



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**FARELERDE DENEYSEL EPİLEPTİK MODELDE PROPOLİSİN
BEYİNDE ASETİLKOLİNESTERAZ VE OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Beşir KARAYEL
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

İKİNCİ DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**FARELERDE DENEYSEL EPİLEPTİK MODELDE PROPOLİSİN
BEYİNDE ASETİLKOLİNESTERAZ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Beşir KARAYEL
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV

VAN-2019

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE DENEYSEL EPİLEPTİK MODELDE PROPOLİSİN
BEYİNDE ASETİLKOLİNESTERAZ VE OKSİDATİF STRES ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hemşire Beşir KARAYEL
TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

İKİNCİ DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV

VAN-2019

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2017- 6003 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalında Beşir KARAYEL tarafından hazırlanan “*Farelerde Deneysel Epileptik Modelde Propolisin Beyinde Asetilkolinesteraz ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması*” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14/02/2019



Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN

Karabük Üniversitesi

Jüri Başkanı



Doç. Dr. Müslüm KUZU

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi

Jüri Üyesi



Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.



Prof. Dr. Semiha DEDE

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Farelerde Deneysel Epileptik Modelde Propolisin Beyinde Asetilkolinesteraz ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması*” başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Beşir KARAYEL

Tarih: 14/02/2019

İmza:

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması, yürütölmesi süresince yardımlarını esirgemeyen tez danışmanlarım Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV hocama, Van YYÜ Eczacılık Faköltesi Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ'e, ve Mersin Üniversitesi Eczacılık Faköltesi Araő. Gör. Metin YILDIRIM'a ve çalıőmalarım boyunca manevi desteğini esirgemeyen Eczacılık Faköltesi çalıőanlarına ayrıca bu araştırmanın gerçekleşmesi için mali destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Beşir KARAYEL

ÖZET

Karayel B, Farelerde Deneysel Epileptik Modelde Propolisin Beyinde Asetilkolinesteraz ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2019. Yaptığımız çalışmada, epilepsi modeli oluşturulan farelerde propolis uygulamasının beyin dokusundaki oksidatif stres parametrelerine ve asetilkolinesteraz aktivitesine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 35 adet fare kullanılmış olup her grupta 7 fare olacak şekilde toplam 5 gruba ayrılmıştır. Bu gruplar; kontrol grubu, pentilentetrazol (PTZ) grubu, propolis grubu, PTZ + propolis grubu ve PTZ + valproik asit grubudur. Kontrol grubuna serum fizyolojik (SF), PTZ grubuna 65 mg/kg PTZ + serum fizyolojik, propolis grubuna 100 mg/kg propolis ve 45 dakika sonra serum fizyolojik, propolis + PTZ grubuna 100 mg/kg propolis ve 45 dk sonra 65 mg kg PTZ, valproik asit grubuna 100 mg/kg valproat ve 45 dk sonra 65 mg kg PTZ yedi gün boyunca uygulanmıştır. Her grubun nöbet tespiti, nöbet skorları ve toplam nöbet süresi izlenerek kaydedilmiştir. Uygulama sonrası farelerin beyin dokusundaki asetilkolinesteraz enzim aktivitesi ile oksidatif stres göstergesi olarak da total antioksidan kapasite (TAS) ve total oksidan kapasite (TOS) düzeylerine bakılmıştır. PTZ grubunun TAS düzeyi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulundu ($p<0.05$). Propolis, PTZ+Propolis ve PTZ + Valproik asit gruplarının TAS düzeyleri PTZ grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). PTZ grubunun TOS düzeyleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Propolis, PTZ+Propolis ve PTZ+Valproik asit gruplarının TOS düzeyleri, PTZ grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Sonuç olarak, propolis ekstresinin, epilepsinin davranışsal belirtilerini ve oksidatif stresi azalttığı görülmüştür. Ayrıca propolis ekstresinin, epilepsinin komplikasyonlarını önleyebileceği gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Epilepsi, Beyin, Propolis, Oksidatif Stres, Asetilkolinesteraz Aktivitesi

ABSTRACT

Karayel B, The Investigation of the Effect of Propolis on the Acetylcholinesterase and Oxidative Stress in the Brain of Mouse Model of Experimental Epilepsy Model, Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Department of Basic Pharmaceutical Sciences, Biochemistry, Master Science Thesis, Van, Master Thesis, Van, 2019. In our study, we aimed to the investigate the effect of propolis on the acetylcholinesterase and oxidative stress in the brain of mouse model of experimental epilepsy. A total of 35 mice were divided into 5 groups as control group, pentylenetetrazole (PTZ) group, propolis group, pentylenetetrazole + propolis group and valproic acid + pentylenetetrazole group to include 7 mice in each group. The experimental groups were treated with following procedures every day for seven days, in the control group mice were treated with serum physiologic; in the PTZ group mice were injected with SF+PTZ (65 mg/kg); in the propolis group mice were firstly treated with propolis (100 mg/kg) and then injected with serum physiologic after 45 minutes; in the propolis + pentylenetetrazole group mice were firstly treated with propolis (100 mg/kg) and then injected with PTZ (65 mg/kg) after 45 minutes; in the valproic acid + pentylenetetrazole group mice were firstly injected with valproic acid (100 mg/kg) and then with PTZ (65 mg/kg) after 45 minutes. Each group was evaluated and recorded for to seizure detection, seizure scores and total seizure duration. After the application, the mice in all groups were anesthetized and analysed for acetylcholinesterase enzyme activity in the brain tissue and also for changes in total antioxidant capasity (TAS) and total oxidant capacity (TOS) levels which are indicators for oxidatives stress. TAS levels in the brain tissue were found to be statistically significantly lower in the PTZ group compared with control group ($p<0.05$). TAS levels in the brain tissue were found to be statistically significantly higher in the propolis group compared with PTZ+propolis group, PTZ+ valproic acid group and valproic acid group ($p<0.05$). The TOS levels in the brain tissue were found to be statistically significantly higher in the PTZ group compared with control group ($p<0.05$). The TOS levels in the brain tissue were found to be statistically significantly lower in the propolis group compared with PTZ+propolis group, PTZ + valproic acid group and PTZ group ($p<0.05$). As a conclusion, propolis extract exhibited a reducing effect on behavioral symptoms of epilepsy and oxidative stres. Furthermore, this investigation showed that propolis extract can prevent the concomitant epileptic complications.

Key Words: Epilepsy, Brain, Propolis, Oksidative Stress, Acetylcholinesterase Activity

İÇİNDEKİLER

KABULVE ONAY	III
ETİK VE BAYAN	IV
TEŞEKKÜRLER.....	V
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	IX
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsi	3
2.1.1. Epilepsinin tarihçesi	4
2.1.2. Epilepsinin sınıflandırılması	5
2.1.3. Epileptogenez.....	5
2.1.4. Epilepsi nöbetleri	6
2.1.5. Deney hayvanlarında epilepsi modelleri.....	8
2.2. Pentilentetrazol (PTZ)	15
2.2.1. PTZ'nin etki mekanizması.....	15
2.2.2. PTZ'ye bağlı oksidatif stres.....	16
2.3. Propolis.....	17
2.3.1. Propolisin fiziksel özellikleri.....	18
2.3.2. Propolisin kimyasal yapısı.....	18
2.3.3. Propolisin biyokimyasal özellikleri	19
2.3.3.1. Propolisin antioksidan özellikleri.....	20
2.3.4. Propolisin tıbbi kullanımı.....	22
2.4. Oksidatif stres ve antioksidan sistem.....	22
2.5. Asetilkolinesteraz (AChE).....	24

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Gereç.....	26
3.1.1. Deney hayvanları.....	26
3.1.2. Laboratuvar gereçleri ve kimyasal maddeler	26
3.2. Yöntem	27
3.2.1. Deneme gruplarının oluşturulması.....	27
3.2.2. Propolis ekstraksiyonu.....	27
3.2.3. Deney hayvanlarına epilepsi oluşturulması ve propolisin uygulanması.....	28
3.2.4. Beyin dokusu homojenatı hazırlanması.....	29
3.2.5. Biyokimyasal analizler	29
3.2.5.1 Beyin dokusunda protein tayini (Lowry yöntemi).....	29
3.2.5.2 Beyin dokusunda asetilkolinesteraz enziminin aktivite tayini	31
3.2.5.3 Beyin dokusunda toplam oksidan seviye (TOS) tayini.....	32
3.2.5.4 Beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS) tayini	32
3.2.6. Oksidatif stres indeksi (OSİ) ölçümü.....	33
3.2.7. İstatistik analiz.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. PTZ'ye bağlı gelişen nöbet sayısı üzerine valproat ve propolis etkileri.....	34
4.2. PTZ'ye bağlı gelişen miyoklonik nöbet süresine valproat ve propolis etkileri.....	35
4.3. PTZ'ye bağlı gelişen nöbet başlama süresi üzerine valproat ve propolis etkileri.....	36
4.4. PTZ'ye bağlı epilepsi modelinde sağ kalım üzerine valproat ve propolis etkileri.....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	42
KAYNAKLAR	52
ÖZGEÇMİŞ	60

EKLER	61
EK 1 Etik Kurul Araştırma Onay Belgesi	61
EK 2 Etik Kurul Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi	62
EK 3 Tez Orjinallik Raporu	63



SİMGELER VE KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
AEİ	: Antiepileptik İlaçlar
ALT	: Alanin Transaminaz
CAPE	: Kafeik Asit Fenil Ester
CAT	: Katalaz
Cl	: Klor
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EEG	: Elektroensefalografi
FeCl₂	: Demir (II) Klorür
GABA	: Gamma-aminobütirik Asit
GP	: Glutasyon Peroksidaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
HCl	: Hidroklorik Asit
IP₃	: İnositol Trifosfat
İ.P	: İntraperitonal
L-NAME	: L-NG-nitro Arginin Metil Ester
MR	: Manyetik Rezonans
MDA	: Malondialdehit
MES	: Maksimal Elektroşok
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NMDA	: n-metil d aspartat (Reseptör)
NO	: Nitrik Oksit
OH[•]	: Hidroksil Radikali
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
PGB	: Pregabalin
PTZ	: Pentilentetrazol

PJN	: Primer Jeneralize Epileptik Nöbetler
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
S.C	: Subkutan
SF	: Serum Fizyolojik
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences (Sosyal Bilimler için İstatistiksel Paket Programı)
TAS	: Toplam Antioksidan Seviye
TLE	: Temporal Lob Epilepsisi
TOS	: Toplam Oksidan Seviye
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Deney gruplarında nöbet sayısı ortalama (\pm SEM) değerleri.....	34
Şekil 2. Deney gruplarında miyoklonik nöbet sürelerinin ortalama (\pm SEM) değerleri.....	35
Şekil 3. Deney gruplarında nöbet başlama sürelerinin ortalama (\pm SEM) değerleri..	36
Şekil 4. Deney gruplarında sağ kalım % üzerine valproat ve propolisin etkileri.....	37
Şekil 5. Deneme gruplarının beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS) düzeyleri	38
Şekil 6. Deneme gruplarının beyin dokusunda toplam oksidan seviye (TOS) düzeyleri	39
Şekil 7. Deneme gruplarının beyin dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivite düzeyleri	40

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Nöbet skorlamasında kullanılan davranış parametreleri	28
Tablo 2. Deneyin yapılışı esnasında uygulanan çalışma standartları ($\mu\text{g/mL}$).....	30
Tablo 3. Deneme gruplarının beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan seviye (TOS) ve asetilkolinesteraz (AChE) düzeyleri	41



1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), epilepsinin dünya çapında en yaygın, en ciddi beyin bozukluklarından biri olduğunu belirtmiştir. Bu hastalığın çok ciddi fiziksel, psikolojik, sosyal ve ekonomik sonuçların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (WHO, 2004). Epilepsi, epileptik nöbet olarak isimlendirilen, sürekli tekrarlayan ve önceden olacağı tahmin edilemeyen, beyin fonksiyonlarının kesintisi olarak tanımlanan, beyindeki bir düzensizliğe verilen isimdir. Bu durum tek başına hastalık olmaktan ziyade, çok çeşitli sebeplerden ileri gelen beyin fonksiyon bozukluklarını yansıtır (Fisher ve ark, 2005). Epileptik konvulziyonlar beyin yapısı üzerinde çok önemli etkilere sahip olmasının yanı sıra nöron ölümüne de yol açmaktadırlar (Henshall ve Simon, 2005).

Epilepsi yaklaşık olarak insan nüfusunun % 1'inde görülmektedir (Xu ve ark., 2013) ve sonradan görülen, en yaygın kronik bozukluktur (Pitkänen ve Sutula, 2002). En sık epilepsi insidansı küçük çocuklarda ve yaşlılarda görülmektedir (Kandel ve ark., 2012). Epilepsi insidansı, insan hayatının ilk on yılında ve 60 yaşından sonra en yüksektir. Aynı zamanda erkeklerde kadınlara göre bu oran daha yüksektir. Morbidite ve mortalite hastalar için önemli sorunlardandır; çalışma ve araba kullanma konusunda ciddi kısıtlamalar vardır ve epilepside ani ölüm oranı genel popülasyona kıyasla 24 kat daha fazladır (Henshall ve Simon, 2005).

Günümüzde kullanılan tedaviler nöbet etkinliğini kontrol edebilmekte ama epilepsiyi önlememekte ya da tedavi etmemektedir. Hipokampusta temporal lob epilepsisinde (TLE) görüldüğü gibi nöral ağların yeniden yapılanmasına sebep olan nöronal hasarlar, epileptogeneze götüren en önemli bileşenlerindendir (Velisek ve ark., 2013).

Beyin uyarılabilirliğini çalışmak için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri ise deneysel pentilentetrazol (PTZ) uygulamasıdır (Klioueva ve ark., 2001). Antiepileptik ilaç geliştirmek amacıyla yapılan çalışmalarda PTZ yaygınca kullanılır. Bu madde uygulaması deney hayvanlarında hipokampal atrofiye yol açar. PTZ uygulanmış olan deney hayvanlarında hipokampusta seçici nöronal kayıp ile astrositozis görülür ve bu deney hayvanları üzerine yapılan manyetik rezonans (MR) görüntüleme

çalışmalarında, serebellum hacminde azalma görülmektedir (Akdoğan ve Yonguç, 2011).

Yetişkinlerde en yaygın görülen epilepsi tipi TLE modelidir. Klinik ve deneysel çalışmalarla TLE'nin temelinde yatan nöbetlere hipokampal katkı kanıtlanmıştır. Hipokampusun TLE'nin jeneratörü olduğu birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir (Avoli, 2007).

Bu çalışmanın amacı; farelerde deneysel olarak PTZ ile oluşturulan epileptik nöbet modelinde, propolisin beyin dokusunda, asetilkolinesteraz ve oksidatif stres üzerine etkisinin araştırılmasıdır. Çalışmanın sonuçlarının olumlu bulunması ile birlikte koruyucu tıp bakımından propolis önemi ortaya çıkartılmış olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Epilepsi terimi, Yunancadaki “epilepsia” kelimesinden türemiştir. Epi: üstünden, üstünde, Lepsis: tutmak, tutup sarsmak anlamına gelmektedir. Epilepsinin kelime anlamı yakalamak, birden tutulmak anlamına gelmektedir. Beyindeki nöronal hiperaktiviteden dolayı tekrarlayan spontan nöbetlerle oluşan bir hastalık türüdür (Ettinger, 1994). WHO’nün tanımına göre ise epilepsi, serebral nöronların aşırı deşarjına bağlı olarak tekrarlayan nöbetlerle, çeşitli etyolojilere bağlı olarak gelişen kronik bir beyin hastalığıdır (Haslam, 2007).

Beyin; epileptik nöbetler üretmeye daima bir yatkınlık ve bu durumun nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçları bakımından bir düzensizlik oluşturmaktadır. Nöbetler sinir hücresi aktivitesini alt üst eden bir duruma yol açar ve nöbet süresince kişi bilinç kaybını da kapsayan anormal davranış, belirti ve duygu durumu gösterebilir (Fisher ve ark, 2005). Epileptik nöbet motor, duygusal, duygusal, bilişsel, otonom; sıklıkla pozitif (fokal ve/veya jeneralize kasılmalar ve halusinasyonlar gibi) bazen de negatif (çevresiyle olan ilişkinin kesilmesi) belirtilerle ortaya çıkar. Anormal epileptik deşarjın kaynaklandığı nöronlar, yayıldığı anatomik bölgeler veya yollar bu nöbetin klinik görünümünü belirler. Tek bir nöbet epilepsi tanımı için yeterli değildir. Beyindeki sinir hücrelerinin artmış uyarılabilirliğinden (nöronal hipereksitabilite) kaynaklanır ve inhibisyon-eksitasyon arasındaki denge bozulduğu zaman ortaya çıkar ve tekrarlanır (Engel, 2013).

Her konvülsiyon geçiren kişi epilepsi değildir. Epilepsi tanısının konulması için konvülsif nöbetlerin tekrarlayıcı olması ve bu özelliğini yıllarca devam ettirmesi gerekmektedir. Kafa travmaları, beyindeki hemorajiler, beyinde meydana gelen bazı infeksiyonlar (menenjit, ensefalit veya apseler gibi), beyin damarlarındaki birtakım yapısal bozukluklar, tümörler, doğum travmaları ve genetik faktörler belli başlı epilepsi sebepleri arasında yer alır (Ettinger, 1994). Yaklaşık olarak vakaların %70’inin nedeni bilinmemektedir. WHO’nün tahminine göre, epilepsi aktivitesinin ortalama prevalansı genel popülasyonda 1000 de 8,2 kişidir (Ransom ve Blumenfeld, 2007).

Özetle; epileptik nöbet, beyin fonksiyonlarının geçici olarak bozulması sonucu anormal ve aşırı nöronal aktiviteyi tanımlarken; epilepsi ise tekrarlayan nöbetlerin kronik durumu olarak tanımlanır (Kandel ve ark., 2012).

2.1.1. Epilepsinin tarihçesi

Epilepsi sözcüğü Yunanca “tutmak, yakalamak” manasına gelen “epilepsia” sözcüğünden gelmektedir. Günümüzde, konuşma dilinde kullandığımız epilepsinin karşılığı olarak “sar’a” sözcüğü arapça kökenlidir ve ‘yere serme’ manasına gelmektedir (Bora ve ark., 2008). Antik dönemde epilepsinin, şeytanların, kötü ruhların veya cinlerin yol açtığı bir hastalık olduğu düşünülmekteydi. Babilliler epilepsi nöbetlerini ve hastalığını çok iyi bilmelerine rağmen hastalığın nedeni olarak yine de kötü ruhları ve şeytanları gösteriyorlardı (Coşkun, 2011). Epilepsiyle ilgili bilinen en eski kayıtlar ise Mezopotamya Uygarlığına aittir (Bora ve ark., 2008). Milattan önce 5. yüzyılda Hipokrat “kutsal hastalık” tanımını yapmış ve bu hastalıkta beyin, hastalığın merkezi olduğunu ilk kez ifade etmiştir (Reynolds, 2009).

Epilepsinin ilk sistematik tedavisi 1857 yılında Sir Charles Locock tarafından yapılmıştır. Bugün modern antikonvülsanlarla epileptik nöbetlerin yaklaşık %70’i kontrol altına alınabilmektedir (Allahverdiyev ve ark., 2018).

