T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AÇ FARELERE SKOPOLAMİN UYGULANMASI VE YEM VERİLMESİ İLE OLUŞAN KONVÜLSİYONLARDA MK-801'İN BEYİN DOKUSUNDAKİ OKSİDATİF STRES, İNFLAMASYON VE GHRELİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Eczacı Yakup AKKUŞ
ECZACILIK MESLEK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ

VAN-2019

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AÇ FARELERE SKOPOLAMİN UYGULANMASI VE YEM VERİLMESİ İLE OLUŞAN KONVÜLSİYONLARDA MK-801'İN BEYİN DOKUSUNDAKİ OKSİDATİF STRES, İNFLAMASYON VE GHRELİN DÜZEYLERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Eczacı Yakup AKKUŞ
ECZACILIK MESLEK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
FARMAKOLOJİ BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ

VAN-2019

Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2019-7854 numaralıproje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalında Yakup AKKUŞ tarafından hazırlanan *"Aç Farelere Skopolamin Uygulanması ve Yem Verilmesi ile Oluşan Konvülsiyonlarda MK-801'in Beyin Dokusundaki Oksidatif Stres, İnflamasyon ve Ghrelin Düzeylerine Etkilerinin Araştırılması"* adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16/10/2019

Prof. Dr. Tahir KAHRAMAN

Karabük Üniversitesi

Jüri Başkanı

Dr.Öğr.Üyesi Mehmet BERKÖZ

Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Oruç YUNUSOĞLU

Yüzüncü Yıl Üniversitesi

Jüri Üyesi

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

Prof. Dr. Semiha DEDE

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum *"Aç Farelere Skopolamin Uygulanması ve Yem Verilmesi ile Oluşan Konvülsiyonlarda MK-801'in Beyin Dokusundaki Oksidatif Stres, İnflamasyon ve Ghrelin Düzeylerine Etkilerinin Araştırılması"*başlıklı tezim; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Yakup AKKUŞ
Tarih: 16/10/2019
İmza:

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi süresince yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ hocama, Van YYÜ Tıp Fakültesi Dr. Öğr. Üyesi Oruç YUNUSOĞLU'na ve çalışmalarım boyunca manevi desteğini esirgemeyen Eczacılık Fakültesi çalışanlarına ayrıca bu araştırmanın gerçekleşmesi için mali destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Ecz. Yakup AKKUŞ

ÖZET

Akkuş Y, Aç Farelere Skopolamin Uygulanması ve Yem Verilmesi ile Oluşan Konvülsiyonlarda MK-801'in Beyin Dokusundaki Oksidatif Stres, İnflamasyon ve Ghrelin Düzeylerine Etkilerinin Araştırılması, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalı, Farmakoloji Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2019. Bu çalışmada deneysel olarak 48 saat aç bırakıldıktan sonra skopolamin (Skop) uygulanıp ardından yem verilen farelerde meydana gelen konvülsiyonlarda, MK-801'in, beyin dokusundaki oksidatif stres (OS), enflamasyon ve ghrelin (GHR) düzeylerine etkisinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmamızda 36 adet, 25-30 gr ağırlığında Balb/C cinsi beyaz erişkin erkek fare kullanıldı. Fareler rastgele seçilerek 6 gruba ayrıldı. 1.Grup : 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. serum fizyolojik (SF) enjeksiyonu yapıldı. 2.Grup : 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. Skop enjeksiyonu yapıldı. 3.Grup : 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. SF enjeksiyonu ve hemen ardından i.p. 0.17 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı. 4.Grup : 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. SF enjeksiyonu ve hemen ardından i.p. 0.51 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı. 5.Grup : 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. 3 mg/kg Skop enjeksiyonu yapıldı ardından i.p. 0.17 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı. 6.Grup : 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. 3 mg/kg Skop enjeksiyonu yapıldı ardından i.p. 0.51 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı. Tüm gruplara enjeksiyondan 20 dakika sonra yem verildi. Beyin dokularında malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), prostaglandin E_2 (PGE_2), redükte glutatyon (GSH) ve protein karbonil (PCO) düzeylerine, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), paraoksonaz (PON) ve aril esteraz (ARE) aktivitelerine bakıldı. Ayrıca hayvanlardan toplanan plazma ve doku örneklerinde GHR miktarları belirlendi. Çalışmada MK-801'in konvülsiyonları baskıladığı, beyin dokusundaki SOD ve CAT aktivitelerini arttırdığı, GSH-Px, PON ve ARE aktiviteleri ile MDA ve GSH düzeyini değiştirmediğini, NO, PGE_2 ve PCO düzeyini azalttığı, doku ve serum GHR düzeyini arttırdığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Konvülsiyon, Skopolamin, MK-801, Oksidatif Stres, Ghrelin

ABSTRACT

Akkuş Y, Investigation of the Effects of MK-801 on Oxidative Stres, Inflammation and Ghrelin Levels in Brain Tissue and the Scopolamine Induced Convulsions in Fasted Mice After Food Intake, Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Department of Professional Pharmaceutical Sciences, Pharmacology, Master Science Thesis, Van,2019. The aim of this study was to investigate the effect of MK-801 on oxidative stress, inflammation and ghrelin levels in brain tissue in convulsions that were administered to scopolamine after fasting for 48 hours. In this study, 36 male, 25-30g weight Balb/c white adult mice were used .Mice were randomly selected and diveded into 6 groups. Group 1: Fasting animals for 48 hours were injected i.p SF. Group 2: Fasting animals for 48 hours were injected i.p 3mg/kg scopolamine. Group 3: Fasting animals for 48 hours i.p. SF injection followed immediately by i.p. 0.17 mg / kg MK-801 was injected. Group 4: Fasting animals for 48 hours i.p. SF injection followed immediately by i.p. 0.51 mg / kg MK-801 was injected. Group 5: Fasting animals for 48 hours i.p. Skop injection followed immediately by i.p. 0.17 mg / kg MK-801 was injected. Group 6: Fasting animals for 48 hours i.p. Skop injection followed immediately by i.p. 0.51 mg / kg MK-801 was injected. All groups were fed 20 minutes after injection. Malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), prostaglandin E2 (PGE2), reduced glutathione (GSH) and protein carbonyl (PCO) levels, superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px), paraoxonase (GSH-Px) PON) and aryl esterase (ARE) activities were evaluated in brain tissues. In addition, total ghrelin levels were determined in plasma and tissue samples collected from animals. As a result of the study, MK-801 suppressed convulsions, increased SOD and CAT activities, GSH-Px, PON and ARE activities MDA and GSH levels did not change, NO, PGE2 and PCO levels decreased in brain tissue, and increased tissue and serum GHR levels.

Key Words: Convulsion, Scopolamine, MK-801, Oxidative Stres, Ghrelin

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY..……...…….……. ……...II

ETİK BEYAN...……..…….....III

TEŞEKKÜR…….....…….…….....IV

ÖZET.……...V

ABSTRACT……...VI

İÇİNDEKİLER…….…….....VII

SİMGELER VE KISALTMALAR……..X

ŞEKİLLER LİSTESİ…….…….....XII

TABLOLAR LİSTESİ……..……...XIII

1. GİRİŞ…..……..…….....1
2. GENEL BİLGİLER……4
   2.1. Epilepsi.……4
      2.1.1. Tanım.……4
      2.1.2. Tarihçe.……..4
      2.1.3. Epidemiyoloji…….……5
      2.1.4. Etiyoloji.……....5
      2.1.5. Patofizyoloji…..……..6
      2.1.6. Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması.…….....7
      2.1.7. Deney hayvanlarında konvülsiyon oluşturma yöntemleri.….....8
   2.2. Skopolamin.…….....10
   2.3. MK-801…….....11
   2.4. Ghrelin.…….....……11
   2.5. Oksidatif Stres.……..……..12
      2.5.1. Serbest Radikaller.……..……13
         2.5.1.1. Malondialdehid (MDA).……..……14
         2.5.1.2. Protein karbonilleri (PCO).……...……14

2.5.2. Antioksidanlar……..……...14
2.5.2.1. Süperoksit dismutaz (SOD)…….……15
2.5.2.2. Katalaz (CAT)…..……..15
2.5.2.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)…….……15
2.5.2.4. Glutatyon redüktaz (GSH)……..…….15
2.5.2.5. Paraoksonaz (PON) ve arilesteraz (ARE)…..……...16
2.6. İnflamasyon…….……..17
2.6.1. Nitrik Oksit (NO)…….……...17
2.6.2. Prostaglandinler (PG)……18
3. GEREÇ VE YÖNTEM……20
3.1. Deney Hayvanları……..20
3.2. Kullanılan Droglar ve Malzemeler……20
3.2.1. Droglar…..……..20
3.2.2. Kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler……21
3.3. Hayvan Gruplarının Oluşturulması…..……22
3.4. Çalışma Örneklerinin Hazırlanması……...24
3.4.1. Doku örnekleri……24
3.4.2. Homojenizasyon……24
3.5. Analiz Yöntemleri……..25
3.5.1. Protein ölçümü (Lowry Metodu)……25
3.5.2. Glutatyon peroksidaz aktivitesi ölçümü…….26
3.5.3. Katalaz enzim aktivitesi tayini……28
3.5.4. Süperoksid dismutaz enzim aktivitesi tayini……..29
3.5.5. Malondialdehid (MDA) ölçümü……....30
3.5.6. Protein karbonil grup tayini……32
3.5.7. Paraoksonaz aktivitesi ölçümü……33
3.5.8. Aril esteraz aktivitesinin ölçümü……34
3.5.9. Glutatyon tayini……..35
3.5.10. Nitrik oksit ölçümü……..36
3.5.11. PGE_2 seviyesi ölçümü……....38
3.5.12. Plazma ve doku ghrelin düzeyinin belirlenmesi……40

4. BULGULAR.……41
4.1. Konvulsiyonlar.…….…….....41
4.1.1. Ağırlık değişimleri.…….….....41
4.1.2. Konvulsiyon evreleri.…….....41
4.1.3. Konvulsiyonların başlama süreleri ve ölüm oranı…….....41
4.2. Beyin Dokusu GSH-Px Aktivitesi Sonuçları…….....…….42
4.3. Beyin Dokusu CAT Aktivitesi Sonuçları……..……...…….43
4.4. Beyin Dokusu SOD Aktivitesi Sonuçları……..43
4.5. Beyin Dokusu MDA Düzeyi Sonuçları…….44
4.6. Beyin Dokusu PCO Düzeyi Sonuçları……...45
4.7. Beyin Dokusu PON Aktivitesi Sonuçları……..46
4.8. Beyin Dokusu ARE Aktivitesi Sonuçları……..47
4.9. Beyin Dokusu GSH Düzeyi Sonuçları……...48
4.10. Beyin Dokusu NO Düzeyi Sonuçları……...49
4.11. Beyin Dokusu PGE_2 Düzeyi Sonuçları……50
4.12. Serum GHR Düzeyi Sonuçları.……..51
4.13. Beyin Dokusu GHR Düzeyi Sonuçları.……52
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.……...……..54
KAYNAKLAR.……...……65
ÖZGEÇMİŞ.……...……73
EKLER.……...…….....73
EK 1. Etik Kurul Araştırma Onay Belgesi.…….…...……..73
EK 2. Etik Kurul Araştırma Kesin Sonuç Onay Belgesi.…...……..74
EK 3. Tez Orjinallik Raporu ……...…….75

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACH : Asetilkolin

ACTH : Adreno Kortiko Tropik Hormon

ARE : Aril Esteraz

ATP : Adenozin Tri Fosfat

BSA : Bovine Serum Albumin

cAMP : Siklik Adenozin Mono Fosfat

CAT : Katalaz

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

DNPH : 2,4-Dinitrofeneilhidrazin

DTNB : 5, 5' Dithio-Bis-2-Nitrobenzoik Asit

EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetikasit

EEG : Elektroensefalografi

GABA : Gama Amino Bütirik Asit

GH : Büyüme Hormonu

GHR : Ghrelin

GR : Glutatyon Redüktaz

GSH-PX : Glutatyon Peroksidaz

GSH : Glutatyon

HDL : High Density Lipoprotein

ILAE : International League Against Epilepsy

İ.P. : İntra Peritoneal

MDA : Malondialdehit

M. Ö. : Milattan Önce

NADPH : Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

NBT : Nitroblue Tetrazolium Klorür

NMDA : N-Metil-D-Aspartat

NO : Nitrik Oksit

NOS : Nitrik Oksit Sentaz

NPY : Nöropeptid Y

OS : Oksidatif Stres

PCO : Protein Karbonil

PG : Prostaglandin

PGE_2 : Prostaglandin E_2

PON : Parooksonaz

RNS : Reaktif Nitrojen Türleri

SF : Serum Fizyolojik

SKOP : Skopolamin

SOD : Süperoksid Dismutaz

SOR : Serbest Oksijen Radikalleri

SPSS : Statistical Package for Social Sciences

SR : Serbest Radikaller

SSS : Santral Sinir Sistemi

TBA : Tiobarbitürik Asit

TCA : Trikloroasetik Asit

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Prostaglandin Sentezi ……..18

Şekil 2. Beyin GSH-Px aktivitesi…….…….42

Şekil 3. Beyin CAT aktivitesi …….……..43

Şekil 4. Beyin SOD aktivitesi ……...44

Şekil 5. Beyin MDA düzeyi ……45

Şekil 6. Beyin PCO düzeyi ……...46

Şekil 7. Beyin PON aktivitesi ……...47

Şekil 8. Beyin ARE aktivitesi ……...48

Şekil 9. Beyin GSH düzeyi ……...49

Şekil 10. Beyin NO düzeyi ……50

Şekil 11. Beyin PGE_2 düzeyi ……..51

Şekil 12. Serum GHR düzeyi ……52

Şekil 13. Beyin GHR düzeyi ……..53

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması ……..……8

Tablo 2. Deneysel Epilepsi Hayvan Modelleri …….……..9

Tablo 3. Deneyin yapılışı esnasında uygulanan çalışma standartları (µL)….……26

Tablo 4. Konvülsiyon geçiren hayvan sayıları ve evreleri…….....41

Tablo 5. Konvulsiyonların başlama süresi ve ölüm oranı……..42

1. GİRİŞ

Epilepsi hastalığı, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ‘Serebral nöronların aşırı deşarjına bağlı olarak ortaya çıkan ani ve tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize, farklı sebepler ile meydana gelebilen kronik beyin hastalığı’ olarak tanımlanmaktadır. Epilepsi nöbeti ise beyindeki bir grup nöronun ani, geçici veya kısa süreli, anormal deşarjı sonucu ortaya çıkan duyusal, motor, otonom ve psişik belirtilerle şekillenen bir semptomdur (Özer ve Pınar Bölüktaş, 2017). Her yaşta görülebilen epilepsi ile ilgili son zamanlarda yapılan bir araştırmaya göre, dünya genelinde 70 milyon kişinin epilepsi hastası olduğu ve bunların neredeyse %90'ının gelişmekte olan ülkelerde olduğu tespit edilmiştir (Singh ve Trevick, 2016). Yapılan çeşitli çalışmalarda hastaların yalnızca %25-30’unda epilepsi etiyolojisi saptanabilmektedir. İnme, genetik yatkınlık, çeşitli enfeksiyonlar, travmatik beyin hasarı, serebrovasküler hastalıklar, yüksek ateş gibi durumlar epilepsinin bilinen nedenleri olarak gösterilmiştir (Werhahn, 2009; Newton ve Preux, 2018).

Epileptik nöbet ile konvülsiyon kimi zaman eş anlamlı olarak kullanılmaktadır. Santral sinir sisteminin (SSS) ani, aşırı ve paroksismal uyarılmasına konvülsiyon denir (Fischer, 1989). Bazı çalışmalarda kırk sekiz saat ve daha kısa süre aç bırakılan fare ve sıçanlara skopolamin, atropin veya biperiden gibi antimuskarinikler/antikolinerjiklerin uygulanması ve ardından yem verilmesi konvülsiyonlara neden olmuştur (Enginar ve ark., 2003; Enginar ve ark., 2005; Enginar ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarda nöbetlerin oluşmasında açlık sonrası yeniden yemenin ve skopolamin uygulamasının önemli rol oynadığı saptanmıştır. Antikolinerjik bir ilaç olan skopolamin uygulanmasının kolinerjik konvülsiyonları önlediği bilindiğinden bu bulgular oldukça ilginçtir. Konvülsiyon oluşmasının skopolamine özgü olmadığı, diğer antikolinerjik ilaçlardan olan atropin ve biperiden uygulamalarının da nöbetlere neden olduğu gösterilmiştir (Enginar ve ark., 2003). Konvülsiyonların oluşumuna yeme davranışının etkisi incelendiğinde sıvı yiyeceklerin değil de, katı yem yemenin ana etken olduğu ortaya konmuştur. Yapılan bu çalışma çiğneme hareketlerinin konvülsiyonların oluşması üzerindeki etkilerini göstermektedir (Nurten ve Enginar, 2006). Açlık süresi ile konvülsiyonlar arasındaki ilişki incelendiğinde 6, 18, 24 ve 52 saat süren açlık sonrasında da konvülsiyonların ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar ile sürenin

değil, yemden yoksun kalmanın konvülsiyon oluşumunda ana etken olabileceğini göstermektedir (Enginar ve ark.,2005). Açlık sırasında glukoz verilerek hipogliseminin önlenmesinin konvülsiyonları engellemediği ve 48 saat süren açlığın beyin sinaptik membranlarına glutamat bağlanmasında, yem alımı ve skopolamin uygulanması ile kısmen geriye dönebilen değişikliklere yol açtığını göstermiştir (Enginar ve ark., 1997; Enginar ve ark., 2003). Skopolamin uygulanmasından önce nonkompetitif N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti MK-801, dopaminerjik reseptör antagonisti klorpromazin ve haloperidol, α2-adrenerjik reseptör agonistleri klonidin ve tizanidin gibi etken maddelerin uygulanması konvülsiyon oluşumunu tamamen önlemiş veya azaltmıştır (Enginar ve ark., 1997; Nurten ve ark., 2009; Enginar ve Nurten, 2010).

SSS'nin önemli nörotransmitterlerden glutamat, epilepsi patogenezinde rolü olup etkisini hem iyonotropik hem de metabotropik glutamat reseptörlerini uyararak gösterir (Büget ve ark., 2016; Özdemir ve Özdemir Güzel, 2016). Glutamerjik sistemin iyonotropik reseptörlerinden olan NMDA reseptörünün nonkompetitif antagonisti olan MK-801 (Dizosilpin)'in antikolvülsan etki oluşturduğu gösterilmiştir (Enginar ve ark., 1997).

Çalışmanın amacı;

48 saat aç bırakılan Balb/c cinsi erkek beyaz farelerin skopolamin uygulayıp yem verdikten sonra oluşan konvülsiyonlarda;

1) MK-801'in oluşan konvülsiyonlar üzerindeki etkilerini değerlendirmek
2) Konvülsiyonlar öncesi ve sonrası ghrelin miktar değişimlerini değerlendirmek
3) Konvülsiyonlar öncesi ve sonrası oksidatif stres ve inflamasyonun belirlenen belirteçlerle değerlendirmek
4) Konvülsiyonlar sonrası uygulanan MK-801'in beyin dokusundaki oksidatif stres, inflamasyon ve ghrelin üzerindeki etkilerini değerlendirmek

Çalışmamızdan çıkacak sonuçlar, aç farelere skopolamin uygulanması ve ardından yem verilmesi ile oluşan konvülsiyonlarda MK-801 uygulanması ile konvülsiyonları ne şekilde baskıladığı veya sonlandırdığını göstermeye çalışacağız. Ayrıca MK-801 etken maddesinin beyin dokusundaki ghrelin, oksidatif stres ve inflamasyon üzerindeki

etkilerinin değerlendirilmesi daha önce hiçbir çalışmada gösterilmediğinden, bu tez çalışmasında MK-801'in beyin dokusundaki ghrelin, oksidatif stres ve inflamasyon üzerindeki etkilerini tespit etmeye çalışacağız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

2.1.1. Tanım

Epilepsi Grekçe'den türeyen bir kelime olup, "tutulmak" (epilepsia) anlamına gelmektedir (Adadıoğlu ve Oğuz, 2016).

SSS'nin kortikal veya subkortikal bölgelerinde yer alan nöron gruplarının ani, anormal ve aşırı elektriksel deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayıcı nitelikte olan klinik tabloya epilepsi denir (Akdağ ve ark., 2016).

2.1.2. Tarihçe

Modern zaman öncesi epilepsi, çok sayıda batıl inanç ve tanrılara dayandırılırıp metafiziksel temeli olan bir hastalık olarak kabul edilmiştir. İlk kaydedilen epilepsi vakası, milattan önce (M.Ö.) 2000 yıllarına kadar, Akad dilinde yazılmış bir metinde, hastalığın sebebi olarak bir ay tanrısının görüldüğü ve durumu tedavi etmek için şeytan çıkarma işleminin gerçekleştiği bir metne dayanmaktadır. Mezopotamya uygarlığında Babil kralı Hammurabi'nin yasalarında epilepsiden bahsedilmiştir. M.Ö. 1067-1046 yılları arasında Sakikku'da bir başka babilce yazıda epilepsinin özellikleri, türleri, tedavisi ve sonuçlarıyla daha da ayrıntılı bir şekilde ele alınmış, ancak epilepsinin nedenini çevreleyen yaygın inanç metafiziksel olduğundan, epilepsi için manevi çözümler önerilmiştir. Epilepsi konusuna bilimsel olarak yaklaşan ilk kişi olan Hipokrat, M.Ö. 5. Yüzyılda epilepsinin beyin hastalığı olduğunu savunmuştur. Çoğu kültürde epilepsi hastalığı utanç verici görüldüğünden epilepsi hastaları sosyal hayattan uzaklaştırılmış veya hapsedilmişlerdir.19. Yüzyıla gelindiğinde nörobilim, psikiyatriden farklı olarak yeni bir alan olarak ortaya çıktığında, epilepsinin beyin hastalığı olma fikri çok daha yaygın olarak kabul edilmiştir. Modern dünyada epilepsi ile ilgili ilk tanımı John Hughlings Jackson tarafından "sinir dokusunun ara sıra, aşırı, düzensiz deşarjı"olarak yapılmıştır (Mansoor ve ark., 2018).

