PTZ ($p < 0.001$) grupları değerlerinin kontrole göre anlamlı olarak düşük olduğu

tespit edildi. T2 örnekleme aralığında PTZ ($p<0.05$) ve VAL+7-NI+PTZ ($p<0.01$) gruplarına ait değerler kontrole göre anlamlı olarak yüksekti.

PTZ grubuna göre karşılaştırma yapıldığında ise VAL (her üç örnekleme aralığında $p<0.001$), VAL+PTZ (her üç örnekleme aralığında $p<0.001$) ve 7-NI+PTZ (T0 ve T2 aralıklarında $p<0.01$, T1 aralığında $p<0.001$) gruplarının kan basıncı değerleri düşük bulundu. VAL+7-NI+PTZ grubu değerleri ise sadece T0 örnekleme aralığında anlamlı olarak PTZ grubu değerlerine göre yüksekti ($p<0,01$).

4.2.2. Kalp Vurum Sayısı



Şekil 4.2.2. 1: Tüm grupların kalp vurum sayılarının üç farklı örnekleme aralığındaki değerleri

Tablo 4.2.2. 1: Tüm gruplara ait kalp vurum sayılarının üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması

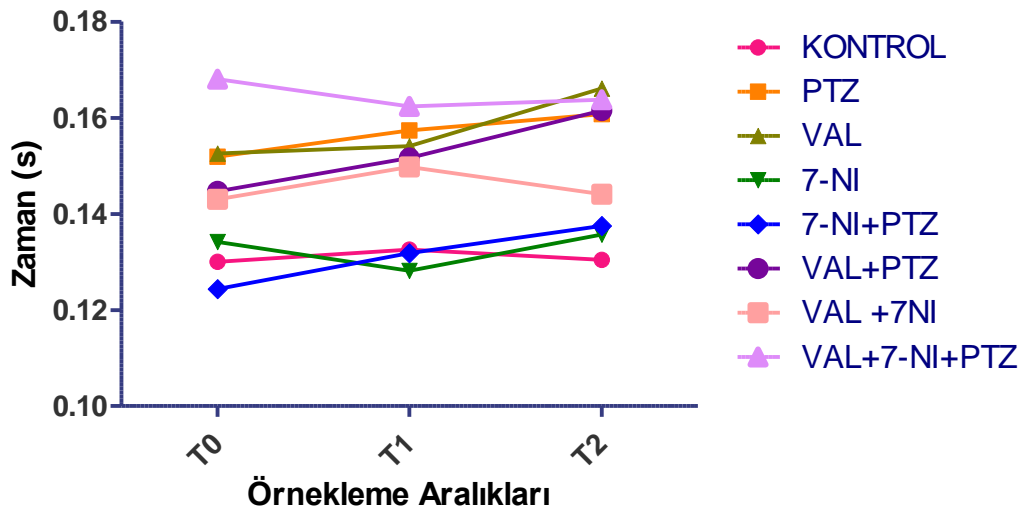
Gruplar HR	T0	T1	T2
KONTROL	289±19	303±19	293±16
PTZ	281±13 ^a	322±10 ^{aa}	335±13 ^{aaa}
VAL	302±24	305±20 ^{bb}	323±18 ^{bb}
7-NI	307±27	308±12 ^{bb}	306±32 ^{bbb}
7-NI+PTZ	285±25 ^b	300±24 ^{bbb}	302±29 ^{bbb}
VAL+PTZ	256±17 ^{bbb}	284±7 ^{bbb}	318±10 ^{bb}
VAL+7-NI	270±14 ^{bbb}	278±16 ^{bbb}	275±16 ^{bbb}
VAL+7-NI+PTZ	364±22 ^{aaa, b}	358±23 ^{aaa}	343±20 ^{aa}

a: Kontrol grubuna göre diğer grupların, **b:** PTZ grubuna göre diğer grupların karşılaştırılması.

(-) $p > 0.05$; (a) $p < 0.05$; (aa) $p < 0.01$; (aaa) $p < 0.001$; (b) $p < 0.05$; (bb) $p < 0.01$; (bbb) $p < 0.001$

Kalp vurum sayıları kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, VAL+7-NI+PTZ ve PTZ gruplarına ait değerler her üç örnekleme aralığında da anlamlı olarak yüksekti. PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında, VAL ve 7-NI gruplarına ait değerlerin T1 ve T2 aralıklarında, 7-NI+PTZ, VAL+PTZ ve VAL+7-NI gruplarında ise her üç örnekleme aralığında da kalp vurum sayılarının anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi.

4.2.3. QTc Değerleri



Şekil 4.2.3 1: Tüm gruplarda üç farklı zaman aralığı için QTc süreleri

Tablo 4.2.3. 1: Tüm gruplara ait QTc değerlerinin üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması

Gruplar QTc	T0	T1	T2
KONTROL	0,1301±0,006	0,1325±0,008	0,1305±0,009
PTZ	0,1519±0,009 ^{aa}	0,1573±0,011 ^{aaa}	0,1608±0,012 ^{aaa}
VAL	0,1526±0,015 ^{aa}	0,1541±0,018 ^{aa}	0,1661±0,018 ^{aaa}
7-NI	0,1342±0,011 ^b	0,1282±0,005 ^{bbb}	0,1357±0,008 ^{bbb}
7-NI+PTZ	0,1244±0,008 ^{bbb}	0,1318±0,005 ^{bbb}	0,1375±0,010 ^{bbb}
VAL+PTZ	0,1447±0,004	0,1517±0,012 ^{aa}	0,1615±0,007 ^{aaa}
VAL+7-NI	0,1430±0,010	0,1498±0,016 ^{a, b}	0,1441±0,010
VAL+7-NI+PTZ	0,1680±0,010 ^{aaa, b}	0,1624±0,012 ^{aaa}	0,1638±0,010 ^{aaa}

a: Kontrol grubuna göre diğer grupların, **b:** PTZ grubuna göre diğer grupların karşılaştırılması.

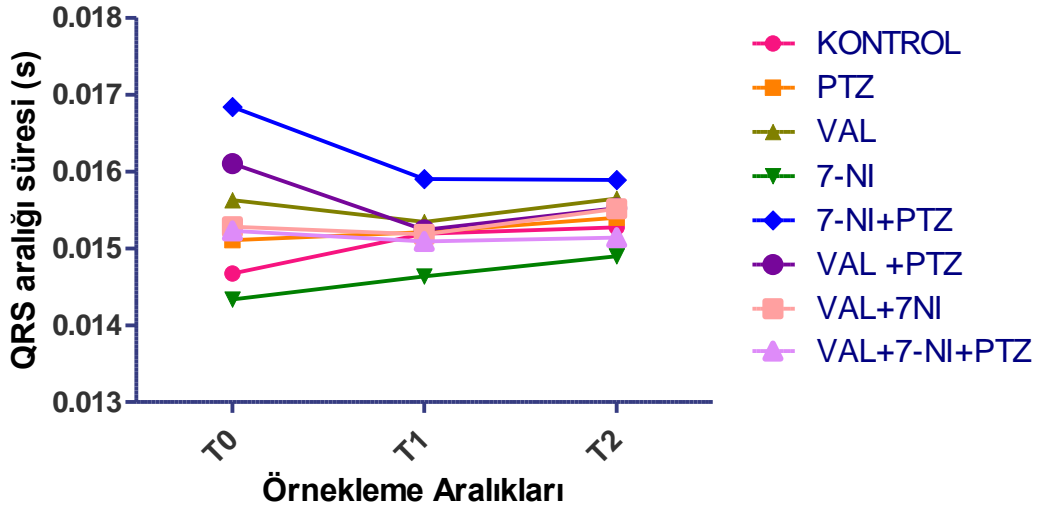
(-) p>0.05; (a) p<0.05; (aa) p<0.01; (aaa) p<0.001; (b) p<0.05; (bbb) p<0.001

Bazzet formülüne göre düzeltilmiş QTc değerleri kontrole göre karşılaştırıldığında PTZ (T0 aralığında p<0.01, T1 ve T2 aralıklarında p<0.001), VAL (T0 ve T1 aralıklarında p<0.01, T2 aralığında p<0.001) ve VAL+7-NI+PTZ (T0, T1 ve T2 aralıklarında p<0.001) gruplarına ait değerlerin her üç örnekleme aralığında da istatistiksel olarak

anlamli olarak yu'kse'k olduğu saptandı. VAL+PTZ grubuna ait değerler de kontrole kıyasla T1 ($p<0.01$) ve T2 ($p<0.001$) aralıklarında anlamli olarak yu'ksekti.

QTc değerleri PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında, 7-NI (T0 aralığında $p<0.05$, T1 ve T2 aralıklarında $p<0.001$), 7-NI+PTZ (T0, T1 ve T2 aralıklarında $p<0.001$) grubu süreleri her u'ç örnekleme aralığında ve VAL+7NI grubu ise, sadece T2 aralığında ($p<0.05$) anlamli olarak düşüktü. VAL+7-NI+PTZ grubuna ait değerler ise sadece T0 rnekleme aralığında anlamli olarak yu'ksekti ($p<0.05$).

