

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

**LİPOPOLİSAKKARİT İLE OLUŞTURULMUŞ ERKEN DOĞUM MODELİNİN
EPİLEPTİK AKTİVİTE, DAVRANIŞ VE ÖĞRENME ÜZERİNE ETKİSİ**

Hamide DEMİR

**Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Fizyoloji Programı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
Olarak Hazırlanmıştır**

Danışman: Prof. Dr. Deniz ŞAHİN

**Bu Tez Çalışması Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından Desteklenmiştir
Proje Numarası:2017/093
Etik Kurul Onay Numarası: KOÜ HADYEK 6/4-2017**

**KOCAELİ
2018**

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(Tez Onay Sayfası)

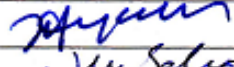
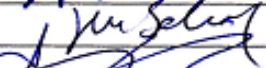

Tez Adı: Lipopolisakkarit ile Oluşturulmuş Erken Doğum Modelinin Epileptik Aktivite, Davranış ve Öğrenme Üzerine Etkisi

Tez Yazarı: Fzt. Hamide DEMİR

Tez Savunma Tarihi: 11/06/2018

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Deniz ŞAHİN

İş bu çalışma, Jürimiz tarafından Fizyoloji Anabilim Dalında YÜKSEKLİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Sınavı jüri üyeleri		İmzası
Ünvanı Adı Soyadı		
Üye	Prof. Dr. Hale SAYAN	
Üye	Prof. Dr. Deniz ŞAHİN	
Üye	Doç Dr. Ayşe KARSON	

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

...../...../20
Enstitü Müdürü

ÖZET

Lipopolisakkarit ile Oluşturulmuş Erken Doğum Modelinin Epileptik Aktivite, Davranış ve Öğrenme Üzerine Etkisi

Amaç; Gebelik döneminde Lipopolisakkarit(LPS) enjeksiyonu ile erken doğumun tetiklenmesinin, genç-erişkin dönemde epileptik aktivite, davranış ve öğrenme üzerine etkisini araştırmayı planladık. Çalışmamızın bir diğer amacı vücudumuzda görev yapan hormonlar arasında en son keşfedilen endojen bir peptid olan Leptin'in LPS enjeksiyonu ile birlikte uygulanmasının bu parametreler üzerine olası etkilerini araştırmaktır.

Yöntem; Lipopolisakkarit(LPS) enjeksiyonuyla oluşturulan erken doğum modelinde, doğan yavrularda geç dönemde epileptik aktivite, davranış ve öğrenme üzerine etkileri araştırılmak üzere gruplar; Grup1(naif), Grup2(SF), Grup3(LPS), Grup4(LPS+Leptin), Grup5(SF+PTZ), Grup6(LPS+PTZ),Grup7(LPS+Leptin+PTZ) olacak şekilde planlandı. Grupları oluşturmak için Wistar ırkı sıçanlar çiftleştirildikten sonra gebelik takibi yapıldı. Gebeliğin 15. ve 16. Gününde SF ve/veya Lipopolisakkarit-(200µg/kg) ve/veya LPS+Leptin(4mg/kg) enjeksiyonu uygulandı. Doğan yavrular gruplarına ayrılarak LPS ve LPS+Leptin uygulamasının postnatal 45.günde davranış ve öğrenme üzerine etkileri, lokomotor aktivite, pasif kaçınma ve morris-su-tankı testleri ile incelendi. Nöbet aktivitesinin değerlendirileceği gruplarda postnatal 45.günde PTZ(60mg/kg) enjeksiyonu ile epileptik aktive üzerine etkiler araştırıldı. Deneylerin son gününde dekapitasyon yapılarak kan örnekleri toplandı. Serum sitokin(TNF-alfa, IL-1B, IL-6, FGF-2, IFN-gama) ve Galanin düzeyleri ölçüldü.

Bulgular; Locomotor aktivite gruplar arasında değerlendirildiğinde Vertikal aktivite dışında, Stereotipik, Ambulatory, Distance ve Total Aktivite değerleri; Grup 3(LPS) de, Grup 1(Naif) ve Grup 2(SF)'ye göre hafif düşük olmakla birlikte istatistiksel anlamlı değildi, Grup 4(LPS+Leptin)'de tüm gruplara göre daha yüksek saptandı. Morris-su-tankı testinde Grup 3 de, Grup1 ve Grup2'ye göre doğru kadranda kalma süresinde azalma olduğu saptandı ($p<0.05$). Pasif kaçınma testinde Grup 4, Grup 3'e göre retansiyon süresine uzama saptandı($p<0.05$). Grup 3ve Grup4'de TNF-a, IL-1beta düzeyleri Grup 1 ve 2'ye göre yüksekti, özellikle IL-6 ve FGF-2 düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu. Epileptik aktivite değerlendirildiğinde nöbet başlangıcı Grup7, Grup 5 ve Grup 6'ya göre anlamlı gecikme gösterdi, nöbet şiddeti Grup 6'da, Grup 5 ve Grup 7'ye göre anlamlı yükselmiş bulundu($p<0.05$). PTZ uygulanan tüm gruplarda TNF- α , IL-1 β , IL-6,FGF-2 ve Galanin düzeyleri diğer gruplara göre belirgin olarak yüksekti.

Sonuç;Gebelik döneminde LPS enjeksiyonu ile maternal immün aktivasyon maruziyeti, doğan yavrularda genç-erişkin dönemde davranış, öğrenme-bellek değerlendirme testlerinde bozulmalara ve nöbet duyarlılığında artışıya yol açmaktadır. LPS uygulamasını takiben Leptin uyguladığımız grupta davranış, öğrenme-bellek testlerinde anlamlı olarak düzelmeler dikkat çekmektedir. Dahası, uyguladığımız dozda Leptin'in antikonvulsif etkili olduğu görülmüştür. Sonuçlarımız endojen bir peptid olan leptin'in, LPS maruziyetinin nöbet aktivitesi ve öğrenme ve bellek parametreleri üzerine olumsuz etkilerine karşı korucu bir modülasyon sağladığını düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: LPS,Leptin, Lokomotor aktivite, Pasif kaçınma, Moris su tankı, PTZ, Epilepsi



ABSTRACT

The Effect of Lipopolysaccharide-induced Preterm Delivery on Epileptic Activity, Behavior and Learning

Objective: We planned to investigate the effect of premature birth triggered with lipopolysaccharide injection (LPS) on epileptic activity, behavior and learning in young-adulthood. Another aim of our study is to investigate the possible effects of co-implementation of Leptin, an endogenous peptide discovered recently among the hormones that work in our bodies, with LPS injection on these parameters.

Method: In the preterm delivery model induced by injection of lipopolysaccharide (LPS), the groups formed to investigate the effects of the offspring on epileptic activity, behavior and learning Group1 (naive), Group2 (SF), Group3 (LPS), Group4 (LPS+Leptin), Group5 (SF+PTZ), Group6 (LPS+PTZ), Group7 (LPS+Leptin+PTZ) as planned. To create groups, wistar rabbits were mated, followed by pregnancy follow-up. SF and / or Lipopolysaccharide (200µg/kg) and/or LPS+Leptin (4mg / kg) injections were administered on the fifteenth and sixteenth day of the pregnancy. The effects of Group 3 and Group 4 administration on behavior and learning on postnatal forty-fifth day were examined by locomotor activity, passive avoidance and morris-water-tank tests. In groups evaluating seizure activity, effects on epileptic activity were investigated with PTZ (60mg / kg) injection on post-natal forty-fifth day. On the last day of the experiments, blood samples were collected by decapitation. Serum cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6, FGF-2, IFN-gamma) and Galanin levels were measured.

Results : When the locomotor activity is evaluated among the groups, Stereotypic, Ambulatory, Distance and Total activity values besides Vertical activity; Group 3 (LPS) was slightly lower than Group 1 (Naive) and Group 2 (SF) but not statistically significant, Group 4 (LPS + Leptin) was found to be higher than all groups. In the Morris-water-tank test group 3, there was a decrease in the correct squatting time according to Group 1 and Group 2 ($p < 0.05$). In the passive avoidance test, prolongation of retention was observed in Group 4 and Group 3 ($p < 0.05$). TNF- α , IL-1beta levels were higher in the groups treated with LPS and LPS + Leptin than naive and control groups, especially IL-6 and FGF-2 levels were found to be statistically higher. When the epileptic activity was assessed, the onset of seizure was significantly delayed according to Group7, Group 5 and Group 6, and seizure severity was significantly higher in Group 6 compared to Group 5 and Group 7 ($p < 0.05$). TNF- α , IL-1b, IL-6, FGF-2 and Galanin levels were significantly higher in all PTZ-administered groups than in the other groups.

Conclusions: Exposure to maternal immuno-activation with LPS injection during pregnancy leads to behavior in young-adult period in offspring, deterioration in learning-memory assessment tests and increased sensitivity to seizures. Following the application of LPS, behavior in the group to which we applied Leptin is remarkably improved in learning-memory tests. Moreover, we found that the dose of Leptin taking was anticonvulsive. Our results suggest that leptin, an endogenous peptide, provides a protective modulation against the adverse effects of LPS exposure on seizure activity and learning and memory parameters.

Key Words : LPS,Leptin, Locomotive activity, Passive avoidance, Morris water tank, PTZ, Epilepsy



TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım boyunca bilime ve hayata bakış açısıyla daima örnek olan, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam, danışmanım, Fizyoloji Anabilim Dalı Hocalarından Prof. Dr. Deniz ŞAHİN'e;

Yükseklisans eğitimim süresince bilimsel ve manevi desteklerini hissettiğim, bilgi ve tecrübeleriyle yetişmemi sağlayan değerli hocalarım Prof.Dr. Nurbay ATEŞ, Doç.Dr. Gül İLBAY, Doç. Dr. Ayşe KARSON'na;

Çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım Sabriye KARADENİZLİ, Fazilet DEDE, Tuba ŞAHİN, Alim NURAYDIN, Ö.Doğa ÖZSOY, DETAB Teknikeri Elif Hanım ve diğer çalışanlarına;

Eğitimim süresince gösterdikleri destek, anlayış ve hoşgörü için sevgili Anneme, Babama, Ablam Kübra Mercan'a, Nurdan Dilek ve diğer kuzenlerime ve sevgili eşim Duran EKEN'e;

SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Fzt. Hamide DEMİR

Mayıs,2018

TEZİN AŞIRMA OLMADIĞI BİLDİRİSİ

Tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, çizim, çizelge ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimin herhangi bir yayından kısmen ya da tamamen aşırma olmadığını ve bir İntihal Programı kullanılarak test edildiğini beyan ederim.



/ / 2018

Hamide DEMİR

İmza

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
TEZİN AŞIRMAOLMADIĞI BİLDİRİSİ	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ÇİZİMLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	
1.1.EPİLEPSİ	
1.1.1.Epilepsinin Tanımı	1
1.1.2.Epilepsinin Sınıflandırılması	2
1.1.3.Epilepsi yada Epileptik Nöbet Modelleri	4
1.1.4.Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler	5
1.1.5.Pentilentetrazol ile Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet	5
1.1.6.Epileptogenez	6
1.2.LİPOPOLİSAKKARİT	8
1.3.LEPTİN	10
1.3.1.Galanin	13
1.4.SİTOKİNLER	14
1.4.1.Tumor nekroz faktör alfa (TNF-alfa)	15
1.4.2.İnterlökin-1 beta (IL-1 β)	16
1.4.3.İnterlökin-6 (IL-6)	17
1.4.4.FGF-2	18
1.4.5.Interferon-gama (IFN-gama)	19
2.AMAÇ	20
3.GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1.Deney Hayvanları	23
3.2.Deney Grupları	23
3.3.Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri	24
3.3.1.Lipopolisakkarit	25
3.3.2.Leptin	25

3.3.3Pentilentetrazol	25
3.4.PTZ Uygulamasıyla Jenralize Tonik-Klonik Nöbet Oluşturulması	25
3.5.Davranış Deneylerinin Uygulanması	26
3.6.ELISA Kitlerinin Çalışılması	27
3.7.İstatistiksel Analiz	28
4.BULGULAR	29
4.1.Davranış Deneylerinin Değerlendirilmesi	29
4.2.Konvulsif Nöbetlerinin Değerlendirilmesi	34
4.3.Serum Sitokin ve Galanin Düzeyleri	37
5.TARTIŞMA	39
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR DİZİNİ	43
ÖZGEÇMİŞ	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

LPS	: Lipopolisakkarit
PTZ	: Pentilentetrazol
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
TNF-alfa	:Tümör nekroz faktör alfa
IL-1B	:İnterlökin-1 beta
IL-6	:İnterlökin-6
IFN-gama	:İnterferon-gama
JTKN	: Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler
İUE	:İntrauterin enfeksiyonlar
MWM	:Morris Water Maze
SSS	:Santral Sinir Sistemi
i.p	:İntraperitoneal
LBP	:lipopolisakkarit bağlayan protein
NF-κB	:nükleer faktör kappa beta
PG	:prostaglandin
GalR	:Galanin Reseptör
PDGF	:Trombosit kökenli büyüme faktörü
INF _β	: Interferon β
NGF	:Nöronal büyüme faktörü
NK	:Doğal öldürücü
ICAM-1	:Hücreler arası adhezyon molekülü-1
GABA	: Gamma-Aminobütirik Asit
GABA _A	: Gamma Aminobütirik Asid-A
KBB	: Kan Beyin Bariyeri
ATPaz	: Adenozin Trifosfataz

ÇİZİMLER DİZİNİ

Çizim 1.1 : Epileptogenezin Şeması	7
Çizim 1.2.1: Gram-negatif bakteri duvarı ve LPS'nin şematik gösterimi. R, RS ve S sırasıyla rough tip, semi-rough tip ve smooth tipin yapısı	8
Çizim 1.4.1: TNF- α 'nın etkileri.....	16
Çizim 1.4.2: IFN- γ 'nın etkileri.....	19
Çizim 3.6.1: Deney hayvanları laboratuvarında kullanılan pasif kaçınma deney düzenlememiz.....	27
Çizim 4.1.1: Lokomotor aktivite testi parametrelerinden total aktivite değeri grafiksel gösterimi (*p<0.05)	30
Çizim 4.1.2: Lokomotor aktivite parametrelerinde distance değeri grafiksel gösterimi (*p<0.05).....	31
Çizim 4.1.3: Lokomotor aktivite parametrelerinden Ambulatory değeri grafiksel gösterimi(*p<0.05)	31
Çizim 4.1.4: Lokomotor aktivite parametrelerinden vertikal değeri grafiksel gösterimi (*p<0.05).....	31
Çizim 4.1.5: Pasif kaçınma testinin retansiyon süresinin gruplar arasındaki farkın grafiksel gösterimi.....	32
Çizim 4.1.6: Moris su tankı ile değerlendirilen uzaysal öğrenmenin gruplar üzerine etkisinin grafiksel gösterimi.....	33
Çizim 4.2.1: PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerin, gruplardaki nöbet başlangıcı (ST1 onset) üzerine etkilerinin grafiksel gösterimi.....	35
Çizim 4.2.2: PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerin, gruplardaki minimal nöbet başlangıcı üzerine etkilerinin grafiksel gösterimi.....	36
Çizim 4.2.3: PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerin, gruplardaki jeneralize majör nöbet üzerine etkilerinin grafiksel gösterimi.....	36
Çizim 4.2.4: PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerin, gruplardaki nöbet şiddeti üzerine etkilerinin grafiksel gösterimi.....	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 : Epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflandırması.....	3
Çizelge 1.2 : Parsiyel ve jeneralize epilepsi modelleri.....	4
Çizelge 4.1.1: Grupların Lokomotor aktivite parametrelerinden Stereotipik aktivite, Vertikal aktivite, Ambulatory aktivite, Distance, Total Aktivite sonuçları.....	30
Çizelge 4.1.2: Grupların Pasif kaçınma deney sonuçları.....	32
Çizelge 4.1.3: Grupların Water maze deneyinde doğru kadranda kalma süreleri sonuçları.....	33
Çizelge 4.2.1: Grupların Konvulsif nöbet duyarlılığını gösteren nöbet başlangıcı, nöbet şiddeti, minimal nöbet başlangıcı, ölüm oranı ve jeneralize majör nöbet başlangıcı üzerine etkileri sonuçları.....	35
Çizelge 4.3.1: Grupların sitokin düzeyleri sonuçları.....	37

1. GİRİŞ

1.1.EPİLEPSİ

1.1.1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi, merkezi sinir sisteminde ve kortikal veya subkortikal alanlarda bulunan nöron gruplarının ani, anormal ve hipersenkron deşarjları sonucu oluşan ve genel olarak tekrarlayan nöbet periyotları ile karakterize ortaya çıkan klinik bir tablodur(Ciğer A 2002). Epileptik nöbet, beyinde oluşan düzensiz elektiriksel aktiviteden kaynaklı, tekrarlayıcı, kendiliğinden başlayıp ve bitebilen, ve davranış, duygu, bilinç, hareket veya algılama fonksiyonlarında bozukluğa neden olabilen nörolojik bir bozukluktur(Swaiman ve diğ. 2005, Wiebe S ve diğ.2009).Epilepsi vakalarının %65'nin nedeni bilinmemektedir. Nedeninin belirlendiği durumlar da en sık saptanan bulgular arasında; enfeksiyonlar, hamilelik döneminde geçirilen bazı enfeksiyonlar, doğumsal travmalar, yüksek ateş, beyin dokusunda hasar oluşturan yaralanmalar, beyin tümörleri, beyin kan akımında azalmaya neden olan kalp-damar hastalıkları yer almaktadır (Pedley TA 1998,Cockerell OC ve Shorvon SD 1996). Herhangi bir nedenden kaynaklı oluşan elektiriksel aktivite; beyin korteksi ve subkortikal alanlardaki nöronal ağda meydana gelen biyokimyasal olayların sonucunda oluşan bir durumdur. Hücre düzeyinde epileptiform aktivitesinin tayin edilebilmesi için nöronal hiperaktivite ve nöronal hipersenkronizm olaylarının oluşması gerekmektedir. Epileptik nöbet başlangıç yerleri ve yayılım alanlarına göre kabaca iki gruba ayrılmaktadır.

Parsiyel nöbet beyinde lokalize bir bölgeden kaynaklıdır ve klinik bulgular tutulan bölge ile ilişkili sonuçlar vermektedir. Fokal deşarjlar sinaptik ve nonsinaptik mekanizmalarla subkortikal alanlara ve kommissural yollarla tüm korteks alanlarına yayılırsa, sekonder jeneralize olan fokal konvülsiyon olarak isimlendirilir.

Generalize nöbet anormal oluşan elektiriksel deşarjlar her iki hemisferden ve aynı taraftaki talamokortikal bağlantılardan kaynak almaktadır. Beyindeki yaygın epileptik aktivitenin kliniğe yansması sadece bilinç kaybı görülen nöbet türünden, ritmik sıçrayıcı ekstremite atımlarının olduğu bilinç ve postur kaybının eşlik ettiği nöbet tipine kadar değişkenlik gösterir (Swaiman KS 2005, Özkara Ç 2002).

Her ne kadar parsiyel ve generalize nöbetlerin oluşum mekanizmaları birbirinden farklı olsa da genel olarak nöbetlerin, inhibitör mekanizmanın azalması ve eksitatör mekanizmaların artması ile dengenin bozulması sonucu oluştuğu düşünülmektedir. İki önemli iyon kanalı inhibitör ve eksitatör aktiviteye sahiptir. Voltaja bağlı Na ve Ca

kanalları hücre zarının depolarizasyonunu sağlarken voltaja bağlı K kanalları repolarizasyonu sağlar. Voltaja bağlı Na ve Ca kanallarının sodyum ve kalsiyumun içeri girişini sağlaması ile depolarizasyon oluşumunun sonrasında, nöronlardan eksitatör nörotransmitter salınma başlar. Böylelikle nöbet oluşumu için gerekli olan nöron uyarımı ve gen ekspresyonu sağlanmış olur. Voltaja bağlı Na ve Ca kanalları ile oluşan depolarizasyon sistemi voltaja bağlı K kanallarının inhibitör etkisi ile dengelenmektedir. Özel olarak hipokampusta potasyum iyonlarının iyon kanallarından içeri akması ile aksiyon potansiyelinde depolarizasyon sonlanır ve repolarizasyon ortaya çıkar. Repolarizasyonun başlaması nöbet için gerekli olan nöronal deşarjı durdururken bir anlamda potansiyel bir antiepileptik görevi başlatmış olur (Swaiman KS 2009).