2.1.3. Epidemiyoloji

Epilepsi çocuk-yetişkin, kadın-erkek, her yaş, ırk, etnik köken ve sosyal sınıftan insanı etkileyen nörolojik bir hastalıktır (Çokar, 2018). Dünya çapında 65 milyon civarında insan epilepsi hastası olup %80'ine yakını gelişmekte olan bölgelerde yaşamaktadır. İngiltere'de 600.000'den fazla kişi, yani neredeyse %1 oranında ve ABD'de 3 milyondan fazla kişi veya %0.84 oranında epilepsi hastası bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, yaşlı nüfustaki epilepsi insidansının en yüksek oranının 65 yaşından itibaren arttığını göstermiştir. 65 yaşından büyük küresel popülasyonun 2030 yılına kadar 400 milyon civarında artarak yaklaşık 1 milyar seviyeye çıkacağı göz önüne alındığında, epilepsili yaşlı yetişkinlerin sayısının önemli ölçüde artması beklenmektedir (Sen ve ark., 2018). Dünya genelinde her yıl tahmini 2.4 milyon kişiye yeni epilepsi tanısı konmaktadır. Yüksek gelirli ülkelerde, yıllık yeni vakalar genel nüfusta 100.000 kişi başına 30 ila 50 arasında iken düşük ve orta gelirli ülkelerde, bu rakam 2 kat daha yüksek olabilir. Gelişmiş ülkelerde epilepsi prevalansı binde 4 ila 10 arasında değişmektedir. Gelişmekte olan ve tropikal ülkelerde yapılan çalışmalarda ise epilepsi prevalansının binde 14 ila 57 arasında olduğunu bildirmiştir. Gelişmiş ülkelerde, epilepsi insidansı çocuklarda ve yaşlılarda en yüksek oranlara sahip olan U şeklinde bir eğri sergiler. Buna karşılık, gelişmekte olan ülkelerde epilepsi insidansı erken erişkinlik döneminde en yüksek nokta gibi görünmektedir (Singh ve Trevick, 2016).

Yapılan çalışmalarda Türkiye'de epilepsi prevalansı 7- 12.2/1000 olarak bulunmuştur (Koç ve ark., 2017). Ülkemizde yapılan bir çalışmada epilepsi insidansı kadınlarda 42.2/100000, erkeklerde ise 33.5/100000 olarak bildirilmiştir (Çokar, 2018).

2.1.4. Etiyoloji

En sık epilepsi etiyolojisi, yaşam süresi boyunca değişiklik gösterir. Çocuklarda, genetik yatkınlık ve doğuştan malformasyonlar veya inme en yaygın nedenlerdir. Travmatik beyin hasarı, enfeksiyon, yara izi ve tümörler genç erişkinlerde önemli nedenlerdir. Yaşlı erişkinlerde ise inme, nörodejeneratif ve serebrovasküler hastalıklar en yaygın nedenlerdir (Johnson, 2018). Epileptik nöbetin sebebi biliniyorsa buna semptomatik epilepsi denir. Sebep olabilecek bir faktör saptanamıyor ise semptomatik

olmayan olarak değerlendirilip idiyopatik ve kriptojenik olarak iki gruba ayrılır (Ochoa-Gómez ve ark., 2016).

2.1.5. Patofizyoloji

Epileptogenezden sorumlu hücresel mekanizmalar henüz tam anlamıyla aydınlatılamamıştır. Tüm epilepsi nöbetleri farklı mekanizmalarla ortaya çıkar ve bütün nöbetlerde artmış nöronal eksitabilite ve senkronite gibi ortak özellikler mevcuttur. Epileptojenik merkez adı verilen beyin bölgelerindeki hücreler tam olarak açıklanamayan nedenlerle artmış uyarılma ve anormal ateşlenme özelliği gösterirler ve etraflarındaki normal hücreleri de bu duruma ortak ederler (Baykan ve ark., 2004). Bazı epileptik sendromlarda genetik faktörlerin rolü gösterilmiştir. Ayrıca birçok epileptik durum için kompleks veya poligenik kalıtım söz konusudur (Bambal ve ark., 2011).

Beyindeki en önemli inhibitör nörotransmitter olan Gama-aminobütirik asid (GABA) etkisini $GABA_A$ ve $GABA_B$ reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirmektedir. GABA, $GABA_A$ reseptörüne bağlanarak kanalın açılmasına yol açar ve klor iyonunun hücre içine girmesine yol açarak elektriksel akımın inhibisyonuna yol açmaktadır. $GABA_B$ reseptörüne bağlanması ile de potasyum akımını arttırmakta, kalsiyum iyon girişini azaltmakta ve diğer nörotransmitterlerin presinaptik salınımını inhibe etmektedir. $GABA_A$ iletimindeki azalmanın in vitro ortamda memeli korteksinde epilepsiye neden olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Epilepsi gelişimi esnasında $GABA_A$ reseptörlerinin aşırı eksprese olduğu bulunmuştur. Ayrıca $GABA_B$ reseptörlerinin blokajı nöbetlerin meydana gelmesine yol açmaktadır (Akdoğan ve ark., 2003; Bambal ve ark., 2011).

Epilepsi patogenezindeki rolü kanıtlanan en önemli eksitatör nörotransmitter olan glutamat, etkisini hem iyonotropik hem de metabotropik glutamat reseptörlerini uyararak gösterir. Birçok epilepsi çeşidinin aşırı glutamaterjik sinirsel aktiviteden kaynaklanabileceği öngörülmektedir (Yavuz Vanlı ve Tüzün, 2016). Epilepsili hastalarda glutamat ve aspartat düzeylerinin arttığı gösterilmiş olup, glutamat ve aspartat düzeylerinin epileptik havyan modellerinde de artış gösterdiği bildirilmiştir. Glutamatın veya iyonotropik glutamat reseptör agonistlerinin, beyin kesitlerinde ve

hayvanlarda konvulsif ve nonkonvulsif nöbetlere neden olduğu bildirilmektedir (Alexander ve Godwin, 2006).

Nikotinik asetilkolin (Ach) reseptör aktivasyonunun, hem eksitatör hem de inhibitör modülatörleri etkileyebileceği öne sürülmektedir. Nörokimyasal deliller presinaptik Ach reseptörlerinin aktivasyonunun Ach, GABA ve glutamat gibi nörotransmitterlerin salınımını arttıracağını göstermektedir (Roshan-Milani ve ark., 2003).

2.1.6. Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Epileptik nöbet, beyindeki nöronların anormal ve yoğun deşarjları sonucu ortaya çıkan, beli bir süreyle sınırlı olan, şuur değişiklikleri ile birlikte olan ya da olmayan bayılma, morarma, sıçrama, çırpınma, anlamsız bakma, dalma vb. şekilde ortaya çıkan bir durum olarak tanımlanmaktadır (Akdağ ve ark., 2016; Espinosa, 2018; Johnson, 2018).

1964'te önerilen ilk modern sınıflandırma ve 1970'de popüler hale getirilmiş olan bu sınıflandırmanın uluslararası kullanımıyla, nöbet sınıflandırmaları yüzyıllar boyunca varlığını sürdürmüştür. 1970'den önce, nöbet tipleri ve epilepsi tipleri arasında ayrım yapılmamıştır. Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (International League Against Epilepsy-ILAE) tarafından nöbet ve epilepsi sınıflandırmaları daha önce 1981 (ILAE, 1981), 1985 (ILAE, 1985) ve 1989'da (ILAE, 1989) yapılmıştır (Falco-Walter ve ark., 2018).

Tablo 1. Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması (Falco-Walter ve ark., 2018).

Parsiyel (Fokal) Nöbetler	Jeneralize Nöbetler (Konvulsif veya Non-Konvulsif)	Sınıflandırılamayan Nöbetler
1. Basit parsiyel nöbetler	1. Absans nöbetler	Yeterli ve gerekli bilgi olmadığından diğer kategorilere dahil edilmezler
2. Kompleks parsiyel nöbetler	2. Miyoklonik nöbetler	
3. Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler	3. Klonik nöbetler	
	4. Tonik nöbetler	
	5. Tonik-klonik nöbetler	
	6. Atonik nöbetler	

2.1.7. Deney Hayvanlarında Konvülsiyon Oluşturma Yöntemleri

SSS'nin ani, aşırı ve paroksismal uyarılmasına konvülsiyon denir. Ateş, hipernatremi, üremi, serebral konfüzyon ve kanama, bakteriyel toksinler (tetanoz, salmonella gibi), hipoglisemi ve hipokalsemi gibi patolojik olaylar konvülsiyonlara neden olabilirler. Konvülsiyonların çoğu akut bir hastalığın belirtisi olarak belirip daha sonra tekrarlamadıklarından epilepsi tanımına girmezler. Ancak, ileride tekrarlayan kronik konvülsiyonlara (epilepsi) da dönüşebilirler (Fischer, 1989; Vaughan ve Delanty, 2002; Dobbs, 2009). Epileptik nöbet beyindeki bir grup nöronun ani, geçici veya kısa süreli, anormal deşarjı sonucu ortaya çıkar. Jeneralize nöbetler beynin her iki yarısını da içerirken, fokal nöbetler beynin bir yarısını kapsar. Jeneralize nöbetler bütün vücuda yayılırken, fokal nöbetler daha çok bir veya daha fazla ekstremiteye, vücudun bir tarafına yerleşebilir (Fischer, 1989; Vaughan ve Delanty, 2002; Dobbs, 2009; Löscher, 2011).

Fokal ve jeneralize konvülsif nöbetler, beyin korteksinin belirli bir bölgesinde veya genelinde eksitabilitenin artmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Normalde denge halinde olan glutamaterjik eksitatör ile GABA'erjik inhibitör etkilerden, eksitatör etkilerin artması veya inhibitör etkilerin azalması, membranın sodyum ve/veya kalsiyum iyonlarına geçirgenliğinin artmasına yol açarak eksitabiliteyi artırır.

Dopaminerjik, noradrenerjik, serotonerjik, kolinerjik ve opioiderjik sistemler de eksitabilitenin düzenlenmesine katkıda bulunur (Vaughan, 2002; Dobbs, 2009; Kayaalp, 2012).

Deney hayvanlarında geliştirilen test ve modeller konvülsiyonların oluşumunda rol oynayan temel mekanizmaların aydınlatılmasında önemli katkılar sağlar. Ayrıca bu modeller epilepsi tedavisinde kullanılacak yeni ilaçların araştırma ve geliştirilmesinde önemlidir. Deney hayvanı olarak çoğunlukla fare ve sıçanların kullanıldığı bu modeller insandaki epilepsi tipleri ile kısmi olarak benzemektedir. Elektriksel uyarım, sistemik ya da kimyasal konvülsan madde kullanımı ile çeşitli fiziksel ve genetik modeller gibi çok sayıda model geliştirilmiştir. Ancak oluşturulan bu modeller, ideal epilepsi modeline tam olarak benzememektedir (Fischer, 1989; Garcia ve ark., 2010; Rubio ve ark., 2010; Löscher, 2011; Raol ve Brooks-Kayal, 2012; Kandratavicius ve ark., 2014).

Tablo 2. Deneysel epilepsi hayvan modelleri (Kaneez, 2011).

Basit Parsiyel, Akut	Basit Parsiyel, Kronik	Kompleks Parsiyel	Jeneralize Tonik-Klonik	Jeneralize Absans	Status Epileptikus
Penisilin	Alüminyum hidroksit	Kainik asit	Genetik (genetik olarak epilepsiye yatkın sıçanlar gibi)	İntraventriküler opioidler	Lityum-pilokarpin
Bikukullin	Kobalt	Tetanoz toksini	Maksimal elektroşok	Sistemik penisilin	Kobalt-homosistein
Pikrotoksin	Çinko	Kindling	Kimyasal konvulsanlar (Sitemik penisilin, pentilentetrazol, metiyonin vs)	Talamik stimülasyon	
Striknin	Magnezyum				
	Demir				
			Metabolik dengesizlik (hipoksi, hipoglisemi, yüksek ateş vs)		

İdeal bir epilepsi modeli, spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olan, insan epilepisine benzeyen, modeldeki EEG'nin şekli ilgili epilepsi çeşidine benzeyen ve nöbetlerin frekansı ilaçların etkisini akut veya kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde

olandır. Fakat bu kriterlerin hepsini taşıyan herhangi bir model henüz bulunamamıştır (Akdoğan ve Yonguç Gökşin, 2011).

2.2. Skopolamin

Parasempatolitik etkili bir belladon alkaloidi olan skopolamin hidrobromür (hiyosin hidrobromür) Solanaceae familyasından Atropa belladonna (güzel avrat otu), Hyocyamus niger (ban otu) ve Datura stramonium (tatula, şeytan elması, boru çiçeği) bitkilerinde doğal olarak bulunur. Muskarinik asetilkolin reseptörlerinin seçici olmayan bir antagonisti olan skopolaminin, M_2 reseptörlerine seçiciliği diğer muskarinik reseptörlere göre daha azdır (Korczynska ve ark., 2018; Xu ve ark., 2018). Antimuskarinik bir ajan olan skopolamin, kalitatif olarak atropininkine benzer özelliklere sahiptir. Skopolaminin intestinal düz kas spazmı üzerinde atropinden daha güçlü etkileri vardır. Seçici olarak gastrointestinal sistem, safra yolu ve idrar yolu düz kas spazmını hafifletebilir ve peristalsisini engelleyebilir. Skopolamin kalp, göz bebeği ve tükürük bezi üzerinde daha az etkiye sahiptir, bu nedenle nadiren merkezi sinir uyarımını, göz bebeği dilatasyonunu, tükürük sekresyonunun inhibisyonunu ve atropinden farklı olan diğer ters reaksiyonları indükler. Skopolaminin oral emilimi kolay değildir. İntravenöz enjeksiyondan 2-4 dakika sonra, subkutan veya intramüsküler enjeksiyondan 8-10 dakika sonra ve oral uygulamadan 20-30 dakika sonra, yaklaşık 2-6 saat süren etkinlik sağlar. Skopolamin için en önemli uygulama şekli, 1981 yılında transdermal tedavi sistemleri olarak geliştirilen bir teknoloji olan transdermal uygulamadır. Transdermal şeklinde kullanıldığında iyi tolere edilir. Plazma proteinlerine geri dönüşümlü olarak bağlanır. Plasenta ve kan-beyin engelini geçer. Diğer antimuskariniklerden farklı olarak SSS'ye hızla geçer ve dağılım gösterir. Karaciğerde tamamına yakını metabolize edilir ve metabolitleri idrarla atılır. Göz bebeğinde büyüme, göz içi basıncının artması, ciltte kuruluk ve kızarma, ağız kuruluğu, mide-barsak kanalında tonus ve motilitenin azalması, işeme güçlüğü, taşikardi ve SSS depresyonu başlıca parasempatolitik etkileridir. Skopolamin idrar tutma zorluğunda yarar sağlar. Parkinson hastalarındaki tremor ve rijiditeyi mutad dozlarda güçlü bir şekilde azaltır. Taşıt tutmalarının önlenmesinde ve ameliyat sonrası bulantı ve kusmalarda kullanılmaktadır. Antikolinerjik ilaç maddelerinin meydana gelen yan etkileri parasempatik sinir sisteminin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır. Belirtileri

yavaşlamış kalp atış hızı, kuru ağız ve düşük terlemeyi içerir. Daha yüksek terapötik oral dozlarda artmış kalp atım hızı, solunum felci, ayrıca bronkodilatasyon ve midriyazis gözlenmiştir. Vücut ısısında artışla birlikte eşlik eden terleme de inhibe edilir. (Lochner ve Thompson, 2016; Xu ve ark., 2018; Kohnen-Johannsen ve Kayser, 2019).

2.3. MK-801

Yaygın olarak MK-801 olarak da adlandırılan Dizosilpin N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörünün nonkompetitif bir antagonistidir. NMDA reseptörleri, beyin boyunca bulunan reseptörlerin iyonotropik glutamat sınıfına aittir ve hipokampus ve serebral kortekste yüksek oranda eksprese edilir. NMDA reseptörlerinin sinaptik plastisiteye aracılık ettiği, hafıza ve öğrenmede önemli bir rol oynadığı ve mekansal öğrenmede rol aldığı bilinmektedir. MK-801 bir lipofilik bileşik olmasına rağmen, hayvan çalışmalarında deri altı (s.c.) yolundan intraperitoneal (i.p.) yoluyla daha sık uygulanır (Svalbe ve ark., 2019). Dizosilpinin (+) izomeri daha aktiftir (Yang ve ark., 2016). Başlangıçta yapılan araştırmalar ile MK-801'in güçlü bir antikonvülsan ve hayvan inme modellerinde nöroprotektif etkiye sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır. Daha sonra, güçlü bir NMDA reseptör kanalı bloke edici olduğu keşfedilmiştir. Ana metabolitleri, N-hidroksi türevi ve karbonda oksidasyon içeren 2- ve 8 hidroksil analoglarıdır.

MK-801, bir glutamat (Glu) reseptörü olan NMDA reseptörü-iyon kanalı kompleksi üzerindeki iki bölgeye bağlanır. Merkezi sinir sisteminde işlev gören en önemli eksitatör nörotransmitter glutamattır. MK-801'in reseptör blokajı voltaja bağlı bir şekilde gerçekleşir (Monaghan, 2007; Kovacic ve Somanathan, 2010).

2.4. Ghrelin

Ghrelin, 1999 yılında Japon bilim adamları Kojima ve arkadaşları tarafından rat midesinde keşfedilmiş bir hormon olup 28 amino asitten oluşmuş lipofilik bir peptiddir. Açlık hormonu olarak da bilinen GHR esas olarak mideden salgılanır. Hipotalamik arkuat çekirdeğinde de bulunur ve enerji dengesini düzenler. GHR ayrıca plasenta, böbrek, kalp ve tiroidde de sentezlenir. GHR'nin vücut sıvılarında ve dokularda aktif

ghrelin ve deaçile ghrelin olmak üzere iki farklı formda bulunduğu gösterilmiştir (Lv ve ark., 2018). Kan beyin bariyerini rahatlıkla geçen GHR vücut sıvılarının çoğunda tespit edilmiştir (Al Massadi ve ark., 2019).

GHR büyüme hormonu (GH), adrenokortikotropik hormon (ACTH), prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilemektedir. Arteriyel basıncı, ısı regülasyonunu ve yağ oksidasyonunu azaltıcı etkilere sahiptir (Al Massadi ve ark., 2019; Lyra ve ark., 2019). Ayrıca bazı çalışmalar grelin'in enflamasyonu sınırlayabildiği, metabolik ve metabolik olmayan enflamatuar koşullarda önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Pereira ve ark., 2017).

Kandaki GHR konsantrasyonu açlık süresince artar, yemekten sonra azalır. GHR gıda ve kilo alımını uyarır. GHR salınımı ile iştah açılır (Mani ve ark., 2019).

2.5. Oksidatif Stres

Substratların oksidasyonu, aerobik metabolizma sürecinde hücrelerde enerjinin verimli bir şekilde üretilmesinde önemli bir adım olan süreçte meydana gelir. Hücre içindeki oksidasyon/redüksiyon işlemleri arasında sabit bir durum dengesi vardır. Substrat oksidasyonu işlemi sırasında serbest radikaller (SR), özellikle bilinen toksisiteye sahip reaktif oksijen ajanlarını düşük seviyelerde üretmektedir. Çeşitli antioksidan mekanizmalar genellikle bu SR'lerin çoğalmasını önler. Oksidatif stres (OS) SR ile antioksidanlardan arasında bulunan dengenin SR'ler lehine bozulmasıyla meydana gelir (Kar ve Singh, 2019). Kimyasal ve biyolojik reaktivite açısından SR'lerin çok çeşitli olmasından dolayı bir dizi OS formu bulunmaktadır. Fizyolojik, patofizyolojik, nutrisyonel, postprandiyal oksidatif stres, fotooksidatif stres, hipoksik ile hiperoksik stres bunlar arasındadır (Sies, 2019). OS, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, infertilite ve yaşlanma gibi birçok olumsuz olayın meydana gelmesinden sorumludur (Nahar ve ark., 2017; Süleyman ve ark., 2018; Kar ve Singh, 2019).

2.5.1. Serbest Radikaller

SR'ler nükleik asitlerin, proteinlerin, karbonhidratların ve hücrenin lipidlerinin yapısını ve işleyişini kolayca değiştiren, yaralanma ve hücre ölümüne yol açan, eşleşmemiş elektronlu oldukça reaktif kısımlardır. SR'lerin düşük ila orta dereceli konsantrasyonlarda, birçok fizyolojik fonksiyonda görevleri mevcut olup, ayrıca enfeksiyonlara karşı bağışıklık sağlarlar. Hücresel solunum sırasında, iltihaplanma sırasında aktif lökositlerde, eksojen kimyasalların veya ilaçların metabolizması sırasında ve ayrıca demir ve bakır gibi geçiş metallerini içeren hücre içi reaksiyonda (örneğin fenton reaksiyonu) enzimatik olarak bir yan ürün olarak üretilirler (Kar ve Singh, 2019).

SR'leri oluşumunu eksojen ve endojen kaynaklar olmak üzere 2 gruba ayırabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak; mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum ve nukleus zarındaki elektron transport sistemi, inflamasyon, kanser, travma, yaşlılık, peroksizom enzimleri ve stres verilebilir. Eksojen kaynaklar ise sigara, alkol gibi bağımlılık yapan maddeler, hava kirliliği, radyasyon, infeksiyöz ajanlar, anestezik maddeler, pestisitler, temizlik ürünleri ve çeşitli ilaçlar örnek verilebilir (Özcan ve ark., 2015; Karabulut ve Gülay, 2016).

Birçok metabolik aktivite için gerekli olan en önemli SR oksijendir. SR'ler başlıca moleküler oksijenin normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkan hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiplerdir. Oksijenden oluşan başlıca serbest oksijen radikalleri (SOR); süperoksit radikali ($O2^{-}$), hidrojen peroksit radikali (H_2O_2), hidroksil radikali (HO^{-}) ve nitrik oksit radikali (NO)'dir (Altıner ve ark., 2018). SOR'lar lipit peroksidasyonu, protein hasarı, DNA parçalanması ve karbonhidratlarda zincir kırılması gibi durumlara yol açarak lipidler, nükleik asitler, proteinler ve karbonhidratların hücresel hasarlanmasında önemli rol oynarlar. SOR'ların zararlı etkilerinin yanısıra enfeksiyonlara karşı savunma, kanser hücrelerini öldürme, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi, platelet agregasyonu ve trombozis gibi yararlı etkileri de mevcuttur (Neha ve ark., 2019).

2.5.1.1. Malondialdehid (MDA)

SR'lerin en önemli olumsuz etkilerinin başında lipid peroksidasyonu gelmektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın, hücre membranlarının geçirgenliğini arttırdığı, hücre içi iyon dengesini bozduğu ve DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebildiği ve bundan dolayı mutajenik olduğu ayrıca hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojenik olduğu kanıtlanmıştır. MDA ölçümü OS tayininde günümüzde en yaygın kullanılan lipid peroksidasyon metodudur (Tsikas, 2017).

2.5.1.2. Protein Karbonilleri (PCO)

SOR'lar arjinin, lizin, treonin ve prolin gibi proteinlerdeki aminoasitlerin yan zincirlerini PCO oluşturmak üzere değiştirirler. PCO ölçümü OS tayininde proteinlerin oksidatif modifikasyonunda kullanılan bir metoddur (Ergezer ve ark,. 2016).