4.2.4. QRS Değerleri



Şekil 4.2.4 2: Tüm gruplarda QRS aralıklarına ait sürelerin üç farklı örnekleme aralığında gösterilmesi

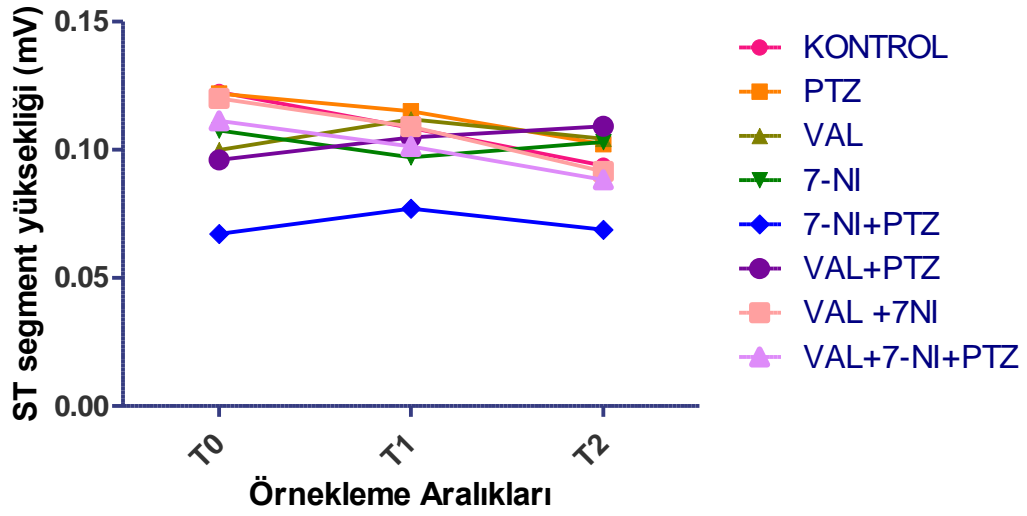
Tablo 4.2.4.1: Tüm gruplara ait QRS aralıklarına ait sürelerin üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması

Gruplar QRS	T0	T1	T2
KONTROL	0,0147±0,0004	0,0152±0,0009	0,0153±0,0007
PTZ	0,0151±0,0007	0,0152±0,0008	0,0154±0,0005
VAL	0,0156±0,0011	0,0153±0,0010	0,0156±0,0012
7-NI	0,0143±0,0009	0,0146±0,0009	0,0149±0,0006
7-NI+PTZ	0,0168±0,0009 ^{aaa, bbb}	0,0159±0,0005	0,0159±0,0012
VAL+PTZ	0,0161±0,0004 ^{aa}	0,0152±0,0005	0,0155±0,0007
VAL+7-NI	0,0153±0,0002	0,0152±0,0004	0,0163±0,0022
VAL+7-NI+PTZ	0,0152±0,0003	0,0151±0,0004	0,0153±0,0011

a: Kontrol grubuna göre diğer grupların, **b:** PTZ grubuna göre diğer grupların karşılaştırılması. (-) $p > 0.05$; (aa) $p < 0.01$; (aaa) $p < 0.001$; (bbb) $p < 0.001$.

Ventriküllerin depolarizasyon süresini ifade eden QRS sürelerini kontrol ve PTZ grubuna göre karşılaştırdığımızda 7-NI+PTZ grubuna ait T0 anında alınan örneklerde hem kontrol grubuna göre hem de PTZ grubuna göre yüksek olduğunu ($p < 0.001$) gözlemlemekteyiz. Aynı zamanda VAL+PTZ grubunda da sadece T0 aralığında kontrole göre anlamlı olarak yüksek ($p < 0.01$) olduğunu belirledik. Diğer aralıklarda ve diğer gruplarda yapılan karşılaştırmalar anlamlı bulunmamıştır.

4.2.5. ST Segmentinin Yüksekliği



Şekil.4.2.5.1: Tüm gruplarda ST segmenti yüksekliklerinin üç farklı örnekleme aralığında gösterilmesi

Tablo 4.2.5.1: Tüm gruplara ait ST segmenti yüksekliklerinin üç farklı örnekleme aralığında kontrol ve PTZ gruplarına göre karşılaştırılması

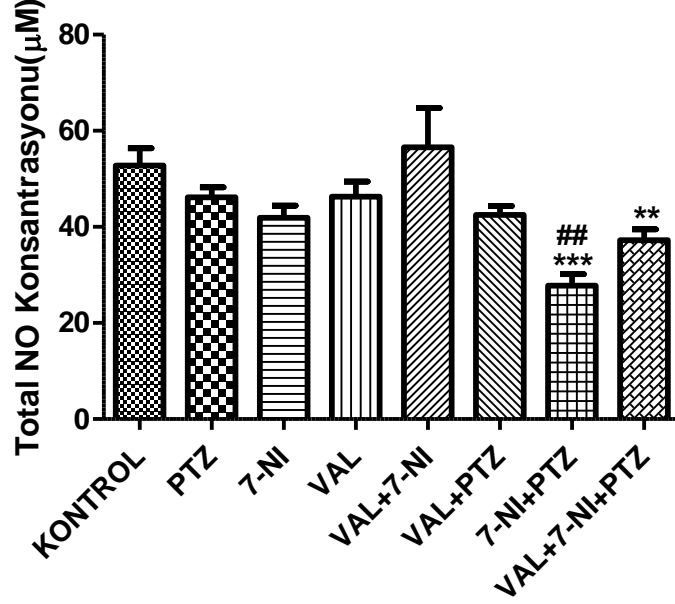
Gruplar ST	T0	T1	T2
KONTROL	0,1225±0,055	0,1086±0,038	0,0938±0,051
PTZ	0,1220±0,019	0,1150±0,026	0,1022±0,014
VAL	0,0999±0,036	0,1120±0,030	0,1043±0,027
7-NI	0,1075±0,033	0,0970±0,035	0,1031±0,033
7-NI+PTZ	0,0672±0,036	0,0771±0,046	0,0689±0,044
VAL+PTZ	0,0960±0,058	0,1048±0,057	0,1092±0,050
VAL+7-NI	0,1201±0,066	0,1090±0,060	0,0833±0,060
VAL+7-NI+PTZ	0,1114±0,048	0,1013±0,039	0,0884±0,052

Gruplara ait hayvanlarda ventriküllerin depolarizasyonu bitiminden repolarize olana kadar geçen süreyi ifade eden ST segmenti yüksekliklerinin kontrol ve PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

4.3. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

4.3.1. Plazma ve Sitozolik Total Nitrik Oksit Düzeyleri

4.3.1.1. Plazma Total Nitrik Oksit Düzeyleri

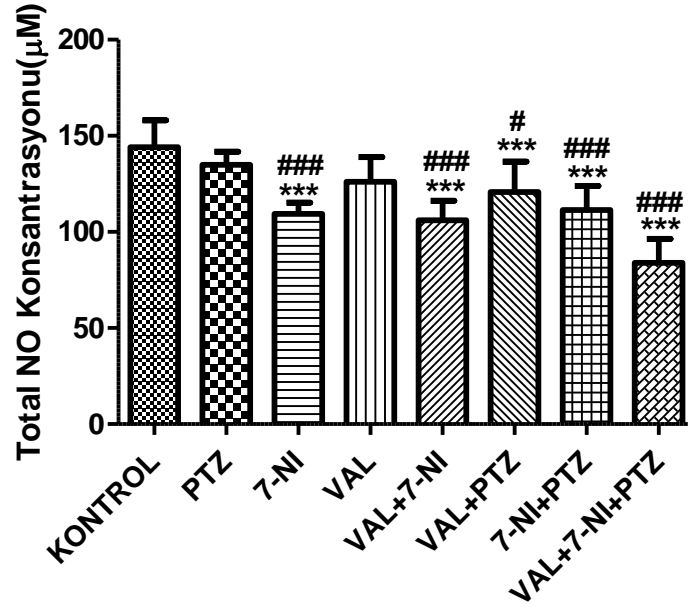


Şekil 4.3.1. 1: Plazma total NO konantrasyonları

(*), kontrol grubuna göre; (#), PTZ grubuna göre anlamlılık değerlerinin karşılaştırılmasıdır.
 (**) $p < 0.01$; (***) $p < 0.001$; (##) $p < 0.01$

Plazma total NO konantrasyonları kontrol grubunun düzeylerine göre karşılaştırıldığında 7-NI+PTZ ($p < 0.001$) ve VAL+7-NI+PTZ ($p < 0.01$) gruplarına ait düzeyler anlamlı olarak düşüktü. Total NO konantrasyonu düzeyinin PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında ise, sadece 7-NI+PTZ grubunda düşük olduğu ($p < 0.01$) saptandı.

4.3.1.2. Sitolik Total Nitrik Oksit Düzeyleri

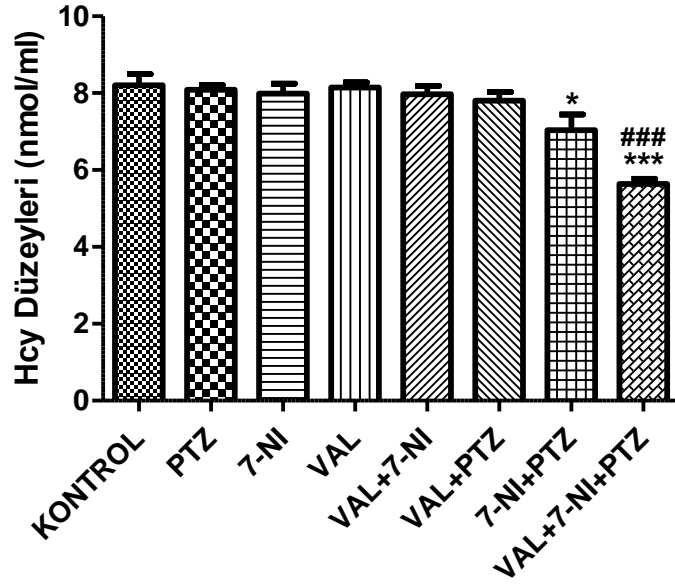


Şekil 4.3.1. 2: Sitolik total NO konsantrasyonları

(*), kontrol grubuna göre; (#), PTZ grubuna göre anlamlılık değerlerinin karşılaştırılması. (***) $p < 0.001$; (#) $p < 0.05$; (###) $p < 0.001$

Sitolik total NO konsantrasyonları kontrol grubu ile kıyaslandığında 7-NI, Val+7-NI, Val+PTZ, 7-NI+PTZ ve Val+7-NI+PTZ uyguladığımız gruplarda anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.001$). PTZ grubuna ait total NO düzeyleri ile karşılaştırıldığında 7-NI ($p < 0.001$) ve Val+PTZ ($p < 0.001$), Val+PTZ ($p < 0.05$), VAL+7-NI ($p < 0.001$) ve Val+7-NI+PTZ ($p < 0.001$) gruplarına ait değerlerin anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi.