Hayvan beyinde elektriksel akımın varlığı ilk kez Caton tarafından 1875 yılında gösterildi. Caton, deney hayvanlarının gözüne uyguladığı ışık uyarısıyla beyin elektriksel sinyallerinde değişiklik meydana geldiğini kanıtlamayı başardı. Sonraki yıllarda Pravdich-Neminsky, beyin yüzeyine yerleştirdiği elektrotlar aracılığıyla köpeklerde elektriksel etkinliği kaydetmeyi başardı. Elektriğin artık sadece doğada karşılaştığımız bir olay olmadığı, canlı sistemlerinin de yaşamlarını sürdürebilmek için elektrik kullanmak zorunda olduğu ortaya çıkmıştır. 19. yüzyılın sonlarına doğru John Hughlings Jackson, hastaları ayrıntılı bir şekilde inceleyerek epilepsinin anlaşılmasını kolaylaştırdı (Coşkun, 2011). Çağlar boyu süren yavaş ilerleme 20. yüzyılın son çeyreğinden itibaren hız kazanmıştır (Eşkazan, 2008).

2.1.2. Epilepsinin sınıflandırılması

Epilepsi nöbetiyle epilepsi hastalığının eş anlamlı şeklinde kullanılması günümüzde artık bir hata olarak görülmektedir. Epilepsi nöbeti, epilepsi hastalığının temel bir semptomudur. Fakat epilepsi nöbeti, merkezi sinir sistemini doğrudan veya dolaylı etkileyen birçok klinik semptomda da ortaya çıkabilir.

Etyolojilerine göre epileptik nöbetler; kriptojenik, idiopatik ve semptomatik olarak gruplandırılabilir. İdiopatik epilepsilerde altta yatan herhangi patolojik bir süreç yoktur, ailesel özellik dikkat çeker, nöbetler göreceli olarak daha azdır ve tedaviye yanıt daha iyidir. Semptomatik epilepside altta yatan bir beyin hastalığı ve buna bağlı nörolojik bozukluklar saptanabilir, tedaviye yanıt değişken ve spontan sonlanma olasılığı düşüktür. Kriptojenik epilepsiler de ise sebebi gizli kalan ancak altta yatan edinsel bir sebebin olması gerektiği düşünülen gruptur (Baykan ve ark., 2004; Patsalos ve Froscher, 2002).

Epilepsi hastalığı, epilepsi nöbetlerinin tekrarlama eğiliminin bulunduğu kronik bir durumdur. Bu durum;

1. İdiopatik epilepsiler
2. Kriptojenik epilepsiler
3. Semptomatik epilepsiler olarak 3 ana grupta toplanabilir.

Etiyolojik sınıflandırmaya göre ise epilepsi yukarıdakilere ilaveten 4. bir grup daha içermektedir;

4. Provoke edilen epilepsiler (Shorvon, 2011).

2.1.3. Epileptogenez

Epileptogenez terimi, ilk nöbet öncesinde oluşan ve epileptik beyni kendiliğinden tekrar eden nöbetlere eğilimli, nöbet yoğunluğunu fazlaştıran ve epilepsiyi tedaviye dirençli bir hale getiren olayları içermektedir. İlk olarak genetik malformasyon, kafa travması, enfeksiyon veya inme gibi hasar oluşmaktadır. Daha sonra epileptogenez oluşabilmesi için bir sessiz dönem geçtikten sonra, bunu kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler izlemektedir (Sutula ve ark., 2003).

Epileptogenez, klinik belirtiyle birlikte veya herhangi bir klinik belirti olmaksızın, elektroensefalografik (EEG) olarak nöbet aktivitesinin kayıtladığı, art arda olacak şekilde ve yeterli sayıda nöronun ateşlenmesi sonucunda nöbet aktivitesinin oluşmasıdır. Epileptogenez beyin hasarından sonra beyindeki moleküler ve hücresel değişikliklere bağlı bir şekilde eksitabilitenin artması ve tekrarlayıcı spontan nöbetlerin görülmesi olarak da tarif edilebilir (Bora ve ark., 2008).

Epileptogenezden sorumlu hücrel mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bütün epilepsi nöbetlerinde aynı mekanizmadan söz edilmediği gibi hepsinde artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronite gibi ortak özellikler bulunmaktadır. Epileptojenik odak ismini verdiğimiz beyin bölgelerindeki hücreler tam açıklanamayan sebeplerle artmış uyarılma ve anormal ateşlenme özelliği gösterirler. Aynı zamanda etrafında bulunan normal hücreleri de bu duruma ortak ederler (Bambal ve ark., 2011b).

2.1.4. Epilepsi nöbetleri

Nöbetler epilepsinin karakteristik özelliğidir. Aynı zamanda 40'tan fazla farklı nöbet tipleri tanımlanmıştır (Coşkun, 2011). Epilepsinin ve nöbetlerin sınıflandırılması patogenez ve tedavi bakımından önemlidir. Bütün nöbetler birbirinin aynı değildir. Nöbetler ve tekrarlanan nöbetlerin kronik durumu ortaktır. Öz farkındalık ve bilinçte bozukluk hatta geçici körlük ya da felç gibi negatif belirtiler, normal beyin fonksiyonu bozukluğunu göstermektedir. Bu örnekler nöbetlerin genel bir özelliğini belirtmektedir. Belirti ve semptomlar etkilenen beyin bölgesinin kapsam ve lokasyonuna bağlıdır (Kandel ve ark., 2012).

Klinik nöbetler ilk önce parsiyel (fokal-lokal) ve jeneralize olmak üzere iki büyük sınıfa ayrılmaktadır. Parsiyel veya kısmi nöbetler lokal bir beyin bölgesinden başlar (Marangoz, 1997). Genelde tek bir serebral hemisfer bölgesinde başlar ve nöbet sırasında beynin diğer bölgelerine de yayılabilir (Löscher ve Ebert, 1996). Yüzde veya bir kolda seğirme, bir duyuda değişiklik ya da temporal lob nöbetlerinde olduğu gibi odak türü hafıza değişikliği biçiminde fokal belirtiler ile sonuçlanır (Kandel ve ark., 2012). Bir hemisferin belli bir kısmından başlayan anormal olan deşarjlar, nöbet esnasında beynin diğer kısımlarına da yayılır (Marangoz, 1997).

Jeneralize nöbetlere beynin bütün bölgelerinde aynı zamanda başlayan anormal nöron deşarjı sebep olmaktadır (Marangoz, 1997). Jeneralize nöbetler beynin her iki tarafında başlar (Kandel ve ark., 2012) ve lokalize başlangıca dair bir kanıt bulundurmazlar. Esasen başlangıçta eş zamanlı olarak her iki hemisferin tümünü ya da geniş alanlarını kapsarlar (Löscher ve Ebert, 1996). Hatta epilepsi uzmanları bu tür nöbetlerin beynin derin yapılarında başladığını ve nöbet belirtilerinin nispeten aynı zamanda ortaya çıktığı kortikal yüzeye hareket ettiğini düşünmektedirler (Kandel ve ark., 2012).

Birincil jeneralize epilepsi nöbetleri, başlıca çarpınma hareketlerinin değişik biçimlerinin varlığı veya yokluğu tarafından alt sınıflara ayrılmaktadır. Amerika ve Avrupa'daki epidemiyolojik verilere göre insanlarda görülen en çok nöbet tipi, ikincil jeneralizasyon ile birlikte olan veya olmayan karmaşık parsiyel nöbetlerdir. Kompleks parsiyel nöbetlerin büyük çoğunluğu TLE (%70-85) özellikle amigdaladan ve hipokampus köken almaktadır. TLE biçiminde adlandırılmaktadır (Löscher ve Ebert, 1996).

Kindling, TLE'de olduğu gibi ikincil jeneralizasyonun eşlik ettiği kompleks parsiyel nöbetlerin birkaç modellerinden biridir. Bu sebeple bu tip nöbetlerin, fokal epileptogenezin ve antiepileptik ilaçlarının fokal ve ikicil jeneralize nöbetlerin üzerine etkileri patofizyolojisini çalışmak için yaygın biçimde kullanılmaktadır (Löscher ve Ebert, 1996).

Uluslararası nöbet sınıflandırması;

I. Parsiyel (lokal-kısmi) epilepsi

a. Basit

i. Duyu

ii. Motor

iii. Duyu-Motor

iv. Psikik (anormal düşünceler ve algılama)

v. Otonomik (ısı, karıncalanma veya gastrointestinal)

b. Kompleks (bilinç/hafızanın kaybı)

i. Auralı (uyarıcı) ya da aurasız

ii. Otomatizimli ya da otomatizmsiz

c. Sekonder jeneralize (yayılr)

II. Jeneralize (umumi) epilepsi

a. Absans, tipik veya atipik (petit mal)

b. Tonik-klonik (Grand mal)

c. Miyoklonik

d. Atonik

e. Tonik

III. Sınıflandırılmayanlar (Fisher ve Saul, 1997).

Epilepsiye Karşı Uluslararası Dernek (International League Against Epilepsy)'e ait nöbet sınıflandırılması (Kandel ve ark, 2012).

I. Genellenmiş (yaygın) nöbetler

a. Tonik-klonik (herhangi bir kombinasyonda)

b. Absans (atipik, tipik ve absansa özgü özellikleri olan da dahil)

c. Miyoklonik

d. Klonik

e. Tonik

f. Atonik

II. Fokal (odaksal) nöbetler (eskiden basit parsiyel ve kompleks parsiyel olarak adlandırılırdı).

III. Bilinmeyen

Epileptik nöbetlerin %10-25'i sıralanan bu grupların hiçbirine uymaz. Bu nedenle sınıflandırılmayan grubu oluştururlar (Marangoz, 1997).

2.1.5. Deney hayvanlarında epilepsi modelleri

Epilepsi hastalığının temelinde yatan mekanizmaların anlaşılması ve yeni antiepileptik ilaçların keşfetmek için deneysel hayvan modelleri kullanılmaktadır. Çünkü intakt insan beyninde hücre içi kayıtlar, anatomik iz sürme, mikrokimyasal analiz işlemlerini yapmak, en azından tıbbi etik açıdan mümkün değildir (Marangoz, 1997). Bu sebeple epileptogenezin hayvan modelleri bilimsel ilerleme bakımından vazgeçilmez olmuştur (Bora ve ark., 2008).

Epilepsinin hayvan modelleri, hastalık durumunun nörobiyolojisini anlamak ve yeni antiepileptik moleküllerin keşfetmek için kullanılmaktadır. Kemirgenler, bu hayvan modellerini geliştirmek için en sık kullanılanıdır. En yaygın olarak kullanılan nöbet modelleri, kimyasal konvulzan maddelerin (örneğin, pentilentetrazol, bikukulin, kainik asit, pikrotoksin) uygulanması veya belli beyin bölgelerinin eşik değerlerinde elektriksel olarak stimülasyonun sağlanmasıyla oluşturulabilir. Bu indüklenmiş nöbetler, hem davranışsal hem de elektrografiksel olarak tanımlanabilir (Dhir, 2012).

Değişik hayvan modelleri sayesinde insanlarda görülen farklı epilepsi biçimleri oluşturulur. Örneğin PTZ ile uyarılmış konvulziyonlar, petit mal veya absans nöbetleri taklit ederken, maksimum elektroşok (MES) ile uyarılmış nöbetler insanda Grand mal (tonik-klonik nöbetler) epilepsisini ortaya koymaktadır. Bu hayvan modellerinde ölçülen parametreler, bu modellerin, değişik evrelerde konvulziyonları ve farklı nöbet sürelerini ortaya çıkardığını göstermektedir (Dhir, 2012). Bu evrelerin eşik değerlerini değiştiren moleküller, ikinci kuşak tüm antiepileptik ilaçların (AEİ) geliştirilmesinde önemli bir rol almaktadır ve epilepsi hastalarında nöbetinlerin kontrolüne katkı sağlamaktadırlar (White, 2003).

Deneysel epilepsi modelleri kabaca iki grupta toplanabilir; akut modeller ve kronik modellerdir. Akut modeller tepkisel epileptik nöbet modelleridir. Konvulzan maddelerin sistemik veya topikal uygulanmasıyla ya da elektriksel uyarım gibi aniden gelişen nöbetlerden oluşur. Akut modeller, epileptik nöbet gelişimi, sürdürülmesi ve bitişi hakkında, aynı zamanda nöbet sonrası bozukluklar hakkında bilgi almak için tercih edilen epilepsi modelleridir. Akut modellerin dezavantajları şunlardır; nöbetler normal, sağlıklı beynin yapay olarak uyarımı ile oluşturulduğu spontan nöbet oluşum mekanizmaları (iktogenez) ya da nöbetler arası epileptojenik anomalileri (interiktal) araştırmak için uygun değildirler. Kronik modelleriyse nöbetler arası epileptojenik anomalilerin sürekli incelenbilmesine ve epilepsinin tanımlanmasına olanak sağlayan modellerdir. Kronik modeller epilepsi gelişimi (epileptogenez), interiktal dönemdeki nöronal düzensizlikler ve spontan iktogenez hakkında araştırmacıya fikir veren modellerdir (Engel, 2013).

Deneysel epilepsinin hayvan modelleri üç gruba ayrılmaktadır:

I. Konvulzan kimyasal maddeler ya da elektrik akımıyla oluşturulanlar

II. Refleks epilepsi modelleri

III. İdiopatik modeller

Model seçimi çalışmanın amacına göre yapılmaktadır. Genellikle deneysel epilepsi çalışmaları üç amaçla yapılır;

1. İlaç geliştirme
2. Mekanizmayı aydınlatma
3. Temel olaylar arasındaki ilişkileri ve olayların gelişimini belirleme (Marangoz, 1997).

Tüm kriterleri karşılayacak tek bir model maalesef bulunmamaktadır. İdeal bir epilepsi modeli şu şekildeki özelliklere sahip olmalıdır;

- Spontan olarak tekrar eden nöbetleri olmalı
- Nöbetler insan epilepsisine benzer olmalı
- Modeldeki EEG'nin çeşidi, ilgili epilepsi modeline benzemeli
- Nöbetlerin frekansı ilaçların etkisini kronik ya da akut olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalı
- AEİ'lerin farmakokinetiği insandaki ile benzer olmalı
- AEİ'lerin etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar olmalıdır. (Marangoz, 1997).

Günümüzde yeni AEİ keşfi için kullanılmakta olan üç *in vivo* model bulunmaktadır. Erken dönemde antiepileptik ilaç keşfi modelleri;

I. Uyandırılmış nöbet modelleri

- Elektriksel (örn., MES)
- Kimyasal (örn., PTZ)

II. Fokal nöbetler

- Elektriksel kindling (korneal, amigdala ve hipokampal) (White, 2003)

Yeni AEİ'lerin araştırılmasında daha çok konvulzan kimyasal maddeler ya da elektrik akımı ile oluşturulan modeller kullanılmaktadır (Bambal ve ark., 2011a). Ama bu modeller içinde akut MES ve PTZ testleri epilepsi modeli olmaktan ziyade akut nöbet modelleri oldukları için bu testlerle keşfedilen AEİ hiçbirinin epilepsiyi önleme veya modifiye etme yeteneğinde olmaması şaşırtıcı değildir. Kronik modellere

bakıldığında sayısız epilepsi ve epileptik nöbet modeli olduğu görülmektedir. Fakat sadece birkaç kronik epilepsi modeli günümüzde farmakolojik epilepsi ya da epileptik nöbet çalışmalarında kullanılmaktadır (Löscher, 2002).

Epilepsi ve epileptik nöbet için oluşturulan hayvan modelleri epileptogenezin altında yatan temel mekanizmaları kavrayışımızı ilerleten temel bir rol almasının yanı sıra bu modeller, yeni antiepileptik ilaçların keşfinde ve geliştirilmesinde faydalıdır. Yeni antiepileptik ilaçların keşfinde ve gelişiminde, nöbet ve epilepsinin hayvan modelleri çeşitli amaçlara hizmet etmektedir. Bunlar;

- Yeni AEİ'lerin keşfi
- İlaça dirençli nöbetler için spesifik modeller
- Yeni AEİ'lerin antikonvulzan aktivitelerinin spektrumunun tanımlanması
- Yeni AEİ'lerin etkinliğinin kronik tedavi sürecinde değişip değişmediğinin değerlendirilmesi
- İlk klinik araştırmalar için yeni AEİ'lerin etkin plazma konsantrasyonlarının yorumlanması
- Yeni AEİ'lerin olumsuz etkilerinin epileptik ve epileptik olmayan hayvanlarda karşılaştırılması
- Antiepileptojenik ya da hastalığı hafifleten tedavilerin keşfi (Löscher, 2011).

Bu amaçla yapılan epilepsi çalışmalarında en az üç önemli hedef bulunmaktadır;

- I. Epilepsiye yol açan süreçlerin temelinde yatan mekanizmaları daha iyi anlamak, bu sayede epilepsi için risk grubunda olan hastalara koruyucu tedaviler oluşturmak.
- II. İlaça karşı direncin biyolojik mekanizmasını kavrayışımızı geliştirmek ve bu sayede dirence karşı korunma sağlayan veya süreci tersine çeviren ilaçlar geliştirmek.
- III. Epilepsinin ilerlemesini engelleyici, hastalığı hafifletici tedaviler geliştirmek.

Yukarıda açıklanan tüm bu amaçlara ulaşmak için, epilepsinin hayvan modelleri en önemli ön koşuldur (Löscher, 2002).

Kindling (tutuşma) modeli ise, beyinde nörokimyasal ve uzun dönem yapısal değişimleri araştırmak amacıyla kullanılan en önemli epilepsi modellerinden biri haline gelmiştir (Akdoğan ve Yonguç, 2011). Kindling deneysel bir epilepsi modeli olmasının yanında beynin “patolojik bir plastisite” modeli olarak da tanımlanmaktadır

(Pavlova ve ark., 2004). PTZ'yle indüklenen kimyasal kindling, insan absans epilepsi ve miyoklonik jeneralize tonik, klonik (primer jeneralize) nöbet modelini oluşturur (Wu ve ark., 2006). Kindling, tekrarlayan fokal nöbet deşarjlarının uyarılması sonucu, uyarana karşı verilen epileptik yanıtta ilerleyen, yüksek seviyede güvenilir, daimi artış oluşturan basit bir fenomendir (Morimoto ve ark., 2004). Deney hayvanında uyarana, jeneralize konvulziyon oluşturuyorsa kindling tamamlanmış ve bundan sonra bu normal olmayan uyarılabilir durum kalıcı bir hale gelmiş demektir. Kindling modeli psikomotor epilepsisine benzer. Beyinde büyük bir nöron topluluğu ile birlikte ve anormal biçimde deşarj yapmaya başlayınca epileptik nöbetler görülür (Erdoğan ve ark., 2006).

Kindling, elektriksel ya da kimyasal olarak uyarılabilir; elektriksel kindling karmaşık parsiyel epilepsi modeli olarak kabul edilirken, kimyasal kindling ise primer jeneralize epilepsi modeli olarak kabul görmektedir (Shandra ve Godlevsky, 2005). Örneğin, PTZ ile uyarılmış konvulziyonlar petit mal ya da absans nöbetleri taklit ederken MES ile indüklenmiş nöbetler, insan Grand mal tipi epilepsiyi (tonik, klonik nöbetler) tasvir eder (Dhir, 2012).