2.5.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, SOR'u stabilize edebilen bileşiklerdir. Bu moleküller SR'lerin temizleyicileridir ve kolayca okside olurlar (Nahar ve ark., 2017). Oksidan/antioksidan dengesinin oksidan lehine olmasıyla oluşan OS'nin olumsuz etkilerine karşı oluşan antioksidan maddeler, eksojen ve endojen kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır. Endojen antioksidanlar, enzim olan ve enzim olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), Glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz (CAT)'dır. Enzim olmayanlar ise; lipoik asit, ürik asit, bilirubin, transferrin ve metatonindir (Neha ve ark., 2019). Eksojen antioksidanlar karotenoidler, E, A ve C vitaminleri, doğal flavonoidler veya diğer farklı bileşiklerdir. Antioksidanların çeşitli kanser türleri, inflamatuar hastalıklar, katarakt tedavisi, hepatoprotektif, nefroprotektif, yaşlanma karşıtı, nöroprotektif ve çeşitli kardiyovasküler hastalıklardan korunma gibi çok çeşitli durumlarda kullanımı günümüzde oldukça yaygınlaşmıştır (Nahar ve ark., 2017; Neha ve ark., 2019; Witherow, 2019).

2.5.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOR'lara karşı ilk savunma hattını oluşturan SOD, süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot -}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidandır. Hidrojen peroksit daha sonra, CAT ya da GSH-Px ile ortamdan uzaklaştırılır. OS'ye karşı ilk savunma hattı olduğu için süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Ayrıca lipit peroksidasyonlarını inhibe eder. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanan dokularda fazla olup SOD'un ekstrasellüler aktivitesi ise çok düşüktür.

$$O_2^{-\cdot} + O_2^{-\cdot} + 2H+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Memelilerde 3 SOD izotipi tanımlanmıştır. Mitokondri ve nukleusta Cu-Zn-SOD, mitokondride Mn-SOD ve ekstra selüler SOD'dur. Bu üç enzim, SOD1, SOD2 ve SOD3 olarak bilinen üç farklı nükleer gen tarafından kodlanır (Wilkes ve ark., 2017; Turrens, 2018).

2.5.2.2. Katalaz (CAT)

Peroksizomlarda ve sitozolde bulunan yapısında hem bir protein olan CAT, H_2O_2'nin moleküler oksijen ve suya çevrilmesini sağlar (Bianchi ve ark,. 2019).

$$2\ H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O + O_2$$

2.5.2.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px 4 protein alt biriminden oluşup her bir alt birim bir selenyum atomu içerir. Hücrelerin sitoplazmasında bulunan GSH-Px, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu enzimdir (Karabulut ve Gülay, 2016).

$$H_2O_2 + 2\ GSH \xrightarrow{GPx} GSSG + 2\ H_2O$$

2.5.2.4. Glutatyon Redüktaz (GSH)

Flavin adenin dinükleotid içeren flavoprotein bir enzim olan glutatyon redüktaz, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH)'ın bir elektronunu okside glutatyonun

disülfid bağlarına aktararak yeniden GSH'ye dönüştürür. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gerekli bir enzimdir (Karabulut ve Gülay, 2016).

$$2GSSG + NADPH + H^{+} \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^{+}$$

2.5.2.5. Paraoksonaz (PON) ve Arilesteraz (ARE)

Paraoksonaz enzimi, karaciğerden sentezlenen parationun aktif metaboliti paraoksonu hidroliz etme yeteneğine sahip yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) ile ilişkili kalsiyuma bağımlı bir serum esteraz proteinidir. Paraoksonazlar (PON), PON1, PON2 ve PON3'ü içeren üç genli bir ailedir. PON1 ve PON3 öncelikle karaciğerde sentezlenir ve bir kısım yüksek yoğunluklu lipoproteinler ile ilişkili oldukları plazmada salgılanır. PON1 ve PON3'ün düşük seviyeleri, başta epitel olmak üzere birçok başka dokularda eksprese edilir. Buna karşılık PON2, beyin de dahil olmak üzere çoğu doku ve organda eksprese edilen bir hücre içi enzimdir (Costa ve ark., 2017). PON1, paraokson gibi organofosfat bileşiklerini detoksifiye etme kabiliyetinden dolayı paraoksonaz aktivitesine sahiptir. PON2 bakteriyel virülansı azalttığı gösterilen belirgin laktonaz aktivitesi uygular. Bu şekilde PON2 konukçu savunma yanıtında önemli bir rol oynayabilir. PON3 paraoksonaz ve esteraz aktivitelerine sahiptir, ancak bunlar PON1'e kıyasla önemli ölçüde azdır. PON'lar için spesifik fizyolojik substratlar açıkça tanımlanmamıştır, ancak muhtemelen araşidonik asit ve dokosaheksaenoik asitin oksidasyon ürünlerini içerirler (White ve Anantharamaiah, 2017). PON ve Arilesteraz (ARE) çoğunlukla iki ayrı enzim olarak algılansa da yapılan araştırmalarda insan serumunda tek gen ürünü olan olan enzimin hem ARE hem de PON aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Plazma PON1 ve ARE aktiviteleri patolojik şartlarda özellikle malign hastalıklarda ve kronik sistemik hastalıklarda azalmış olarak bulunmuştur. Ayrıca PON-1'in, SR'lerin neden olduğu lipit peroksidasyonuna karşı antioksidan etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Gökbulut ve ark., 2019).

PON'un polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARE enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. PON ve ARE'nin doğal substratları farklı olmasına karşın PON enzimi ARE'nin doğal substratı olan fenil asetatı hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. Ayrıca PON ve ARE'nin iyi bilinen ortak özellikleri

organofosfatları, aril ve alkil halojenurleri hidroliz etme yeteneğidir (Kılıç ve Yonar, 2017).

2.6. İnflamasyon

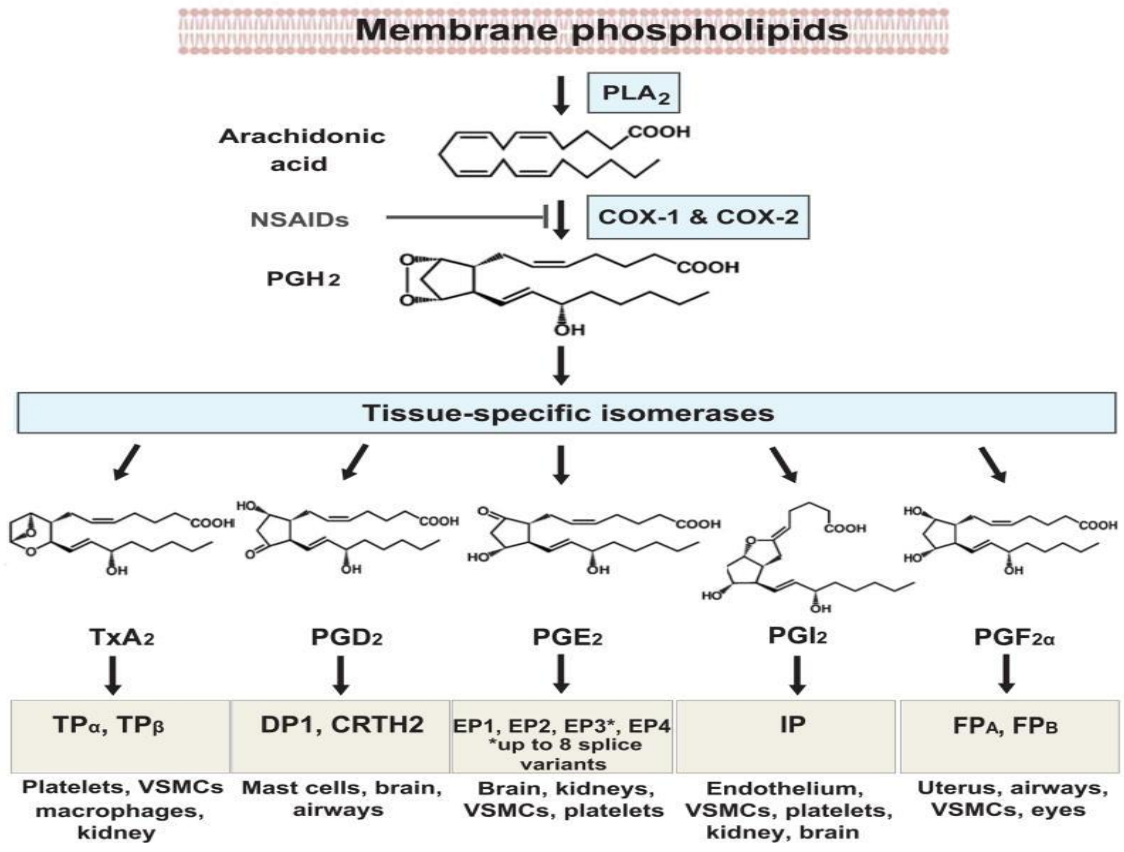
Enflamasyon, doğuştan gelen adaptif bağışıklık sisteminin hücrelerinin hareketini, göçünü ve aktivasyonunu içeren eski ve gelişmiş bir süreçtir. İmmünolojik açıdan inflamasyon patojenlere karşı savunmada, doku onarımında, rejenarasyonunda ve yeniden şekillenmesinde, özetle doku homeostazisinde önemi büyüktür (Greten ve Grivennikov, 2019). Kimyasal medyatörlerin bir arada veya sırayla etki etmesi ile inflamatuar yanıt oluşur. İnflamasyonun kimyasal medyatörleri arasında histamin, serotonin, kininler, prostaglandinler, lökotrienler, sitokinler ve nitrik oksit bulunur (Lordan ve ark., 2019).

2.6.1. Nitrik Oksit (NO)

NO suda çözünebilen, lipolifik yapıda olduğundan hücre membranlarından kolayca geçebilen iki atomlu bir gaz molekülüdür. NO yapısında eşlenmemiş elektron içerdiğinden SR olarak kabul edilir. Bu nedenle hızlı bir şekilde reaksiyona girer (Kim-Shapiro ve Gladwin, 2018). Nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-arjinin amino asidinden sentezlenen NO, hem nöronal haberci hem de beyinde nörotransmitterlerin modülatörü olarak işlev görür (Depace ve Colombo, 2019). NO'nun 3 tip izoformu olup bunlar; endotel hücrelerinde NO sentaz (eNOS), nöronlarda NO sentaz (nNOS) ve makrofaj indüklenebilir NO sentaz (iNOS)'dur (Kim-Shapiro ve Gladwin, 2018; Depace ve Colombo, 2019; Leiper, 2019). NO akut ve kronik inflamasyon ve sistemik inflamatuvar yanıtta rol oynar. NO'nun immün, kardiyovasküler ve sinir sisteminde önemli etkileri mevcuttur. İmmün sistemde; süperoksitlerin etkisiz hale getirilmesi, hücresel yaralanmaların önlenmesi, kardiyovasküler sistemde; vazodilatasyon, trombosit agregasyonu ve SSS'de; nöral koruma, nöral toksisite ve nörotransmisyon gibi etkiler gösterir (Depace ve Colombo, 2019; Göl ve ark., 2019).

2.6.2. Prostaglandinler (PG)

PG'ler aktif siklik yağ asidi türevleri olup, ilk olarak Ulf von Euler tarafından 1930'larda prostat sıvısından izole edilerek elde edilmiştir. Prostat bezinden elde edildiği için prostaglandin ismini almışlardır. Fosfolipidler fosfolipaz A2 enzimi etkisi ile araşidonik aside dönüşür. Araşidonik asit ise lipooksijenaz enzimi etkisi ile lökotrienlere, siklooksijenaz enzimi etkisi ile PG'lere dönüşür (Kayaalp, 2012; Akar ve Köse, 2016). PG'lerin bulunmasından sonra prostasiklinler, lipoksinler, tromboksanlar ve lökotrienler bulunmuştur. Bu maddeler araşidonik asit metabolitleri olarak eikozanoidler adı altında toplanmıştır. Eikozanoidler ("eikoza" kelimesi yunanca 20 demektir) 20 karbonlu yağ asitlerinden türeyen ve güçlü biyolojik etkileri olan endojen maddelerdir. PG'lerin inflamasyon, bronko-dilatasyon/konstrüksiyon, vazodilatör, trombosit agregasyonu, uterus fonksiyonu (oksitosik) gibi görevleri vardır (Ricciotti ve Fitzgerald, 2011; Kayaalp, 2012).



Şekil 1. Prostaglandinlerin Sentezi (Ricciotti ve Fitzgerald, 2011).

Prostaglandin E_2 (PGE_2), sırasıyla siklooksijenaz yolu boyunca araşidonik asitten sentezlenen PGH_2'den türetilir. PGE_2 vücutta üretilen ve en çok bulunan PG'lerden biridir. Epitel hücreleri, fibroblastlar ve makrofajlar gibi birçok hücre tipi PGE_2 üretir. PGE_2 vazoaktiviteye sahip olup bağışıklık fonksiyonlarını modüle eder, uyku-uyanıklık döngülerini düzenler ve birçok başka aktivite sergiler. İnflamasyonda, PGE_2 özellikle ilgi çekicidir çünkü klasik iltihap belirtilerine yol açan kızarıklık, şişme ve ağrı gibi tüm işlemlerde rol alır. Ayrıca PGE_2 nötrofiller, monositler ve doğal öldürücü hücreler gibi doğal immün hücreler üzerinde anti-enflamatuar etkiler uygulayabilir. Böylece PGE2, çeşitli iltihaplanma aşamalarını içeriğe bağlı bir şekilde modüle edebilir ve tüm süreci hem proinflamatuar hem de antiinflamatuar yönlerde koordine edebilir (Ricciotti ve Fitzgerald, 2011; Kayaalp, 2012).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkez Müdürlüğü'nden temin edilen 36 adet, 25-30 gr ağırlığında Balb/C cinsi beyaz erişkin erkek fareler kullanıldı.

3.2. Kullanılan Droglar ve Malzemeler

3.2.1. Droglar

- 1-Butanol — Riedel de Haen
- 2,4-dinitrofeneilhidrazin (DNPH) — Sigma
- 5, 5' dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) — Sigma
- Amonyum Sülfat — Sigma
- Asetik Asit — Merck
- Bakır Klorür — Sigma
- Bakır Sülfat Pentahidrat — Merck
- Bovine Serum Albumin (BSA) — Sigma
- Disodyum Hidrojen Fosfat — Merck
- Distile Su — Polifarma
- Etil Alkol (Etanol) — Merck
- Etil asetat — Merck
- Etilendiamintetraasetikasit (EDTA) — Merck
- Fenil asetat — Fluka
- Fenol — Merck
- Folin Ciocalteu's Fenol Reagent — Sigma
- Ghrelin ELISA Kiti — Lifespan Biosciences
- Glutatyon Redüktaz — Sigma
- Guanidin HCl — Sigma
- Hidrojen Peroksit — Merck
- Kalsiyum klorür — Merck
- Ketamin (Ketalar) — Pfizer

- Ksalazin (Rompun) Bayer
- Ksantin Oksidaz Sigma
- Ksantin Sigma
- Metafosforik asit Sigma
- MK-801 (Dizosilpin) Merck
- N-(1-Naftil) etilendiamin dihidroklorür (NEDD) Sigma
- Nitroblue Tetrazolium Klorür (NBT) Sigma
- Paraokson Fluka
- PGE_2 ELISA Kiti Lifespan Biosciences
- Piridin Riedel de Haen
- P-nitrofenol Fluka
- Potasyum Dihidrojen Fosfat Merck
- Potasyum Sodyum Tartarat Merck
- Redükte L-Glutatyon Sigma
- Redükte β-NADPH Sigma
- Skopolamin Hidrobromid Sigma
- Sodyum Azid Sigma
- Sodyum Dodesil Sülfat Sigma
- Sodyum Hidroksit Merck
- Sodyum Karbonat Merck
- Sodyum Klorür Merck
- Sülfanilamit Sigma
- Tetrametoksipropan Aldrich
- Tiobarbitürik Asit (TBA) Merck
- Trikloroasetik Asit (TCA) Merck
- Tris-HCl Sigma
- Vanadium klorür Merck

3.2.2. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler

- Buzdolabı (Regal, RBD 4602 NCF)
- Derin dondurucu (-80 °C) (Elcold)

- Derin Dondurucu (-20 °C) (Vestel)
- Soğutmalı Mikrosantrifuj (Sigma,2-16K)
- Mini santrifüj (Eppendorf)
- Homojenizatör (Arzum motor, el yapımı uç)
- Etüv (Binder)
- Su Banyosu (GFL-Wasserbad Water Bath)
- Spektrofotometre (Analytikjena-SPECORD 50)
- Hassas Terazi (Mettler Toledo)
- Vorteks (REAX)
- Distile Su Cihazı (Millipore)
- Mikropipet Seti (Gilson- Pipetman- P20-P100-P1000)
- pH Metre (Mettler Toledo)
- Çeker Ocak (Biolab)
- Ultrasonik Su Banyosu (Wisd)
- ELISA mikroplate okuyucu (VersaMax)
- Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (Wisd)
- Enjektör (1-2-10 ml) (Ayset)
- Non-Steril Eldiven (Beybi)
- Numune Kapları (Ayset)
- Bisturi (Ribbel)
- Laboratuvar Tüpleri (BD Vacutainer)

3.3. Hayvan Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışmada 36 adet, 25-30 gr ağırlığında Balb/C cinsi beyaz erişkin erkek fareler kullanıldı. Hayvanlar, 6 tanesi bir arada olmak üzere uygun büyüklükteki taze samanlı temiz kafeslerde, sıcaklığı 21-23ºC olan ve 12 saat aydınlık karanlık (07:00-19:00) ritminin uygulandığı, deney gününe kadar Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkez Müdürlüğü'nde standart laboratuvar koşullarında barındırıldı.

Hayvanların yemleri alındı ve 48 saat boyunca aç bırakıldılar ve hayvanların suya erişimleri *ad libitum* olarak sağlandı. Deney günü, skopolamin hidroklorid 3mg/kg ve 4ml/kg hacimde olacak şekilde serum fizyolojik (SF) içinde çözülerek hazırlandı.

MK-801 ise 0.17 mg/kg ve 4 ml/kg hacimde olacak şekilde distile su içinde çözülerek hazırlandı. Aç hayvanlar tartıldıktan sonra aşağıdaki şekilde deney gruplarına ayrıldı.

1.Grup (Aç-SF-Yem) (n=6):48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. SF enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyondan 20 dakika sonra yem verildi.

2.Grup (Aç-Skop-Yem) (n=6): 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. skopolamin enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyondan 20 dakika sonra yem verildi.

3.Grup (Aç-SF-MK-801-Yem)(n=6): 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. SF enjeksiyonu ve hemen ardından i.p. 0.17 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyonlardan 20 dakika sonra yem verildi.

4.Grup (Aç-SF-MK-801-Yem)(n=6): 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. SF enjeksiyonu ve hemen ardından i.p. 0.51 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyonlardan 20 dakika sonra yem verildi.

5.Grup (Aç-Skop-MK-801-Yem)(n=6): 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. 3 mg/kg skopolamin enjeksiyonu yapıldı ardından i.p. 0.17 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyonlardan 20 dakika sonra yem verildi.

6.Grup (Aç-Skop-MK-801-Yem)(n=6): 48 saat süresince aç bırakılan hayvanlara i.p. 3 mg/kg skopolamin enjeksiyonu yapıldı ardından i.p. 0.51 mg/kg MK-801 enjeksiyonu yapıldı ve hayvanlar izleme kafeslerine alındı. Enjeksiyonlardan 20 dakika sonra yem verildi.

Enjeksiyon sonrasında izleme kafeslerine alınan tüm gruplardaki hayvanlar 30 dakika boyunca konvulsiyon sıklığı ve konvulsiyon başlama süresi açısından izlendi.

Konvulsiyon evreleri 0-5 arasında skor verilerek değerlendirildi. Evre 1 ve üstü konvulsiyon yanıtı olarak kabul edildi. Değerlendirme:

(0) fark yok;

(1) donma ve çene hareketleri;

(2) ön ayaklarda klonus;

(3) şahlanma ile ön ayaklarda klonus;

(4) şahlanma ile ön ayaklarda klonus ve düşme;

(5) şahlanma ile jeneralize konvulsiyon, düşme ve sıçrama.

Deneylerde araştırmacıların uygulamalara kör olması sağlandı.

İzleme süresinin sonunda doku ghrelin, oksidatif stres ve inflamasyon düzeylerini belirlemek için hayvanlardan intrakardiyak kan alındı ve beyinleri çıkarılarak uygun koşullarda saklandı.

3.4. Çalışma Örneklerinin Hazırlanması

3.4.1. Doku Örnekleri

İntraperitoneal olarak uygulanan ketamin (50 g/kg i.p.) ve ksilazin (10 mg/kg/i.p.) anestezisi altındaki erkek farelerin beyin dokuları izole edilmiş ve dokular serum fizyolojik solüsyonundan geçirilerek temizlenmiştir ve çalışma gününe kadar dokular derin dondurucuda saklanmıştır.

3.4.2. Homojenizasyon

Yaş ağırlıkları 100 mg. olarak ayarlanan dokular, sıvı azot yardımıyla sertleştirilerek porselen havanda toz haline getirilmiştir. Cam tüpe aktarılan doku üzerine 1/10 (w/v) olacak şekilde fosfat tamponu eklendi. Cam tüplere aktarılan doku örnekler numaralandırılarak 3.000 rpm' de 10 dakika +4 santigrat derecede santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatantın protein, SOD, MDA, GSH-Px ve CAT düzeylerine bakılmıştır.

Homojenat Tamponu: 50 mM pH 7.8, 10 mM EDTA 1.7 g KH_2PO_4 ve 0.73 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözülür pH 7.8 yapılarak son hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanır.

3.5. Analiz Yöntemleri

Dokuların lipit peroksidasyonunu belirlemek için MDA düzeylerine, antioksidan düzeylerini belirlemek için ise GSH-Px, CAT ve SOD aktivitelerine bakıldı. Enzim aktivitelerinin U/ mg protein olarak belirtebilmek için ise tüm dokuların protein düzeyleri (Lowry) ölçüldü.

3.5.1. Protein Ölçümü (Lowry Metodu)

Deneyin Prensibi: Alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşmaktadır. Bu kompleks fosfomolibdatfosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteus-Phenol Reaktifi) redüklemekte ve koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

Kullanılan Reaktifler:

A Reaktifi: 0,1 N NaOH çözeltisi kullanılarak %2'lik Na_2CO_3 çözeltisi hazırlanır.

B_1 Reaktifi: %1'lik $CuSO_4.5H_2O$ çözeltisi hazırlanır.

B_2 Reaktifi: %2'lik Na-K-Tartarat çözeltisi hazırlanır.

B Reaktifi: B_1 ve B_2 eşit hacimde karıştırılır.