4.3.2. Plazma Homosistein Düzeyleri

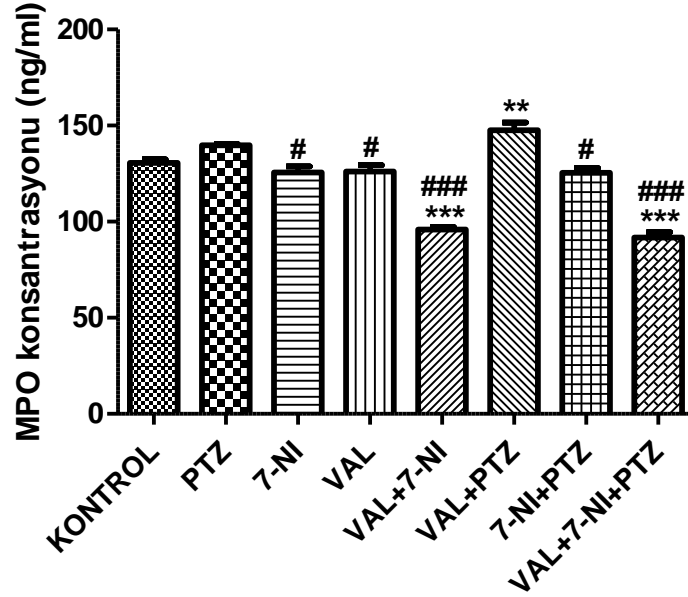


Şekil 4.3.2. 1: Plazma homosistein düzeyleri

(*), kontrol grubuna göre; (#), PTZ grubuna göre anlamlılık değerlerinin karşılaştırılması. (*) $p < 0.05$; (***) $p < 0.001$; (###) $p < 0.001$

Plazma Hcy düzeyleri, kontrol ve PTZ grupları ile karşılaştırıldığında; 7-NI+PTZ ($p < 0.05$) ve VAL+7-NI+PTZ ($p < 0.001$) uygulanan grupların kontrole göre anlamlı olarak düşük bulundu. Ayrıca, VAL+7-NI+PTZ grubunun Hcy düzeyleri PTZ grubuna kıyasla anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.001$).

4.3.3. Plazma Miyeloperoksidaz Düzeyleri

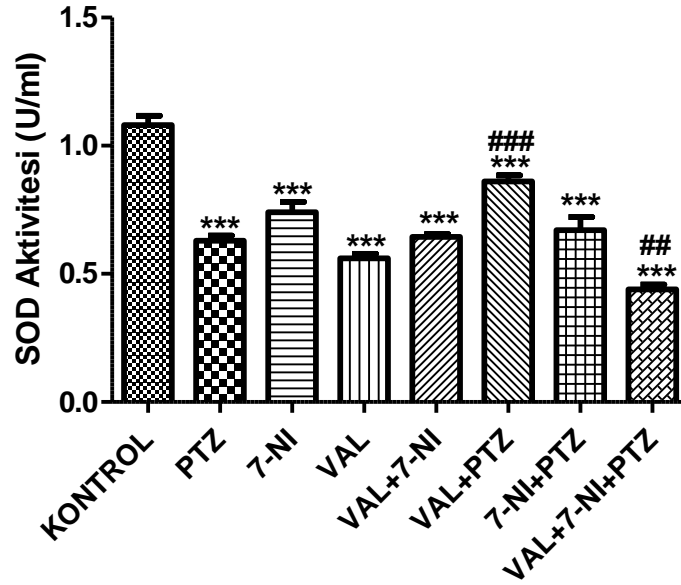


Şekil 4.3.3. 1: Plazma MPO düzeyleri

(*), kontrol grubuna göre; (#), PTZ grubuna göre anlamlılık değerlerinin karşılaştırılmasını ifade etmektedir. (*) $p < 0.05$; (**) $p < 0.01$; (***) $p < 0.001$; (#) $p < 0.05$; (###) $p < 0.001$.

Plazma MPO düzeyleri kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında VAL+7-NI ve VAL+7-NI+PTZ gruplarında anlamlı olarak düşük ($p < 0.001$), VAL+PTZ grubunda ise yüksek ($p < 0.01$) olduğu saptandı. MPO düzeyleri kindling epilepsi grubuna göre karşılaştırdığımızda ise 7-NI ($p < 0.05$), VAL ($p < 0.05$), VAL+7-NI ($p < 0.001$), 7-NI+PTZ ($p < 0.05$) ve VAL+7-NI+PTZ ($p < 0.001$) gruplarında anlamlı olarak düşük olduğu bulundu.

4.3.4. Plazma Süper Oksit Dismutaz Aktivite Düzeyleri



Şekil 4.3.4. 1: Plazma SOD düzeyleri

(*), kontrol grubuna göre; (#), PTZ grubuna göre anlamlılık değerlerinin karşılaştırılması. (***) $p < 0.001$; (##) $p < 0.01$; (###) $p < 0.001$

Plazma SOD aktivite düzeyleri kontrole göre karşılaştırıldığında tüm deney gruplarının SOD aktivite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu ($p < 0.001$) belirlendi. PTZ grubuna göre kıyaslandığında ise, Valerian ve PTZ uygulanan gruba ait SOD aktivite değerlerinin anlamlı olarak yüksek olduğu ($p < 0.001$), VAL+7-NI+PTZ ($p < 0.01$) grubunda ise PTZ grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu saptandı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi, beyindeki sinir hücrelerinin ani, artmış nöronal uyarılabilirliğine bağlı olarak meydana gelen ve kronik olarak ilerleyen bir hastalıktır. Epilepsi toplumun %0.5-10'da görülmektedir, hastaların pek çoğu antiepileptik ilaç kullanmasına rağmen epileptik nöbetler devam etmektedir. Kontrol edilemeyen bu nöbetler sonucu ölümler meydana gelebilmektedir. Epilepsili hastaların kullandıkları antiepileptik ilaçlar ile nöbetlerin engellenmesi veya sayılarının azaltılması amaçlanmaktadır. Bu yönde çalışmalar yapılarak epilepsi tipine uygun ve ekonomik olarak ulaşabilir ilaçların yapımına çalışılmaktadır.

Epileptogenez, ilk nöbet öncesinde oluşan ve epileptik beynin kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetlere eğilimli, nöbet yoğunluğunu arttıran ve epilepsiyi tedaviye dirençli hale getiren olayları içermektedir. Başlangıçta genetik malformasyon, kafa travması, inme veya enfeksiyon gibi bir hasar oluşmakta ve daha sonra epileptogenez oluşması için bir sessiz dönem geçtikten sonra, bunu kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler izlemektedir (Stula ve diğ., 2003). Oluşan elektriksel deşarjlara bağlı olarak gelişen bu nöbetler kontrol altına alınmadığı takdirde, hayat kalitesi düşmekte ve ilerleyen zamanlarda ölümle sonuçlanabilmektedir.

Epilepsi hastalarında nöbetler sırasında veya nöbetlerden bağımsız olarak meydana gelen beklenmedik ve ani ölümler, zamanla nöbetler sonucu vücutta meydana gelen fizyolojik düzensizliklere bağlı olarak da meydana gelebilir. Epileptik nöbetler otonom sinir sistemini etkilemektedir ve bu durumun devamında kalpte, miyokardiyal elektrofizyolojik dengesizlik ve ventriküler aritmiler sonucu ani ölümler meydana gelebilmektedir.

Çeşitli epileptik hayvan modelleri oluşturularak epilepsi ve nöbetlerin oluşum mekanizmasını anlamaya yönelik pek çok çalışma yapılmasına ve pek çok antiepileptik ilaç kullanılmasına karşın, epilepsinin hücreyel temeli tam olarak anlaşılammış ve tüm epilepsi tipleri için etkin bir antiepileptik ilaç bulunammıştır.

Epilepsi ile ilgili araştırmalar deneysel modeller üzerinde yapılmaktadır. Seçilen epilepsi modeli, çalışmanın araştırmayı amaçladığı hedefe göre değişmektedir. En sık kullanılan modeller; fokal penisilin modeli, kronik alüminyum hidroksit modeli, sistemik PTZ ile oluşturulan tonik klonik model, kompleks parsiyel ve ikincil jenarilize epilepsilerin tutuşma modeli, in vitro hipokampus dilimleri ve genetik modellerdir. Antiepileptik ilaç geliştirme çalışmalarında en kullanışlı olanlar maksimal elektroşok ve sistemik PTZ modelleridir (Marangoz, 1997). Biz de çalışmamızda epileptik nöbetlerin kalp üzerine olan etkisini araştıracağımız için sıçanlarda Cl⁻ kanallarını kullanarak nöbetler meydana getiren bir kimyasal olan PTZ ile kindling epilepsi modelini oluşturduk. Dört hafta boyunca gün aşırı, epileptik nöbet geçiren hayvanları otuz dakika boyunca izleyerek nöbet şiddetleri, frekansları ve latans süreleri bakımından gruplar birbiri ile karşılaştırıldı.

Çalışmamızda sadece PTZ uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında nöbet şiddeti ve frekanslarında artış, latans sürelerinde ise azalma olması, uygulanan kimyasala bağlı olarak literatürlerle uygunluk göstermektedir.

VAL+PTZ uygulanan grup, PTZ grubu ile karşılaştırıldığında nöbet şiddeti ve frekansı açısından daha düşük, latans süresi daha yüksek olmasına karşın anlamlı bulunmamıştır. Bu durum, Valerianın sedatif etkisine bağlı olabilir. Valerian kök ekstraktının yüzyıllardır anksiyete, epilepsi ve uyku bozukluklarında kullanıldığına dair kayıtlar olduğu belirtilmektedir (Spinella, 2001; Eadie, 2004; Malva ve diğ., 2004). Valerianın aktif biyolojik kısmı, GABA salınmasını ve GABA_A reseptörlerinin aktivasyonunu sağlayabilir. Bunun sonucunda da beyinde nöronal uyarılabilirlik, inhibe edici nörotransmitterlerin fonksiyonunun artması sonucunda nöronal koruma sağladığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Malva ve diğ., 2004; Spinella, 2001). Ancak, çalışmamızda PTZ'nin dört hafta boyunca uygulanması ile birlikte oluşan hasar kedi otu

ekstraktının tolere edebileceğinden çok daha fazla olmuş olabilir. Buna bağlı olarak da istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanamamış olabilir.

PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında nöbet şiddeti ve frekansları 7-NI+PTZ grubunda 3. günden ve VAL+7-NI+PTZ grubunun ise 5. günden sonra anlamlı olarak düşük olduğu saptandı. Latans değerleri ise uzamasına karşın anlamlı bulunmadı. Wojtal ve diğerleri tarafından 2003'de yapılan bir çalışmada da 7-NI'ün farelerde çeşitli uyaranlarla oluşturulan epilepsilerde konvulsiyonları azalttığı, genetik olarak epilepsili sıçanlarda ve hiperbarik oksijen ile oluşturulan nöbetlerde koruyucu etkisinden söz edilmektedir. Yine bir başka çalışmada da i.p olarak uygulanan 7-NI'nin, hiperbarik oksijen uygulanarak meydana getirilen epilepsi modelinde sıçanların latans sürelerinin uzadığı belirtilmektedir (Jellestad ve Gundersen, 2002). Han ve diğ. (2000) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise PTZ ile kindling epilepsi modeli oluşturulmuş grup ile PTZ'den 20 dakika önce 50 mg/kg 7-NI uygulanan grup karşılaştırılmış ve 7-NI uygulanan grupta nöbet şiddetlerinin 3. gün itibariyle anlamlı olarak azaldığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamız da sözü edilen literatürle paralel olarak 7-NI uygulanan gruplarda nöbet şiddet ve frekansları PTZ uygulanarak kindling epilepsi modeli oluşturulan gruba kıyasla anlamlı olarak düşük bulunmuştur. 4 hafta süreyle her gün 25 mg/kg 7-NI uygulanması bu durumda etkin olabilir.

Çalışmamızda VAL+PTZ grubu ile 7-NI+PTZ grubu karşılaştırıldığında, nöbet şiddeti ve frekansı bakımından 7-NI+PTZ grubundaki değerler daha düşüktür. Bu bulgu 7-NI'ün antikonvulsif etkisinin çok daha güçlü olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, üçlü kombinasyon grubunda genel etki 7-NI'ün gösterdiği etkilere benzer olarak sergilenmektedir. Bu da 7-NI'ün antikonvulsif etkisini destekler niteliktedir. Aynı grupların latansları karşılaştırıldığında ise, 7-NI+PTZ grubuna ait sürelerinde uzama görülmektedir. Latansın uzamasının tedavide olumlu bir parametre olarak kabul edilmesine bağlı olarak, 7-NI'ün nöbetlerin başlamasında etkili olan faktörleri baskılayarak etkili olduğu düşünülmektedir.

Epilepsi, otonomik sinir sistemi fonksiyonlarını etkileyen nörodejeneratif bir hastalıktır. Kalp vurumu, kardiyak ritim, kan basıncı, solunum hızı ve biçimi gibi pek çok

fizyolojik süreç zamanla dolaylı olarak etkilenmektedir. Bu sürecin devamında beklenmeyen ani ölümler meydana gelebilmektedir. Bu beklenmeyen ani ölümlerin mekanizmaları tam olarak bilinmemekle beraber, nöbetler sırasındaki ve/veya arasında görülen kardiyak aritmiler, elektrolit bozuklukları ve/veya otonom sinir sistemi ile epileptik aktivite sonucu oluşan elektriksel düzensizliklerin kalbe iletilmesi ve kardiyovasküler sistem-solunum sistemi arasındaki düzensizlikler olası nedenleri arasında gösterilmektedir (Kaya ve diğ.,2005; Arida ve Cavalheiro, 2007).

Kardiyovasküler sistem ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda hemodinamik parametreler incelenmektedir. Biz de çalışmamızda kan basıncı, kalp vurumu ve II. derivasyon olarak alınan elektrokardiyogram kayıtlarına dayalı olan kalp hızına göre düzeltilmiş QT (QTc) değerleri, ventriküllerin depolarizasyon süresini ifade eden QRS değerlerini ve ventriküllerin depolarizasyonu bitip repolarizasyon başlayıncaya kadar geçen aralığın (ST segmentinin) yüksekliğini inceledik.

Kan basıncı açısından karşılaştırıldığında Valerian ekstraktı tek başına ve PTZ'den sonra uygulandığında kan basıncını kontrole göre düşürücü özellik gösterirken; 7-NI ile kombinlenerek uygulanan gruplar olan VAL+7-NI (her üç aralıkda da anlamlı olmamakla birlikte) ile VAL+7-NI+PTZ (özellikle T0 ve T2 aralıklarında anlamlı olarak) gruplarında kan basıncını yükseltme eğilimindedir.

Valerian ekstraktının fare, tavşan ve kedilerde koroner damarları dilate edici ve antiaritmik etlilerinin olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. İçeriğinde bulunan valproatların akut koroner damar yetersizliğini engellediği, vazopressin kökenli aritmileri ortadan kaldırdığı, kısa süreli olarak koroner kan akışını artırdığı bildirilmektedir. Kedilere intravenöz olarak valerian ekstraktının uygulanmasının koroner kan akışında belirgin olarak artışa, kan basıncında geçici bir düşüşe ve kalp vurumunda azalmaya neden olduğu rapor edilmektedir (Kemper, 1999).

Valerianın hipertansiyon için iyi geldiği ve içeriğinde bulunan seskuiterpenlerden olan valerianik asitin GABA'nın yıkımını sağlayan enzimi inhibe ederek GABA seviyesinin yüksek kalmasını sağladığı bildirilmektedir (Rout ve diğ., 2010). GABA kan basıncının

kontrolünde de görevlidir, ayrıca valerianın sedatif etkisini de bu yolla meydana getirdiği ileri sürülmektedir (Rout ve diğ., 2010; Williams ve diğ., 2008).

Karimi ve diğ. (2003), *V. Officinalis* kök ve rizomlarının sulu alkolde hazırlanan ekstraktının antikonvulzan özelliklerini kapsayan bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada, PTZ uygulayarak nöbet geçirmesi sağlanan hayvanlara spesifik olmayan NOS inhibitörü olan L-NAME ve Valerian officinalis'in su-alkol karışımında hazırlanan ekstresi uygulanmış ve ekstraktın antikonvulzan etkisinin azaldığını belirtmişlerdir. *V. Officinalis*'in petit mal nöbetleri tedavi etmek için kullanılabileceğini ve etkisini de nitrik oksit aracılığı ile yaptığı ileri sürülmektedir.

Cropley ve diğ. (2002) tarafından insanlarda yapılan bir başka çalışmada kontrol, Kava ve Valerian bitkilerinin ekstraktları verilen üç grup oluşturulmuştur. Tüm bireylerin önce dinlenme periyodunda (T1) kalp vurumları ve kan basınçları ölçülerek kaydedilmiş, daha sonra laboratuvar ortamında renk ve sayılarla mental stres oluşturularak tekrar bu parametreler ölçülmüştür. Yapılan bu ölçümle birlikte stres eğrisi oluşturulmuştur. İlk ölçüm (T1) renk ve kelime işlemeye dayalı mental stres oluşturulmaksızın ve herhangi bir bitki ekstraktı verilmeksizin yapılmıştır. 18 bireyden oluşan gruplar Kava ve Valerian ekstraktlarını 7 gün süreyle alan ve hiçbir şey almayan kontrol grubu, tekrar mental stres koşullarından geçtikten sonra 5 dakika dinlendirilerek 2. kez (T2) fizyolojik ölçümler alınmış ve T1 aralığı ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda valerian uygulanan bireylerin kalp vurumları ve kan basınçlarının T1 aralığına göre daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Fields ve diğ. (2003) tarafından kedilerde Valerian kök ekstraktının pulmoner vasküler yataklardaki etkisi araştırılmıştır. Bir NOS inhibitörü olan L-NIO, GABA_A reseptörü blokeri olan bicucullin ve GABA_B reseptörü blokeri olan saklofen ayrı ayrı ve birlikte olmak kaydıyla, farklı dozlarda valerian uygulamalarıyla birlikte hayvanlara verilmiştir. L-NIO uygulamasıyla vasküler yataklardaki kan akımının değişmediği, valerianın vazodilatör etkisini nonspesifik olarak GABA mekanizmasını kullanarak meydana getirdiği ileri sürülmektedir.

Çalışmamızda kan basıncının VAL+7-NI grubunda daha yüksek olması, beyinde Valerianın GABA_A reseptörlerine zayıf olarak bağlandığı ve dolaylı olarak GABA'nın enzimatik yıkımını inhibe ettiği, bu nedenle GABA konsantrasyonunun yüksek düzeyde olduğu şeklinde açıklanabilir. Ayrıca, normal koşullarda NO, cGMP düzeyini artırır ve devamında da bir glutamat reseptörü olan NMDA aktive olur. PTZ, etkisini postsinaptik olan Cl⁻ iyonu kanalları ile bağlantılı GABA_A reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirir. GABA inhibisyonu ve glutamat reseptörleri aktivasyonu birlikte. Glutamat reseptörlerinden biri olan NMDA düzeyinin artmasına bağlı olarak epileptik nöbetler oluşur. Ayrıca, NMDA reseptörünün aktivasyonunun NO salınmasına yol açtığı belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda 7-NI'ün, farelerde NMDA düzeyini azalttığı belirtilmiştir (Wojtal ve diğ., 2003). 7-NI ve Valerian birlikte uygulandığında daha güçlü etki sergilemesi hem valerianın enzimatik olarak GABA yıkımını azaltmasına hem de, 7-NI'ün klonik nöbetlerin oluşması için gerekli olan NMDA aktivasyonunu baskılamasına bağlı olabilir.