Kindling modeli, Goddard (1967) tarafından keşfedildiğinden bu yana, TLE'nin kronik bir hayvan modeli olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Goddard, farelerde yaptığı çalışmalarda beyinde farklı subkortikal bölgelere bipolar elektrotları implante ederek, değişken akım şiddetleriyle bu bölgeleri stimüle etti. Goddard başta yaptığı subkonvulzif uyarımlara yanıt olarak herhangi bir davranışsal veya elektrografiksel yanıt alamazken bu subkonvulzif dozları farelere tekrar tekrar uygulandığında en sonunda belirli uyarımlardan sonra tam gelişmiş konvulziyonlar oluştuğunu buldu. Ayrıca, kindlingin beyinde oluşturduğu kalıcı değişiklikler sebebiyle, bir defa tutuşma aşamasına gelmiş hayvanlara, aylarca subkonvulzif uyarı vermeden beklendikten sonra dahi, tekrar subkonvulzif uyarım sonucu hayvanların hala tutuşma gösterebildiklerini tespit etti. Goddard beyindeki bu tür progresif değişiklikler için 'kindling' (tutuşma) deyimini üretti. Yine Goddard elektriksel uyarımlara değişik beyin bölgelerinin değişik yanıtlar ürettiğini de gösterdi (Dhir, 2012).

Birkaç istisna hariç, kindling hala genel olarak, diğer birçok epilepsi modelinde de görüldüğü üzere büyük morfolojik hasar yokluğunda nöronal yanıtta değişimin geliştiğı bir fonksiyonel epilepsi modeli olarak kabul görmektedir. Epilepsi

mekanizmalarının araştırılmasına ve uygulanmasına ek olarak, kindling AEİ'lerin değerlendirilmesi için de kullanılmaktadır (Morimoto ve ark., 2004). Kimyasal kindling belli kimyasal konvulzan maddelerin sistemik olarak uygulanmasını gerektirir. Farklı konvulzan maddeler; örneğin GABA_A reseptor antagonistleri (PTZ, bikukulin ve pikrotoksin), N-metil-D-aspartat ve kokain, kemirgenlerde kimyasal kindling oluşturmak sebebiyle kullanılabilir. Bu modeller arasında; PTZ-kindling, yeni AEİ moleküllerin etkilerini çalışmak için en yaygın kabul edilen hayvan modelidir (Dhir, 2012).

Kindling modelinin avantajları ve dezavantajları şunlardır;

- Kindling modeli hem epileptojenik hem de spontan nöbet modeli oluşturması bakımından avantaj sağlar (Ali ve ark., 2005).
- Bu yöntem ile nöbeti başlatmak kolaydır, antiepileptik ilaçların klinik etkilerini belirlemede öngörüsü yüksektir (Löscher, 2002).
- Stimulasyonun (uyarım) zamanı, yeri ve süresi ayarlanabilir. Bunun sayesinde potansiyel tedaviler ayarlanabilir (Bertram ve Williamson, 2005).

Epilepsinin MES kindling modelinde avantajlar nettir. Bunlar;

- Antiepileptik ilaç geliştirme ve keşfetme amaçlı çalışmalar için uygun bir modeldir (Löscher, 2011).
- Kronik epileptogenez gelişimi güvenilir biçimde izlenebilir.
- Hedeflenen beyin bölgesinin tam aktivasyonu mümkündür. Nöbet şablonunun yayılması ve jeneralize hale gelmesi kolayca izlenebilir.
- Nöbetler arasındaki dönem, iktal ve postiktal dönemleri kolayca ayarlanabilir (Morimoto ve ark., 2004).

Kimyasal kindling modelinin avantajları;

- Kimyasal kindling elektriksele göre daha kolaydır ve daha az zaman alır.
- Beyin cerrahisi gerektirmez (Dhir, 2012).
- Laboratuvar donanımını oluşturmak kolaydır.
- Kindling protokolü, laboratuvarlar ve türler arasında kolaylıkla tekrarlanabilir bir protokoldür.

- Elektrotların beyne implante edilmesini gerektirmez. Mortalite oranı düşüktür hayvanların büyük bir bölümü jeneralize motor nöbetleri sürdürürler (Pitkänen ve ark., 2005).
- PTZ kindling de elektriksel kindling gibi kompleks parsiyel epilepsi hastalığının bir modelidir (Ali ve ark., 2005).

PTZ kindling modeli (kimyasal kindling modeli) ise, beyinde uzun dönem yapısal değişimleri ve nörokimyasal araştırma sebebiyle kullanılan en önemli epilepsi modellerinden biridir (Akdoğan ve Yonguç, 2011). Bu model nöbet oluşum mekanizmasını, nöbetlerin nörodavranışsal ve nörofizyolojik sonuçlarını araştırmak için sıklıkla kullanılan yöntemdir (Shandra ve Godlevsky, 2005). PTZ kindling, TLE'nin kronik hayvan modeli (Morimoto ve ark., 2004), ilaca karşı dirençli epilepsi modeli ve kompleks parsiyel epilepsinin çok önemli bir modeli olarak ortaya çıkmıştır (Ali ve ark., 2005).

Farelerde PTZ uygulanması, beyin uyarılabilirliği çalışmalarına uygun olmasının yanı sıra (Klioueva ve ark., 2001) antiepileptik ilaç geliştirmek için de yaygın olarak kullanılan davranışçı yaklaşımlardan biridir (Löscher, 2002). PTZ kindling, insan absans epilepsi ve jeneralize tonik-klonik nöbet modellerini oluşturur (Wu ve ark., 2006). PTZ kindling modeli, bir GABA_A reseptör antagonistidir (Park ve ark., 2006). PTZ, GABA_A reseptörünün klorid iyonofor kompleksinin seçici olarak bir engelleyicisidir. Hipokampusun da dâhil olduğu beyinin birçok bölgesinde GABAerjik ve glutamerjik sistemleri etkiler. PTZ'yle indüklenen kimyasal kindling, primer jeneralize epilepsi modelini oluşturur (Patsoukis ve ark., 2004).

Standart PTZ kindling modeli, elektrofizyolojik ve davranışsal deneyler yapılacaksa elektrotların implantını gerektirirken; moleküler ve davranışsal deneyler yapılacaksa elektrot implantını gerektirmemektedir (Davoudi ve ark., 2013). PTZ hem akut hem de kronik epilepsi hayvan modeli geliştirmek için kullanılabilir. Örneğin, kemirgen hayvanlarda PTZ'nin eşik dozda (60-100 mg/kg, intraperitoneal (i.p) ya da subkutan (s.c)) akut enjeksiyonuyla miyoklonik jerkler, çırpınma, tonik ekstensiyon ortaya çıkar. Fakat PTZ'nin eşik altı dozlarında (20-40 mg/kg, i.p) tekrar tekrar uygulanması kindling fenomenini oluşturabilir (Dhir, 2012).

PTZ kindling modeli ile tutuşma gerçekleştikten sonra;

- Duygusal davranışlarda değişim
- Bilişsel düzensizlikler
- Hipokampusta nöronal kayıp gösterilmiştir (Pavlova ve ark., 2004).

2.2. Pentilentetrazol (PTZ)

Hayvan modellerinde primer jeneralize epileptik nöbetlerin (PjN) oluşturulmasında insanlardakine benzer olması sebebiyle PTZ en çok kullanılan ajanlardandır (Berkovic ve Schfeer, 1999). PTZ (1.5- pentamethylene; 6, 7, 8, 9 tetrahidro- 5 azetpotetrazol) bir tetrazol türevidir ve MSS'yi etkileyen konvülsif bir ajandır (Onat, 2008). Deney hayvanlarında PTZ düşük dozlarda absans tipi nöbetler, ılımlı-orta dozlarda klonik nöbetler, yüksek dozlarda ise tonik klonik nöbetler oluşturup status ve ölüme de neden olabilmektedir (Andre ve ark., 1998).

2.2.1. PTZ'nin etki mekanizması

PTZ'nin etki mekanizması tam olarak anlaşılammakla beraber kompetitif olmayan GABA_A reseptör antagonistidir ve GABA aracılı Cl⁻ iyonunun hücre içine girişini bloke ederek etkisini göstermektedir (Onat, 2008). Cl⁻ kanallarındaki etkileşim aracılığı ile GABA bağlantılı Cl⁻ akımını bloke ederek nöronal membran depolarizasyonu ile nöbet aktivitesinin sürekliliği ve yayılımına yol açar. Ayrıca PTZ, glutamat NMDA reseptörlerini aktive eder (Dingledine ve ark., 1999). NMDA ile bağlantılı ileti, PTZ ile indüklenen jeneralize tonik-klonik nöbetlerin oluşumunda önemlidir (Ahmed ve ark., 2005).

PTZ indüklü kindlingde çeşitli davranışsal, nörokimyasal ve nörofizyolojik değişiklikler oluşur (Schröder ve ark., 1998). PTZ uygulaması farelerde hipokampal atrofiye sebep olmaktadır. PTZ uygulanan farelerde hipokampusta seçici nöronal kayıp ve astositozis görülür. Aynı zamanda PTZ uygulanmış farelerde üzerine yapılan manyetik rezonans görüntüleme (MRI) çalışmalarında, serebellum hacminde azalma görülmektedir (Akdoğan ve Yonuç, 2011).

PTZ'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, GABAerjik sistemde, glutamerjik sistemde ve antioksidan savunma sisteminde değişiklikler

oluşturduğu bildirilmektedir. PTZ'nin, GABA_A reseptörlerini bloke ederek etkisini göstermeye neden olabilmektedir. Tekrarlanan tek doz uygulamalarında, GABA_Aerjik aktivitenin azalmasına neden olur. PTZ'nin, GABA tarafından aktive edilen kanalları inhibe ederek GABA_A kapılı klorid reseptörlerini bloke ederek etkinliğini düşürebilir (Corda ve ark., 1992). Böylece PTZ uygulanması, GABA ve diğer bazı inhibitör nörotransmitterlerin etkisini inhibe ederek, nöronların depolarizasyonunu kolaylaştırmaktadırlar (Velisek ve ark., 2013).

PTZ kindling yöntemi ile yapılan öğrenme ve bellekle ilgili bir çalışmada GABA_B reseptör mekanizmasının da kindlingte değiştiğine dair bilgiler bulunmaktadır (Getova ve ark., 1998). Ayrıca, GABA taşıyıcı seviyelerinin, nöbet duyarlılığında ve epileptogenezde bir belirleyici olabileceği öne sürülmektedir (Doi ve ark., 2009). PTZ beynin birçok bölümünde, farklı glutamat reseptör alt tiplerinin duyarlılığında ve yoğunluğunda da artış meydana getirmektedir (Schröder ve ark., 1998).

2.2.2. PTZ'ye bağlı oksidatif stres

Birçok epilepsi modelinde oksidatif stres etkili bir rol oynar. PTZ uygulaması ile oksidatif stres arasında güçlü bir korelasyon olduğu görülmektedir (Patsoukis ve ark., 2004). PTZ kindlingin beynin antioksidan savunma sisteminde değişimlere sebep olduğu bildirilmektedir (Dhir, 2012).

Oksidatif strese bağlı olarak, membran lipitleri, hücrel proteinler, DNA ve RNA'da anormal yapı değişiklikleri ortaya çıkmaktadır. Beyindeki oksidatif stres, Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi daha kronik hastalıklar da dahil olmak üzere, birçok akut nörolojik bozukluğun yaygın sebebi olarak kabul edilmektedir (İlhan ve ark., 2006).

Penisilin, pilokarpin, kainat ve PTZ'yle epilepsi nöbeti oluşturularak yapılmış birden fazla çalışma, oksidatif stresin epilepsi patofizyolojisine dâhil edilebileceğini göstermektedir (Naziroglu, 2009). Tekrarlayan nöbetler sonucu hücrel makromoleküllerde artmış oksidasyonun görülmesi ve antioksidan içerikli bileşiklerin nöbetin tetiklediği patolojiyi engellemesi nöronal ölümün etyolojisinde serbest radikallerin genel rolünü desteklemektedir. Süperoksit dismutaz (SOD) mutant fareleri

kullanılarak yapılan çalışmalar, nöbetin tetiklediği süperoksit üretiminin kaynağının çoğunun mitokondriyal olabileceğini göstermektedir (Patel, 2004).

Nöbetin tetiklediği nöronal ölümün etyolojisi birçok faktörü içermektedir. Bunlar arasında genetik faktörler, intraselüler elektrolit metabolizma bozukluğuna yol açan artmış glutamaterjik hücre toksisitesi, mitokondriyal disfonksiyon, sitokin ve oksidatif stres konsantrasyonu yer alır. Hücresel düzeyde incelendiğinde, artmış nöbet aktivitesi NMDA ve voltaj bağımlı iyon kanallarının aracılığıyla yoğun kalsiyum akışına yol açarak hücre içi kalsiyumu artırır ve mitokondriyal kalsiyum artışıyla serbest radikallerin üretimi ve nöronal ölüm gelişir (Naziroglu, 2009).

2.3. Propolis

Propolis, Yunanca kökenli bir kelimedir. Eski Yunan'da pro (savunmada veya korumak) ve polis (şehir) anlamına gelmektedir. Buna göre propolisin tam anlamı 'şehrin (kovanın) korunması'dır. Propolis eski çağlarda ilk olarak Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır. Son yıllarda, antifungal, antibakteriyel, antiviral özellikleri yanında antiülseratif, antitümör, antiinflamatuvar ve lokal anestezi gibi çok sayıda insana yararlı biyolojik aktivite özelliği göstermesi, tıp ve sağlıklı besin üretimi alanında kullanımı yaygınlaştırmıştır. Propolis, bal arıları tarafından bitkilerin salgı ve tomurcuklarından toplandıktan sonra balmumu ile karıştırılarak, birçok amaca yönelik olarak kullanılan, reçinemsiz bir doğal üründür (Popova ve ark., 2005).

Propolis, işçi arıların arka bacaklarındaki polen sepetlerinde özellikle bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından topladıkları bitki salgılarını ve reçinemsiz maddeleri bir miktar bal mumu karıştırılması ile oluştururlar. Propolis, kaynağına göre, kirli sarıdan koyu kahverengine kadar değişen renkte olup oda sıcaklığında yarı katı halde bulunan, organik yapışkan bir maddedir (Silici, 2003).

Arılar propolisi; kovanın içerisindeki besinleri, yavru arıları ve kendilerini çeşitli mikroplardan (funguslar, virüsler, bakteriler vb.) korumak için, kovan onarımını ve dezenfeksiyonunda kullanırlar (Popova ve ark., 2005). Bunun yanında propolis, kovanların hasarlanmış ve çatlamış kısımlarının tamirinde, kovanın dış ortamdan izole

edilmesinde, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovanın içine giren böceklerin ve zararlı maddelerin mumyalanarak etkisiz hale getirilmesinde de kullanılmaktadır (Silici, 2003).

2.3.1. Propolisin fiziksel özellikleri

Propolis; keskin ve kokulu, acımsı tatta bal mumu ve bitki öz suyundan oluşan doğal bir maddedir. Propolis, işçi bal arılarının bitkilerin filizlerinden ve tomurcuklarından toplanan; bitki reçineleri, bitki salgıları ve arıların tükürükten salgıladıkları enzimler ile biyokimyasal değişikliğe uğramaktadırlar. Balmumuyla karıştırdıkları propolisin bazı bitkilere özgü olan proteinleri de bünyesinde bulundurması, propolisin mumsu olan bölümünün bitkisel mum yapısında olduğunu göstermektedir. Propolis, 15-25°C arasında mum kıvamında esnek bir yapı göstermekte, soğukta ise katı kırılğan bir şekil almaktadır. Yüksek dereceli sıcaklıklarda ise (30-40°C) yumuşayıp yapışkan bir hâl alan bu madde, 80°C da ise kısmen erimektedir (Ziaran ve ark., 2005).

Propolisin rengi bitkinin yapısına ve kaynağına bağlı olarak sarı, yeşil ve koyu kahverengine kadar değişim gösterir. Propolis; kloroform, eter, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, % 95'lik alkolde ise büyük bir ölçüde erimekte ve suda ise çok az ya da hiç çözünmemektedir. Propolis, tıbbi sahada %70'lik alkolde erimiş çözelti olarak kullanılmaktadır (Bankova ve ark., 2000).

2.3.2. Propolisin kimyasal yapısı

Propolisler, bitkisel kökeni ve coğrafik olarak arı ırkı, arı türü ve ekolojik koşullardan dolayı değişik kompleks bir kimyasal kompozisyon gösteren, doğal toksik olmayan bir arı ürünüdür (Silici, 2003). Propolisin kimyasal yapısıyla ilgili ilk çalışmalar 1970'li yıllarda, kavak ağacının tomurcuk salgılarının karıştırılması üzerine yapılmıştır. Dünyanın değişik birçok bölgelerinden toplanan propolis örnekleri yapısında 160'dan fazla bileşik bulundurmaktadır. Propolis; polifenoidler (fenolik asitler, flavonoid aglikonlar), steroidler ve onların esterleri, ketonlar ve alkoller, aminoasitler, kumarinler, fenolik aldehitler ve inorganik bileşikler gibi çok çeşitli kimyasal bileşikler yapısında bulundurmaktadır. Propolisin kimyasal bileşimi çok komplekstir (Bankova ve ark., 2000).

İşlenmemiş propolisin yapısında bulunan maddeler ve oranları şöyledir: %5 polen, %10 esansiyel yağlar, %23-25 mumlar ve yağ asitleri, % 45-55 reçine ve %55 diğer organik madde ve minerallerdir. Bu maddelerin oranları; maddelerin kaynağına, çeşidine, toplanma yeri ve zamanına bağlıdır (Silici, 2003).

Yapılan birçok incelemelerin ışığında, dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis numunelerinde tespit edilen flavon ve flavonoidler; pinosebrin, pinobanksin, organik ve yağ asitleri, ferulik asit, kafeik asit, 9-hekzadekanoik asit, sinnamik asit, terpenler, ketonlar, lignanlar, hidrokarbonlu bileşiklerdir (Bankova ve ark., 2000).

2.3.3. Propolisin biyokimyasal özellikleri

Propolis, eski zamanlardan bu yana halk tarafından kullanılmakla birlikte son yıllarda antifungal, antitümoral, antibakteriyel ve diğer faydalı biyolojik etkileri üzerine birçok sayıda araştırmalar yapılmıştır (Sorkun ve ark., 2001). Birçok çalışmada propolisin metanol, etanol, eter, su ve yağ ekstratları hazırlanmıştır. Ayrı orjine sahip olan propolis numunelerinin biyolojik aktiviteleriyle ilgili birçok sayıda bilimsel araştırma yapılmıştır. Brezilya propolisinin antibakteriyel, sitostatik, serbest radikal koruyucu aktivitesi belirlenmiştir. Günümüze kadar, propolisinin antikarsinojenik, antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antiviral, antiinflammatör, doku yenileyici, yara iyileştirici ve anestetik etkileri gibi birçok biyolojik aktivitelerin gerçekleşmesine sebep olmuştur (Kutluca ve ark., 2006; Eroğlu ve ark., 2004).

Propolis üzerinde yapılan araştırmalar, bu maddenin antimikrobiyel özellikler taşımasının yanında insan sağlığı için önemli ve gerekli olan mineral, vitaminler ve elementleri de içerdiğini göstermiştir (Şahinler, 2000).

Flavanoidlerin birçok sayıda bakteriye karşı etkili olduğu incelenmiştir. Flavanoidler bakımından zengin olan bu ürünlerin antibakteriyel aktiviteleri gram pozitif bakterilere karşı gram negatif bakterilere göre daha etkilidir. Fenolik bileşikler bakteri metabolizmasında mühim bir etkiye sahiptir. Fenil asetik asit ve fenilpropanoik asit selüloz yıkımını artırır (Seven ve ark., 2007). Propolisin bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Silici ve Kutluca, 2005).