İkinci tip olan liganda bağlı reseptörler, glutamat ve GABA gibi nörotransmitterleri bağlar ve çeşitli kaskat sistemleri ile iyon geçiren porların açılması sonucu depolarizasyon ve hiperpolarizasyon oluşmasına neden olur. En önemli inhibitör nörotransmitter GABA'dır. Tüm kortikal nöronlarda ve glial hücrelerde bulunan GABA, GABA A ve GABA B reseptörlerine bağlanır. GABA A reseptörlerinin aktivasyonu klor iyonunun hücre içine girişine neden olur ve membran hipereksitabilitesini sağlar. GABA B reseptörleri ise genellikle postsinaptik bölgededir, kalsiyum ve potasyum geçişini düzenleyerek nörotransmitter salınımını engellemiş olur. Glutamat en önemli eksitatör nörotransmitter olarak NMDA ve non-NMDA reseptörleri üzerinden etki eder. NMDA reseptörleri sodyum ve kalsiyumun nöron içine girişini sağlayarak yavaş etkili ve uzun süreli eksitatör postsinaptik potansiyellere oluşmasını sağlar. Bu da epileptik burst sinyallerinin oluşmasına neden olur. Non-NMDA reseptörlerinin en önemli alt tipi olan AMPA özellikle piramidal nöronlarda eksitatör sinaptik aktivite yapar (Özkara Ç 2002, Majeda M ve diğ. 2003).

1.1.2. Epilepsinin Sınıflandırılması

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Komisyonu (ILAE)'nin uzun yıllardır süren çalışmaları neticesinde hazırlanan 1981'de Epileptik Nöbetlerin Klinik ve Elektrografik Sınıflaması ve 1989'da Epilepsiler ve Epileptik Sendromların Sınıflaması, tüm dünyada kabul görmüş standardize edilmiştir (Çizelge 1). Epilepsiyi sınıflandırırken; başlangıç yaşı, nöbete eşlik eden yapılar, hastalığın nedeni, nöbet tipi, etiyolojisi, nöbeti uyaran etkenler, uygulanan tedavi biçimi, lokalizasyonu gibi nitelikler dikkate alınarak yapılmaya çalışılmıştır.

Çizelge 1.1: Epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflandırması, (ILAE 1981)

EPİLEPTİK NÖBETLER		
Parsiyel (fokal, lokal) nöbetler	Jeneralize nöbetler (konvülfif-konvülfif olmayan)	Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler
<p>a)Basit parsiyel nöbetler</p> <ul style="list-style-type: none"> -Motor semptomlu -Somatosensoryel veya özel duysal semptomlu -Otonomik semptomlu -Psikişik semptomlu 	<ul style="list-style-type: none"> -Absans nöbetleri <ul style="list-style-type: none"> Tipik Absans nöbetleri Atipik absans -Miyoklonik nöbetler -Klonik nöbetler -Tonik nöbetler -Tonik-klonik nöbetler 	<p>Yeterli bilgi olmayışı nedeni ile yukarıdaki kategorilere dahil edilemeyen nöbetlerdir. Çiğneme, ritmik göz hareketleri gibi bazı yenidoğan dönemi nöbetleri bunlardandır.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Parsiyel : kısmi, bütünü bir bölümü -Somato : vücut; sensoryel -Otonomik: istem dışı hareketlerle ilişkili örneğin kalp hızı, terleme gibi -Psikişik: hem akli hem de beyni etkileyen -Otomatizm; kişinin kontrolü altında olmayan yarı amaçlı hareketler. Örneğin yalanma, yutkunma hareketleri, elbiseleri çekiştirme ve sarhoş gibi yürüme şeklinde hareketler. - Sekonder jeneralize; sınırlı bir bölgeden başlayıp yaygın hale dönüşen (genelde tonik-klonik nöbet oluşur)
<p>b)Kompleks parsiyel nöbetler (bilinç bozukluğu ile giden)</p> <ul style="list-style-type: none"> -Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu <ul style="list-style-type: none"> Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu Otomatizmlerle giden -Bilinç durumunun başlangıçtan itibaren bozulması <ul style="list-style-type: none"> Sadece bilinç bozukluğu ile giden Otomatizmlerle giden 	<ul style="list-style-type: none"> -Atonik nöbetler (astatik) (ani düşme nöbetleri) 	
<p>c)Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler</p> <ul style="list-style-type: none"> -Basit parsiyel nöbetin jeneralize nöbete dönüşmesi -Kompleks parsiyel nöbetin jeneralize nöbete dönüşmesi -Basit parsiyel nöbetin kompleks parsiyel nöbete dönüşmesi ve ardından jeneralize nöbete dönüşmesi 		

ILAE'ya göre kabul görmüş sınıflandırma epilepsi ve epileptik sendromları; nöbet tipi, etyolojisi, nöbeti uyaran faktörler, başlangıç yaşı, tedavi seçimi gibi faktörleri içerecek biçimde sınıflandırmayı oluşturmuştur (Dreifuss 1981).

1.1.2. Epilepsi ya da Epileptik Nöbet Modelleri

Epilepsi çalışmaları için birçok hayvan modeli mevcuttur ve bu modeller epileptogenezin temelinde yatan ana mekanizmanın anlaşılmasına, yeni antiepileptik ilaçların geliştirilmesine katkı sağlarlar. Nöbet ve epilepsi için geliştirilen hayvan modellerinin insan epilepsisiyle ilişkili fizyolojik ve davranışsal değişikliklerini anlamamızda önemli etkileri vardır (Sarkisian 2001). Aşağıdaki tablo kısmi (parsial) ve jeneralize epilepsi modellerinin sınıflandırılmasını içermektedir.

Çizelge 1.2: Parsial ve jeneralize(tonik, tonik-klonik, absans modeller) epilepsi modelleri (Sarkisian 2001).

PARSİYAL		JENERALİZE (tonik, tonik-klonik, absans modeller)				
1)Basit parsial	2)Kompleks Parsial	1)Maksimum elektroşok (MES)				
a)Fokal ya da topikal olarak inhibitör aminoasit blokerlerinin uygulanmasıyla; Penisilin Bikukulin Pikrotoksin Striknin	a)Tetanos toksini	2) Kimyasal konvulsanlar <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;"> Glutamat agonistleri (max. dozlarda) -Domoik asit -Kainat -NMDA </td> <td style="width: 50%;"> GABA antagositleri (max. dozlarda) -PTZ -Pikrotoksin -Bikukulin </td> </tr> <tr> <td> Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri -Thiosemikarbazid -3Merkaptopropionik asit -Alilglisin </td> <td> Diğer ajanlar -Flurotil -Risinin -4-Deokspidoksin -Teofilin,Striknin vb. </td> </tr> </table>	Glutamat agonistleri (max. dozlarda) -Domoik asit -Kainat -NMDA	GABA antagositleri (max. dozlarda) -PTZ -Pikrotoksin -Bikukulin	Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri -Thiosemikarbazid -3Merkaptopropionik asit -Alilglisin	Diğer ajanlar -Flurotil -Risinin -4-Deokspidoksin -Teofilin,Striknin vb.
Glutamat agonistleri (max. dozlarda) -Domoik asit -Kainat -NMDA	GABA antagositleri (max. dozlarda) -PTZ -Pikrotoksin -Bikukulin					
Glutamik asit dekarboksilaz (GAD) inhibitörleri -Thiosemikarbazid -3Merkaptopropionik asit -Alilglisin	Diğer ajanlar -Flurotil -Risinin -4-Deokspidoksin -Teofilin,Striknin vb.					
b)Metallerin kortikal implantasyonu Aluminyum (alumina jel) Kobalt Çinko Demir	b)Kainik asidin sistemik ya da intrahipokampal injeksiyonu	3)Genetik modeller -Fareler -Ratlar GEPRs NODA Flathead (<i>fh/fh</i>) -Diğer hayvan modelleri <i>Drosophila</i> mutantlar Monogolian gerbil				
c)akut ya da fokal elektriksel uyarıyla	c)Sistemik domoik asit					
d)Eksitator ajanların fokal	d)Pilokarpin ya da					

ya da topikal uygulanmasıyla -Glutamat agonistleri Kainat, domoik asid, NMDA -Asetilkolin agonistleri Pilokarpin(6lithium),soman	somanın sistemik kullanılması	Epileptik köpekler - Absans modeller Thalamic stimulation Sistemik düşük doz PTZ Kedilerde sistemik penisilin injeksiyonu Intraserebroventrikular opiatlar CO2 withdrawal nöbetler
e)GABA geriçekme	e)Kindling	
f) Kriyojenik hasar	f)Partial nöbet gösteren genetik modeller Otx 2/2 fare Transgenik “jerky” fareler lhara mutant rat Diğer mutant fareler	- Genetik modeller Strasbourg ‘dan Absans ratlar (GAERS) WAG/Rij rats Spontan epileptik rat (SER) Stargazer fare Tottering fare Lethargic fare Yavaş-dalga epilepsili fareler Mocha fare Ducky fare

1.1.3. Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler

Jeneralize Tonik-Klonik Nöbetler (JTKN) epileptik ataklar içinde en eskiden beri bilinen ve en çok korkulan türdür. JTK nöbetinin en eski tanımı M.Ö. 700. Yıllarda Mısır yazıtlarında rastlanmıştır. Hipokratın dönemine kadar bütün nöbetler “tüm vücutta kasılma ile birlikte fonksiyonların tümünde kayıp” olarak tanımlanmaktaydı(M.Ö.400). Bundan sonraki 2000 yıllık sürede konvulzif olmayan nöbetler konvuzif nöbetlerden farklı bir epileptik atak olarak isimlendirildi (Bora İ ve ark. 2008).

JTKN diğer tiplerde görülen jeneralize nöbetlere göre daha fazla görülür. JTKN’ lerin klinik olarak belirtileri beş evrede oluşmaktadır. Bunlar; uyarıcı belirti ve bulgular, nöbetin hemen öncesindeki erken pretonik-klonik faz, tonik- klonik faz, erken postiktal faz ve postiktal iyileşme fazlarıdır. Tüm bu evrelerin süreleri aynı bireyin farklı bir nöbetinde ve diğer bireylerde farklılıklar gösterebilir. Ortalama olarak süresi 1 dakikadır, sekonder jeneralize nöbetler nadiren 2 dk. dan daha uzun sürer ve acil tedavisi gerekmektedir(Theodore ve diğ. 1994).

1.1.4. Pentilentetrazol (PTZ) ile Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet

PTZ deneysel epilepsi modellerinin oluşması için kullanılan çok yaygın sistemik konvulzif bir ajandır. Doz ve veriliş yoluyla bağlantılı olarak klonik veya tonik klonik konvulsiyonlar oluştururlar. Konvulziyon oluşturmak için uygulanacak PTZ dozu 60-120mg/kg ‘dır(Berrin Ö 2013). PTZ fizyolojik su solüsyonunun içinde çözülerek

intraperitoneal veya subkutan olarak uygulanır. İntraperitoneal olarak uygulanan PTZ uygulamayı takiben hayvanların davranışları 30 dk. bitimine kadar gözlemlenir ve nöbet skorlama ile değerlendirilir.

Jeneralize nöbet şiddetinin değerlendirilmesi (Mares ve ark. 1990) :

ST 0- davranışta değişiklik yok;

ST 1-izole miyoklonik jerkler(ani kas spazmı, bazen eşlik eden kuyruk hareketleri ve hayvanın kafasında titreme);

ST 2-atipik minimal nöbetler(tek taraflı);

ST 3-minimal nöbetler (doğrulma refleksinin korunduğu);

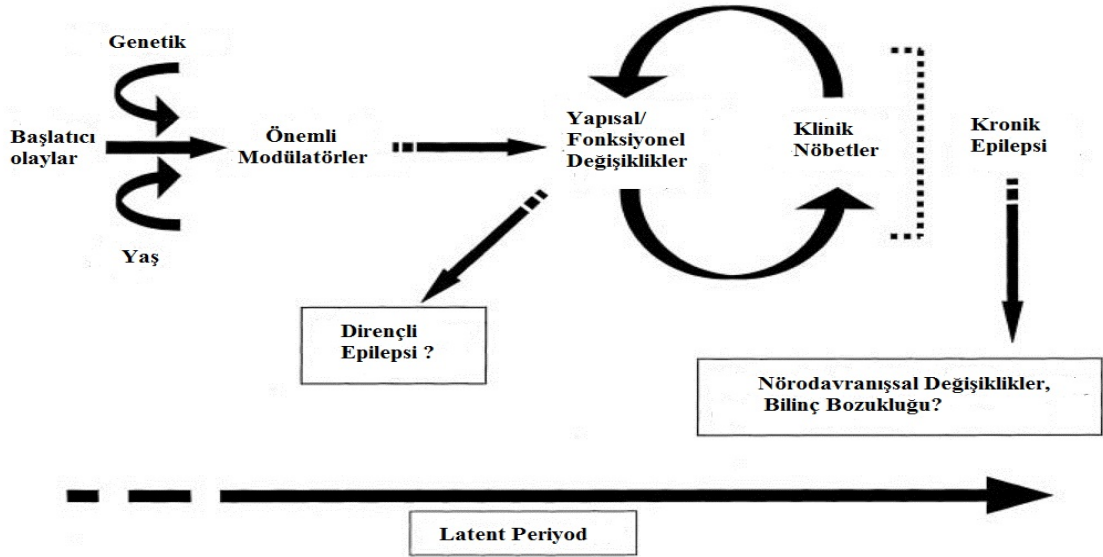
ST 4-major nöbetler (aşırı rijitide ön ve arka ekstremitenin kuyruğa doğru ekstansiyonu)

ST 5-jeneralize tam majör tonik-klonik nöbetler

PTZ hücrel disinhibisyon sağlayarak merkezi sinir sisteminde jeneralize eksitator olarak etkisini açığa çıkartır. Bu etkisini GABA_A reseptör kompleksini bloke ederek ve voltaja bağımlı mekanizma aracılığıyla hücre membranının K⁺ permabilitesinde değişiklik oluşturarak meydana getirir (Mares ve diğ. 1990)

1.1.2. Epileptogenez

Epileptogenez nöronal aktivitenin anormal olarak oluşması ile meydana gelen ve normal bir beynin epileptik olmasına kadar geçen süreyi kapsamaktadır. Bu süreçte genetik, yaş ve beynin fonksiyonel plastisitesi gibi düzenleyici faktörler kronik ya da dirençli epilepsi sürecini belirlemede başlıca rol oynamaktadır (Giblin ve Blumenfeld 2010). Epileptogenez sonucu meydana gelen hasarlar nöronal yollarla vasıtasıyla tekrarlayan spontan epileptik nöbetlere neden olur ve bu nöbetlerin daha sık oluşmasıyla kronik epilepsi oluşur (Rakhade ve Jensen 2009). Giblin ve Blumenfeld 2010 yılında bu durumu aşağıdaki gibi şematize etmiştir.



Çizim 1.1: Epileptogenezin Şeması (Giblin ve Blumenfeld 2010).

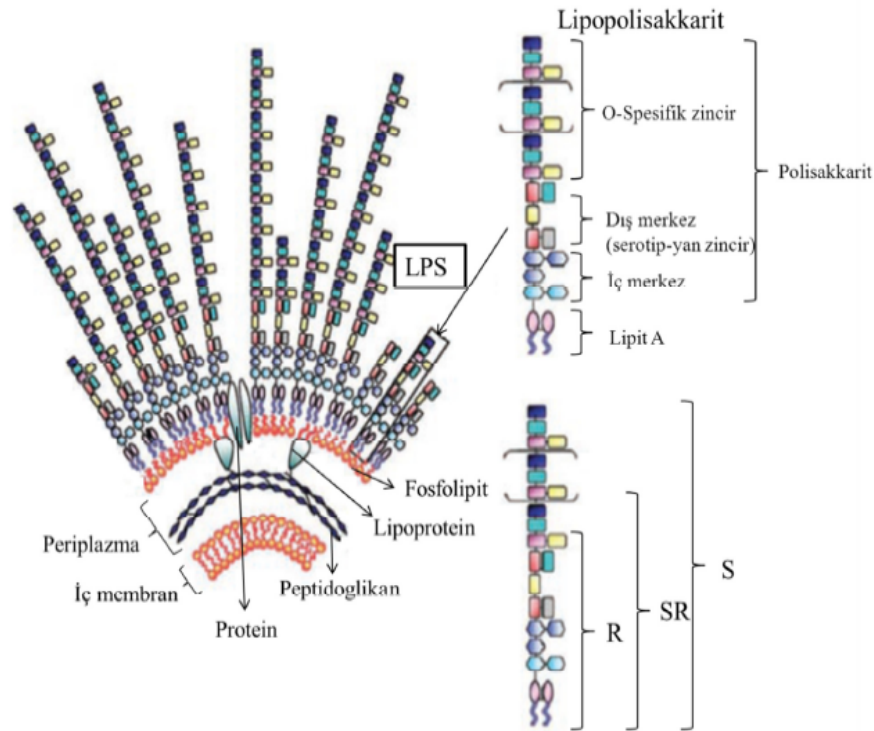
Uyarılma-inhibisyon dengesini değiştiren herhangi bir değişiklik potansiyel bir epileptogenik mekanizma olarak tanımlanmaktadır. Epileptogenez oluşumu altında yatan mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte epileptogenezden sinaps dışı olaylar, değişmiş reseptör yapımı, hücre kaybı, hücresel düzeyde anatomik değişiklikler, presinaptik sonlanmadaki aşırı uyarılma ve hatalı sinaptogenez gibi birçok mekanizma sorumlu olabilir. Epileptogenez oluşumuyla ilgili moleküler mekanizmalar arasında voltaj bağımlı Na^+ kanallarının aktivasyonu, hücresel GABA alımının inhibisyonu, GABA sentez veya yıkımındaki değişiklikler, başta $GABA_A$ reseptörü olmak üzere çeşitli uyarıcı aminoasit reseptörlerinin modülasyonu ve adenozin metabolizmasındaki düzenlenme ile ortaya çıkan değişikliklerde yer alır. Nöronal uyarılmanın artması ortaya çıkan nöbetlerin tetiklenmesi, senkranizasyonu, yayılması ve sonlanması için gerekli olan sinaptik, sinaps dışı ve hücre içi mekanizmaların birbiriyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Beyin dokusunda voltaj bağımlı sodyum kanallarının, GABA ve glutamat sistemlerinin ve adenozin yapımının nöbet aktivitesinin sürdürülmesi veya inhibisyonunda önemli bir rolü olduğu belirtilmiştir (Bora ve diğ. 2008).

Bazı çalışmacılar jeneralize epilepside, beyin sapının retiküler formasyonunda orta hat talamus nükleusları üzerinden yaygın bir girdinin aşırı uyarılmış kortekse taşınması üzerinde dururken, bazı çalışmacılar ise tetikleyici bölgenin korteks olduğu ve talamusa yayıldığını savunmaktadır. Ayrıca primer bir nöronal membran defektinin dinlenme membran potansiyelinin bozulmasına neden olduğu üzerinde durulmakta ve buna neden olan mekanizmalar arasında potasyum iletim bozukluğu, voltaj duyarlı kalsiyum

kanallarında defekt ve ya ATPaz'a bağılı iyon taşınımında bozukluklar yer almaktadır. Ayrıca GABAerjik inhibitör sistemlerindeki defekt ve eksitator nörotransmisyonunda rol alan reseptörlerin düzenlenmesi ile ilişkili olabilecek olası defektler üzerinde de durulmaktadır (Tilek 2014).

1.2.LİPOPOLİSAKKARİT

Gram negatif bakterilerin hücre duvarından elde edilen, bakteriyel endotoksin LPS, hayvanlarda deneysel septik sok modellerinde kullanılan, glikolipid yapıdaki maddeler grubundandır. Şu ana kadar yapısı ve katıldığı biyolojik mekanizmalar çok iyi tanımlanmış olan LPS, gram negatif bakterin ölmesi veya bölünmesi sırasında oluşmaktadır. (Rietschel ve diğ.1996). LPS; E.coli, Salmonella typhimurium, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa gibi birçok gram-negatif bakteriden elde edilebilir. Fakat, deneysel septik sok çalışmalarında daha çok E. coli'den elde edilen LPS'ler kullanılmaktadır. Farklı suslardan, O26:B6, O55:B5, O111:B4 gibi farklı serotiplere sahip LPS türleri elde edilebilir. (İskit AB 2005).



Çizim 1.2.1: Gram-negatif bakteri duvarı ve LPS'nin sematik gösterimi. R, SR ve S sırasıyla rough tip, semi-rough tip ve smooth-tipin yapısını göstermektedir (Caroff M ve Karibian D.2003).