Kontrol grubu ile deney gruplarındaki kalp vuruş sayıları karşılaştırıldığında VAL+7-NI+PTZ ve PTZ gruplarına ait değerler her üç örnekleme aralığında da anlamlı olarak yüksekti. PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında, VAL ve 7-NI gruplarına ait değerlerin T1 ve T2 aralıklarında, 7-NI+PTZ, VAL+PTZ ve VAL+7-NI gruplarında ise her üç örnekleme aralığında da kalp vuruş sayılarının anlamlı olarak düşük olduğu belirlendi. Tek başına 7-NI veya Valerian uygulanan gruplar ile ikili kombinasyon gruplarına ait değerlerin PTZ grubundan daha düşük ve kontrol grubuna ait değerlere daha yakın olması 7-NI ve Valerianın kalp vuruş sayıları üzerine olumlu etkileri olduğunu düşündürmektedir.

Nöbetler süresince RR aralığının azaldığı belirtilmiş ve bunun sonucu olarak uzun dönemde nöbetlerin neurokardiyak düzenleyici sistem üzerine de etkili olduğu rapor edilmiştir (Naritoku ve diğ., 2003). Bir başka çalışmada (Scorza ve Arida, 2009), dinlenme halindeki epilepsi hastası 75 kişi ile normal sağlıklı bireyleri yaş olarak da eşleştirilerek ventriküler hız, atriumların kasılma başlangıcından ventriküllerin kasılmasına kadar geçen süre (PR aralığı), ventriküllerin depolarizasyonu (QRS) süresi ve kalp vuruşuna göre düzeltilmiş olan QTc süresi karşılaştırılmıştır. Kalp vuruş

sayısı ve QT süresi kontrollere göre yüksek bulunmuş ancak bu değerlerin normal kabul edilen sınırlar içinde olduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada, ventriküllerde depolarizasyonun bitip repolarizasyon başlayıncaya kadar geçen sürenin (ST segmentinin) hastaların %40' ında baskılandığı rapor edilmiştir (Scorza ve diğ., 2008 a-b; Schuele ve diğ., 2007). Bu durumla birlikte nöbetler sırasında yüksek kalp vuru hızına bağlı olarak nöbetler sırasında kardiyak iskemi oluşabileceğini bildirmektedirler (Scorza ve diğ., 2008 a-b; Scorza ve Arida, 2009). Bu çalışmanın aksine, bizim çalışmamızda kontrol ve epileptik gruba ait hayvanlardan alınan fizyolojik kayıtlarda incelediğimiz parametrelerden biri olan ST segmentinin yüksekliklerinin gruplar arasında anlamlı bir farklılığa sahip olmadığını saptadık. Ayrıca diğer gruplara ait hayvanların ST segmentleri yüksekliklerinde de bir değişiklik gözlenmemiştir.

Çalışmamızda kalp hızına göre düzeltilmiş olan QT (QTc) değerleri, kontrole göre kıyaslandığında PTZ, VAL, VAL+PTZ ve VAL+7-NI+PTZ gruplarına ait değerlerin yüksek olduğunu gözlemlendi. PTZ ile oluşturulan oluşan epilepsiye bağlı olarak sinir sistemi fonksiyonları da etkilenmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da QT süreleri yüksek bulunmuştur. Bizim de çalışmamızda düzeltilmiş QT değerleri yüksek olması literatürlerle uyumludur.

Valerian ekstresinin tavşanlarda, farelerde ve kedilerde koroner dilatasyon ve antiaritmik etkileri vardır (Kemper, 1999), içeriğindeki bileşiklerin akut koroner yetersizliği, vazopressin kökenli aritmiyi önleyerek kısa süreli kan akımında artışa neden olduğu bildirilmektedir. Ayrıca klinikte QTc'yi uzatan ve RR aralığını etkileyen nedenler arasında hipokalsemi, miyokardit, kardiyomiyopatiler, kafa travması, antiaritmik ilaçlar, antidepresanlar gösterilmektedir (Çağlar, M., 2011). Valerian uygulanan gruplarda görülen bu düzensizlikler onun antiaritmik etkilerine ve uygulama süresine bağlı olarak gerçekleşmiş olabilir.

VAL+7-NI+PTZ grubunda QTc değerinin ve kalp vuru hızının kontrole göre yüksek olması, valerianın antiaritmik etkilerine ve PTZ uygulamasıyla oluşturulan kindling epilepsiye bağlı olarak gelişen durum olarak değerlendirilebilir. PTZ'ye göre karşılaştırıldığında ise 7-NI ve 7-NI+PTZ gruplarının QTc sürelerinin anlamlı olarak

daha düşük ve kontrol değerlere daha yakın olduğu gözlenmiştir. Bu durum, 7-NI'ün hipertansif etkisinin olmamasına bağlı olabilir.

QTc değerleri, kontrole göre kıyaslandığında PTZ, VAL, VAL+PTZ (yalnızca T1 ve T2 aralıklarında), VAL+7-NI+PTZ gruplarına ait değerlerin anlamlı olarak yüksek olduğunu görmekteyiz. 7-NI ve 7-NI+PTZ gruplarına ait değerler kontrole yakın olmakla birlikte, kontrole göre anlamlı farklılık sergilememektedir. PTZ grubuna göre kıyaslama yaptığımızda ise, 7-NI ve 7-NI+PTZ gruplarına ait değerlerin her üç aralıkta da, VAL+ 7-NI grubuna ait değerler ise sadece T2 aralığında anlamlı olarak düşüktür. Bununla birlikte VAL, VAL+PTZ, VAL+7-NI ve VAL+7-NI+PTZ gruplarına ait değerlerin PTZ grubuna ait değerlere daha yakın olduğunu söyleyebiliriz. Burada Valerian uygulanan tüm gruplarda QTc'nin kontrole göre artış eğilimi, valerianın antiaritmik etkilerine ve deney süresince her gün uygulanmasına bağlı olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, 7-NI ve 7-NI+PTZ uygulanan gruplarda QTc değerlerinin kontrole yakın olması, önemli bir bulgu olarak öne çıkmaktadır. 7-NI, öncelikle nNOS için seçicidir ve etkisini genel olarak bu yolla meydana getirir. QTc değerlerinin 7-NI+PTZ grubunda da kontrole yakın olması, 7-NI'ün epilepsiyi baskılayıcı özelliğine bağlı olduğunu ve bu şekilde kardiyovasküler sistemi de dolaylı olarak koruyabileceğini düşündürmektedir. VAL+7-NI+PTZ grubunda bu etkinin görülmemesi, deney süresince uygulanan valerianın antiaritmik etkilerine bağlı olabilir.

Epilepsi olan ve olmayan insanlarda yapılan çalışmalarda ventriküllerin depolarizasyon süresini ifade eden QRS sürelerinde değişiklikten bahsedilmemiştir (Scorza ve diğ., 2008 a-b; Schuele ve diğ., 2007). Bizim de çalışmamızda kontrol ve epilepsi grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. QRS süresi, 7-NI+PTZ grubundan T0 anında alınan örneklerde hem kontrol grubuna göre hem de PTZ grubuna göre ve VAL+PTZ grubunda da sadece T0 aralığında kontrole göre anlamlı olarak yüksekti. Diğer aralıklarda ve diğer gruplarda yapılan karşılaştırmalar anlamlı değildi. Genel olarak değerlendirecek olursak QRS sürelerinde gruplar arasında dikkat çekecek bir farklılık yoktu.

PTZ uygulaması sonucunda oluşan epileptik aktiviteler zamanla sinir sisteminde düzensizlikler meydana getirmektedir. Zamanla oluşan bu düzensizlikler, kardiyovasküler sisteme de iletilmektedir. Bu sürenin kısalması sonucu kalp normal eşik

değerine ulaşmadan kalp yeniden kasılacağı için, zaman içinde kalpte hasar meydana gelebilir ve farklı uyarı odakları oluşabilir. Aynı şekilde bu sürenin uzaması da yine vücudun ihtiyacı olan kanın pompalanmasında sorun yaratabilir. Bu gibi sorunlar beklenmeyen ani ölümlerde etken olabilir. Bu konuyla ilgili olarak uzun süreli araştırmalar yeterli olmamakla birlikte, ne tür hasar olduğu da tam olarak araştırılmamıştır.

Plazma total NO konsantrasyonları, 7-NI+PTZ grubunda hem kontrol grubuna hem de PTZ grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktür. Yapılan bir çalışmada, NO'nun sinaptik GABA salınımını artırarak, presinaptik glutamat salınmasını da GABA_B aktivasyonu ile yaptığı ileri sürülmektedir (Xing e diğ., 2008). Beyinde normal koşullarda NO düzeyinin artması, cGMP düzeyini artırır ve devamında da tonik klonik nöbetler süresince NMDA seviyesi artar. 7-NI ile glutamat reseptörü olan NMDA arasında ters yönde bir bağıntı vardır ve 7-NI, NMDA reseptörlerinin antagonisti gibi davranmaktadır. Ayrıca, daha önce belirttiğimiz gibi 7-NI öncelikli olarak nNOS inhibitörü olarak davranır ancak, daha düşük hassasiyette eNOS ve iNOS'u da inhibe edebilir. Bunun sonucu olarak beyinde ve periferel dokularda iş gören eNO ve belki iNO da inhibe edilmiş olabilir. Ek olarak, bu koşulların oluşmasında öncelikli olarak nNOS inhibitörü olan 7-NI'ün dört hafta boyunca uygulanması da etkin olmuş olabilir. Hem 7-NI ile NMDA reseptörleri ile ilişkisi, hem de az da olsa nNOS dışındaki NOS tiplerini inhibe etmesi sonucunda 7-NI+PTZ grubunda plazma nitrik oksit düzeyinin daha düşük olduğu kanaatindeyiz.