C Reaktifi: 50 mL B reaktifine 1mL A reaktifi eklendi. Reaktif taze hazırlanmalı ve bekletilmeden kullanılmalıdır.

D Reaktifi: 1 mL Folin-Ciocalteus-Phenol Reaktifi, 5 mL distile su ile karıştırılır.

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

Tablo 3. Deneyin yapılışı esnasında uygulanan çalışma standartları (µL**)**

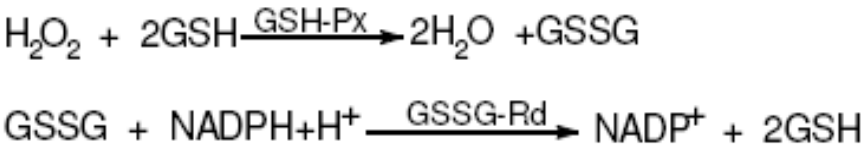
	Kör tüpü	**Numune tüpü**	**Standart**
Numune (µL)	-	300	-
Distile su (µL)	300	-	-
Standart (µL)	-	-	300
C reaktifi (µL)	3000	3000	3000
Karıştırılarak 15 dakika beklendi.			
D reaktifi(µL)	300	300	300

Tüpler vortekslenerek 20-30 dakika oda ısısında inkübe edildi. Spektrofotometrede 750 nm'de numunenin ve standardın absorbansı köre karşı okundu.

Her bir örnek için protein miktarı, BSA standart çözeltileri ile hazırlanan standart eğrisine göre ve dilüsyon faktörüyle çarpılarak hesaplandı. %10'luk doku homojenatlarında ve 10.000 g süpernatant fraksiyonlarında protein miktarı mg olarak bulundu (Lowry ve ark., 1951).

3.5.2. Glutatyon Peroksidaz Aktivitesi Ölçümü

Deneyin Prensibi: GSH-Px tarafından katalizlenen reaksiyonda GSH'nın H_2O_2 ile oksidasyonu sonucu oluşan GSSG'nin glutatyon redüktaz (GSSG-Rd) kataliziyle tekrar GSH'a dönüşmesi sırasında tüketilen NADPH konsantrasyonu üzerinden 340 nm'de oluşan absorbans azalmasının 4 dakika boyunca izlenmesi prensibine dayanır.



Kullanılan Reaktifler:

Fosfat tamponu: 0,05 M (pH 6,8) (5mM EDTA içerir)

Redükte L-Glutatyon çözeltisi: 0,15 M

NADPH çözeltisi: 7,2 mM

Glutatyon Redüktaz çözeltisi: 100 U/mg protein/mL

Sodyum Azid çözeltisi: 2 M

Hidrojen Peroksit çözeltisi: 30 mM

	Örnek (Doku Homojenizatı)
Fosfat Tamponu	2,65 mL
Redükte Glutatyon çöz.	0,1 mL
NADPH çözeltisi	0,1 mL
Glutatyon Redüktaz çözeltisi	0,01 mL
Sodyum Azid çözeltisi	0,01 mL
Numune	0,1 mL
Hidrojen Peroksit çözeltisi	0,1 mL

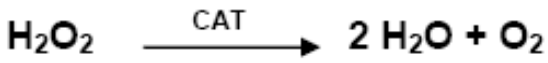
Hazırlanan çözelti 25 °C'de 2 dakika inkübe edildikten sonra 340 nm'deki absorbansı ölçüldü ve bu değere karşı spektrofotometre sıfırlandı. Bu çözelti üzerine 0,1

mL H_2O_2 çözeltisi eklenerek 2 dakika boyunca enzim aktivitesindeki düşüş gözlendi (77).

Her numune ve kontrol tüpü için, 2. ve 4. dakikalarda OD değerleri kullanılarak, ΔOD /dk değerleri hesaplandı. Daha sonra numune ΔOD /dk değerlerinden kontrol değerleri çıkarılarak net ΔOD /dk değerleri elde edildi. Doku GSH-Px aktivitesi, miligram protein başına (Ü/ mg protein) spesifik aktivite cinsinden verildi (Paglian ve Valentine, 1967).

3.5.3. Katalaz Enzim Aktivitesi Tayini

Katalaz aktivitesi tayini Aebi tarafından tarif edilen yönteme göre yapıldı. Yöntemin esası, H_2O_2 substratının katalaz ile enzimatik yıkılmasının 240 nm de izlenmesidir.



Kullanılan Reaktifler:

Potasyum Dihidrojen Fosfat Çözeltisi (A): 0,681 g KH_2PO_4 bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

Disodyum Hidrojen Fosfat Çözeltisi (B): 2,77 g $Na_2HPO_4.12H_2O$ bidistile suda çözülerek 155 mL'ye tamamlandı.

Fosfat Tamponu (50 mM pH 7,0): A/B oranı 1/1,55 olacak şekilde karıştırılarak hazırlandı ve pH 7'ye ayarlandı.

Hidrojen Peroksid Çözeltisi (30 mM): 34 µl %30 luk H_2O_2 10 mL'ye fosfat tamponu ile tamamlandı.

Deneyin Yapılışı: Kuvarz spektrofotometre küvetlerine 10 µl 10.000 g süpernatant fraksiyonu ve üzerlerine 1990 µl fosfat tamponu ilave edildi. Örnek küvetine 1 mL 30 mM H_2O_2 ilave edildi ve hemen karıştırılarak örneğin

absorbansındaki azalma köre karşı 1 dakika boyunca 240 nm'de izlendi. Spesifik aktivitesi ünite/mg protein cinsinden hesaplandı (Aebi, 1984).

3.5.4. Süperoksid Dismutaz Enzim Aktivitesi Tayini

Deneyin Prensibi: Oksidatif yolla enerji üretimi sırasında oluşan endojen ve eksojen kaynaklı toksik süperoksit radikellerinin suya ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandıran SOD enzim aktivitesinin ölçüm prensibi, ksantin varlığında ksantin oksidazın açığa çıkardığı süperoksit radikallerinin NBT ile 560 nm'de absorblanan rengin ölçülmesine dayanır.

Kullanılan Reaktifler:

Sodyum Hidroksid Çözeltisi (0,1 N): 0,4 g NaOH bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

Stok Ksantin Çözeltisi (3 mM): 4,6 mg ksantin tartılıp, 1 mL 0,1 N NaOH çözeltisinde hafif ısı uygulaması ile çözülerek bidistile su ile 10 mL'ye tamamlandı. Çözelti +4 °C'de bir hafta dayanıklıdır.

Ksantin Çözeltisi (0,3 mM): Stok ksantin çözeltisinden 1 mL alınarak bidistile su ile 10 mL'ye tamamlandı. Her deney günü taze olarak hazırlandı.

Etilendiamintetraasetik Asid Çözeltisi (0,6 mM): 22,32 mg $Na_2EDTA.\ 2H_2O$ bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

Sodyum Karbonat Çözeltisi (400 mM): 4,24 g Na_2CO_3 bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

BSA Çözeltisi (1 g/L): 10 mg BSA bidistile suda çözülerek 10 mL'ye tamamlandı.

Nitroblue Tetrazolium Klorür (NBT) Çözeltisi (0,15 mM): 1,226 mg NBT bidistile suda çözülerek 10 mL ye tamamlandı. Her deney günü taze olarak hazırlandı.

SOD Çalışma Reaktifi: 10 mL 0,3 mM ksantin, 5 mL 0,6 mM Na_2EDTA, 3 mL 400 mM Na_2CO_3, 1,5 mL 1 g/L BSA, 5 mL 0,15 mM NBT karıştırılarak her deney günü taze olarak hazırlandı.

Amonyum Sülfat Çözeltisi (2 M): 26,428 g $(NH_4)_2SO_4$ bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

Ksantin Oksidaz Çözeltisi (167 U/L): 2 mg ksantin oksidaz soğutulmuş $(NH_4)2SO_4$ çözeltisinde çözülerek 1 mL'ye tamamlandı.

Bakır Klorür Çözeltisi (0,8 mM): 13,64 mg $CuCl_2.2H_2O$ bidistile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı: 2,85 mL SOD reaktifi örnek tüpüne ve kör tüpüne aktarıldı. Örnek tüpüne 100 µl süpernatant ilave edildi ve her iki tüpe de 50 µl ksantin oksidaz eklendi. Tüpler 25 ^oC'de 20 dakika inkübe edildikten sonra tüplere 100 µl $CuCl_2$ çözeltisi eklendi. En son aşama olarak da kör tüpüne 100 µl süpernatant eklenerek karıştırıldı. Kör tüpünün ve örnek tüpünün 560 nm'de absorbansları ayrı ayrı ölçülüp SOD aktivitesi tespit edildi. Spesifik aktivite U/mg protein cinsinden ifade edildi (Sun ve ark., 1988).

3.5.5. Malondialdehit Ölçümü

Lipit peroksidasyon ürünlerinden en stabili olan MDA'nın tiobarbütirik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe kırmızı rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan Reaktifler:

Stok tetrametoksipropan çözeltisi: 0,92 gr tetrametoksipropan 1 mL'de çözülür.

Günlük tetrametoksipropan çözeltisi: 10 mL'lik stok çözelti 100 mL'ye distile su ile tamamlanır. Çalışma sırasında günlük çözelti tekrar 1/10 oranında seyreltilir.

SDS çözeltisi: 8,1 gr SDS tartılıp 100 mL'ye distile su ile tamamlanır ve çözülür.

Asetik Asit çözeltisi: 20 mL asetik asit distile su ile 100 mL'ye tamamlanır ve pH'sı 3,5' e ayarlanır.

TBA çözeltisi: 0,8 gr TBA tartılıp 100 mL'ye ditile su ile tamamlanır ve ısıtılarak çözülür.

N-bütanol-piridin çözeltisi (15:1): Stok piridinin 1 mL'si 15 mL n-bütanol ile karıştırılır.

Deneyin Yapılışı:

	Kör	**Standart**	**Örnek**
Standart (1/10 dilüe) (µL)	-	50	-
Örnek (µL)	-	-	50
SDS çöz. (µL)	100	100	100
Asetik Asit çöz. (µL)	750	750	750
TBA çöz. (µL)	750	750	750
Distile su (µL)	400	350	350

Tüpler 95 ºC'de 30 dakika süre ile inkübe edilir. Musluk suyunda soğutulur. 500 µL distile su eklenir. 2,5 mL n-bütanol-piridin karışımı eklenip tüpün kapağı kapatılarak karışımlar beyazlaşıncaya kadar vortekslenir. 4000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenir. Süpernatant fazdan 1 mL alınıp 532 nm'de köre karşı spektrofotometrik olarak ölçülür (Ohkawa ve ark., 1979).

3.5.6. Protein Karbonil Grup Tayini

Deneyin Prensibi: Levine ve arkadaşları tarafından geliştirilen bir metot olup proteinlerin oksidasyonu sonucu oluşan karbonil gurupları ile 2,4-dinitrofenilhidrazinin reaksiyona girmesi ile oluşan hydrozone bileşiklerinin renginin spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanan bir yöntemdir.

Reaktifler

- DNPH çözeltisi: 10 mM 2,4-dinitrofeneilhidrazin 2 M'lık HCl içinde çözülerek hazırlanır.
- % 10 TCA çözeltisi: 10 gr. TCA distile su ile 100 ml.'ye tamamlanarak hazırlanır.
- Guanidin HCl çözeltisi: 6 M guanidin HCl, 20 mM potasyum fosfat tamponu (pH:2,3) içinde çözülerek hazırlanır.
- Etanol:Etil asetat çözeltisi: 1:1 oranında etanol ve etil asetat karıştırılarak hazırlanır.

Yöntemin uygulanışı

15 µl plazma, 0,5 ml DNPH çözeltisi ile karıştırılarak oda ısısında 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra üzerine 0,5 ml TCA çözeltisi eklenerek vortekslenmiş ve 15000 rpm'de 3 dk. santrifüj edilmiştir. Süpernatan atılarak pelet 2 kez 1:1 oranında karıştırılmış etanol:etil asetat ile yıkanmıştır. Kalan pelet üzerine 0,6 ml Guanidin HCl çözeltisi ilave edilip 15 dk. 37 ºC'de inkübasyona bırakılarak peletin çözülmesi sağlanmış ve spektrofotometrede 365 nm'de absorbansları okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri, absorbsiyon katsayısı (εmax=22000/M/cm) ile çarpılarak sonuçları nmol/mg protein şeklinde hesaplanmıştır (Levine ve ark., 1990).

3.5.7. Paraoksonaz Aktivitesinin Ölçümü

PON enziminin paraoksonaz aktivitesi ölçümünde paraokson substrat olarak kullanılmıştır. PON enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalizlemektedir. Reaksiyon sonucunda oluşan *p*-nitrofenol 405 nm de görünür bölgede absorbans vermektedir. Bu ürünün absorbsiyonu ölçülerek enzimin aktivitesine bakılmıştır.

Kullanılan Reaktifler:

Tris-HCl Tamponu (pH:8, 20 mM)

$CaCl_2$ (1 mM)

Paraokson (1 mM)

p-nitrofenol (0,1 mM)

Paraokson Standart Grafiği:

0,1 mM *p*-nitrofenolden 0.5-50 µM final konsantrasyonu verecek şekilde hazırlanan standart çözeltilerin optik dansiteleri okunarak grafik elde edilmiş ve grafiğin eğimi paraoksonaz aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılmıştır.

Toplam 1 ml reaksiyon karışımında 20 mM tris-HCl (pH:8), 1 mM CaCl2 ve 1 mM paraokson varlığında 10 µl suparnatan örneğinin aktivitesi ölçülmüştür. İlk ölçüm 10. dk' da, ikinci ölçüm 25. dk' da yapılmıştır. İlk ölçüm hesaplamalarda kör olarak kullanılmıştır. Sonuçlar bir dakikada oluşan ürün miktarı olarak hesaplanmıştır (Eckerson, 1983).

Enzim Aktivitesinin Hesaplanması:

Enzim Aktivitesi = (OD2 – OD1) / 0.0103 x 100 / 15 nmol ürün.dk-1.ml-1 serum (mIU/ml)

OD2 : 25. dakika sonunda optik dansite

OD1 : 10. dakika sonunda optik dansite

0.0103 : Standart eğrisinin eğimi (OD / Konsantrasyon)

100 : Seyreltme faktörü 1ml serum için

15 : 1 dakikalık aktiviteyi elde etme

3.5.8. Aril Esteraz Aktivitesinin Ölçümü

Aril esteraz aktivitesinin ölçümü için fenil asetat substrat olarak kullanılmıştır. Deneyin prensibi aril esterazın fenil asetatı fenol ve asetik aside parçalamasıyla oluşan fenolün 270 nm de absorbansının ölçülmesine dayanmaktadır.

Kullanılan Reaktifler:

Tris-HCl Tamponu (pH:8, 20 mM)

$CaCl_2$ (1 mM)

Fenil asetat (1 mM)

Fenol (0,1 mM)

Aril esteraz Standart Grafiği:

Aril esteraz aktivitesi için kalibrasyon eğrisi 1 mM fenol stoğundan 3-900 µM son konsantrasyon olacak şekilde 10 değişik konsantrasyonda hazırlanan standart çözeltiler kullanılmıştır. Elde edilen optik dansitelerin konsantrasyona göre grafiği çizilerek grafiğin eğimi bulunmuş ve enzim aktivitesini hesaplamak için kullanılmıştır. Reaksiyon toplam 3 ml hacimde 20 mM Tris-HCl (pH:8), 1 mM $CaCl_2$ ve 1 mM fenil asetat varlığında gerçekleşmiştir. 10 µl suparnatan reaksiyon tüpüne eklendikten 15 saniye sonra 1. optik dansite ölçümü, 75. saniyede ikinci okuma yapılmıştır. Birinci optik dansite hesaplamalarda kör olarak kullanılmıştır. Okumalar quartz küvetlerde yapılmıştır (Eckerson, 1983).

Aril Esteraz Aktivitesinin Hesaplanması:

Enzim Aktivitesi = (OD2 – OD1) / 0.0016 x 300 / 1000

μmol ürün . dk-1 .ml-1 serum (IU/ml)

OD2 : 1dk15 saniye sonunda optik dansite

OD1 : 15 saniye sonunda optik dansite

0.0016 : Standart eğrisinin eğimi (OD / Konsantrasyon)

300 : Seyreltme faktörü 1ml serum için

1000 : 1 ml deki ürün miktarı μmol olarak

3.5.9. Glutatyon Tayini

GSH analizi: Beutler ve ark.'nın bildirdiği yönteme göre yapılmıştır. Bu yöntemde heparinli kanın distile su ile hazırlanan hemolizatında, -SH taşımayan tüm proteinler çöktürülmektedir. Elde edilen berrak sıvıda, -SH gruplarının DTNB ile oluşturduğu sarı renkli kompleks, 412 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçülmektedir.

Eritrosit GSH konsantrasyonu, Beutler'in klasik DTNB metodu doğrultusunda 5'5'-ditionitrobenzoik asit ile renk oluşturularak ölçüldü. Analizlerde Shimadzu UV 1601 spektrofotometre kullanıldı.

Çözeltiler:

1) Çöktürücü (3 hafta dayanıklı)

1.67 g Metafosforik asit + 0.2 g EDTA + 30 g NaCl 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

2) Fosfat Çözeltisi (süresiz dayanıklı)

26.7 g Disodyum fosfat (Na_2HPO_4) 500 ml'ye distile suyla tamamlanır.

3) DTNB (Elman's) (13 hafta dayanıklı)

40 mg DTNB %1 Sodyum Sitrat çözeltisi ile 100 ml'ye tamamlanır.

4) GSH Standardı (taze hazırlanır)

40 mg GSH 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

Yapılışı:

1) Kör: 2 ml distile su + 3 ml çöktürücü

2) Standart: 0.2 ml GSH Standardı + 1.8 ml distile su + 3 ml.çöktürücü iyice karıştırılır, 5 dk beklenir. Daha sonra adi süzgeç kağıdından süzülür ve 1 ml süpernatant alınarak başka bir tüpe konur. Bu tüpe 4 ml fosfat çözeltisi ve 0.5 ml DTNB ayıracı katılır ve iyice karıştırıldıktan sonra distile suya karşı 412 nm dalga boyunda 10 dk içinde okunur.

3) Numune 0.2 ml EDTA'lı tam kan alınır. 1.8 ml distile su katılır ve karıştırılır 3 ml çöktürücü katılır, karıştırılır ve 5 dk beklenir. Bundan sonraki işlemler standarttaki gibidir (Beutler, 1963).

HESAPLAMA:

$$\text{GSH düzeyi (\% mg) = mg/dl kan} = \frac{\text{Num. Absorbansı x 40 mg}}{\text{St. Absorbansı}}$$

3.5.10. Nitrik Oksit Ölçümü

Nitrik oksit (azot monoksit), yarı ömrü çok kısa olan bir madde olup oksidasyon ile stabil metabolitleri olan nitrat ve nitrite dönüşür. Bu mekanizma, NO seviyesinin dolaylı olarak ölçülmesine imkan sağlar ve genellikle bu metabolitlerin tespiti ile NO

düzeyi değerlendirilir. Bu bağlamda nitrik oksit miktarı Miranda ve ark.'nın "Vanadium-3-klorür-Gries Reaksiyonu" yöntemi ile belirlenmiştir.

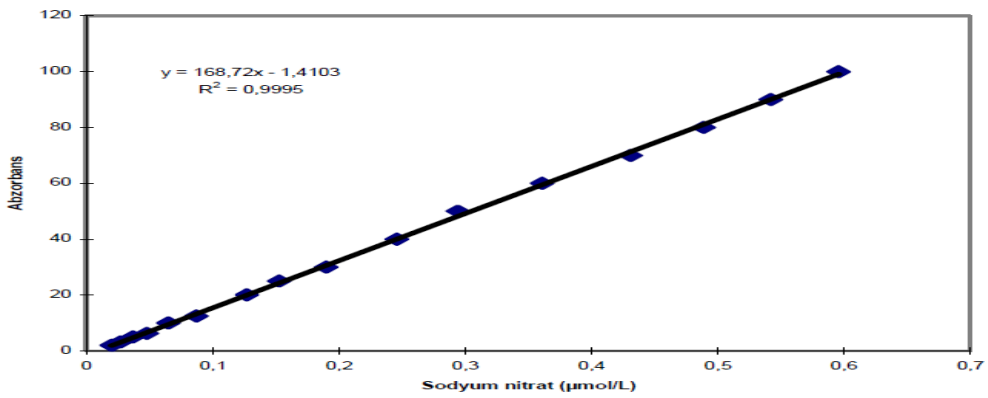
Deneyin Prensibi: Ölçüm, Vanadium klorür'ün, 37°C'lik ortamda nitratı nitrite dönüştürmesi ve Gries Reaksiyonu olarak tanımlanan, nitritin asidik ortamda primer bir aromatik amin olan sülfanilamit ile diazotizasyonu ve N-(1-naphthyl) ethylenediamin (NEDD) ile renkli bir azo türevi oluşturması esasına dayanır.

Reaktifler

- Vanadium klorür (VCl_3) çözeltisi: 50 ml % 2'lik Hidroklorik asitte, 400 mg Vanadium klorür çözdürülmesiyle hazırlanır.
- Sülfanilamit çözeltisi: 2 g Sülfanilamitin, % 2'lik Hidroklorik asit ile 100 ml'ye tamamlanması ile hazırlanır.
- NEDD çözeltisi: Distile su ile hazırlanmış % 0.1'lik NEDD çözeltisidir.

Yöntemin uygulanışı

Doku homojenizatından alınan 100 µl örnek üzerine, 100 µl Vanadium klorür çözeltisinden eklenmiş, bunun üzerine seri halde 50 µl sülfanilamit ve 50 µl NEDD çözeltileri ilave edilmiştir. Örnekler, 37°C'de 30 dk inkübe edildikten sonra 550 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Sonuçlar, daha önce değişik konsantrasyonlardaki sodyum nitratın absorbans değerlerine göre hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisi kullanılarak değerlendirilmiştir (Miranda ve ark., 2001).



3.5.11. PGE_2 Seviyesi Ölçümü:

Hayvanlardan deney sonunda intrakardiyak ponksiyon yöntemi ile toplanan kan örnekleri, heparinli tüplere alınarak 1500 rpm'de 15 dk. santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Toplanan serum örnekleri -80 °C'de muhafaza edildi ve bu örneklerden daha sonra ELISA yöntemi ile PGE_2 tayini yapıldı.

ELISA Prosedürü:

Reaktiflerin hazırlanması

- PGE2 standardı: 50.000 pg/ml PGE_2 standart solüsyonu oda ısısına getirildi. 1'den 7'ye kadar numaralandırılmış yedi cam tüp hazırlandı. 1. tübe 1 ml, 2-7. tüplere de 500 µl standart dilüent konuldu (deney tamponu veya doku kültürü medyumu). 1. tüpten 50 µl dilüent alındı ve yerine 50 µl 50.000 pg/ml'lik PGE_2 standart solüsyonundan eklendi. Tüp vortekslendi ve 1. tüpten 500 µl alınarak 2. tübe eklendi ve vortekslendi. 2. tüpten 500 µl alınarak 3. tübe eklendi ve vorteklendi ve bu işlem 7. tübe gelene kadar tekrarlandı.