LPS yapısal olarak temelde 3 immünokimyasal bölümden oluşmaktadır (Çizim 2). Bu bölümler biyolojik olarak etkinlik gösteren lipit A, O-polisakkarit zinciri (O spesifik zincir) ve yan zincir (R-kor oligosakkarit)'dir. Molekülün dış yüzeyinde bulunan O-polisakkarit tek başına inflamatuvar bir reaksiyon oluşturmaz. Genellikle tekrarlayan oligosakkarit birim polimerlerinden meydana gelir. Farklı LPS serotipleri için farklı antijenik özellikler gösterir ve endotoksine serotip denilen bakteriye has köken ve karakteristikleri verir (Brandtzaeg P 1996). R-kor oligosakkariti ise benzer bakteriler arasında aynı yapıdadır. Lipit A, LPS'nin yol açtığı inflamatuvar ve hemodinamik değişikliklerden esas sorumlu olan yapıdır ve serotiplerin tamamı için aynı özelliğe sahip lipit bileşendir. LPS ve endotoksin literatürde aynı anlamı verecek şekilde kullanılsalar da birtakım farkları vardır. LPS saflaştırılmış glikolipid yapıda iken, endotoksin küçük miktarlar da olsa farklı olarak, lipitler, lipoproteinler, hücre duvarı proteinleri ve polisakkarit içerir. (İskit AB 2005). LPS, inflamatuvar yanıtı uyularak sepsise neden olur. Tıp alanındaki gelişmelere rağmen sepsis, yoğun bakım ünitelerinde en sık ölüm nedenlerindedir ve günümüzde de yüksek ölüm oranlarıyla sonuçlanır. Toplumda oluşan sepsis olgularında en sık etkenler E. coli, Streptococcus pneumoniae ve Staphylococcus aureus'tur. Hastane ortamlarında ortaya çıkan sepsis olgularında görülen mikroorganizmalar arasında birinci sırada hala gram negatif mikroorganizmalar yer almaktadır (Azap A ve Tekeli M. 2002). LPS'nin inflamasyon sürecini oluşturabilmesi için molekül ağırlığı 58kDa olan ve karaciğerde sentezlenen lipopolisakkarit bağlayan protein (LBP) ile eşleşerek monosit, makrofaj ve lenfosit gibi hücrelerin yüzeyine lokalize olan molekül ağırlığı 53 kDa CD14 molekülü ve TLR-4 ile bağlantı oluşturması gerekir. Bu bağlanmanın sonucunda, hücre içindeki nükleustaki hücresel sinyal aktivasyon mekanizmasıyla nükleer faktör kapa beta (NF- κ B)'nin aktivasyonunu sonucu TNF- α , IL-2, IL-6, IL-1 β ve IL-8 gibi pro-inflamatuvar sitokinler üretilmeye başlanır (Buchanan MM ve diğ. 2010). Bu sitokinler mediyatörlerin salınımına (NO, prostaglandin (PG), kemokin vb) neden olarak gram (-) bakterilerin ortaya çıkaracağı etkiye katkı sağlarlar (Hayes MR ve diğ.2010). Endotoksi etkisinin en önemli hücresel immün sistem oluşturan hücreleri;

1. Doku makrofajları ve Monositler: LPS'nin etkisi sonucuyla monosit-makrofaj sistemindeki TNF- α , IL-8, IL-6, IL-1 β , NO sitokinleri salgıları oluşur. Ayrıca PG, platelet aktive edici faktörü ve serbest oksijen radikalleri salgılanmasında da rol alır (Davies ve diğ.1997).

2. Mikroglia: Periferel LPS uygulaması, merkezi sinir sisteminde TLR-4'ün ekspresyonuna ve kronik proinflamatuvar yanıtın sonucu olarak inflamasyona sebep olmaktadır (Buchanan MM ve diğ.2010).

3. Düz kas hücreleri ve vasküler endotel hücreleri: LPS etkisiyle endotel hücrelerden IL-1 β , IL-6 ve IL-8 salınımını gerçekleştirmiş olur (Mihai GN ve diğ.2001).

4. Endometriyal hücreleri: LPS'lerin sebep olduğu immün yanıtın endometriyal hücreler için doğrudan kemokin ve sitokin salınımını indüklerler (Buchanan MM ve diğ.2010).

Birçok klinik ve deneysel verilerle desteklenerek nöroinflamasyonun nöbet şiddeti ve süresini etkilediği belirlenmiştir. Ciddi ve uzun süren nöroinflamasyon döngüsünün ensefaliti ve otoimmün hastalıkları tetiklemesine dayanarak bu hastalarda nöbet geçirme olasılığını daha fazla olduğu belirlenmiştir. Gelişmiş ülkelerde yapılan araştırmalar sonucunda SSS enfeksiyonlarından kurtulanların yaklaşık %6.8-8.3'ünün nöbet geçirmediği, SSS'de ki virüslerin, parazitlerin ve bakterilerin yol açtığı enfeksiyonların çoğunlukla şiddetli enflamatuvar reaksiyonlara sebep olduğu ve epilepsi için önemli risk faktörü oluşturduğu ispatlanmıştır. Klinikteki bu gözlemler, bağışıklık ve inflamatuvar süreçlerin bazı epilepsi formlarında yeri olduğunu ve epileptogenezi arttırdığı net olarak göstermiştir. Sonuç olarak nöroinflamasyonun epilepsiyi kolaylaştırması veya neden olması söz konusudur (Dey A ve diğ. 2016).

1.3 Leptin

Leptin, obezite geninin 167. aminoasit hormonal protein ürünü olarak açığa çıkmaktadır. Leptin 4 α sarmal yapısı ve Cys 96–Cys 146 arasında bir disülfit bağı içermektedir ve yapı olarak hematopoietik sitokinlere benzemektedir. Leptin kahverengi ve beyaz yağ dokusu, gastrik epitelyum, hipotalamus, pituiter bez, iskelet kası ve sinsisyotrofoblast gibi birçok dokudan sentezlenmektedir (Correia ML ve diğ.2001). Kalp, plasenta, böbrek, dalak, timus, akciğer, karaciğer, kas, testis, pankreas, prostat, over ve kolon leptin reseptörlerinin varlığının bildirildiği dokulardır (Himms-Hagen J 1999, Klein s ve diğ. 1996). İlk zamanlarda doyumluk ve enerji dengesi ile ilgili olduğu tanımlanan leptin, daha sonra adipositlerden hipotalamusa geribildirimde etkili olan antiobezite faktörü olduğu ileri sürülmüştür (Zhang Y ve diğ. 1994). Giderek artan çalışmalar leptinin hayvanlarda ve insanlarda vücut ağırlığı ve yiyecek alımı düzenlenmesinde çok önemli bir hormon oluşunu vurgulamaktadır (Considine RV ve diğ.1996). Ayrıca leptin metabolizmanın düzenlenmesi, cinsel gelişim ve üreme gibi birçok fizyolojik olayda da rol oynamaktadır (Himms-Hagen J 1999).

Leptin adipöz dokudaki adipositler tarafından sentezlenir ve kana salınır. İnsülin leptinin sentez ve sekresyonuna aracılık ettiğinden dolayı doyumluk hormonu olarak kabul edilmektedir ama insanlarda yapılan in vivo çalışmalarda insülinin leptin konsantrasyonu artışında akut bir etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir (Pratley RE ve ark 1997, Schoeller DA ve ark 1997). Leptinin tokluk sağlayıcı etkisi birçok çalışmada vurgulanmıştır (Vila R ve ark 1998, Klein S ve ark 1996). Genelde leptin böbrekler ve karaciğer gibi diğer splanchnik organlar tarafından itrah edilmektedir (Zeng J ve ark 1997).

Ghrelin ve leptin, “Ying-Yang” prensibi mekanizması dahilinde organizmada antagonist olarak çalışmaktadırlar. Diğer bir deyişle hipotamusta bulunan Y nöronları aracılığı ile ghrelin/leptin derişimleri “geribildirim” mekanizması ile kontrol edilmekte ve vücut ağırlığı da bu yolla kontrol altında tutulmaktadır. Her iki hormonun düzeyleri açlık, tokluk, glukoz ve diyet, insülin, barsak hormonları, leptin, parasempatik aktivite, yaş, gebelik, obezite, cinsiyet, polikistik over sendromu, enerji düzeyi, insülin direnci ve diabetes mellitus, GH eksikliği, akromegali, hipo ve hipertiroidizm, neonatal dönem ve bazı nöroendokrin, gastrointestinal tümörler gibi birçok faktöre bağlı olarak düzenlenmektedir (Vila R ve ark 1998, Klein S ve ark 1996). Serum ve yağ dokusunda leptin seviyelerinin düşmesi beyinde enerji açığı bulunduğunu göstermektedir (Correia ML ve ark 2001, Peelman F ve ark 2004).

Leptin sempatik sinir sisteminin aktivitesini arttırmaktadır (Correia ML ve ark 2001). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ekstrapotalamik yapılar üzerine de leptin etkinliğinin olduğu gösterilmiştir. Orta beyin, hipokampus ve beyin sapında nöronal gelişimi, aksonal büyümeyi, sinaptogenezisi ve dentritik morfolojinin korunumunda leptinin önemi gösterilmiştir (Peelman F ve ark 2004). Bunun yanısıra glutaminerjik sitotoksiteyi önleme ve apoptozisi durdurma özelliği ile hipokampal hücrelerde nöroprotektif etki sağladığına inanılmaktadır (Morrison CD 2009, Zhang F ve diğ 2007). Aynı zamanda leptinin nöroprotektif etkinliği kortikal nöronlarda da bulunmaktadır (O'Malley D ve diğ 2007).

Bunların yanında leptin immun sistem ve metabolizmada da önemli etkilere sahiptir (Montague CT ve diğ 1997). Enflamasyon sırasında leptin düzeyinin artmasının vücudun enflamasyona verdiği yanıtta önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir (Pratley RE ve diğ 1997, Haluzik M ve diğ 1999).

Enflamasyonda meydana gelen iştahsızlığın vücudun akut olarak verdiği cevap olduğu düşünülmektedir. Enflamasyon ürünleri peşin sıra proinflamatuvar sitokinlerin (IL'ler, TNF α , interferonlar) yapımını uyarır. Sitokinler de yağ dokusunda leptin ekspresyonunu artışa neden olur. Oluşan bu sitokinler ve leptin gıda alımında azalmaya gider. Bu nedenle,

inflamasyon ve enfeksiyon sırasında gelişen iştahsızlıktan özellikle IL- 1, TNF- α , ve IL-6'nın sorumlu olduğu ve sitokinlerin bu etkilerinde kısmen leptinin aracılık ettiği düşünülmektedir (Fantuzzi G ve Faggioni 2000).

Leptin birincil olarak adipositlerden sentezlenip sirkülasyonla salındıktan sonra kan beyin bariyerini aşarak santral sinir sistemindeki ilgili reseptörlerinin de aracılığıyla etkilerini açığa çıkarır (Guo Z ve diğ 2008). Leptin reseptörleri hipokampal hücreler tarafından eksprese edilmesine rağmen, leptinin hipokampustaki fonksiyonu tam olarak tanımlanamamaktadır. Leptinin ve epilepsi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların neticeleri birbirleriyle örtüşmemektedir. Prokonvülsan etkinliğinin var olduğunu gösteren çalışmaların yanısıra antikonvulsif etkisinin de olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Penisilin modeli ile oluşturulan iki deneysel epilepsi çalışmasına leptinin doza bağımlılığı sonucu pro-konvulsif etkisinin bulunduğu (Ayyıldız M ve ark 2006, Aslan A ve ark 2010) bulgusuna rağmen, Xu L. ve arkadaşları; voltaja bağımlı K⁺ kanallarının nonspesifik inhibitörü olan 4- aminopiridin enjeksiyonu ile oluşturulan fokal neokortikal nöbetlere karşı leptinin antikonvulsif etkilirinde olduğu sonucunu görmüşlerdir. Bu araştırmacılar intraperitoneal PTZ enjeksiyonuyla (GABAAR antagonisti olan) oluşturulan generalize nöbete karşı da leptin hormonunun antikonvulsif etkiliri var olduğunu gözlemlemişlerdir (Xu L ve ark 2008). Bu çalışmaların sonuçları leptinin akut fokal ve generalize nöbetlerin hayvan modellerinde antikonvulsif etkilirinin de olduğu hipotezini açıkça desteklemektedir. Leptin hormonunun antikonvulsif etkilerini açıklamak üzere birçok mekanizma ileri sürülmüştür. Bunların içinde, leptinin karibdotoksine karşı hassas K⁺ kanalının aktivitesi, Ca²⁺ ile aktive olan K⁺ (BK) kanallarının aktivasyonu ile uyumlu olarak arttırıldığı gösterilmesi (Shanley LJ ve ark 2002) ve hipokampal dilimlerinde düşük seviyelerde Mg²⁺ le indüklenen epileptiform aktivitesine karşı leptin antikonvulsif olarak yer almaktadır (Aslan A ve ark2010). Bununla birlikte Xu ve arkadaşlarının düşük nanomolar seviyelerinde leptin konsantrasyonlarının hipokampal dilimlerde AMPA reseptörleri vasıtasıyla glutamaterjik sinaptik iletiyi baskıladığı fakat yüksek dozlarda aynı etkiyi göstermediğini saptamışlardır (Xu L ve ark 2008). Shanley ve arkadaşları ise leptin inhibitör etkinliğini muhtemelen NMDA reseptör fonksiyonunu artış yaparak gerçekleştirdiğini öngörmüşlerdir (Shanley LJ ve ark 2002). Bazı çalışmaların sonuçlarında leptin hormonunun eksitator etkinliğinin varoluşundan bahsedilmesine rağmen gerçekleştirilen deneysel birçok çalışma akut nöbet modelleri üzerinde leptinin net inhibitör etkinliği olduğu gösterilmektedir. Fakat, leptinin antikonvülsan etkilerinden sorumlu olan mekanizma hala bilinmemektedir (ThioLL 2012)

1.3.1 Galanin

Galanin, 29 aminoasitli bir nöropeptid olup GAL geni tarafından kodlanır, beyin ve omurilikte çokça bulunur. İnsanlarda bulunduğu gibi diğer memelilerde de galanin bulunmuştur. G protein bağlı reseptörler aracılığıyla galanin sinyalizasyonu meydana gelir (Evans H ve ark 1993). Ağırlıklı olarak özellik göstermektedir. Galanin nöropeptidi hiperpolarizan etkinlik göstererek ve nörotransmitter salınımını inhibe etmektedir (Mitsukawa K ve ark 2008). Galanin; serotonin, asetilkolin ve norepinefrin gibi klasik nörotransmitterlerle ve nöropeptid Y (NPY), P maddesi, vazoaktif intestinal peptid gibi diğer nöromodülatörlerle lokasyon gösterir (Evans H ve ark 1993, Mitsukawa K ve ark 2008).

Galaninin etkisine farklı genlerle kodlanan 3 reseptör aracılık eder. Bunlar Galanin Reseptör 1, 2, 3 (GalR1, 2, 3) şeklindedir (Lundstrom L ve ark 2005). Beynin genelinde bu reseptör alt tipleri genel olarak inhibitör etkilidir. Gal R2, Gq'yu aktive ederek Ca sinyalini artırır ve protein kinaz C aktivitesini artırır (Mitsukawa K ve ark 2008). Bu yüzden nöronal ateşlemede galR2'nin farklı etkileri beklenebilir. Seçici olmayan galanin agonist ve antagonistlerinin alımıyla kompleks değişiklikler beklenebilir (Mitsukawa K ve ark 2008, Lundstrom L ve ark 2005). Bir kimyasal analiz tekniği olan C-terminal alanin amid yapısına göre peptid yapısı aydınlatılmıştır. Galaninin bir N-uç glisin kalıntısının ve bir C-uç alanin içermesi nedeniyle Galanin diye adlandırılır (Berger A ve ark 2005). Galanin nöropeptidi ilk olarak bağırsak peptidi olarak bulunmuş (Evans H ve ark 1993), sonraki çalışmalarda memeli beyinde dağılım gösterdiği, yeme, ağrı modülasyonu, nöbet öğrenme ve hafızada kritik fonksiyonları olduğu görülmüştür (Bauer JW ve diğ 2008).

Galaninin işlevsel rolü büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak galanin ağırlıklı olarak nöronların aksiyon potansiyellerinin modülasyonuna ve inhibisyonuna katılmaktadır. Galanin; nosisepsiyon, uyanma, uyku regülasyonu, biliş, beslenme, afekt düzenlenmesi, kan basıncının düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik işlevde rol alır (Bauer JW ve diğ 2008). Galanin; Alzheimer hastalığı, epilepsi, depresyon ve yeme bozukluklarında önemli yer tutar (Bauer JW ve diğ 2008, Mazarati A ve diğ 2004). Galaninin nöroprotektif etkinliği bulunur. Örneğin aksotomi sonrası nöronal galanin 8-10 kat artar, bu artış epileptik nöbet sırasında da olmaktadır (Mazarati A ve diğ 2004). Galaninin yeme bozukluklarındaki rolüne ek olarak stresle bağlantılı ve bağımlılıkla ilgili davranışlarda da önemli olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Hikida T ve diğ 2003). Stres cevabında yer alan peptitler, insan ve hayvanlarda ilaç kötüye kullanımını davranışını da değiştirebilir.

Galanin ağırlıklı olarak merkezi sinir sistemi ve mide-bağırsak yolunda yer almaktadır. Merkezi sinir sistemi içinde hipotalamusta yüksek konsantrasyonda, korteks ve beyin

sapında düşük seviyelerde bulunur. Gastrointestinal galanın mide, ince bağırsak ve kolonda düşük konsantrasyonlarda, duodenumda ise bol olarak bulunur(Hikida T ve diğ 2003).

1.4 Sitokinler

Sitokinler immün sistemin regülasyonunda önemli bir yere sahip hücreler arasında iletişimi sağlayan çözücü mediatörlerdendir (Li G ve diğ 2011). Hücre fonksiyonlarının yerine getirilebilmesi için gerekli hücreler arası iletişimi sağlamanın yanısıra; farklılaşma, büyüme, gelişme ve akut cevap oluşturmada da görev almaktadırlar. Sitokinler protein yapısında olup etkinliklerini spesifik reseptörleri aracılığıyla gösterirler. İmmün sistemde fonksiyon gören sitokinleri inflamatuvar veya inhibitör olarak ikiye ayırmak mümkündür. Proinflamatuvar sitokinler, inflamasyonun oluşmasına yol açan etkenin uyarısı ile ilk ortaya çıkan ve inflamasyonun artmasını ve devam etmesini sağlayan moleküllerdir. En önemli proinflamatuvar sitokinler TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IFN- γ olarak sıralandırılabilir (Abbas KA ve diğ 2007). İnflamasyon kaynaklı gelişen problemlerin ve beyin hasarının gelişimi açısından en çok odaklanılan, en çok araştırılan sitokinler proinflamatuvar sitokinlerden oluşmaktadır (Dammam O ve diğ 2008). Bu sitokinler diğer inflamatuvar ve sitotoksik moleküllerin salgılanmasını, adhezyon moleküllerinin ekspresyonunu sağlayarak lökositlerin inflamasyon bölgesine çekilmesini ve oligodendrositlerde hasar oluşumuna neden olarak yenidoğanda beyin hasarının oluşmasına neden olmaktadır. Proinflamatuvar sitokinlerin gelişen beyin üzerinde doğrudan toksik etkiler oluşturduğu bilinmektedir (Saliba E ve diğ 2001).

Epilepsili hastaların ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, sitokin ekspresyonu ve immün sistem hücrelerinde oluşan anormallikler dikkat çekmektedir (Lehtimäki KA ve diğ 2007). Bununla birlikte, bağışıklık sistemiyle ilişkili olan inflamatuvar reaksiyonların epileptogenezis üzerinde de önemli etkilere sahip olduğu bilinmektedir (Balosso S ve diğ 2005). Uzamış epileptik krizin, sonuç olarak santral sinir sisteminde sitokin yapımını arttırdığıda birçok çalışmada ıspatlanmıştır(Lehtimäki KA ve diğ2003).

1.4.1 Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- α)

TNF- α 73 ve 172.aminoasitlerinde glikolize 185 aminoasitlik bir transmembran proteindir. 212 aminoasitlik inaktif öncül protein olarak sentezlenmektedir. Membranla ilişkili formu TNF- α dönüştürücü enzim (TACE) ile parçalanarak biyoaktif çözümlü formu oluşturulmaktadır. TNF- α 17-kDa ağırlığında, nonkovalent bağlı iki, üç veya beş üniteden oluşan multimerlerdir. TNF- α çok farklı hücre tipleri tarafından üretilmektedir. Monosit,

fibroblast, endotel hücreleri başka olmak üzere T-hücreleri, B-lenfositler, mast hücreleri, eozinofiller, düz kas hücreleri, kondrositler, granülositler, osteoblastlar, glial hücreler ve keratinositler de stimüle olarak TNF- α sentezini yapmaktadırlar. TNF- α sentezi IL-1, trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), bakteriyal endotoksinler ve Oncostatin M ile oluşan fizyolojik uyarı ile meydana gelir. Fibroblastlarda TNF- α sentezi interferon β (INF β), viral enfeksiyonlar ve PDGF aracılığıyla uyarılırken, timik stromal hücrelerde nöronal büyüme faktörü (NGF) aracılığı ile olur (Mukhopadhyay ve diğ 2006).