Çalışmamızda, VAL+7-NI+PTZ grubunun plazma total NO düzeyi sadece kontrol grubuna ait değerlerden anlamlı olarak düşüktü. Farklı çalışmalarda Valerianın bazı etkilerini nitrik oksit salınmasını artırarak yaptığı ileri sürülmüştür. Gavaj yoluyla uygulanan valerian ekstraktının etkileri arasında vazodilatör etkileri de etkin rol oynamış olabilir. Bu etkilerini NO aracılığıyla gerçekleştirebileceği de bazı çalışmalarda belirtilmiştir (Karimi, 2003). Burada plazmada saptanan düşük total NO miktarı, 7-NI'ün sadece nNOS üzerine değil aynı zamanda eNOS ve iNOS üzerine de inhibitör etki göstermesine bağlı olabilir. VAL+7-NI+PTZ uygulanan grupta, 7-NI+PTZ grubuna göre plazma total NO düzeyi daha yüksek olarak saptanmıştır. 7-NI+PTZ grubuna göre

de anlamlı olmamasına karşın, grafikte bu şekilde bir farklılık görmemiz, valerianın etkilerine bağlı olabilir.

Kalp homojenatından elde edilen sitozolik fraksiyonda total NO düzeyleri, tüm 7-NI uygulanan gruplar ile VAL+PTZ grubu, kontrol ve PTZ gruplarına nazaran anlamlı olarak düşüktü. Plazmadan farklı olarak total NO düzeyleri tüm 7-NI uygulanan gruplarda etkilenmiştir. 7-NI, öncelikli olarak nNOS için seçicidir. Ancak, uzun süreli uygulanması sonucu diğer NOS tipleri üzerinde de etkili olabilir. Burada plazmadan farklı olarak gözönünde bulundurmanız gereken diğer bir unsur da, kalp homojenatından elde edilen sitozolik fraksiyonun kalpteki tüm hücrelerin içeriği olacağı için, plazmaya göre saptanan NO konsantrasyonları daha fazla bulunmaktadır.

Yüksek Hcy seviyelerinin vasküler fonksiyonlar üzerine etkili olduğu ve kardiyovasküler hastalıklar için risk oluşturduğu bildirilmektedir. Hcy'in yüksek olması sonucunda disülfid, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonlarının oluşmasıyla NO'in oksidatif parçalanmasında artış olduğu bildirilmektedir (Stühlinger ve diğ., 2001). Yüksek Hcy düzeylerinin NO salınmasını azalttığı ve bu etkinin dolaylı olarak eNOS aracılığıyla olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Zhang ve diğ., 2000; Bonoventura ve diğ., 2009). Hcy direkt olarak eNOS'un NO üretim yeteneğini etkilemiyor fakat eNOS'un yapısındaki sülfidril gruplarının oksidasyonu ile NO üretme aktivitesini azaltıyor (Zhang ve diğ., 2000). Ayrıca, Hcy'in aşırı miktarda hayvanlara uygulanması sonucu hayvanların nöbet geçirdiği bildirilmektedir (Schwaninger ve diğ., 1999; Diaz, 2000). Hcy ve onun oksidatif formu olan homosisteik asit, NMDA tip glutamat reseptörü agonisti gibi davranmaktadır ve bu durumda epileptogenezle yakın bağlantılıdır (Schwaninger ve diğ., 1999). Çalışmamızda 7-NI ve PTZ'nin birlikte uygulandığı gruplarda Hcy düzeyinin kontrole göre düşük olması, 7-NI'ün PTZ'nin etkilerini minimize etmesine ve aynı zamanda Hcy seviyesini de düşürmesine bağlı olabilir.

Uygulanan PTZ sonucunda nöbetlerin oluşması için beyinde çeşitli moleküler seviyede değişiklikler gerçekleşmektedir. Bu moleküller arasında NO, GABA, glutamat reseptörleri (NMDA, AMPA) gibi moleküller ve proteinler yer almaktadır. Tonik

klonik nöbetlerin meydana gelmesi için çeşitli değişiklikler meydana gelmektedir, bu nöbetlerin oluşması için NMDA seviyesi artmaktadır. Uygulanan 7-NI, ile NMDA arasında dolaylı bir ilişki bulunmaktadır. Normal koşullarda NO ile Hcy düzeyleri arasında ters bir korelasyon olmasına bağlı olarak; 7-NI uygulanması, NMDA düzeyini baskılayıcı yönde etki yapar. Bu da homosistein düzeyinin, 7-NI+PTZ grubunda kontrole göre anlamlı şekilde düşük çıkmasını açıklar niteliktedir.

Homosistein miktarının VAL+7-NI+PTZ grubunda kontrole göre daha da düşük olması ve PTZ grubuna göre de bu azalışın anlamlı olması uygulanan valerian ekstraktının tüm vücutta meydana getirdiği vazodilatör etkisi sonucu artan NO düzeyine bağlı olabilir. Bu etkilerin görülmesinde hem 7-NI hem de valerian ekstraktının dört hafta boyunca uygulanmasının etkisi de olabilir.

Kalp ve beyin gibi yaşamsal organları besleyen damarların tıkanması ile gelişen kardiyovasküler hastalıklar gelişmiş ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de yaygın olarak görülen ölüm sebepleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Hastalığın oluşumundaki risk faktörlerinin tanımlanması, erken evrede hastalığın teşhisi için önemlidir. Bu belirteçlerden biri de MPO'dur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ateroskleroz patogenezinde oksidasyonun ve oksidasyon sürecinde MPO'nun rol oynadığı gösterilmiştir. Aterosklerozda koruyucu bir molekül olduğu bilinen yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL, high density lipoprotein)'in en önemli bileşeni olan APO-A1'in MPO tarafından nitratlanması sonucu HDL proaterosklerozda rol oynamaktadır (Düzgünçınar, 2007).

PTZ grubu MPO seviyesinin, kontrole göre yükselme eğiliminde olmasına karşın anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. VAL+7-NI ve VAL+7-NI+PTZ gruplarında düşük olması 7-NI'ün etkisine bağlı olabilir. VAL+PTZ grubunda ise, kontrole göre artmış MPO düzeyi PTZ'nin etkisine bağlı olarak meydana gelen metabolik değişiklikler sonucunda artan oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir. MPO düzeyleri, PTZ grubuna göre karşılaştırdığında ise 7-NI uygulanan tüm gruplarda ve sadece Valerian uygulanan grupta düşüş göstermektedir.

Zhang ve diğ. (2011) tarafından yapılan çalışmada epileptik olmayan ve sodyum valporat ile tedavi edilmeye başlanan idiyopatik epilepsili çocuklarda nötrofil göçü, MPO aktivite düzeyleri incelenmiştir. Hem nötrofil göçünün hem de MPO aktivite düzeylerinin VPA uygulanan epileptik bireylerde, kontrole göre yüksek olduğu bildirilmiştir. Bizim de çalışmamızda PTZ, PTZ+VAL uygulanan gruplarda artmış olması bu çalışmayla açıklanabilir.

Daha önce yapılan bir çalışmada (Qu ve diğ., 2001), normal ve NF- κ B inhibitörü uygulanan sıçanların bağırsak dokusu incelenmiş ve 7-NI uygulanan grupta nötrofil ayrılmasını erteleterek MPO seviyesinin artışı da dolaylı olarak engellediği gösterilmiştir.. Bunu da iNOS ve NF- κ B aracılığı ile yaptığını ileri sürmüşlerdir (Qu ve diğ., 2001). Bizim de çalışmamızda tüm 7-NI uygulanan gruplarda plazma MPO seviyesinin düşük olması buna bağlı olabilir.

Antioksidan savunma mekanizmasındaki ve LPO'daki değişiklikler epilepsi patogenezinde de görülmektedir. Epileptik olmayan kontrol gruplar ve yeni epilepsi teşhisi konularak ilaç uygulamasına başlanmış olan (yaş dağılımları 6 ay-20 yaş) kişilerden alınan örneklerde SOD aktivitesinin, epileptik olanlarda kontrole göre düşük olduğu belirlenmiştir (Solowej ve Sobaicec, 2003). Çalışmamızın bir diğer biyokimyasal parametresi olan plazma SOD aktivitesi tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. PTZ grubuna göre kıyaslandığında ise, Valerian ve PTZ gruplarında SOD aktivite değerleri anlamlı olarak yüksekti, VAL+7-NI+PTZ grubunda ise anlamlı olarak düşüktü. Süperoksit radikallerini daha az reaktif olan hidrojen peroksit'e çeviren SOD aktivitesinin kontrole göre tüm gruplarda az olması, kronik olarak uygulanan maddelerin yoğunluğuna bağlı olabilir. Ayrıca, PTZ grubunda SOD aktivitesinin düşük olması, epilepside arttığı bilinen süperoksit radikalleri ile savaşan SOD'ın azalmasını gerektirir ve bu beklenen bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır.

PTZ grubuna göre karşılaştırıldığında ise VAL+PTZ grubunun SOD aktivite düzeyinin daha yüksek olması, uygulanan valerian ekstraktının antioksidan etkisine bağlı olabilir. Çünkü SOD, NO tarafından uyarılan mitokondriyal bozuklukları engeller ve hücreleri NO kökenli nörotoksisiteden $O_2^-/ONOO^-$ radikallerini uzaklaştırarak veya onun

ürünlerini yıkarak etkisini gerçekleştirir (Olmos ve diğ., 2007). SOD, NO aracılı radikal oluşumunu engelliyor ve valerianın antioksidan etkisine bağlı olarak SOD'ı yükseltiyor. VAL+7-NI+PTZ grubunda SOD düzeyinin daha düşük olması kombin olarak uygulamalar tek başına yapılan uygulamalara nazaran çoğunlukla epilepside daha başarısız sonuçlar vermektedir. Bu duruma bağlı olarak oluşan stres de daha etkin olmuş olabilir.