Propolis'in etanol ekstraktının mesane ve karaciğerdeki kanserli hücrelerin dönüşüme uğrattığı ve gelişip ilerlemesini önlediği keşfedilmiştir. Bu hücre öldürücü etkiyi sağlayan maddeler, propolisten izole edilen klerodan diterpenoid, kafeik asit ve kuersetindir. Klerodan diterpenoid, tümör hücrelerine karşı seçici ve öldürücü bir etki gösterir. Propolisin aynı zamanda yumurtalık kanseri hücrelerini ve hücre bölünmesini durdurmada etkili olduğu keşfedilmiştir. Ayrıca cilt, meme, böbrek ve kolon kanseri hücreleri gibi insan tümör hücre kültürleri üzerinde öldürücü bir tesiri olduğu tespit edilmiştir. Bu tesirleri oluşturan bileşenin kafeik asit ve fenetil ester olduğu belirlenmiştir. Propolisten izole edilen Artepillin C, insan gırtlak kanseri hücreleri, mide kanseri hücreleri ve kolon kanseri hücreleri üzerinde hücre öldürücü bir tesiri olduğunu belirtmiştir. Kafeik asit esterlerinin tümör oluşumunu kimyasal olarak önlediği görülmüştür. Bu tesir, kanserli hücrelerin gelişimini sağlayan genler üzerindeki seçici bir toksik etkiyle gerçekleşmektedir (Nada ve Ivan, 2003).

2.3.3.1. Propolisin antioksidan özellikleri

Propoliste bulunan temel bileşen olan flavanoidler ve türevlerinin, serbest radikalleri temizlemede, en çok etkili olan bileşikler olma özelliğini bulundurmaktadırlar. Bazı flavanoidler, doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleri ile reaksiyona girerek temizleyici olarak rol oynayan, lipit peroksidasyonunun başlangıç aşamasında etkili olabilirler. Flavanoidlerin, serbest radikalleri ortamdan uzaklaştırmaları ve temizlemeleri gibi işlevlerinin yanı sıra, siklo oksijenaz ve lipo oksijenaz enzimlerini inhibe ederek antioksidan etki gösterebilmektedir (Türkez ve ark., 2010).

Serbest radikal olarak isimlendirilen oksidan moleküller, hücrede normal metabolizma sırasında üretilirler. Membran lipitlerinin oksidasyonu; lipit peroksidasyonuna ve onların sebep olduğu hasarlara yol açarlar. Katalaz (CAT), Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler savunma mekanizması esnasında üretilen enzimlerdir. Savunmada endojen antioksidan enzimlerin koruyucu etkisine ilave olarak, besinler ile alınan antioksidanların tüketimi de büyük önem taşımaktadır. Besinsel temel antioksidanlar; C vitamini, E vitamini, flavanoidler, karotenoidler ve diğer polifenollerden oluşmaktadır. Bilhassa savunma mekanizmasında hücresel antioksidan enzimlerin (SOD ve GP gibi) önemi çok

büyükdür ve bu enzimlerin yetersiz olması ya da enzim aktivitelerinde meydana gelen azalmalar, hücre bileşenlerinde onarılamayacak hasarlara yol açabilirler. Fakat besinlere antioksidan katkıları yapıldığında, hücresel savunma sistemi güçlendirilerek, hasar minimuma indirgenebilmektedir (Ozkul ve ark., 2005).

Propolisin son yıllarda üstünde durulan ve tartışılan hususiyetinden bir diğeri de antioksidan etkisidir. Organizmada metabolik olaylar gerçekleştiğinde kaçınılmaz bir durumda ortaya çıkan serbest radikaller, hücresel olarak yaşlanma ve buna bağlı olarak, kardiyovasküler hastalıklar, artrit, diyabet, kanser, parkinson, alzheimer gibi hastalıklara zemin hazırlarlar. Organizma ise başlıca antioksidan enzimler olan CAT, SOD, glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ile bunları temizler. Şayet oksidan madde düzeyi antioksidan enzim kapasitesini aşarsa antioksidan vitaminler (özellikle C ve E) ikincil savunma hattı olarak ortaya çıkar (Mohammadzadeh ve ark., 2007).

Propolisteki esas bileşikler olan flavonoidler, antioksidan etkinliği göstererek serbest radikalleri temizlemede etkisini göstermektedirler. Bazı flavonoidler doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleri ile reaksiyona girip temizleyici bir etki yaparak özellikle lipid peroksidasyonunun başlangıç aşamasında etkili olurlar. Flavonoidlerin antioksidan etkileri peroksid iyonları, singlet oksijen, hidrojen peroksid ve diğer lipid peroksid radikallerini ortamdan uzaklaştırabilme yeteneklerine bağlanmıştır. Bu yeteneklerinin ön plana çıkmasında bilhassa yapılarında bulunan OH gruplarının sayısı önem arz etmektedir (Cao ve ark 1997).

Propolis ve diğer antioksidan maddeler ile yapılan araştırmalarda, propolisin lipid peroksidasyonunun önlediği ve serbest radikal oluşumunu indirdiği belirtilmiştir (Koc ve Silici, 2008). Bu çalışmada kullanılan propolisin (kavak tipi propolis) birçok özelliğiyle ilgili çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda propolisin antifungal, antikarsinojenik ve antioksidan özelliği de tespit edilmiştir (Kanbur ve ark., 2009).

2.3.4. Propolisin tıbbi kullanımı

Modern tıpta sentetik ilaçların yaygın kullanılması bilinen doğal ilaçların önemini indirgemıştır. Fakat son 20 sene içerisinde, kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin meydana çıkması ve bu hastalık etmenlerinin bu ilaçlara dirençli bir hale gelmeleri sonucunda insanların tekrar doğal ilaçları kullanmaya yönlendirmiştir. Doğal ilaçların en önemlisi olan propolisin kimyasal yapısı, farmakolojik özellikleriyle etkili ve çabuk bir şekilde yarar sağlaması için çeşitli şekillerde kullanımı yaygınlaştırmıştır. Propolis ürünleri tablet, kapsül, pastil, granül ve çiklet şeklinde bulunmaktadır (Arslan ve ark., 2010).

İşlem görmemiş ham propolis doğal olarak ağızda yumuşatılarak çiğnenebilir ya da doğrudan yutularak kullanılabilir. İnsanların günde 10 gr kadar propolisi oral olarak alabileceği belirtilmiştir. Bu şekilde oral olarak alınan ham propolis, sindirim sisteminde yavaş bir şekilde çözülerek kana geçmekte, boğaz ve ağız rahatsızlıklarında, halsizlik durumlarında, diş ağrılarında ve sindirim sistemi mukozasının düzenlenmesinde kullanılmaktadır (İsla ve ark., 2001).

2.4. Oksidatif stres ve antioksidan sistem

Serbest radikal molekülleri, antioksidan savunma gücü ile dinamik bir denge halinde bulunduğu sürece organizma için faydalıdır. Örneğin; fagositik hücreler tarafından mikroorganizmaların öldürülmesinin ana mekanizması serbest radikal üretimidir. Serbest radikaller apoptozun habercisi, tetikleyicisi ve efektörü olarak vazife yaparlar. Bu şekilde; fazla hücre çoğalmasına önlem olarak homeostazide yer alırlar. Serbest radikaller ikinci haberci olup, transkripsiyon faktörlerine etki ederler. Hücreler arası haberleşmede görev üstlenirler. Hücrenin büyümesini sağlayan olayları düzenlerler. Mitokondride ve sitozolde üretilen serbest oksijen radikali, proteinlerin sistein kalıntılarının redoksunu tertipleyerek proteinlerin yapı ve işlevinin düzenlenmesinde rol alır (Aruoma, 1998; Kurutas ve ark., 2004)

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkmadan etkisizleştirilmesini sağlayan çok güçlü savunma sistemleri bulunmaktadır. Serbest radikallerin oluşum hızıyla etkisizleştirilme hızı dengede olduğu müddetçe organizma

bu bileşiklerden etkilenmemektedir. Buna karşılık olarak savunma azalır ya da bu zararlı bileşiklerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulup serbest radikallere bağlı zararlı etkiler ortaya çıkmaya başlar. Serbest radikaller doku ve hücrelerde oksidatif stres olarak etkilerini gösterirler (Çolak, 2011).

Oksidatif stresin etkileri;

1. Hücre organelleri ve zarındaki lipid ve protein yapısını bozarlar.
2. Hücre içindeki yararlı enzimleri etkisiz hale getirirler.
3. DNA yapısını bozarlar.
4. Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar.
5. Elastaz, fosfolipaz, proteaz, ksantin oksidaz gibi enzimleri aktive eder.
6. Hücrenin potasyum kaybını artırır.
7. Trombosit kümelenmesini artırır.
8. Dokulara fagosit toplanmasını artırır.
9. Hücrenin dışındaki kollajen doku parçalarını, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar.
10. Mikro ve makromolekülleri etkileyerek kapiller geçirgenliği bozarlar (Zerin ve ark., 2004)

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların sebep olduğu hasarı önlemek için organizmada birden fazla savunma mekanizmaları gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" ya da kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. *In vivo* ve *in vitro* deneyler antioksidanların serbest radikallere karşı koruyucu rol üstlendiğini göstermektedir (Çolak, 2011).

Antioksidan sistemde organizmada sürekli olarak serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşmaktadır. Ancak bu radikallerin organizmaya hasar vermesi güçlü bir savunma sisteminin var olması nedeniyle engellenmektedir. Bu sebeple serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması önem arz etmektedir. Bu denge bozulduğu zaman, serbest radikallerin zararlı etkileri ortaya çıkması ile çeşitli organ ve sistemler olumsuz yönden etkilenmektedir (Zerin ve ark., 2004).

Radikallerin aşırı reaktif yapılarına bağlı olarak, hücrenel bileşenlerdeki protein, karbonhidrat ve lipidlerin oksidasyonu ile sonuçlanacak zararın engellenmesi antioksidanların görevidir (Çolak, 2011). Serbest oksijen radikallerini etkileyerek, onları tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki, serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini indirgeme ya da inaktif hale dönüştürme işlemine baskılayıcı etki, serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kıran etkiye zincir kırıcı etki ve tamir fonksiyonuna da onarıcı etki denir (Mehmetçik ve ark., 2008).

Antioksidan etki tipleri dört başlık altında toplanabilir;

1. Toplayıcı etki (scavenging)
2. Baskılayıcı etki (quencher)
3. Zincir kırıcı etki (chain breaking)
4. Onarıcı etki (repairing) (Zerin ve ark., 2004).

2.5. Asetilkolinesteraz (AChE)

Asetilkolinesteraz (AChE, Asetilhidrolaz), beyin, kas ve eritrosit zarında bulunan asıl kolinesterazdır. Asetilkolinesteraz nörotransmitter asetilkolini hidrolizleyen hidrolaz grubundan bir enzimdir. AChE başlıca nöromusküler kavşakta ve sinaptik iletimi sonlandırdığı kolinerjik beyin sinapslarında bulunur. Enzimlerin karboksilesteraz ailesine aittir. AChE enziminin geri dönüşümsüz inhibitörleri kas felçlerine ve kasılmalarına, bronşların büzülmesine ve nefes kesilmesi sonucu ölüme neden olur. Bu enzim sinir gazları ve pestisitler gibi organofosfor bileşikler tarafından inhibisyon için ilk hedefidir (Çakıroğlu, 2015). Asetilkolinesteraz çok büyük spesifik katalitik aktivite göstermektedir. Her bir AChE molekülü difüzyon kontrollü reaksiyonların hızına ulaşarak saniyede 25 000 kolin molekülünü parçalamaktadır (Čolović ve ark., 2013).

AChE membrana bağlı bir enzim olup organizmada; beyinin gri cevherinde, kolinerjik nöronlarda, kolinerjik sinapslarda, nöromusküler kavşakta, kırmızı kan hücrelerinde (eritrositler), akciğerde, dalakta ve beyinin boz maddesinde bulunur. Ağırlıklı olarak kolin esterlerini hidrolize eden spesifik asetilkolinesteraz beyin, sinir ve kırmızı kan hücrelerinde yüksek konsantrasyonda bulunurken, spesifik olmayan “pseudo” kolinesteraz olarak da bilinen ve kan serumunda, pankreasta, karaciğerde ve

merkezi sinir sisteminde bulunan bütirikolinesteraz, diğer esterleri ve kolin esterlerini hidrolize eder (Rosenberry, 1975; Rao ve ark., 2007).

AChE'in aktivitesindeki azalma sinir sistemi rahatsızlıklarına ve ölüme sebep olur. AChE, yaygın olarak kullanılan organofosfat pestisitleri tarafından inhibe edilir. Sinaptik aralığa salınan ACh moleküllerinin çoğu postsinaptik reseptörlere bağlanır. Reseptörlere bağlanmayan ACh molekülleri AChE tarafından hidroliz edilir. Postsinaptik nörona bağlanan ACh molekülleri, sinir uyarısının diğer nörona iletikten sonra reseptörden ayrılır ve AChE tarafından hidroliz edilir. Açığa çıkan kolin tekrar kullanılmak üzere presinaptik nörona gönderilir (Temel, 2008).

Bu çalışmanın amacı; farelerde deneysel olarak PTZ ile oluşturulan epileptik nöbet modelinde, propolisin beyin dokusunda, asetilkolinesteraz ve oksidatif stres üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Deney hayvanları

Araştırmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Hayvan Deneylei Üitesinden sağlanan 35 adet 20-25 g ağırlığında, erkek fare kullanıldı. Bu amaçla, deney hayvanları 5 gruba ayrıldı ve her grupta 7 adet fare yer aldı. Deney hayvanları, 12/12 saat ışık/karanlık periyodunda ve 18-22 °C' de tutuldu. Farelere; deneysel uygulama öncesi 5 gün süreyle adaptasyon amacıyla karantina altına alındı.

Araştırma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneylei Yerel Etik Kurulu'nun 29.12.2016 tarih ve 2016/12 sayı izni ve etik kurul denetçileri gözetiminde etik kurul prensiplerine göre gerçekleştirildi.

3.1.2. Laboratuvar gereçleri ve kimyasal maddeler

- 1- Enjektör 5 mL
- 2- Doku saklama kabı plastik vida kapaklı
- 3- Otomatik pipet uçları (sarı; 10-100 uL, mavi; 250-1000 uL, beyaz; 5 mL)
- 4- Propolis ekstraktı
- 5- Ependorf tüp 1.5 ml
- 6- Non-steril eldiven large
- 7- Fare 35 adet (20-25 g)
- 8- Falkon tüp burgulu kapaklı, 15 mL
- 9- Rompun 50 mL
- 10- Valproat (100 mg/kg)
- 11- Asetilkolinesteraz enzim test kiti (Rel assay)
- 12- Toplam antioksidan seviye (TAS) test kiti (Rel assay)
- 13- Toplam oksidan seviye (TOS) test kiti (Rel assay)
- 14- İnsülin enjektörü ucu çıkartılabilir 1 mL
- 15- Pentilentetrazol (PTZ)
- 16- Alfamin (Ketamin-HCl)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme gruplarının oluşturulması

Deney grupları

Deneyde kullanılacak hayvanlar, randomize olarak 7 gün boyunca 5 gruba ayrıldı ve her grupta 7 adet fare yer aldı.

-Kontrol grubu: SF + SF uygulandı.

-PTZ grubu: SF + PTZ (65 mg/kg, i.p) uygulandı.

-Propolis grubu: Propolis (100 mg/kg) intragastrik gavaj yoluyla ve 45 dakika sonra SF uygulandı.

-PTZ + Propolis grubu: Propolis (100 mg/kg) intragastrik gavaj yoluyla ve 45 dakika sonra PTZ (65 mg/kg, i.p) uygulandı.

-PTZ + valproik asit grubu: Valproat (100 mg/kg, i.p) 45 dakika sonra PTZ (65 mg/kg, i.p) uygulandı.

Gruplardaki tüm farelere 7 gün boyunca standart fare yemi verildi. Propolis grubu farelere her gün fare yemi ve propolis ekstresi (100 mg/kg) 0.5 mL distile suda çözdürülerek intragastrik gavaj yoluyla verildi. Test günü PTZ (65 mg/kg) ve valproik asit (100 mg/kg) grubu farelere intraperitoneal olarak uygulandı (Bhosle, 2013).

3.2.2. Propolis ekstraksiyonu

Propolis, Hakkari'nin Yüksekova ilçesinde yer alan kovanların çerçevesi üzerlerinden 2017 yılı eylül ayında toplatılarak temin edildi. Propolis örnekleri uygulamaya kadar -20°C 'de derin dondurucuda karanlık bir ortamda muhafaza edildi. Rengi mat (donuk) olan propolis, uygulama günü toz haline getirilerek ekstraksiyon için kullanıma hazırlandı.

Ham propolis %70'lik etil alkolle ekstrakte edildi. 100 mL etil alkol içerisine 30 gr propolis ilave edilerek oda sıcaklığında ve karanlık ortamda, 36 saat süre ile karıştırıldı. Elde edilen karışım, 2 defa filtre kâğıdında süzüldü ve evaporasyon ile kurutulduktan sonra kullanılacak zamana kadar ışıktan korunarak 4°C de muhafaza edildi (Talas ve Gulhan, 2008). Farelere 7 gün boyunca propolis ekstraktı intragastrik

gavaj ile uygulandı. Test günü PTZ uygulamasından (65 mg/kg, i.p) 45 dakika önce hayvanlara propolis uygulandı (Bhosle, 2013).

3.2.3. Deney hayvanlarına epilepsi oluşturulması ve propolisin uygulanması

Farelere 7 gün boyunca standart fare yemi ile propolis ekstresi (100 mg/kg) ve 0.5 mL distile suda çözülürerek intragastrik gavaj yoluyla verildi. Test günü PTZ uygulamasından (65 mg/kg, i.p) 45 dakika önce hayvanlara propolis intragastrik gavaj yoluyla uygulandı ve 30 dakika boyunca davranışsal belirtileri izlendi. Valproat (100 mg/kg, i.p) verildikten 45 dakika sonra PTZ uygulandı. Her grupta latens periyod ve nöbet skorları PTZ enjeksiyonundan hemen sonra 30 dakika süre boyunca izlendi ve kayıt altına alındı. Kontrol grubundaki farelere ise, çalışmanın aynı günlerinde her bir fareye 0.5 ml SF uygulandı. PTZ enjeksiyonun ardında 30 dakika boyunca nöbetler olup olmadığı ve letalite değerlendirilerek kayıt tutularak skorlandı. Ayrıca PTZ enjeksiyonundan nöbet oluşumuna kadar geçen süre “başlama süresi” (latens periyod) ve toplam nöbet süresi kaydedildi (Obay ve ark., 2008).

Deney hayvanların PTZ nöbet skorlamasında kullanılan davranış parametreleri tablo 1'e göre saptandı (Coppola ve ark., 2010);

Tablo 1. Nöbet skorlamasında kullanılan davranış parametreleri

Nöbet Skoru	Gözlemlenen Davranışlar	Doğrulma Refleksi
0	Nöbet yok	Var
1	Kasın geçici olarak kasılıp sarsılması (Kulak ve yüzde seğirmeler)	Var
2	Şahlanma olmaksızın miyoklonik jerkler	Var
3	Şahlanma ile birlikte miyoklonik jerkler	Var
4	Tonik-klonik nöbetle birlikte bir yana devrilme	Yok
5	Jeneralize klonik-tonik nöbetler ve iki yana devrilme	Yok

3.2.4. Beyin dokusu homojenatı hazırlanması

Beyin dokusu örnekleri serum fizyolojik ile yıkanıp kanı temizlendikten sonra bir süzgeç kağıdı ile kurutularak tartılıp ve kaydedildi. Gerekli miktarda serum fizyolojik ile cam boncuk yardımıyla dismembratörde çok çabuk olarak homojenize edildi. Doku homojenatı ayrı ayrı küçük kısımlara ayrılarak ependorf tüpleri içinde, gerekli bilgiler üzerlerine yazılarak derin dondurucuda çalışılacağı güne kadar saklandı. Aynı gün çalışılacaksa +4°C buzdolabında bekletildi.