TNF- α , gram (-) bakteri ve diğer enfeksiyon etkenlerine karşı olarak oluşan akut inflamatuvar cevabın ana mediyatörüdür ve ciddi enfeksiyonların bir çok sistemik komplikasyonundan da sorumludur. TNF- α 'nın en önemli kaynağı aktive olan makrofajlardır. Ama antijenle uyarılmış T hücreleri, doğal öldürücü (NK) hücreler ve mast hücrelerinden de salgılanmaktadır. Makrofajlardan TNF- α salınımını uyaran en önemli etkenler, LPS ve diğer mikrobik ürünlerdir. IFN- γ , LPS ile uyarılmış makrofajlardan TNF- α salınımını artırmaktadır. TNF- α etkisini hücre zarındaki ilgili reseptörüne bağlanarak gösterir. TNF- α 'nın en önemli etkisi monosit ve nötrofilleri enfeksiyon veya inflamasyon bölgesine çekip, aktive ederek etkenin ortadan kaldırılmasını sağlayarak yapmaktadır. Bu etkiyi sağlamak için TNF- α :

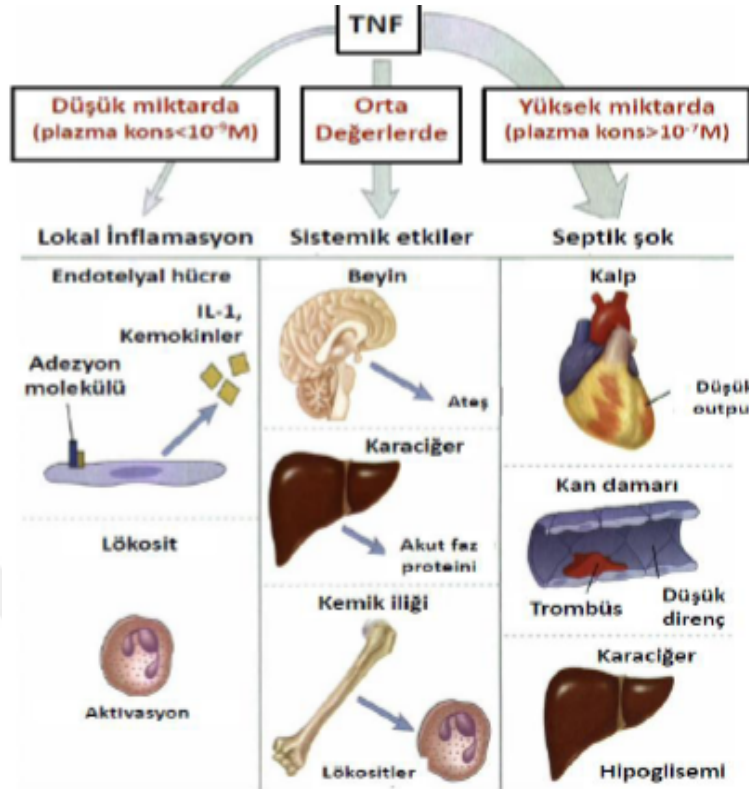
- Vasküler endotelde adhezyon moleküllerini salgılatır (selektin, integrin),
- Vasküler endotel ve makrofajlardan kemokinlerin salınımını sağlar ve lökosit kemotaksisini artırır.
- Mononükleer fagositlerden IL-1 salınımını artırır,
- Nötrofil ve makrofajların mikrobisidal aktivitelerini artırır.

Enfeksiyonun lokalize edilmesi için gerekli olan TNF- α 'nın, ağır enfeksiyonlarda aşırı miktarda üretimi ciddi sistemik anormalliklere yol açar (çizim 1.4.1):

- Hipotalamusta sıcaklık eşiğini yükseltir ve ateşe neden olur.
- Karaciğerden, serum amiloid A ve fibrinojen gibi akut faz proteinlerinin salınımını artırır.
- Uzamış TNF- α üretimi iştahı azaltır, kas ve yağların erimesine yol açar.
- Serum konsantrasyonu 10^{-7} M,,nin üzerine çıktığında kalp ve damar düz kası kontraktilitesini baskılar. Bunun sonucunda şok tablosu gelişir.
- Endotelden doku faktörü salınımını artırıp ve trombomodülin salınımını azaltarak damar içi pıhtılaşmaya yol açar (Abbas KA ve diğ 2007, Sawada M ve diğ 1989).

Merkezi sinir sisteminde TNF- α 'nın asıl kaynağını mikroglialar oluşturmaktadır. TNF- α mikroglia tarafından beyin hasarına veya inflamasyona yanıt olarak salgılanmaktadır (Sawada M ve diğ 1989). Diğer sitokinlerin ve aracı moleküllerin salınımını uyarmanın

dışında oligodendrositler üzerine olan direk toksik etkisi ile beyin hasarına yol açabilmektedir.



Çizim 1.4.1: TNF- α 'nın etkileri (11)

1.4.2 İnterlökin- 1 β (IL-1 β)

IL-1, enfeksiyonlara ve diğer immün uyarılara karşı oluşabilen konak immün yanıtı sonucu aktive olmuş mononükleer fagositlerce üretilen önemli bir sitokindir. Fonksiyonları TNF- α ile benzemektedir ve inflamasyon oluşumunda TNF- α ile birlikte çalışırlar. Mononükleer fagositler tarafından üretilen LPS gibi bakteriyel ürünlerin veya TNF- α gibi sitokinlerce uyarılır. Makrofajlar dışında nötrofil, endotelial hücreler ve epitelyal hücreler gibi birçok farklı hücre tarafından üretilebilir. IL-1'in IL-1 α ve IL-1 β olarak iki formu vardır. Yapısal olarak büyük oranda farklı gibi olsalar da aynı tip reseptörlere bağlanıp, benzer fonksiyonlar görürler. IL-1'in etkileri TNF- α ile benzeşmektedir ve aynı TNF- α 'da olduğu gibi üretilen miktara bağlı olarak sistemik etkileri oluşabilir. Düşük dozlarda lokal inflamasyona aracılık eder fakat yüksek miktarlarda üretilip kan dolaşımına girerse ateş, akut faz proteinlerinde artış, IL-6 üretiminin uyarılması ve kemik iliğinde nötrofil ve trombosit üretiminin artması gibi etkileri oluşturmaktadır. Ancak TNF- α gibi şok tablosuna yol açmamaktadır (Abbas KA ve diğ 2007, Sawada M ve diğ 1989).

İnflamatuvar cevapta; TNF- α , IL-1 α ve IL-1 β makrofajlar tarafından salgılanan ve inflamasyonun başlamasına neden olan sitokinlerdir. IL-1 α ve IL-1 β kendileri inflamasyona yol açarlar, fakat daha önemlisi proinflamatuvar genlerin sentezini de uyarmaktadırlar. Bunlardan en önemlileri siklooksijenaz tip 2 (COX-2), IL-6 , uyarılabilir nitrik oksid sentaz (iNOS) ve diğer sitokinlerle kemokinler oluşturmaktadır. IL-6 ve TNF- α kendilerinin ve birbirlerinin üretimini de uyarır ve böylelikle inflamatuvar cevabın hızlarını da artırır. Özel olarak IL-1, mononükleer fagositler ve damar endoteline etkiyle IL-1'in sonraki sentezini arttırır. Aynı zamanda IL-1 ve TNF- α vasküler endotelde kandan doku içine lökosit göçünün oluşmasını sağlayan ICAM-1 gibi adezyon molekülü reseptör sentezini de arttırırlar. Kemotaktik madde üretiminin artışıyla da lökositlerin lokal olarak birikimini de sağlamış olurlar. IL-1 β vücut sıvısında çok kolay saptanabilir; IL-1 α ' ya göre inflamasyonla daha sıkı bir ilişki içindedir (Apte RN ve diğ 2002).

1.4.3 İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6, hem doğal hem de edinilmiş bağışıklıkta görev alan bir sitokindir. Enfeksiyon etkenleri ve IL-1, TNF- α gibi sitokinlerin uyarıları sonucu mononükleer fagositler ve endotel hücrelerinden salgılanır. Bununla birlikte aktive olmuş T lenfositler de IL-6 salgılayabilir. IL-6'nın aktif formu yapısal olarak bir homodimerden oluşur. IL-6'nın birden çok farklı işlevi vardır. Doğal bağışıklıkta, akut faz proteinlerinin ve akut faz cevabının oluşumunda yer alır ve uyarımını sağlar. Kemik iliğinde nötrofil öncüllerinin dönüşümünü koloni uyarıcı faktörler ile birlikte çalışarak hızlandırmaktadır. Edinilmiş Bağışıklıkta, B lenfositlerinin büyümesi ve plazma hücrelerine dönüşmesini uyararak sağlar. Ayrıca IL-6'nın hücre aracılıklı immün reaksiyonları bazı proinflamatuvar sitokinlerin (özellikle IL-17) sentezinin artışı ve regülatuar T hücrelerini baskılayarak başlattığına dair kanıtlar vardır (Sawada M ve diğ 1989, Abbas KA ve diğ 2007). IL-6, beyinde inflamasyona cevap olarak mikroglia ve astrositlerden salgılanır (Lee SC ve diğ 1993) ve IL-1, TNF- α ve hücreler arası adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) sentezinde upregülasyona neden olmaktadır (Chiang CS ve diğ 1994). Ayrıca inflamatuvar yanıt dışında IL-6'nın normal beyinin gelişiminde önemli yere sahip olduğu bilinmektedir.

IL-6 inflamatuvar yanıtları ve diğer immün tepkimeleri de düzenleyen çok fonksiyonlu bir sitokindir. IL-6 sadece inflamasyon ve enfeksiyona yanıt oluşturmaz, aynı zamanda regeneratif, metabolik ve nöronal prosesin düzenlenmesine de katılır. IL-6'nın epilepsi üzerine olan etkisiyle ilgili son yıllarda yapılan çalışmalarda birbiriyle çelişen raporlar mevcuttur (Li G ve diğ 2011). IL-6 çoğunlukla pro-inflamatuvar etki göstermesine karşın

regeneratif veya anti-inflamatuar etki de göstermektedir. Sitokinlerin hangi mekanizma ile pro veya anti-inflamatuar etki ettikleri açıkça belirlenememiştir (Scheller J ve diğ 2011). Birçok hayvan deneylerinin sonucunda IL-6 normal sinir sistemi gelişimi için gerekli olmasına rağmen yüksek konsantrasyonlarda nörotoksik ve prokonvülsan olabilmektedir. Hem beyin hem de kan IL-6 ekspresyonunun artışı epilepsi ile ilişkili olabilir(Li G ve diğ 2011). Jeneralize tonik-klonik nöbetlerden sonra IL-6 seviyelerinin BOS'daki artış plazma artışına oranla daha belirgin olduğu görülmüştür. Dolayısıyla IL-6'nın başlangıç olarak daha ağırlıklı olarak SSS'de olduğu düşünülmektedir (Biliau AD ve diğ 2007).

1.4.4 Fibroblast Growth Faktör-2 (FGF-2)

FGF glial hücreler ve çeşitli nöronlar tarafından eksprese edilen sitokin ailesinin üyesidir(Unsicker K ve diğ 1987). FGF-2 ailesi 23 üyeden oluşmaktadır. FGF'nin farklı etkileri hücre yüzeyinde bağlı tirozin kinaz reseptörlerinin aktivasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Şu an dört farklı tip FGF reseptör tespit edilmiştir (FGFR-1,2,3,4). Farklı FGF aile üyeleri değişik FGF reseptör subtiplerine bağlanmaktadır. Erişkin santral sinir sisteminde FGFR-1, FGFR-2, FGFR-3 reseptörlerinin diensefalon ve telensefalonunda yüksek düzeylerde eksprese edildiği tespit edilmiştir (Asai T ve diğ 1993). FGFR-1 erişkin SSS yaygın olarak bulunmasına rağmen SSS'de spesifik nöronal bölgelerde etkinliğini göstermektedir. Özellikle beyaz maddedeki astrositlerde yoğun olarak tespit edilmiştir (Takami K ve diğ1998). FGFR- 2 ve 3 ise özellikle glial hücreler üzerinde bulunmaktadır. FGF reseptörlerinin dördüncü üyesi (FGFR-4) ise sadece gelişmenin evrelerinde eksprese edilir ve erişkin SSS de tespit edilememiştir (Yazaki N ve diğ 1994).

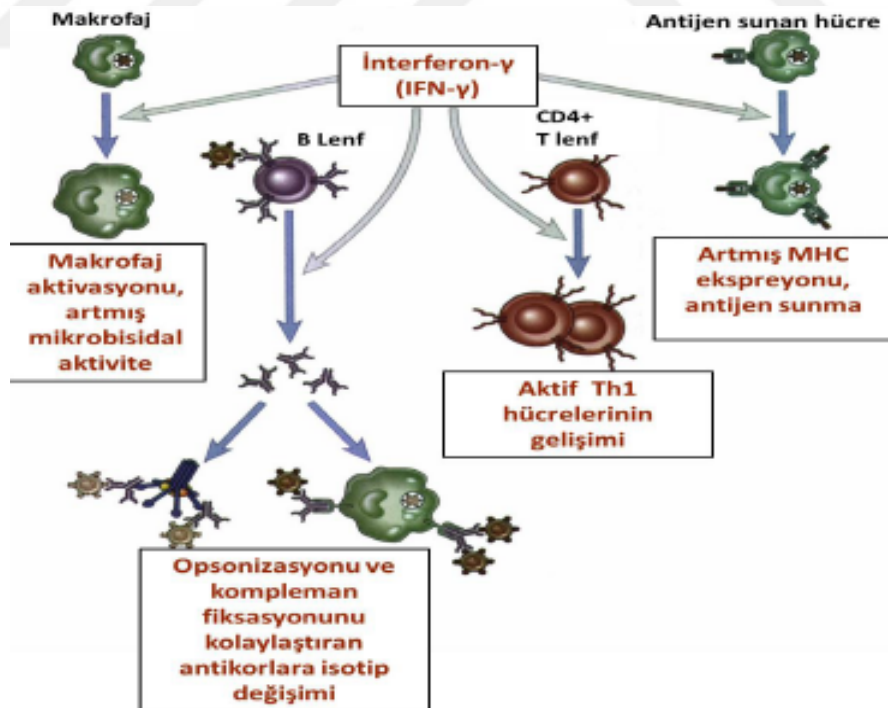
FGF-1 ve FGF-2 hücrelerin proliferasyonunu, farklılaşmasını ve göçünü düzenler (Asai T ve diğ 1993). FGF-2, FGF üyeleri arasında ilk keşfedilen olmuştur (Eckenstein F ve diğ 1991). SSS'den hem gelişim döneminde hem de postnatal dönemde eksprese edilir. SSS içinde FGF-2 sadece nöronlarda değil aynı zamanda glial hücrelerde de çok yaygındır. FGF- 2 mRNA olfaktor bulbus, substantia nigra, korteks, striatum, hipokampus, talamus, medulla oblangatanın yanı sıra pitüiter glandın anterior ve posterior loblarında bulunmuştur (Zechel S ve diğ 2010). FGF-2 etkilerini FGF-2 ailesinin diğer üyeleri gibi spesifik fibroblast growth faktör reseptörleri (FGFRs) üzerinden gösterir. Bu reseptörler içinde FGFR-1'e yüksek affinitesi vardır. FGF-2 hem hipokampusun oluşumu sırasında hem de postnatal gelişimi sırasında önemli yere sahiptir. Erişkin hipokampusunda FGF-2; nöbet, nöbete bağlı beyin hasarı ve lezyona bağlı hasarda nöroprotektif etkili olmasının

yanı sıra nöronal plastisite mekanizmalarında da yer almaktadır (Ornitz DM ve Leder P 1992, Grothe C ve diğ 1991).

1.4.5 İnterferon-gama (IFN- γ)

IFN- γ , makrofajları aktive eden en önemli sitokindir. Hem doğal hem de adaptif immünitede önemli görevleri yer almaktadır. IFN- γ , CD4+, CD8+ T hücreleri, NK hücreleri, Th1 hücreleri tarafından salgılanır. NK hücreleri tarafından veya IL-12 uyarısı ile salgılandığında doğal bağışıklığın bir aracısı olarak işlev görürken, spesifik antijen tanıma olayına reaksiyon olarak T hücrelerinden salgılandığında edinilmiş bağışıklık işlevlerinde de rol oynamaktadır. Hücre içi mikroorganizmalara karşı hücre aracılıklı bağışıklıkta IL-12 ile birlikte önemli rolü vardır (Abbas KA ve diğ 2007). IFN- γ , bu fonksiyonları yerine getirirken:

- Makrofajların mikrobisidal aktivitelerini artırır,
- Th1/Th2 dengesini Th1 lehine çevirir ve antimikrobiyal aktiviteyi artırır,
- B lenfositlerinden IgG1 ve IgE üretimini azaltıp IgG2 üretimini artırarak opsonizasyonu ve makrofaj fonksiyonlarını artırır,
- Antijen sunan hücrelerdeki MHC I ve MHC II moleküllerini artırarak T hücre aktivasyonunu uyarır (çizim 1.4.2)



Çizim 1.4.2: IFN- γ ,nın etkileri(Abbas KA ve diğ, 2007)

2.AMAÇ

Gebelik sırasında tanısı konmuş annenin ekstra-amniyotik enfeksiyonları erken doğum, epilepsi, ak madde hasarı ve serebral palsi için önemli risk faktörlerindedir. Erken doğum yapan kadınların %10-30 klinik olarak belirgin ve subklinik gram-negatif bakteriyel enfeksiyonları mevcuttur (Deb ve ark.,2004). Toksik etkiye sahip, Gram-negatif bakterilerin dış zarı bakteriyel endotoksin, lipopolisakkarit(LPS), büyük antijenik yapılardır (Rousset ve ark.,2006).

Gebelerde idrar yolu enfeksiyonları hem nosokomial hem de toplumdan kazanılmış olan enfeksiyonlar arasında en sık rastlanan enfeksiyon grubudur. Ve genellikle enfeksiyon gebeliğin son dönemine kadar anlaşılammaktadır. Bu tür enfeksiyonlarda en sık etken, Escherichia coli (E. coli)'nin de bir üyesi olduğu gram negatif çomaklardır (Jaiswal ve ark.,2008). Kadınların üriner sisteminde kolonize Gram-negatif bakteriler ayrı bir mikrobiyal ortamın oluşmasına neden olur (Jaiswal ve ark., 2008). Enfekte gebe kadınların genitoüriner sisteminden salınan endotoksinler, erken doğum, epilepsi ve diğer perinatal komplikasyonlar ile ilişkili olabilir (Jaiswal ve ark.,2011). Geniş epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda perinetal dönemde enfeksiyona maruziyet sonucu şizofreni, otizm, serebral palsi ve bilişsel zorluklar gibi sorunları arttığını gösteriyor (Boksa ve ark.,2010).