Epilepsi ve nöbetlerin patogenezi anlamaya yönelik pek çok çalışma yapılmasına ve bu konuda ilerlemeler olmasına rağmen, epilepsinin hücresel temeli hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Çalışmamızda uyguladığımız 7-NI ve Valerian ekstraktının, epilepsi üzerine farklı etkiler sergilediğini görmekteyiz. Ayrıca antiepileptik ilaçlarla yapılan çalışmalarda tek, iki ya da daha fazla ilacın bir arada alınması ile ilgili çalışmalara da yer verilmektedir. Biz de çalışmamızda epilepsili sıçanlara hem valerian ekstraktı hem 7-NI uygulamak yerine sadece 7-NI uygulamanın çok daha etkin olduğunu söyleyebiliriz. Valerian ekstraktı ise etkilerini daha hafif olarak sergilemektedir. Kedi otu ekstresi, nöbet latansını düşürme eğiliminde olmasına karşın, frekans ve şiddet üzerinde belirgin etkilere sahip değildir. Vazodilatör etkileriyle kan basıncını düşürme eğilimindedir. Bu nedenle uzun süreli kullanımında kalp üzerine olan antiaritmik etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Kedi otu ekstresi, epilepsi üzerine hafif derecede etkilidir denilebilir.

7-Nitroindazolün nöbet şiddeti ve frekansını belirgin olarak düşürme eğiliminde olması, kan basıncına, kalp vuruş sayısına, QTc, QRS süreleri ve ST segmenti yüksekliğine bakıldığında 7-NI+PTZ grubuna ait değerleri kontrole yakın olarak tutması, 7-NI'ün epilepsiyi tedavi edici bir kimyasal olabileceği düşüncesini öne çıkarmaktadır. Gelecekte 7-NI uygulanması sonucunda vücutta genel bir mesajcı molekül olan NO'nun ne kadar etkilendiği ve vücutta ne tür fizyolojik etkilere yol açtığına saptanmasını amaçlayan çalışmalar yapılabilir ve bu çalışmalar sonucunda 7-NI'ün antiepileptik ilaçların içeriğinde kullanılabilir.

KAYNAKLAR

AIKEN, S.P. and BROWN, W. M., 2000, Treatment of epilepsy: Existing Therapies and Future Developments, *Frontiers in Bioscience*, 5: 124-152.

AKER, R.G. and ONAT, F.Y., 2002, "Cardiovascular Regulation through Hypothalamic GABA_A Receptors in a Genetic Absence Epilepsy Model in Rat" *Epilepsia*, 43 (2):107-114.

ARIDA, R. and CAVALHEIRO, E., 2007, Sudden unexpected death in epilepsy: sudden death risk decreased by physical activity, *Einstein*, 5(3):281-286.

BEIG, M.I., BHAGAT, N., and et all., 2007, Simultaneous recording of electroencephalogram and blood pressure in conscious telemetered rats during ictal state, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 56: 51-57.

BONAVENTURA, D., TIRAPELLI, C.R. and OLIVEIRA A.M., 2009, Chronic methionine load-induced hyperhomocysteinemia impairs the relaxation induced by bradykinin in the isolated rat carotid, *Amino Acids*, 37:617-627.

BORA, İ. ve TAŞKAPIOĞLU, Ö., 2003, Epilepsy Tedavisinde Yeni Yönelimler, *Epilepsi*, 9(2):91-102.

BUSH, M.A. and POLLACK, G.M., 2001, Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of 7-Nitroindazole, a Selective Nitric Oxide Synthase Inhibitor, in the Rat Hippocampus, *Pharmaceutical Research*, 18(11):1607-1612.

CIRCOSTA, C., PASQUALE, R.D. and et all., 2007, Biological and analytical characterization of two extracts from *Valeriana officinalis*, *Journal of Ethnopharmacology*, 112:361-367.

CROPLEY, M, CAVE, Z. and et all., 2002, Effect of Kava and Valerian on Human Physiological and Psychological Responses to Mental stress Assessed under Laboratory Conditions, *Phytotherapy Research*, 16:23-27.

ÇAĞLAR, K.M., 2011, Elektrokardiyografi, www.ahmetnayir.net/documents/ELEKTROKARDIYOGRAFI.ppt, [Ziyaret Tarihi: 01.10.2011].

DECKERS CL, GENTON P, SILLS GJ and SCHMIDT D., 2003, Current limitations of antiepileptic drug therapy :a conference review, *Epilepsy Res*; 53:1-17.

DIAZ-ARRASTIA, R., 2000, Homocysteine and Neurologic Disease, *Arch Neurol*, 57: 1422-1427.

DÜZGÜNÇINAR, Ö., 2007, *Plazma myeloperoksidaz düzeylerinin koroner arter hastalığı yaygınlığı ile ilişkisinin incelenmesi*, Tıpta uzmanlık, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı.

EADIE, M.J., 2004, Could Valerian have Been the First anticonvulsant?, *Epilepsia*, 45(11): 1338-1343.

ELLIOTT, J.O., JACOBSON, M. and HANEEF, Z., 2007, Homocysteine and bone loss in epilepsy, *Seizure*, 16:22-34.

ENGEL, J., 2006, ILAE classification of epilepsy syndromes, *Epilepsy Research*, S5-S10.

FEDELE, E., VARNIER, G. and RAITERI, M., 1997, In vivo Microdialysis Study of GABAA and GABAB Receptors Modulating the Glutamate Receptor/NO/ Cyclic GMP Pathway in the Rat Hippocampus, *Neuropharmacology*, 36(10):1405-1415.

FERRARO, G., MONTALBANO, M.E. and La GRUTTA, V., 1999, Nitric oxide and glutamate interaction in the control of cortical and hippocampal excitability, *Epilepsia*, 40(7): 830-6.

FIELDS, A.M., RICHARDS, T.A., and et all, 2003, Analyses of Responses to Valerian Root Extract in the Feline Pulmonary Vascular Bed, *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9(6): 909-918.

GUYTON, A. and HALL, J., 2007, *Tıbbi Fizyoloji*, Nobel Tıp, 11. Basım, ISBN: 978-975-420-558-9

HAN, D., YAMADA, K. and et all., 2000, Involvement of Nitric Oxide in Pentylentetrazole-Induced Kindling in Rats, *Journal of Neurochemistry*, 74: 792-798.

HOVINGA, C.A., 2002 , Novel anticonvulsant medications in development, *Expert Opinion Investig. Drugs*, 11(10): 1387-1406.

JEHI, L. and NAJM, I.M., 2008, Sudden unexpected death in epilepsy: Impact, mechanisms, and prevention, Volume 75, Supplement 2, 66-70.

JELLESTAD F.K. and GUNDERSEN, H., 2002, Behavioral effects of 7-nitroindazole on hyperbaric oxygen toxicity, *Physiology and Behavior*, 76: 611-616.

KARIMI, G.H., HOSSEINZADEH, H. and BAKHTIYARI, H., 2003, Study of Anticonvulsant Activity of Valeriana Officialis Roots and Rhizomes Hydroalcoholic Extract in Mice and Relation to Nitric Oxide, *Journal of Medicinal Plants*, 2(7):43-48.

KAYA, Ç.A., ÖZKAYNAKÇI, A.E., ve diğ., 2005, Changes in Baroreflex Responses of Kindled Rats, *Epilepsia*, 46(3):367-371.

KEMPER, K., 1999, Valerian (*Valeriana officinalis*), *Longwood Herbal Task*.

KENNEDY, D.O., LITTLE, W. and et all., 2006, Anxiolytic Effects of a Combination of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis* during Laboratory induced Stress, *Phytotherapy Research*, 20:96-102.

MALVA, J.O., SANTOS, S. and et all., 2004, Neuroprotective properties of *Valeriana officinalis* Extracts, *Neurotoxicity Research*, 6(2):131-140.

MARANGOZ. C., 1997, Deneysel Epilepsi Modelleri, *Ondokuz Mayıs Tıp Dergisi*, 14(3):147-186.

MARANGOZ, C, 1996, Nitrik oksit ve deneysel epilepsy, *O. M. Ü. Tıp Dergisi*, 13: 165-183

MCNAMARA, J.O., 1999, Emerging insights into genesis of epilepsy, *Nature*, 399(6738 Suppl):A15-22.

NARITOKU, D.N., CASEBEER, D.J. and DARBIN, O., 2003, Effects of Seizure Repetition on Postictal and Interictal Neurocardiac Regulation in the Rat, *Epilepsia*, 44(7):912-916.

NILSSON, L., BERGMAN, U. and et all., 2001, Antiepileptic drug therapy and its management in sudden unexpected death in epilepsy: A case-control study, *Epilepsia*, 42(5):667-673.

OLMOS, A., GINER, R.M. and MANEZ, S., 2007, Drugs Modulating the Biological Effects of Peroxynitrite and Related Nitrogen Species, *Medicinal Research Reviews*, 27(1), 1-64.

ÖGE, A.E., 2004, *İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler ders kitapları, Nöroloji*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul

QU, X.W., WANG, H. and et all, 2001, Neuronal nitric oxide synthase (NOS) regulates the expression of inducible NOS in rat small intestine via modulation of nuclear factor kappa B, *The FASEB Journal*, 15:439-446.

RACINE, R.J., 1972, Modification of seizure activity by electrical stimulation: II. Motor seizure, *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32 (3), 281-294.

RAJASEKARAN, K., 2005, Seizure-induced oxidative stress in rat brain regions: blockade by nNOS inhibition, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 80:263-272.