%10 gramlık doku homojenatı için gerekli olan serum fizyolojik hacmi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Serum fizyolojik hacmi (ml)} = \frac{\text{Nemli doku tartımı (mg)}}{100} \times 100$$

Beyin dokusu tamponunun hazırlanması: 0.356 g sodyum fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 8.25 g sakkaroz bir miktar distile suda çözüldü. pH 8'e ayarlanıp toplam hacim 100 mL'ye tamamlandı.

3.2.5. Biyokimyasal analizler

3.2.5.1. Beyin dokusunda protein tayini (Lowry yöntemi)

Deneyin prensibi: Alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşmaktadır. Bu kompleks fosfomolibdatfosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteus-Phenol reaktifi) reduklemekte ve koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Lowry ve ark., 1961).

Kullanılan reaktifler:

-A reaktifi: 0.1 N NaOH çözeltisi kullanılarak %2'lik Na_2CO_3 çözeltisi

-B₁ reaktifi: %1'lik $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi

-B₂ reaktifi: %2'lik Na-K-Tartarat çözeltisi

-B reaktifi: B₁ ve B₂ eşit hacimde karıştırıldı.

-C reaktifi: 50 mL B reaktifine 1mL A reaktifi eklendi. Reaktif taze hazırlandı ve bekletilmeden kullanıldı.

-D reaktifi: 1 mL Folin-Ciocalteus-Phenol reaktifi, 5 mL distile su ile karıştırıldı.

Protein standardı: 250 mg/100 mL bovin serum albümin (BSA) 20, 40, 80, 160, 320, 640 µg/mL protein içerecek biçimde dilüe edilerek çalışma standartları hazırlandı.

Deneyin yapılışı: Ağzı kapanan tüplere;

Tablo 2. Deneyi yapılışı esnasında uygulanan çalışma standartları (µL)

	Kör tüpü	Numune tüpü	Standart
Numune (µL)	-	300	-
Distile su (µL)	300	-	-
Standart (µL)	-	-	300
C reaktifi (µL)	3000	3000	3000
Karıştırılarak 15 dakika beklendi.			
D reaktifi(µL)	300	300	300

Tüpler vortekslenerek 20-30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Spektrofotometrede 750 nm'de numunenin ve standardın absorbansı köre karşı okundu. Her bir örnek için protein miktarı, bovin serum albümin (BSA) standart çözeltileri ile hazırlanan standart eğrisine göre ve dilüsyon faktörüyle çarpılarak hesaplandı. %10'luk doku homojenatlarında ve 10.000 g süpernatant fraksiyonlarında protein miktarı mg olarak bulundu.

3.2.5.2. Beyin dokusunda asetilkolinesteraz enziminin aktivite tayini

Deneyin prensibi: Deneme sürecinde epilepsi olan farelerde asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi spektrofotometre 412 nm cihazında analiz edildi (Ellman ve ark., 1961).

Ayırarlar:

-5, 5'-ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) çözeltisi hazırlanışı: 8.75 g sodyum fosfat ve 1.5 g NaHCO₃ yaklaşık 950 mL distile suda çözüldü, pH 7'ye ayarlandı ve bu çözeltide 3.96 g DTNB çözülerek hacmi distile su ile 1 litreye tamamlandı.

-Asetiltiyokolin çözeltisi hazırlanışı: 0.50868 g asetiltiyokoliniyodür alındı bir miktar 0.05 M (pH=8) sodyum fosfat tamponu içinde çözüldü. Hacmi aynı tampon ile 100 mL'ye tamamlandı.

-0.05 M, pH 8 sodyum fosfat tamponun hazırlanışı: 8.75 g sodyum fosfat dihidrat 900 mL distile suda çözüldü ve 1 N NaOH çözeltisiyle pH 8'e ayarlandı. Daha sonra solusyon distile su ile 1 litreye tamamlandı.

-İzotonik çözelti hazırlanışı: 9 g NaCl alındı. Yaklaşık olarak 950 mL distile suda çözüldü ve hacmi distile su ile birlikte 1000 mL ye tamamlandı.

Deneyin yapılışı: İki tüp alındı ve tüplerin her birine 0.1 mL DTNB belirteci ve 0.1 mL uygun seyreltilmiş enzim konuldu. Tüplerden kör olarak kullanılacak olan 65 °C'deki su banyosunda 3 dakika tutularak enzim inaktive edildi. Daha sonra tüplerin her birine 2.7 mL 0.05 M pH 8'deki sodyum fosfat tamponu ilave edildi. Tüpler karıştırıldı ve 5 dakika 37 °C'de ön inkübasyona tabi tutuldu. Her bir tüpe 0.1 mL 3 mM'lik substrat (asetiltiyokoliniyodür) çözeltisi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Tüpler tekrar karıştırıldı ve 10 dakika 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. 10 dakika sonra tüplerin 412 nm'deki absorbansları ölçülerek absorbanslarındaki artış miktarı tespit edildi.

Hesaplama:

$$\text{AChE aktivitesi (U/mL)} = \frac{\Delta\text{OD}}{t} \times \frac{V_t}{V_0} \times \frac{1}{13.6}$$

ΔOD = Zamana göre absorbans değişimi

t = Zaman

V_t = Toplam hacim

V_0 = Örnek hacmi

$$\text{AChE Spesifik Aktivitesi (U/mg protein)} = \frac{\text{AChE Aktivitesi}}{\text{Protein Miktarı}}$$

3.2.5.3. Beyin dokusunda toplam oksidan seviye (TOS) tayini

Beyin dokusunun toplam oksidan seviye (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler ELISA yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/mg protein olarak ifade edildi (Erel, 2005).

3.2.5.4. Beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS) tayini

Beyin dokusunun toplam antioksidan seviye (TAS) düzeyi Rel Assay marka ticari kitler ELISA yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm metodu örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/mg protein olarak ifade edildi (Erel, 2004).

3.2.6. Oksidatif stres indeksi (OSİ) ölçümü

Oksidatif stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), toplam oksidan seviye (TOS) düzeylerinin toplam antioksidan seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin oksidatif stres indeksi hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, mmol trolox Equiv. / L.}} \times 100$$

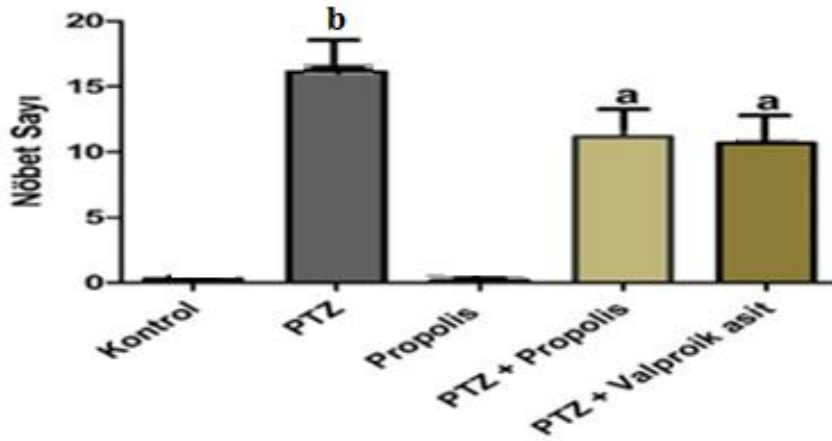
3.2.7. İstatistik analiz

Bu değişkenler bakımından grupları karşılaştırmada Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. Tüm parametreler için gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların test edilmesinde ANOVA ve alt grup karşılaştırmalarında Dunnet çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınarak, ortalama \pm standart sapma $X \pm SD$ olarak değerlendirildi ve hesaplamalar için SPSS 13.00 for Windows istatistik paket programından yararlanıldı.

4. BULGULAR

4.1. PTZ'ye bağlı gelişen nöbet sayısı üzerine valproat ve propolis etkileri

Farelere 7 gün boyunca, serum fizyolojik ve propolis (100 mg/kg) uygulandı. Test günü PTZ (65 mg/kg, i.p) uygulamasından 45 dakika önce hayvanlara propolis (100 mg/kg) ve valproat (100 mg/kg, i.p) verilerek 30 dakika boyunca davranışsal belirtiler izlendi. Hayvanlar PTZ uygulamasından hemen sonra şeffaf pleksiglas kafeslere yerleştirilerek 30 dakika boyunca nöbet olup olmadığı değerlendirildi. İstatistik olarak değerlendirildiği zaman, kontrol grubu ile PTZ grubu karşılaştırıldığında, anlamlı olarak PTZ grubunda nöbet sayısında fazla saptandı ($p<0.05$). Ayrıca PTZ grubu ile karşılaştırıldığında valproik asit ve propolis grubunda istatistik olarak anlamlılık saptandı ($p<0.05$) (şekil 1).



Şekil 1. Deney gruplarında nöbet sayıları ortalama (\pm SEM) değerleri.

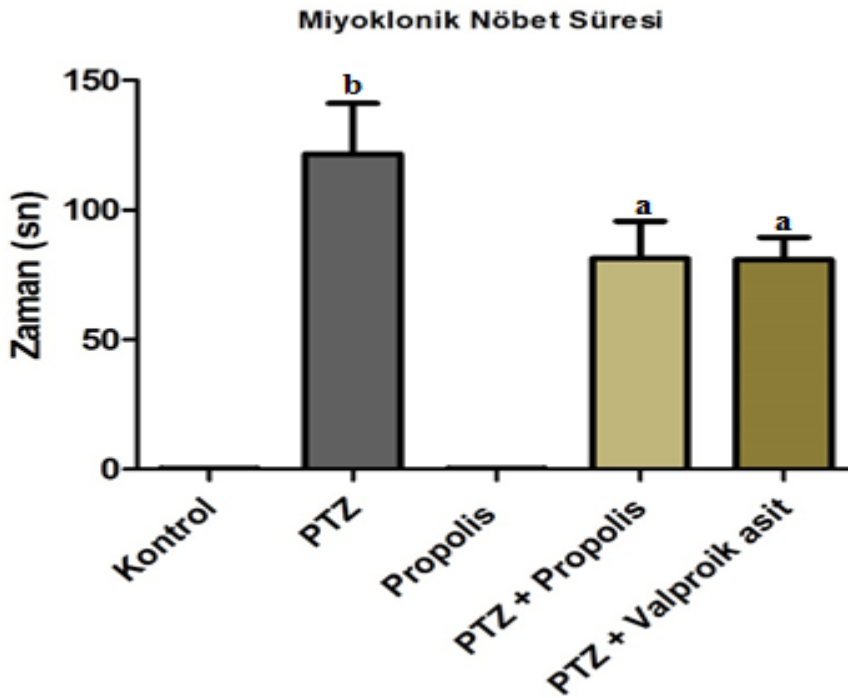
Kontrol grubuna göre: $^b p<0.05$

PTZ grubuna göre : $^a p<0.05$

Farklı harfler istatistik olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)

4.2. PTZ'ye bağlı gelişen miyoklonik nöbet süresine valproat ve propolis etkileri

Test günü PTZ (65 mg/kg, i.p) uygulamasından 45 dakika önce hayvanlara propolis (100 mg/kg) ve valproat (100 mg/kg, i.p.) verilerek 30 dakika boyunca miyoklonik nöbet süresi izlendi. İstatistik olarak değerlendirildiği zaman, kontrol grubu ile PTZ grubu karşılaştırıldığında, anlamlı olarak PTZ grubunda miyoklonik nöbet süresi fazla olduğu saptandı ($p < 0.05$). Fakat PTZ grubu ile karşılatıldığında valproik asit ve propolis grubunda istatistik olarak anlamlılık saptanmadı ($p > 0.05$) (şekil 2).



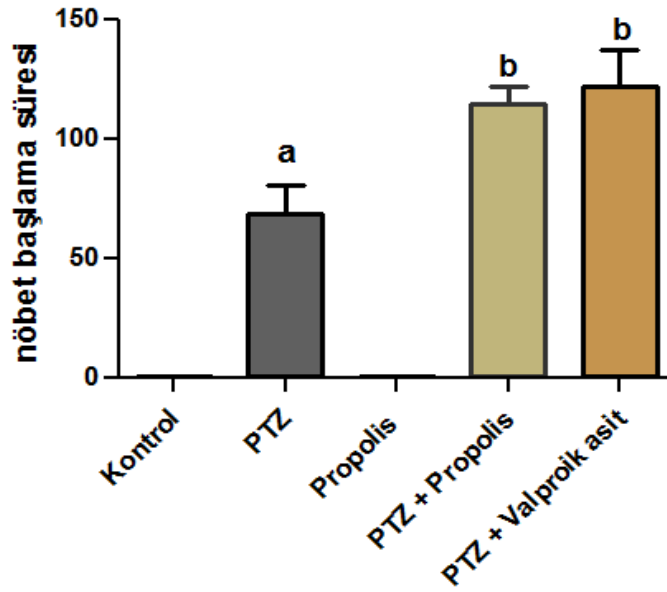
Şekil 2. Deney gruplarında miyoklonik nöbet sürelerinin ortalama (\pm SEM) değerleri

Kontrol grubuna göre: ^b $p < 0.05$

Farklı harfler istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$)

4.3. PTZ'ye bağılı gelişen nöbet başlama süresi üzerine valproat ve propolis etkileri

Farelere 7 gün boyunca, serum fizyolojik ve propolis (100 mg/kg) uygulandı. Test günü PTZ (65 mg/kg, i.p.) uygulamasından 45 dakika önce hayvanlara propolis (100 mg/kg) ve valproat (100 mg/kg, i.p) verilerek 30 dakika boyunca davranışsal belirtiler izlendi. Hayvanlar PTZ uygulamasından hemen sonra sonra şeffaf pleksiglas kafeslere yerleştirilerek 30 dakika boyunca nöbet olup olmadığı değerlendirildi. İstatistik olarak değerlendirildiği zaman, kontrol grubu ile PTZ grubu karşılaştırıldığında, anlamlı olarak PTZ grubunda nöbet başlama sürelerinin fazla olduğu saptandı ($p<0.05$). Ayrıca PTZ grubu ile karşılatıldığında valproik asit ve propolis grubunda istatistik olarak anlamlılık saptandı ($p<0.05$) (Şekil 3).



Şekil 3. Deney gruplarında nöbet başlama sürelerinin ortalama (\pm SEM) değerleri

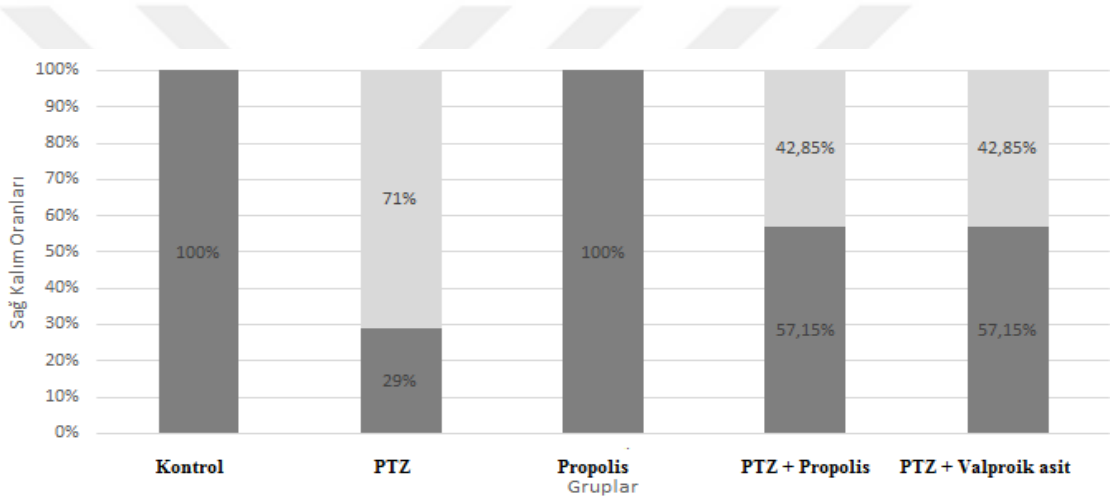
Kontrol grubuna göre: ^a $p<0.05$

PTZ grubuna göre : ^b $p<0.05$

Farklı harfler istatistik olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)

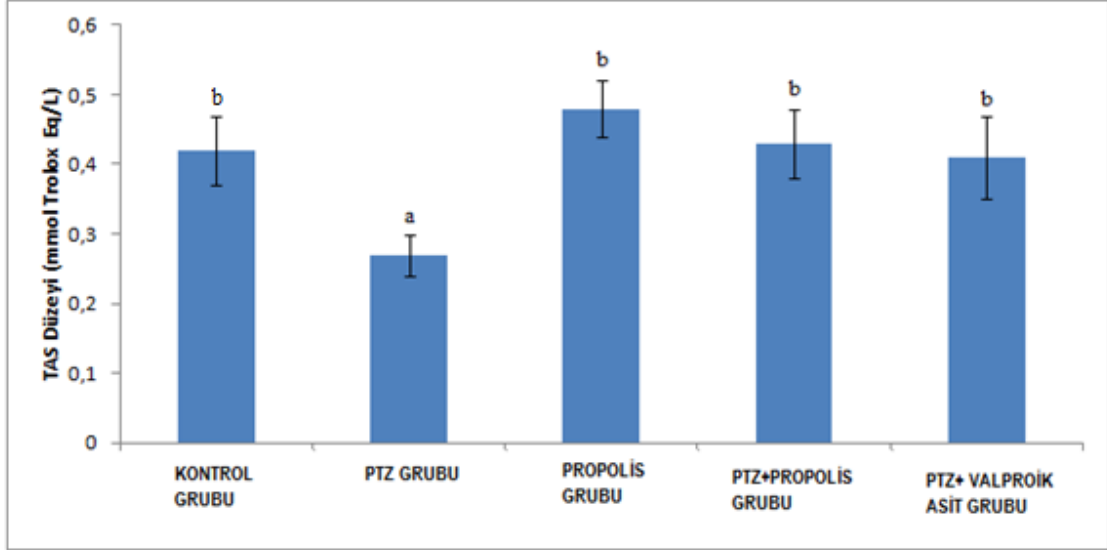
4.4. PTZ'ye bağlı epilepsi modelinde sağ kalım üzerine valproat ve propolis etkileri

Farelere 7 gün boyunca, serum fizyolojik ve propolis (100 mg/kg) uygulandı. Test günü PTZ uygulamasından (65 mg/kg, i.p) 45 dakika önce hayvanlara propolis (100 mg/kg) ve valproat (100 mg/kg, i.p) verilerek 30 dakika boyunca davranışsal belirtiler izlendi. Hayvanlar PTZ uygulamasından hemen sonra sonra şeffaf pleksiglas kafeslere yerleştirilerek 30 dakika boyunca ölüm olup olmadığı değerlendirildi. İstatistik olarak değerlendirildiği zaman, Kontrol grubu ve propolis gruplarında ölüm olmazken, PTZ grubunda %71, PTZ+Propolis ve PTZ+Valproik asit gruplarında %43 oranında ölüm görüldü (şekil 4).



şekil 4. Deney gruplarında sağ kalım % üzerine valproat ve propolisin etkileri

Propolis ekstresinin, epileptik farelerde beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS) düzeylerindeki değişimlerin biyokimyasal parametreler üzerine etkileri Şekil 5'te verildi.