Perinatal inflamasyonun yenidoğan da beyin hasarı oluşturabildiği ve bunun sonucunda nörolojik bozuklukların yenidoğanın sonraki yaşamında fonksiyonel özürlülük oluşturabileceği belirtilmiştir. Yapılan çalışmaların sonuçlarında akut inflamasyon, kronik inflamatuvar bir duruma kaydırılmış ve/veya olumsuz beyin gelişimini etkileyebileceğinin belirtileri ortaya çıkmıştır (Jacobsson ve ark., 2002). LPS'ye verilen inflamatuvar yanıtta sirkadiyen ritim, hem bağışıklık hücreleri sayısındaki diüurnal varyasyonu hemde immün ritmi kaldırmadan IL-6 salınımını yükseltir. IL-6 salınımının yükselmesi, hücre sayısından ziyade artmış bağışıklık hücre yanıtı ile ilişkilidir (Kandis ve ark., 2013). Gebelik döneminde (örneğin gebeliğin sonlarına doğru erken dönemde) maternal enfeksiyona maruziyetin doğan yavruda davranış bozukluğu oluşturma olasılığını arttırdığını destekleyen sonuçlar elde edilmiştir (Meyer U ve ark. 2008).Sıçanlarda (orta-ikinci trimesterde eşdeğeri), gebelik sonlarında fetal enflamasyon ve LPS enjeksiyonu ile taklit edilen maternal enfeksiyonun beyin gelişimini etkilediğine dair bulgular elde edilmiştir. LPS'ye maternal maruziyet sonrası, fetal beyinde artmış mikrogliya aktivasyonu, reaktif astroglia ve pro-inflamatuvar sitokinlerin artmış ekspresyonu tespit edilmiş olup, gözlenen etkilerin kısmen bağışıklık araçları tarafından üretilebileceğini düşündürmektedir. LPS

enjekte edilen yavrularda nöronal ağların oluşumunun değiştiğini ve böyle anormalliklerin, nörogelişimsel kaynaklı psikiyatrik bozuklukların altında yatan temel bir patofizyolojiyi temsil edebileceğini düşünen çalışmalar bulunmaktadır (Ghiani ve ark., 2011). Patojen ile oluşturulan maternal immün aktivasyonun ve proinflamatuvar sitokinlerin salınmasının, yavruların sinir gelişimini ve olgunlaşmasını etkileyen kritik mekanizmalar olabileceği öne sürülmüştür (Boksa P., 2010). Prenatal LPS'ye maruz kalmanın, yavruların hipokampusunda uyarma ve inhibisyon arasındaki dengeyi bozabileceğini ortaya çıkan nöbetlerin başlamasına ve yayılmasına katkıda bulunduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Son zamanlarda artan kanıtlar, prenatal LPS ile tetiklenen inflamasyonun akut fazı sırasında maternal olarak üretilen sitokinlerin fetal dolaşıma girebildiği ve fetal beyindeki sitokin düzeylerini artırabileceğini göstermektedir. Bu artmış sitokinler, nöronal sağkalımı, farklılaşmayı ve apoptozu bozabilir ve nörotrofinlerin ekspresyonunu engeller ve gelişmekte olan beyinde eksitotoksisiteye neden olabilir. Dolayısıyla, prenatal immün aktivasyona bağlı akut sitokin maruziyeti, altta yatan sinirsel substratları hassaslaştırarak ve beyinin bir sonraki çevresel hakarete tepki verme şeklini değiştirerek, daha sonraki hayatta nöbetler için bir "savunmasızlık" faktörü görevi görebilir (Yin ve ark., 2013). Leptin enerji alımı veya harcanmasını, nöroendokrin fonksiyonu düzenleyen birkaç nörepeptidin ifadesini değiştirmek için hipotalamustaki spesifik reseptörlerine bağlanarak düzenler (Marik ve ark., 2000).

Leptin, immün ve endokrin sistem için ortak olan önemli bir mediyatördür. Bağışıklık sisteminde leptin, C-reaktif protein (CRP), IL-1 ve IL-6 ile birlikte bir erken akut faz reaktanı olarak işlev görür; inflamasyon, sepsis ve ateş sırasında yüksek miktarlarda üretilir ve TNF ve IL-1 gibi diğer inflamatuvar mediatörlerce indüklenebilir (Matarese ve ark., 2004).

Epilepsi, beyinde nöbetler ve aşırı nöronal aktivite ile karakterize bir hastalık grubudur. Tüm epileptik ataklar farklı mekanizmalar sonucu gelişmekte; ancak hepsi artmış nöronal uyarılabilirlik ve eşzamanlılık da dahil olmak üzere ortak özellikleri paylaşmaktadır. Genel olarak, eksitator ve inhibitör sistemler arasındaki dengenin bozulması nöbet oluşumundan sorumlu tutulur. Aynı zamanda, genetik mutasyonların anormal iyon kanal fonksiyonu sonucu nöbet oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir (Stafstrom ve ark., 2006). Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, leptin mediyatörünün epilepsi modülasyonunda önemli rol oynadığı ve dolaylı olarak epilepsi nöbetlerini etkilediği yönündedir (Kovac ve ark., 2013; Oztas ve ark., 2016).

Bu bilgiler ışığında çalışmamızda;

- Wistar ırkı gebe sıçanlara gebeliğin 15. ve 16. günlerinde LPS uygulayarak, maternal inflamasyon maruziyeti oluşturuldu.
- Doğan yavrular da inflamasyona maruziyetin ve erken doğumun, yavru sıçanların genç-erişkin dönemlerinde davranış, öğrenme- bellek, duysal ve uzaysal hafıza, epileptogenez ve proinflamatuvar sitokin düzeyleri üzerine etkileri birarada değerlendirildi.
- Bunun yanı sıra LPS enjeksiyonu ile eş zamanlı olarak Leptin uygulamasının bu parametreler üzerinde etkilerinin olup/olmadığı araştırıldı.
- LPS ve LPS ile birlikte endojen bir peptid olan Leptin uygulamasının davranış, öğrenme bellek ve nöbet duyarlılığı ve sitokin düzeyleri arasındaki ilişkinin maruziyetten sonraki geç dönemdeki sonuçları incelendi ve aydınlatılmaya çalışıldı.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları Protokolü

Çalışma Kocaeli Üniversitesi deneysel tıp ve araştırma merkezinde yürütülmüştür. Sıçan yavruları ısı kontrollü (22°+/-), 12 saat aydınlık , 12 saat karanlık döngünün olduğu laboratuvar ortamında kafeslerde tutulmuştur. Yiyecek ve su kısıtlaması yapılmamıştır. Çalışmada gebeliği planlanmış ve gebelik günü belirlenmiş olan Wistar türü sıçanlar kullanılmıştır. Hamilelik oluşturmak için sıçanlar 2 dişi, 1 erkek olacak şekilde 3'er sıçanlık gruplar halinde 1 gece aynı kafeslerde tutulmuştur. Dişi Wistar sıçanların erkek sıçanlarla çiftleşme sonrası vajinal smearlerinde sperm görülmesi ile gebeliğin 0.günü olarak kabul edilmiştir (Şahin D ve diğ 2017). Gebeliğin 15. Ve 16. Gününde (Yin P ve diğ 2013) Wistar sıçanlara intraperitoneal olarak LPS uygulması/ SF/ Leptin uygulanarak ve naif olarak kafeslerine konuldu ve doğuma kadar rutin bakımları gerçekleştirildi. Sıçanlar, 20-25°C ısı ,%50 nem, 12 saat karanlık ve 12 saat fotoperiyotta, standart besin ve su ile beslendi. Gebelik günü tespit edildikten sonra takibe alınan kafeslerde doğan yavru sıçanlar bir aylık olduklarında annelerinden ayrılarak ayrı kafeslere dişi ve erkek olarak yerleştirildi. Wistar dişi ve erkek sıçanlar aşağıdaki şekilde gruplandırıldı. A grubu için 7 gruba, B grubu için 4 gruba ayrılıp, her grubun kafesleri ayrıldı. Deneylerin sonunda tüm gruplar hafif eter ile anestezi altında kan örnekleri toplandı ve dekapite edildi.

3.2. Deney Grupları

Deney grupları şu şekilde oluşturulmuştur.

A-Konvulsif nöbet duyarlılığının ve serum sitokin, galanin düzeylerinin değerlendirildiği gruplar

GRUP 1: (Naif) işlem görmemiş anneden doğan sıçanlar PND 45.günde ; serum tumor nekroz faktör-alfa(TNF-alfa), interlökin-1 beta(IL-1B), interlökin-6 (IL-6), FGF-2, İnterferon-gama (IFN-gama) ve galanin düzeylerinin değerlendirildiği naif grup.

GRUP 2: (SF+ SF) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak SF uygulanan anne sıçanlardan doğan yavrular PND 45.günde TNF-alfa, IL-1B, IL-6, FGF-2, IFN-gama ve Galanin düzeylerinin değerlendirildiği kontrol grubu.

GRUP 3: (LPS) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak Lipopolisakkarit mediatörü (200 µg/kg) uygulanan anne sıçanlardan doğan yavrular PND 45.günde TNF-alfa, IL-1B, IL-6, FGF-2, IFN-gama ve Galanin düzeylerinin değerlendirildiği grup.

GRUP 4: (LPS+Leptin) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak

lipopolisakkarit (200µg/kg) ve eş zamanlı olarak Leptin (4mg/kg) uygulanan anne sıçanlardan doğan yavrular PND 45.günde TNF-alfa, IL-1B, IL-6, FGF-2, IFN-gama ve Galanin düzeylerinin değerlendirildiği grup.

GRUP 5: (SF+ PTZ) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak SF uygulanan anne sıçanlardan doğan yavrulara PND 45 te PTZ (60mg/ kg) enjeksiyonu ile nöbet aktivitesinin değerlendirildi. Nöbetleri takiben 1 saat sonra serum TNF-alfa, IL-1B, IL-6, FGF-2, IFN-gama ve Galanin düzeylerinin değerlendirildiği grup.

GRUP 6: (LPS+PTZ) Gebeliğin 15 ve 16.gününde intraperinoetal olarak lipopolisakkarit LPS (200 µg/kg) uygulanan anne sıçanlardan doğan yavrulara PND 45 te PTZ (60 mg/kg) enjeksiyonu ile nöbet aktivitesinin değerlendirildi.Nöbetleri takiben 1 saat sonra serum TNF-alfa, IL-1B, IL-6, FGF-2, IFN-gama ve Galanin düzeylerinin değerlendirildiği grup.

GRUP 7: (LPS+ Leptin+PTZ) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak lipopolisakkarit (200µg/kg) ve eş zamanlı olarak Leptin (4mg/kg) uygulanan anne sıçanlardan doğan yavru sıçanların PND 45.gününde PTZ (60mg/ kg) enjeksiyonu ile nöbet aktivitesinin değerlendirildi. Nöbetleri takiben 1 saat sonra serum;TNF-alfa, IL-1B, IL-6, FGF-2, IFN-gama ve Galanin düzeylerinin değerlendirildiği grup.

B-Davranış, Öğrenme ve Bellek Değerlendirildiği Gruplar: Lokomotor aktivite, Pasif avoidance, Water-maze testlerinin uygulandığı gruplar.

GRUP 1: (Naif) Herhangi bir işlem görmemiş anneden doğan sıçanlar PND 45.günlerinde belirtilen deneylere tabi tutulan naif grup.

GRUP 2: (SF+SF) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak SF uygulanan annelerden doğan yavrulardan PND 45.günde belirtilen deneylere alınan kontrol grubu.

GRUP 3: (LPS) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak lipopolisakkarit (200µg/kg) uygulanan annelerden doğan yavrulardan PND.45 günde belirtilen deneylere alınan LPS grubu.

GRUP 4: (LPS+Leptin) Gebeliğin 15 ve 16. Gününde intraperitoneal olarak LPS (200µg/kg) uygulanan ve eş zamanlı olarak Leptin (4mg/kg) uygulanan annelerden doğan yavrulardan PND 45.günde belirtilen deneylere tabi tutulan LPS+Leptin grubu.

3.3 Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

Çiftleştirme sonrası gebelik takibine alınan ve gebeliği kesinleşen hayvanların 15. ve 16. günü belirlenerek enjeksiyon tarihleri ayarlandı. Deneylere sabah saat 09:00' da başlandı.

3.3.1 Lipopolisakkarit

LPS (Sigma/Escherichia coli 055:B5) serum fizyolojik içinde çözülerek 200 µg/kg dozda i.p. olarak uygulandı.

3.3.2 Leptin

Peprotech marka rat Leptin kiti (USA) serum fizyolojik ile hazırlanarak 4 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı.

3.3.3 Pentilentetrazol

PTZ (Sigma Co) serum fizyolojik içinde 60 mg/kg i.p. olarak uygulandı.

3.4 PTZ Uygulamasıyla Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet Oluşturulması

Voltaaj bağımlı mekanizma sayesinde hücre membranında potasyum geçirgenliğindeki değişkenlik ve $GABA_A$ antagonisti olarak işlev gören PTZ ile nöbetlerimizi oluşturduk. PTZ injeksiyonunu takiben 30 dakika süresince epileptik nöbet aktivitesi gözlemlenmiş ve davranış değişiklikleri izlenerek; nöbet başlangıç süresi, şiddeti ve toplam nöbet süresi açısından değerlendirildi (Ates N ve diğ 2005)

Jeneralize nöbet şiddetinin değerlendirilmesi için Mares ve arkadaşlarının sınıflandırdıkları (1990) skala kullanıldı

ST 0-davranışta değişiklik yok;

ST 1-izole miyoklonik jerkler;

ST 2-atipik minimal nöbetler;

ST 3-minimal nöbetler (doğrulma refleksinin korunduğu)

ST 4-majör nöbetler (tonik fazın olmadığı)

ST 5-jeneralize tam majör tonik-klonik nöbetler.

Nöbet başlama süresi (latansı) PTZ uygulandıktan sonra yüz ve kulakta seğirmeleri görülmesi ve izole miyoklonik jerklerin oluşmasına kadar geçen süre olarak değerlendirilirken, toplam nöbet süresi kasılmaların ve nöbetin bittiği an olarak kabul edildi. St4'e geçiş süresi ise PTZ uygulandıktan sonra majör nöbetler başlayana kadar geçen süre olarak belirlendi. PTZ uygulanan grupların hepsinde jeneralize klonik nöbetler gözlemlendi.

3.6. Davranış Deneylerinin Uygulanması

Lokomotor aktivitesi (Commat) için 5 dakika alışma süresinin (ortamı keşfetme hareketlerinin lokomotor aktivite sonuçlarını etkilememesi için) ardından yine 5 dakika boyunca hayvanın hareketleri kaydedilecektir. Bu test özellikle hayvanların spontan aktivite değişimleri değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır, uygulanan ilaçların davranışlar üzerine etkilerini gözlemlemeye yardımcı olmaktadır. Deneklerin agresifliğinin ve ankisyetelerinin değerlendirilmesinde kullanılan önemli bir testtir. Lokomotor aktivitesi için kullanılan sistemde steryotipik, ambulatuvar, vertikal, horizontal hareketler, total hareket sayısı, kat edilen mesafe ve dışkı sayısı değerlendirilecektir. Horizontal hareket hayvanın yer değiştirme ya da dikilme olmaksızın yaptığı hareketlerdir. Vertikal ise dikilme hareketidir, ambulatuvar hareket ise deneğin dikilme dışında yaptığı gezinme hareketidir. Horizontal, vertikal ve steryotipik hareketler agresifliği hakkında bilgi vermektedir. Her üç hareketin toplamı total lokomotor aktivite olarak değerlendirilmektedir(Göçmez ve diğ., 2015; Sahin ve diğ., 2016).

Morris'in su labirenti testi (Morris Water Maze), kemirgenlerin uzaysal öğrenme ve bellek kapasitelerini ölçmeye yarayan bir testtir. İçinde beyaz silikon boncukların bulunduğu içi su dolu genişçe bir su tankı ve içerisinde yerleştirilmiş bir platformdan oluşmaktadır. Sıçan daha önce yeri öğretilmiş su içerisinde gizlenmiş platformu bulmaya çalışacaktır ve su tankına bırakıldığında en kısa yoldan ve en kısa sürede platforma ulaşmaya çalışması test edilecektir. Sıçanın izlediği yol kamera ile kayıt edilecektir (Samsung WB200F), zaman değerlendirmesi ise kronometre yardımıyla hesaplanacaktır. Bu test esnasında 4 günlük bir öğrenme periyodundan sonra 5.gün platform tankın içinden çıkarılacaktır ve platformun bulunduğu alanda kalma süresi değerlendirilecektir. Suyun sıcaklığı 24 ± 2 °C'de sabit tutulacaktır(Göçmez ve diğ., 2015; Sahin ve diğ., 2016).

Pasif kaçınma testi , bu testte birbirine eşit ebatta iki bölüm bulunmaktadır. Bu iki bölüm arasında açılan bir kapı ve altlarında bir ızgara bulunmaktadır. İki bölümden biri karanlık diğeri ise çok aydınlatılmıştır. Bu test esnasında sıçanların normal davranışı olan daha az aydınlık alanları tercih etme dürtüsü kullanılır. Ancak amnezik etkisi olduğu düşünülen ilaçlar bu deneyin sonucunu etkilerler. Pasif kaçınma düzeneği ile sıçanların öğrenme ve bellek performansları değerlendirilmekte kullanılan önemli bir metottur. Bu test iki gün sürmektedir. İlk gün sıçanlar aydınlık ortama konulur ve kapı açılır, sıçanın karanlık ortama girme süresi belirlenir, bu süre 300 saniye sürerse denekler deney dışı bırakılacaktır. Alıştırılmadan 1 saat sonra sıçanlar tekrar düzeneğe aydınlık tarafta

yerleştirilerek, karanlık alana geçtikten sonra elektrik şoku uygulanacaktır. Elektrik şoku uygulamasından 24 saat sonra sıçanlar tekrar düzeneğe yerleştirilerek, karanlık alana geçiş süresi kaydedilecektir. Bu süreye retansiyon denir. Öğrenmiş olan sıçanlarda retansiyon süresi uzayacaktır, ancak verilen madde amneziye neden oluyorsa retansiyon süresinin düşük olacaktır (Göçmez ve diğ., 2015; Sahin ve diğ., 2016).



Çizim 3.6.1: Davranış laboratuvarımızda kullandığımız Pasif sakınma deney düzeneğimiz (UgoBasile model 7551,Italy).

3.5 ELISA Kitlerinin Çalışması

ELISA kit plateleri 96'lık mikrokuyucuk içermektedir. Mikrokuyucuklar örnek ya da standartları bağlayan immobilize rat sitokin antikorları ile kaplıdır. Standartlar ve örnekler hazırlanarak plate duvarına pipetlenir ve örnekte bulunan hedef sitokin immobilize antikor tarafından bağlanır. Plate yıkanır ve biotin-konjuge anti rat sitokin antikoruna eklenir ve ilk antikora bağlanan rat sitokinleri tarafından tutulur. Sonra inkübasyona bırakılır ve inkübasyon sonunda yıkama yapılarak bağlanmamış biyotin-konjuge antikorlar uzaklaştırılır. HRP-konjuge streptavidin kuyucuklara pipetlenir bununda biotin-konjuge antikorlara bağlanması gerekir. Ve tekrar yıkama yapılarak bağlanmayanlar uzaklaştırılır. Streptavidin-HRP ile reaktif olacak substrat solüsyonu kuyucuklara eklenir ve ölçülecek sitokin için renk oluşması sağlanır. Renkli ürün örnek ya da standart içinde bulunan sitokin yoğunluğuna göre oluşur. Daha sonra stop solüsyonu eklenerek renk oluşumu tamamlanır ve absorbans 450 nm'ölçülür.

TNF-alfa ölçümü

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarında mikroelisa yöntemiyle, invitrogen marka Rat TNF- α Platinum ELİSA hazır kit (Austria) kullanılarak Dynex-DSX marka mikroelisa cihazında çalışıldı.

IL-1 β ölçümü

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi laboratuvarında mikroelisa yöntemiyle, invitrogen marka Rat IL-1 β Platinum ELİSA hazır kit (Austria) kullanılarak Dynex-DSX marka mikroelisa cihazında çalışıldı.

IL-6 ölçümü

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarında mikroelisa yöntemiyle, invitrogen marka Rat IL-6 Platinum ELİSA hazır kit (Austria) kullanılarak Dynex-DSX marka mikroelisa cihazında çalışıldı.

FGF-2 ölçümü

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarında mikroelisa yöntemiyle, Elabscience marka Rat Fibroblast Growth Factor-2, Basic (FGF-2) ELİSA hazır kit (USA) kullanılarak Dynex-DSX marka mikroelisa cihazında çalışıldı.

Galanin ölçümü

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarında mikroelisa yöntemiyle, Elabscience marka Rat Galanin (GAL) ELİSA hazır kit (USA) kullanılarak Dynex-DSX marka mikroelisa cihazında çalışıldı.

IFN- γ ölçümü

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Laboratuvarında mikroelisa yöntemiyle, invitrogen marka Rat IFN gamma platinum ELİSA hazır kit (USA) kullanılarak Dynex-DSX marka mikroelisa cihazında çalışıldı.

3.6 İstatiksel Analiz

Çalışmada belirtilen veriler Ort \pm SE olarak ifade edildi. Çalışmada grupların istatiksel analizleri; iki grup karşılaştırmalarında unpaired t test (Two-tailed) veya Mann Whitney Test (Two-tailed) kullanıldı. Çoklu grup karşılaştırmalarında parametrik ve nonparametrik ANOVA testleri; One-way varyans analizi veya Kruskal- Wallis Test, tekrarlayan ölçümlerin değerlendirilmesinde Friedman Test kullanıldı. Tüm veriler ortalama \pm Std hata olarak gösterildi, p< 0.05 değeri ise gruplar arasındaki istatiksel anlamlı fark olarak kabul edildi. İstatistik programı GraphPad Prism 3.0 kullanıldı.