- PGE_2 konjugatı: Konjugat -20 °C'den oda ısısına getirildi.

- Yıkama solüsyonu: Deneye başlamadan önce 5 ml konsantre yıkama solüsyonu, 95 ml distile su ile sulandırıldı ve oda ısısında muhafaza edildi.

Deney prosedürü

1. Deney düzeni tablosu hazırlandı ve deney kağıdına işaretlendi.

2. NSB ve Bo kuyucuklarına 100 µl standart dilüent koyuldu (deney tamponu veya doku kültürü medyumu) .

3. Standart 1-7 işaretlenen kuyucuklara koyuldu.

4. Her bir serum örneğinden 100 µl işaretlenen kuyucuklara koyuldu.

5. NSB kuyucuğuna 50 µl deney tamponu koyuldu.

6. Total aktivite (TA) ve boş kuyucuklar hariç diğer bütün kuyucuklara 50 µl konjugat koyuldu.

7. TA, NSB ve boş kuyucuklar hariç diğer bütün kuyucuklara antikor eklendi.

8. Kuyucukların üzeri yapışkan koruyucu ile kaplandı ve 2 saat çalkalayıcıda ~500 rpm'de inkübe edildi.

9. Kuyucuklar boşaltıldıktan sonra yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı.

10.Son yıkamadan sonra kuyucukların içindeki bütün yıkama solüsyonu aspire edildi ve hiç solüsyon kalmadığından emin olmak için temiz bir kurutma kağıdının üzerine ters çevrildi.

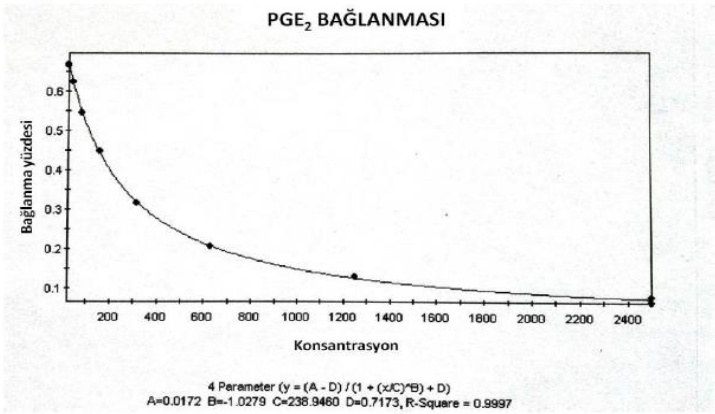
11.TA kuyucuğuna 5 µl konjugat koyuldu.

12. Her kuyucuğa pNpp susbstratı koyulduktan sonra oda ısısında 45 dk. bekletildi.

13.Her kuyucuğa 50 µl reaksiyon durdurma solüsyonu eklendi ve kuyucuklar boşaltıldı.

14.Boş kuyucuklar 405 optik dansitede okutuldu.

Standart eğri:



3.5.12. Plazma ve Doku Ghrelin Düzeyinin Belirlenmesi

Ketamin anestezisinden sonra farelerden intrakardiyak yolla enjektöre alınan kan hızla EDTA'lı tüplere konuldu ve soğutmalı santrifüj ile kandan plazma ayrıldı. Buz üzerinde çalışılarak beyin kafatasından çıkarıldı ve beyincikten ayrılarak kriyotüplere alındı. Toplanan plazma ve doku örnekleri çalışma gününe kadar saklanmak üzere hızla -80ºC'ye kaldırıldı. Çalışma günü beyin dokuları -80ºC'den alındı ve buz içerisinde tutularak homojenize edildi. Homojenizasyon aşamasında tartılan doku hazırlanan homojenizasyon solüsyonuna koyuldu ve soğuk ortamda parçalandı. Buzda vortekslendi ve tam homojenizasyon için parçalama işlemine devam edildi. Tam bir homojenat elde edildikten sonra 20 dakika, 15.000 rpmde santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst sıvı (süpernatant) çalışma yapmak için alındı. Homojenizasyon solüsyonu hazırlanırken, her gram doku için 1 ml PBS içinde proteaz inhibitörü olarak 4 µl aprotinin kullanıldı. Plazmadan ve homojenizasyon aşamasından sonra süpernatant kısımları alınan örneklerden Phoenix fare "Ghrelin EIA Kit" kullanılarak, kit prosedürüne uygun şekilde plazma ve doku ghrelin düzeyleri belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Konvulsiyonlar

Deney süresince hayvanlarda oluşan ağırlık değişimleri, konvulsiyonların evreleri ve oluşan konvulsiyonların başlama süreleri aşağıda gösterilmiştir.

4.1.1. Ağırlık Değişimleri

Kırk sekiz saat açlık sonrası hayvanların vücut ağırlığı başlangıç ağırlığının ortalama %84-89'una düştü. Ağırlık kaybı önceki çalışmalarda elde edilen bulgular ile uyum gösterdi.

4.1.2. Konvülsiyon Evreleri

Tablo 4'de konvulsiyon evreleri ve her gruptaki konvülsiyon geçiren hayvan sayısı görülmektedir.

Tablo 4. Konvülsiyon geçiren hayvan sayıları ve evreleri.

Gruplar (n)	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5
Aç-SF-Yem (6)	0	0	0	0	0	0
Aç-Skop-Yem (6)	0	0	0	4	1	1
Aç-SF-MK-801(0,17 mg)-Yem (6)	0	0	0	0	0	0
Aç-SF-MK-801 (0,51 mg)-Yem (6)	0	0	0	0	0	0
Aç-Skop-MK-801-Yem (6)	0	6	0	0	0	0
Aç-Skop-MK-801-Yem (6)	1	5	0	0	0	0

(n) hayvan sayısı

4.1.3. Konvülsiyonların Başlama Süresi ve Ölüm Oranları

Tüm gruplardaki hayvanların konvülsiyon başlama süreleri ve ölüm oranları Tablo 5'de gösterilmiştir. Grup 1, Grup 3 ve Grup 4'de konvülsiyon görülmemiştir. Grup 5'deki hayvanlarda konvülsiyon başlama süresi Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 6'nın ise konvülsiyon başlama süresi Grup 2'ye kıyasla düşük bulunmuş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı

bulunamamıştır (p>0.05). Tüm gruplardaki hayvanlarda konvülsiyonlar sırasında ölüm gözlenmemiştir.

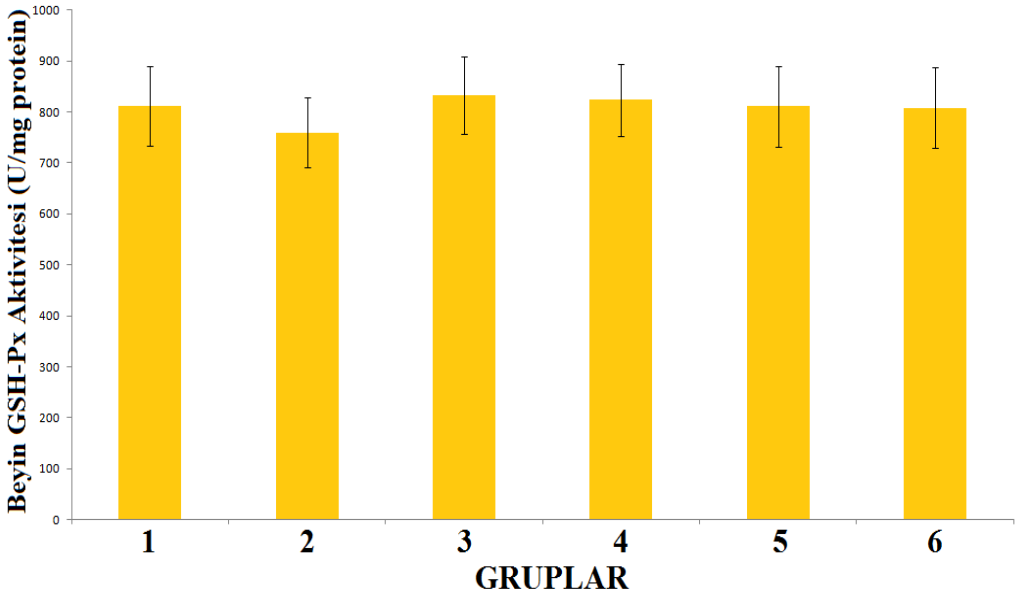
Tablo 5. Konvülsiyonların başlama süresi (sn) ve ölüm oranı (%) (*n*=6)

Gruplar	Konvülsiyonların Çıkma Süresi (sn)	Ölüm Görülme Oranı (%)
Grup 1	0	0
Grup 2	227.17±76.05	0
Grup 3	0	0
Grup 4	0	0
Grup 5	442.33±165.74*	0
Grup 6	197±70.83	0

*Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (p<0.05)

4.2. Beyin Dokusu GSH-Px Aktivitesi Sonuçları

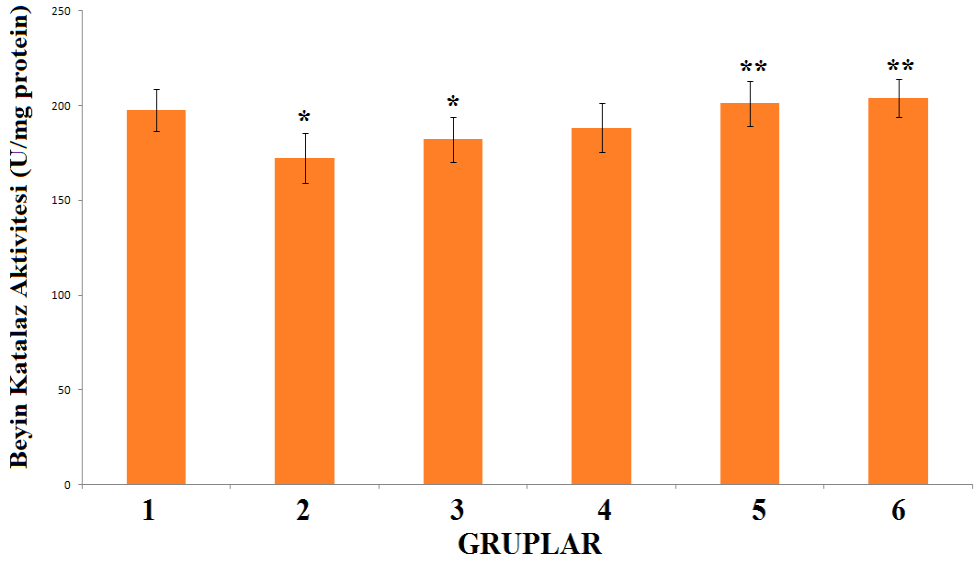
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki GSH-Px aktiviteleri sırasıyla 804.4±41.34 U/mg protein, 760.51±38.66 U/mg protein, 822.6±44.74 U/mg protein, 818.1±40.05 U/mg protein, 809.6±41.97 U/mg protein ve 811.32±41.03 U/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların GSH-Px aktiviteleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Grup 2'ün GSH-Px aktivitesi, Grup 1'e kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p>0.05). Diğer gruplar arasında da herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır (p>0.05).



Şekil 2. Beyin GSH-Px aktivitesi (U/mg protein) (*n*=6)

4.3. Beyin Dokusu Katalaz Aktivitesi Sonuçları

Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki katalaz aktiviteleri sırasıyla 197.64±11.13 U/mg protein, 172.30±13.12 U/mg protein, 182.14±12.25 U/mg protein, 188.03±0.91 U/mg protein, 201.24±12.37 U/mg protein ve 203.96±10.57 U/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların katalaz aktiviteleri Şekil 3'de gösterilmiştir. Grup 2 ve Grup 3'ün katalaz aktivitesi, Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 5 ve Grup 6'nın ise katalaz aktivitesi, Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).



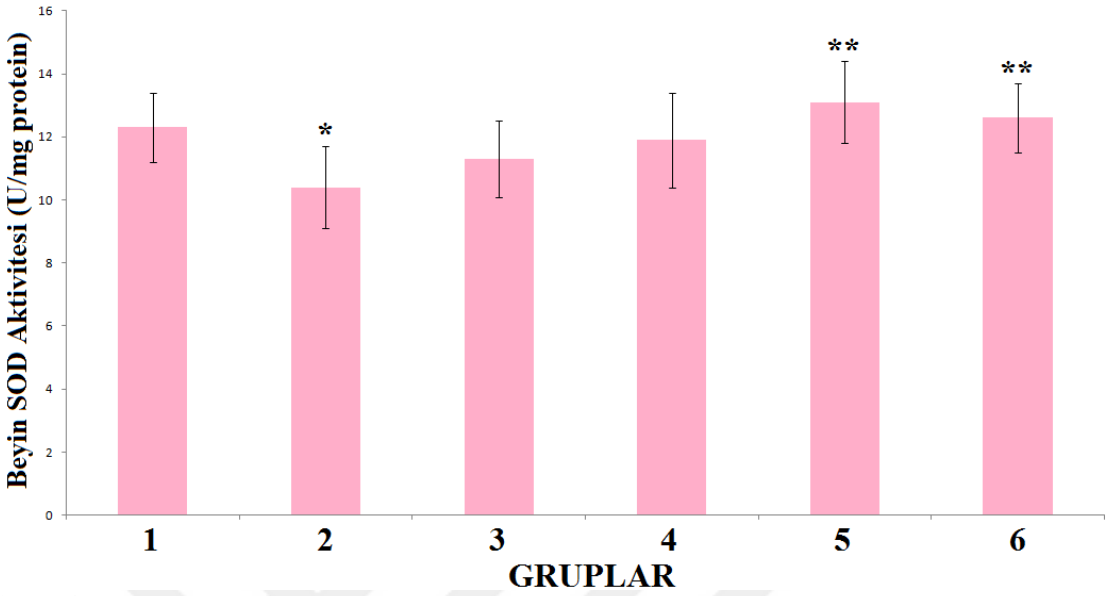
Şekil 3. Beyin CAT aktivitesi (U/mg protein) (*n*=6)

*Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$)
*Grup 2'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$)

4.4. Beyin Dokusu SOD Aktivitesi Sonuçları

Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki SOD aktiviteleri sırasıyla 12.32±1.18 U/mg protein, 10.41±1.29 U/mg protein, 11.28±1.23 U/mg protein, 11.96±1.55 U/mg protein, 13.17±1.32 U/mg protein ve 12.63±1.12 U/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların SOD aktiviteleri Şekil 4'de gösterilmiştir. Grup 2'nin SOD aktivitesi, Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 5 ve Grup 6'nın SOD aktivitesi, Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak

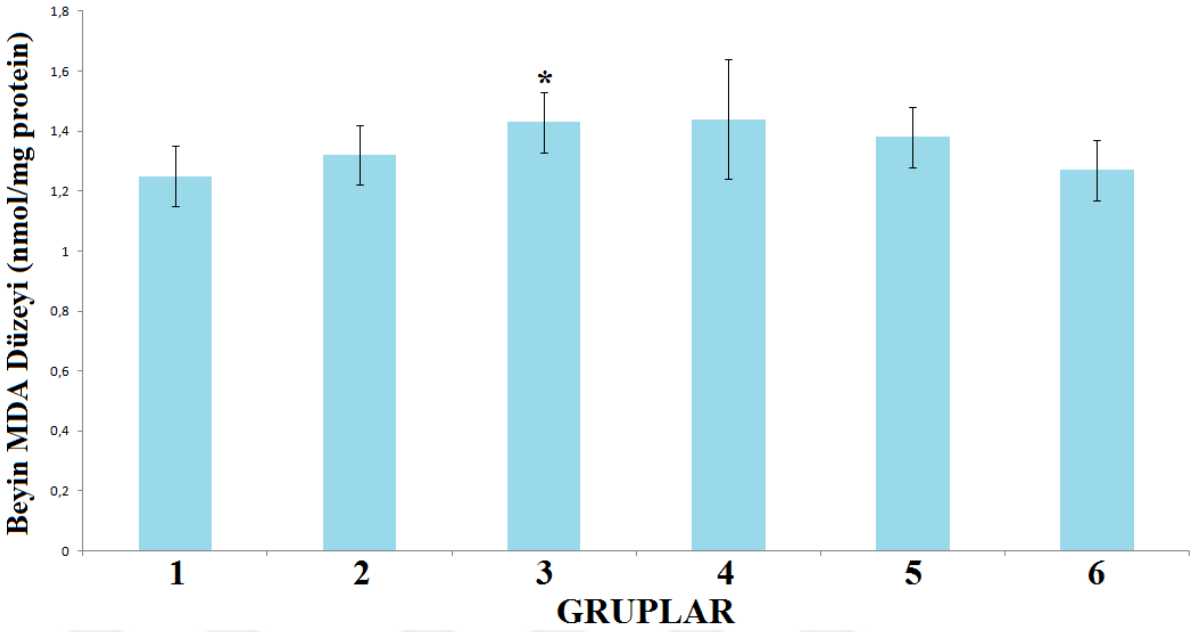
yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 3'ün ise SOD aktivitesi, Grup 1'e kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4. Beyin SOD aktivitesi (U/mg protein) (*n*=6)
*Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$)
*Grup 2'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$)

4.5. Beyin Dokusu MDA Düzeyi Sonuçları

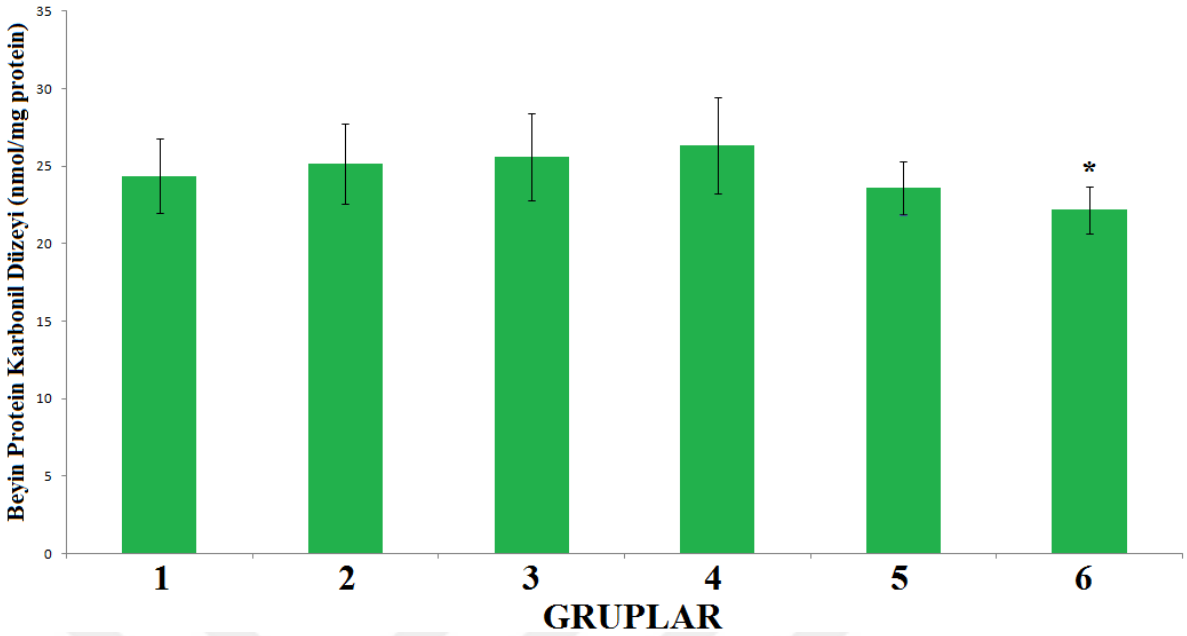
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki MDA düzeyleri sırasıyla 1.25±0.11 nmol/mg protein, 1.32±0.16 nmol/mg protein, 1.43±0.12 nmol/mg protein, 1.44±0.21 nmol/mg protein, 1.38±0.13 nmol/mg protein ve 1.27±0.15 nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların MDA düzeyleri Şekil 5'de gösterilmiştir. Grup 3'ün MDA düzeyi, Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 2 ve Grup 4'ün ise MDA düzeyleri, Grup 1'e kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Ayrıca Grup 5 ve Grup 6'nın da MDA düzeyleri, Grup 2'ye kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış da istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 5. Beyin MDA Düzeyi (nmol/mg protein) (*n*=6)
*Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$)

4.6. Beyin Dokusu Protein Karbonil Düzeyi Sonuçları

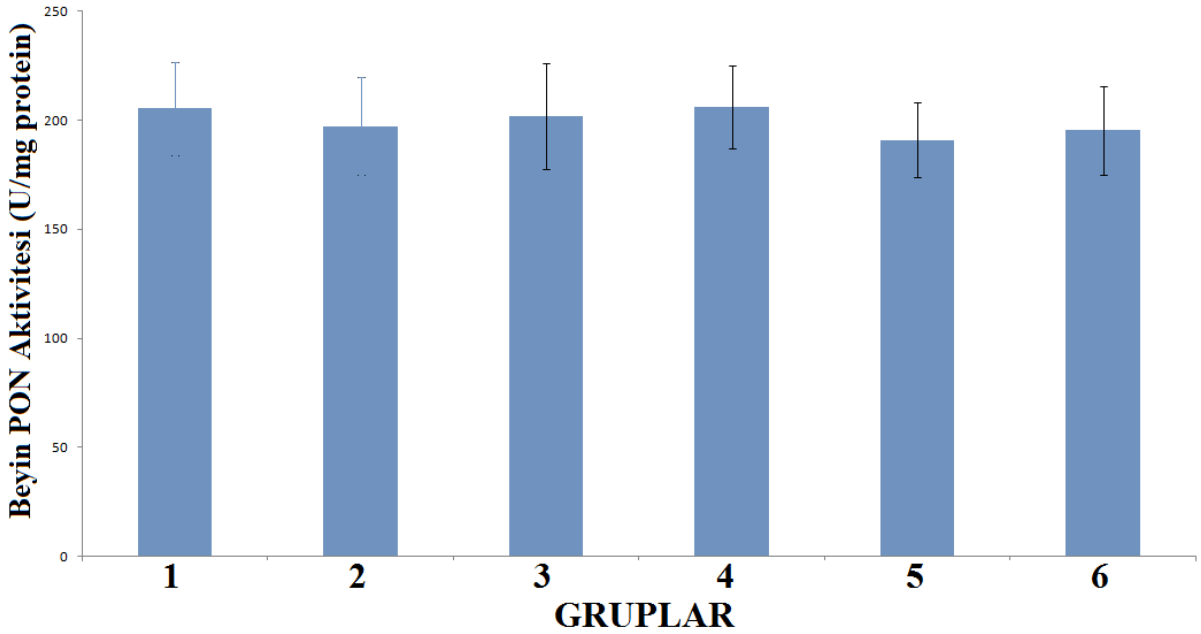
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin protein karbonil düzeyleri sırasıyla 24.36±2.41 nmol/mg protein, 25.18±2.62 nmol/mg protein, 25.63±2.86 nmol/mg protein, 26.34±3.12 nmol/mg protein, 23.61±1.74 nmol/mg protein ve 22.18±1.51 nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların protein karbonil düzeyleri Şekil 6'da gösterilmiştir. Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün protein karbonil düzeyleri, Grup 1'e kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Grup 6'nın protein karbonil düzeyi ise Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 6. Beyin PCO düzeyi (nmol/mg protein) (*n*=6)
*Grup 2'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$)