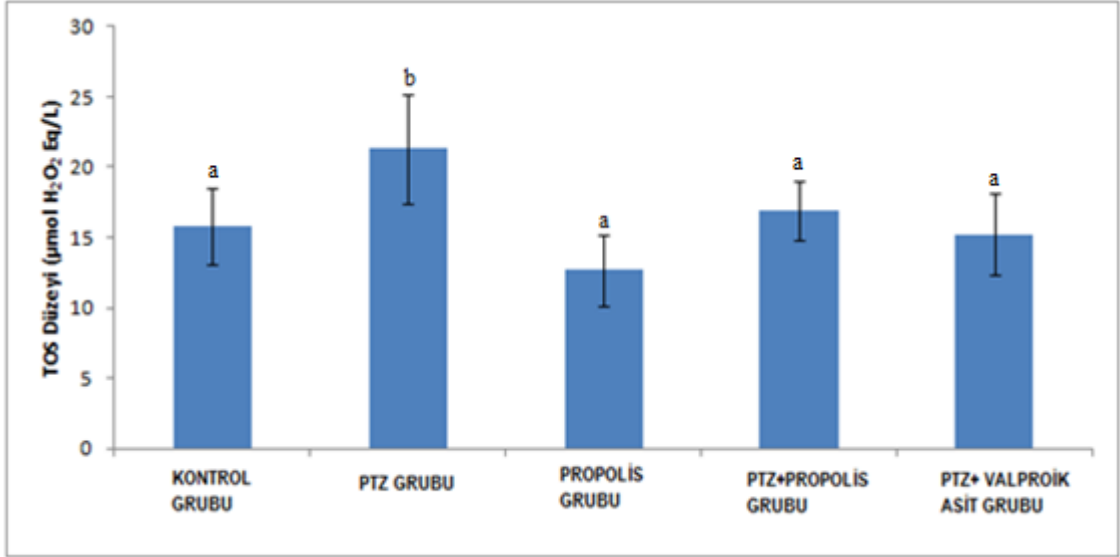
Şekil 5. Deneme gruplarının beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS) düzeyleri

^a Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$)

^b PTZ grubu ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$)

Farklı harfler istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$)

Propolis ekstresinin, epileptik farelerde beyin dokusunda toplam oksidan seviye (TOS) düzeylerindeki değişimlerin biyokimyasal parametreler üzerine etkileri Şekil 6'da verildi.



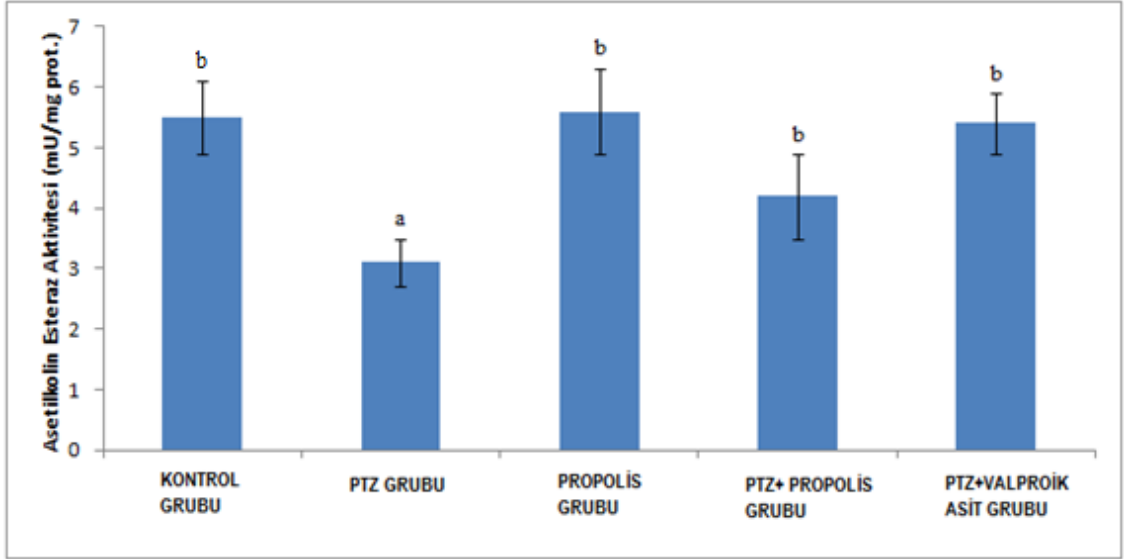
Şekil 6. Deneme gruplarının beyin dokusunda toplam oksidan seviye (TOS) düzeyleri

^b Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$)

^a PTZ grubu ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$)

Farklı harfler istatistik olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$)

Propolis ekstresinin, epileptik farelerde beyin dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi düzeylerindeki değişimlerin biyokimyasal parametreler üzerine etkileri Şekil 7’de verildi.



Şekil 7. Deneme gruplarının beyin dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivite düzeyleri

^a Kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)

^b PTZ grubu ile kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)

Farklı harfler istatistik olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$)

Tablo 3’de belirtildiği gibi beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS) düzeyleri; kontrol grubu 0.42 ± 0.05 mmol Trolox Eq/L, PTZ grubu 0.27 ± 0.03 mmol Trolox Eq/L, propolis grubu 0.48 ± 0.04 mmol Trolox Eq/L, PTZ+Propolis grubu 0.43 ± 0.05 mmol Trolox Eq/L ve PTZ+Valproik asit grubu 0.41 ± 0.06 mmol Trolox Eq/L düzeyinde olduğu belirlendi. PTZ grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistik olarak anlamlı ölçüde düşük bulundu ($p<0.05$). Propolis grubu, PTZ+Propolis grubu, PTZ+Valproik asit grubu ile PTZ grubu kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu ($p<0.05$).

Tablo 3. Deneme gruplarının beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS), toplam oksidan seviye (TOS) ve asetilkolinesteraz (AChE) düzeyleri

Gruplar	TAS Düzeyi (mmol Trolox Eq/L)	TOS Düzeyi ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L)	OSİ İndeksi Hesap ile	Asetilkolin esteraz Spesifik Aktivitesi (mU/mg prot.)
Kontrol	0.42 \pm 0.05 ^b	15.8 \pm 2.7 ^a	3762 \pm 4 ^a	5.5 \pm 0.6 ^b
PTZ	0.27 \pm 0.03 ^a	21.3 \pm 3.9 ^b	7889 \pm 818 ^b	3.1 \pm 0.4 ^a
Propolis	0.48 \pm 0.04 ^b	12.7 \pm 2.5 ^a	2646 \pm 355 ^a	5.6 \pm 0.7 ^b
PTZ + Propolis	0.43 \pm 0.05 ^b	16.9 \pm 2.1 ^a	3930 \pm 459 ^a	4.2 \pm 0.7 ^b
PTZ + Valproik asit	0.41 \pm 0.06 ^b	15.2 \pm 2.9 ^a	3707 \pm 538 ^a	5.4 \pm 0.5 ^b

*Ortalama \pm standart sapma (X \pm SD) olarak değerlendirildi.

Sütunlar incelendiğinde farklı harfler istatistik olarak önemlidir (p<0.05)

Tablo 3’de belirtildiği gibi beyin dokusunda toplam oksidan seviye (TOS) düzeyleri; kontrol grubu 15.8 \pm 2.7 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L, PTZ grubu 21.3 \pm 3.9 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L, propolis grubu 12.7 \pm 2.5 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L, grubu PTZ+Propolis grubu 16.9 \pm 2.1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L ve PTZ+Valproik asit grubu 15.2 \pm 2.9 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L düzeyinde olduğu belirlendi. PTZ grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistik olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu (p<0.05). Propolis grubu, PTZ+Propolis grubu, PTZ+Valproik asit grubu ile PTZ grubu kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı ölçüde düşük bulundu (p<0.05).

Tablo 3’de belirtildiği gibi beyin dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivite düzeyleri; kontrol grubu 5.5 \pm 0.6 mU/mg prot, PTZ grubu 3.1 \pm 0.4 mU/mg prot, propolis grubu 5.6 \pm 0.7 mU/mg prot, PTZ+Propolis grubu 4.2 \pm 0.7 mU/mg prot ve PTZ+Valproik asit grubu 5.4 \pm 0.5 mU/mg prot düzeyinde olduğu belirlendi. PTZ grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman istatistik olarak anlamlı ölçüde düşük bulundu (p<0.05). Propolis grubu, PTZ+Propolis grubu, PTZ+Valproik asit grubu ile PTZ grubu kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı ölçüde yüksek bulundu (p<0.05).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi, beyindeki sinir hücrelerinin hızlı, artmış nöronal uyarılabilirliğine bağlı olarak meydana gelen ve kronik olarak ilerleyen bir beyin hastalığıdır. Toplumun yaklaşık % 0.5-1'de görülmektedir. Hastaların yaklaşık %30 antiepileptik ilaç kullanmasına rağmen epileptik nöbetler devam etmektedir. Kontrol edilemeyen bu nöbetler sonucu mortalite ve morbidite meydana gelebilmektedir. Nöbetler, santral sinir sisteminin inhibisyonu ile eksitasyonu arasındaki koordinasyonun bozulması sonucunda ortaya çıkarlar. Epilepsinin oluşum mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte ileri sürülen hipotezlerden bir tanesi; iyonik iletide bir bozukluğa yol açabilecek intrinsik nöronal membran ve moleküler kanal değişiklikleridir. Epilepsili hastaların kullandıkları antiepileptik ilaçlar ile nöbetlerin engellenmesi veya sayılarının azaltılması hedeflenmektedir. Bu yönde çalışmalar yapılarak epilepsi tipine uygun ve farmakoekonomik olarak ulaşılabilir ilaçların geliştirilmesi hedeflenmektedir (İlhan ve ark., 2005; Fisher ve ark., 2005; Allahverdiyev ve ark., 2018).

Epileptogenez, ilk nöbet evvelinde oluşan ve epileptik beynin spontane tekrarlayıcı nöbetlere eğilimli, nöbet sıklığını fazlaştıran ve epilepsiyi tedaviye karşı dirençli hale getiren olayları içermektedir. Etiyolojisinde kafa travması, genetik malformasyon, inme veya enfeksiyon gibi bir hasar oluşmakta ve daha sonra epileptogenez oluşması sebebiyle bir sessiz dönem geçtikten sonra, bunu kendiliğinden tekrarlayıcı nöbetler izlemektedir. Oluşan elektriksel deşarjlara bağlı olarak gelişen bu nöbetler kontrol altına alınmadığı takdirde, hayat kalitesi düşmekte ve ilerleyen dönemlerden ölümle sonuçlanabilmektedir (İlhan ve ark., 2005; Fisher ve ark., 2005; Allahverdiyev ve ark., 2018).

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. Farklı epileptik deneysel hayvan modelleri oluşturularak epilepsi ve nöbetlerin oluşum mekanizmasını anlamaya yönelik pek çok çalışma yapılmasına ve pek çok antiepileptik ilaç kullanılmasına karşın, epilepsinin hücresel temeli tam olarak anlaşılamamış ve tüm

epilepsi tipleri için etkin bir antiepileptik ilaç bulunamamıştır (İlhan ve ark., 2005; Fisher ve ark., 2005; Allahverdiyev ve ark., 2018).

Çalışmamızda PTZ modeli kullanıldı. PTZ'nin, GABAA reseptörlerini bloke ederek etkisini gösterdiği yapılan çalışmalarda ileri sürülmektedir (Corda ve ark., 1991). PTZ ile indüklenen kimyasal kindling nöbetleri, insan absans epilepsisi ve miyoklonik, jeneralize tonik klonik epilepsi nöbetlerinin (Rossi, 1996) bir hayvan modelidir (Wu ve ark., 2006). Bu model ilaç geliştirmek için sık kullanılan bir epilepsi modelidir (Ali ve ark., 2005).

Çalışmamızda farelere 7 gün boyunca, serum fizyolojik ve propolis uygulandı. Test günü PTZ (65 mg/kg, i.p) uygulamasından 45 dakika önce hayvanlara propolis (100 mg/kg) ve valproat (100 mg/kg, i.p) verilerek 30 dakika boyunca davranışsal belirtiler izlendi. İstatistik olarak değerlendirildiği zaman, kontrol grubu ile PTZ grubu karşılaştırıldığında, anlamlı olarak PTZ grubunda nöbet sayıları fazla olduğu saptandı ($p<0.05$). Ayrıca PTZ grubu ile karşılatıldığında valproik asit ve propolis grubunda istatistik olarak anlamlılık saptandı ($p<0.05$) (Şekil 1). Sonuçlarımız, 65 mg/kg PTZ enjeksiyonunun 30 dk ve üzerinde süren nöbetler oluşturduğunu göstermektedir.

Propolisin farklı çalışmalara GABA reseptörü üzerine agonis etkileri gösterilmiştir. GABA reseptörlerinin de epilepsi de en önemli reseptör olduğu bilinmektedir. Muhtemelen propolis GABA reseptörü üzerinden etki göstererek bu etkileri ortaya çıkarmış olabilir (Da Silveira ve ark. 2016; Mohamed ve ark. 2016). Propoliste içeriğinde flavanoidler ve türevleri bulunmaktadır aynı zamanda bu maddelerin antioksidan etkilerinin olduğu bilinmektedir (Türkez ve ark., 2010). Farklı çalışmalarda antioksidan özelliği olan maddelerin epileptik nöbetlerin azaldığı tespit edilmiştir (İlhan ve ark., 2004; İlhan ve ark., 2005; Goel ve Saxena, 2008).

Test günü PTZ (65 mg/kg, i.p) uygulamasından 45 dakika önce hayvanlara propolis (100 mg/kg) ve valproat (100 mg/kg, i.p) verilerek 30 dakika boyunca miyoklonik nöbet süresi izlendi. Hayvanlar PTZ uygulamasından hemen sonra sonra şeffaf pleksiglas kafeslere yerleştirilerek 30 dakika boyunca modifiye edilmiş Racine skalasına göre değerlendirildi. İstatistik olarak değerlendirildiği zaman, kontrol grubu ile PTZ grubu karşılaştırıldığında, anlamlı olarak PTZ grubunda miyoklonik nöbet

süresi fazla olduğu saptandı ($p<0.05$). Miyoklonik nöbet süresi açısından kontrol grubu ile diğer deney grupları karşılaştırıldığında aralarında istatistik bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 2). Bu sonuçlarımız da 65 mg/kg PTZ enjeksiyonunun miyoklonik nöbet süresi açısından literatürde ki sonuçlarla aynı yöndedir. Bu sonuçlar propolisin GABA reseptörü üzerine agonis etkileri göstermesine bağlı olabileceği düşünülebilir. Yukarda vurguladığımız gibi GABA reseptörlerinin epilepsi de en önemli reseptör olduğu bilinmektedir. Bu etkilerde de muhtemelen propolisin GABA reseptörü üzerindeki etkilerinden kaynaklanabilir (Da Silveira ve ark. 2016; Mohamed ve ark. 2016). Ayrıca propolisin antioksidan etkilerinin olduğuda bu etkilere katkıda bulunabilir (Türkez ve ark., 2010).

PTZ ve PTZ+Valproik asit grupları arasında nöbet başlama süreleri bakımından istatistik olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.05$) (Şekil 3). Ayrıca PTZ ve PTZ+Propolis grupları arasında nöbet başlama süreleri bakımından istatistik olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0.05$) (Şekil 3). Bu etkilerinde propolisin GABA reseptörü üzerindeki etkilerini ortaya çıkaracağını kanaatındayız.

PTZ bağlı epilepsi modelinde sağ kalım üzerine valproat ve propolis etkileri bakıldığında, ölüm oranında bir azalma söz konusudur. İstatistik olarak değerlendirildiği zaman, kontrol grubu ve propolis gruplarında ölüm olmazken, PTZ grubunda % 71, PTZ+Propolis ve PTZ+Valproik asit gruplarında % 43 oranında ölüm görüldü. Valproik asitin ve propolisin ölüm yüzdelerini azalttığı saptandı (Şekil 4).

Bu veriler GABA-mimetik ve antioksidan özelliği olan maddelerle yapılan çalışmalarla benzerlik teşkil etmektedir. Büyük olasılıkla bu etkilerde propolisin GABA-mimetik etkisi ve antioksidan etkisi ile ilişkilidir (İlhan ve ark., 2004; İlhan ve ark., 2005; Goel ve Saxena, 2008; Türkez ve ark., 2010; Da Silveira ve ark. 2016; Mohamed ve ark. 2016).

Araştırmada beyin dokusunun asetilkolinesteraz enzim aktivitesi, toplam antioksidan seviye ve toplam oksidan seviye düzeylerindeki değişimlerin biyokimyasal parametreleri araştırıldı. Reaktif oksijen türleri (ROS) metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilirler ve canlıda zararlı oksidatif reaksiyonlar oluşturabilirler. Bunlar enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalar yolu ile

uzaklaştırılabilirler. Bazı koşullar altında oksidanlarda artış ve antioksidanlarda azalma engellenemez ve oksidatif-antioksidatif denge oksidatif duruma doğru kayar. Netice olarak, 100'den fazla düzensizliğe sebep olan oksidatif stres gelişir. Antioksidan molekülleri bu zarar veren reaksiyonları önler veya inhibe eder. Farklı antioksidanların serum veya plazma konsantrasyonları ölçülebilir (Erel, 2004). Antioksidanlar, hedef moleküldeki oksidatif hasarı engelleyen ya da geciktiren hatta oluşan hasarı onaran maddelerdir. Endojen veya eksojen kaynaklı antioksidanlar bir oksidatif olayın değişik basamaklarında etkileyici olabilirler (Kıyıcı ve Yücel, 2007). Oksidan molekülleri ise endojen olarak organizmalarda üretilir ilâveten dış çevreden de alınabilirler (Erel, 2004).

İlhan ve ark. (2004, 2005) 'nın yaptığı çalışmalarda PTZ ile farelerde oluşturulan epileptik nöbetlerde beyin dokusunda malondialdehit (MDA) ve NO düzeylerinin arttığını, SOD aktivitesinin değişmediğini bildirmektedir. Obay ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada ratlarda PTZ ile oluşturdukları epileptik nöbet modelinde nöbet geçirenlerin beyin dokusunda MDA düzeyinin kontrollere göre arttığını, SOD, CAT, GSH düzeylerinin azaldığını göstermişlerdir. Erakovic ve ark. (2003) ise tek doz PTZ sonrası beyin dokusunda SOD aktivitesinin kontrollere göre anlamlı farklılığının olmadığını göstermiştir. Akbas ve ark. (2005), PTZ ile oluşturdukları nöbet modelinde SOD aktivitesinin kontrollerle karşılaştırıldığında eritrosit ve karaciğerde azalmış, CAT aktivitesinin ise eritrositte azalırken karaciğerde değişmemiş olduğunu bildirmiştir.

Freitas (2009) yaptığı çalışmada ratlarda pilokarpin ile oluşturulan epileptik nöbet modelinde hipokampusta MDA ve nitrit düzeylerinin arttığını ancak SOD ve CAT aktivitelerinin değişmediğini saptamıştır. Nazıroglu ve ark. (2008) yaptığı çalışmada PTZ ile nöbet oluşturulan ratların beyin korteksinde MDA düzeyinde kontrollere göre artış oluşurken NO düzeyinde değişiklik oluşmadığını bildirmiştir. Devi ve ark. (2008) yaptığı derlemede çeşitli epilepsi modellerinde beyin korteksindeki oksidatif stres bulgularını toplamıştır. Çalışmalarda SOD ve CAT aktiviteleri ile ilgili farklı sonuçlar vardır. Pilokarpin ile oluşturulan status epileptikus modelinde iki çalışmadan birinde CAT aktivitesinin azaldığı diğerinde arttığı; lityum-pilokarpin ile oluşturulan status epileptikus modelindeki bir çalışmada CAT aktivitesinin azaldığı; FeCl₂ ile oluşturulan nöbet modelini içeren bir çalışmada da CAT aktivitesinin arttığı

bildirilmiştir. SOD aktivitesinin birçok çalışmada arttığı bildirilmiş ancak PTZ ile oluşturulan kindling modelini içeren iki çalışmada ve elektroşok ile nöbet oluşturulan bir çalışmada SOD aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Tüfekçi (2010), yapmış olduğu çalışmasında beyin dokusunda MDA düzeylerini PTZ grubunda kontrole göre anlamlı oranda yüksek bulunduğunu belirtmiştir.

Bazı çalışmalar epileptik nöbet sırasında SOD, CAT ve NO düzeylerinin arttığını, bazıları değişmediğini, bazıları ise azaldığını bildirmektedir. Bu farklılıklar çalışmalarda kullanılan metodlardan kaynaklanıyor olabilir. Oksidatif stres sonucu oluşan enzim aktivitesindeki artış bir süre sonra enzimin bozulması nedeniyle azalabilir. Epilepsi ve NO arasındaki ilişki birçok çalışmada bildirilmiştir. Ancak bu ilişkinin doğası halen açık değildir. Bazı araştırmacılar NO oluşumunun inhibe edilmesinin nöbet oluşumunu önlediğini bildirmektedir (De Luca ve ark., 2006; Kaputlu ve Uzbay, 1997).

Tüfekçi ve ark. (2013), yaptığı çalışmada sıçanlarda pregabalinnin (PGB) oksidatif stresi önlediğini ve epileptik nöbetler esnasında beyin dokularında NO seviyesini arttırdığını göstermiştir. Artan NO düzeyinin PGB'in antiepileptik etkisine katkı sağladığını belirtmiştir.

Son senelerde çalışmalar, nöbetlerdeki oksidatif strese odaklanmıştır. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun ve oksidatif stres, epileptik nöbetlerin hem bir sonucu hem de sebebi olarak rolü olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. Deneysel nöbetlerin, reaktif oksijen gruplarının şiddetli salınımıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Birtakım çalışmalarda birçok antiepileptik ilacın oksidatif stresi artırdığı bildirilmektedir. Aynı şekilde akut PTZ indüklü epileptik nöbetler, beyin dokusunda oksidatif strese bir artışa sebep olmaktadır. PTZ indüklü epileptik ratlardaysa beyin dokusunda, SOD aktivitesinin düştüğü bildirilmektedir (Obay ve ark., 2008). Antiepileptik ilaçlar ve tekrarlayan nöbetler ile ilişkili zıt etki bunların kullanımını sınırlandırmaktadır. Artan sayıda veri epilepsi patofizyolojisinde oksidatif stresin alakasını akla getirmektedir. Aşırı oksidatif stres, lipid peroksidasyonu vasıtası ile nöronal dejenerasyona katkı sağlar ve epileptik odakta glutatyon konsantrasyonlarını azaltır (Agarwal ve ark., 2011).

Epilepsi hastalarında TAS değerleri üzerine yapılan bir deneysel çalışmada valproat adlı antiepileptik ilaçla tedavi edilen grupta, toplam antioksidan kapasite düzeylerinde düşüş görülürken, tedavi görmeyen epilepsi hastaları arasındaysa toplam antioksidan kapasitede belirgin şekilde azalma olduğu ifade edilmiştir (Hamed ve ark., 2004).

Epileptik hastalar ile yapılan bir başka çalışmada, hastaların kanlarındaki antioksidan statüsünün kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve AEİ tedavisi ile düzeldiği rapor edilmiştir (Sudha ve ark., 2001).

PTZ ile oluşturulan nöbetler apoptotik nörodejenerasyona sebep olmaktadır (Naseer ve ark., 2009). Aslında hem nekrotik hem de apoptotik mekanizmalar hasara katkı yapmaktadır. Bununla birlikte kindling nöbetlerinde, nöronal hasara sebep olan bir moleküler yolak olarak serbest radikal oluşumuna da temas etmektedir (Pitkänen ve Sutula, 2002).

Borrelli ve ark. (2002), yapmış olduğu çalışmada, propolisin içerdiği aminoasit, fenolik asit, flavonoid, terpen, steroid, aldehit ve ketonlar sayesinde antioksidan etki gösterdiğini ileri sürmüştür. Propolisin içinde bulunan fenolik bileşikler, antioksidan özellikleri sebebiyle, öncelikle kalp hastalıkları olmak üzere canlı yaşamını tehdit eden kanser gibi birçok hastalığın önlenmesinde önemli roller üstlenmişlerdir (MacDougall, 2002). Üstelik fenolik bileşiklerin kılcal damarlarda geçirgenliği fazlalaştırarak kan basıncını düşürdüğünü yapılan deneysel çalışmalarla tespit edilmiştir (Saldamlı, 2007).

Propolis üzerine yapılmış farklı deneysel çalışmalarda; selenitin sebep olduğu katarak formasyonu ve oksidatif stres üzerine koruyucu etki gösterdiği (Orhan ve ark., 1999), oksidatif stresin neden olduğu retinal hasara karşı lipid peroksidasyonu inhibe ederek nöroprotektif etki gösterdiği (Nakajima ve ark., 2007), karbon tetraklorürün neden olduğu oksidatif stresi ve olusan karaciğer hasarını önlediği (Bhadoria ve ark., 2007), in vivo ile sağlıklı insanlarda yapılan bir çalışmada, oral olarak propolisin verilmesiyle kan antioksidan aktivitesinde artış olduğu belirtilmiştir (Orhan ve ark., 1999).

Hosnuter ve ark. (2004), farelerde, propolisin önemli bileşiminden olan CAPE (kafeik asit fenil ester) uygulamasıyla MDA değerlerinde kontrol grubuna kıyasla önemli bir düşüş tespit etmişlerdir. Propolis ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme etkinliğine yönelik yapılan farklı çalışmalarda (Nagai ve ark., 2003; Okutan ve ark., 2005) da gerek MDA oluşum inhibisyonu gerekse OH⁻ oluşumunu ve membran lipoproteinlerinin oksidasyonunun önlenmesi mekanizmalarında propolis flavonoidlerinin değişen oranlarda etki ettiği belirtilmiştir.

Propolis ve diyabet ilişkisinin incelendiği araştırmalarda şeker hastalığında hücre membranlarının oksidatif hasara karşı artan duyarlılıklarının değişen oranlardaki propolis ile beslenme neticesinde azaldığı, oksidatif parametrelerde azalma ile beraber antioksidan enzim (GPx, CAT, SOD gibi) aktivitelerinin ise arttığını ortaya koymuştur (Okutan ve ark., 2005).

Kolankaya ve ark. (2002), yaptıkları deneysel çalışmada, Türkiye’de bulunan propolisinin erkek sıçanların karaciğerlerinde, alkolle indüklenmiş lipid değişimleri üzerine koruyucu etkisi olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmadaki araştırmacılar, propolisin yapısında bulunan konsantre flavonoidlerin etkili antioksidan özelliklerin olduğuna, aynı zamanda serbest radikallerin yok edilmesinde etkili olduğu ve hücre zarlarında lipid peroksidasyonuna karşı da koruyucu etkileri olduğunu ortaya koymuştur.

Isla ve ark. (2001), yaptığı bir araştırmada Arjantin propolis ekstraktının antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Bu deneysel araştırmada serum lipidlerinin oksidatif modifikasyonuna karşı propolisin koruyucu etkisi olduğu ifade edilmişlerdir. Araştırmacılar, propolisin doğal bir antioksidan olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda, flavonoidlerin serbest radikal oluşumunu azalttığını ve serum lipidleri üzerinde oksidasyona karşı koruyucu bir tesire sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Alyane ve ark. (2008), yaptığı çalışmada akut dozda doxorubicin verilen sıçanlarda kalp mitokondrilerindeki peroksidatif hasarı azaltmak için propolisten yararlanmışlardır. Bu çalışmada elde ettikleri veriler sonucunda, doğal kaynaklı antioksidanların kardiyotoksisiteyi azaltmada oldukça etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Doxorubicin (20 mg kg⁻¹, i.p) ilacının uygulaması neticesinde anormal biyokimyasal

değişimler gözlenmiş, anyon superoksit ve malondialdehit üretiminin arttığı; propolis uygulamasından sonra doxorubicin uygulanan sıçanlardaysa kalp mitokondrisindeki hasarın azaldığı bildirmişlerdir.

Okumuş (2014), yapmış olduğu çalışmada epileptik nöbetin oksidatif stres parametrelerini arttırdığı, antioksidan mekanizmaların oksidatif hasarı azaltmada yeterli olmadığını belirterek, antiepileptik tedaviye ilave edilecek antioksidan bileşenleri, oksidatif stresin ve epileptik nöbetlerin oluşturduğu nörodejenerasyonla terapötik mücadelede faydalı stratejiler olabileceğini ifade etmiştir.

Saral (2013), yapmış olduğu çalışmada kullanılan arı ürünlerinin (bal, propolis, polen ve arı sütü) antioksidan aktivitelerinin yapılarında bulunan total fenolik bileşiklerin oranına bağlı olarak değişme gösterdiği belirterek, bu arı ürünlerin antioksidan kapasitelerinin büyükten küçüğe doğru propolis, polen, arı sütü ve bal şeklinde sıralandığını tespit etmiştir. Sonuç olarak; propolis, polen, arı sütü ve balın toksik ajanlara karşı karaciğeri hasardan koruduklarını bulmuştur.

Yangı (2012), “Propolis ekstresinin deneysel inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine etkisi” adlı çalışmada propolisin sıçanlarda lipopolisakkarit ile oluşturulan inflamasyonun ve serbest radikallerin azaltılmasında etkili olduğunu tespit etmiştir.

Bozkurt ve Kurtoğlu (2010), yapmış oldukları çalışmalarında farelerde içme suyuyla uygulanan propolisin lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA değerlerini 20 mg ve 30 mg propolis gruplarında düşürdüğünü önemle belirtmişlerdir. Paşaoğlu (2011), çalışmada sıçanlara NO inhibitörü olan L-NAME uygulandıktan sonra meydana gelen oksidatif stresin propolis tarafından giderilebileceğini biyokimyasal analizler sonucunda tespit etmiştir.

Eser (2009), yapmış olduğu çalışmada metotreksat'ın yol açtığı ince barsak hasarı ve oksidatif stresi propolis ekstraktının azalttığını ve bu koruyucu etkinin propolis ekstaktının güçlü antioksidan aktivitesine atfedilebileceğini belirtmiştir.

Çalışmada Tablo 3’de belirtildiği gibi deneme gruplarının beyin dokusunda toplam antioksidan seviye (TAS) düzeyleri; PTZ grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman istatistik olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Propolis grubu, PTZ+Propolis grubu, PTZ+Valproik asit grubu ile PTZ grubu karşılaştırıldığı zaman istatistik olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Çalışmada Tablo 3’de belirtildiği gibi deneme gruplarının beyin dokusunda toplam oksidan seviye (TOS) düzeyleri; PTZ grubu, Kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman istatistik olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Propolis grubu, PTZ+Propolis grubu, PTZ+Valproik asit grubu ile PTZ grubu kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Çalışmada Tablo 3’de belirtildiği gibi deneme gruplarının beyin dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) aktivite düzeyleri; PTZ grubu, kontrol grubu kıyaslandığında istatistik olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Propolis grubu, PTZ+Propolis grubu, PTZ+Valproik asit grubu ile PTZ grubu karşılaştırıldığı zaman istatistik olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuç olarak;

- Yaptığımız çalışmada propolisin; epileptik nöbetleri önleyerek valproik asit tedavisi kadar etkili olduğunu ve MSS’de oluşan epileptik nöbetlerin zararlı etkilerini önlediğini ortaya koyduk. Propolis; yaptığımız çalışmada epileptik modelde toplam antioksidan seviyesini (TAS) attırdığını, toplam oksidan seviyesini (TOS) azalttığı ve asetilkolinesteraz (AChE) enzim seviyesini ise arttırdığını ortaya koyduk.

- Çalışmalarımızda doğal koruyucu ajan olarak kullandığımız propolisin içeriğinde bulunan flavonoid türevlerinin ve fenolik asitlerin oksidatif stresin giderilmesinde çok önemli işlevleri bulunduğu, propolis ekstresinin epilepsi modelinde oksidatif stresi azalttığı ve koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

- Çalışmadan elde edilen neticelerin değişik açılardan değerlendirilip, biyosistem üzerindeki sinir sistemini etkileyen ve psikolojik hastalıklarda uygulanabilirliği hususunda araştırmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz. Farklı floraya ait apiterapik ürünlerin (bal, polen ve propolis örneklerinin) sinir sisteminin değişik hastalıklarının tedavisi üzerine etkilerinin araştırılması yararlı olacaktır.

- Propolisin daha farklı miktarları ve farklı ekstraksiyon yöntemleri (etanol, su vb.) kullanılarak elde edilen propolis örneklerinin denenmesi ile yapılacak çalışmalardan alınabilecek farklı sonuçların pratikte yararlı olabileceği kanaatine varıldı.



KAYNAKLAR

- Agarwal NB, Jain S, Agarwal NK, Mediratta PK, Sharma KK. Modulation of pentylenetetrazole-induced kindling and oxidative stress by curcumin in mice. *Phytomedicine*. 2011;18(8-9):756-59.
- Ahmed MM, Arif M, Chiuma T, Kato T. Pentylenetetrazol-induced seizures affect the levels of prolyl oligopeptidase and glial proteins in rat brain regions, and attenuation by MK-801 pretreatment. *Neurochem Int*. 2005;47(4):248-59.
- Akbas SH, Yegin A, Ozben T. Effect of pentylenetetrazol-induced epileptic seizure on the antioxidant enzyme activities, glutathione and lipid peroxidation levels in rat erythrocytes and liver tissues. *Clin Biochem*. 2005;38(11):1009-14.
- Akdoğan I, Yonguc NG. Experimental epilepsy models and morphologic alterations of experimental epilepsy models in brain and hippocampus, underlying mechanisms of epilepsy, In *Tech*. 2011;15:269-82.
- Ali A, Ahmad FJ, Pillai KK, Vohora D. Amiloride protects against pentylenetetrazole-induced kindling in mice. *Br J Pharmacol*. 2005;145 (7):880-84.
- Allahverdiyev O, Berköz M, Dzhafar S, Yıldırım M. Advances in current medication and new therapeutic approaches in epilepsy. *East J Med*. 2018;23:48-59.
- Alyane M, Kebsa LB, Boussenane HN, Roubah H and Lahouel M. Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pak J Pharm Sci*. 2008;21:201-09.
- Andre V, Pineau N, Motte JE, Marescaux C, Nehlig A. Mapping of neuronal networks underlying generalized seizures induced by increasing doses of pentylenetetrazol in the immature and adult rat: a c-Fos immunohistochemical study. *Eur J Neurosci*. 1998;10(6):2094-106.
- Arslan S, Perçin D, Silici S, etal. The in vitro effects of propolis extracts prepared with different solvents on mutans streptococci. *J Health Sci*. 2010;3:68-73.
- Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease, *J American Oil Chem*. 1998;75(2):199-212.
- Avoli M. The epileptic hippocampus revisited: Back to the future. *Epilepsy Curr*. 2007;7(4):116-18.
- Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Deneysel epilepsi modelleri. *J Clin Exp Inves*. 2011a;2(1):118-23.
- Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Epilepsi oluşum mekanizmaları. *Konuralp Tıp Derg*. 2011b;3(3):42-45.
- Bankova V, Marcucci M, Castro S. Propolis recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*. 2000;31:3-15.
- Baykan B, Gürses C, Gökyiğit A. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, Nöroloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2004;280-285.
- Berkovic SF, Scheffer IE. Genetics of the epilepsies. *Curr Opin Neurol Current Opinion in Neurology*. 1999;12:177-82.

- Bertram EH, Williamson J. Kindling as a tool for studying the role of subcortical structures in limbic seizures. *ABBI*. 2005;55(1):137-45.
- Bhadauria M, Nirala SK, Shukla S. Propolis protects CYP 2E1 enzymatic activity and oxidative stress induced by carbon tetrachloride. *Mol Cell Biochem*. 5. 2007. DOI: 10, 1007, s11010-007-9443-4.
- Bhosle V. Anticonvulsant and antioxidant activity of aqueous leaves extract of *Desmodium triflorum* in mice against pentylene-tetrazole and maximal electroshock induced convulsion. *Braz J Pharmacog*. 2013;23(4):692-98.
- Bora İ, Yeni SN, Gürses C. *Epilepsi*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2008.
- Borrelli F, Maffia P, Pinto L, Lanaro A, Russu A, Capasso F, Lalenti A. Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*. 2002;73(1):53-63.
- Bozkurt AF, Kurtoğlu F. Farklı düzeylerde propolis uygulamalarının farelerde lipid peroksidasyonu (mda) ile bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin değerlendirilmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Konya: Selçuk Üniversitesi; 2010.
- Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure activity relationships. *Free Radic Biol Med*. 1997;22:749-60.
- Čolović M B, Krstić D Z, Lazarević-Pašti T D, Bondžić A M ve Vasić V M. Acetylcholinesterase inhibitors: Pharmacology and Toxicology. *Current Neuropharma*. 2013;11:315-35.
- Coppola G, Arcieri S, D'Aniello A. Levetiracetam in submaximal subcutaneous pentylene-tetrazol-induced seizures in rats. *Seizure*. 2010;19:296-99.
- Corda MG, Orlandi M, Lecca D, Carboni G, Frau V, Giorgi O. Pentylene-tetrazol-induced kindling in rats: effect of GABA function inhibitors. *Pharmacol Biochem Behav*. 1991;40(2):329-33.
- Corda MG, Orlandi M, Lecca D, Giorgi O. Decrease in GABAergic function induced by pentylene-tetrazol kindling in rats: Antagonism by MK-801. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992;262(2):792-800.
- Coşkun A. Beynimizde çakan şimşekler, epilepsi. *Bilim ve Teknik*. 2011;522:76-80.
- Çakıroğlu B. Asetilkolinesteraz (Ache) enziminin poliakrilik asit esaslı nanofiber membran üzerine kovalent immobilizasyonu [Yüksek Lisans Tezi]. İstanbul: Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü; 2015.
- Çolak E. Karbon tetrakloridin (CCL₄) indüklediği karaciğer hasarı ve oksidatif stres üzerine *Cynara scolymus* L. yaprağı ekstraktının etkileri [Yüksek Lisans Tezi 127 s]. Eskişehir: ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2011.
- Davoudi M, Shojaei A, Palizvan MR, Javan M, Mirnajafi-Zadeh J. Comparison between standard protocol and a novel window protocol for induction of pentylene-tetrazol kindled seizures in the rat. *Epilepsy Res*. 2013;106:54-63.
- Da Silveira CC, Fernandes LM, Silva ML, Luz DA, Gomes AR, Monteiro MC, Machado CS, Torres YR, de Lira TO, Ferreira AG, Fontes-Júnior EA, Maia CS. Neurobehavioral and antioxidant effects of ethanolic extract of yellow Propolis. *Oxid Med Cell Longev*. 2016. DOI: 10, 1155, 2016, 2906953.

- De Luca G, Di Giorgio RM, Macaione S, Calpona PP, Di Paola ED, Costa N. Amino acid levels in some brain areas of inducible nitric oxide synthase knock out mouse (iNOS^{-/-}) before and after pentylentetrazole kindling. *Pharmacol Biochem Behav.* 2006;85(4):804-12.
- Devi PU, Manocha A, Vohora D. Seizures, antiepileptics, antioxidants and oxidative stress: an insight for researchers. *Expert Opin Pharmacother.* 2008;9(18):3169-77.
- Dhir A. Pentylentetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Curr Protoc Neurosci.* 2012;9-37.
- Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev.* 1999;51(1):7-61.
- Doi T, Ueda Y, Nagatomo K, Willmore LJ. Role of glutamate and GABA transporters in development of pentylentetrazol-kindling. *Neurochem Res.* 2009;34(7):1324-31.
- Ellman GL, Courtney KD, Andres VJr & Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* 1961;7:88-95.
- Engel J. Seizures and epilepsy. Oxford University Press, New York; 2013.
- Erakovic V, Zupan G, Varljen J, Simonic A. Pentylentetrazol-induced seizures and kindling: Changes in free fatty acids, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activity. *Neurochem Int.* 2003;42(2):173-78.
- Erdoğan F, Küçük A, Gölgeli A. The assesment of the features of seizures and EEG in pentylentetrazol-induced kindling. *J Neur Sci.* 2006;23(2):84-92.
- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004;37:112-19.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38:1103–11.
- Eroğlu HE, Tatlısen A, Özkul Y. Mesane kanserli doku kültürlerindeki mikronükleus üzerine propolis ve mitomisin-c 'nin etkileri. *Erciyes Üniversitesi Sağ Bil Derg.* 2004;13(2):15-20.
- Eser B. Ratlarda metotreksatın yol açtığı intestinal mukoza hasarı ve oksidatif stres üzerine propolisin etkisi [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıklar Anabilim Dalı; 2009.
- Eşkazan E. Tarihte epilepsi ve epileptolojinin kısa tarihçesi, *Epilepsi*, Ed. 2008.
- Ettinger AB. Structural causes of epilepsy. *Neurol Clin.* 1994;12(1):41-56.
- Fisher R, Saul M. Overview of Epilepsy. *Book of Comprehensive Epilepsy Center*, Stanford; 1997.
- Fisher RS, Boas WVE, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J. Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the international league against epilepsy (ILAE) and the international bureau for epilepsy (IBE). *Epilepsia.* 2005;46(4):470-72.
- Freitas RM. The evaluation of effects of lipoic acid on the lipid peroxidation, nitrite formation and antioxidant enzymes in the hippocampus of rats after pilocarpine-induced seizures. *Neurosci Lett.* 2009;455(2):140-4.

- Getova D, Froestl W, Bowery NG. Effects of GABA_B receptor antagonism on the development of pentylenetetrazol-induced kindling in mice. *Brain Research*. 1998;809(2):182-88.
- Goddard GV. Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature*. 1967;214(5092):1020-21.
- Goel R, Saxena P. Pycnogenol protects against pentylenetetrazole-induced oxidative stress and seizures in mice. *Curr Clin Pharmacol*. 2008. DOI: 0.2174, 1574884714666181122110317.
- Hamed SA, Abdellah MM, El-Melegy N. Blood levels of trace elements, electrolytes, and oxidative stress/antioxidant systems in epileptic patients. *J Pharmacol Sci*. 2004;96(4):465-73.
- Haslam RHA. The nervous system. Eds: Johnstone MV. *Nelson Textbook of Pediatrics* 18th ed. WB Saunders Co, Philadelphia. 2007;2457-75.
- Henshall DC, Simon RP. Epilepsy and apoptosis pathways. *J Cereb Kan Akışı Metab*. 2005;25(12):1557-72.
- Hosnuter M, Gurel A, Babuccu O, Armutcu F, Kargi E, Isikdemir A. The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns*. 2004;30:121-5.
- İlhan A, Aladag MA, Kocer A, Boluk A, Gurel A, Armutcu F. Erdosteine ameliorates PTZ-induced oxidative stress in mice seizure model. *Brain Res Bull*. 2005;65(6):495-9.
- İlhan A, Iraz M, Gurel A, Armutcu F, Akyol O. Caffeic acid phenethyl ester exerts a neuroprotective effect on CNS against pentylenetetrazol-induced seizures in mice. *Neurochem Res*. 2004;29(12):2287-92.
- İlhan A, Iraz M, Kamisli S, Yigitoglu R. Pentylenetetrazol-induced kindling seizure attenuated by Ginkgo biloba extract (EGb 761) in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30(8):1504-10.
- Isla MI, Moreno MI, Sampietro AR. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *J Ethnopharmacol*. 2001;76(2):165-70.
- Kanbur M, Eraslan G, Silici S. Antioxidant effect of propolis against exposure to propetamphos in rats. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2009;72:909-915.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell, TM. *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill, New York; 2012.
- Kaputlu I, Uzbay T. L-NAME inhibits pentylenetetrazole and strychnine-induced seizures in mice. *Brain Res*. 1997;753(1):98-101.
- Kıyıcı A, Yücel D. Antiepileptik ilaç kullanımı ve oksidatif stres. *Tıp Araştırmaları Derg*. 2007;5(2):57-62.
- Klioueva IA, Van Luijtelaa EL, Chepurnova NE, Chepurnov SA. PTZ-induced seizures in rats: Effects of age and strain. *Physiol Behav*. 2001;72(3):421-6.
- Koc AN, Silici S. Comparative study of in vitro methods used to analyse the antifungal activity of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes*, *Ann Microbiol*. 2008;58:543-47.

- Kolankaya D, Selmanoğlu G, Sorkun K and Salih B. Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats, *Food Chem.* 2002;78:213–17.
- Kurutas EB, Güler FD, Kılınç M. Serbest radikaller. *Arşiv.* 2004;13:120-32.
- Kutluca S, Genç F, Korkmaz A. Propolis. Samsun Valiliği Tarım İl Müdürlüğü. Samsun. 2006;57.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1961;193:265-75.
- Löscher W. Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res.* 2002;50(1):105-23.
- Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure.* 2011;20(5):359-68.
- Löscher W, Ebert U. The role of the piriform cortex in kindling. *Progress in Neurobiology.* 1996;50(5):427-81.
- MacDougall DB. Colour in Food improving quality. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England. 2002;179-221.
- Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *OMÜ Tıp Derg.* 1997;14(3):147-86.
- Mehmetçik G, Özdemirler G, Koçak-Toker N, Çevikbaş U, Uysal M. Effect of pretreatment with artichoke extract on carbon tetrachloride- induced liver injury and oxidative stres, *Exp Toxicol Pathol.* 2008;60:475-80.
- Mohamed WA, Ismail T, Farouk S. The ameliorative potential of ethanolic extract of propolis on hematotoxicity and structural neuronal damage in hyperthermia-exposed rats. *Iran J Basic Med Sci.* 2016;19(8):875-82.
- Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamedi M, Amanzadeh Y, Ebrahimi SES, Ostad SN. Antioxidant power of iranian propolis extract. *Food Chem.* 2007;103:729-33.
- Morimoto K, Fahnestock M, Racine RJ. Kindling and status epilepticus models of epilepsy: Rewiring the brain. *Progress in Neurobiology.* 2004;73(1):1-60.
- Nada O, Ivan B. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: A factor of antitumor reactivity. *J Ethnopharmacol.* 2003;84:265-73.
- Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N. Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chem.* 2003;80:29-33.
- Nakajima Y, Shimazawa M, Mishima S. Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions. *Life Sciences.* 2007;80:370–77.
- Naseer MI, Shupeng L, Kim MO. Maternal epileptic seizure induced by Pentylentetrazol: Apoptotic neurodegeneration and decreased GABA. *Molecular Brain.* 2009;2(20):1-11.
- Nazıroğlu M, Kutluhan S, Yılmaz M. Selenium and topiramate modulates brain microsomal oxidative stress values, Ca²⁺-ATPase activity, and EEG records in pentylentetrazol-induced seizures in rats. *J Membr Biol.* 2008;225(1-3):39-49.

- Naziroglu M. Role of Selenium on Calcium Signaling and Oxidative Stress-induced Molecular Pathways in Epilepsy. *Neurochem Res.* 2009;34(12):2181-91.
- Obay BD, Tasdemir E, Tumer C, Bilgin HM, Atmaca M. Dose dependent effects of ghrelin on pentylene-tetrazole-induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides.* 2008;29(3):448-55.
- Okumuş B. Serum oksidatif stres parametrelerinin epilepsi hastalığı ile ilişkisi [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Diyarbakır: Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, 2014.
- Okutan H, Özçelik N, Yılmaz HR, Uz E. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioksidant enzymes in diabetic rat heart. *Clin Biochem.* 2005;38:191-96.
- Onat F. Epilepsinin deneysel modelleri. *Epilepsi. Nobel Tıp Kitabevleri;* 2008;4:37-43.
- Orhan H, Marol S, Hepsen IF. Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats. *Toxicol.* 1999;139:219-32.
- Ozkul Y, Silici S, Eroglu E. The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture, *Phytomedicine.* 2005;12:742-47.
- Park JH, Cho H, Kim H, Kim K. Repeated brief epileptic seizures by pentylene-tetrazole cause neurodegeneration and promote neurogenesis in discrete brain regions of freely moving adult rats. *Neuroscience.* 2006;140(2):673-84.
- Paşaoğlu O. L-Name uygulanan sıçan dokularında bazı biyokimyasal parametreler üzerine propolisin etkilerinin araştırılması [Yüksek Lisans Tezi]. Niğde: Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2011.
- Patel M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures. *Free Radic Biol Med.* 2004;37(12):1951-62.
- Patsalos PN, Froscher W. The importance of drug interactions in epilepsy therapy. *Epilepsia.* 2002;43:365-78.
- Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT, Georgiou CD, Angelatou F, Matsokis NA. Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylene-tetrazol-induced epileptic seizure. *Neuroscience Lett.* 2004;357(2):83-86.
- Pavlova TV, Yakovlev AA, Stepanichev MY, Mendzheritskii A, Gulyaeva NV. Pentylene-tetrazole kindling induces activation of caspase-3 in the rat brain. *Neuroscience and Behavioral Physiology.* 2004;34(1):45-47.
- Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Moshé SL. *Models of seizures and epilepsy.* Academic Press, Finland; 2005.
- Pitkänen A, Sutula TP. Is epilepsy a progressive disorder? Prospects for new therapeutic approaches in temporal lobe epilepsy. *The Lancet Neurology.* 2002;1(3):173-81.
- Popova M, Silici S, Kaftanoglu, O, Bankova V. Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition. *Phytomedicine.* 2005;12:221-28.

- Ransom CB, Blumenfeld H. Acquired Epilepsy: Cellular and Molecular Mechanisms. In: Molecular Neurology. Ed. Waxman SG. Elsevier Academic Press, Burlington. 2007;347-70.
- Rao AA, Sridhar GR, Das UN. Elevated butyrylcholinesterase may predict the development of type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease. Medical Hypotheses. 2007;69(6):1272-76.
- Reynolds E H. Milestones in epilepsy. *Epilepsia*. 2009;50(3):338-42.
- Rosenberry TL. Acetylcholinesterase. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, A Meister, Ed. 1975;43:103-218.
- Rossi J. Sensitization induced by kindling and kindling-related phenomena as a model for multiple chemical sensitivity. *Toxicology*. 1996;111(1):87-100.
- Şahinler N. Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi. *MKÜ Ziraat Fakültesi Derg.* 2000;5(1-2):139-48.
- Saldamlı İ. Gıda Kimyası. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları; 2007;463-492.
- Saral Ö. Apiterapik arı ürünlerinin (bal, polen, propolis ve arı sütü) biyoaktif özellikleri ve karaciğer hasarını önlemedeki rolleri [Doktora Tezi]. Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2013.
- Schröder H, Becker A, Grecksch G, Schröder U, Hoell V. The effect of pentylentetrazol kindling on synaptic mechanisms of interacting glutaminergic and opioid system in the hippocampus of rats. *Brain Res*. 1998;811(1):40-46.
- Seven İ, Aksu T, Seven P. Propolis ve hayvan beslemede kullanımı, *YYÜ Vet Fak Derg*. 2007;18(2):79-84.
- Shandra AA, Godlevsky LS. Pentylentetrazol-induced kindling as a model of absence and convulsive forms of epilepsy. In *Kindling*. 2005;6:49-59.
- Shorvon SD. The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52(6):1052-57.
- Silici S. Propolisin Bazı antimikrobiyal ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma [Doktora Tezi]. Adana: Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı; 2003.
- Silici S, Kutluca S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Ethnopharmacol*. 2005;99:69-73.
- Sorkun K, Süer B, Salih B. Determination of chemical composition of Turkish propolis Z. *Naturforsch*. 2001;56:666-68.
- Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. *Clin Chim Acta*. 2001;303(1-2):19-24.
- Sutula TP, Hagen J, Pitkanen A. Do epileptic seizures damage the brain? *Curr Opin Neurol*. 2003;16:189-95.
- Talas ZS, Gulhan MF. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Ecotox Environ Safe*. 2008;34(1):45-47.

Temel HE. Demanslı hastalarda asetilkolinesteraz aktivitesi ve oksidatif stresin asetilkolinesteraz enzim inhibitörleri ile değişimi [Doktora Tezi]. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2008.

Tüfekçi A. Ratlarda pentilentetrazol ile oluşturulan epileptik nöbet modelinde pregabalinin beyin korteksinde oksidatif stres üzerine etkileri [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı; 2010.

Tüfekçi A, Koyuncuoğlu HR, S Kırbaş, Yılmaz HR, Kırbaş A. Sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulan epileptik nöbet modelinde pregabalinin beyin korteksinde oksidatif stres üzerine etkileri. Türk Epilepsi ile Savaş Derneği. Department of Neurology, Rize: Recep Tayyip Erdogan University Faculty of Medicine; 2013.

Türkez H, Yosuef MI, Geyikoglu F. Propolis prevents aluminum-induced genetic and hepatic damages in rat liver. *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48:2741-46.

Velisek L, Nebieridze N, Chachua T, Velíšková J. Anti-seizure medications and estradiol for neuroprotection in epilepsy: The 2013 update. *Recent Pat CNS Drug Discov*. 2013;8(1):24-41.

White HS. Preclinical development of antiepileptic drugs: Past, present, and future directions. *Epilepsia*. 2003;44(7):2-8.

World Health Organization (WHO). Epilepsy in the who africa region, bridging the gap: the global campaign against epilepsy, out of the shadows, World Health Organization, Geneva, Switzerland; 2004.

Wu XH, Ding MP, Zhu-Ge ZB, Zhu YY, Jin CL, Chen Z. Carnosine, a precursor of histidine, ameliorates pentylenetetrazole-induced kindled seizures in rat. *Neurosci Lett*. 2006;400(1):146-49.

Xu D, Miller SD, Koh S. Immune mechanisms in epileptogenesis. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2013;8(7):195-203.

Yangı B. Propolis ekstresinin deneysel inflamasyon ve antioksidan sistem üzerine etkisi [Yüksek Lisans Tezi]. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2012.

Zerin M, Karakılçık AZ, Nazlıgül Y, Bitiren M, Özardalı Hİ, Musa D. Protective role of Nigella sativa oil on experimental liver injury in rats. *TK J Med Sci*. 2004;24(6):598-602.

Ziaran HR, Rahmani HR, Pourreza J. Effect of dietary oil extract of propolis on immune response and broyler performance. *Pak J Biol Sci*. 2005;8:1485-90.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Van'da doğdu. 2006 yılında lise öğrenimini Van Vali Haydarbey Lisesi'nde tamamladı. 2013 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü'nden mezun oldu. 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Eczacılık Bilimleri Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2017 yılında Sağlık Bakanlığı, Van Gevaş Devlet Hastanesi'ne Hemşire olarak atandı ve halen görevine devam etmektedir.



EKLER

EK 1. YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (YUHADYЕК) Araştırma Onay Belgesi

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

Araştırmanın Adı	Farelerde Deneysel Epileptik Modelde Propolisin Beyinde Asetilkolinesteraz ve Oksidatif Stres Üzerine Etkileri
Araştırmanın Yürütücüsü	Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN
Yardımcı Araştırmacılar	Hemşire Beşir KARAYEL
Kurumu	Adıyaman Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Araştırmanın Tahmini Süresi	10 Ay
Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Fare 35 Adet
Destekleyecek Kuruluş (lar)	Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı
Başvuru Tarihi	30.11.2016

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2016/12	Tarih:29.12.2016
	Adıyaman Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar da değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deneysel hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

	BAŞKAN/CHAİR  Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Prof. Dr. Fazıl ŞEN	 Prof. Dr. Sıddık KESKİN	Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
 Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	 Doç. Dr. Abdülbaki AKSAKAL
ÜYE	ÜYE	ÜYE
 Doç. Dr. Nalan ÖZDAL	 Yrd. Doç. Dr. Özer ALKAN	 Yrd. Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ
ÜYE	ÜYE	ÜYE
Yrd. Doç. Dr. Canser Yılmaz DEMİR	 Yrd. Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN	 Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU
ÜYE		
Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET		

*Bu form YUHADYЕК tarafından doldurulacaktır.

EK 2. YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (YUHADYEK) Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi



**T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ**

**VAN YUZUNCUYILUNIVERSITY (TURKEY)
ANIMAL RESEARCHES LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH FINAL REPORT APPROVAL CERTIFICATE**

Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Farelerde Deneysel Epileptik Modelde Propolisin Beyinde Asetilkolinesteraz ve Oksidatif Stres Üzerine Etkileri. Effects of Propolis on Acetylcholinesterase and Oxidative Stress in Experimental Epileptic Model in Mice.	
Araştırmacı(lar) Investigator(s)	Yürütücü / <i>Chief investigator</i> : Tahir Kahraman Yardımcı Araştırmacı(lar) / <i>Co-investigator(s)</i> : Oruc Allahverdiyev Beşir Karayel	
Araştırmanın Başlama Tarihi / <i>Research Starting Date</i>	19.06.2017	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / <i>Research Completion Date</i>	19.10.2018	
Proje Süresi / <i>Total Time of Project</i>	10	
Proje No / <i>Project Number</i>	TYL-2017-6003	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa) / <i>Funding institution(s) (if available)</i>		
Destek Şekli ve Miktarı / <i>Type and amount of funding</i>	6500 TL	
Karar:	Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29/11/2018 tarih ve 2018/11 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. Decision: Final report of the research project detailed above was approved by Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 29/11/2018 (decision number 2018/11.).	
	BASKAN/CHAIR Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	ÜYE Prof. Dr. Süddük KESKİN	ÜYE Prof. Dr. Sübhi DENİZ
ÜYE Prof. Dr. Nalan ÖZDAL	ÜYE Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	ÜYE Doç. Dr. Yıldırım BAŞBUĞAN
ÜYE Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV	ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Canser Yılmaz DEMİR
ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Hacer SAHİN AYDINYURT	ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Şükri ONALAN	ÜYE Vet. Hek. Kerem OĞRAK
ÜYE Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	ÜYE Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	

EK 3. Tez Orjinallik Raporu

	<p style="text-align: center;">T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ Sağlık Bilimleri Enstitüsü</p>	
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU		

Tarih: 21/01/2019

Tez Başlığı / Konusu: Farelerde Deneysel Epileptik Modelde Propolisın Beyinde Asetilkolinesteraz ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması


Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 82 sayfalık kısmına ilişkin, 21/01/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %18 (yüzde onsekiz) dir.


Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayımlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.


Beşir KARAYEL

Öğrencinin Adı Soyadı	Beşir KARAYEL
Anabilim Dalı	: TEMEL ECZACILIK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI (BİYOKİMYA BİLİM DALI)
Öğrenci No	14930006008
Programı	: <input checked="" type="checkbox"/> Yüksek Lisans <input type="checkbox"/> Doktora
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Doç. Dr. Tahir KAHRAMAN 	ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR Dr. Öğr. Üyesi Hacer Şahin AYDINYURT 