4.BULGULAR

4.1. Davranış Deneylerinin Değerlendirilmesi

4.1.1 Lokomotor Aktivite Deneyinin değerlendirilmesi

Sıçanlar, yeni ortama ilk girdiklerinde, alanın kuytu köşelerinde ya da duvarların kenarları boyunca ilerleyip alanı tanımak üzere çevrede bulunan nesnelere ve potansiyel tehlikeleri araştırırlar. Araştırma davranışı olarak; bilateral dikilme (iki ayağı üzerine kalkma-vertikal aktivite), tırmanma, havayı koklama gibi davranışlar gösterirler. Tüm canlı türlerinde olan türlerini tehdit eden bir durum sezmeleri ile kendilerine özgü davranışlar sergilerler. Kendilerini tehdit eden şeyin ne olduğunu anlamak, hakkında bilgi toplamak veya çevreyi incelemek için risk ölçümü davranışı olarak ifade edilen uzanma hareketi ve havayı koklama ile savunmaya eğilimlidirler. Sıçanlar, korunmasız alan olarak gördükleri yeni alanlarda bu davranışlarını daha fazla yapmaları anksiyete ile ilişkilendirilir. Anksiyete durumu arttıkça araştırma davranışlarında azalma görülmektedir(Barnett SA ve diğ 2007). Grup 1'in Stereotipik aktivitesi değeri 618.0±54.30, Vertikal Aktivite değeri 27.58±1.689, Ambulatory aktivite 443.8±28.38, Distance değeri 867.3±44.35 , Total aktivite değeri 1088±43.08 dir. Grup 2'nin Stereotipik aktivite değeri 724.2±34.90, Vertikal aktivite değeri 23.64±1.436, Ambulatory aktivite değeri 398.5±33.74, Distance değeri 970.4±102.9 Total aktivite değeri 1178±36.13'dır.Grup 3'ün Stereotipik aktivite değeri 677.8±56.10,Vertikal aktivite değeri 17.88±2.937, Ambulatory aktivite değeri 355.3±22.47, Distance değeri 853.2±33.08 Total aktivite değeri 1051±76.95'dir. Grup 4'ün Stereotipik aktivite değeri 665.7±29.58, Vertikal aktivite değeri 36.00±2.282, Ambulatory aktivite değeri 560.7±19.85 Distance değeri 1194±60.49 Total aktivite değeri 1262±38.06'dır(Çizelge 4.1.1).

Gruplar karşılaştırıldığında Vertikal aktivite sayısının Grup 3'ün; Grup 1'e $p<0.05$ değerinde anlamlı azalma gösterdiği, Grup 4'ün; Grup 2 ve Grup 3 için $p<0.001$ değerinde, Grup 1 için ise $p<0.05$ değerinde anlamlı artış gösterdiği belirlenmiştir (çizelge4.1.1, çizim 4.1.4).

Ambulatory aktivite sayısı Grup 4'ün; Grup 2 ve Grup 3 de $p<0.001$ değerinde, Grup 1 ile karşılaştırıldığında ise $p<0.05$ değerinde bir artış gösterdiği görülmüştür (çizelge 4.1.1, çizim 4.1.3).

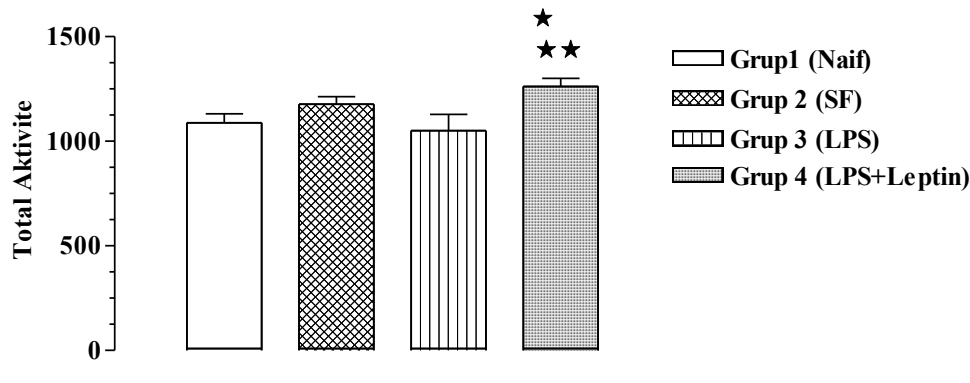
Total aktivite değerlerinde Grup 4'ün; Grup 1 ve Grup 3'e göre $p<0.05$ değerinde anlamlı bir artış gözlenmektedir (çizelge 4.1.1, çizim 4.1.1).

Distance değerinde Grup 4'ün; Grup1 ve Grup 3'e göre $p<0.001$, Grup 2'ye göre $p<0.01$ değerinde anlamlı bir artış gösterdiği görülmüştür (çizelge 4.1.1, çizim4.1.2)

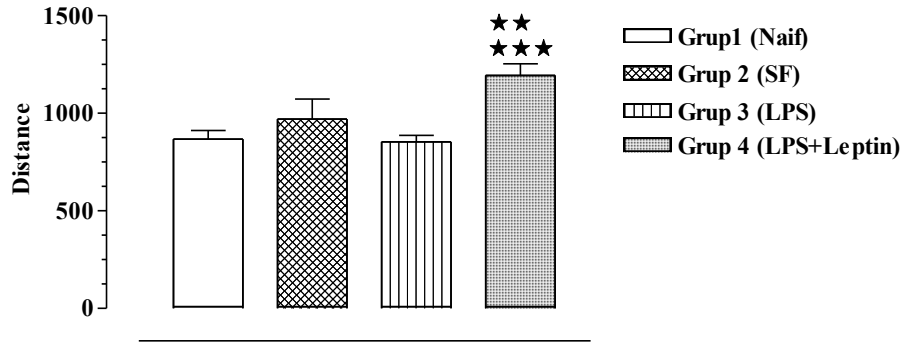
Genel olarak tüm parametrelerde LPS grubunda azalma saptanırken ve LPS+Leptin grubunda artışlar saptandı.

Çizelge 4.1.1: Grupların Lokomotor aktivite parametrelerinden Stereotipik aktivite, Vertikal aktivite, Ambulatory aktivite, Distance, Total Aktivite sonuçları.

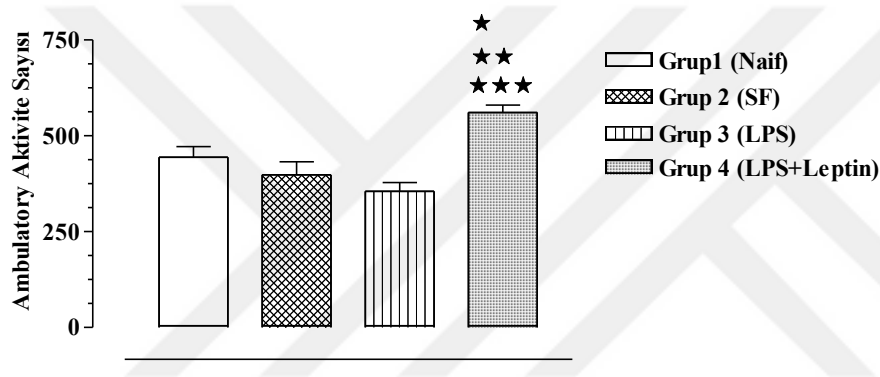
Grup	Stereotipik aktivite	Vertikal aktivite	Ambulatory aktivite	Distance	Total Aktivite
Grup1(naif) (n=10)	618.0±54.30	27.58±1.689*	443.8±28.38*	867.3±44.35*	1088±43.08*
Grup2(SF) (n=10)	724.2±34.90	23.64±1.436*	398.5±33.74*	970.4±102.9*	1178±36.13
Grup3(LPS) (n=10)	677.8±56.10	17.88±2.937*	355.3±22.47*	853.2±33.08*	1051±76.95*
Grup4(Lps+Leptin) (n=10)	665.7±29.58	36.00±2.282	560.7±19.85	1194±60.49	1262±38.06
Gruplar arası istatistik: p	P>0.05	*1vs3p<0.05 *1vs4p<0.05 *2vs4p<0.001 *3vs4p<0.001	*1vs4p<0.05 *2vs4p<0.001 *3vs4p<0.001	*1vs4p<0.001 *2vs4p<0.01 *3vs4p<0.001	*1vs4p<0.05 *3vs4p<0.05



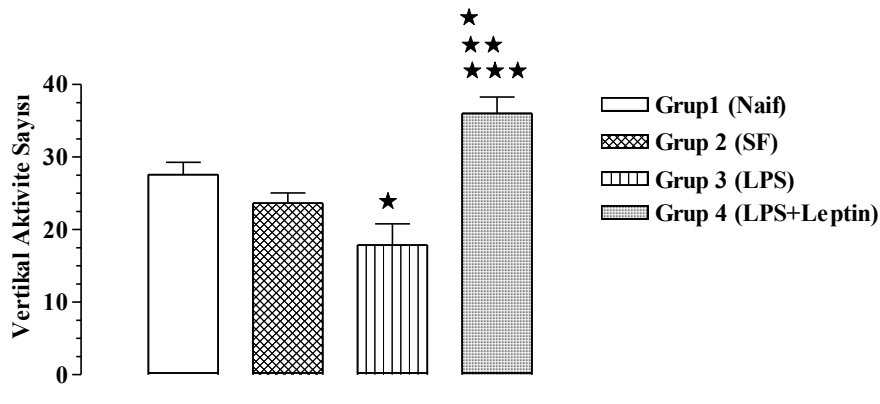
Çizim 4.1.1: Lokomotor aktivite parametrelerinden Total aktivite grafiksel gösterimi. Grup 4'ün; *Grup 1 göre p<0.05 ve **Grup 3'e göre p<0.05



Çizim 4.1.2: Lokomotor aktivite parametrelerinden Distance değeri grafiksel gösterimi. Grup 4'ün; **Grup 2 'ye $p < 0.01$, ***Grup 3 ile Grup 1' e göre $p < 0.001$



Çizim 4.1.3: Lokomotor aktivite parametrelerinden Ambulatory aktivite sayısı grafiksel gösterimi. Grup 4'ün; * Grup 1'e göre $p < 0.05$, **Grup 2'ye göre $p < 0.001$, ***Grup 3'e göre $p < 0.001$



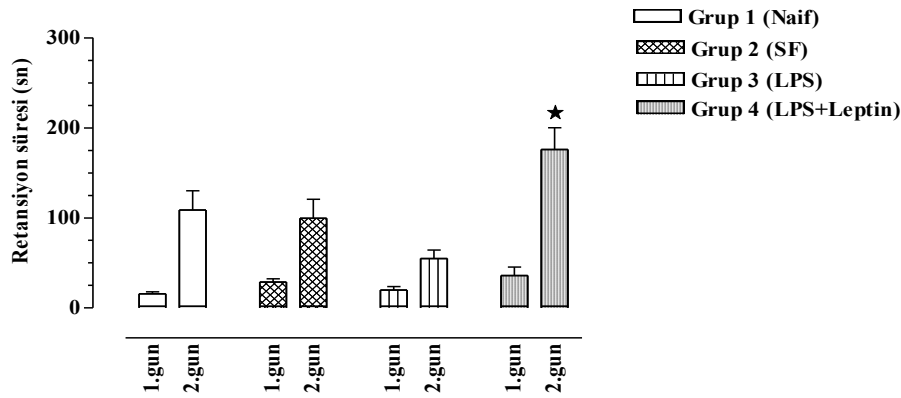
Çizim 4.1.4: Lokomotor aktivite parametrelerinden vertical grafiksel gösterimi. Grup 4'ün; *Grup 1 'e göre $p < 0.05$, **Grup 2'ye göre $p < 0.001$, ***Grup 3'e göre $p < 0.001$. Grup 3'ün: *Grup 1'e $p < 0.05$

4.1.2 Pasif Kaçınma Düzeyi

Öğrenme ve belleğin hızlı bir şekilde değerlendirilmesini sağlayan pasif sakınma testi, hayvanların doğal olarak tercih etmeye eğilimli oldukları karanlık tarafın olumsuz bir uyarı ile (elektrik şoku) ilişkilendirilmesi temeliyle oluşturulmaktadır. Deney hayvanı bu ilişkiyi hatırladığı sürece karanlık tarafa girmekten sakınacaktır. LPS+Leptin uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı ancak Grup 4 ile Grup 3'ü karşılaştırdığımızda $*p<0.01$ anlamlılık çıkmaktadır (Çizelge 4.1.2, Çizim4.1.5). Bu deneyinin sonuçları MWM testinin sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur tüm gruplarda.

Çizelge 4.1.2: Grupların pasif kaçınma deneyi retansiyon süreleri. Grup 3 ve Grup 4 te $*P<0.01$ anlamlılık çıkmıştır.

Grup	Alıştırma/Elektrik	24 saat sonra
Grup1(naif)	15.74±2.205	108.6±21.44
Grup2(SF)	28.85±3.430	99.45±21.23
Grup3(LPS)	19.94±3.744	54.80±9.518*
Grup4(Lps+Leptin)	35.89±9.554	176.0±24.07
Gruplar arası istatistik: p	P>0.05	*3vs4p<0.01



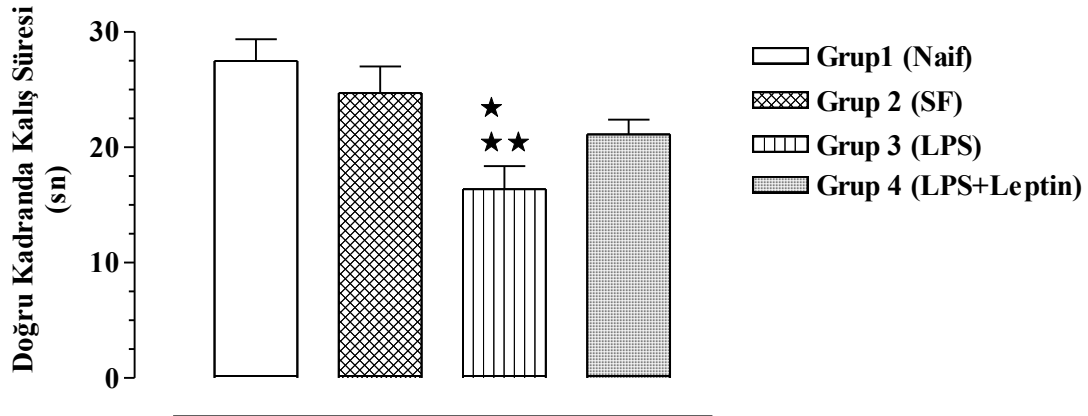
Çizim 4.1.5: Pasif kaçınma Retansiyon süresinin gruplar arasındaki grafiksel gösterimi. Grup 3'ün Grup 4'e göre anlamlı düşüşü $* p<0.01$

4.1.3 Water maze deneyinin değerlendirildiği gruplar

Morris su labirenti deneyi uzamsal bellek ve öğrenmeyi incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Deney gruplarımızda 5.gün doğru kadranda kalış süreleri Grup1 27.50±1.90, Grup 2 24.71±2.30, Grup 3 16.37±2.02, Grup 4 21.12±1.3 ortalama ve standart sapma değerleri vermiştir. Grup 3 deki düşüş Grup 1 ve Grup 4 ile anlamlılık göstermiştir (Çizelge 4.1.3,Çizim 4.1.6).

Çizelge 4.1.3: Grupların Water maze deneyinde doğru kadranda kalma süreleri sonuçları.

Grup	Doğru kadranda kalma süresi/sn
Grup1(naif)	27.50±1.90*
Grup2(SF)	24.71±2.30*
Grup3(LPS)	16.37±2.02
Grup4(Lps+Leptin)	21.12±1.3
Gruplar arası istatistik: p	*1vs3p<0.01 *2vs3p<0.05



Çizim 4.1.6: Moris su tankı ile değerlendirilen uzaysal öğrenmenin gruplar üzerine etkisi. Barlar ortalama±Standart hatayı göstermektedir. Grup 3'ün: *Grup1 p<0.01 ve **Grup 2'den p<0.05 anlamlı düşüşü.

4.2. 1-Konvulsif nöbet duyarlılığının değerlendirildiği gruplar

Gebeliğin 15. ve 16.gününde SF uygulanan anne sıçanlardan doğan yavruların PND 45.gününde 60mg/kg PTZ injeksiyonuyla Grup 5'deki tüm hayvanlarda jeneralize tonik klonik nöbet aktivitesi gözlemlendi. Jeneralize nöbetler ön üye kaslarının ve fasial kaslarının klonuslarına eşlik eden klonik jerklerin devamında başladı (St 1,Onset). Boyun, baş, kuyruk kısmındaki ekstansiyonu (St 2-3) kapsayan klonik aktiviteyi izleyen, jeneralize tonik-klonik yanıtları barındıran doğrulma refleksi kaybı (St 4, Jeneralize majör nöbet) ve sonrası toparlanma süreciyle nöbet sürecini tamamladı.

SF+PTZ injeksiyonu yapılan Grup 5'in nöbet başlangıcı (ST 1 onset) 15.13 ± 1.01 sn, minimal nöbet başlangıcı (ST3 latans) 56.38 ± 3.78 sn ve jeneralize majör nöbet başlangıcı (ST4 latans) 84.00 ± 18.63 sn bulundu. Nöbet şiddeti açısından değerlendirildiğinde bu gruptaki tüm hayvanlarda jeneralize majör nöbet oluştu. Tonik-klonik nöbet insidansı %100, nöbet şiddeti skoru 3.62 ± 0.18 bulundu (Çizelge 4.2.1)

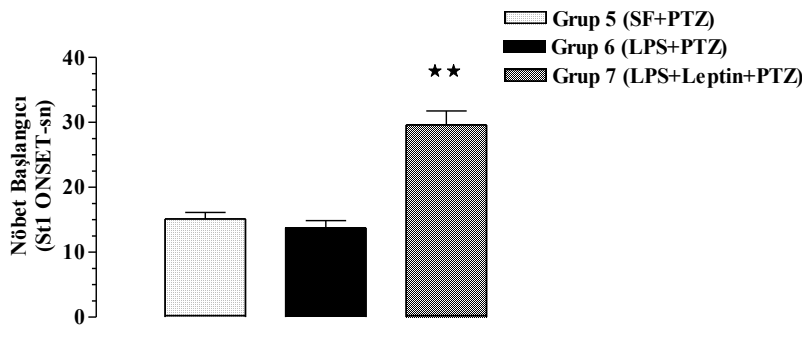
LPS maruziyetiyle doğan ve PND 45.günde PTZ injeksiyonu yapılan Grup 6'nın nöbet başlangıcı (ST1 onset) 13.75 ± 1.13 sn, minimal nöbet başlangıcı (ST3 latans) 51.25 ± 2.48 sn, jeneralize majör nöbet başlangıcı (ST4 latans) 60.75 ± 3.121 sn, ve tonik fleksiyon-ekstansiyon patenini takiben uzamış tonik-klonik klonuslarla (ST 5) tamamladı. Nöbet şiddeti 4.50 ± 0.18 ve ölüm yüzdesi %37,5 oranındadır. Grup 5 ve Grup 7 ile karşılaştırıldığında; Grup 6'nın nöbet şiddetinde ($p < 0.05$) anlamlı bir artış görülmektedir (Çizelge 4.2.1).

LPS maruziyetiyle eş zamanlı Leptin (4mg/kg i.p.) uygulanan anne sıçanlardan doğan ve PND 45.günde PTZ injeksiyonu yapılan Grup 7(LPS+Leptin+PTZ)' nin nöbet başlangıcı(ST1 onset) 29.60 ± 2.16 sn, minimal nöbet başlangıcı (ST3 latans) 93.20 ± 14.43 sn, jeneralize majör nöbet başlangıcı (ST4 latant) 133.7 ± 12.32 sn, nöbet şiddeti 3.70 ± 0.22 olarak belirlendi. Grup 5 ile karşılaştırıldığında; Grup 7'nin nöbet başlangıcında ($p < 0.001$), minimal nöbet başlangıcında ($p < 0.05$), jeneralize majör nöbet başlangıcında ($p < 0.05$) ve Grup 6 ile karşılaştırıldığında; Grup 7'nin nöbet başlangıcında ($p < 0.001$), minimal nöbet başlangıcında ($p < 0.05$), jeneralize majör nöbet başlangıcında ($p < 0.01$) istatistiksel olarak anlamlı bir gecikme ve nöbet şiddetinde azalma saptanmış (Çizelge 4.2.1)

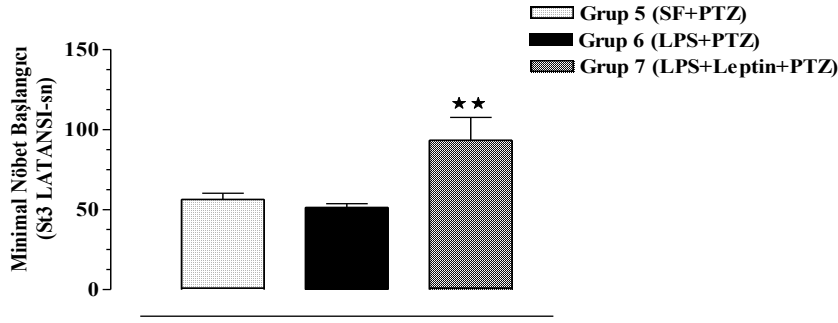
Çizim 4.2.1: Grupların konvulsif nöbet duyarlılığını gösteren; nöbet başlangıcı, nöbet şiddeti, minimal nöbet başlangıcı, ölüm oranı ve jeneralize majör nöbet başlangıcı sonuçları.

Grup	SF+PTZ	LPS+PTZ	LPS+Leptin+PTZ
N	8	8	10
Tonik-klonik nöbet insidansı	5/8	8/8	6/10
Nöbet başlangıcı (S1 onset- sn)	15.13±1.01	13.75±1.13	29.60±2.16
minimal nöbet başlangıcı (ST3 latans- sn)	56.38±3.78	51.25±2.48	93.20±14.43
jeneralize majör nöbet başlangıcı (ST4 latans- sn)	84.00±18.63	60.75±3.121	133.7±12.32
Nöbet şiddeti	3.62±0.18	4.50±0.18	3.70±0.22
Ölüm Oranı (st5)	0/8	3/8 (%37,5)	1/10 (%10)

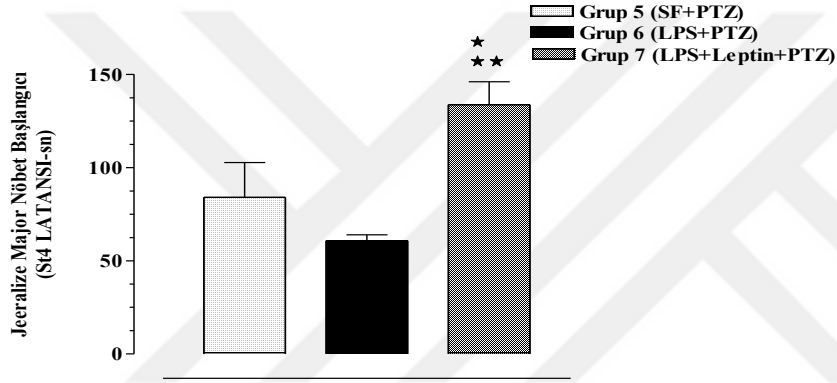
Değerler ortalama±standart hata olarak verildi.



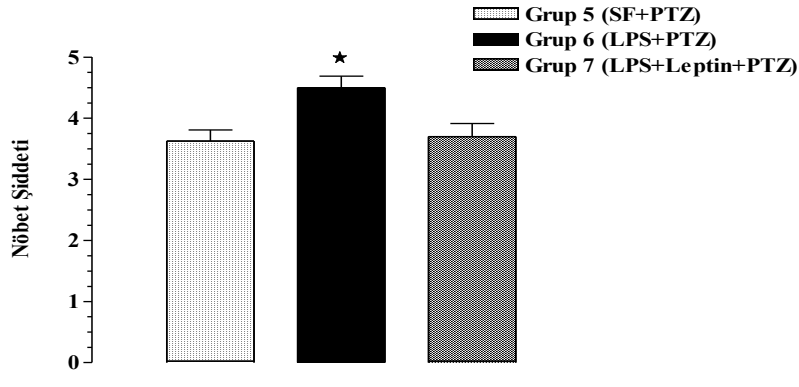
Çizim 4.2.1: PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerin, gruplardaki nöbet başlangıcı (ST1 onset) üzerine etkileri grafiksel gösterimi. ** p<0.001 Grup 7'nin Grup 5 ve Grup 6'ya göre istatistiksel anlamlılığını göstermektedir.



Çizim 4.2.2: PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerin, gruplardaki minimal nöbet başlangıcı (ST 3 latansı) üzerine etkileri grafiksel gösterimi, **p<0.05 Grup 5 ve Grup 7'ye göre



Çizim 4.2.3: PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan nöbetlerde, jeneralize major nöbet başlangıcı (latans) *Grup 5'e göre p<0.05, **Grup 6'ya göre p<0.01



Çizim 4.2.4: İntraperitoneal PTZ enjeksiyonu ile oluşan nöbetlerde, nöbet şiddeti *Grup 5 ve Grup 7 ye göre p<0.05

4.3.Serum Sitokin ve Galanin düzeyleri

ELISA kitleri çalışma protokolü takip edilerek gerçekleştirilen serum sitokin ve Galanin düzeyleri Çizelge 4.3.1 de gösterilmiştir.

Tnf- α (pg/ml) düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında 1.grup ve 6.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur. Tnf- α düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında 2.grup ve 6.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur.

IL-1 β (pg/ml) düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında 1.grup ve 5.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde, 1.grup ve 4.grup arasında $p<0.01$ düzeyinde, 1.grup ve 6.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 1.grup ve 7.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde, 2.grup ve 3.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde, 2.grup ve 4.grup arasında $p<0.01$ düzeyinde, 2.grup ve 6.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 2.grup ve 7.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde, 5.grup ve 6.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur(Çizelge 4.3.1).

FGF-2 (pg/ml) düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında 1.grup ve 4.grup arasında $p<0.01$ düzeyinde, 1.grup ve 5.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 1.grup ve 6.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 1.grup ve 7.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 2.grup ve 4.grup arasında $p<0.05$ düzeyinde, 2.grup ve 5.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 2.grup ve 6.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 2.grup ve 7.grup arasında $p<0.001$ düzeyinde, 3.grup ve 5.grup arasında $p<0.01$ düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur (Çizelge 4.3.1).

Çizelge 4.3.1: Deney gruplarının sitokin düzeyleri (TNF- α , IL-1 β , IL-6, FGF-2, IFN- γ ve galanin) sonuçları.

Parametreler	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β , (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	FGF-2 (pg/ml)	IFN- γ (pg/ml)	Galanin (pg/ml)
Grup 1 (Naif)	42.24 \pm 1.867*	64.53 \pm 2.847*	36.59 \pm 5.252*	13.36 \pm 3.251*	24.88 \pm 2.384	246.8 \pm 19.71
Grup 2 (SF)	43.83 \pm 1.937*	65.14 \pm 1.706*	35.70 \pm 3.700*	19.46 \pm 5.228*	22.65 \pm 2.729	255.4 \pm 28.24
Grup 3 (LPS)	61.45 \pm 7.315	73.62 \pm 3.133*	79.03 \pm 12.29	36.94 \pm 6.743*	21.77 \pm 0.9623	220.5 \pm 17.51
Grup 4 (LPS+Leptin)	69.77 \pm 10.50	76.71 \pm 1.400	88.06 \pm 11.05	49.39 \pm 6.476*	22.45 \pm 0.5354	218.1 \pm 24.15
Grup 5 (SF+PTZ)	85.12 \pm 13.12	76.83 \pm 2.366	57.56 \pm 9.992*	67.63 \pm 4.462	24.11 \pm 1.285	288.4 \pm 31.79
Grup 6 (LPS+PTZ)	87.96 \pm 13.46	86.02 \pm 2.270	99.94 \pm 6.750	61.84 \pm 6.792	24.41 \pm 2.345	256.2 \pm 28.97
Grup 7 (LPS+Leptin+PTZ)	84.96 \pm 13.68	75.78 \pm 4.307	81.61 \pm 10.02	61.74 \pm 6.889	37.92 \pm 10.04	225.9 \pm 21.35
Gruplar arası statistik: p	*1vs6 p<0.05 *2vs6 p<0.05	*1vs5 p<0.05 *1vs6p<0.001 *2vs6p<0.001 *3vs6 p<0.05	*1vs3 p<0.05 *1vs4 p<0.01 *1vs6p<0.001 *1vs7 p<0.05 *2vs3 p<0.05 *2vs4 p<0.01 *2vs6p<0.001 *2vs7 p<0.05 *5vs6 p<0.05	*1vs 4 p<0.01 *1vs5p<0.001 *1vs6p<0.001 *1vs7p<0.001 *2vs4p<0.05 *2vs5p<0.001 *2vs6p<0.001 *2vs7p<0.001 *3vs5p<0.01	p>0.05	p>0.05

5.TARTIŞMA

Birçok epidemiyolojik çalışma; nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik bozukluklarda MSS defisitlerinin nedenleri arasında maternal enfeksiyonların tetiklediği inflamasyonların yer aldığını ileri sürmektedir (Yin P ve ark. 2013, Ghiani ve ark.2011).

Bu çalışmada, gebe sıçanlara gebeliğin 15.ve 16.gününde Lipopolisakkarit enjeksiyonu ile inflamasyon oluşturarak erken doğum modeli oluşturuldu. Doğan yavru sıçanlarda bu intrauterin maruziyetin, genç-erişkin dönemde epileptik aktivite, davranış- öğrenme ve serum proinflamatuvar sitokin düzeyleri üzerine etkileri araştırıldı. Ayrıca tokluk hormonu olarak bilinen, en fazla yağ dokusundan sentezlenen endojen bir peptid olan Leptin'in LPS enjeksiyonu ile birlikte uygulanmasının bu parametreler üzerine etkisini araştırdık.

Sonuçlarımıza göre gebelik döneminde LPS maruziyetiyle doğan yavruarda maternal immün aktivasyonun, geç dönemde davranış üzerine etkileri olduğu bulundu. Doğan yavru sıçanlar genç-erişkin dönemlerinde davranış, öğrenme-bellek değerlendirme testlerine tabi tutulduğunda lokomotor aktivite parametrelerinden özellikle vertikal aktivitede azalma, mekansal ve duysal öğrenme testlerinde bozulmalara ve nöbet duyarlılığında artışa yol açtığı saptanmıştır. LPS uygulamasını takiben eş zamanlı olarak Leptin uyguladığımız grupta davranış, öğrenme-bellek testlerinde istatistiksel anlamlı düzelmeler, nöbet başlangıcının geciktiği ve nöbet şiddetinin azaldığı antikonvulsif etkiler olduğu saptanmıştır.

Grup 3(LPS) ve Grup 4(LPS+Leptin)'ün , Grup 1(Naif) ve 2(SF)'ye göre serum TNF-a, IL-1beta, FGF-2 düzeyleri yüksekti, özellikle IL-6 düzeyi istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu. Grup 6 (LPS maruziyeti sonrası erişkin dönemde PTZ) ve Grup7 (LPS+Leptin maruziyeti sonrası erişkin dönemde PTZ) TNF-a, IL-1beta ve IL-6 en yüksek sitokin düzeylerine sahip olduğu görüldü.

Gebe sıçanlarda (orta-ikinci trimestere eşdeğer olan gebeliğin 15.ve 16.gününde) LPS enjeksiyonuyla inflamasyon oluşturarak maternal enflamasyona oluşturan Ghiani ve ark (2011) gebeliğin 18.gününde dekapitasyon yaparak beyin dokularında yaptıkları incelemeler sonucunda anne karnında maruz kalınan inflamasyonun; sinaptik plastisite ve bellek oluşumunda bozukluklar oluşturduğu, yetişkin dönemde şizofreni ve otizm gibi nöropsikiyatrik bozukluklar için duyarlı gende deformasyonlar oluşturduğunu göstermiştir (Ghiani ve ark.2011).

Bizim sonuçlarımızda bu çalışma ile uyumlu olarak LPS maruziyeti olan Grup3 de öğrenme, bellek ve davranışta diğer gruplara göre önemli farklılıklar göstermiştir. Normal

sıçanlar, kendini tehdit eden şeyin ne olduğunu anlamak, hakkında bilgi toplamak veya çevreyi incelemek için risk ölçümü davranışı olarak nitelendirilen havayı koklama ve uzanma hareketleri ile savunmaya geçmektedirler. Bu davranışı değerlendirmek için araç olarak kullandığımız lokomotor aktivite testinde özellikle LPS uygulanan Grup 3'te vertikal aktivite olarak tanımlanan parametrede keşif yetilerinde diğer gruplara oranla ciddi bir azalma bulunmuştur. Uzaysal öğrenmeyi değerlendirdiğimiz morris su tankı testinde LPS grubunda doğru kadranda kalma süresinde diğer gruplara göre ciddi düşüklük ile mekânsal öğrenmenin bozulduğu, duyuşal öğrenmenin değerlendirildiği pasif kaçınma testinde karanlık alana geçiş süresi olarak tanımlanan retansiyon süresinin kısılması hafıza ve öğrenme alanlarıyla ilgili bir problem olduğunu göstermektedir.

Yin P ve ark (2013) Gebeliğin 15. ve 16. günlerinde lipopolisakkarit ile oluşturdukları doğum modelinde doğan yavrulara postnatal 45. günde lityum-pilokarpine (LIPC) ile nöbet oluşturarak maternal immün aktivasyonunun yetişkin yavrularda nöbet duyarlılığında artışa neden olduğuna dikkat çekmişlerdir. Sonuçlarımızda, gebelik döneminde LPS maruziyetiyle doğan yavrularda gençerişkin dönemde konvulsif nöbet duyarlılığının arttığını göstermesi, maruziyetin geç dönemde ve uzun süreli prokonvulsif etkileri olduğunu göstermektedir. Çalışmamız LPS maruziyetinin nöbet duyarlılığını arttırdığını gösteren Yin ve ark yaptığı çalışma ile uyumludur (Yin P ve ark 2013).

Leptin, büyüme hormonu, prolaktin ve interlökinlerle de ilişkilidir. Leptin düzeyinin ana belirleyicisi vücut yağ kitlesi ve vücut kitle indeksi olsa da, birçok faktör leptinin regülasyonunda rol almaktadır (Otero M ve ark. 2006). Leptin, doğum öncesi ve doğum sonrası dönemlerde etki gösteren ve enerji homeostazının korunmasında önemli olan sinir sisteminin gelişimini önemli ölçüde etkileyebilen trofik faktörlerdendir (Grove KL ve ark 2005). Kortikosteron, insülin ve leptin gibi hormonların, fetal gelişmeyi potansiyel olarak etkilemek için plasental-fetal bariyeri geçebileceğine dair kanıtlar vardır (Levin BE ve ark.,2000). Leptin immün sistem üzerinde baskılayıcı etkilere sahip olan kortikosteroidlerin salınımını inhibe etmek suretiyle de immün fonksiyonlar üzerinde rol oynayabilmektedir, özellikle açlık durumunda leptin seviyesi azalırken kortizol artmakta ve hipotalamo-hipofiziyer aksı aktifleştirmektedir. Leptin düzeyinin düşük olduğu durumlarda veya doğuştan leptin düzeyi düşük olan deney hayvanlarında ve insanlarda timusun haciminin küçüldüğü, lenfosit sayısının azaldığı ve lipopolisakkaritlerle oluşan sepsisin daha ölümcül seyrettiği gösterilmiştir ve Leptinin timositlerin apoptozunu önleyebildiği bildirilmiştir (Faggioni R ve ark.,1999) Ayrıca Öztaş ve ark da gösterdiği gibi leptin aynı zamanda antikonvulsif etkilere de aracılık etmektedir (2017). Xu L. ve ark

GABAAR antagonisti olan intraperitoneal PTZ enjeksiyonu ile yaptıkları çalışmada jeneralize nöbete karşı leptinin antikonvulsif etkiye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir (Xu L ve diğ 2008).

Bizim sonuçlarımız da bu literatürlerle uyumlu olarak LPS ile birlikte Leptin uyguladığımız Grup 7'de PTZ ile oluşturulan nöbet aktivitesi Grup 5 ve Grup 6 ya göre belirgin olarak baskılanmıştır. Leptinin antikonvulsif etkisine paralel olarak inflamasyonu da yükselmediği görülmektedir. SF+PTZ uyguladığımız Grup 5'de nöbet aktivitesi ile paralel olarak Tnf- α , IL-1 β , IL-6, düzeyleri Grup1 (Naif) ve Grup2 (SF)'ye göre yükselmiştir. LPS+PTZ grubunda (Grup 6) bu parametreler tüm gruplara göre daha yüksek bulunmuştur. LPS+Leptin+PTZ (Grup 7) uyguladığımız grup da bu parametreler, naif ve sf grubunda göre yüksek olmakla birlikte Leptin'in nöbet şiddetini azaltıcı etkileri ile uyumlu olarak LPS+Leptin (Grup 4) grubuna yakın bulunmuştur. Sonuçlarımıza göre IL-6 düzeyi LPS+PTZ (Grup 6) grubunda LPS'nin tek başına uygulandığı gruba (Grup3) göre belirgin olarak yükselmiştir. LPS ile birlikte Leptin uygulanması antikonvulsif etkiler göstermesinin yanı sıra özellikle PTZ ile indüklenen önemli inflamatuvar parametrelerden biri olan IL-6'nın yükselmesini sınırlandırmış gibi görülmektedir. Leptin, nöbet şiddetini azaltıcı etkileri ve bunu yanı sıra immün hafızayı modüle edici etkisinden dolayı IL -6 seviyesini Grup 6'ya göre daha sınırlı düzeyde artırmış olabilir.

Sonuç olarak çalışmamızda gebelik döneminde LPS enjeksiyonu ile maternal immün aktivasyon maruziyeti, doğan yavrularda genç-erişkin dönemde davranış, öğrenme ve bellek üzerinde bozulmalara, nöbet duyarlılığında ve IL-6 düzeyinde artışa yol açmaktadır. LPS ile eş zamanlı olarak Leptin uyguladığımız grupta davranış, öğrenme ve bellekte anlamlı olarak düzelmeler saptanmıştır. Ayrıca Leptin'in nöbet parametreleri üzerinde antikonvulsif etkiye sahip olduğu görülmüştür. Sonuçlarımız endojen bir peptid olan leptin'in, LPS maruziyetinin nöbet aktivitesi ve öğrenme ve bellek parametreleri üzerine olumsuz etkilerine karşı koruyucu bir modülasyon sağladığını göstermektedir. Bu modülasyonun gen düzeyinde etkilerinin araştırılması için beyin dokusunda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Prenatal inflamasyonun postnatal geç dönemde epileptik aktivite, davranış, öğrenme ve sitokinler üzerine etkisini ilişkilendiren çalışmalar çok sınırlıdır hatta intrauterin maruziyetinin postnatal-geç dönemde, epileptik aktivite gibi, bir stres durumuna yanıt olarak immün hafızanın sitokin düzeylerini nasıl etkileyebileceğini ilişkilendiren bir çalışma bulunmamaktadır.

Gebelik döneminde LPS maruziyetiyle doğan yavrularda maternal immün aktivasyonun genç erişkin dönemde davranış, öğrenme, bellek değerlendirme testlerinde anlamlı düşüş ve nöbet duyarlılığında artışa yol açmaktadır. LPS uygulamasını takiben Leptin uyguladığımız grupta davranış, öğrenme, bellek testlerinde anlamlı olarak düzelmeler dikkat çekmektedir.

Uyguladığımız dozda Leptin aynı zamanda antikonvulsif etkili olduğu görülmüştür. Endojen bir peptid olan leptinin, LPS maruziyetinin nöbet aktivitesi ve öğrenme ve bellek parametreleri üzerine olumsuz etkilerine karşı korucu bir modülasyon sağladığı görülmektedir.

Bulgularımız, LPS ile indüklenen erken doğum modelinde daha önce biraraya getirilmeyen davranış, öğrenme, bellek, epileptik aktivite ve proinflamatuvar sitokinler arasındaki ilişkiyi aydınlatmış ve Leptinin LPS ile indüklenen erken doğum modelinde düzenleyici etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. Aynı zamanda bulgularımız, maternal immün aktivasyonun yavrularda yetişkin dönemde, uzun vadeli, davranışsal (lokomotor, öğrenme, bellek gibi) etkilere neden olabileceğini gösteren yeni kanıtları sunmaktadır

Gebelerde gram negatif bir bakteriyel enfeksiyon tespit edilmesi durumunda kanda yapılan testlerinin yanı sıra Leptin düzeyinde bakılması, hatta açlık-tokluk döngüsüne göre Leptin düzeyini arttırıcı tedavilerin enfeksiyon tedavisine eklenmesi anne ve bebek açısından olabilecek olumsuz etkileri azaltmada faydalı olabilir. Ancak doğum öncesi prenatal bir immünjene maruziyetin nihayetinde uzun vadeli SSS değişikliklerine yol açtığını gösteren beyin dokusunda immunohistokimyasal değişiklikleri gösteren daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anne karnında maruz kalınan inflamasyon ile birlikte Leptin uygulanmasından sonra yavru sıçanlarda beyin dokularında incelemeler yapılarak; sinaptik plastisite, bellek oluşumu ve nörodejeneratif hastalıklar için duyarlı genlerdeki deformasyonlarda Leptin'in herhangi bir düzenleyici etkiye sahip olup olmadığı araştırılmalıdır.

KAYNAKÇA

- Abbas KA, Lichtman AH, Pillai. Cytokins S. Ed: Abbas KA, Lichtman AH. Cellular and molecular immunology. Saunders Elsevier Philadelphia, USA, 2007. 6th Edition pp. 267-302.
- Asai T, Wanaka A, Kato H, Masana Y, Seo M, Tohyama M. Differential expression of two members of FGF receptor gene family, FGFR-1 and FGFR-2 mRNA, in the adult rat central nervous system. *Brain Res Mol Brain Res*. 1993. 17:174-8.
- Aslan, A., Yildirim, M., Ayyildiz, M., Guven, A., Agar, E. Interaction of leptin and nitric oxide pathway on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Res*. 2010.1321, 117—124.
- Apte RN, Voronov E. Interleukin-1a major pleiotropic cytokine in tumor-host interactions. *Semin Cancer Biol*. 2002 aug;12(4):227-90.
- Ates N, Ilbay G, Sahin D. Suppression of generalized seizures activity by intrathalamic 2-chloroadenosine application. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2005 Jul; 230(7):501-5.
- Ayyildiz, M., Yildirim, M., Agar, E., Baltaci, A.K.. The effect of leptin on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Res. Bull*. 2006. 68, 374-378.
- Azap A., Tekeli M. Sepsis sendromu, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Klinik Bakteriyoloji ve enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Güncel Gastroenteroloji, (2002). 6/3.
- Balosso S, Ravizza T, Perego C, Peschon J, Campbell IL, De Simoni MG, et al. Tumor necrosis factor- α inhibits seizures in mice via p75 receptors. *Ann Neurol* 2005;57:804-12
- Barnett SA. The rat: a study in behavior. New Jersey: Transaction Publishers, 2007.
- Bauer JW, Lang R, Jakab M, Kofler B. Galanin family of peptides in skin function. *Cell Mol Life Sci*. 2008 Jun;65(12):1820-5.
- Berger A, Santic R, Hauser-Kronberger C, Schilling FH, Kogner P, Ratschek M, Gamper A, Jones N, Sperl W, Kofler B. Galanin and galanin receptors in human cancers. *Neuropeptides* 2005; 39 (3): 353–9.
- Biliau AD, Witters P, Ceulemans B, Kasran A, Wouters C, Lagae L. Intravenous immunoglobulins in refractory childhood-onset epilepsy: effects on seizure frequency, EEG activity, and cerebrospinal fluid cytokine profile. *Epilepsia* 2007;48:1739-49.
- Bilbo, D. S., Schwarz, M. J., Early-life programming of later-life brain and behavior: a critical role for the immune system 2009
- Bora İ, Yeni S.N, Gurses C. Epilepsi. Nobel Tıp Kitabevleri, 2008
- Boksa P. Effects of prenatal infection on brain development and behavior: a review of findings from animal models. *Brain Behav Immun* 2010.24:881–897.
- Brandtzaeg P. (1996). Significance and pathogenesis of septic shock. *Curr Top Microbiol Immunol*. 216, 15-37
- Buchanan MM, Hutchinson M, Watkins LR, Yin H J. (2010). Toll-like receptor 4 in CNS pathologies. *Neurochem*. 114(1),13-27.
- Caroff M, Karibian D. (2003). Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr Res*, 338(23), 2431–2447.
- Chiang CS, Stalder A, Samimi A, Campbell IL. Reactive gliosis as a consequence of interleukin-6 expression in the brain: studies in transgenic mice. *Dev Neurosci* 1994;16:212–221.
- Ciğer A. Erişkinlerde Epilepsi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ders notları. 2002; 5:115-118
- Cockerell OC, Shorvon SD. Epilepsy: Current concepts. Current Medical Literature, London 1996.
- Considine RV, Sinha MK, Heinman ML. Serum immunoreactive-Leptin concentrations in normal weight and obese human. *New England Journal Of Medicine* 1996; 334: 292-95.
- Correia ML, Morgan DA, Sivitz WI, Mark AL, Haynes WG. Leptin acts in the central nervous system to produce dose-dependent changes in arterial pressure. *Hypertension*. 2001; 37: 936-942.
- Dammann O, O’Shea TM. Cytokines and perinatal brain damage. *Clin Perinatol*. 2008;35:643-663
- Davies M.G, Hagen P.O. (1997). Systemic inflammatory response syndrome. *Bri J Surg*, 84(7), 920–935.
- Deb K, Chaturvedi MM, Jaiswal YK. Comprehending the role of LPS in Gram-negative bacterial vaginosis: looking into the causes of unfulfilled child wish. *Arch Gynecol Obstet*. 2004;270:133–46
- Denenberg, H. V., Kim, S. D., Palmiter, D. R., The role of dopamine in learning, memory, and performance of a water escape task 2003
- Dey A, Kang X, Qiul J, Du Y, Jiang J. Anti-inflammatory small molecules to treat seizures and epilepsy: from bench to bedside. *Trends Pharmacol Sci*. 2016 Jun;37(6):463-484
- Dreifuss FE, Bancaud J, Henriksen O ve diğ. Proposal for the revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*, 1981. 22, 489-501.
- Eckenstein F, Woodward WR, Nishi R. 1991. Differential localization and possible functions of FGF and bFGF in the central and peripheral nervous systems. *Ann N Y Acad Sci* 638:348-60.
- Evans H, Baumgartner M, Shine J, Herzog H. Genomic organization and localization of the gene encoding human preprogalanin. *Genomics* 1993; 18 (3):473–7.
- Faggioni R, Fantuzzi G, Gabay C, Moser A, Dinarello CA, Feingold KR, et al. Leptin deficiency enhances

sensitivity to endotoxin-induced lethality. *Am. J. Physiol.* 1999; 276: 136-142

Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in theregulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *J Leukoc Biol.*2000; 68: 437-446.

Fulton S, Pissios P, Manchon RP. Leptin regulation of the mesoaccumbens dopamine pathway. *Neuron* 2006; 51: 811–22.

Ghiani CA, Mattan NS, Nobuta H, Malvar JS, Boles J, Ross MG, Waschek JA, Carpenter EM, Fisher RS. Early effects of lipopolysaccharide-induced inflammation on foetal brain development in rat. *ASN Neuro* 2011 Nov 17;3(4)

Giblin KA, Blumenfeld H. Is epilepsy a preventable disorder? New evidence from animal models. *Neuroscientist.* 2010 Jun;16(3):253-75.

Grothe C, Zachmann K, Unsicker K. 1991. Basic FGF-like immunoreactivity in the developing and adult rat brainstem. *J Comp Neurol* 305:328-36.

Grove KL, et al. Development of metabolic systems. *Physiol Behav.* 2005;86(5):646–60.

Guo Z, Jiang H, Xu X, Duan W, Mattson MP. Leptin-mediated cell survival signaling in hippocampal neurons mediated by JAK STAT3 and mitochondrial stabilization. *J Biol Chem.* 2008 Jan 18;283(3):1754-63. Epub 2007 Nov 9

Hagberg H, Mallard C. Effect of inflammation on central nervous system development and vulnerability. *Curr Opin Neurol.* 2005

Haluzik M, Papezova H, Nedvidkova J, Kabrt J: Serum leptin levels in patients with anorexia nervosa before and after partial refeeding, relationships to serum lipids and biochemical nutritional parameters. *Physiol Res* 1999; 48: 197-202.

Hayes MR, Skibicka KP, Leichner TM Endogenous leptinsignaling in the caudal nucleus tractus solitarius and area postrema isrequired for energy balance regulation. *Cell Metab* 2010; 11: 77–83.

Hikida T, Kitabatake Y, Pastan I, Nakanishi S. Acetylcholine enhancement in the nucleus accumbensprevents addictive behaviors of cocaine and morphine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:6169–73.

Himms-Hagen J. Physiological roles ofthe leptin endocrine system: differences between mice and humans. *Crit Rev Clin LabSci.* 1999; 36: 575-655

İskit AB.. (2005). Sepsiste Deneysel Modeller, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Yoğun Bakım Dergisi, 5(2), 133-136.

Jacobsson B, Hagberg G, Hagberg B, Ladfors L, Niklasson A, Hagberg H. Cerebral palsy inpreterm infants: a population-based case–control study of antenatal and intrapartal risk factors 2002

Jaiswal, Y.K., Jaiswal, M.K., Agrawal, V., Chaturvedi M.M.. Bacterial endotoxin (LPS)- induced DNA damage in preimplanting embryonic and uterine cells inhibits implantation 2008.

Kandis L. A,Oscar C., Jennifer A. E., Alec J.D., 2013. Environmental Circadian Disruption Elevates the IL-6 Response to Lipopolysaccharide in Blood. *J Biol Rhythms.* 2013 Aug; 28(4): 272–277.

Kovac, S., Walker, C. M., Neuropeptides in epilepsy

Klein S, Coppack SW, Mohamed-Ali V. Adipose tissue leptin production and plasma leptin kinetics in humans. *Diabetes*1996; 45: 984–987.

Lee SC, Liu,W Dickson, DW, Brosnan CF, Berman JW. Cytokine production by human fetal microglia and astrocytes. Differential induction by lipopolysaccharide and IL-1 beta. *J Immunol* 1993;150:2659–2667

Lehtimäki KA, Keränen T, Palmio J, Mäkinen R, Hurme M, Honkaniemi J, et al. Increased plasma levels of cytokines after seizures in localization-related epilepsy. *Acta Neurol Scand* 2007;116:226-30.

Lehtimäki KA, Peltola J, Koskikallio E, Keränen T, Honkaniemi J. Expression of cytokines and cytokine receptors in the rat brain after kainic acid-induced seizures. *Brain Res Mol Brain Res.*2003 Feb 20;110(2):253-256.

Levin BE. Metabolic imprinting on genetically predisposed neural circuits perpetuates obesity. *Nutrition.* 2000;16(10):909–15

Li G, Bauer S, Nowak M, Norwood B, Tackenberg B, Rosenow F, Knake S, Oertel WH, Hamer HM. Cytokines and epilepsy. *Seizure.* 2011 Apr;20(3):249-56.Epub 2011 jan 8.

Lundström L, Elmquist A, Bartfai T, Langel U. Galanin and its receptors in neurological disorders. *Neuromolecular Med.* 2005; 7 (1-2): 157–80

Majeda M, Margineanu DG, Gorji A, Siep E. Reduction of voltage-operated potassium currents by levetiracetam: a novel antiepileptic mechanism of action *Neuropharmacology.* 2003 Oct; 45(5): 661-71.

Mares, P., Mirvaldova, H., Belska, M., (1990). Influence of a new antiepileptic drug ORG 6370 on metrazol-induced seizures in rats duringontogenesis. *Physiol Bohemoslov,* 39(3):199-205

Marik PE. Leptin, Obesity, and Obstructive Sleep Apnea. *Chest.* 2000

Matarese, G., cava, L. A., The intricate interface between immune system and metabolism 2004

Mazarati A, Lu X, Shinmei S, Badie-Mahdavi H, Bartfai T. Patterns of seizures, hippocampal injury and neurogenesis in three models of status epilepticus in galanin receptor type 1 (GalR1) knockout mice. *Neuroscience* 2004; 128 (2):431–41.

Meyer, U., Nyffeler, M., Yee, B. K., Knuesel, I., and Feldon, J. Adult brain and behavioral pathological markers of prenatal immune challenge during early/middle and late fetal development in mice. *Brain Behav. Immun.* 2008 22, 469–486.

Mihai G. N., Bart J.K., Leo A.B.J., Tom S., Ineke V., Otto C. B ve diğerleri. (2001). Lethal *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* endotoxemia is mediated through different pathways. *Eur. J. Immunol.*, 31, 2529–2538.

Mitsukawa K, Lu X, Bartfai T. Galanin, galanin receptors and drug targets. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65 (12): 1796–805.

Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903–908.

Morrison CD. Leptin signaling in brain: a link between nutrition and cognition *Biochim Biophys Acta* 2009; 1792: 401–8.

Mukhopadhyay S, Hoidal JR, Mukherjee TK. Role of TNF alpha in pulmonary pathophysiology. *Respir Res* 2006;11(7):125.

O'Malley D, MacDonald N, Mizielinska S, Connolly CN, Irving AJ, Harvey J. Leptin promotes rapid dynamic changes in hippocampal dendritic morphology. *Mol Cell Neurosci* 2007; 35: 559–72.

Otero M, Lago R, Gomez R and et al. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology* 2006; 45(8):944-50.

Ornitz DM, Leder P. 1992. Ligand specificity and heparin dependence of fibroblast Growth factor receptors 1 and 3. *J Biol Chem* 267:16305-11.

Özkara Ç, Ataklı D. Epilepsi. İstanbul: 5Us Yayın, 2002:63-107

Öztaş B, Sahin D, Kir H, Eraldemir FC, Musul M, Kuskay S, Ates N. 2013. The effect of leptin, ghrelin, and neuropeptide-Y on serum Tnf- α , Il-1 β , Il-6, Fgf-2, galanin levels and oxidative stress in an experimental generalized convulsive seizure model. *Neuropeptides*. 2017 Feb;61:31-37

Pedley TA. *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*. Lippincott-Raven, 1998.

Peelman F, Waelpuut W, Iserentant H, Leptin: linking adipocyte metabolism with cardiovascular and autoimmune diseases. *Prog Lipid Res.* 2004; 43: 283-301.

Polin RA, Parravicini E, Regan JA, Taeusch HW. *Bacterial Sepsis and Meningitis*. Ed: Taeusch HW. 8th Edition pp. 551-577. Elsevier Publishing. Philadelphia, USA, 2004.

Pratley RE, Nicolson M, Bogardus C et al. Plasma leptin responses to fasting in Pima Indians. *Am J Physiol* 1997; 273: 644–49.

Rakhade SN, Jensen FE. Epileptogenesis in the immature brain: emerging mechanisms. *Nat Rev Neurol.* 2009 Jul;5(7):380-91.

Rietschel ET, Brade H, Holst O, Brade L, Müller-Loennies S, Mamat U ve diğerleri. (1996). Bacterial endotoxin: chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification.

Romero RM, Sirtori E, Oyarzun C, Avila M, Mazor R, Callahan V, et al. Infection and labor. prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:817–24

Rousset, C., Chalon, S., Cantagrel, S., Bodard, S., Andres, C., Gressens, P., Saliba, E. Maternal exposure to LPS induces hypomyelination in the Internal capsule and programmed cell death in the deep gray matter in newborn rats .2006

Sahin, D., Erdogdu, C.O., Karadenizli, S., Kara, A., Bayrak, G., Beyaz, S., Demir, B., Ates, N., 2016. Effects of gestational and lactational exposure to low dose mercury chloride (HGCL₂) on behaviour, learning and hearing thresholds in Wag/Rij rats. *Excl Journal* 2016;15:391-402

Sahin, D., Yilmaz, C.U., Orhan, N., Arican, N., Kaya, M., Gürses, C., Ates, N., Ahishali, B. Changes in electroencephalographic characteristics and blood-brain barrier permeability in WAG/Rij rats with cortical dysplasia (2017) *Epilepsy and Behavior*, 67, pp. 70-76. Cited 2 times

Saliba E, Henrot A. Inflammatory mediators and neonatal brain damage. *Biol Neonate* 2001;79: 224–227.

Sarkisian MR. Overview of the Current Animal Models for Human Seizure and Epileptic Disorders. *Epilepsy Behav.* 2001 Jun;2(3):201-216.

Sawada M, Kondo N, Suzumura A, Marunouchi T. Production of tumor necrosis factor-alpha by microglia and astrocytes in culture. *Brain Res* 1989;491:394–397

Shanley, L.J., Irving, A.J., Rae, M.G., Ashford, M.L., Harvey, J., 2002a. Leptin inhibits rat hippocampal neurons via activation of large conductance calcium-activated K⁺ channels. *Nat. Neurosci.* 5, 299–300.

Scheller J, Chaalari A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta.* 2011 May; 1813(5):878-88.

Schoeller DA, Cella LK, Sinha MK et al. Entrainment of the diurnal rhythm of plasma leptin to meal timing. *J Clin Invest* 1997; 100: 1882–87.

Stafstrom, E. C., *Epilepsy: a review of selected clinical syndromes and advances in basic science* 2006

Swaiman KS, Ashwal S, Ferriero DM. *Pediatric Neurology Principles and Practice*. New York: Mosby Press, 2005: 989-1181.

Takami K, Matsuo A, Terai K, Walker DG, McGeer EG, McGeer PL. 1998. Fibroblast Growth factor receptor-1 expression in the cortex and hippocampus in Alzheimer's disease. *Brain Res* 802:89-97.

Theodore W.H, Porter R.J, Albert J. The secondary generalized tonic-clonic seizure: a videotape analysis. *Neurology*, 1994; **44**:1403-1407

Tilek GN. Epilepside uzun latanslı refleksler ve kortikal gecikme zamanı / Long latency reflexes and cortical relay time in epilepsy. *Tıpta uzmanlık tezi*. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2014.

Thio LL. Hypothalamic hormones and metabolism. *Epilepsy Res*. 2012 Jul; **100**(3):245-51

Unsicker K, Reichert-Preibich H, Schmidt R, Pettmann B, Labourdette G, Sensenbrenner M, 1987. Astroglial and Fibroblast Growth factors have neurotrophic functions for cultured peripheral and central nervous system neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:5459-63.

Vila R, Adan C, Rafecas I. Plasma leptin turnover rates in lean and obese Zucker rats. *Endocrinology* 1998; **139**: 4466–4469.

Wiebe S, Camfield P, Jetté N ve diğ. Epidemiology of epilepsy: prevalence, impact, comorbidity and disparities. *Can J Neurol Sci*. 2009/ 36 Suppl 2, S7 - 16.

Xu L, Rensing N, Yang XF, Zhang HX, Thio LL, Rothman SM, Weisenfeld AE, Wong M, Yamada KA. Leptin inhibits 4-aminopyridine- and pentylene-tetrazole-induced seizures and AMPAR-mediated synaptic transmission in rodents. *J Clin Invest*. 2008 Jan; **118**(1):272-80

Yin, P., Liu, J., Li, Z., Wang, Y., Qiao, N., Huang, S., Li, B., Sun, R., Prenatal immune challenge in rats increases susceptibility to seizure-induced brain injury in adulthood. *Brain Res* 2013;78-86

Yazaki N, Hosoi Y, Kawabata K, Miyake A, Minami M, Satoh M, and others. 1994. Differential expression patterns of mRNAs for members of the fibroblast growth factor receptor family, FGFR-1-FGFR-4, in rat brain. *J Neurosci Res* 37:445-52.

Zechel S, Werner S, Unsicker K, von Bohlen und Halbach O. Expression and functions of fibroblast Growth factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist*. 2010 Aug; **16**(4):357-73.

Zeng J, Patterson BW, Klein S . Whole body leptin kinetics and renal metabolism in vivo. *Am J Physiol* 1997; **273**:E1102–E1106.

Zhang F, Wang S, Signore AP, Chen J. Neuroprotective effects of leptin against ischemic injury induced by oxygen-glucose deprivation and transient cerebral ischemia. *Stroke* 2007; **38**: 2329–36.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; **372**:425-432

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Hamide DEMİR

Doğum yeri ve tarihi : Beykoz/ 13.05.1991

Uyruğu : T.C.

Medeni Durumu : Bekar

Çalıştığı kurum :Özel Altın-tepe Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi

İletişim Adresi ve telefonu: Altın-tepe Mahallesi, Pınarlı Sk. No:14,
34840 Maltepe/İstanbul (0216)3663580

2. Eğitimi

1998-2005 /Şehit Adil Doğan İlköğretim Okulu

2005-2009/Haydarpaşa Anadolu Sağlık Meslek Lisesi/Radyoloji
Teknisyenliği Bölümü

2009-2011/Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Yüksekokulu/ Fizyoterapi Ve
Rehabilitasyon/Fizyoterapi Teknikerliği

2012-2014/T.C. İstanbul Arel Üniversitesi Sağlık Fakültesi Fizik Tedavi ve
Rehabilitasyon/Fizyoterapist

3. Unvanları

Radyoloji Teknisyeni

Fizyoterapist

4. Mesleki Deneyimi

Özel Yunus Emre Hastanesi/Radyoloji Teknisyenliği(Tem2011-2014/3 yıl)

Özel Pediatrik Terapi Merkezi/Fizyoterapist(May2014-2017/3 yıl)

Özel Altın-tepe Özel Eğitim ve Rehabilitasyon Merkezi(Haz2017-Halen)

5. Görev aldığı projeler

6. Posterler

Lipopolisakkarit ile oluşturulmuş erken doğum modelinin davranış ve öğrenme üzerine etkisi başlıklı Poster Sunumu/16.Ulusal Sinirbilim Kongresi