4.7. Beyin Dokusu PON Aktivitesi Sonuçları

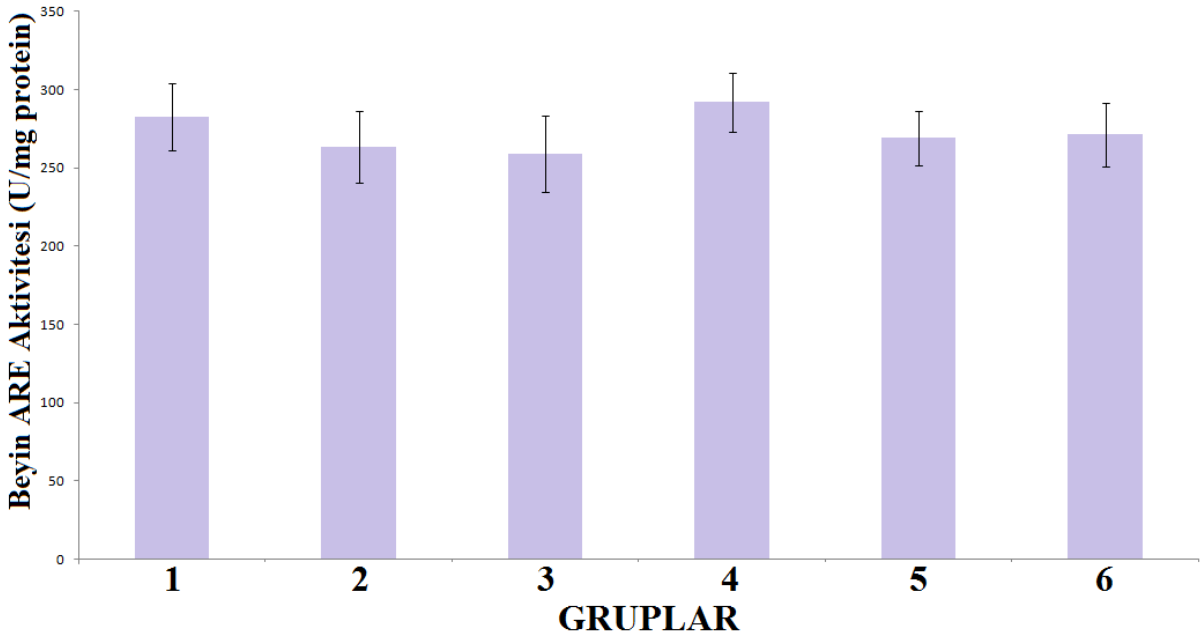
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki PON aktiviteleri sırasıyla 205.39±21.38 U/mg protein, 197.36±22.61 U/mg protein, 201.88±24.53 U/mg protein, 205.94±18.96 U/mg protein, 191.05±17.24 U/mg protein ve 195.34±20.44 U/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların PON aktiviteleri Şekil 7'de gösterilmiştir. Grup 2'ün PON aktivitesi, Grup 1'e kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Diğer gruplar arasında da herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 7. Beyin PON aktivitesi (U/mg protein) (*n*=6)

4.8. Beyin Dokusu ARE Aktivitesi Sonuçları

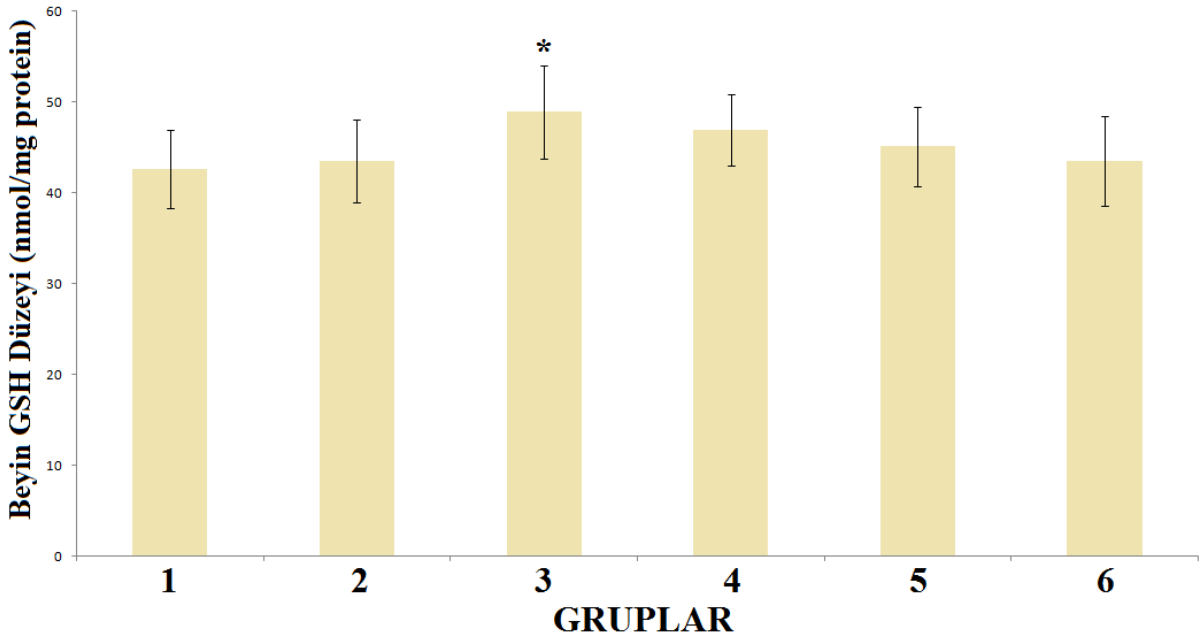
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki PON aktiviteleri sırasıyla 282.39±22.11 U/mg protein, 263.36±21.51 U/mg protein, 258.88±23.9 U/mg protein, 291.94±19.06 U/mg protein, 269.05±18.03 U/mg protein ve 271.34±21.3 U/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların ARE aktiviteleri Şekil 8'de gösterilmiştir. Grup 2 ve Grup 3'ün ARE aktiviteleri, Grup 1'e kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Diğer gruplar arasında da herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 8. Beyin ARE aktivitesi (U/mg protein) (*n*=6)

4.9. Beyin Dokusu GSH Düzeyi Sonuçları

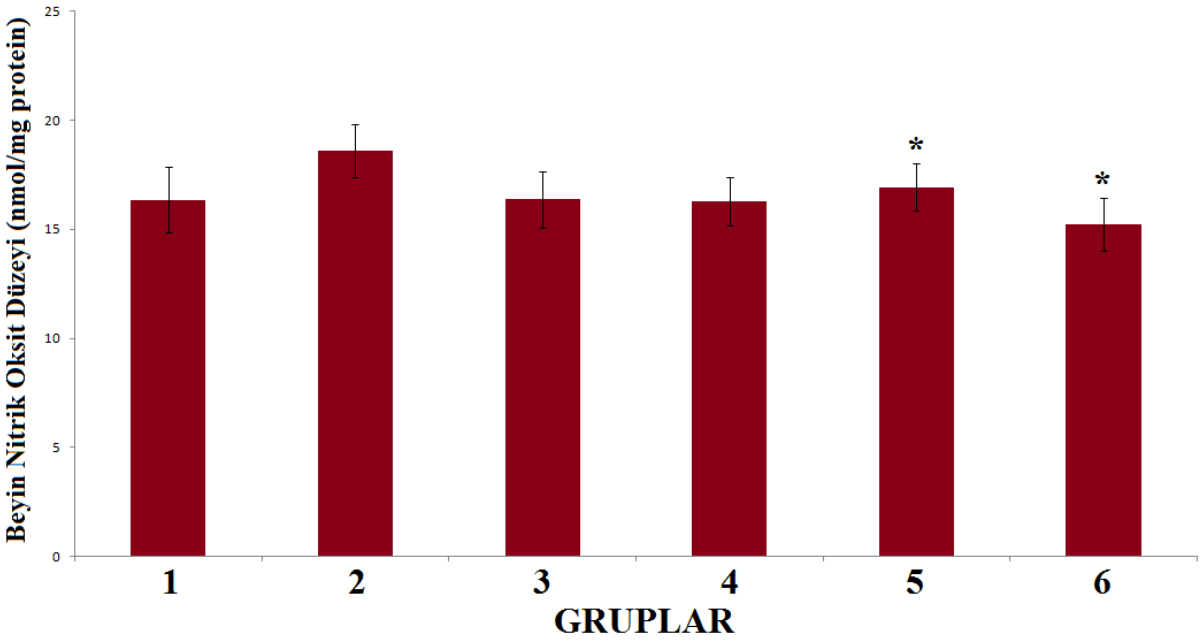
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki GSH düzeyleri sırasıyla 42.61±4.32 nmol/mg protein, 43.52±4.68, nmol/mg protein 48.9±5.1 nmol/mg protein, 46.99±3.92 nmol/mg protein, 45.11±4.4 nmol/mg protein ve 43.55±4.93 nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların GSH düzeyleri Şekil 9'da gösterilmiştir. Grup 3'ün GSH düzeyi, Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 4'ün ise GSH düzeyi, Grup 1'e kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 9. Beyin GSH Düzeyi (nmol/mg protein) (*n*=6)
*Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$)

4.10. Beyin Dokusu Nitrik Oksit Düzeyi Sonuçları

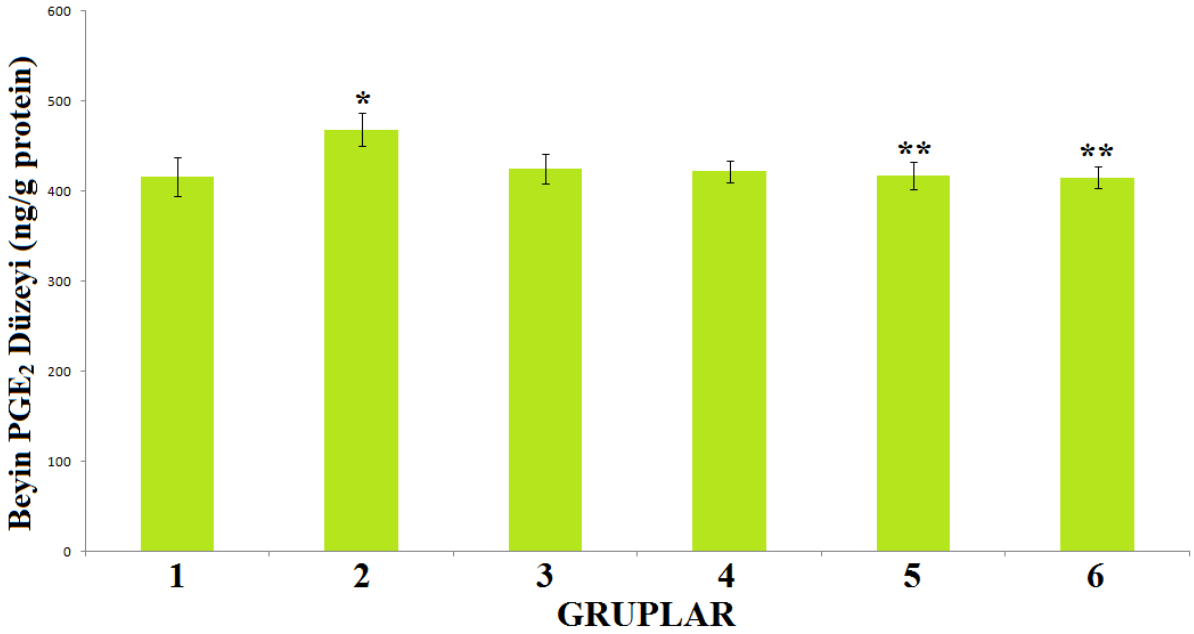
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki nitrik oksit düzeyleri sırasıyla 16.34±1.51 nmol/mg protein, 18.61±1.26 nmol/mg protein, 16.37±1.39 nmol/mg protein, 16.29±1.16 nmol/mg protein, 16.94±1.13 nmol/mg protein ve 15.24±1.16 nmol/mg protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların nitrik oksit düzeyleri Şekil 10'da gösterilmiştir. Grup 2'nin nitrik oksit düzeyi, Grup 1'e kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Grup 5 ve Grup 6'nın nitrik oksit düzeyi ise Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 10. Beyin NO düzeyi (nmol/mg protein) (*n*=6)
*Grup 2'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$)

4.11. Beyin Dokusu PGE_2 Düzeyi Sonuçları

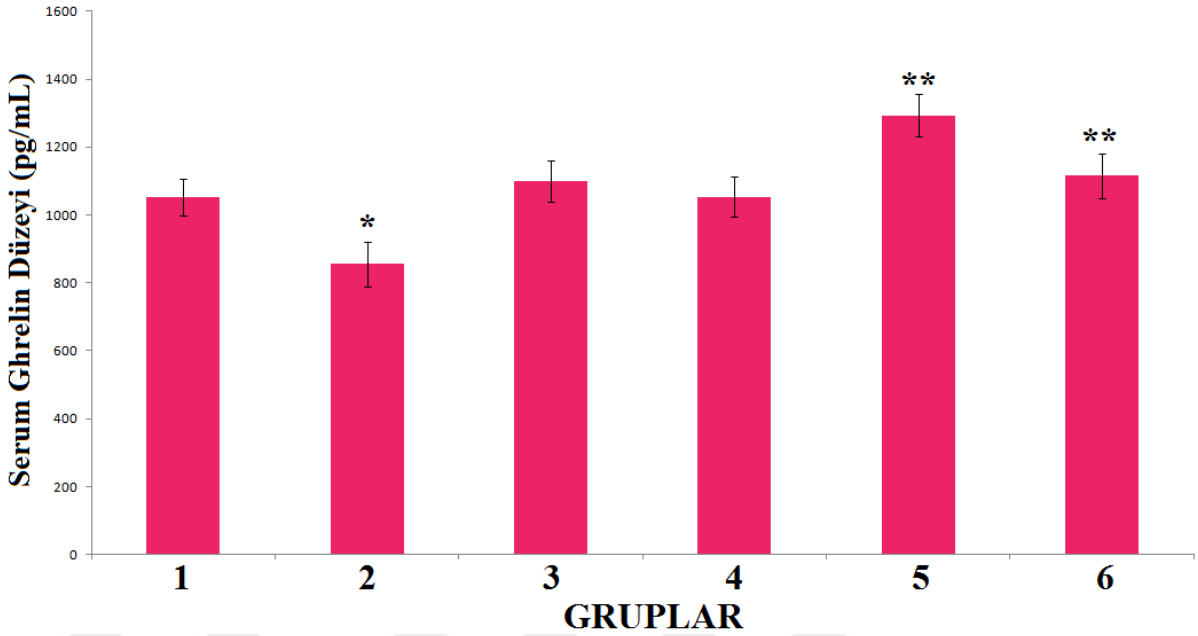
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki PGE_2 düzeyleri sırasıyla 416.44±21.32 ng/g protein, 468.12±18.4 ng/g protein, 424.71±16.24 ng/g protein, 421.9±12.16 ng/g protein, 417.45±15.62 ng/g protein ve 415.29±11.93 ng/g protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların PGE_2 düzeyleri Şekil 11'de gösterilmiştir. Grup 2 'nin PGE_2 düzeyi, Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 5 ve Grup 6'nın ise PGE_2 düzeyi, Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 11. Beyin PGE_2 düzeyi (ng/g protein) (*n*=6)
*Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$)
*Grup 2'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$)

4.12. Serum Ghrelin Düzeyi Sonuçları

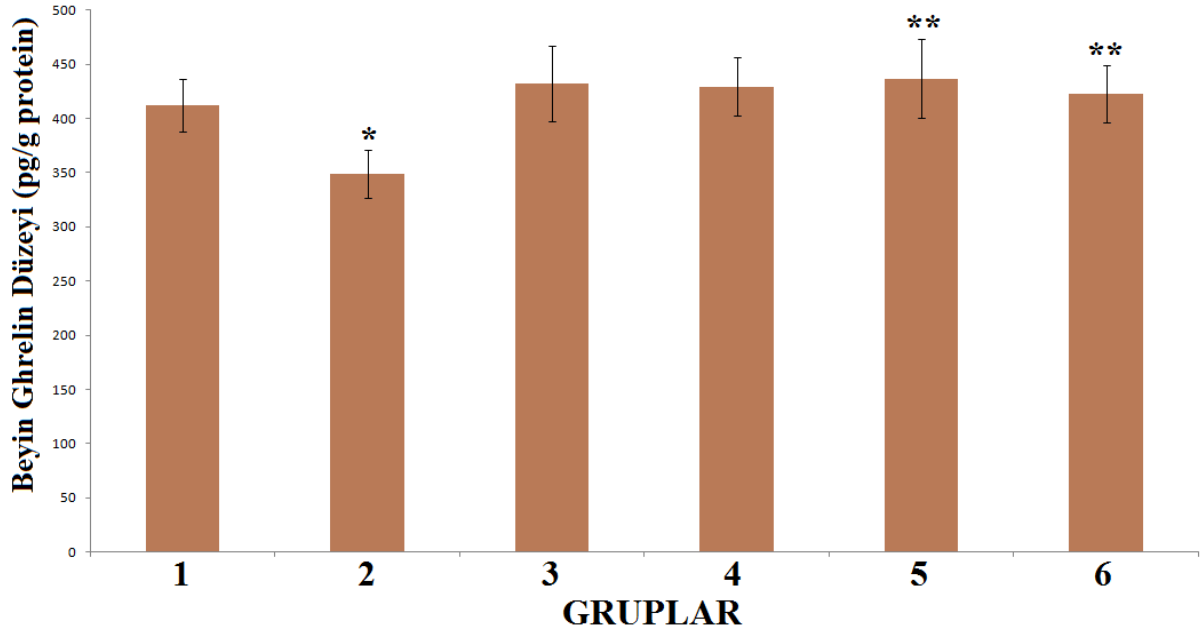
Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın serumdaki ghrelin düzeyleri sırasıyla 1051.61±54.34 pg/mL, 855.36±64.96 pg/mL, 1098.37±61.2 pg/mL, 1053.87±58.96 pg/mL, 1293.75±63.74 pg/mL ve 1115.4±66.73 pg/mL olarak bulunmuştur. Tüm grupların serum ghrelin düzeyleri Şekil 12'de gösterilmiştir. Grup 2 'nin serum ghrelin düzeyi, Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 5 ve Grup 6'nın ise serum ghrelin düzeyleri, Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 12. Serum GHR düzeyi (pg/mL) (*n*=6)
*Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$)
**Grup 2'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$)

4.13. Beyin Dokusu Ghrelin Düzeyi Sonuçları

Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5 ve Grup 6'nın beyin dokusundaki ghrelin düzeyleri sırasıyla 411.86±24.34 pg/g protein, 349.51±21.63 pg/g protein, 432.97±34.59 pg/g protein, 429.62±26.82 pg/g protein, 436.83±36.46 pg/g protein ve 422.74±26.73 pg/g protein olarak bulunmuştur. Tüm grupların doku ghrelin düzeyleri Şekil 13'de gösterilmiştir. Grup 2 'nin doku ghrelin düzeyi, Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Grup 5 ve Grup 6'nın ise doku ghrelin düzeyleri, Grup 2'ye kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).



Şekil 13. Beyin GHR düzeyi (pg/g protein) (*n*=6)
*Grup 1'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0.05$)
**Grup 2'e kıyasla istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, 48 saat süresince aç bırakıldıktan sonra skopolamin uygulanan ve sonrasında yem verilen hayvanlarda ortaya çıkan konvülsiyonlarda MK-801'in beyin dokusundaki oksidatif stres, inflamasyon ve ghrelin düzeylerine etkileri araştırıldı. Daha önce yapılan bazı araştırmalarda kırk sekiz saat ve daha kısa süre aç bırakılan fare ve sıçanlara skopolamin, atropin veya biperiden gibi antimuskarinik/antikolinerjik uygulanması ve ardından yem verilmesi ile konvülsiyonlar meydana gelmiştir (Enginar ve ark., 1997; Enginar ve ark., 2003; Enginar ve ark., 2005; Enginar ve Nurten, 2010). Antikolinerjik bir ilaç olan skopolaminin kolinerjik konvulsiyonları önlediği bilindiğinden bu bulgular oldukça ilginçtir (Enginar ve ark., 2003). Çeşitli süre zarflarında aç bırakılıp skopolamin uygulanan ve ardından yemek verilen farelerde konvulsiyonlar oluştuğu gözlenmiştir. Bu da açlık süresinin aksine, yem kısıtlamasının ana etken olduğunu göstermektedir (Enginar ve ark., 2005).

Aç+SF+Yem, Aç+SF+MK-801(0.17mg)+Yem ve Aç+SF+MK-801(0.51mg) +Yem gruplarında konvülsiyon görülmemiştir. Aç+Skop+Yem grubunda konvülsiyonlar görülmüştür. Aç+Skop+MK-801(0.51mg)+Yem grubunun konvülsiyon başlama süresi Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla düşük bulunmuş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Aç+Skop+Yem grubundaki hayvanlarda oluşan konvülsiyonlar literatürdeki sonuçlar ile aynı yöndedir.

Aç+Skop+Yem grubundaki hayvanlarda yem yemelerine izin verilmeden önce herhangi bir konvulsiyon gözlemlenmedi. Hayvanlar yem yemeye başladıktan belli bir süre sonra konvulsiyonlar oluştu. Bu sonuç skopolamin ve/veya yeniden yemenin konvulsiyonları oluşturduğunu düşündürmektedir. Skopolamin, atropin ve biperidenin heteroreseptör olarak görev yapan M1 ve M2 reseptörlerinin blokajı sırası ile dopamin salıverilmesinde azalmaya ve glutamat salıverilmesinde artışa yol açar. Reseptörlerden ikisinin veya seçici olarak birinin antagonize edilmesi ile ortaya çıkan kolinerjik etkinlik azalması, asetilkolin salıverilmesi artışı veya glutamaterjik ve dopaminerjik sistemlerdeki değişiklikler konvülsiyon oluşumuna yol açan mekanizmaları oluşturabilir. Postsinaptik M1 ve/veya M2 muskarinik reseptörleri kapatarak antikolinerjik etkinlik göstermeleri ile açıklanmıştır. Beyinde postsinaptik ve

presinaptik yerleşimleri ve dağılımları farklılık gösteren, otoreseptör ve heteroreseptör özellikleri değişen bu reseptörlerden hangisinin konvülsiyonlardan sorumlu olduğu henüz aydınlatılamamıştır (Bacanak, 2018).

Uzun süreli açlığın, beyindeki çeşitli reseptörlerin ekspresyonunu veya bağlanma özelliklerini değiştirdiği gösterilmiştir. Örneğin; 48 saat açlığın glutamaterjik reseptörlerde değişikliklere neden olduğu ve 120 saat açlığın ise serebellumdaki GABA reseptörlerini azalttığı bildirilmiştir (Bacanak, 2018). Kırk sekiz saat açlık beyinde glutamaterjik reseptörlerde skopolamin ve yem alımı ile kısmen geriye dönebilen bazı değişikliklere yol açtığından, açlık sırasında glutamaterjik sistemde yemden yoksun kalmanın gereksinimlerini karşılama ya da aşırı glutamat salıverilmesi ile başa çıkma şeklinde uyumsal değişikliklerin olabileceği öne sürülmüştür (Enginar ve ark. 2003).

Epilepsi ile ilgili çok yönlü araştırmalar yapılmış olmasına rağmen, epilepsinin çeşitli türlerinin patogenezi hakkındaki bilgilerin yetersizliği ve bunların altında yatan temel bozukluklar henüz açıkça ortaya konulmamıştır. Ancak tüm epilepsi nöbet tiplerinde artmış eksitabilite söz konusudur. Beyindeki nöronlarda eksitabilite düzeyi eksitatör ve inhibitör etkiler arasındaki dengeye bağlıdır. Eksitatör etkinliğin artması ya da inhibitör etkinliğin azalması eksitabilitenin artmasına yol açar. Beyindeki en önemli eksitatör nörotransmitter olan glutamatın iyonotropik reseptörlerinden olan NMDA reseptörleri epileptogenezde etkin rol oynar (Kayaalp, 2012). Ren ve ark. (2016), yüksek glutamat seviyelerinin NMDA reseptörlerini aktive ederek oluşan sinaptik hipereksitabilitenin büyük miktarda Ca^{2+} akışına yol açtığı ve Ca^{2+} miktarının aşırı yüklenmesi sonucunda nöbetlerin tetiklendiğini göstermiştir. Yapılan bir çalışmada epilepsiden muzdarip hastaların epileptojenik beyin bölgelerinden mikrodiyalizle alınan hücre dışı sıvıdaki amino asit seviyesindeki değişimler incelenmiştir. Yapılan incelemede aspartat seviyesindeki artışın en fazla olduğu ve glutamat, serin ile glisin seviyelerinin de önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Bu çalışma NDMA reseptörlerinin epileptogenezdeki olası rolünü göstermiştir (Kobylarek ve ark., 2019).

Aç+Skop+MK-801(0.17mg)+Yem grubunda konvülsiyonların donma ve çene hareketleri şeklinde olduğu gözlendi ve konvülsiyonların başlama süresi Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+ MK-801(0.51mg)+Yem grubunda bir hayvanda herhangi bir konvülsiyon

oluşmadığı ve diğer hayvanlarda konvülsiyonların donma ve çene hareketleri şeklinde olduğu gözlendi. Aç+Skop+MK-801(0.17mg)+Yem grubundaki hayvanlarda konvülsiyon başlama süresi Aç+Skop+ MK-801(0.51mg)+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm gruplardaki hayvanlarda konvülsiyonlar sırasında ölüm gözlenmemiştir. MK-801 enjeksiyonunun konvülsiyonları tamamen engellemediği ancak baskıladığı gözlendi. Artmış hipereksitabiliteye karşın MK-801'in NMDA reseptörlerini bloke ederek bu etkiyi oluşturması muhtemeldir (Enginar ve ark., 1997; Ren ve ark., 2016).

Kainik asit ile oluşturulan status epileptikus deneysel modelinde NMDA reseptörünün nonkompetitif antagonisti MK-801'in, limbik sistemin bazı bölgeleri hariç diğerlerinde nöroprotektif etkide bulunduğu gösterilmiştir (Kobylarek ve ark., 2019). NMDA reseptörünün nonkompetitif antagonisti olan MK-801'in antikolvülsan etki oluşturduğu bilinmektedir (Enginar ve ark., 1997).

Birçok deneysel çalışmada, çeşitli epilepsi türlerinde artmış SOR düzeyleri tespit edilmiştir. Nöbet aktivitelerinden sonra antioksidanlar ile SR'ler arasındaki dengenin SR'ler lehine dönmesi ile ortaya çıkan OS, proteinler, lipitler ve DNA gibi hücresel makromoleküllerin peroksidasyonuna yol açabilmektedir. Bu değişiklikler genel olarak hücresel işlevi zayıflatır, çünkü protein oksidasyonu sodyum-potasyum ATPaz gibi önemli enzimlerin yapısını ve aktivitesini değiştirebilir. SOR ile indüklenen sodyum-potasyum ATPaz'ın yapı ve aktivitesinin değiştirilmesi, nöronal depolarizasyonla indüklenen elektrokimyasal gradyanların etkin bir şekilde ters çevrilmesine yol açarak eksitotoksisiteye neden olabilir. Ek olarak, peroksidasyon, lipit çift katmanlarının özelliklerini değiştirerek membran geçirgenliğini, iyon kanalları ve ligand kapılı nörotransmitter reseptörler dahil olmak üzere membran proteinlerinin aktivitesini etkileyebilir. Bununla birlikte, nöbetler tarafından indüklenen aşırı SOR'a bağlı OS nöronal hipereksitabiliteye yol açabilir. Edinilmiş epilepsi sendromlarında, nöbetlerin beyinde aşırı SOR oluşumuna bağlı olarak oksidatif hasara neden olduğu birçok kez rapor edilmiştir. Cerrahi olarak rezekte edilmiş insan temporal lop epilepsi dokularında çeşitli protein ve lipid peroksidasyon belirteçlerinin, artmış GSH ve SOD gibi antioksidan sistemlerine rağmen, arttığı bildirilmiştir. Ayrıca hayvan çalışmalarında hipokampustaki proteinlerde, lipidlerde ve mitokondriyal DNA'da oksidatif hasar ile

bağlantılı olarak artan SOR üretimi doğrulanmıştır (Yuen ve ark., 2018; Kim ve Cho, 2019).

Biriken kanıtlar OS'nin sadece epilepsi başlangıcının bir sonucu olmadığını, aynı zamanda epilepsi oluşumunda rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, OS'yi azaltan antioksidanlar son zamanlarda epilepsi tedavisinde dikkat çekmiştir. Bununla birlikte, tüm epilepsi nöbet modellerinde OS hasarının meydana geldiği gösterilmiştir. Yapılan bir araştırmada pilokarpin ile epilepsi oluşturulan sıçanlarda TNF-a, IL-1β ve MDA ekspresyon seviyelerinde artış ve SOD, CAT ve GSH ekspresyon seviyelerinde bir azalma olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, sonuçlar antioksidan etkili piperin ile yapılan tedavinin bu etkileri tersine çevirdiğini göstermiştir (Mao ve ark., 2016). Liu ve ark. (2018), PTZ uygulaması ile oluşturulan epilepsi modelinde lipid peroksidasyonunun arttığını, SOD ve katalaz aktiviteleri, GSH ve GSH-Px seviyelerinin önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir.

Proteinlerin oksidasyonu anahtar enzimlerin yapısını, fonksiyonunu ve aktivitesini değiştirebilir. Lipid peroksidasyonu membran yapısını bozarak hücre geçirgenliğinde değişikliklere yol açabilir ve membran proteinlerinin aktivitesinde değişikliklere yol açarak hipereksitabiliteye neden olabilir. OS'nin, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, felç ve Amyotrofik Lateral Skleroz ve epilepsi dahil olmak üzere birçok nörolojik durumun patogenezine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Antioksidan özellikli E vitamininin, bazı epilepsi hayvan modellerinde OS belirteçlerini ve nöbet sıklığını azalttığına dair çalışmalar mevcuttur. Yakın tarihli bir çalışma, N-asetilsistein ve sulforaphane ile birlikte yapılan ve glutation düzeylerini arttırmaya yarayan, beyni OS'ye karşı koruyan, nöbet sıklığını azaltan ve zayıflamış nöronal kayıp ve bilişsel eksikliklere eşlik eden bir çalışmanın olduğunu göstermiştir (Pearson-Smith ve Patel, 2017). Önceki çalışmalarda ilaca direçli temporal lob epilepsili hastalarda lipid peroksidasyon belirteçlerinin düzeyinin, SOD ve CAT aktivitelerinin artmış olduğu, GSH-Px aktivitesinin ise azalmış olduğu tespit edilmiştir. Lipid peroksidasyonunun arttığını gösteren birçok çalışma mevcuttur. Öte yandan SOD, CAT, GSH-Px ve glutatyon redüktaz aktivitelerinde değişiklik tespit etmeyen başka çalışmalar da mevcuttur (Lorigados Pedre ve ark., 2018).

Yapılan bazı çalışmalarda çeşitli yöntemlerle (kainik asit, elektrik etkisi yöntemi, pentilentetrazol, demir iyonu ve pilokarpin gibi) fare ve sıçanlarda oluşturulan deneysel nöbetlerde beyin dokularında lipid peroksidasyonu, protein karbonillerin yükselmesi, serbest yağ asitlerinin artışı, glutatyon, süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi endojen antioksidanların seviyelerinin azalması gözlenmiştir. Çeşitli antioksidanlar (lipoik asit, melatonin, mexidol, N-asetilsistein, resveratrol, tokoferol ve C vitamini) çeşitli deneysel nöbet modellerinde etkinlikleri açısından değerlendirilmiş ve bu maddeler, hem nöbet belirtilerine hem de eşlik eden biyokimyasal değişikliklere karşı koruyucu etkiler göstermiştir (Devi ve ark., 2008).

Araştırmamızda beyin dokusunda OS ile oluşturulan MDA ve PCO düzeylerine ve CAT, GSH-Px, SOD, PON, ARE ve GSH aktivitelerine bakıldı.

Aç+Skop+Yem grubunun GSH-Px aktivitesi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Diğer gruplar arasında da herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Aç+Skop+Yem grubu ile Aç+SF+MK-801(0,17mg)+Yem grubunun CAT aktivitesi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grublarının ise CAT aktivitesi, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Aç+Skop+Yem grubunun SOD aktivitesi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem gruplarının SOD aktivitesi, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+SF+MK-801(0,17mg)+Yem grubunun SOD aktivitesi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$).

Aç+Skop+Yem grubunun PON aktivitesi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Diğer gruplar arasında da herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Aç+Skop+Yem grubu ile Aç+SF+MK-801(0,17mg)+Yem grubunun ARE aktiviteleri, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla düşük bulunmuş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Diğer gruplar arasında da herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Aç+SF+MK-801(0,17mg)+Yem grubunun GSH düzeyi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+SF+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun ise GSH düzeyi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$).

Aç+SF+MK-801(0,17mg)+Yem grubunun MDA düzeyi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+Yem grubu ile Aç+SF+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun MDA düzeyleri, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Ayrıca Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem gruplarının da MDA düzeyleri, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış da istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$).

Aç+Skop+Yem grubu, Aç+SF+MK-801(0,17mg)+Yem grubu ile Aç+SF+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun PCO düzeyleri, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun PCO düzeyi ise Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Genel olarak konvülsiyon görülen Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem grubu ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun CAT ve SOD aktiviteleri, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem grubu ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun GSH-Px, GSH, PON ve ARE aktiviteleri, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Konvülsiyon görülen Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem, Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem ve Aç+Skop+Yem grupları arasında MDA ve PCO düzeyleri arasında istatiksel fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Aç+Skop+Yem grubunda MDA ve PCO düzeyleri, Aç+SF+Yem grubuna göre artmış ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$).

Epileptogenezin hücresel ve moleküler mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamış olsa da, fokal veya sistemik düzensiz inflamatuar süreçlerin, epilepsinin başlangıcına aracılık eden anormal sinirsel bağlantıya ve hipereksitabl nöronal ağa yol açtığı ileri sürülmektedir (Rana ve Musto, 2018).

Hem epileptik hastalarda hem de havyanlar üzerinde oluşturulan deneysel modellerde nöbetler inflamatuar maddeleri uyarmaktadır. Bunun sonucunda nöronal dejenerasyon gelişmekte ve beynin eksitabilitesinde artış meydana gelmektedir. Son on yılda yapılan deneysel ve klinik çalışmalar beyindeki inflamatuvar süreçlerin, nöbet ve epilepsinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymuştur (Vezzani ve ark., 2011).

Astrositlerin ve mikrogliaların neden olduğu hipereksitabilite ve inflamasyonun epilepsi üzerine etkisi vardır. Glia proliferasyonu, hipokampus ve temporal korteks gibi epileptik odaklarda skleroz ile karakterizedir. Glia hücreleri, enflamatuar sitokinleri salgılayabilir. Epileptogenez ve beyin iltihabı arasında pozitif feed-back döngüsü vardır. Spontan ve tekrarlayan nöbetler proinflamatuar faktör ve enflamatuar süreçlerin salgılanmasını destekleyebilir. Ek olarak, nöroinflamasyon ayrıca ikincil nöbetlere de yol açabilmektedir (Ge ve ark., 2017).

İnflamasyonun kimyasal medyatörleri arasında olan NO'nun epilepsi ile ilişkili olduğunu belirlemek için çeşitli deneysel epilepsi modelleri üzerinde çalışılmıştır. Bir kısım çalışma NO'nun prokonvulsan etkili olduğunu gösterirken bir kısım çalışma ise NO'nun antikonvulsan etkili olduğunu göstermiştir (Kapucu, 2019). Wang ve ark. (2019), hipokampustaki NO içeriği ve nNOS ekspresyonunun nöbetlerden sonra arttığını, nöbetlerle ilişkili olduklarını göstermiştir.

Çalışmamızda Aç+Skop+Yem grubunun NO düzeyi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla yüksek bulunmuş, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır ($p>0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem grubu ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun NO düzeyi ise Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Konvülsiyon geçiren Aç+Skop+Yem grubundaki hayvanların NO düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Bu durum bazı çalışmalar ile uyum göstermektedir. MK-801 ve skop uygulanan hayvan gruplarındaki NO düzeyi, sadece skop uygulanan hayvan grubundaki NO düzeyine kıyasla düşük bulunduğundan MK-801'in NO düzeyini düşürdüğü sonucuna varılmıştır.

Prostaglandin E2 (PGE_2) inflamasyonda önemli bir modülatördür. PGE_2 Beyinde nöbet ve serebral iskemi gibi patolojik süreçlerde rol oynadığından dolayı nöroinflamasyonla ilişkilidir (Takemiya, 2017). MSS'deki başlıca bir siklooksijenaz 2 (COX-2) ürünü olan PGE_2, nöroinflamasyon, nöronal hipertoksisite ve eksitotoksisite, lokal vazodilatasyon ve immün hücrelerin infiltrasyonu üzerindeki önemi gösterilmiştir (Dey ve ark., 2016).

Paudel ve ark. (2018), Lityum-pilokarpin kaynaklı status epileptikusta (SE), sıçanlarda SE indüksiyonuna neden olan hipokampal enflamasyonun, enflamatuar sinyallerinin bir belirteci olarak yüksek PGE_2 seviyesi tespit etmişlerdir.

Siklooksijenaz enzimlerinin indüklenebilir formu olan COX-2'nin insanda ve deney hayvanlarında nöbet sonrasında indüklendiği gösterilmiştir. COX-2'nin nöronal ekspresyonundaki artış, farelerde deneysel olarak kainat ile oluşturulan nöbetlerde ve nöbete bağlı mortalitede artışa neden olmuştur. COX-2 geni silinmiş farelerde nöbet eşiği artmış ve nöbetlerin şiddeti azalmıştır. Bu bulgular COX-2 indüksiyonunun epileptogenezde rolü olabileceğini düşündürmüştür. COX-2 inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda, nöbet sonrasında bu ajanların uygulanmasının nöroprotektif etki gösterdiği saptanmıştır ancak selektif COX-2 inhibitörlerinin birçoğunda antiepileptojenik etki elde edilememiştir. Tüm prostaglandin türlerinin sentezini inhibe eden COX-2 inhibitörleri yerine daha spesifik etki elde edilebilecek prostaglandin reseptörleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. PGE_2'nin nöroinflamasyonda EP_1 ve EP_2

reseptörleri aracılığıyla önemli rol oynadığı, EP_1 antagonisti SC51089'un ve EP_2 antagonisti TG4-155'in nöroinflamasyonu azaltıcı ve nöroprotektif etkileri olduğu saptanmıştır. PGE_2'nin proinflamatuvar yöndeki etkilerine zıt olarak, PGD_2 ve $PGF_{2\alpha}$ ise kainat injeksiyonu sonrası farelerde nöbet sıklığını ve şiddetini ve mortaliteyi azaltıcı etki göstermiştir. PG reseptörleri potansiyel hedef olarak görülmekle birlikte daha çok veriye ve bu reseptörlere etki eden yeni moleküllerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır (Dey ve ark., 2016).

Çalışmamızda Aç+Skop+Yem grubunun PGE_2 düzeyi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem grubu ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun ise PGE_2 düzeyi, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Konvülsiyon geçiren Aç+Skop+Yem grubundaki hayvanların PGE_2 düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Bu durum bazı çalışmalar ile uyum göstermektedir. MK-801 ve skop uygulanan hayvan gruplarındaki PGE_2 düzeyi, sadece skop uygulanan hayvan grubundaki PGE_2 düzeyine kıyasla düşük bulunduğundan MK-801'in PGE_2 düzeyini düşürdüğü sonucuna varılmıştır.

Son zamanlarda ghrelin ve epilepsi arasındaki bağlantıyı araştıran, insanlar üzerinde yapılan çalışmaların sayısında artış vardır. Ancak, bu bulgular oldukça tartışmalıdır. Araştırmacılar serum total GHR düzeylerinin epilepsili hastalarda kontrol gruplarına göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte, birçok araştırmacı tarafından yapılan araştırmalarda epilepsili hastalarda kontrol grubundakilere kıyasla GHR düzeyinlerinde azalma tespit edilmiştir (Ataie ve ark., 2011; Ge ve ark., 2017).

Gastrik mukozanın endokrin hücreleri tarafından sentezlenen bir oreksijenik peptid olan GHR, nöbetleri engellemede büyük rol oynar. Hayvanlar üzerinde yapılan birçok çalışma, GHR'nin antikonvülsan özelliklere sahip olduğunu doğrulamıştır. İp. GHR enjeksiyon uygulamanın sıçanlarda PTZ kaynaklı epileptik nöbet gelişimini büyük ölçüde geciktirdiği veya önlediği belirtilmiştir. Sonuç olarak GHR'nin antioksidan

enzim aktivitelerindeki azalmayı önleyerek OS'nin inhibe edilmesiyle nöronları koruyabildiği bildirilmiştir. Bu da GHR'nin antikonvülsan etkisinin olası bir mekanizması olabileceğini düşündürmektedir (Ge ve ark., 2017).

Büyüme hormonunun güçlü bir uyarıcısı olan GHR, enerji ve besin alımının dengelenmesinde önemli bir rol oynar. Bu etkilerinin yanı sıra, GHR'nin epileptik nöbetlerle ilişkili olabileceği de bildirilmiştir. GHR ve epilepsi arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılan çalışmaların sonuçları hala tartışmalıdır. Bazı çalışmalar, GHR'nin bir antikonvülsan ajan olduğunu öne sürerken, bazıları bunu bir prokonvülzan ajan olarak bildirmiştir (Öztaş ve ark., 2017).

Bazı çalışmalar, GHR'nin hipokampusta kainik asit kaynaklı mikroglia ve astrositlerin aktivasyonunu önleyebileceğini ve proinflamatuar mediatör tümör nekroz faktörü alfa (TNF-a), interlökin-1beta (IL 1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) ekspresyonunu azaltabildiğini göstermiştir. Bu sonuçlar, GHR'nin antiepileptik etkisinin, nöral koruma ve anti-enflamasyon etkinliği ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Ge ve ark., 2017).

Çalışmamızda Aç+Skop+Yem grubunun serum GHR düzeyi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem grubu ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun serum GHR düzeyleri, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Konvülsiyon geçiren Aç+Skop+Yem grubundaki hayvanların serum GHR düzeyinde düşüş olduğu belirlenmiştir. Bu durum bazı çalışmalar ile uyum göstermektedir. MK-801 ve skop uygulanan hayvan gruplarındaki serum GHR düzeyi, sadece skop uygulanan hayvan grubundaki serum GHR düzeyine kıyasla yüksek bulunduğundan MK-801'in serum GHR düzeyini artırdığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda Aç+Skop+Yem grubunun doku GHR düzeyi, Aç+SF+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Aç+Skop+MK-801(0,17mg)+Yem grubu ile Aç+Skop+MK-801(0,51mg)+Yem grubunun doku GHR

düzeyleri, Aç+Skop+Yem grubuna kıyasla istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer gruplar arasında ise herhangi bir istatistiksel fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Konvülsiyon geçiren Aç+Skop+Yem grubundaki hayvanların doku GHR düzeyinde düşüş olduğu belirlenmiştir. Bu durum bazı çalışmalar ile uyum göstermektedir. MK-801 ve Skop uygulanan hayvan gruplarındaki doku GHR düzeyi, sadece Skop uygulanan hayvan grubundaki doku GHR düzeyine kıyasla yüksek bulunduğundan MK-801'in doku GHR düzeyini artırdığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak;

- Yaptığımız çalışmada MK-801'in, açlık sonrası skopolamin uygulanan hayvanlarda yeniden yeme ile birlikte oluşan konvulsiyonları baskıladığını ortaya koyduk.
- MK-801'in beyin dokusunda OS parametreleri olan CAT ve SOD aktivitelerini arttırdığını, GSH-Px, PON ve ARE aktivitelerinde istatiksel olarak belirgin fark göstermediğini, MDA ve GSH düzeyini değiştirmediğini ve PCO düzeyini düşürdüğünü ortaya koyduk.
- MK-801'in beyin dokusunda konvülsiyon ile artmış inflamasyon belirteçleri olan NO ve PGE_2 düzeylerini düşürdüğünü ortaya koyduk.
- MK-801'in konvulsiyonlar sonucu azalan serum ve beyin dokusundaki GHR düzeylerini arttırdığını ortaya koyduk.

Epileptik nöbet oluşumunda etkili birçok mekanizma bulunduğundan, aç farelere skopolamin uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvulsiyonların oluşum mekanizmasının tam olarak açıklanabilmesi için ve MK-801'in konvulsiyonları engelleme mekanizmasının tam olarak aydınlatılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

Adadıoğlu Ö, Oğuz S. Epilepsi ve öz yönetim. Epilepsi. 2016;22(1):1-4.

Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol. 1984;105:121-6.

Akar HH, Köse M. Enflamatuar Biyobelirteçler [İnternet]. 2016 [16 Nisan 2019]. Erişim adresi:http://solunum.org.tr/TusadData/Book/535/3011201611510-07_Bolum_06_Enflamatuar.pdf

Akdağ G, Algın İlhan D, Erdinç OO. Epilepsi. Osmangazi Tıp Dergisi. 2016;38 (Özel Sayı 1):35-41.

Akdoğan I, Adıgüzel E, Akyer P. Penisilinle epilepsi oluşturulan sıçanlarda gyrus dentatus granüler hücre tabakasındaki hacim değişiklikleri. Epilepsi. 2003;9(2):67-72.

Akdoğan I, Yonguç Gökşin N. Experimental epilepsy models and morphologic alterations of experimental epilepsy models in brain and hippocampus. Kaneez FS, editor. Underlying mechanisms of epilepsy. China: Intech; 2011.

Al Massadi O, Nogueiras R, Dieguez C, Girault JA. Ghrelin and food reward. Neuropharmacology. 2019;1-22.

Alexander GM, Godwin DW. Metabotropic glutamate receptors as a strategic target for the treatment of epilepsy. Epilepsy Research. 2006;71(1):1–22.

Altıner A, Atalay H, Bilal T. Serbest radikaller ve stres ile ilişkisi. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi. 2018;7(1): 51-5.

Ataie Z, Golzar MG, Babri S, Ebrahimi H, Mohaddes G. Does ghrelin level change after epileptic seizure in rats?. Seizure. 2011;20(4):347–49.

Bacanak M. Muscarinic M1 and M2 receptors, fasting and seizure development in animals. Clinical and Experimental Health Sciences. 2018;8:308-313.

Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Epilepsi oluşum mekanizmaları. Konuralp Tıp Dergisi. 2011;3(3):42-5.

Bianchi C, Kostygov AY, Kraeva N, Záhonová K, Horáková E, Sobotka R ve ark. An enigmatic catalase of Blastocrithidia. Molecular and Biochemical Parasitology. 2019;232(111199):1-4.

Büget B, Türkmen AZ, Allahverdiyev O, Enginar N. Antimuscarinic induced convulsions in fasted animals after food intake: evaluation of the effects of levetiracetam, topiramate and different doses of atropine. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. 2016;389:57-62.

Costa LG, Cole TB, Garrick JM, Marsillach J, Furlong CE. Metals and Paraoxonases. Neurotoxicity of Metals. 2017;18:85–111.

Çokar ÖA. Epilepsili hasta yönetiminde cinsiyetin rolü. Epilepsi. 2018;24(1):1-5.

DePace NL, Colombo J. Nitric Oxide (Prong-2). Clinical Autonomic and Mitochondrial Disorders. 2019;71–138.

Devi PU, Manocha A, Vohora D. Seizures, antiepileptics, antioxidants and oxidative stress: an insight for researchers. Expert Opinion on Pharmacotherapy. 2008; 9(18):3169–3177.

Dey A, Kang X, Qiu J, Du Y, Jiang J. Anti-inflammatory small molecules to treat seizures and epilepsy: from bench to bedside. Trends in Pharmacological Sciences. 2016;37(6):463-484.

Dobbs MR. Clinical Neurotoxicology: Syndromes, Substances, Environments. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2009.

Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. American Journal Human Genetics. 1983;35: 214-227.

Enginar N, Nurten A, Yamantürk P, Koyuncuoğlu H. Scopolamine induced convulsions in food given fasted mice: effects of physostigmine and MK801. Epilepsy Research. 1997;28:137-142.

Enginar N, Yamantürk P, Nurten A, Nurten R, Koyuncuoğlu H. Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: determination of blood glucose levels, [3H]glutamate binding kinetics and antidopaminergic drug effects. Neuropharmacology. 2003;44:199-205.

Enginar N, Nurten A, Yamantürk Çelik P, Açıkmeşe B. Scopolamine induced convulsions in fasted mice after food intake: effects of glucose intake, antimuscarinic activity and anticonvulsant drugs. Neuropharmacology. 2005;49:293-99.

Enginar N, Nurten A. Seizures triggered by food intake in antimuscarinic treated fasted animals: evaluation of the experimental findings in terms of similarities to eating-triggered epilepsy. Epilepsia. 2010;51:80-4.

Ergezer H, Gökçe R, Hozer Ş, Akcan T. Et ve ürünlerinde protein oksidasyonu: etki mekanizması, tespit yöntemleri ve etkileri. Akademik Gıda. 2016;14(1):54-60.

Espinosa-Jovel, C, Toledano R, Aledo-Serrano Á, García-Morales I, Gil-Nagel A. Epidemiological profile of epilepsy in low income populations. Seizure. 2018;56:67–72.

Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS. The new definition and classification of seizures and epilepsy. Epilepsy Research. 2018;139:73–9.

Fischer RS. Animal models of the epilepsies. Brain Research Reviews. 1989;14:245-278.

Garcia Garcia ME, Garcia Morales I, Matías Guiu J. Experimental models in epilepsy. Neurología (English Edition). 2010;25(3):181–8.

Ge T, Yang W, Fan J, Li B. Preclinical evidence of ghrelin as a therapeutic target in epilepsy. Oncotarget. 2017;8(35):59929-59939.

Gökbulut V, Dursun H, Kaplan M, Öztaş E. Paraoxonase 1 and arylesterase levels in patients with ulcerative colitis and their relationship with disease activity. The Turkish Journal of Academic Gastroenterology. 2019;18:33-7.

Göl MF, Erdoğan FF, Kanan DD, Kanbur M, Gölgeli A, Öztürk A. Pentilentetrazol ile indüklenen kindlingin matür ve immatür sıçan davranışları, emosyonel öğrenme, beyin ve serum nitrik oksit seviyesine etkisi. Epilepsi Dergisi. 2019;25(2):51-8.

Greten FR, Grivennikov SI. Inflammation and cancer: triggers, mechanisms and consequences. Immunity. 2019;51(1):27–41.

Johnson EL. Seizures and epilepsy. Medical Clinics of North America. 2018; 103(2):309-324.

Kandratavicius L, Balista P, Lopes-Aguiar C, Ruggiero R, Umeoka E, Garcia-Cairasco N, ve ark. Animal models of epilepsy: use and limitations. Neuropsychiatric Disease and Treatment. 2014;10:1693-1705.

Kapucu A. Sıçanlarda PTZ-kaynaklı nöbetlerde eritropoietinin hipokampus ve frontal kortekste nitrik oksit sentaz türleri üzerine etkileri. İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi. 2019;82(2):107-115.

Kar SK, Singh A. Oxidative stress and free radicals. Encyclopedia of Evolutionary Psychological Science. 2019;1–5.

Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest radikaller. Mehmet Akif Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2016;4(1):50-9.

Kayaalp SO. Tıbbi farmakoloji. 13. Baskı. Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2012.

Kılıç T, Yonar ME. Malathionun pullu sazan (Cyprinus carpio)'da paraoksonaz ve arilesteraz enzim aktivitelerine etkisinin araştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi. 2017;31(2):87-92.

Kim JE, Cho KO. Functional nutrients for epilepsy. Nutrients. 2019;11(6):1-28.

Kim-Shapiro DB, Gladwin MT. Nitric oxide pathology and therapeutics in sickle cell disease. Clinical Hemorheology and Microcirculation. 2018;68(2-3):223–237.

Kobylarek D, Iwanowski P, Lewandowska Z, Limphaibool N, Szafranek S, Labrzycka A, ve ark. Advances in the potential biomarkers of epilepsy. Frontiers in Neurology. 2019;10:1-25.

Koç G, Bek S, Gökçil Z. Epilepsi ve askerlik. Epilepsi 2017;23(3):91-6.

Kohnen-Johannse K, Kayser O. Tropane alkaloids: chemistry, pharmacology, biosynthesis and production. Molecules. 2019;24(4):796.

Korczynska M, Clark MJ, Valant C, Xu J, Moo EV, Albold S, ve ark. Structure-based discovery of selective positive allosteric modulators of antagonists for the M2 muscarinic acetylcholine receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018;115(10):1-10.

Kovacic P, Somanathan R. Clinical physiology and mechanism of dizocilpine (MK-801): electron transfer, radicals, redox metabolites and bioactivity. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2010;3(1):13–22.

Leiper J. Nitric oxide. Touyz RM, Delles C, editörler. Textbook of vascular medicine. Switzerland: Springer; 2019.

Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, ve ark. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. Methods Enzymol. 1990;186:464-478.

Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, ve ark. Oxidative stress, aging and diseases. Clinical Interventions in Aging. 2018;13:757–772.

Liu DH, Agbo E, Zhang SH, Zhu JL. Anticonvulsant and neuroprotective effects of paeonol in epileptic rats. Neurochemical Research. 2019;1-10.

Liu L, Wang N, Lu Y, Wang W. Edaravone acts as a potential therapeutic drug against pentylenetetrazole-induced epilepsy in male albino rats by down regulating cyclooxygenase-II. Brain and Behavior. 2018;1-8.

Lochner M, Thompson AJ. The muscarinic antagonists scopolamine and atropine are competitive antagonists at 5-HT3 receptors. Neuropharmacology. 2016;108:220-28.

Lordan R, Tsoupras A, Zabetakis I. Inflammation. The Impact of Nutrition and Statins on Cardiovascular Diseases. 2019;23-51.

Lorigados Pedre L, Gallardo J, Morales Chacón L, Vega García A, Flores-Mendoza M, Neri-Gómez T, ve ark. Oxidative stress in patients with drug resistant partial complex seizure. Behavioral Sciences. 2018;8(6):1-16.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. Journal of Biological Chemistry. 1951;193:265-275.

Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. Seizure. 2011;20:359-368.

Lv Y, Liang T, Wang G, Li Z. Ghrelin, a gastrointestinal hormone, regulates energy balance and lipid metabolism. Bioscience Reports. 2018;1-23.

Lyra Junior HF, de Lucca Schiavon L, Rodrigues IK, Couto Vieira DS, de Paula Martins R, Turnes BL, ve ark. Effects of ghrelin on the oxidative stress and healing of the colonic anastomosis in rats. Journal of Surgical Research. 2019;234:167–177.

Mani BK, Shankar K, Zigman JM. Ghrelin's relationship to blood glucose. Endocrinology. 2019;160(5):1247-1261.

Mansoor S, Khan SY, Khan S, Kakar N, Saadat S. A Brief history of epilepsy. Scholar Academic and Scientific Journel of Medicine. 2018;4(11):186-8.

Mao K, Lei D, Zhang H, You C. Anticonvulsant effect of piperine ameliorates memory impairment, inflammation and oxidative stress in a rat model of pilocarpine-induced epilepsy. Experimental and Therapeutic Medicine. 2016;13(2):695–700.

Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. Nitric Oxide. 2001;5:62-71.

Monaghan D. Dizocilpine. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. 2007;1–4.

Nahar M, Hasan W, Rajak R, Jat D. Oxidative stress and antioxidants: An Overview. International Journal of Advanced Research and Review. 2017;2(9):110-9.

Neha K, Haider MR, Pathak A, Yar MS. Medicinal prospects of antioxidants: a review. European Journal of Medicinal Chemistry. 2019;178: 687-704.

Newton CR, Preux PM. Epilepsy. Neuroepidemiology in Tropical Health. 2018;145-154.

Nurten A, Enginar N. The evaluation of antimuscarinic-induced convulsions in fasted rats after food intake. Epilepsy Research. 2006;72:171-7.

Nurten A, Ozerman B, Ozen I, Kara I. The role of solid food intake in antimuscarinic-induced convulsions in fasted mice. Epilepsy & Behavior. 2009;15:142-5.

Ochoa-Gómez L, López-Pisón J, Fuertes-Rodrigo C, Fernando-Martínez R, Samper-Villagrasa P, Monge-Galindo L, ve ark. Prognosis of non-symptomatic epilepsy in relation to their age of onset, monitored at a neuropediatric section of regional reference over a period of three years. Revista de Neurologia. 2016;62(4):145-151.

Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analycal Biochemistry. 1979;95:351-8.

Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. Journal of Clinical and Experimental Investigations. 2015;6(3):331-6.

Özdemir O, Özdemir Güzel P. Glutamat sistemi ve şizofreni. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar. Current Approaches in Psychiatry. 2016;8(4):394-405.

Özer Z, Bölüktaş Pınar R. Epilepsi hastalarında yaşam kalitesi. Turkiye Klinikleri Journal Internal Medicine Nursing-Special Topics. 2017;3(3):176-182.

Öztaş B, Şahin D, Kir H, Eraldemir FC, Musul M, Kuşkay S, ve ark. The effect of leptin, ghrelin, and neuropeptide-Y on serum Tnf-A, Il-1β, Il-6, Fgf-2, galanin levels and oxidative stress in an experimental generalized convulsive seizure model. Neuropeptides. 2017;61:31-37.

Paglian D, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Journal of Laboraty Clinical Medicine. 1967;70:158-169. .

Pearson-Smith J, Patel M. Metabolic dysfunction and oxidative stress in epilepsy. International Journal of Molecular Sciences. 2017;18(11):1-13.

Pereira JADS, da Silva FC, de Moraes-Vieira PMM. The Impact of ghrelin in metabolic diseases: an immune perspective. Journal of Diabetes Research. 2017;1-15.

Rana A, Musto AE. The role of inflammation in the development of epilepsy. Journal of Neuroinflammation. 2018;15(1):1-12.

Raol YH, Brooks-Kayal AR. Experimental models of seizures and epilepsies. Animal Models of Molecular Pathology. 2012;57–82.

Ren XQ, Ma R, Yang CQ, Liu QH, Jiao J, Zhang XL, ve ark. Kangxian capsules: effects on convulsive injuries, N -methyl- d -aspartate (NMDA) receptor subunit expression, and free Ca 2+ concentration in a rat hippocampal neuron epileptic discharge model. Seizure. 2016;40:27-32.

Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology. 2011;31(5):986–1000.

Rubio C, Rubio-Osornio M, Retana-Marquez S, Lopez M, Custodio V, Paz C. In vivo experimental models of epilepsy. Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry. 2010;10(4):298–309.

Sen A, Capelli V, Husain M. Cognition and dementia in older patients with epilepsy. Brain. 2018;141(6):1592–1608.

Sies H. Oxidative Stress. Fink G, editör. Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology. United State of America: Academic Press; 2019.

Singh A, Trevick S. The Epidemiology of global epilepsy. Neurologic Clinics. 2016; 34(4):837-847.

Sudha K, Rao AV, Rao A. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy. Clinica Chimica Acta. 2001;303(1-2):19-24.

Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clinical Chemistry. 1988;34:497-500.

Süleyman H, Gül V, Erhan E. Oksidatif stres ve doku hasarı. Erzincan Tıp Dergisi. 2018;(1):1-4.

Svalbe B, Stelfa G, Vavers E, Zvejniece B, Grinberga S, Sevostjanovs E, ve ark. Effects of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, MK-801, on spatial memory and influence of the route of administration. Behavioural Brain Research. 2019;1-9.

Takemiya T. Endothelial prostaglandin E2 regulates neuronal injury after seizure via activation of astrocytes. Journal of Neurology & Neuromedicine. 2017;2(8): 9-12.

Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges. Analytical Biochemistry. 2017;524:13–30.

Turrens JF. Superoxide dismutase and catalase. Comprehensive Toxicology. 2018;251-9.

Vaughan CJ, Delanty N. Pathophysiology of acute symptomatic seizures. Seizures: Medical Causes and Managementy. 2017;7-23.

Vezzani A, French J, Bartfai T, Baram TZ. The role of inflammation in epilepsy. Nature Reviews Neurology. 2011;7(1):31-40.

Wang A, Si Z, Li X, Lu L, Pan Y, Liu J. FK506 attenuated pilocarpine-induced epilepsy by reducing inflammation in rats. Frontiers in Neurology. 2019;10:1-9.

Werhahn KJ. Epilepsy in the elderly. Deutsches Aerzteblatt Online. 2009;106(9):135-142.

White CR, Anantharamaiah GM. Cholesterol reduction and macrophage function. Current Opinion in Lipidology. 2017;28(5):397-402.

Wilkes J, Alexander M, Cullen J. Superoxide dismutases in pancreatic cancer. Antioxidants. 2017;6(3):66.

Witherow B. What are antioxidants?. Equine Health. 2019;48:8-11.

Xu LJ, Liu AL, Du GH. Scopolamine. Natural Small Molecule Drugs from Plants. 2018;319-324.

Yang B, Ren Q, Ma M, Chen QX, Hashimoto K. Antidepressant effects of (+)-MK-801 and (-)-MK-801 in the social defeat stress model. International Journal of Neuropsychopharmacology. 2016;19(12):1-5.

Yavuz Vanlı EN, Tüzün E. Epilepsi ve otoimmünite: temel fizyopatolojik mekanizmalar. Epilepsi. 2016;22:1-6.

Yuen AWC, Keezer MR, Sander JW. Epilepsy is a neurological and a systemic disorder. Epilepsy & Behavior. 2018;78:57–61.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Van'da doğdu. 2006 yılında lise öğrenimini Van Vali Haydar Bey Lisesi'nde tamamladı. 2009 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ne yerleşti. 2014 yılında İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldu. 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalı, Farmakoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2015 yılı kasım ayından Sağlık Bakanlığı Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne atandı. 2018 yılından itibaren tıbbi sarf depo sorumlusu olarak halen görevine devam etmektedir.

EKLER

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

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

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

	Araştırmanın Adı	Aç Farelere Skopolamin Uygulanması ve Yem Verilmesi ile Oluşan Konvülsiyonlarda MK-801'in Beyin Dokusundaki Oksidatif Stres, İnflamasyon ve Ghrelin Düzeylerine Etkilerinin Araştırılması
	Araştırmanın Yürütücüsü	Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ
	Yardımcı Araştırıcılar	Dr. Öğr. Üyesi Oruc ALLAHVERDİYEV Yük. Lis. Öğr. Yakup AKKUŞ
	Kurumu	Eczacılık Fakültesi
	Araştırmanın Tahmini Süresi	12 Ay
	Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Fare 48 Adet
	Destekleyecek Kuruluş (lar)	-
	Başvuru Tarihi	18.07.2018

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:2018/09**	**Tarih:27.09.2018**
	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen yüksek lisans projesi, gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği / oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırıcılarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

	BAŞKAN/CHAİR Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	**ÜYE** Prof. Dr. Sıddık KESKİN	**ÜYE** Prof. Dr. Suphi DENİZ
ÜYE Prof. Dr. Nalan ÖZDAL	**ÜYE** Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	**ÜYE** Doç. Dr. Yıldıray BAŞBUĞAN
ÜYE Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	**ÜYE** Dr. Öğr. Üyesi. Oruc ALLAHVERDİYEV	**ÜYE** Dr. Öğr. Üyesi Canser Yılmaz DEMİR
ÜYE Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDINYURT	**ÜYE** Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN	**ÜYE** Vet. Hek. Kerem OĞRAK
ÜYE Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET	**ÜYE** Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU	

***Bu form VAN YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.**

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

VAN YÜHADYEK
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

ARAŞTIRMA KESİN SONUÇ ONAY BELGESİ

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

Araştırmanın Adı *Research Title*	Aç farelere skopolamin uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvülsiyonlarda MK-801'in beyin dokusundaki oksidatif stres, inflamasyon ve ghrelin düzeylerine etkilerinin araştırılması Investigation of the effects of MK-801 on oxidative stres, inflammation and ghrelin levels in brain tissue and the scopolamine induced convulsions in fasted mice after food intake
Araştırıcı(lar) *Investigator(s)*	**Yürütücü** / *Chief investigator :* **Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ**
	Yardımcı Araştırıcı(lar) / *Co-investigator(s):* **YL. Öğrencisi Yakup AKKUŞ** **Dr. Öğr. Üyesi Oruç YUNUSOĞLU**
Araştırmanın Başlama Tarihi / *Research Starting Date:* **02.10.2018**	
Araştırmanın Bitiş Tarihi / *Research Completion Date:* **05.10.2019**	
Proje Süresi / *Total Time of Project:* **12 ay**	
Proje No / *Project Number:* **TYL-2019-7854**	
Araştırmayı Destekleyen Kuruluş (varsa)/ *Funding institution(s) (if available):* **Van YYÜ BAP Koordinasyon Birimi**	
Destek Şekli ve Miktarı / *Type and amount of funding:* **Tez Projesi, Yüksek Lisans (9893,72 TL)**	
Karar: Yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin kesin sonuç raporu Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27/06/2019 tarih ve 2019/06 sayılı kararı ile kabul edilmiştir. ***Decision:*** *Final report of the research project detailed above was approved by Van Yuzuncu Yil University Animal Researches Local Ethic Committee in the session held on 27/06/2019. (decision number 2019/06).*	

	BAŞKAN/CHAIR Prof. Dr. Semiha DEDE	
ÜYE/Member Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL	**ÜYE/Member** Prof. Dr. Sıddık KESKİN	**ÜYE/Member** Prof. Dr. Nalan ÖZDAL
ÜYE Prof. Dr. Atilla DURMUŞ	**ÜYE/Member** Doç. Dr. Ferda KARAKUŞ	**ÜYE/Member** Doç. Dr. Yıldıray BAŞBUĞAN
ÜYE/Member Doç. Dr. Canser Yılmaz DEMİR	**ÜYE/Member** Dr. Öğr. Üyesi Oruç YUNUSOĞLU	**ÜYE/Member** Dr. Öğr. Üyesi Hacer ŞAHİN AYDINYURT
ÜYE/Member Dr. Öğr. Üyesi Şükrü ÖNALAN	**ÜYE/Member** Vet. Hek. Kerem OĞRAK	**ÜYE/Member** Vet. Hek. İsmail Hakkı BEHÇET
ÜYE/Member Zir. Müh. Kenan YILDIRIMOĞLU		

EK 3. Tez Orjinallik Raporu

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

LİSANSÜSTÜ TEZ ORİJİNALLİK RAPORU

Tarih: 26/11/2019

Tez Başlığı / Konusu: **Aç farelere skopolamin uygulanması ve yem verilmesi ile oluşan konvülsiyonlarda MK-801'in beyin dokusundaki oksidatif stres, inflamasyon ve ghrelin düzeylerine etkilerinin araştırılması**

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 59 sayfalık kısmına ilişkin, 26/11/2019 tarihinde tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 19 (yüzde on dokuz) dır.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

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

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

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Yakup AKKUŞ
İmza

Öğrencinin Adı Soyadı		Yakup Akkuş
Anabilim Dalı	:	Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalı
Öğrenci No		159306003
Programı	:	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BERKÖZ

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR
(Unvan, Ad Soyad, İmza)