- ROUT, S.K., DUTTA, S. and et all., 2010, Antihypertensive Therapy: The Concepts of Mangement with herbal and Synthetic Agents for Pulmonary Hypertension, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(2):72-79.
- SAHIN, D, ILBAY, G and et all., 2009, Vagus Nerve Stimulation Supress Generalized Seizure Activity and Seizure-Triggered Postictal Cardiac Rhythm Changes in Rats, *Physiological Research*,58: 345-350.
- SCHUELE, S., WIDDESS-WALSH, P., and et all., 2007, Sudden enexplained death in epilepsy: The role of heart, *Cleve Clin J Med.*, 74(1): 121-7.
- SCHWANINGER, M., RINGLEB, P. and et all, 1999, Elevated Plasma Concentrations of Homocysteine in Antiepileptic Drug Treatment, *Epilepsia*, 40(3): 345-350.
- SCORZA, F. and ARIDA, R., 2009, The brain-heart connection: implications for understanding sudden unexpected death in epilepsy, *Cardiology Journal*, 16(5) 394-399.
- SCORZA, F., COLUGNATI, D. and et all., 2008a, Preventing tomorrow's sudden cardiac death in epilepsy today: what should physicians know about this?, *Clinics*, 63: 389-94.
- SCORZA, F., CYSNEIROS, R. ve diğ., 2008b, Adult hippocampal neurogenesis and sudden unexpected death in epilepsy: reality or just an attractive history?, *Medical Hypotheses*, 71, 914-922.
- SHI, B. and HEAVNER, JE, 2000, NitricOxide Modulation Affects the Tissue Distribution and Toxicity of Bupivacaine, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66(3): 623-629.
- SMITH, S.E., MAN, C.M. and et all., 1996, Anticonvulsant effects of 7-nitroindazole in rodents with reflex epilepsy may result from L-arginine accumulation or a reduction in nitric oxide or L-citrulline formation, *British Journal of Pharmacology*, 119: 165-173.
- SOLOWEJ , E. and SOBONIEC, W., 2003, The effect of antiepileptic drug therapy on antioxidant enzyme activity and serum lipid peroxidation in young patients with epilepsy, *Neurol Neurochir POL.*, 37(5): 991-1003.
- SPINELLA,M., 2001, Herbal medicines and Epilepsy: The Potential for Benefit and Adverse Effects, *Epilepsy & Behavior*, 2:524-532.
- STÜHLINGER, M.C., TSAO, P.S., and et all, 2001, Homocysteine Impairs the Nitric Oxide Synthase Pathway: Role of Asymmetric Dimethylarginine, *Circulation*, 104: 2569-2575.
- STULA, T.P., HAGEN J.,and PITKANEN, A., 2003, Do epileptic seizures damage the brain?, *Curr Opin Neurol.*, 16:189-195.

SURGES R., THIJS, R.D., and et all., 2009, sudden unexpected death in epilepsy: risk factors and potential pathomechanisms, *Nat. Rev. Neurol*, 5: 492-504.

TIMMINGS, P.L., 1998, Sudden unexpected death in epilepsy: is carbamazepine implicated?, *Seizure*, 7:289-291.

TOTH, V., HEJJEL,L. and et all., 2008, Effect of epileptic seizures on the heart rate, *Ideggyogy Sz.*, 61(5-6): 155-61.

ÜZÜM, G., AKGÜN-DAR, K., and et all., 2005, Nitric Oxide Involvement in Seizures Elicited by Pentylentetrazol and Sex Dependence, *Intern. J. Neuroscience*, 115: 1502-1514.

VLOOSWIJKA, M.C.G., MAJOIEB, H.J.M. and et all., 2007, SUDEP in the Netherlands: A retrospective study in a tertiary referral center, *Seizure*, 16(2), 153-159

WILLIAMS C.A. and LAMPRECHT, E.D., 2008, Some commonly fed herbs and other functional foods in equine nutrition: A review, *The Veterinary Journal*, 178:21-31.

WOJTAL, K., GNIATKOWSKA-NOWAKOWSKA, A., and CZUCZWAR, S.J., 2003, Is Nitric Oxide Involved in the Anticonvulsant action of antiepileptic Drugs?, *Polish Journal of Pharmacology*, 55:535-542.

XING, J., LI, P. and LI, J., 2008, Role of GABA receptors in nitric oxide inhibition of dorsolateral periaqueductal gray neurons, *Neuropharmacology*, 54, 734-744.

YILDIRIM, M., *Deneyisel epilepside nitrerjik ve purinerjik sistemlerin etkileşimi*, Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji ABD.

YUEN, A., and SANDER, J., 2004, Is omega-3 fatty acid deficiency a factor contributing to refractory seizures and SUDEP, *Seizure*, 13: 104-107.

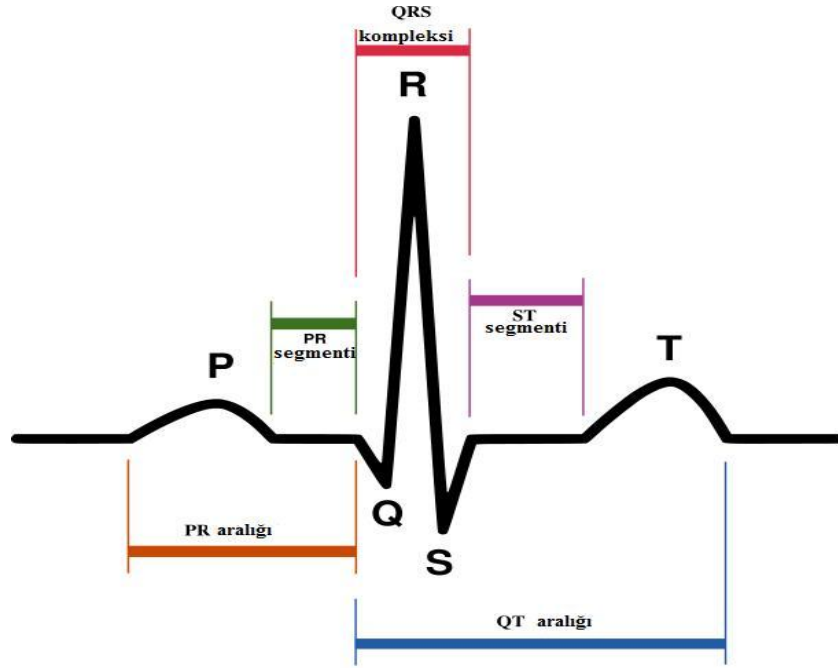
ZHANG, X., LI, H., and et all., 2000, Effects of homocysteine on endothelial nitric oxide production, *Am J. Physiol Renal Physiol*, 279: F671-F678.

ZHANG, Y.J., ZHANG, M., and et all, 2011, Effects of sodium valproate on neutrophils' oxidative metabolism and oxidant status in children with idiopathic epilepsy, *Zhonghua Er Ke Za Zhi.*, 49(10):776-81.

EKLER

EK A: ELEKTROKARDİYOGRAM VE BÖLÜMLERİ

Kalp uyarısının kalpte ilerlemesi sırasında elektriksel akım kalbi çevreleyen komşu dokulara da yayılır. Bu akımın küçük bir kısmı kalbin yüzeyine kadar ulaşır. Kalbin karşılıklı taraflarına elektrotlar yerleştirilerek akımın oluşturduğu elektriksel potansiyeller kaydedilebilir. Bu kayda elektrokardiogram denir.



Yukarıda şekilde II. derivasyondan kayıt alınan normal bir elektrokardiogram şematize edilerek bölümleri gösterilmektedir

Normal bir elektrokardiogram, bir P dalgası, bir QRS kompleksi ve bir T dalgasından ibarettir. QRS kompleksi, çoğunlukla 3 ayrı dalgadan oluşur. Bunlar, Q dalgası, R dalgası, S dalgasıdır.

P dalgası, atriyumların kasılmaya başlamadan önce depolarize olmaları esnasında oluşturulan elektriksel potansiyeller tarafından meydana getirilir. QRS kompleksi, ventriküllerin kasılması öncesinde, yani depolarizasyon dalgasının ventriküller boyunca yayılması sırasında, depolarize olmalarını sağlayan potansiyeller tarafından oluşturulur. Bu sebeple hem P dalgası hem de QRS kompleksinin bileşenleri depolarizasyon dalgalarıdır.

T dalgası, ventriküllerin depolarizasyon durumunun sona ermesi ile oluşan potansiyeller tarafından oluşturulur. bu dalga, repolarizasyon dalgası olarak bilinir.

P dalgası: Atriumların depolarizasyonunu ifade eder.

PR aralığı: Atriumların kasılma başlangıcından ventriküllerin kasılmasına kadar geçen süredir.

PR segmenti: Atrium depolarizasyonunun sonundan ventriküllerin depolarizasyonuna kadar geçen süredir. Uyarının AV kavşaktan ventriküler iletim sistemine kadar geçen süreyi gösterir. İzoelektrik hattı temsil eder.

Q dalgası: İnaventriküler septumun aktivasyonunu gösterir.

R dalgası: Sol ventrikül depolarizasyonunu gösterir.

S dalgası: Sağ ventrikül depolarizasyonunu gösterir.

QRS: Ventriküllerin depolarizasyonunu ifade eder.

ST segmenti: Ventriküllerde depolarizasyon bitip repolarizasyon başlayıncaya kadar geçen süreyi ifade eder. İzoelektrik hatta olması beklenir.

T dalgası: Ventriküllerin repolarize olmasını ifade eder.

QT aralığı: Ventrikül depolarizasyon ve repolarizasyon süresini ifade eder.

QT aralığı, ventriküllerin depolarize ve repolarize olma süresini gösterir. Kalp hızı ile değişme gösterdiğinden kalp hızına göre düzeltilmiş QT aralığı (QT_c) kullanılır. Bazett formülüne göre QT_c hesaplanması aşağıdaki gibi yapılır.

$$QT_c = \frac{QT \text{ değeri}}{\sqrt{RR \text{ aralığı}}}$$

Elektrokardiyografi aracılığıyla kalp tarafından üretilen elektriksel aktivite kaydının yukarıda bahsedilen bölümlerine ait veriler incelenerek karşılaştırılması sonucunda kalp ile ilgili sorun olup olmadığına ve varsa ne tür sorun olabileceği tahmin edilmektedir.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Karabük’de doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Talatpaşa İlköğretim Okulu’nda, lise öğrenimimi Kabataş Erkek Lisesi’nde tamamladım. 1999 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’ne girdim ve 2003 yılında mezun oldum. Aynı yıl, İstanbul üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü’nün açmış olduğu yüksek lisans sınavını kazanarak, Biyoloji Anabilim dalı, Zooloji Programında “Normal ve Diyabetik Sıçanlarda Leptin Uygulanmasının Testis Üzerine Etkisi ve Nitrik Oksit (NO) İle Olan İlişkisi” konulu yüksek lisans tezini 2006 yılının Temmuz ayında tamamladım. 2006-2007 eğitim yılının güz yarısında doktora yapmaya hak kazandım. 2007 yılının Aralık ayında yapılan kadro sınavı ile İ. Ü. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladım ve halen aynı anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışıyorum.