



T.C.
İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARVAKROLÜN, SIÇANLARDA PENİSİLİN
VE PENTİLENTETRAZOL İLE
OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL EPİLEPSİ
MODELLERİNDE ANTİEPİLEPTİK
ETKİLERİ**

Dr. Handan EKSİK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Kasım, 2023
İSTANBUL**



T.C.

İSTANBUL MEDENİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KARVAKROLÜN, SIÇANLARDA PENİSİLİN
VE PENTİLENTETRAZOL İLE
OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL EPİLEPSİ
MODELLERİNDE ANTİEPİLEPTİK
ETKİLERİ**

Dr. Handan EKSİK

**TEZ DANIŞMANI:
PROF. DR. SEYİT ANKARALI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Kasım, 2023
İSTANBUL**

ONAY

Handan Eksik'in tıpta uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

İMZA

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Seyit ANKARALI

Üyeler:

Prof. Dr. Sadrettin PENÇE

Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ

Tez Savunma Tarihi: 06/11/2023

YAZAR BİLDİRİMİ

“KARVAKROLÜN, SIÇANLARDA PENİSİLİN VE PENTİLENTETRAZOL İLE OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİNDE ANTİEPİLEPTİK ETKİLERİ” isimli uzmanlık tezinde Dr. Handan EKSİK

- Bu çalışmada adı geçen ilaç, tıbbi cihaz ve laboratuvar malzemelerinin üreticileri ile herhangi bir çıkar ilişkisi yoktur.
- Bu çalışmadan elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak göstermiştir. Tezin yazımı sırasında telif haklarını ihlal edici bir davranışta bulunmamıştır.
- Tez içerisinde başka kaynaklardan kopyalanmış olan kısımları tırnak içerisine alarak ve izin alınan kaynağı belirterek kullanmıştır.

Kasım, 2023

Dr. Handan EKSİK

İmza:

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmamı yaparken yardımları ile tez yazımımı kolaylaştıran tez danışmanım Prof. Dr. Seyit ANKARALI'ya teşekkür ederim. İstatistiksel analizde emeği geçen Prof. Dr. Handan ANKARALI'ya, deneylerin yapılmasında ve analizlerinde desteğini esirgemeyen Doç.Dr. Erkan KILINÇ'a ve Asist. Prof. Ethem TORUN'a, destek veren diğer tüm hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma, tez yazımında maddi manevi yardımını hiçbir zaman esirgemeyen değerli eşime ve aileme teşekkür ederim.

Handan EKSİK

İÇİNDEKİLER

ONAY.....	
YAZAR BİLDİRİMİ.....	
TEŞEKKÜR.....	
İÇİNDEKİLER.....	
KISALTMALAR.....	
TABLO LİSTESİ.....	
ŞEKİL LİSTESİ.....	
ÖZET.....	
İNGİLİZCE ÖZET.....	
GİRİŞ ve AMAÇ.....	
GENEL BİLGİLER.....	
EPİLEPSİ.....	
Epidemiyoloji.....	
Etiyoloji.....	
Patofizyoloji.....	
Epileptik Aktivitenin Yayılması ve Senkronizasyonu.....	
Tanı.....	
Tedavi.....	
DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ.....	
Basit Parsiyel Epilepsi Modelleri.....	
Kompleks parsiyel epilepsi modelleri.....	
Jeneralize Tonik-klonik Epilepsi Modelleri.....	
Status Epileptikus Modeli.....	
KARVAKROL.....	
Karvakrolün Etkileri.....	
Farmakokinetik.....	
Karvakrolün Güvenilirliği.....	
GEREÇ VE YÖNTEM.....	
ÇALIŞMA GRUPLARI VE UYGULANACAK İŞLEMLER.....	
PTZ-indüklü Grup.....	
Penisilin-indüklü Grup.....	
İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	

BULGULAR.....	
Davranışsal Evre.....	
Miyoklonik Jerkin İlk Görüldüğü Zaman.....	
Jenaralize Tonik-klonik Nöbet Geçirme Sıklığı.....	
Jenaralize Tonik-klonik Nöbetin Başlangıç Zamanı.....	
Jenaralize Tonik-klonik Nöbet Geçirilen Toplam Süre.....	
KARVAKROL DOZLARININ PENİSİLİN ÇALIŞMASINA ETKİSİ.....	
Latens Süre.....	
Karvakrol Dozlarının Diken Dalga Sayısına Etkisi.....	
Karvakrol Dozlarının Dalga Genliğine Etkisi.....	
Karvakrolün Bazal Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	
TARTIŞMA.....	
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	
KAYNAKÇA.....	
EKLER	

KISALTMALAR

AEİ	Antiepileptik İlaçlar
BDNF	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
Ca⁺²	Kalsiyum
CaCo-2	Cell Line of Human Colorectal Adenocarcinoma Cells
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CAT :	Katalaz
cGMP :	Siklik Guanozin Monofosfat
Cl :	Klor
CMV :	Sitomegalovirüs
CO₂ :	Karbondioksit
COX :	Siklooksijenaz
DALY :	Disability-adjusted life year (Engelliliğe Göre Ayarlanmış Yaşam Yılı)
DMSO :	Dimetil sülfoksit
DRG :	Dorsal Kök Gangliyonu
DSÖ :	Dünya Sağlık Örgütü
ECoG :	Electrocorticography (Elektrokortigogram)
ED₅₀ :	Effective Dose for 50% of the Population (Popülasyonun Yarısında Etkili Olan Doz)
EEG :	Elektroensefalografi
EPSP :	Eksitator Postsinaptik Potansiyel
VKKK :	Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları (voltage-gated Ca channels/VGCC)
g/kg :	Gram/Kilogram
GABA :	Gama-aminobutirik Asit
GSH :	Glutasyon
GSH-Px :	Glutasyon Peroksidaz
GSSG :.....	Okside Glutasyon
GST :.....	Glutasyon S-Transferazlar
H₂O₂ :.....	Hidrojen Peroksit
HEK293 :.....	Human embryonic kidney 293 cells
HepG2 :.....	Human hepatocellular carcinoma G2 cell line

HSV:	Herpes Simplex Virüs
Hz:	Hertz
I_{can}:	Ca ile aktive olan nonspesifik katyon akımı
I.C.:	Intracortical (İntrakortikal)
IFN:	İnterferon
IL:	İnterlökin
ILAE:	International League Against Epilepsy (Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği)
I.M.:	İntramuscular (İntramusküler)
I.P.:	İntraperitoneal
IP3:	İnozitol Trifosfat
IPSP:	İnhibitör Postsinaptik Potansiyel
IU:	İnternational Unit (Uluslararası Birim)
I.V.:	İntravenous (İntravenöz)
K⁺:	Potasyum
Cl[Ca⁺²]:	Ca ⁺² ile aktive edilmiş klor kanalları
K[Ca⁺²]:	Ca ⁺² ile aktive edilmiş potasyum kanalları
KBB:	Blood-brain barrier; BBB (Kan-beyin bariyeri)
KOAH:	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
mA:	Miliamper
MDA:	Malondialdehid
MEG:	Manyetoensefalografi
MES:	Maksimal elektroşok
mg/dl:	Miligram/Desilitre
Mg⁺²:	Magnezyum
MIP:	Makrofaj İnflamatuar Proteinin
mM:	Milimolar
MMC:	Mitomisin C
MRI:	Magnetic Resonance İmaging (Manyetik Rezonans Görüntüleme)
MRS:	Manyetik Rezonans Spektroskopi
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
N2a:	Mouse Neuroblastoma Cell Line
Na⁺²:	Sodyum

nAChR:	Nikotinik asetilkolin reseptörleri
NMDA:	N-Methyl-D-Aspartat (N-Metil-D-Aspartat)
Non-REM:	Non-Rate Eyes Movement
O₂⁻:	Süperoksit
ONOO⁻:	Peroksinitrit
PDS:	Paroksizmal Depolarizasyon Sıpması
PET:	Pozitron Emisyon Tomografisi
PGE:	Prostaglandin E
PTZ:	Pentilentetrazol (1,5- pentamethylene; 6, 7, 8, 9 tetrahidro- 5 azetpotetrazol)
REM:	Rapid Eye Movements
SEEG:	Stereoelektroensefalografi
SF:	Serum Fizyolojik
SO₄⁻²:	Sülfat
SOD:	Süperoksit Dismutaz
SPECT:	Single-photon emission computed tomography (tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi)
SUDEP:	Sudden unexpected death in epilepsy (Epilepside Ani Beklenmedik Ölüm)
TNF:	Tümör Nekrozis Faktörler
TRP:	Transient Receptor Potential Channel (Transient Reseptör Potansiyeli Kanalı)
Tutuşma:	Kindling
VEGF:	Vascular Endotelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)
WHO:	Worth Health Organization
α:	Alfa
β:	Beta
δ:	Delta
θ:	Teta
γ:	Gama
μl:	Mikrolitre

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1. Endojen ve eksojen antioksidanlar.....	
Tablo 1.2. EEG dalgalarının frekansı ve genliği.....	
Tablo 1.3. Etki seviyesi ve epilepsi türüne göre antiepileptiklerin sınıflandırılması	
Tablo 1.4. Etki mekanizmasına göre antiepileptiklerin sınıflandırılması.....	
Tablo 1.5. Sık kullanılan antiepileptikler.....	
Tablo 1.6. Deneysel Epilepsi modelleri.....	
Tablo 1.7. Racine skalası.....	
Tablo 1.8. Karvakrolün Antimikrobik Etkisi Olduğu Bilinen Mikroorganizmalar.....	
Tablo 1.9. Karvakrolün sitotoksik olduğu bazı kanser hücreleri.....	
Tablo 2.1. PTZ-indüklü gruba uygulanacak işlemler.....	
Tablo 2.2. Penisilin-indüklü gruba uygulanacak işlemler	
Tablo 3.1. PTZ gruplarının davranışsal evre açısından karşılaştırmalı sonuçları.....	
Tablo 3.2. PTZ gruplarının miyoklonik jerkin ilk görüldüğü zaman açısından karşılaştırmalı sonuçları.....	
Tablo 3.3. PTZ gruplarındaki jeneralize tonik-klonik nöbet geçirme sıklığı.....	
Tablo 3.4. PTZ gruplarının jeneralize tonik-klonik nöbetin başladığı zaman açısından karşılaştırmalı sonuçları.....	
Tablo 3.5. PTZ gruplarının jeneralize tonik-klonik nöbe geçirilen toplam süre açısından karşılaştırmalı sonuçları.....	
Tablo 3.6. Penisilin gruplarında diken dalga sayısının farklı periyotlar ve gruplara göre tanımlayıcı değerleri.....	
Tablo 3.7. Dalga genliğinin farklı periyotlar ve gruplara göre tanımlayıcı değerleri.....	

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1. Dünya genelinde epilepsinin etiyolojik faktörlerinin sıklığı.....	
Şekil 2. Paroksizmal Depolarizasyon Sapması [PDS].....	
Şekil 3. Bir sinir hücresinde gerçekleşen PDS deşarjıyla aktiveleşen kanalların eş zamanlı gösterimi.....	
Şekil 4. Nöron ve gliyal hücredeki epileptik deşarj ile sitokinlerin ilişkisi.....	
Şekil 5. Oksidan ve antioksidan yollar.....	
Şekil 6. Entorhinal kortekse gelen girdilerin hipokampusa iletilmesi.....	
Şekil 7. Uyku ve uyanıklık döngüsü.....	
Şekil 8. Diken dalga ve keskin dalga örneği.....	
Şekil 9. Karvakrol ve timolün moleküler yapısı ve sentez edildikleri bileşikler.....	
Şekil 10. Karvakrolün etkileri.....	40
Şekil 2.1. a)Hayvanın davranışsal gözlemi, b)Jeneralize tonik-klonik nöbet geçiren hayvan.	48
Şekil 2.2. Hayvanda bregma noktasının ortaya çıkarılması.....	
Şekil 2.3. Elektrotların yerleştirilmesi.....	
Şekil 2.4. ECoG kaydı periyotları.....	
Şekil 3.1. Gruplara göre diken dalga sayısındaki periyodik değişim.....	
Şekil 3.3. Genlikteki periyodik değişim.	

ÖZET

KARVAKROLÜN, SIÇANLARDA PENİSİLİN VE PENTİLENTETRAZOL İLE OLUŞTURULMUŞ DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİNDE ANTİEPİLEPTİK ETKİLERİ

Kekik uçucu yağının bir bileşeni olan karvakrolün literatürde pek çok iyon kanalıyla ilişkili bulunduğu çalışmalar vardır. Antikonvulsan etkisi üzerine yapılan çalışmalar ise sınırlı sayıdadır ve karvakrolün epileptiform aktiviteye etkisi halen belirsizliğini korumaktadır. Sunulan çalışmanın amacı, karvakrolün sıçanlarda penisilin ve pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulmuş deneysel epilepsi modellerinde akut antikonvulsan etkilerini incelemektir.

Çalışmada kullanılan Wistar cinsi 63 erkek sıçan penisilin ve PTZ çalışma grubu olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Her iki çalışma grubundaki sıçanlara 25, 75 ve 150 mg/kg karvakrol uygulandı. PTZ çalışmasında, karvakrol grubundaki hayvanlara karvakrol uygulamasından 30 dk sonra intrakortikal PTZ enjeksiyonu yapıldı. Kontrol grubuna ise %0.1 DMSO intraperitoneal enjekte edildi. Hayvanlar davranışsal evre, ilk miyoklonik jerk gösterdiği zaman, ilk jenaralize tonik-klonik geçirdiği zaman ve jenaralize tonik-klonik nöbet geçirdiği toplam süre açısından 4 parametre üzerinden değerlendirildi. Penisilin çalışmasında ise hayvanlara intrakortikal penisilin uygulamasından 30 dk sonra; karvakrol dozları veya %0.1 DMSO verildi. Salin kontrol grubuna ise penisilin yerine 2.5 µl salin enjekte edildi. Hayvanlar diken dalga (spike) sayısı ve maksimum dalga genliği olmak üzere 2 parametre açısından değerlendirildi. Elektrofizyolojik kayıtlar PowerLab/8SP veri kayıt sistemi ile kaydedilip, PowerLab Chart v.7.2.1 yazılım programı ile 10'ar dakikalık periyotlara ayrılarak analiz edildi. Davranışsal ve

elektrofizyolojik parametreler açısından grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı ve farklı gruplar post hoc Dunn testi ile belirlendi.

Pentilentetrazol çalışmasında, karvakrolün sadece 150 mg/dl dozunda miyoklonik jerk başlangıç süresini geciktirdiği bulundu. Diğer davranışsal parametrelere herhangi bir etkisi yoktu. Penisilin çalışmasında ise karvakrolün 75mg/dl dozunda diken dalga sayısını düşürdüğü gözlemlendi.

Sunulan çalışmada karvakrolün, akut anti-konvulsan etkinliğinin olduğu gösterildi. Karvakrolün bu sınırlı akut etkisi, epileptik odağa yetersiz geçişiyle ilişkili olabilir. Gelecekte karvakrol ile ilgili yapılabilecek kronik epilepsi modellemeler ile moleküler ve farmakokinetik çalışmalar bu konuya ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Karvakrol, miyoklonik jerk, jeneralize tonik-klonik nöbet, pentilentetrazol

ABSTRACT

THE ANTI-CONVULSANT EFFECTS OF CARVACROL IN PENICILLIN- AND PENTYLENETETRAZOLE-INDUCED RAT MODELS OF EPILEPSY

Carvacrol, a component of thyme essential oil, has many effects such as antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant. Despite its extensive effects, the effect of carvacrol on epileptiform activity is still unclear. To investigate antiepileptic effects of carvacrol in rats with penicillin and pentylenetetrazole induced experimental models of epilepsy is the aim of our study.

Invasive products applied to animals and behavioral observations were achieved in Bolu Abant İzzet Baysal University Experimental Animals Application and Research Center. Wistar male rats used in the study were divided into two main groups as penicillin and PTZ (pentylenetetrazole) groups. Rats in both study groups were administered intraperitoneal (i.p.) 25 mg/kg, 75 mg/kg and 150 mg/kg of carvacrol. In the PTZ study, 30 second after carvacrol enjection, rats were administered i.p. PTZ and 4 parameters were evaluated as the behavioral stage, the first myoclonic jerk showed time, the first generalized tonic-clonic seizure time and the total time of the generalized tonic-clonic seizure. In the penicillin study, 30 second after intracortical (i.c.) penicillin enjection rats were administered i.p. carvacrol and 2 parameters were evaluated as the spike number and wave amplitude. Electrophysiological recordings were recorded with the PowerLab/8SP data recording system, divided into 10 minute periods and analyzed with the PowerLab Chart v.7.2.1 software program. Kruskal-Wallis test was used to compare the groups in terms of spike number and wave amplitude for each period and different groups were determined by post hoc Dun test.

In PTZ study, carvacrol at the dose of 75mg/dl was delayed the myoclonic jerk onset but has no effect on other parameters. In penicillin study, carvacrol was reduced spike frequency (75mg/dl) and wave amplitude (150mg/dl).

In our study, An experiment on the effect of carvacrol on acute epilepsy models achieved and the conclusion that carvacrol at the doses of 75mg/dl and 150mg/dl has been antiepileptic effectivity reached.

Keywords: Carvacrol, generalized tonic-clonic seizure, myoclonic jerk, pentilentetrazol



GİRİŞ ve AMAÇ

En yaygın nörolojik hastalıklardan biri olan epilepsi, dünya nüfusunun yaklaşık %1'ini etkilemektedir [1]. Ani, tekrarlayan, aşırı ve geçici nöronal deşarjın spontan nöbetlere yol açtığı hastalığın patogeneğinde glutamaterjik, kolinerjik ve gabaerjik sistemler gibi çeşitli nörotransmitter sistemlerini içeren karmaşık mekanizmalar bulunmaktadır. Epilepsinin farmakolojik tedavisi için çok sayıda klasik ve modern antikonvülzan ilaçlar mevcuttur. Ancak dünya çapında, vakaların %20'sinden fazlasında nöbetler refrakter olmaya devam etmektedir. Son dönemde, birkaç yeni antikonvülzan ilaç geliştirilse de hastaların yaklaşık üçte biri, birden fazla ilaç kullanılmasına rağmen tedaviye yanıt vermemektedir [2]. Ayrıca epilepsi hastalarının %50'den fazlası, ilaç tedavisinin hayatı tehdit edenler de dâhil istenmeyen yan etkilerle karşı karşıyadır [3]. Bu nedenlerle, doğal kaynaklardan, artırılmış etkinlik ve minimum yan etkili yeni antikonvülsif ilaçlar keşfetmeyi hedefleyen yaklaşımlar vardır [4,5].

Çeşitli aromatik bitki türlerinin uçucu yağları veya kimyasalları tıbbi olarak kullanılmaktadır. Farklı aromatik bitkilerdeki çeşitli uçucu yağların veya ana bileşenlerin, antikonvülzan aktivite sergilediği daha önce bildirilmiştir [6]. Bu nedenle, gelecekte uçucu yağlardan türetilen yeni antiepileptik ilaçların geliştirilmesine yönelik genel yaklaşım umut vadetmektedir. Karvakrol, pek çok aromatik bitkiden üretilen bir monoterpenik fenoldür. Başlıca antioksidan, antibakteriyel ve antienflamatuvar etkiler gibi birçok etkiye sahiptir [7]. Antikonvulsan etkinlik de bunlardan biridir [8].

Transient receptor potential (TRP) kanalları, başta Ca^{+2} olmak üzere, Na^{+2} , Mg^{+2} gibi iyonların zardan taşınmasını sağlayan seçici olmayan bir katyon taşıyıcısıdır. İndirekt ya da direkt yolla hücre içi Ca^{+2} miktarını artırarak uyarılabilir hücrelerin depolarizasyonuna yardımcı olurlar [9]. Çeşitli uçucu yağların veya komponentlerinin de bu kanalı uyarabildiği bilinmektedir. Karvakrol de bunlardan biridir [6]. Karvakrolün voltaj kapılı sodyum kanallarını inhibe ederek nöronal uyarılmayı azalttığı da daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir [10]. Tetikleyici ilk faktör ne olursa olsun epileptik nöbetlerin hücresel düzeyde nöron içi pozitif yük artışından kaynaklandığı iyi

bilinmektedir. Bunun bir sonucu olarak günümüzde epileptik nöbetlerin profilaktik ve semptomatik tedavisinde kullanılan ilaçların hedefi hücre içi pozitifliği azaltmaktır. Ayrıca epileptogenezin nöroinflamasyon ve oksidatif stresle ilişkisi olduğu bilinmektedir [11,12]. Karvakrolün, TRP ve voltaj kapılı Na^{+2} kanallarının modülasyonu yoluyla hücreye pozitif yük girişini engelleyici özelliği, antienflamatuvar ve antioksidan özellikleri ile birlikte ele alındığında, bu fitokimyasalın antiepileptik ilaç araştırmaları için iyi bir hedef olduğu açıkça görülmektedir.

Karvakrolün nöronlara kalsiyum ve sodyum girişini azaltarak epileptik nöbetlerin altında yatan nöronal eksitabiliteyi azaltacağı ve bunun sonucunda nöbetleri önleyebileceği hipotezimizin temelini oluşturmaktadır. Daha önce karvakrolün konvülzan aktiviteyi azalttığına yönelik bulgular da deneysel epilepsi modellerinde karvakrolün antiepileptik etki gösterebileceği yönündeki hipotezimizi desteklemektedir [8]. Bu hipotez doğrultusunda sunulan çalışmada karvakrolün, sıçanlarda pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde epileptik nöbetlerin davranışsal karakteristikleri üzerine penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modelinde ise elektrofizyolojik epileptiform aktiviteye (spike, dalga genliği) muhtemel antiepileptik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda 25mg/dl, 75 mg/dl ve 150 mg/dl dozlarında karvakrol intraperitoneal yolla hayvanlara uygulanacaktır. Karvakrol dozları, penisilin uygulamasından 30 dk sonra, PTZ uygulamasından ise 30 dk önce uygulanacaktır.

GENEL BİLGİLER

EPİLEPSİ

Nöbet beyindeki nöronların ani, aşırı ve geçici hipersenkronize deşarjının neden olduğu nörolojik fonksiyonlardaki paroksizmal bir değişikliktir [13]. Epileptik nöbetler, provoke edilmemiş, spontan nöbetler olarak ayrı bir alt kümede yer alırlar. Bazı nöbetler, tekrarlansa bile kendi başına epilepsi ile eş anlamlı değildir ve epileptik nöbet olarak kabul edilmezler.

Epilepsi farklı etiyoloji, risk faktörleri ve belirtilere sahip olabilecek tekrarlayan epileptik nöbetlere kalıcı yatkınlıkla birlikte biyolojik, kognitif, psikolojik ve sosyal sonuçlar doğuran bir hastalıktır. Epilepsi sendromu ise, benzer nöbet tipi, başlangıç yaşı, EEG bulguları, tetikleyici faktörler, genetik, doğal seyir, prognoz ve antiepileptik ilaçlara yanıtla birlikte ortaya çıkan bir grup klinik özelliği ifade eder. Nöbetler tipik olarak 10-90 saniye süren kısa süreli olaylardır ve klinik belirtileri çok çeşitlidir.

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği (ILAE), kısa bir süre önce epilepsiyi şu üç koşuldan en az birine göre tanımlamıştır [14]:

- 24 saatten fazla arayla meydana gelen en az iki provoke edilmemiş nöbet,
- Tek bir provoke olmayan veya provoke nöbet ile birlikte 10 yıl içinde tekrar edebilecek nöbet riskinin yüksek ($>60\%$) olduğunun; klinik, elektroensefalografi (EEG) ve nöro-görüntüleme yöntemleri ile gösterilmiş olması,
- Bir epilepsi sendromu tanısı.

Epidemiyoloji

Epilepsi, nörolojik hastalıkların yaygınlık sıralamasında ilk sıralarda yer alan ve her yaştan, ırktan, sosyal sınıftan ve coğrafi konumdan insanı etkileyen bir hastalıktır. Epilepsi, 13 milyondan fazla DALY (disability-adjusted life-year; engelliliğe göre ayarlanmış yaşam yılı) ile dünya çapındaki hastalık yükünün önemli bir bölümünü temsil etmektedir [15].

Epilepsinin yaşam boyu prevalansı 1000 kişi başına 7,6'dır. Bu değer, genel olarak toplumda, yaşamın herhangi bir döneminde nöbet geçirme olasılığını yansıtmaktadır [17]. Meta-analitik bir çalışmaya göre, gelişmiş ülkelerde 6,8 milyon, gelişmekte olan ülkelerde kırsal kesimde 45 milyon, kentsel kesimde ise 17 milyon olmak üzere toplamda 68,8 milyon epilepsi hastası olduğu tahmin edilmektedir [16]. Bildirilen tahminler, incelenen popülasyonlar arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Bu oran, sağlıksız ve sosyal açıdan yoksun bölgelerde daha yüksek olma eğilimindedir.

Epilepsi insidansı, uluslararası meta-analitik ve sistematik bir çalışmada, yılda 50-74/100.000 aralığındadır [17]. Başka bir çalışmada ise düşük ve orta gelirli ülkelerde 69-278/100.000, yüksek gelirli ülkelerde ise 39-61/100.000 aralığında olduğu bildirilmiştir [18].

Düşük/orta gelirli ülkeler ile yüksek gelirli ülkelerde benzer prevalans oranları varken insidans, düşük/orta gelirli ülkelerde daha yüksektir [19]. Bu çelişki akut semptomatik nöbet, ölüm ve yanlış tanı ile açıklanabilir.

Cinsiyet

Epilepsi her iki cinsiyeti de etkiler ancak prevalans ve insidansı erkeklerde kadınlara göre daha yüksektir [19].

Yaş

Epilepsi hemen her yaşta görülebilir. Yaklaşık %75'i çocuklukta başlar ve yaşlılıkta pik yapar. Bu durumun bu yaş grubundaki inme, nörodejeneratif hastalıklar ve tümörlerin sıklığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çocuklarda epilepsi görülme sıklığı 41-187/100.000 arasında değişmektedir. Çocuklarda epilepsi insidansı yaşamın ilk yılında en yüksektir ve 10 yaşın sonunda erişkin düzeylerine düşer [20].

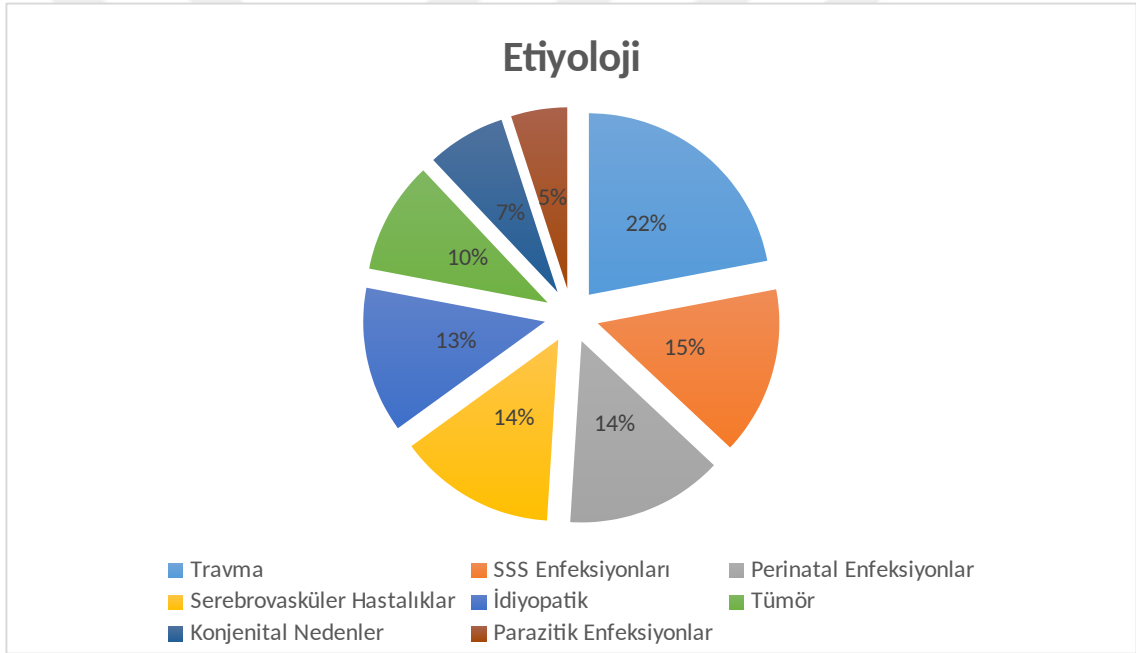
İstatistiksel çalışmalar bize, epilepsinin dünya çapındaki önemini ve hastalığı ortadan kaldıracabilecek yeni tedavilerin arayışına ağırlık vermemiz gerektiğini göstermektedir.

Etiyoloji

Etiyolojiyi bilmenin tanı ve tedavideki önemi büyüktür. Örneğin; yapısal nedenler düşünülüyorsa, tanıda ilk sırada Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG;

Magnetic Resonance İmaging; MRI) gibi görüntüleme tetkikleri istenir ve medikal tedavi başarısızlığında cerrahi düşünülebilir. Genetik neden düşünülüyorsa genetik danışmanlık hizmeti verilebilir.

Etkilenen popülasyona göre etiyolojik nedenler değişmektedir. 2005 yılında yayınlanan bir rapora göre dünya genelindeki epilepsi vakalarında en sık raporlanan etiyolojik faktör travmadır. Travmayı, sırasıyla santral sinir sistemi enfeksiyonları, perinatal risk faktörleri ve serebrovasküler hastalıklar izlemektedir (Şekil 1.1). Epilepsinin en sık nedenlerinden olan bu dört nedenin önlenabilir olması dikkat çekicidir. Diğer epilepsi nedenleri arasında; idiyopatik, konjenital defektler, parazitik enfestasyonlar, eksojen kimyasallar (alkol, ilaçlar), dejeneratif hastalıklar, febril konvulsiyon, hipokampal skleroz ve serebral palsi yer almaktadır [21].



Şekil 1.1. Dünya genelinde epilepsinin etiyolojik faktörlerinin sıklığı [21]

ILAE (International League Against Epilepsy)'nin 2017'de yayınladığı bir raporda epilepsi nedenleri yapısal, genetik, enfektif, metabolik, immün ve idiyopatik olmak üzere gruplandırılmıştır [14].

1.

2.

2.1.

2.1.1.

2.1.1.1.

2.1.1.2.

2.1.1.3.

Yapısal

Genetik (tuberoskleroz ve hamartomlar) veya edinilmiş (inme, travma, enfeksiyon) nedenler sebep olabilir. Tümörler, epilepsinin etiyolojik sıralamasında 6. Sıradadır [21].

1.

2.

2.1.

2.1.1.

2.1.1.1.

2.1.1.2.

2.1.1.3.

2.1.1.4.

Genetik

Epilepsiler için genellikle poligenik ve multifaktöriyel kalıtım söz konusudur. Bu heterojenite nedeniyle sendromların altında yatan kalıtım özelliklerini anlayabilmek zordur.

Şiddetli gelişimsel ve epileptik ensefalopatili infantların %30-50'sinde çoğu *de novo* olmak üzere epileptik mutasyonlar belirlenmiştir [22]. İyon kanallarını kodlayan genlerdeki mutasyonlar, eksitasyon ve inhibisyon arasındaki dengenin bozulmasına yol açarak epilepsi sendromlarına neden olurlar. Örneğin benign familyal neonatal konvulsiyonlar potasyum kanallarıyla ilişkili otozomal dominant bir hastalıktır [23].

Genetik nedenler oldukça çeşitlidir ve henüz çoğu bilinmemektedir. Moleküler genetiğin ilerlemesi genetik nedenlerin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Genetik nedenli epilepsi nöbetlerinde bulgular yaşa bağımlıdır. Genetik nedenlere çevresel faktörler katkı yapabilir. Örneğin uyku yoksunluğu, yorgunluk ve stres gibi durumlarda nöbet geçirme olasılığı daha yüksektir.

1.

2.

2.1.

2.1.1.

2.1.1.1.

2.1.1.2.

2.1.1.3.

2.1.1.4.

2.1.1.5.

Enfeksiyon

Abse, ensefalit ve bakteriyel menenjit epilepsiye en sık sebep olan santral sinir sistemi enfeksiyonlarıdır. Nedenler arasında tuberkuloz menenjiti, nörosistiserkozis, HIV, serebral malarya, subakut sklerotik panensefalit, serebral toksoplazmozis, *Sitomegalovirüs* ve *Zika virüs* enfeksiyonları bulunmaktadır.

1.

1.1.

1.1.1.

1.1.1.1.

1.1.1.2.

1.1.1.3.

1.1.1.4.

1.1.1.5.

1.1.1.6.

Metabolik

Metabolik nedenler arasında porfiri, üremi, aminoasidopati ve piridoksin eksikliği yer almaktadır. Çoğu durumda altta yatan genetik bir kusur bulunmaktadır. Serebral folat eksikliği edinsel bir metabolik nedendir.

1.

2.

2.1.

2.1.1.

2.1.1.1.

2.1.1.2.

2.1.1.3.

2.1.1.4.

2.1.1.5.

2.1.1.6.

2.1.1.7.

Otoimmün

Otoimmün ensefalopatide, santral sinir sisteminde otoimmün bir inflamasyonun gösterilmesiyle tanı konmaktadır. Örneğin anti-NMDA reseptör ensefaliti.

1.

2.

2.1.

2.1.1.

2.1.1.1.

2.1.1.2.

2.1.1.3.

2.1.1.4.

2.1.1.5.

2.1.1.6.

2.1.1.7.

2.1.1.8.

İdiyopatik

İdiyopatik epilepside, nöbete yol açabilecek yapısal bir beyin lezyonu veya herhangi bir nörolojik belirti ve bulgu yoktur. Yapılan çalışmalarda, yüksek gelirli ülkelerde bile vakaların yaklaşık %50'sinde belgelenmiş bir neden halen eksiktir [24]. Çoğunda altta yatan genetik bir neden olabileceği tahmin edilmektedir.

1.

2.

2.1.

2.1.1.

Patofizyoloji

Epilepsinin patofizyolojisinde, artmış nöronal uyarılabilirlik, hipersenkronizasyon ve interiktal-iktal geçişle ilgili mekanizmalar yer almaktadır. Hastalığa temel olarak, nöronlardaki eksitasyon ve inhibisyon arasındaki denge bozukluğu neden olmaktadır. Buna glutamaterjik, gabaerjik, kolinerjik ve opioid sistemlerdeki nörotransmitterler ile çeşitli iyon konsantrasyonlarındaki değişiklikler

sebepe olmaktadır. Örneğin: gabaerjik inhibisyonun inhibisyonu anlamına gelen disinhibisyon gibi.

Epilepside, EEG’de 2 tip anormal elektriksel deşarj görülebilmektedir: İnteriktal diken dalgalar ve iktal deşarjlar. Bu deşarjlar, beyinde farklı nöronal ağlarda ve farklı hücrel mekanizmalarla meydana gelmektedirler. Nöronların elektriksel iletkenliği ve intrakortikal eksitator sinaptik bağlantılar, anormal elektriksel aktivitelere aracılık etmektedir [25].

1.

2.

2.1.

2.1.1.

2.1.2.

İnteriktal Diken Dalga

İnteriktal diken dalga, hastaların nöbetsiz periyotlarında görülen elektriksel deşarjlardır. Bu kısa diken dalgalar klinik belirtiyeye sebep olmazlar.

1.

2.

2.1.

2.1.1.

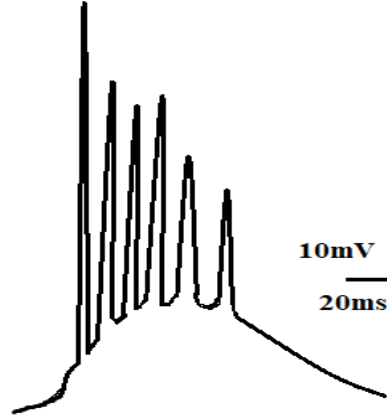
2.1.2.

2.1.2.1.

Paroksizmal Depolarizasyon Sapması (PDS)

Nöbetsiz dönemde görülmesi nedeniyle PDS, interiktal bir olay olarak görülmektedir. Nöbet öncesi gerçekleşen ve nöronlarda senkronize ateşlemelere yol açan bir durumdur. Epileptik odaktaki birçok nöronun eşzamanlı elektrografik aktivitesini temsil etmektedir. Tek bir olay veya bir dizi halinde ardı sıra meydana gelebilir. Meydana geldiğinde ise hızlı bir şekilde, çok sayıda aksiyon potansiyeli (AP) yaratır [26]. Tanım, ilk olarak 1960’larda ortaya atılmıştır. Epileptogenik odak içindeki senkronize haldeki bir grup nörona, membran potansiyeli 40-400 ms boyunca 30 mV veya daha üzerine çıkarak diken dalgalar oluşturur ve bu diken dalgalar progresif olarak

azalarak küçük osilasyonlar haline gelirler [27]. Tipik bir PDS deşarjının şekli aşağıda gösterilmiştir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Paroksizmal Depolarizasyon Sapması [27].

Diken dalgalar çok sayıda AP'dir. Ancak normal beyin bölgelerinde görülen AP'nden farklıdır. Normal koşullarda eksitator bir uyarı sonucu nöronda oluşan eksitator postsinaptik potansiyel (EPSP)'ler birikir ve eşik voltaj değeri aşıldığında AP oluştururlar. Aksiyon potansiyellerinden PDS'nin önemli bir farkı da depolarizasyon süresinin uzunluğudur. Bu uzunluğun nöronlar arasındaki uyarıcı bir geri besleme devresinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu uzun süre, depolarizasyon dalgasının yayılmasıyla oluşacak hipersenkronizasyona olanak verir.

1.1.2.

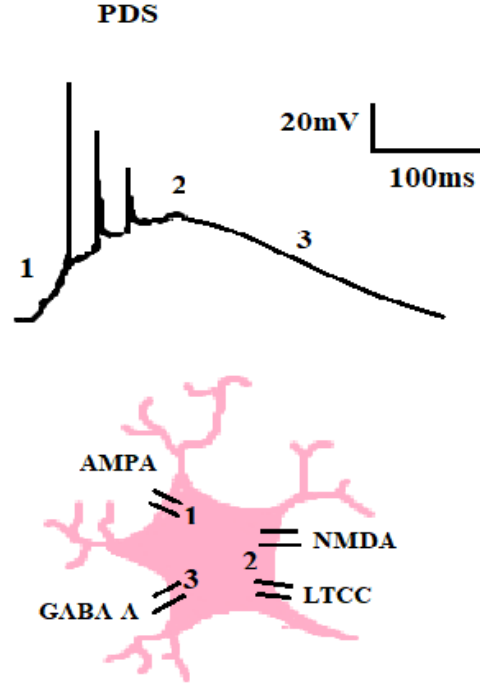
1.1.3.

1.1.3.1.

1.1.3.2.

PDS oluşum mekanizmaları

Paroksizmal depolarizasyon sapması oluşumunda yer alan mekanizmalar, nöronların potansiyelindeki değişiklikler ile membran iyon kanalları ve hücre içi iyon konsantrasyonlarındaki değişiklikler kayıt altına alınıp korele bir şekilde incelenerek aydınlatılmaya çalışılmıştır. Şekil 1.3'te, bir sinir hücresinde gerçekleşen PDS deşarjı sırasında aktifleşen iyon kanalları eş zamanlı olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.3. Sinir hücresinde gerçekleşen PDS deşarjıyla aktiveleşen kanalların eş zamanlı gösterimi [26].

Başlangıçta glutamat duyarlı AMPA (alfa amino-3- hidroksi 5- metilizoksazol 4- proprionat) reseptörleri EPSP'lerin oluşumuna yol açarlar. Nöronal ağda meydana gelen bu EPSP'ler, PDS'nı oluşturur. Plato bölgesinde NMDA (N-metil-D-aspartat) kanalları ve L-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanalları (VKKK; voltage-gated Ca^{+2} channels; VGCC) etkilidir [26,28]. Nöronal gelişimde rolü olduğu bilinen L-tipi VKKK'nın, beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) transkripsiyonuna neden olduğu ve böylelikle nöronal plastisitede rol aldığı bilinmektedir [29]. Mekanizmasındaki bu benzerlikten dolayı, PDS'nın da sinapslarda değişikliğe yol açarak epileptogenezin morfolojisine katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür. Hiperpolarizasyon fazına ise $GABA_A$, Ca^{+2} ile aktive edilen Cl^- kanalları $Cl^-[Ca^{+2}]$ ve Ca^{+2} ile aktive edilen K^+ kanalları $K[Ca^{+2}]$ aktivasyonu katkı sağlamaktadır [26].

Bir PDS deşarjı sonrasında giderek amplitüdü düşen, devamlı bir dalga formu gelişir. Amplitüdün düşme nedeninin, platoya sebep olan kanalların inaktive edilmesinden ya da duyarsızlaşmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca PDS'nin depolarizasyon sonrası devamlı dalga formuna dönüşmesine, kalsiyumla aktive

olan non-spesifik katyon akımı (I_{can}) aracılık etmektedir. Bu akımın, PDS'nin iktal deşarjlara benzer hale gelmesini sağladığı gösterilmiştir [30].

Epileptogeneze PDS'nin katkısı hala tartışmalıdır. Tanı aşamasında öneme sahiptir. Kronik ve akut deneysel epilepsi modellerinin her ikisinde de nöbetler latent bir periyottan sonra ortaya çıkarlar. İnteriktal diken dalgalar bu periyotta görülebilmektedir. Bu nedenle interiktal diken dalgaların, iktal deşarjın başlangıcına öncülük ettiği düşünülebilir. Yapılan bir çalışmada, beyin hasarı kaynaklı epilepsi hastalarında ilk nöbetlerden önce geldiği bulunmuştur [31].

Elektrografik nöbetler

Elektrografik nöbetlerde, yoğun ateşlemeler ile elektriksel aktivite yönünden sessiz periyotlar dönüşümlü şekilde gerçekleşirler. İktal deşarjların görüldüğü dönem, epilepsi kliniğine eşlik eden dönemdir. Etkilenen bölgedeki birden fazla nöronda eş zamanlı olarak meydana gelirler. Ekstraselüler sıvıdaki potasyum ve kalsiyum gibi iyon değişiklikleri, gap junction aracılı elektriksel bağlantılar, tekrarlayan ateşlemelere neden olurlar.

Elektrografik nöbetlerdeki yoğun ateşlemeler sırasında uzun süreli bir depolarizasyon dalgası gözlenir. Epileptik nöbetlerin, uzun süreli depolarize edici dendritik akım ile sürdürüldüğü öne sürülmüştür [32]. Uzun süreli depolarizasyon akımı nedeniyle nöronlar uzamış bir aktivasyon durumunda kalırlar. Hiperpolarize edici akım ile depolarizasyon akımının birbiriyle döngüsel pozitif etkileşimi, nöronal devrede, uzun süreli depolarizasyon dalgasına neden olmaktadır. Bu pozitif etkileşimin T-tipi VKKK ve $K[Ca^{+2}]$ sayesinde olduğu öne sürülmüştür. Bu dalga formu, PDS'nin sonunda görülen devamlı dalga formuna benzemektedir. Aynı şekilde Ca^{+2} bağımlı olduğu ve I_{can} 'ın aracılık ettiği gösterilmiştir. Metabotropik glutamat reseptörleri, muskarinik reseptörler, NMDA reseptör kanalları, GABA_A kanalları ve VKKK'nın, doğrudan veya dolaylı olarak I_{can} üzerinden depolarizasyon dalgasına katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Epileptik patlamaların, I_{can} blokajı ile ortadan kalkarak izole PDS'na dönüştüğü görülmüştür [30]. Buradan PDS'nin iktal deşarjlara zemin hazırladığı çıkarımı yapılabilir.

Depolarizasyon akımı, nöronun apikal dendritlerine doğru yönelerek tüm somatodendritik bölgesine yayılmaktadır. Epileptik nöbet sırasında zamanla deşarj sıklığı azalır.

Nörotransmitterler

Glutamat

Glutamat, beyindeki en önemli eksitator nörotransmitterdir. Bir çalışmada, epilepsili hastalarda beyin omurilik sıvısı (BOS)'ndaki glutamat düzeylerinin arttığı gözlenmiştir [33]. Başka bir çalışmada ise glutamatın epileptogenik bölgede, epileptogenik olmayan bölgeye göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir [34].

Metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR) 8 alt tipe ayrılmaktadır. Glutamatın iyonotropik reseptörleri ise AMPA, kainat ve NMDA'dır. Glutamat AMPA ve kainat reseptörlerine bağlandığında, hücrede Na^{+2} içe akışı ve K^{+} dışa akışı gerçekleşir. Kalsiyum geçirgen bir kanal olan NMDA reseptörünün ortasında, iyon geçişini engelleyen bir Mg^{+} iyonu bulunmaktadır. Nöronun kısmi depolarizasyonunu sağlayan AMPA ve kainat reseptörleri sayesinde, Mg^{+} kanalın ortasından çekilerek, Na^{+2} ve fazla miktarda Ca^{+2} geçişine izin verir [35].

GABA (γ-aminobütirat)

Merkezi sinir sistemi (MSS)'nde en fazla bulunan, en önemli inhibitör nörotransmitterdir. Epilepsi gibi pek çok nörolojik ve psikiyatrik hastalıkta GABAerjik sistemin bozulduğu iyi bilinmektedir. Glutamik asit dekarboksilaz ile glutamattan GABA sentezlenmektedir. Reseptörleri GABA_A , GABA_B ve GABA_C 'dir. İyon kanalı olan GABA_A reseptörüne, GABA bağlandığında hücre içine Cl^{-} akışı olur ve hiperpolarizasyon gerçekleşir. Metabotropik reseptör olan GABA_B ise hücre dışına K^{+} akışını artırır, Ca^{+2} 'un hücre içine akışını azaltır [36].

Epilepside kullanılan benzodiazepinler, GABA inhibisyonunu artırma yoluyla etki ederler. Sadece eksikliğin değil, GABA'nın kullanılamamasının da epileptik nöbetlere yol açabileceği bilinmektedir. Epilepside GABA_A reseptörlerinin aşırı eksprese olduğu da bildirilmiştir. Epilepside GABA_B reseptörlerinin rolü ise net değildir.

Asetilkolin (ACh)

Metabotropik ve iyonotropik reseptörleri vardır. Metabotropik reseptörleri olan M1/M3/M5 , IP_3 (inozitol trifosfat) yolağı ile hücre içi kalsiyumu artırarak depolarizasyona sebep olurlar. Nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) sadece

otonom gangliyonlarda değil beyinde de bulunmaktadır. Hücre içine Na^{+2} ve beraberinde diğer katyonların da akışına yol açarak depolarizasyonu sağlarlar [37]. Ayrıca presinaptik nAChR, glutamatın serbestlenmesini kolaylaştırır [38]. Ferencz ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada, bazal ön beyne uzanan kolinerjik projeksiyonların farmakolojik blokajının, epileptik nöbetleri tetiklediği gösterilmiştir. Asetilkolinin, glutamat yanında GABA'nın serbestlenmesini de kolaylaştırması bunu açıklamaktadır. Aynı çalışmadan elde edilen bir diğer bulgu ise nöradrenerjik blokajın kolinerjik blokaja göre hipokampal epileptogeneze daha fazla katkı sağladığıdır [39].

c-AMP / c-GMP

Biyojenik aminlerin de epileptik nöbetlerin patogeneğinde önemli olduğu bilinmektedir. Nöbetler sırasında BOS'ta siklik adenosin monofosfat (c-AMP) düzeyi yükselmektedir [40]. Ayrıca c-AMP artışının nöbetleri önlediği, siklik guanozin monofosfat (cGMP) artışının ise nöbetleri tetiklediği bilinmektedir [40,41].

Na^{+2} - K^{+} -ATPaz Pompası

Hücre için hayati önem taşıyan Na^{+2} - K^{+} -ATPaz pompası, hücre içi Na^{+2} ve Ca^{+2} miktarını düzenlemektedir. Hücre hasarının bir göstergesi olan hücre içi Ca^{+2} miktarı artışı, nörotransmitter salınmasını bozarak sinaptik iletiyi engelleyebilir. Bu pompanın ilaçlar ile blokajı sonrasında epileptik deşarjlar ve nöbetler oluşabilir. İskemi ve hipoksi, pompanın çalışmasını bozarak epileptik nöbetlere zemin hazırlamaktadır.

Epilepside Gliyal Hücrelerin Rolü

Gliya hücrelerinin nöronal çevreye bazı etkileri vardır. Eksitasyon sonrası hücre dışı sıvıda biriken potasyumu absorbe ederler. Bu hücrelerdeki sayıca azlık ya da emilim bozukluğu gibi durumlarda biriken fazla miktardaki potasyum, nöronlarda spontan deşarjlara yol açabilir [42]. Astrositler hücre dışı Ca^{+2} dengesini sağlarlar. Ayrıca astrositlerin, glutamat, GABA ve adenosin gibi nörotransmitterler üzerinden sinaptik iletimi kontrol ettiği bilinmektedir [43]. Astrositlerden salınan glutamatın, nöronlarda PDS oluşumuna neden olduğu ve astrositlerin uyarılmasının nöronal eksitabilitiyi etkilediği gösterilmiştir [44]. Ayrıca, epileptik bir beyinde gliozisin gerçekleştiği bilinmektedir [45].

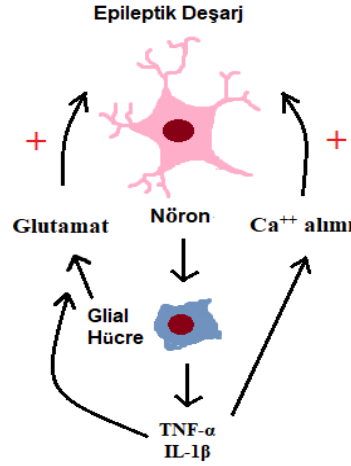
Epilepside İnflamasyonun Rolü

Epileptogenez nöroinflamasyon, nöronal hasar ve gliosis ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle hipokampal inflamasyonun epilepsiyle sıkı bir ilişkisi vardır [11]. Status epileptikus (SE)'un beyindeki enflamatuvar süreci tetiklediği bilinmektedir [46].

Sitokinler, MSS'de nöroinflamasyon sırasında nöronlar ve gliyal hücrelerden üretilmektedir [47]. İnflamatuvar mediyatörler interlökinler (IL), büyüme faktörleri, tümör nekrozis faktörler (TNF) ve interferonlardan (IFN) oluşmaktadır. Proenflamatuvar sitokinlerin, epileptik dokunun hipereksitabilitesinde rol oynayabileceği düşünülmüştür [48]. Çocuklarda görülen tekrarlayan febril konvulsiyonlardan sonra BOS'ta IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'nın arttığı gösterilmiştir [49]. Farelerde yapılan bir çalışmada, IL-2'nin prokonvulsan etkisi olduğu gözlenmiştir [50]. Buna karşılık, bazı enflamatuvar sitokinlerin artışının epileptik nöbetleri kontrol etmede etkili bir fizyopatolojik mekanizmayı temsil edebileceği de öne sürülmüştür. Kemirgen beyinde yapılan çalışmalarda, IL-1 β 'nin prokonvulsan etkilere sahip olduğu, IL-1 reseptör antagonisti proteinin (IL-1Ra) ise antikonvulsan bir ajan olup, diğer enflamatuvar sitokinlerden daha sonra eksprese edildiği bilinmektedir. Epilepsi için, IL-1Ra/IL-1 β oranı önem arz etmektedir [51].

Pek çok çalışma ile sitokinler ve çeşitli nörotransmitter sistemlerin etkileşim halinde olduğu öne sürülmüştür. Sağlıklı bir beyinde çok düşük miktarlarda bulunan IL-1 β , IL-6 ve TNF- α sitokinlerinin, glutamaterjik sistem üzerinden nöbetleri indükleyebildiği bilinmektedir [52]. Astrositlerin glutamat reabsorbsiyonunu azalttığı bilinen IL-1 β , TNF- α ve IFN γ 'nın eksitotoksositeye neden olduğu bildirilmiştir [53]. İntraperitoneal IL-1 β uygulamasının, hipokampusta GABA seviyesini azalttığı gösterilmiştir [54].

Gliyal hücreler, sitokin ve kemokin salınımı gibi pek çok özelliği ile nöronal fonksiyonları etkilerler. Astrositler ve mikroglialardan salgılanan IL-6, IL-1 β ve makrofaj enflamatuvar proteinin (MIP) nöronal hipereksitabiliteyi kolaylaştırdığı düşünülmektedir [55,56]. Sıçanlarda kainik asit modelinde, hipokampustaki mikroglialarda IL-1 β seviyesinin yükseldiği ve intrahipokampal IL-1 β uygulaması sonrası nöbet süresinin arttığı bildirilmiştir [57]. Gliyal hücre-nöron etkileşiminin epileptogeneze katkıları Şekil 1.4'te gösterilmiştir.



Şekil 1.4. Nöron ve gliyal hücredeki epileptik deşarj ile sitokinlerin ilişkisi [59].

İnflamatuvar sitokinler gibi VEGF de epileptogenik sürecin ana düzenleyicilerinden olduğu kabul edilmiştir [58]. Ayrıca prostaglandinlerin de nöbet sırasında arttığı bilinmektedir. Bir PTZ modelinde Prostaglandin E2 antagonisti uygulaması ile nöbet şiddetinin azaldığı bildirilmiştir [59]. Siklooksijenaz (COX) enzimi, prostaglandin sentezindeki hız sınırlayıcı basamaktır. İzofomları COX-1 ve COX-2'dir. Farelerde spontan nöbet sırasında COX-2 artışı görülmüştür [60]. Epileptik bir nöbet ile gliyal hücreler uyarılır ve bu hücrelerden sitokinler salınır. Sitokinler, astrositlerden glutamat salınımına ve nörona Ca^{+2} akışına sebep olurlar. Böylelikle nöronal hipereksitabilite gerçekleşir. Ayrıca sitokinler, kan-beyin bariyerini zayıflatarak beyne lökositlerin girişine neden olarak döngüyü beslerler [61].

Buraya kadar olan bilgilerle nöroinflamasyon ve epileptik nöbetlerin birbiriyle pozitif etkileşimde olduğunu anlamaktayız. Nöroinflamasyonun daha iyi anlaşılmasının epileptogenezin mekanizmasını anlamaya katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Kan-Beyin Bariyeri

Kan-beyin bariyeri (KBB; blood-brain barrier; BBB), periferik dolaşım ve sinir sistemi arasında anatomik bir bariyer işlevi görür. Nörolojik fonksiyonların işlevselliği için gerekli ortamı sağlar. Kan-beyin bariyerinin bozulması sistemik dolaşımdaki lökositlerin ve mediyatörlerin MSS'ye infiltrasyonuna ve bağışıklık cevabına yol açmaktadır. Bu bariyerin bozulmasının epilepsi gelişimine zemin hazırlayan bir durum olduğu bilinmektedir [62]. Aynı zamanda epilepsinin kendisi serbest radikaller ve

enflamatuvar mediyatörlerin artışı ile KBB'nin bozulmasına sebep olmaktadır [63]. Epileptik nöbetler sonrası KBB'ndeki tight junctionların deforme olduğu görülmüştür [64].

Oksidatif stres ve Epilepsi

Reaktif oksijen türevleri (ROS), oksijen metabolizması sırasında oluşan süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)'dir.

Moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşan $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 kaynağı olması ve metal indirgeyici özelliği ile hücreye zarar vermektedir. İki $O_2^{\cdot-}$ 'in, iki proton alması ile H_2O_2 ve O_2 oluşmaktadır. Son derece güçlü bir reaktif oksijen türevi olan H_2O_2 'in indirgenmesiyle $OH^{\cdot}$ oluşmaktadır.

Nitrik oksit (NO)'in, süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle yarışmaya girmesi ve süperoksit radikaliyle etkileşmesi sonucu peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur. Böylece NO'nin fizyolojik etkisi inhibe edilir, oksidatif etkisi ortaya çıkar. Peroksinitrit, NO toksisitesinin başlıca sorumlusudur.

Zincir reaksiyonları başlatan ROS, çeşitli serbest radikallerin (peroksit radikalleri, tiyil radikalleri, organik radikaller gibi) oluşumuna yol açabilir. Serbest radikaller, hücrelerde bulunan proteinler, lipitler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek oksidatif hasara neden olabilmektedir. Lipit peroksidasyonu, DNA hasarı, mitokondriyal hasar, membran hasarı ve membran permeabilitesinin artışı etkilerindendir. Stres kaynaklı artan sempatik stimülasyon ile metabolik hız artar, daha fazla oksijen tüketimine ve serbest radikallerin artışına neden olur.

Antioksidanlar, hücreleri oksidatif hasara karşı korurlar. Endojen antioksidanlar, enzimler ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar (Tablo 1.1).

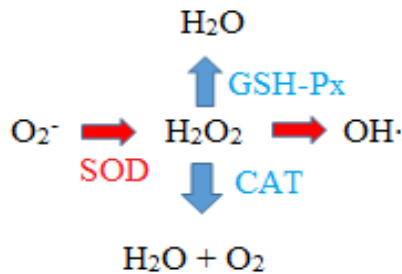
Tablo 1.1. Endojen ve eksojen antioksidanlar.

Endojen Antioksidanlar		Eksojen Antioksidanlar
Enzimler	Enzim Olmayanlar	
Süperoksit dismutaz (SOD) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) Glutasyon S-Transferazlar (GST) Katalaz (CAT) Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi Hidroperoksidaz	Melatonin Seruloplazmin Transferrin Miyoglobin Hemoglobin Ferritin Bilirubin Glutasyon Sistein Metiyonin Ürat Laktoferrin Albümin	α -tokoferol β -karoten Askorbik asit Folik asit

Glutasyon (GSH) çok önemli bir antioksidandır, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Glutasyon peroksidaz H_2O_2 'yi indirgeyerek suya katalizler. Glutasyon redüktaz, H_2O_2 'nin indirgenmesi ile oluşan okside glutasyonu (GSSG), indirgenmiş GSH'a dönüştürür.

Katalaz H_2O_2 'yi suya ve oksijene parçalar. Oksidan ve antioksidan yollar Şekil 1.5'te gösterilmiştir.

Bilirubin $O_2^{\cdot -}$ ve $OH^{\cdot}$ toplayıcısıdır. Vitamin-E, hücrenin en önemli antioksidanlarından biridir.



Şekil 1.5. Oksidan ve antioksidan yollar

Beynin diğ er organlara göre oksijen t knetimi fazladır ve bu nedenle serbest radikaller açısından risk altındadır. Ayrıca fosfolipitlerden zengindir. Fosfolipitlerdeki doymamış yağ asitleri, zayıf çift bağlarla ba lı hidrojen iyonları içerdiğinden, radikallere karşı savunmasızlardır.

Oksidatif stres, reaktif oksijen türevleri ile antioksidanların dengesizliğinden meydana gelmektedir. Oksidatif hasarın nörolojik hastalıklarda rol oynayabileceğ i  ne sürülmüştür. Aşırı ROS  retimi, mitokondriyal fonksiyonları bozarak nöronal ölüme yol açmaktadır [65]. Oksidatif stres, epileptik nöbetler sonrası beyin hasarının bir sonucu olarak ortaya çıkararak epileptogeneze katkıda bulunabilir [12].

Epileptik Aktivitenin Yayılması ve Senkronizasyonu

Epileptogenez, moleküler ve hücresel değişikliklerle spontan nöbetlerin oluşmasına neden olan bir beyin hasarı sürecini ifade etmektedir.

Hipokampus

Hipokampus  ğrenme, hafıza ve duygulanımda görev alır. Hipotalamus, amigdala, singulat girus, mamiller cisim ve entorhinal korteks ile birlikte limbik sistemi oluşturur. Deniz atına benzetildiğinden bu adı almıştır. Hipokampus, erişkin bir insanda yaklaşık 3-3,5 cm³ hacminde ve 5-8 cm uzunluğundadır. Hipokampusta nöral plastisite hayat boyu devam eder.

Hipokampusun bir diğ er  zelliğ i de hipereksitabilitesidir [66]. Örneğın hipokampusa verilen hafif elektriksel uyarılar, uyarı kesildikten sonra birkaç saniye devam eden epileptik nöbetlere sebep olurlar [67]. Bu da normal koşullarda bile hipokampusun sinyalleri uzun s reler boyunca yaydığını göstermektedir. Hipokampus yosunsu liflerinin presinaptik kolaylaştırmaya (fasilitasyon) ve postsinaptik cevabın artışına neden olduğu bilinmektedir [68].

Hipokampusun bölümleri CA1, CA2, CA3 ve CA4 olarak kısaltılarak adlandırılmıştır. Epileptogenez için CA1, CA2, CA3 ve CA4 bölgelerindeki piramidal hücrelerin pacemaker merkezler olduğu kabul edilmektedir. Epileptogenez açısından en önemli bölge CA3 bölgesidir.

Hipokampus, amigdala, entorinal korteks, parahipokampal girus ve dentat girus mediyal temporal lob alanlarındandır. Temporal lob yapıları, özellikle

hipokampus, amigdala ve piriform korteks epileptogenezin predispozanlarından olan travmaya karşı oldukça hassastırlar.

Kortiko-hipokampal Devre

Kortiko-hipokampal devrenin başlangıcı olan parietal, temporal ve oksipital korteksten hipokampusa projeksiyonlar uzanmaktadır. Bu kortikal girdilerin büyük çoğunluğu hipokampusa entorhinal korteksten gelirler. Bu nedenle hipokampusta gözlenen elektrofizyolojik paternlerin entorhinal kortekste de bulunacağı hipotez edilmiştir [69].

Entorhinal korteks çıktıların birincil hedefi dentat girustur. Dentat girus, hipokampus ile birlikte hipokampal formasyonun temel yapısını oluşturur. Entorhinal korteksten gelen uyarılar temel olarak dört yolla hipokampusa iletilir [70]:

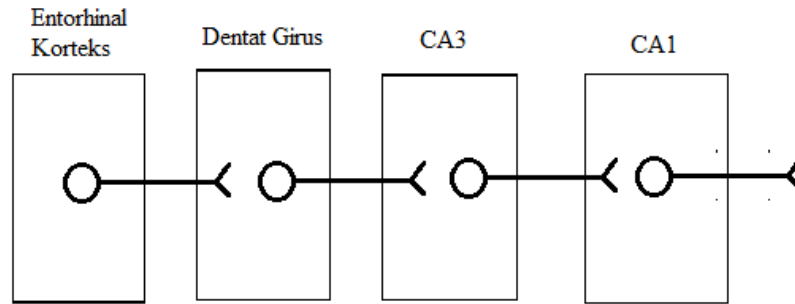
Perforan yol: Entorhinal korteksten dentat girusa ilerler ve bu aksonlar CA4 alanı hariç tüm hipokampusa dağılır.

Yosunsu (Mossy) lifler: Dentat girustan CA3 alanına giderler.

Schaffer kollateralleri: CA3 ve CA2'den CA1 alanına giderler.

Alveus lifleri: Subkortikal alanlardan gelerek hipokampusun CA1 alanına ve buradan da subikulumda dağılırlar.

Bu dört lif birbiriyle bağlantılıdır. Trisinaptik yol Şekil 1.6'da gösterilmiştir.



Şekil 1.6. Entorhinal kortekse gelen girdilerin hipokampusa iletilmesi [70].

Beyin, nöbet aktivitesinin yayılımını sağlayan yollara sahip olduğu gibi, feedback inhibisyonu sağlayan inhibitör yollara da sahiptir. Örneğin bazal gangliyonlar, beyin sapı retiküler formasyonuna birçok inhibitör uyarı göndermektedir. Hipokampusta monoaminerjik, kolinerjik ve GABAerjik afferentler bulunmaktadır [71]. Dentat girusta ise glutamaterjik granül hücreleri ve GABAerjik basket hücreleri yer almaktadır. Bunlar perforan yoldan aynı anda girdiler alır. Bu sayede negatif

geribildirim eş zamanlı olarak sağlanabilmektedir [72]. Paired-pulse inhibisyon, dentat girus ara nöronlarının ana nöronlardaki GABA_A aracılı inhibisyonunu yansıtmaktadır [73]. İnhibitör sistemin işlevselliği, nöronal uyarılabilirliğin düzenlenmesi açısından oldukça önemlidir.

Epileptik Ağlar

İktal yayılımın tamamen nöronal yayılımla mı yoksa epileptik aktivitenin başlamasıyla birlikte potansiyel epileptogenik alanların olaya iştirak etmesiyle mi ilgili olduğu halen tartışmalıdır. Nöronların birbiriyle yapısal bir bağlantı kurma şartı olmadığı için, epileptik ağlar teorisine nöbet yayılımını anlamayı sağlayan bir metafor olarak bakabiliriz. Çeşitli görüntüleme yöntemleri kullanılarak epileptik ağlarla ilgili teorik kortikal bağlantı modelleri oluşturulmuştur. Çalışmalardan farklı ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir.

Nöbet aktivitesinin başlangıcı olan epileptogenik bir bölge ve dağıldığı bir yayılım bölgesinden bahsedebiliriz. Tüm bu bölgeler birbiriyle yapısal veya fonksiyonel olarak bağlantılı nöronlardan oluşmaktadır.

Başlangıç bölgesine bakıldığında, bazı nöbet tiplerinde deşarjlar sınırlı bir alanda başlarken (fokal başlangıçlı epilepsiler), çoğu vakada nöbetler karmaşık bir şekilde farklı beyin bölgelerinde oluşan senkronize deşarjlarla başlar. Bancaud ve Talairach,–stereoelektroensefalografik (SEEG) çalışmalarında, beyin lezyonu kaynaklı epilepsilerde, elektriksel bozuklukların lezyondan oldukça uzakta ortaya çıktıklarını gözlemlemişlerdir [74]. Bu nedenle, eskiden hâkim olan fokal başlangıçlı epilepsilerde nöbetlerin küçük duyarlı bir beyin bölgesinden kaynaklanarak diğer bölgelere yayıldığı hipotezi yerini büyük epileptik ağların koordineli faaliyetlerinden oluştuğuna bırakmıştır.

Temporal lob epilepsilerinde çekilen Pozitron Emisyon Tomografi (PET)’lerde hipometabolik bölgenin epileptogenik bölgeden çok daha büyük olduğu gösterilmiş ve bu hipometabolik bölgenin yayılım bölgesini kapsadığı düşünülmüştür [75].

Beyin manyetik bir alana sahiptir ve beyin işlevleri sırasında bu alan değişmektedir. Manyetoensefalografide (MEG) manyetometreler ile elde edilen beyin sinyalleri, geliştirilen bazı tekniklerle işlenir. Fokal epilepsili hastalarda yapılan MEG testlerinde, epileptik aktivite yayılımının ortak yollar içerdiği dikkat çekmiştir [75].

Nöbet yayılımı bölgesel bağlantı özelliklerine göre şekillenmektedir. Nöbet yayılım hızı ve semptomların başlama zamanının, nöbet odağı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Örneğin Brekelmans ve arkadaşları hipokampal iktal aktivitenin neokortikal iktal aktiviteden daha geç yayıldığını öne sürmüşlerdir [76]. Bunu destekleyen bir başka hipotez, Wennberg ve ark.'larının hipokampustaki longitudinal bağlantı yollarının, nöbetlerin hipokampusa sınırlı kalmasına katkıda bulunduğu hipotezidir [77].

Epileptogenez boyunca aktivasyonları artan nöronların arasındaki bağlantı sayısının da arttığı varsayılmıştır. Böylelikle bir grup nöronda başlayan etki giderek yayılım göstermektedir.

Kortikal nöronlar ayrıca asosiyasyon lifleri, komissüral lifler ve korpus kallozum sayesinde birbirleriyle bağlantıdadır. Kortekste nöbet aktivitesinin komşu nöronlar arasında yayılımına Jackson tipi motor nöbetler örnek gösterilebilir. Elde başlayan klonik hareketler daha sonra sırasıyla kol, yüz ve bacağı yayılmaktadır. Bu olaya, komşu kortikal nöronları birleştiren U liflerinin katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bir hemisferde oluşan epileptik deşarjlar komissural bağlantılar nedeniyle karşı hemisferin aynı alanında deşarj oluşturabilir. Başlangıç fokusu bir süre sonra cerrahi olarak çıkarıldığında, ayna fokusun kazandığı otonomi ile nöbet aktivitesine yol açtığı gösterilmiştir. Fokal başlangıçlı bir nöbet, kortikotalamik yolla diensefalona yayılarak tonik klonik nöbetlere dönüşebilir.

Kortikal yapılar aynı zamanda subkortikal yapılarla da bağlantı içindedir. Epileptik nöbet oluşum teorilerinden biri olan Gloor'un kortiko-retiküler teorisine göre; talamik retiküler sistemden çıkan sinyallerin, kortekste jeneralize diken dalgaların oluşumuna yol açarak absans nöbetlere neden olabileceğidir. Gloor ve ark. diken dalgaların korteksten hemen önce talamusta oluştuğunu gözlemlemişlerdir [78]. Ayrıca talamo-kortikal yolda bulunan GABA_A reseptörlerindeki genetik bozukluk, absans nöbetlerle ilişkilendirilmiştir [79].

Tanı

Klinisyenler tanı koyarken çoğu zaman nöbet sırasında EEG kaydı ve görüntülemeye ulaşamazlar. Bu nedenle tanı genellikle klinik semptomlara dayandırılarak konur. Tabi klinik olarak epilepsi tanısı konulurken dikkat edilmesi gereken şey, aynı klinik durumun başka bir patolojiyle açıklanamayacak olmasıdır.

EEG

EEG beynin elektriksel aktivitesinin non-invaziv olarak ölçülmesini sağlar. İlk EEG kaydı, 1924 yılında Hans Berger adlı bir bilim adamı tarafından alınmıştır. EEG epilepsinin ayırıcı tanısında, tedavisinde ve takibinde önemli bir yere sahiptir. Sadece epilepsi değil, bazı ensefalopatilerin tanısında da yardımcıdır. Ayrıca uyku bozukluklarında ve koma durumundaki hastaların takibinde de kullanılmaktadır.

İnsan EEG'si istirahat ve uyanıklık halinde ritmik bir aktivite gösterir. Korteksin spontan ritimler oluşturan nöron ağlarına sahip olduğu iyi bilinmektedir. Örneğin, talamo-kortikal bağlantılar yoluyla retiküler ağ ve talamik nükleuslar kortikal potansiyelleri uyarır ya da desenkronize eder.

EEG, korteksin 3, 5 ve 6. tabakalarındaki piramidal hücrelerin senkronize aktivasyonu ile ortaya çıkan potansiyelleri yansıtır. Gliyal hücre aktivitesi ise EEG'ye minimal olarak yansımaktadır. Normal bir insanda EEG dalgalarının kaynağının temelini, EPSP'ler ve IPSP'ler oluşturur. Aksiyon potansiyelleri ise çok daha az sayıdadır. EEG kaydı için yaklaşık 6 cm²'lik kortikal bir alanın senkronize bir şekilde aktive olması gerekmektedir.

Epileptiform aktivite ise epileptogenik odak içindeki nöronların spontan senkronize aktivitesinin sonucudur. Bu aktivite bir grup hücrede gerçekleşen PDS sonucunda oluşur. Bir nöbet öncesi olayı olan PDS sonucunda çok hızlı ve çok sayıda AP oluşur. Hücre içi depolarizasyondan kaynaklanan akım, soma ve dendritlere doğru yönelerek hücre dışında yüzeysel diken-dalga aktivitesini oluşturur. Paroksizmal depolarizasyon kaymasıyla oluşan uzamış hiperpolarizasyon bir nörondan diğerine yayılır ve hipersenkronizasyon ortaya çıkar. Bu paternde görülen diken dalgalar 30-80 ms süren, asimetrik, sivri şekillidir ve sonrasında yavaş bir dalga gelir [80]. Epileptiform aktivitenin başlangıcından itibaren diken dalgaların amplitüdü, frekansı ve sivriligi giderek artar. Anormal ritimlerin fizyolojik temeli ve nöbet aktivitesinin altında yatan hipersenkronizasyondan sorumlu mekanizmalar halen iyi açıklanamamıştır.

Senkronize nöronların potansiyelleri kortekste birikir ve kafa derisine kadar yayılır. Kayıt, iletken elektrotlar yardımıyla alınır. Saçlı deri ve kafatası nedeniyle dalgaların amplitüdü daha düşük alınır. Kullanılan iki tip elektrot vardır: Aktif elektrot ve referans (indifferent) elektrot. Aktif elektrot, kortikal aktivite kaydının alınacağı alana, referans elektrot ise bu alandan uzağa, kulağa veya hayvanda kuyruğa

yerleştirilir. Kayıtlar monopolar ve bipolar olmak üzere iki tiptir: Monopolar kayıtlar, bir aktif ve bir referans elektrot arasındaki potansiyel farkın, bipolar kayıtlar ise iki aktif elektrottan alınan potansiyel farkın kaydı kastedilir.

Bir nöronun deşarjı sırasında hücre dışı negatif ve hücre içi pozitif olur. Kanallarda gösterilen, farklı bölgelerdeki hücre dışı voltaj değerlerinin farkıdır.

Beyin dışı kaynaklardan gelen ve EEG'ye yansıyan sinyallere artefakt denir. Oküler, kardiyak, hareket etme veya kullanılan elektrot kaynaklı artefaktlar görülebilir. Kaydın daha düzgün olması için bazı artefaktların düzeltilmesini sağlayan filtreler kullanılmaktadır.

Rutin EEG çekilirken ilk olarak temel beyin aktivitesi kaydedilir. Daha sonra, nöbeti tetiklemesi için hastaya sırayla, hiperventilasyon ve aralıklı ışık uyarımı uygulanır.

Elektrotlar yardımıyla, invaziv olarak korteksin hemen üzerinden alınan kayda ise elektrokortikografi (ECoG) denilmektedir.

EEG'deki Dalga Çeşitleri

Genlik ve frekansa göre dalgalar 5 gruba ayrılmaktadır (Tablo 1.2). Belli bir zamandaki baskın dalga tipi, yaş ve uyanıklık gibi durumlara göre değişmektedir.

Tablo 1.2. EEG dalgalarının frekansı ve genliği [81].

Dalga	Frekans (Hz)	Genlik (μ V)
Alfa (α)	8–13	2–10
Beta (β)	13–30	1–5
Delta (δ)	0.5–4	20–200
Teta (θ)	4–8	5–100
Gama (γ)	35–50	200–800

Alfa Dalgaları: Sağlıklı bir kişide, sessiz ve sakin bir ortamdayken gözler kapalı, zihin boşaltılmış ve hareketsiz haldeyken görülen dalgalardır. Gözler açıldığında baskılanır ya da kaybolur. En belirgin olduğu yer paryeto-okspital bölgedir.

Beta dalgaları: Gözler açık veya zihin aktifken baskın olan dalga formudur. En belirgin olduğu yer frontal bölgedir.

Teta dalgaları: Uykunun 1. evresinde, yani uyuklama döneminde görülebilen yavaş dalgalardır. Çocuklarda uyanırken görülmesi normalken, erişkinlerde görülmesi altta bir patolojinin (hidrosefali, beyinde kitle, metabolik ensefalopati) yattığını düşündürülebilir. Bununla birlikte aşırı sevinç ve üzüntü gibi emosyonel durumlarda da görülebilirler.

Delta dalgaları: Derin uyku evrelerinde (Evre 3 ve Evre 4) dominant dalgalardır. Teta dalgalarına neden olan patolojiler, bu dalgaının da aynı şekilde uyanırken görülmesine sebep olabilir. Belirgin olduğu bölgeler; erişkinde frontal bölge, çocuklarda ise oksipital bölgedir.

Gama Dalgaları: En fazla frekansa sahip olan EEG dalgalarıdır. EEG’de yüksek zihinsel aktiviteyi temsil ederler. Bilişsel işlevlerde ve bilgilerin entegrasyonunda önemlidirler. Bazal önbeyin, beyin sapı ve talamo-kortikal kolinerjik yollarının gama ritmini düzenlendiği bilinmektedir [82].

Uyku Evreleri ve EEG

Uyku, REM (hızlı göz hareketleri=rapid eye movements) ve non-REM olarak bilinen, birbiriyle dönüşümlü olarak izlenen iki ayrı safhadan oluşmaktadır.

NonREM

Non-REM uyku dört evreden oluşmaktadır ve derin evrelere inildikçe, EEG dalgalarının genliklerinde yükselme ve frekanslarında azalma gerçekleşir.

- Evre 1: Teta dalgaları
- Evre 2: Düzensiz teta aktivitesi, uyku içcikleri (12-14Hz aralığında, yüksek genlikli keskin dalgalar), K kompleksi (dalga genliklerinde aşırı artış)
- Evre 3: Delta dalgaları
- Evre 4: Delta dalgaları

REM

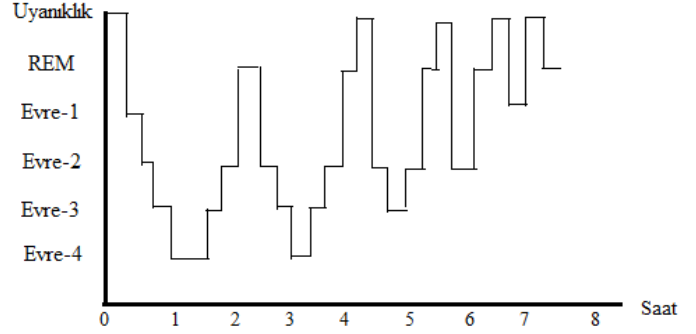
İlk görüldüğü zaman, uykunun başlangıcından yaklaşık 90 dk sonrasındır. Bu evrede düşük voltajlı ve değişken frekanslı dalgalar görülür. Rüya bu evrede görülür, hızlı göz hareketleri gerçekleşir ve kasların tonusu kaybolur.

Uyuma süreci devam ederken, bu basamaklar geriye doğru tekrar izlenir fakat Evre 1 yerine artık REM uykusu devreye girer. REM uykusundaki EEG dalgaları Evre

1'e benzemektedir. Tüm döngü yaklaşık 90 dakika sürer. Dolayısıyla 8 saatlik bir uyku boyunca bu döngü ortalama 4-6 kez tekrar eder. Daha sonraki döngülerde REM uykusunun süresi uzarken, Evre 3 ve Evre 4 kısalır (Şekil 1.7).

Uyku Döngüsü

Uyku dönemleri boyunca beynin serotonin ve norepinefrin düzeyleri değişir. Serotonin düzeyleri non-REM evrelerinde yükselirken, REM uykusunda norepinefrin, kortikosteroidler ve erkeklerde testosteron salgılanması gerçekleşir.



Şekil 1.7. Uyku ve uyanıklık döngüsü.

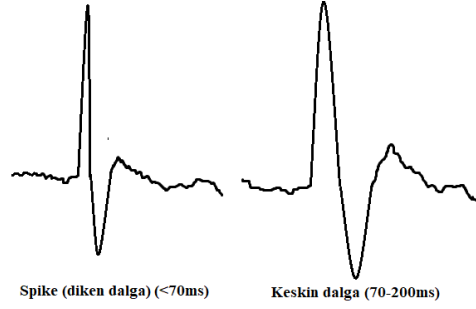
EEG'nin Değerlendirilmesi

Temel beyin aktivitesi yaş, uyanıklık, açlık-tokluk gibi çeşitli durumlardan etkilenir. Değerlendirme yaparken yarım kürelerin karşılaştırılması, dikkat edilmesi gereken diğer bir husustur.

Patolojik EEG Bulguları

Yavaş Dalga Aktivitesi: Teta ve delta dalgalarıdır. Dalganın lokalizasyonu önemlidir. Çünkü fokal alınan bir yavaş dalga aktivitesi büyük olasılıkla bir beyin lezyonunu düşündürür. Ancak günümüzde beyin lezyonlarının tanısında, görüntüleme yöntemleri EEG'nin önüne geçmiştir. Dejeneratif beyin hastalıklarının beyin fonksiyonu açısından incelenmesinde de EEG kullanılmaktadır. Örneğin; Alzheimer hastalığında başlangıçta EEG normalken, demansın ileri dönemlerinde genellikle 3 yıl içinde alfa aktivitesi yerini yaygın teta aktivitesine bırakır.

Epileptiform Aktivite: EEG kayıtlarında tespit edilen 70 ms'den daha kısa süren diken dalga ve 70-200 ms arasında süren keskin dalgalardan oluşur (Şekil 1.8).



Şekil 1.8. Diken dalga ve keskin dalga örneği.

Normal kişilerde veya epilepsi hastalarında klinikte nöbet gözlenmezken epileptik aktivite görülebilir. Epilepsisi olduğu bilinen bir hastada epileptiform aktivite görülmeyebilir. Epilepsi vakalarının yalnızca %30-50'sinde ilk EEG'de patoloji görülebilmektedir. Ayrıca klinisyenler arasında farklı EEG yorumlamaları olabilir. Bu nedenle epilepsi tanısı konurken kliniğin temel alınması gerekir. Klinik tanının doğrulanmasında EEG kullanılmalıdır. Status epileptikus, EEG'nin tanıda şart olduğu ve kesin tanı koydurduğu tek hastalıktır. Özet olarak EEG, epilepsinin tanısında, tedaviye başlama ve tedaviyi sonlandırma kararında oldukça yarar sağlamaktadır.

Nörogörüntüleme

Nörogörüntüleme incelemeleri, beynin yapısal ve fonksiyonel değerlendirmesini sağladığından, nöbete neden olabilecek lezyonun saptanması ve beyin fonksiyonlarının incelenmesi açısından epilepsi tanı ve tedavisinde son derece önemlidir. Cerrahi rezeksiyon alanının EEG temel alınarak belirlendiği vakalarda, cerrahi sonrası hastaların yalnızca %25'inde mükemmel bir prognoz görülmektedir [83]. Bu nedenle epilepsi cerrahisi düşünülen hastalarda, MRG başta olmak üzere radyolojik görüntülemeye sıklıkla başvurulmaktadır.

Epilepsi hastalarının hepsinde nörogörüntüleme endikasyonu bulunmamaktadır. Fokal nöbetlerde, yaşamın ilk yılında ya da erişkin çağda başlayan jeneralize nöbetlerde ve sınıflandırılmayan nöbetlerde görüntülemeye ihtiyaç duyulmaktadır. Birinci kuşak antiepileptik ilaçlarla tedavi başarısının sağlanamadığı durumlar veya tedavi sırasındaki nüks durumları da görüntüleme endikasyonu yaratır.

Nörogörüntüleme epilepsi protokolüne göre yapılır. Epilepsi tanısında travma, kanama veya enfeksiyon gibi şüphelerin varlığında BT oldukça yarar sağlamaktadır.

Beyindeki lezyonları saptamaya da yarar sağlamakla birlikte çok küçük lezyonları atlayabildiğinden normal olması lezyon olasılığını ekarte ettirmez. Bu nedenle lezyon şüphesinde BT yerine MRG tercih edilmektedir.

Yüksek rezolüsyonlu MRG, epilepsi cerrahisi için değerlendirilen hastalarda en önemli tetkiklerden biridir. Eğer epilepsi protokolüne göre yapılmış bir MRG, öykü, muayene, interiktal EEG ve video-EEG ile cerrahi alan açısından uyumluysa ameliyat öncesi başka bir görüntüleme yöntemine ihtiyaç duyulmaz. Epileptogenik odağın beynin fonksiyonel alanlarıyla ilişkisini tespit etmek için fonksiyonel MRG (fMRG) kullanılmaktadır. Nöral aktivite, kan oksijenlenme seviyesi ile doğru orantılıdır. Bu prensibe dayanan fMRG, bir zihinsel işlev sırasında beyinde meydana gelen kan oksijen seviyesindeki değişiklikleri tespit eder. Kontrast madde gerektirmemesi avantajlarından biridir.

Epileptik hastalarda kullanılan bir diğer görüntüleme yöntemi ise tek foton emisyon bilgisayarlı tomografi (Single-photon emission computed tomography; SPECT)'dir. Radyofarmasötik kullanılarak iktal, interiktal veya postiktal dönemde beyindeki bölgesel kan akımı değişikliklerini ölçmeye yarar sağlar. Nöbet odağında iktal dönemde perfüzyon artışı görülürken, interiktal dönemde ise düşük perfüzyon görülür. İktal EEG çekiminde, nöbeti provoke etmek için antiepileptik ilaçların azaltılması veya uyku deprivasyonu gibi yöntemler kullanılır. Manyetik rezonans spektroskopisi (MRS) ve PET kullanılan diğer görüntüleme yöntemleridir.

Tedavi

1.

1.1.

2.1.5.

2.1.5.

2.1.5.

2.1.5.

2.1.5.

Medikal Tedavi

Antiepileptikler epilepsi tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Günümüzde mevcut antiepileptiklerle çoğu hastada nöbetler kontrol altına alınabilmektedir. Çocukların %70'inde tek başına antiepileptikler ile hastalık kontrol altına

alınabilmektedir [84]. Geçtiğimiz son 10 yılda yeni antiepileptik ilaçlar bulunmuştur. Yeni ilaçların güvenilirliği daha fazladır. İlaç seçeneğinin fazla olması, tedaviyi belirlemeyi zorlaştırırsa da hasta profili bu kararı vermede klinisyene yardımcı olmaktadır.

İlk provoke edilmemiş nöbetten sonra hastanın tekrar nöbet geçirme olasılığı üçte birdir. Ayrıca ilk nöbetten sonra antiepileptik kullanılmaya başlanmasının, erken dönemde nöbet riskini azaltsa da uzun vadede etkili olmadığı görülmüştür [85]. Bu nedenle nöbet tekrarında oluşabilecek yan etkilerden korunma amacı dışında ilk nöbetten sonra antiepileptik kullanılması önerilmemektedir. En az iki provoke edilmemiş nöbet geçiren bir kişinin, tekrar nöbet geçirme olasılığı %70'lere çıkmaktadır. Bu durumda hastaya antiepileptik başlanması önerilir [86]. Meta-analitik bir çalışmaya göre ilk seçilen tedavi seçeneğinin başarı oranının %47 olduğu gösterilmiştir. İlk ilaç seçiminde başarısız olunanların %14'ünde ilaç değişimiyle nöbetlerin önlendiği görülmüştür [87]. İlaç tedavisinde başarıyı yakalamak için dikkat edilmesi gereken bazı hususlar şunlardır:

- Farklı mekanizmaları kullanan ilaçların kombinasyonu,
- Sinerjistik etkiye sahip ilaçların kombinasyonu (Valproik asit ve lamotrijin gibi),
- İlacın serum seviyesini artıracak başka bir ilaç ile kombinasyonu (Valproik asit ve lamotrijin gibi),
- Alerjik reaksiyon durumunda aynı sınıftan bir antiepileptiğin verilmemesi.

Antiepileptik İlaçlar

ILAE'nin 2013 yılında yayınladığı bir rapora göre, antiepileptiklerle ilgili yapılan çalışmalar türlerine göre sınıflandırılarak, ilaçlar etki seviyesine göre alfabetik olarak gruplandırılmıştır (Tablo 1.3) [88].

Tablo 1.3. Etki seviyesi ve epilepsi türüne göre antiepileptiklerin sınıflandırılması [88].

Seviye	Fokal Epilepsi		Jeneralize Tonik-klonik Epilepsi		Absans Epilepsi
	Çocuklarda	Erişkinde	Çocuklarda	Erişkinde	
A	Okskarbazepin	Karbamazepin Levetirasetam Fenitoin Zonisamid			Etosüksimid Valproik A.
B		Valproik A.			

C	Karbamazepin, Fenobarbital, Fenitoin, Topiramat, Valproik Asit Vigabatrin	Gabapentin Lamotrijin Okskarbazepin Fenitoin Topiramat Vigabatrin	Karbamazepin, Fenobarbital, Fenitoin, Topiramat, Valproik Asit	Karbamazepin, Lamotrijin Okskarbazepin Fenobarbital Fenitoin Topiramat Valproik Asit	Lamotrijin
D	Klobazam Lamotrijin	Klonazepam Primidon	Okskarbazepin	Gabapentin Levetirasetam Vigabatrin	

Antiepileptiklerin etki mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir. Bilinen mekanizmalar arasında iyon kanallarının modifikasyonu, eksitator nörotransmitterlerin azaltılması, inhibitor nörotransmitterlerin artırılması yer almaktadır (Tablo 1.4).

Tablo 1.4. Etki mekanizmasına göre antiepileptiklerin sınıflandırılması.

Etki Mekanizması	İlaçlar
İyon kanallarını hedef alarak	Na: Fenitoin, Karbamazepin, Lakosamid Kalsiyum: Lamotrijin ve Etosüksimid Potasyum: . Ezogabin
GABA _A inhibisyonu üzerinden	GABA _A reseptör aktivasyonu: Fenobarbital GABA-transaminaz inhibisyonu: Vigabatrin GABA reuptake blokajı: Tiagabin
Eksitator nörotransmitterler üzerinden	Felbamat ve topiramat
Sinaptik transportu etkileyerek	Levetirasetam

Sık kullanılan antiepileptikler Tablo 1.5’te verilmiştir.

Tablo 1.5. Sık kullanılan antiepileptikler.

1. Jenerasyon	2. Jenerasyon	3. Jenerasyon
---------------	---------------	---------------

Fenobarbital	Levetirasetam	Vigabatrin
Fenitoin	Lamortrijin	Klobazam
Valproik Asit	Topiramet	
Etosüksimid	Okskarbazepin	
Karbamazepin		

Birinci Jenerasyon İlaçlar

Fenobarbital: Önceleri sedatif etkisi nedeniyle kullanılmaya başlanan fenobarbital, en eski ve en sık kullanılan antiepileptiklerden biridir. Absans epilepsi haricinde pek çok epilepsi türünde başarılıdır ve SE'ta kullanılabilen birkaç ilaçtan biridir. Yan etkileri arasında irritabilite ve hiperaktivite bulunmaktadır.

Fenitoin: Fenitoin günümüzde en sık kullanılan antiepileptiklerden biridir. Hem fokal hem de jeneralize epilepsi türüne karşı etkilidir. Ayrıca SE'ta kullanılan ilaçlar arasındadır. Plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır. Bu nedenle aynı özelliğe sahip ilaçların serumdaki aktif seviyelerini artırabilir. Hızlı infüzyon durumunda hipotansiyon ve aritmiye neden olabileceğinden, intravenöz form olarak fosfofenoin tercih edilmektedir. Yan etkileri arasında, diş eti hipertrofisi, hirsutizm ve osteoporoz bulunmaktadır. Doza bağımlı yan etkiler arasında ise uyuşukluk, ataksi, koordinasyon bozukluğu ve nistagmus yer almaktadır.

Valproik Asit: Hemen hemen tüm epilepsi türlerine karşı etkili olan bu ilaç, yaygın olarak kullanılan antiepileptiklerdendir. Plazma proteinlerine sıkıca bağlıdır. Sitokromu inhibe ettiğinden, aynı yolla metabolize olan ilaçların kandaki seviyelerini yükseltir. Kombinasyonlarında buna dikkat edilmelidir. Lamortrijinle birlikte kullanımında, lamortrijinin plazma seviyesini yükselterek Stevens-Johnson sendromuna neden olabilir. Tremor, alopesi, hirsutizm ve menstrual dengesizlikler doza bağımlı yan etkileri arasındadır. Hepatik nekroz ve amonyak yüksekliği yapabildiğinden beraberinde karaciğer enzim seviyeleri takip edilmelidir. Fetal malformasyonlar (yarık damak-dudak, spina bifida) nedeniyle, hamilelikte kullanımı kesin kontraendikedir.

Etosüksimid: Tek endikasyonu absans epilepsidir. Gastrointestinal yan etkiler yapabilir.

Karbamazepin: Parsiyel ve jeneralize epilepsilere etkilidir. Oral biyoyararlanımı yüksektir. Sitokromu indüklediğinden doz ayarlaması yapılmalıdır. Yan etkileri arasında hiponatremi, lökopeni, kilo alımı, döküntü ve hepatotoksisite bulunmaktadır.

İkinci Jenerasyon Antiepileptikler:

Levetirasetam: Geniş bir spektruma sahiptir. Biyoyararlanımı yüksektir. Böbrek yetmezliğinde kontraendikedir. Diğer antiepileptiklerle etkileşimi olmaması avantajlarındandır. Somnolans ve psikiyatrik yan etkilere sebep olabilir.

Lamotrijin: Geniş spektrumlu antiepileptiklerdendir. Biyoyararlanımı oldukça yüksektir. Sitokromu etkileyen ilaçlarla kombine kullanımda doz ayarlanması gerekmektedir. Uzun dönem yan etkiler açısından oldukça güvenilirdir ancak yaşamı tehdit eden yan etkiler açısından doz artırırken oldukça dikkatli olunmalıdır.

Topiramat: Geniş bir spektruma sahiptir. Yan etkileri arasında kilo kaybı, kognitif bozukluk ve böbrek taşı yer almaktadır.

Üçüncü Jenerasyon Antiepileptikler:

Vigabatrin: İnfantil spazm tedavisinde başarılıdır. Böbrekler tarafından vücuttan atılır. Geri dönüşümsüz çift taraflı görme alanı kaybı gibi ciddi yan etkilere sahiptir.

Klobazam: Benzodiazepin olan klobazam, GABA_A reseptör agonistidir. Lennox-Gastaut Sendromu tedavisi için FDA (Food and Drug Administration) tarafından onaylanmıştır. Sedasyon yapabilir.

Üçüncü jenerasyon ilaçlar genellikle, birinci ve ikinci jenerasyon ilaçların başarısız olduğu durumda kullanılmaktadır.

Epilepsi hastalarının %50'den fazlası, ilaçların istenmeyen yan etkileri ile karşı karşıyadır [3]. Fenitoinin toksik dozlarda paradoksal olarak nöbetleri tetikleyebildiği görülmüştür. Karbamazepin jeneralize epilepside kullanılırken bazen hastalığın ağırlaşmasına yol açabilir. Antiepileptiklerin dozlarının hızlı azaltılması da nöbetlerin kötüleşmesine neden olmaktadır. Mevcut tüm antiepileptiklerde fetal malformasyon riski olduğu için hamilelerde epilepsi tedavisi önemli bir sorun teşkil etmektedir. İlk trimesterde valproik asit kullanan kadınlarda konjenital malformasyon gelişme riski %9,3 bulunmuştur [90]. Malformasyonun şiddeti doza bağımlı olduğu için mümkünse başka bir antiepileptiğe geçilmesi aksi takdirde doz azaltımına gidilmesi önerilmektedir.

Refrakter Epilepsi

Epilepsili hastaların yaklaşık %30'u şimdiye dek keşfedilen tüm antiepileptik ilaçlara karşı dirençlidir [89]. Refrakter epilepsi, uygun şekilde seçilmiş iki veya daha fazla antiepileptik ilaç veya diğer tedaviler tarafından kontrol edilemeyen epileptik nöbetlerin olduğu bir durumdur.

Cerrahi

Jeneralize nöbet geçiren hastaların çoğu medikal tedaviye cevap verirken, fokal nöbetlerin yaklaşık %30'u medikal tedaviye direnç göstermektedir [91]. Medikal tedaviye cevap vermeyen hastalarda cerrahi ile kür sağlanabilir.

Düşük dereceli tümörler, vasküler malformasyonlar, meziyal temporal skleroz ve fokal kortikal displazi cerrahi sonrası seyri iyi olan MRG lezyonlarındandır. Bu lezyonların rezeksiyonundan sonra %70-90 oranında nöbet kontrolü sağlanabilmektedir. Nöbet başlangıç bölgesinin rezeksiyonu sonrası, yayılım bölgesindeki PET çekimlerinde hipometabolizmanın ortadan kalktığı görülmüştür. Ancak ne yazık ki fokal nöbetlerde nöbet kaynağı olarak öngörülen bölgenin rezeksiyonu her zaman başarı sağlamamaktadır.

Prognoz

Etiyoloji, nöbet tipi, EEG, tedavi başlamadan önce geçirilen nöbet sayısı ve ilaçların kötü etkileri prognozu belirlemektedir. Tedaviye erken yanıt pozitif prognostik faktörken, tanı anında nöbet sayısının fazlalığı ve semptomatik etiyoloji negatif prognostik faktörlerdir.

Remisyon ve Tedavinin Kesilmesi

Çoğu epilepside, tam nöbet kontrolü sağlanabilmekte ve antiepileptik tedavi kesilebilmektedir. Popülasyon çalışmalarında, yeni teşhis edilmiş epilepsi hastaların %80 kadarının uzun süreli remisyon dönemine girdiği ve %50 kadarının tedavi kesildikten sonra nöbetsiz kalmaya devam ettiği gösterilmiştir [92]. Amerikan Nöroloji Akademisinin 1996 yılında yayınladığı bir rapora göre, ilaç tedavisi tek tip nöbetleri olan, minimum sayıda ve dozda antiepileptiklerle 2-5 yıl nöbetsiz bir periyodun sağlandığı durumda kademeli bir şekilde kesilebilir [93].

İdiyopatik epilepsilerde remisyon şansı yüksektir. Yapısal, sistemik, toksik veya metabolik etiyojili epilepsilerde ise altta yatan neden ortadan kaldırıldığında remisyon şansı yükselmektedir.

Populasyon çalışmalarında, ilk epileptik nöbetten sonra nüks riski 1 yılda %36-37'dir. Nükslerin yaklaşık %50'si 6 ay içinde ortaya çıkar. İlk spontan nöbetten sonra nüks olasılığı zamanla azalır [94]. Etiyoloji ve EEG bize nüks riski hakkında bilgi verir. Bir çalışmada, fokal nöbetlerde, adolesan başlangıçlı epilepsi sendromlarında, altta yatan nörolojik hastalık durumunda ve EEG'nin anormal olduğu çocuklarda nüks riskinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir [95].

Komorbiditeler

Epilepsi, uzun süreli tedavi ve izleme gerektiren bir hastalık olup bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçlarıyla yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Kontrolsüz epilepside, zaman içinde gelişen hücresel ve metabolik değişiklikler sonucu gelişen nöronal ölüm kalıcı beyin hasarına neden olabilmektedir [96]. Şiddetli epilepsiden kurtulan pek çok hastada komorbiditeler halen devam etmektedir [97]. Epilepsinin ilişkili olduğu komorbiditeler arasında motor, psikososyal, davranışsal ve öğrenmeyle ilgili problemler yer almaktadır. Örneğin öğrenme güçlüğü, depresyon, uyku bozuklukları, otizm spektrum bozuklukları, serebral palsi, yürüme ve hareket bozuklukları gibi.

Ölümler

Epilepsi genel olarak iyi bir prognoza sahip olmasına rağmen epilepsi hastaları normal popülasyona göre 2-3 kat erken ölüm riskiyle karşı karşıyadır. 2004 yılında yapılan bir popülasyon çalışmasında, epilepsi hastalarında yıllık ölüm oranının 100.000'de 1-8 olduğu gösterilmiştir [98]. Epilepsinin genel ölüm oranı düşük olsa da etkilediği bazı alt gruplarda bu oran yüksektir. Çocuklarda erişkinlere göre daha yüksektir [99].

Epilepsili kişilerde ölüm nedenleri üç grupta sınıflandırılabilir:

1. Epilepsi ile ilgisi olmayan ölümler
2. Epilepsinin bir sonucu olarak ortaya çıkan ölümler
3. Epilepsinin nedeni olduğu ölümler

Epilepsiye atfedilen ölümler arasında intihar, tedaviye bağlı ölümler, nöbetle ilişkili ölümler, aspirasyon, boğulma, yanıklar ve epilepside ani beklenmedik ölüm (SUDEP) bulunmaktadır.

Kaza ile ilişkili ölümler epilepsi hastalarında yaygındır ve tüm ölümlerin %6'sını oluşturmaktadır [100]. İntihar riski, epilepsi hastalarında normal popülasyona göre daha yüksektir [101].

Epilepsi ile ilişkili ölüm nedenlerinden biri de SUDEP'dir. Beklenmedik ve travmatik olmayan ölümlerdir. Nedenin SUDEP olması için toksik ya da boğulma gibi anatomik bir neden bulunmamalıdır. Çoğu vakada nöbetin tetiklediği kardiyorespiratuvar bir problemten kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Normal popülasyonda SUDEP insidansı, yılda 1000 kişiye 0.35'tir. Refrakter epilepsilerde, jeneralize tonik-klonik nöbetler veya gece nöbetleri olan kişilerde daha sık görülmektedir [19].

DENEYSEL EPİLEPSİ MODELLERİ

İnsanlar üzerinde yapılan deneysel epilepsi çalışmaları gerek etik gerekse uygulama açısından bazı sınırlamalara sahiptir. Epilepsi ile ilgili yapılabilecek insan çalışmalarından edinilebilecek bilgiler sınırlı olduğundan, geçmişten günümüze kadar pek çok farklı epileptik hayvan modelleri geliştirilmiştir. Ancak deneysel epilepsi modelleriyle ilgili değinilmesi gereken hususlardan biri, elde edilen sonuçların, insanlardaki sonuçlarla %100 tutarlılık göstermediğidir. Örneğin hayvanlardaki epileptik nöbetlerde başarılı bulunan bir madde, insanlarda etkisiz olabilmektedir. Hayvan çalışmalarından elde edilen bilgilerin insanları kapsayıp kapsayamayacağını anlamak için hayvanlar ve insanlardaki nöronal ağlar ve sinirsel mekanizmalardaki farklılık ve benzerlikler hakkında daha çok bilgiye ihtiyaç vardır.

Bir deneysel epilepsi modelinin uygun olup olmadığı tartışılırken başvurulabilecek bazı standartlar belirlenmiştir. Bunlar:

- Nöbetlerin spontan tekrarlaması,
- İnsandaki epileptik nöbetlere benzer olması,
- EEG kayıtlarının çalışılan epilepsi türü ile uyumlu olması,
- Nöbet frekansının farmasötiklerin akut ve kronik etkilerini değerlendirme açısından yeterli olması,

- Deneyde kullanılan antiepileptik dozunun insanda ilgili nöbeti önleyebilen seviyedeki gibi olması ve ilacın hayvanlarda ve insanlardaki farmakokinetiğinin aynı olması.

Bu koşulları hiçbir model tümüyle karşılayamasa da epilepsi modelinin uygunluğunu değerlendirmede yarar sağlamaktadır.

Farklı epilepsi türleri, hayvanlarda kimyasal ajanla veya lezyon oluşturularak taklit edilebilir. Modeller akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır: Kimyasallarla, elektriksel uyarımla veya odyojenik olarak akut nöbet modeli oluşturulabilir. Kimyasallarla tetiklenen SE sonrası oluşacak yapısal hasar ya da nöronal kayba yol açan tekrarlayan elektriksel stimülasyonlar ile kronik model oluşturulabilir. Son dönemdeki genetik gelişmeler, epilepsiyle ilişkili gen kusurlarına ışık tutmuş, genetik modifikasyonlarla genetik hayvan modelleri elde edilmeye başlanmıştır. Bu modeller antiepileptiklerin değerlendirilmesinden ziyade epilepsi patofizyolojisinin moleküler ve genetik altyapısını anlamada kullanılmaktadır. Ayrıca son zamanlarda spesifik bir farmakolojik ajana dirençli epilepsiyle uyumlu hayvan modelleri de geliştirilmektedir. Fenitoin dirençli kindled (tutuşmuş) sıçan modeli buna örnektir.

Kullanılan kimyasal ajana ve uygulama yoluna göre oluşabilecek nöbet tipinin belirlendiği genel olarak söylenebilir. Kimyasal konvulsanlar ve bunların oluşturdukları nöbet tipleri tabloda verilmiştir (Tablo 1.6) [102].

Nöbet Tipi	Yöntem	Deneyisel Model	Model tipi
Parsiyel nöbet (Bilinç açık)	Kimyasal ajan (topikal uygulama)	Penisilin Bikukullin Pikrotoksin Striknin	Akut model
	GABA yoksunluğu		
	Kortekse implante edilen metaller	Alüminyum Kobalt Nikel Demir	Kronik model
	Kriyojenik hasar ile		Kronik model
	Fokal elektriksel uyarı		Akut model
Parsiyel nöbet	Kimyasal ajan	Tetanus toksini	

(Bilinç bozuk)	Tutuşma (Kindling)	
	Genetik	Otx-/-fare Transgenik ‘‘jerky’’ fare İhara mutant sıçan
Jeneralize tonik-klonik nöbet	Kimyasal ajan (sistemik uygulama)	Kainik asit NMDA Domoik asit Pentilentetrazol Penisilin Bikukullin Deneysel Model
Nöbet Tipi	Yöntem	
Jeneralize tonik-klonik nöbet	Metabolik yollar	Hipoksi Hipoglisemi İlaç yoksunluğu
	Maksimal Elektroşok	
	Genetik	Fare modelleri (weaver, odyojenik) Sıçan modelleri (GEPRs,NODA) Drosophila mutantları Monogolian gerbil

Tablo 1.6. Deneysel epilepsi modelleri.

Tablo 1.6. Deneysel epilepsi modelleri. (devam)

Nöbet Tipi	Yöntem	Deneysel Model
Absans epilepsi	Kimyasal ajan	Penisilin (sistemik) Opiyatlar (intraventricüler) Gama hidroksi bütirat
	CO ₂ yoksunluk nöbetleri	
	Genetik	Tek gen mutasyonları ile Poligenetik sıçan modelleri
Status epileptikus	Lityum pilokarbin Kobalt homosistein Elektriksel stimülasyon	

Basit Parsiyel Epilepsi Modelleri

Penisilin Modeli

Penisilin modeli ilk olarak 1945'te tanımlanmıştır [103]. Kimyasal konvulsanlarla oluşturulmuş akut parsiyel epilepsi modelleri arasında en sık kullanılanlardandır. Penisilin, kortekste enjekte edildiği bölgedeki nöronlarda diken dalga deşarjı oluşturur. Penisilinin epileptik etkisi, GABAerjik inhibitör blokajından kaynaklanmaktadır. Penisilin uygulaması intraperitoneal (i.p.), intramüsküler (i.m.), intravenöz (i.v.) veya intrakortikal (i.c.) olabilir. Penisilin, 500 IU/2.5 µl dozda intrakortikal uygulamada, EEG'de diken dalga deşarjları oluşturmaktadır [104]. Penisilinin yüksek dozlarda sistemik uygulanması ise jeneralize epilepsiye yol açmaktadır. İntrakortikal penisilin uygulaması nöron kaybıyla sonuçlanmıştır [105]. Yapılan bir penisilin modelinde, hipokampustaki mossy liflerinin uzadığı görülmüştür [106].

Bikukulin, Striknin ve Pikrotoksin Modelleri

Bikukulin, striknin ve pikrotoksin birer GABA antagonisti olarak işlev göstermektedir. Striknin aynı zamanda glisininin nonkompetitif antagonisti olarak da görev yapmaktadır. Hayvanlarda bikukulinin sistemik veya topikal olarak kortekse uygulanmasıyla, pikrotoksin ve strikninin ise sistemik uygulanmasıyla basit parsiyel epilepsiye yol açtığı gözlenmiştir [107]. Bikukulin uygulaması, hayvanı doza bağımlı olarak statusa da sokabilir. Bikukulin uygulanan hayvanlarda amigdala, hipokampus, substansiya nigra ve olfaktor kortekste yaygın bir hasar olduğu gözlemlenmiştir [108].

Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri

Elektriksel Tutuşma (Kindling) Modeli

Bu model, beyne uygulanan tekrarlayan fokal elektriksel stimülasyonlarla, beynin elektriksel uyarı ve iletkenliğinin artırılması prensibine dayanmaktadır. Bu fenomen ilk olarak 1967'de tanımlanmıştır [109]. Yapılan müdahale ile zamanla beyin plastisitesinde değişiklikler gözlenir. Bu değişikliklerin epileptogeneze katkı sağladığı düşünülmektedir. Tutuşma (Kindling) modeli sadece epilepsi çalışmalarında değil, öğrenme ve hafıza ile ilgili deneysel çalışmalarda da kullanılmaktadır. Ayrıca bilinç

bozukluğu ile giden parsiyel epilepsi gibi ilaçlara dirençli bir epilepsi türünde, yeni antiepileptiklerin çalışılması açısından son derece yararlı bir modeldir.

Bir temporal lob epilepsi modeli olan elektriksel tutuşma modeli, beyinde özellikle limbik sistemdeki yapılara uygulanan 1-2 sn süren tekrarlayan elektriksel uyarılarla (50-500 μ A, alternatif akım) gerçekleştirilir. Böylelikle ard deşarjlar tetiklenmiş olur. Eğer uyarı, 24 saatten daha uzun aralıklarla verilirse bu tetiklenme gerçekleşemez ve model başarısız olur. Nöbetlerin şiddeti, ard deşarjların süresinin kademeli artışına paralellik gösterir [110]. Nöbetler 5 evreden oluşan bir davranışsal skalada değerlendirilir. Bu skalaya göre 3. evre fokal nöbetlere, 4. ve 5. evre ise jeneralize nöbetlere karşılık gelmektedir. Hayvanın 5. evreye ulaşması, tutuşması anlamına gelmektedir. Bu da davranışsal olarak insanlardaki fokal başlangıçlı sekonder jeneralize epilepsiye karşılık gelir [111]. Parsiyel epilepsili hastaların en az %20'sinin sekonder jeneralize nöbet geçirdiği göz önünde bulundurulacak olursa, bu modelin hem fokal hem de sekonder jeneralize epilepsileri aynı çalışmada değerlendirmeyi sağlaması da avantajların biridir.

Tetanoz Toksini Modeli

Clostridium tetani adlı bakterinin ürettiği tetanoz nörotoksini, kontamine bir yarayla temas sonucunda tetanoz sendromuna neden olur. Trismus ve jeneralize kas spazmları ile kendini gösteren bir klinik oluşturur. Bir asırdan fazla süredir nöbetleri tetiklediği bilinen bu toksin, 1960'larda deneysel epilepsi yöntemi olarak kullanılmaya başlanmıştır. İlk defa 1962 yılında köpek korteksinde gri cevhere uygulandığında kronik epileptogenik bir alan oluşturarak epileptik deşarjları oluşturduğu gözlenmiştir [112]. Toksinin epileptik etkisinin GABA disinhibisyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir [113]. Kronik parsiyel epilepsi modelidir. Bu yöntemde, sıçanlarda toksinin hipokampal enjeksiyonundan 1-2 gün sonra, EEG'de elektrografik nöbet aktivitesi görülür. Diken dalgalar hipokampusta başlar ve daha sonra jeneralize hale gelir. Davranışsal nöbetler de 1-2 günlük latens bir periyottan sonra görülmeye başlar. Yüz seyirme, fokal ya da jeneralize miyoklonus, baş kaldırma, arka ayaklar üzerinde kalkma gözlenen davranışlar arasındadır. İktal dönemden sonra cevapsız bir post-iktal evre ve daha sonra davranışsal normalleşme görülür. Davranışsal nöbetler yaklaşık 4 haftalık bir periyotta görülürken spontan epileptik deşarjlar 5-7 hafta boyunca devam eder [114].

Kainik Asit Modeli

Kainik asit, bir L-glutamat analogudur. Antihelmintik olarak kullanılan kainik asitin, 1970 yılında sıçan serebral korteksine enjeksiyonu sonucunda diken dalgalar ürettiği görülmüştür [115]. Oluşturulan nöbetler, insanlardaki temporal lob epilepsisiyle büyük benzerlik göstermektedir. Bu yöntemle uygulanan doza göre, akut ya da kronik epilepsi modeli oluşturulabilir. Kainik asit sistemik veya intraserebral olarak hipokampus veya amigdalaya verilebilir. Limbik sistem yapılarına 0.5-2 ng dozlarında enjeksiyonu SE gelişmesine neden olur. Kainik asit enjeksiyonu ile oluşan statustan 5-30 gün sonra spontan nöbetler ortaya çıkmaktadır [116]. Cepeda ve ark. babunlarda amigdala içine kainik asit enjeksiyonunun hipokampal lezyon oluşturarak SE'ya neden olduğunu gözlemlemişlerdir [117]. Ortaya çıkan spontan konvulsif nöbetler Racine skalasına göre değerlendirilir. Ancak nonkonvulsif nöbetler de ortaya çıkabilmektedir [118]. Li ve ark. yaptıkları çalışmalarda, nöbetlerin hipokampusun CA3 bölgesindeki nöronlardan kaynaklandığını ve nöron kaybıyla sonuçlandığını gözlemlemişlerdir [119,120].

Kainik asit modelinin avantajlarından biri, bazı özel durumlar haricinde tek seferlik bir enjeksiyon ile hayvanın statusa sokulabilmesidir. Bir diğer avantaj ise hayvanların maruz kalabileceği olası bir hasara yol açabilecek cerrahi bir prosedür gerektirmemesidir [121].

Jeneralize Tonik-klonik Epilepsi Modelleri

PTZ ile oluşturulan nöbet modeli:

Akut jeneralize nöbet modeli için sık kullanılan kimyasal konvulsanlardan olan PTZ (1,5-pentametilen; 6, 7, 8, 9 tetrahidro-5 azetpotetrazol) bir tetrazol türevidir. Hayvanlarda oluşturduğu epileptik nöbetler insanlardakine oldukça benzer. Antiepileptik ilaç etkinliğinin değerlendirilmesi açısından günümüzde rahatlıkla ve sıklıkla kullanılmaktadır. Epilepsi oluşumuna yol açan etki mekanizması tam olarak bilinmese de çalışmalar ile GABA inhibisyon kaybı ve voltaj kapılı K^+ kanallarındaki etkinlik artışı gibi nedenler öne sürülmüştür [122]. Pentilentetrazol, $GABA_A$ reseptöründeki pikrotoksin bağlanma bölgesine bağlanmakta ve Cl^- kanallarının açılmasını engelleyerek eksitasyon inhibisyon dengesinin eksitasyon yönüne kaymasına yol açmaktadır [123]. Bu nöbet modelinde PTZ dozu, intraperitoneal yolla 100-150 mg/kg, intravasküler yolla ise 50 mg/kg uygulanmalıdır. Bu değerlerde jeneralize tonik-

klonik nöbetlerin oluştuğu gözlenmiştir [102]. Çözücü olarak tuzlu su çözeltisi kullanılır. Enjeksiyon sonrasında hayvanlar cam fanuslara konularak, 30 dk boyunca Racine ölçeği kullanılarak davranışsal açıdan değerlendirilir. Racine ölçeği esasen elektriksel tutuşma modelinde, fokal başlangıçlı sekonder jeneralize nöbetler için geliştirilmiş bir skala olsa da kemirgenlerde pek çok deneysel epilepsi modelinde sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Tablo 1.7) [124]. Nöbet şiddetini değerlendirmeye yarar sağlar.

Tablo 1.7. Racine skalası [124].

Nöbet Evresi	Davranışsal Cevap
0	Cevap yok
1	Hareketsizlik, göz kapanması, kulak oynatılması, bıyık oynatılması, donma, koklama hareketi
2	Baş sallama
3	Ön ekstremitelerden birinin klonusu, miyoklonik jerk, kuyruk sertliği
4	Bilateral ön ekstremitelerden klonusu, jeneralize nöbet
5	Jeneralize klonik nöbetten dolayı bir taraf üstüne düşme

Maksimal Elektroşok Modeli (MES)

İlk olarak 1946 yılında geliştirilen bu model, jeneralize tonik-klonik nöbetleri çok iyi taklit eden bir örnektir ve bu nöbetleri önlemek için geliştirilen ilaçların etkisinin test edilmesinde kullanılan ilk yöntemdir [125]. Deneyde kullanılan antikonvulsan maddenin nöbetleri engellemedeki başarısı, hayvanların %50'sinde nöbeti tetikleyen akıma karşılık gelen CD50 değeriyle ölçülür. Çalışmalar antiepileptiklerin MES testindeki başarısı ile klinik başarısı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir. Testin kolaylığı, maliyetinin ucuz olması ve iyi standardize edilmesi diğer avantajlarındandır. Test fareler ve sıçanlarda (daha çok farelerde) uygulanmaktadır. Testte hayvanlara uygulanan akım, kontrol grubundakilerin %100'ünde tonik arka bacak ekstansiyonunu sağlamalıdır. Prosedüre göre 50-60 Hz frekansta, farede 50 mA sıçanlarda ise 150 mA şiddetindeki alternan akım, elektrotlar yardımıyla hayvanın kornea ya da kulağına verilir [126,127]. Hayvanın arka ayaklarındaki ekstansiyonun (90 dereceden fazla), 3sn'den fazla sürmesiyle maksimum nöbet tetiklenmiş demektir ve

test başarılı anlamına gelmektedir [128]. Tonik fazdan sonra genellikle pedal çevirme ve sallanma hareketleriyle karakterize klonik faz başlar.

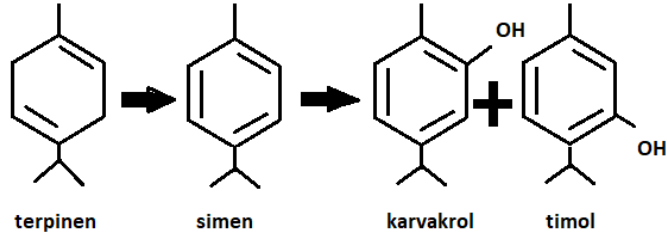
Status Epileptikus Modeli

Pilokarpin Modeli

Pilokarpinin, hipokampustaki muskarinik Ach reseptörlerine agonist etki ile nöbetleri tetiklediği bilinmektedir [129]. Pilokarpin (320-380 mg/kg) serum fizyolojik içinde çözündürülerek, 30 dk içinde intraperitoneal olarak enjekte edildiğinde, hayvanda sabit bakış ve baş sallama gibi anormal davranışlar gözlenmektedir. İlerleyen dönemde ise aralıklı olarak motor nöbetler görülmektedir. Sistemik olarak 380 mg/kg üstü dozlarda uygulama ile hayvan statusa sokulabilir [130]. Sadece pilokarpin verilebildiği gibi lityum uygulamasından sonra pilokarpin verilerek de SE modeli oluşturulabilir. Bu modelde intraperitoneal 100 mg/kg lityum uygulamasından bir gün sonra 25 mg/kg pilokarpin uygulanmaktadır [131]. Enjeksiyondan 1-2 saat sonra hayvan statusa girmektedir. Statusa bağlı ölümü engelleyebilmek için hayvanlara 5 mg/kg dozunda diazepam verilir. Pilokarpin uygulamasından sonra, hayvanın limbik sisteminde nöronal ölüm ile karakterize belirgin bir hasar meydana geldiği gözlenmiştir [132].

KARVAKROL

Lamiaceae (Ballıbabagiller) ailesine ait aromatik bir bitki olan kekik, ülkemizde geniş bir alana yayılmıştır. Ülkemiz, gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanılan kekiğin en büyük ihracatçısıdır. Kekik türleri *origanum*, *thymus* ve *majoranae* olmak üzere başlıca üç aileye ayrılır. *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L., *Thymus capitatus* L. ve *Thymbrae spicata* L. başlıca kekik türlerindendir. Kekik türlerinden elde edilen uçucu yağda; karvakrol, timol, p-simen, pinenler ve seskiterpenler bulunmaktadır. Uçucu yağ karışımının %70'ini timol ve ağırlıklı olarak karvakrol oluşturmaktadır. Karvakrol ve timol, birbirlerinin izomeri olan fenolik bileşiklerdendir. Aromatik fenol halkası üzerinde metil ve izopropil rezidüleri yer almaktadır. Karvakrol ve timol γ -terpinen ve p-simen moleküllerinden sentezlenirler (Şekil 1.9) [7].

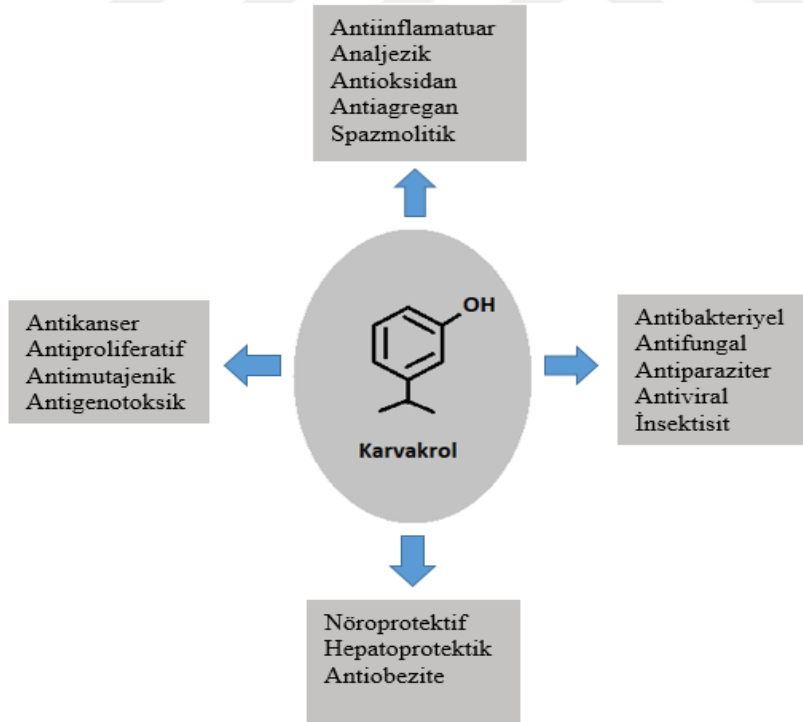


Şekil 1.9. Karvakrol ve timolün moleküler yapısı ve sentez edildikleri bileşikler [133].

Karvakrol, monoterpenik bir fenol bileşiğidir. Biyolojik aktif bir bileşik olan karvakrol gıda endüstrisinde unlu mamüller, alkolsüz içecekler ve sakız gibi pek çok ürüne eklenebilmektedir.

Karvakrolün Etkileri

Karvakrolün antibakteriyel, antiparaziter ve insektisidal etkilerinin yanında; antienflamatuvar, analjezik, antioksidan, antiagregan, spazmolitik ve hepatoprotektif gibi pek çok yararlı etkisi olduğu bilinmektedir (Şekil 1.10) [134,135].



Şekil 1.10. Karvakrolün etkileri.

Antimikrobiyal Etki

Uçucu yağların antibakteriyel etkinliği uzun zamandan beri bilinmektedir. Kekik türlerinde elde edilen uçucu yağlarla yapılan bir çalışmada, antimikrobiyal etkili oldukları gösterilmiştir. *Candida Albicans* ve *Streptococcus Mutans* gibi ağız patojenlerine karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermiştir [136]. Karvakrolün antibakteriyel ve antifungal etkili olduğu bilinen mikroorganizmalar Tablo 1.8’de verilmiştir.

Tablo 1.8. Karvakrolün Antimikrobik Etkisi Olduğu Bilinen Mikroorganizmalar [137,138,139].

Karvakrolün Etkili Olduğu Bilinen Mikroorganizmalar			
<i>Bacillus Cereus</i>	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	<i>Mycobacterium Smegmatis</i>	<i>Yersinia Enterocolitica</i>
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Proteus Vulgaris</i>	<i>Aspergillus Flavus</i>
<i>Corynebacterium Xerosis</i>	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus Aureus</i>	<i>Fusarium Solani</i>
<i>Enterococcus Faecalis</i>	<i>Listeria Monocytogenes</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Mucor sp.</i>

Antimikrobiyal Etki Mekanizması

Hidrofobik olan karvakrolün, bakterilerde lipit membrandaki fosfolipitlerin bütünlüğünü bozarak hücre sel materyalin dışarı sızmasına neden olabileceği bildirilmiştir [140]. Hücre içi ATP seviyesini düşürüp, bakterinin transmembran potansiyelini azaltarak etki gösterdiği düşünülmüştür [141]. Başka bir hipoteze göre, karvakrol bu etkisini katyon değişikliğine sebep olarak yapmaktadır. Proton bağlı karvakrol, hücre içine girdiğinde protonunu bırakır. Hücre içindeki K^+ ’u bağladıktan sonra hücre dışına geçerek buraya bırakır. Protonlar hızla hücre içine girerken, K^+ hücre dışına atılır. Bakterinin sitozolik pH’sı düşer ve protein miktarı hızla azalır. 1 mM karvakrol, bakteri pH’sını 7.1’den 5.8’e düşürebilmektedir [142].

Karvakrolün 0.15 mM ve üzerindeki dozlarda, membran potansiyelinde önemli değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Gıda endüstrisinde ürünlere eklenen karvakrolün miktarı bu etkileri sağlayabilmektedir. Örneğin alkolsüz içeceklere 0.18 mM (28.54 ppm) karvakrol eklenmektedir [143].

Bakteride flagellanın hareketi protonlar sayesinde gerçekleşmektedir. Bir çalışmada karvakrolün, *Escherichia coli*'deki flagellanın hareket kabiliyetini azaltarak invazivliğini azaltmayı sağladığı gösterilmiştir [144].

Antiviral Etki

Karvakrolün, *Herpes simplex virüs*'ün viral zarfının bozulmasına yol açtığı bildirilmiştir [145].

Antiparaziter Etki

Karvakrol, memeli hücrelerine sitotoksik olmayan dozlarda, *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *Leishmania donovani* ve *Plasmodium falciparum*'a karşı antiparaziter aktivite göstermiştir [146].

İnsektisidal Etki

Karvakrolün, *Drosophila melanogaster* larvalarına karşı güçlü insektisidal etkisi olduğu görülmüştür [147].

Antioksidan Etki

Doğal antioksidanlar, strese maruziyet durumunda vücudun antioksidan performansını artırır. Karvakrol de güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir. Çeşitli hücre kültürü çalışmaları ve hayvan deneylerinde karvakrolün, glutatyon gibi antioksidanların seviyesini önemli ölçüde artırdığı ve oksidatif strese karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [148]. Sıçanlarda yapılan bir immobilizasyon stres testinde karvakrolün, karaciğer, böbrek ve beyindeki SOD, GSH ve CAT seviyelerindeki düşüşü düzelttiği gösterilmiştir [149]. Karvakrolün, serbest radikallerin lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehid (MDA) seviyesini azalttığı bildirilmiştir [150].

Mevcut çalışmalar, karvakrolün antioksidan aktivite kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Antikanser ve Antiproliferatif Etki

Şimdiye kadar karvakrolün etkileri üzerine yapılan pek çok araştırma, antikanser tedavisi için potansiyel bir ajan olarak kullanılabileceğini doğrulamıştır. Karvakrolün karsinogeneze etkisini araştırmak için sıçanlarda yapılan bir leiomyosarkom modelinde, 3,4-benzopirenin karsinojenik etkisini %30 azalttığı gözlenmiştir [151].

Karvakrolün antitümöral etkisinin hücrelerde prooksidan aktiviteyle apoptoz ya da nekroza yol açması ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Kültüre edilmiş sıçan nöronlarında, karvakrolün 10, 25 ve 50 mg/L dozlarında, total antioksidan kapasiteyi artırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, 200 ve 400 mg/L’de nöroblastom hücrelerinde total oksidatif stres seviyesini artırırken, sıçan nöronlarında sadece 400 mg/L düzeyinde artışa yol açmıştır [152].

Bir çalışmada, karvakrolün hepatokarsinom hücre hattına (HepG2) karşı güçlü sitotoksik etkili olduğu (IC50: 48.3mg/L) ancak sağlıklı insan böbrek hücrelerinde (HEK293) daha düşük bir sitotoksositeye (IC50: 90.5mg/L) neden olduğu gösterilmiştir. Karvakrolün, GST aktivitesi ile apoptozu indükleyerek antikanser etki gösterdiği tahmin edilmektedir [153]. İnsan küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde yapılan bir çalışmada ise i.m. karvakrol uygulamasının doza bağımlı olarak (250 µM ve üstü dozlarında) kanser hücrelerinin sayısını azalttığı ve morfolojilerini bozduğu bildirilmiştir [154]. Bir çalışmada, N-ras onkojeninin aktive edildiği miyoblastlarda karvakrolün hücre büyümesini engellediği gösterilmiştir. Karvakrolün bu etkisinin sitotoksik etkiden ziyade onkojen proteinine prenilasyonundan kaynaklandığı öne sürülmektedir [155].

Karvakrolün kanser hücrelerinde matriks metalloproteazların ekspresyonunu azaltarak invazyonu azalttığı gösterilmiştir [156]. Sıçanlarda oluşturulan bir akciğer tümörü modelinde, intraperitoneal 0.1 mg/kg karvakrol uygulamasının tümör anjiyogenezini inhibe ettiği gösterilmiştir [151]. Karvakrolün sitotoksik olduğu bazı hücre tipleri Tablo 1.9’da verilmiştir.

Tablo 1.9. Karvakrolün sitotoksik olduğu bazı kanser hücreleri

Hücre	IC50 değeri	Ref.
B16 melanomu hücreleri	IC50: 120 µmol/L	[157]
Larinx karsinom hücreleri	IC50: 0.2 mM	[158]
Leimyosarkom hücreleri	IC50: 67-90 µM	[159]
Metastatik meme kanseri hücreleri	IC50: 100 µM	[160]
Kronik miyeloblastik lösemi hücreleri	IC50: 112.5 µM	[161]

Antimutajenik Etki

Karvakrol içeren *Origanum Compactum*'dan elde edilen esansiyel yağın, üretilen ve metil metansülfonat mutajenlerine karşı antimutajenik etkili olduğu gösterilmiştir [162].

Antigenotoksik Etki

Karvakrolün antigenotoksik etkileri çeşitli hücre hatlarında gösterilmiştir [163]. Karvakrolün, H₂O₂ ile indüklenmiş oksidatif DNA hasarını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir [164,165].

Karvakrol, 0.05 mM'ın altındaki konsantrasyonlarda, lenfositleri 2-amino-3-metilimidazo [4,5-f]-kinolin (IQ) ve mitomisin C (MMC)'nin genotoksik etkilerinden koruduğu görülmüştür. Ancak 0.1 mM'dan daha yüksek konsantrasyonlarda karvakrolün kendisinin DNA hasarına neden olabileceği gösterilmiştir [166].

Antiagregan Etki

Karvakrolün antiagregan etkisinin aspirine kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür [167].

Analjezik ve Antienflamatuvar Etki

Ülkemizde karın ağrısı için kullanılmakta olan karvakrolün, sıçan ileumunda antispazmodik etkisinin olduğu görülmüştür. Karvakrol içeren oreganodan elde edilen esansiyel yağın analjezik ve antienflamatuvar etkisi çalışmalarla gösterilmiştir [168]. Karvakrolün analjezik ve antienflamatuvar etkisini, dopaminerjik, serotonerjik ve GABAerjik sistemler üzerinden ve antienflamatuvar mediatörlerin salınımına yol açarak gösterdiği bildirilmiştir [169].

Karvakrolün prostaglandin sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir [170]. Ayrıca, nötrofil elastaz aktivitesini inhibe ettiği de gözlenmiştir [171]. Başka bir çalışmada, pankreatik elastaz uygulanan farelerde akciğer inflamasyonunu azalttığı bildirilmiştir [172]. Bu nedenle KOAH ve alfa-1-antitripsin eksikliği olan hastalarda, farmakolojik tedaviye ek fitoterapi amaçlı verilebilir.

Hepatoprotektif Etki

Parsiyel hepatektomi yapılan sıçanlarda, karvakrolün karaciğer rejenerasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir [173]. Ayrıca karvakrolün, karaciğeri iskemi reperfüzyon hasarından koruduğu bildirilmiştir [174].

Antiobezite Etkisi

Anormal veya aşırı yağ birikiminin gerçekleştiği obezite önlenabilir hastalık ve ölümlerin nedenlerinden biridir. Bir çalışmada, 10 haftalık diyetle eklenen 100 mg/kg karvakrolün vücut ağırlığı artışını azalttığı bildirilmiştir. Karvakrolün proenflamatuvar sitokinleri baskılayarak visceral adipoz dokudaki adipogenez ve termogenez modüle ettiği düşünülmektedir [175].

Farmakokinetik

Karvakrolün domuz yavrularına oral uygulamadan sonra neredeyse tamamının emildiği görülmüştür [176]. Başka bir çalışmada, tavşanlara oral olarak verilen karvakrolün (1.5 g) %30'dan fazlasının gastrointestinal sistemde kaldığı bildirilmiştir [177].

Karvakrol lipofilik bir maddedir. Sıçanlara oral olarak verilen 500 mg karvakrolün büyük oranda mide, barsak ve üriner sisteme yayıldığı bildirilmiştir. Az bir kısmı ise karaciğer, akciğer ve kaslara yayılmaktadır [178].

Karvakrol oral alımdan sonra hızla metabolize edilerek atılır. Karvakrolün iki ana metabolize ediliş şekli; glukuronik asit ($C_6H_{10}O_7$) ve sülfatla (SO_4^{-2}) konjugasyondur. Konjugasyondan sonra idrarla atılır [179]. Karvakrolün oksidasyonundan esas sorumlu sitokrom P450 enzimi CYP2A6'dır [180].

Tavşanlara oral olarak uygulanan karvakrolün, 22 sa sonra %25'inin üriner sistemden atıldığı bildirilmiştir [177]. Karvakrolün domuzlardaki yarılanma ömrünün oral alınan doza bağlı olarak 1.84-2.05 sa olduğu bildirilmiştir [176].

Karvakrolün metabolizmasıyla ilgili insanlarda henüz herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Türler arasındaki farklılıklar dikkate alınmalıdır.

Karvakrolün Güvenilirliği

Karvakrolün letal dozu sıçanlarda oral 810 mg/kg, i.v. 80 mg/kg ve i.p. 73 mg/kg, farelerde ise 110–233.3 mg/kg arasındadır [177].

Esansiyel yağlar biyolojik aktif moleküllerdir. Pek çok yararının yanında mutajenite ve sitotoksikite gibi etkilerinin de olabileceği hesaba katılmalıdır. Çoğu esansiyel yağ sitotoksik olup mutajenik özellik taşımazlar. Ancak bu yağların metabolitlerinin kanserojen olma ihtimali de vardır. *Ocimum basilicum* bitkisinden elde edilen esansiyel yağın bir bileşeni olan östragolün, fare ve sıçanlarda kanserojen etki gösterdiği bildirilmiştir [181]. Bazı yağlar, güneş ışınlarına duyarlı olup, cilt kanserine neden olabilecek flavinler, hidrokarbonlar ve porfirinleri içermektedir. Örneğin, *Citrus bergamia* bitkisinden elde edilen uçucu yağlarda bulunan psoralen, UV ve güneş ışınlarına maruziyet sonucunda, cilt kanserini tetikleyebilmektedir [182].

Karvakrol ile ilgili yapılan genotoksikite çalışmaları sınırlı sayıdadır. Karvakrolün genotoksikitesinin ön değerlendirmesi SOS kromotesti, Ames testi ve DNA onarım testi gibi testler ile gerçekleştirilmiştir. Genotoksikite çalışmalarında, timol ve karvakrolün genotoksik potansiyelinin çok zayıf olduğu sonucuna varılmıştır [183]. Bakkali ve ark. yaptıkları bir çalışmada, karvakrolün mitokondri gibi organel zarlarına prooksidan aktiviteyle sitotoksik etkili olabileceğini ancak genotoksik olmadıklarını belirtmişlerdir [184]. Karvakrolün genotoksik etkiden uzak olması, uzun vadeli kullanımında güvenilirlik sağlamaktadır. Karvakrolün (0-400 mg/L) hem nöroblastom hücrelerinde (N2a) hem de sağlıklı sıçan nöronlarında DNA hasarına sebep olmadığı gösterilmiştir [185]. Buna karşılık, başka bir çalışmada, kolorektal adenokarsinom hücrelerinde (CaCo-2) yüksek dozlarda karvakrol uygulamasının (460 µM) DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, karvakrolün Ames testinde mutajenik aktivite gösterdiği ve bu nedenle bakteriyel sistemde etkili bir mutajen olduğu bildirilmiştir (115–230µM) [186]. Ancak Ames testinin, ökaryot hücreler için yeterli bir model olmadığı da göz önünde bulundurulmalıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 2 aylık, ağırlıkları 250-350 gr arasında olan Wistar cinsi erkek sıçan (n=62) kullanıldı. Hayvanlar Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanların besine ve suya erişimi *ad libitum* olarak gerçekleştirildi. Tüm hayvanlar 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsünde, sıcaklığı 20-25 °C olan odalarda barındırıldı. Tüm gruplarda uygulamaya saat 09:00'da başlandı.

Çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu'ndan 2020/34 karar no ile etik kurul onayı (Bknz. EK.1) alınmıştır.

ÇALIŞMA GRUPLARI VE UYGULANACAK İŞLEMLER

Hayvanlar, PTZ-indüklü (n=28) ve penisilin-indüklü (n=34) olmak üzere randomize olarak iki ana gruba ayrıldı. PTZ-indüklü grup 4 alt gruba ve penisilin-indüklü grup ise 5 alt gruba ayrıldı (Tablo 2.1, Tablo 2.2). Örneklem büyüklüğüne literatürdeki benzer çalışmalara göre karar verildi.

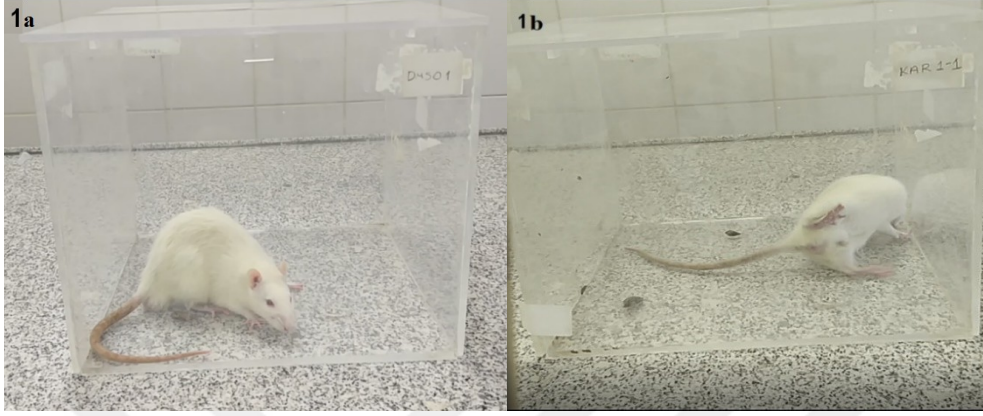
PTZ-indüklü Grup

Gruplar	Uygulanacak İşlemler		Hayvan Sayısı
	0. dakika	30. dakika	
Grup 1 (Vehicle kontrol)	0.2 ml %10 DMSO (i.p.)	PTZ (50 mg/kg, i.p.) 30 dk video kaydı	n=7
Grup 2	Karvakrol (25 mg/kg i.p.)	PTZ (50 mg/kg, i.p.) 30 dk video kaydı	n=7
Grup 3	Karvakrol (75 mg/kg i.p.)	PTZ (50 mg/kg, i.p.) 30 dk video kaydı	n=7
Grup 4	Karvakrol (150 mg/kg i.p.)	PTZ (50 mg/kg, i.p.) 30 dk video kaydı	n=7

Bu gruptaki hayvanlara karvakrolün 3 farklı dozu (25 mg/kg, 75 mg/kg, 150 mg/kg) enjekte edildikten 30 dakika sonra PTZ enjeksiyonu (50 mg/kg, i.p.) yapıldı (Tablo 2.1). Pentilentetrazol enjeksiyonunu takiben ilk 30 dakika sıçanların davranışları gözlemlenerek video kaydına alındı (Şekil 2.1 a,b). Epileptik nöbetlerin

Tablo 2.1. PTZ-indüklü gruba uygulanacak işlemler.

yoğunluğu/derecesi, Bölüm 1’de verilen Racine skalasına göre değerlendirilerek skorlandı (Tablo 1.7). Değerlendirmede hayvanların ilk myoklonik jerke girme zamanı, ilk jeneralize tonik-klonik nöbete girme zamanı, jeneralize tonik-klonik nöbette kalma süresi ve ulaştığı evre analiz edildi.



Şekil 2.1. a) Hayvanın davranışsal gözlemi, b) Jeneralize tonik-klonik nöbet geçiren hayvan.

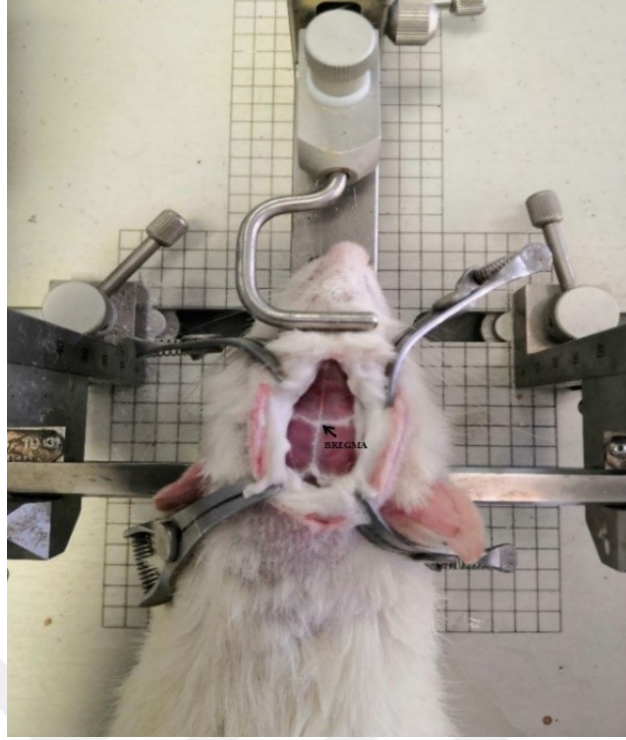
Penisilin-indüklü Grup

Anestezi prosedürü

Penisilin indüklü gruptaki hayvanlara ilk olarak intraperitoneal 1.25 g/kg üretan (Sigma Aldrich, ABD) anestezisi uygulandı.

Cerrahi Prosedür

Hayvanlar tıraş edildikten sonra stereotaksi aparatına (Harvard Aparatı, ABD) yerleştirildi. Bisturi ile kafa derisinde rostro-kaudal düzlemde insizyon hattı açıldı ve yumuşak doku ortadan kaldırıldı. Bregma belirlendi ve sağ sensörimotor korteks üzerindeki kranyum parçası tur motoruyla inceltilerek kaldırıldı (Şekil 2.2). Sağ sensörimotor korteks ortaya çıkarıldı.



Şekil 2.2. Hayvanda bregma noktasının ortaya çıkarılması

Epileptiform Aktivite Oluşturulması

Epileptiform aktivite oluşturmak için hayvanlara intrakortikal penisilin (Sigma Chemical, ABD) uygulandı. Bregma referans alınarak (AP=1mm, R=2 mm), sağ sensörimotor korteksin 1.2 mm derinine, Hamilton mikroenjektörüyle (701N, Hamilton Co., Reno, NV, ABD) 500 IU penisilin (2.5 µl) enjekte edildi. 5. gruba ise penisilin yerine SF uygulandı.

Uygulanan madde

Penisilin uygulamasından 30 dk sonra, kontrol grubu hariç diğer gruplara, %0.1'lik DMSO içinde çözödürölen karvakrolün 3 farklı dozu (25 mg/kg, 75 mg/kg, 150 mg/kg,) i.p. olarak uygulandı (Sigma Aldrich-W224511, St. Louis, MO, ABD). Kontrol grubuna (vehicle kontrol) ise sadece %0.1 DMSO (0.2 ml, i.p.) verildi (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Penisilin-indüklü gruptaki hayvanlara uygulanacak işlemler.

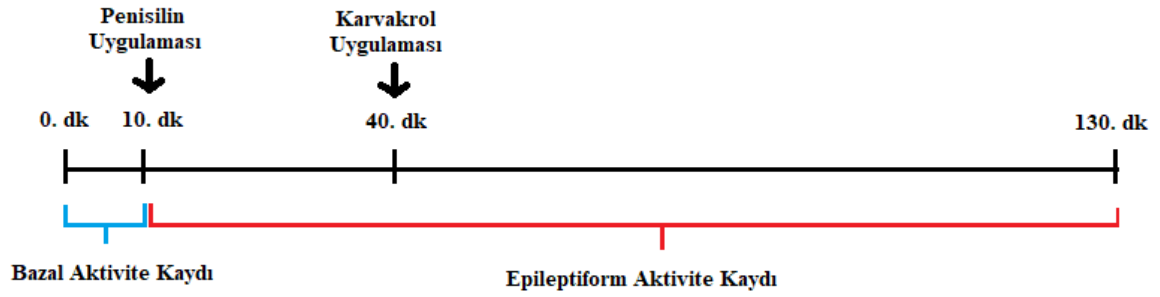
Gruplar	Uygulanacak İşlemler	Hayvan Sayısı
Grup 1 (vehicle kontrol)	0.2 ml %0.1 DMSO (i.p.) 2.5 µl penisilin (500 IU, i.c.) Elektrofizyolojik kayıt	n=7
Grup 2	25 mg/kg karvakrol (i.p.) 2.5 µl penisilin (500 IU, i.c.) Elektrofizyolojik kayıt	n=7
Grup 3	75 mg/kg karvakrol (i.p.) 2.5 µl penisilin (500 IU, i.c.) Elektrofizyolojik kayıt	n=7
Grup 4	150 mg/kg karvakrol (i.p.) 2.5 µl penisilin (500 IU, i.c.) Elektrofizyolojik kayıt	n=7
Grup 5	150 mg/kg karvakrol (i.p.) 2.5 µl serum fizyolojik (SF) (i.c.) Elektrofizyolojik kayıt	n=6

Elektrofizyolojik Kayıt

ECoG (elektrokortikografi) kaydı için, iki adet Ag-AgCl top elektrot, sağ sensörimotor korteks üzerinde Bregma'nın 2 mm latereline, biri Bregma hattının 1 mm önünde diğeri ise 5 mm arkasında olacak şekilde yerleştirildi (Şekil 2.3). Referans elektrot ise hayvanın kulak kepçesine takıldı. Penisilin ile epileptik aktivite oluşturulmadan önce hayvanlardan 10 dk boyunca bazal elektriksel aktivite kaydı alındı. Penisilin ve SF uygulamasından sonra 30 dk, karvakrol ve DMSO uygulamasından sonra ise 90 dk ECoG kaydı alındı. Böylelikle her bir hayvandan toplam 130 dakikalık kayıt alındı (Şekil 2.4). ECoG sinyalleri BioAmp ile yükseltilerek, PowerLab/8SP veri kayıt sistemi ile kaydedildi (AD Instruments, Avustralya).



Şekil 2.3. Elektrotların yerleştirilmesi.



Şekil 2.4. ECoG kaydı periyotları.

Elektrofizyolojik Analizler

PowerLab Chart v.7.2.1 yazılım programı ile ECoG kaydı 10'ar dakikalık zaman dilimlerine bölünerek, her bir zaman dilimi içindeki diken dalga sayısı ve dalga genliği analiz edildi. Epileptiform aktivitenin ilk başlama zamanı, epileptik deşarjların frekansı ve genliği analiz edildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Pentilentetrazol çalışmasında grupların davranışsal evre, ilk miyojenik jerke girme süresi, ilk jenaralize tonik-klonik geçirdiği zaman ve jenaralize tonik-klonik geçirdiği toplam süre açısından karşılaştırılmasında, Kruskal-Wallis testi kullanıldı ve farklı gruplar post hoc Dunn testi ile belirlendi. Kategorik özellikler ile gruplar arası ilişkiler Fisher-Freeman-Halton testi ile incelendi.

Penisilin çalışmasında epileptiform aktivite kaydı 10'ar dakikalık periyotlara ayrılarak analiz edildi. Her bir grupta, diken dalga sayısı ve dalga genliği açısından periyotların karşılaştırılmasında Friedman testi kullanıldı ve farklı periyotlar post hoc Dunn testi ile ortaya kondu. Her bir periyot için diken dalga sayısı ve dalga genliği açısından grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı ve farklı gruplar post hoc Dunn testi ile belirlendi. Ayrıca, karvakrol ECoG kaydı başlangıcından 40 dakika sonra uygulandığı için, 40. dk öncesi ve sonrası diken dalga sayısındaki ve dalga genliğindeki değişimler Wilcoxon testi ile incelendi.

Çalışmada istatistiksel anlamlılık sınırı $p=0.05$ olarak belirlendi.

BULGULAR

PTZ İLE UYARILAN HAYVANLARDA KARVAKROL DOZLARININ DAVRANIŞSAL ETKİLERİ

Davranışsal Evre

Hayvanların Racine skalasına göre gösterdiği davranışsal evreler, evre 3-6 arasında değişmekteydi. Davranışsal evre açısından karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.419$, Tablo 3.1).

Grup	N	Ort.	SD	Pers			p*	
				antil				
				25	Medyan	75		
Evr e	Kontrol	7	4,86	0,378	5,00	5,00	5,00	0.419
	Karvakrol 25	7	4,86	0,900	5,00	5,00	5,00	
	Karvakrol 75	7	4,71	0,756	5,00	5,00	5,00	
	Karvakrol 150	7	4,29	0,951	3,00	5,00	5,00	

Tablo 1.1. PTZ gruplarının davranışsal evre açısından karşılaştırmalı sonuçları.

* Kruskal-Wallis testi ve post hoc Dunn testi

Miyoklonik Jerkin ilk Görüldüğü Zaman

Hayvanlarda miyoklonik jerkin ilk görülme zamanı 52-190. saniyeler arasında değişmekteydi. Gruplar miyojenik jerkin ilk görüldüğü zaman bakımından karşılaştırıldığında Karvakrol-150 grubunda (142,43 sn), Kontrol grubuna (89,43 sn) göre anlamlı düzeyde geciktiği bulunmuştur ($p=0.019$, Tablo 3.2) Diğer gruplar arasında anlamlı düzeyde bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 3.2. PTZ gruplarının miyoklonik jerkin ilk görüldüğü zaman açısından karşılaştırmalı sonuçları.

	Grup	N	Ort.	SD	Persantil			p*
					25	Medyan	75	
Miyoklonik jerkin ilk görüldüğü zaman	Kontrol	7	89,43^a	38,318	74,00	81,00	91,00	0.019
	Karvakrol 25	7	106,43	21,609	87,00	97,00	130,00	
	Karvakrol 75	7	109,00	15,297	95,00	117,00	120,00	
	Karvakrol 150	7	142,43^a	34,999	110,00	151,00	165,00	

*Kruskal-Wallis testi ve post hoc Dunn testi. Aralarında anlamlı farklılık olan gruplar aynı harf ile gösterilmiştir (a: Kontrol ve Karvakrol-150 grupları arasında anlamlı fark).

Jenaralize Tonik-klonik Nöbet Geçirme Sıklığı

Kontrol grubunda 0, Karvakrol-25 grubunda 1, Karvakrol-75 grubunda 1 ve Karvakrol-150 grubunda 2 jeneralize tonik-klonik nöbet geçirmeyen hayvan vardı. Gruplar karşılaştırıldığında jeneralize tonik-klonik nöbet geçirme sıklığı açısından anlamlı bir farka rastlanmadı ($p=0.881$, Tablo 3.3).

Tablo 3.3. PTZ gruplarındaki jeneralize tonik-klonik nöbet geçirme sıklığı.

	Grup	N	n	%
	Kontrol	7	7	100,0
	Karvakrol 25	7	6	85,7
Jeneralize tonik-klonik nöbet geçirme sıklığı	Karvakrol 75	7	6	85,7
	Karvakrol 150	7	5	71,4
	Total	28	24	85,7

*Fisher-Freeman-Halton testi. N: Hayvan sayısı, n: Jeneralize tonik-klonik nöbet geçiren hayvan sayısı

Jenaralize Tonik-klonik Nöbetin Başlangıç Zamanı

Jeneralize tonik-klonik nöbet geçiren hayvanların nöbet geçirmeye başladıkları zaman 65-334. saniyeler arasında değişmekteydi. Gruplar jeneralize tonik-klonik nöbetin başlangıç zamanı açısından birbiriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.138$, Tablo 3.4).

Tablo 3.4. PTZ gruplarının jeneralize tonik-klonik nöbetin başladığı zaman açısından karşılaştırmalı sonuçları.

	Grup	N	Ort.	SD	Persantil			p*
					25	Medyan	75	
	Kontrol	7	148,29	76,236	86,00	138,00	233,00	
Jenaralize tonik-klonik nöbetin başladığı zaman	Karvakrol 25	6	212,67	79,059	130,25	207,00	292,25	0.138
	Karvakrol 75	6	181,00	77,931	133,50	155,50	227,25	
	Karvakrol 150	5	243,40	54,848	200,50	235,00	290,50	

*Kruskal-Wallis testi ve post hoc Dunn testi. N: Jeneralize tonik-klonik nöbet geçiren hayvan sayısı

Jenaralize Tonik-klonik Nöbet Geçirilen Toplam Süre

Jeneralize tonik-klonik nöbet geçiren hayvanların nöbet geçirdiği toplam süre 14-55. saniyeler arasında değişmekteydi. Gruplar nöbet süresi açısından

karşılaştırıldığında (Nöbet geçiren ve geçirmeyen tüm hayvanlar hesaba katıldı) istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.918$, Tablo 3.5).

Tablo 3.5. PTZ gruplarının jeneralize tonik-klonik nöbet geçirilen toplam süre açısından karşılaştırmalı sonuçları.

	Grup	N	Ort.	SD	Persantil			p*
					25	Medyan	75	
	Kontrol	7	22,43	5,912	18,00	22,00	27,00	0.918
Jenaralize tonik-klonik nöbet geçirilen toplam süre	Karvakrol 25	7	21,43	11,928	18,00	21,00	33,00	
	Karvakrol 75	7	24,57	18,805	17,00	18,00	45,00	
	Karvakrol 150	7	17,43	13,062	0,00	21,00	30,00	

*Kruskal-Wallis testi ve post hoc Dunn testi.

KARVAKROL DOZLARININ PENİSİLİN MODELİNE ETKİSİ

Hayvanların ECoG kayıtları 10'ar dakikalık periyotlara bölünerek diken dalga sayısı ve dalga genliği bakımından incelenmiştir.

Latens Süre

Çalışmada penisilinin kortekse enjeksiyonundan 3-10 dakika sonra ECoG kayıtlarında diken dalgalar belirmeye başlamıştır. Karvakrol, epileptiform aktivite başlangıcından sonra verildiği için latens süreye etkisi incelenememiştir.

Karvakrol Dozlarının Diken Dalga Sayısına Etkisi

Her bir grup için periyotlardaki diken dalga sayısı birbiriyle karşılaştırıldığında, diken dalga sayısının en yüksek olduğu periyot kontrol grubunda, Karvakrol-75 grubunda ve Karvakrol-150 grubunda 20-30. dakikalar arası, Karvakrol-25 grubunda ise 30-40. dakikalar arasıdır. Diken dalga sayısının en düşük olduğu periyot, Kontrol grubunda 90-100. dakikalar arası, Karvakrol-25, Karvakrol-75 ve Karvakrol-150 gruplarında ise 120-130. dakikalar arasıdır. Periyotlardaki diken dalga sayısının gruplara göre karşılaştırılması Tablo 3.6'da verilmiştir. Diken dalga sayılarındaki periyodik değişim Şekil 12'te özetlenmiştir.

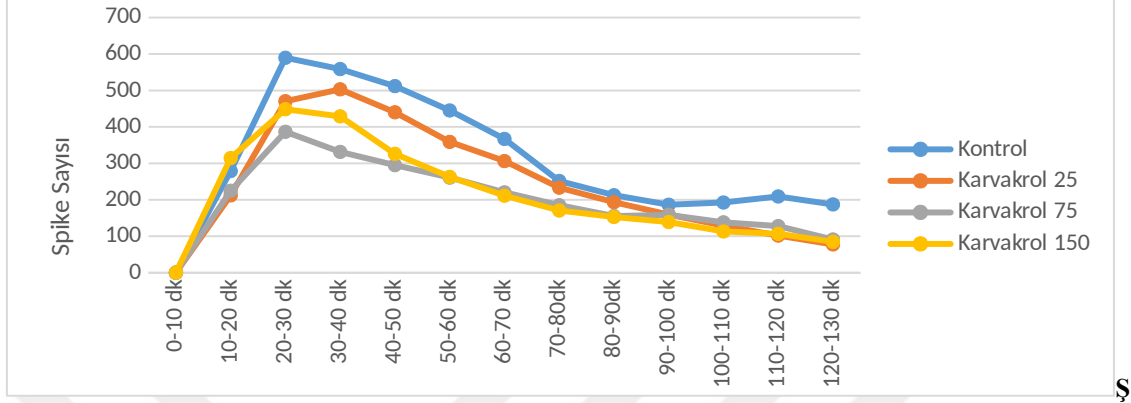
Her bir periyot için diken dalga sayısının gruplar arası karşılaştırmasında, 30-40. dakikalardaki diken dalga sayısı Karvakrol-75 grubunda, Kontrol ($p=0.025$) ve Karvakrol-25 ($p=0.049$) gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Ayrıca Karvakrol-75 grubunda 40-50. dakikalardaki diken dalga sayısı, Kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p=0.033$). Diğer ölçüm periyotlarında 4 grup arasında diken dalga sayısı bakımından anlamlı bir farka rastlanmamıştır (Tablo 3.6).

Tablo 3.6. Penisilin gruplarında diken dalga sayısının farklı periyotlar ve gruplara göre tanımlayıcı değerleri.

Periyot	Grup	N	Ort.	SD	Persantil			p
					25.	Medyan	75.	
10-20dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	278,86	171,24	159,00	194,00	376,00	0.452
	Karvakrol 25	7	212,14	163,42	40,00	214,00	251,00	
	Karvakrol 75	7	224,86	158,83	102,00	169,00	310,00	
	Karvakrol 150	7	314,43	149,27	189,00	282,00	490,00	
20-30dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	589,71	130,98	490,00	569,00	676,00	0.129
	Karvakrol 25	7	470,57	170,31	265,00	494,00	617,00	
	Karvakrol 75	7	386,57	122,45	295,00	370,00	395,00	
	Karvakrol 150	7	448,57	172,50	340,00	510,00	578,00	
30-40dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	558,71	167,87	487,00	539,00 ^a	591,00	0.029*
	Karvakrol 25	7	503,14	50,42	466,00	513,00 ^a	544,00	
	Karvakrol 75	7	331,43	96,34	258,00	296,00 ^b	429,00	
	Karvakrol 150	7	429,00	204,16	254,00	495,00 ^{ab}	572,00	
40-50dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	511,86	130,13	415,00	503,00 ^a	619,00	0.033*
	Karvakrol 25	7	440,14	55,01	392,00	417,00 ^{ab}	493,00	
	Karvakrol 75	7	295,00	112,71	205,00	259,00 ^b	383,00	
	Karvakrol 150	7	326,00	229,73	172,00	320,00 ^{ab}	494,00	
50-60dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	445,14	162,65	300,00	476,00	571,00	0.093
	Karvakrol 25	7	358,86	87,68	254,00	392,00	446,00	
	Karvakrol 75	7	260,86	46,71	203,00	279,00	308,00	
	Karvakrol 150	7	262,86	211,21	31,00	280,00	416,00	
60-70dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	367,00	202,29	163,00	405,00	594,00	0.368
	Karvakrol 25	7	306,29	149,24	182,00	277,00	362,00	
	Karvakrol 75	7	220,43	47,11	175,00	209,00	262,00	
	Karvakrol 150	7	211,29	184,19	7,00	186,00	345,00	
70-80dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	251,71	239,98	21,00	260,00	552,00	0.806
	Karvakrol 25	7	233,29	119,72	134,00	256,00	303,00	
	Karvakrol 75	7	185,14	83,19	120,00	196,00	216,00	
	Karvakrol 150	7	170,57	149,78	5,00	195,00	291,00	
80-90dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	212,57	232,62	0,00	156,00	525,00	0.874
	Karvakrol 25	7	193,43	142,32	37,00	268,00	296,00	
	Karvakrol 75	7	155,29	111,14	39,00	170,00	235,00	
	Karvakrol 150	7	152,86	151,13	0,00	164,00	282,00	
90-100dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	186,43	224,86	0,00	47,00	482,00	0.883
	Karvakrol 25	7	159,43	125,35	17,00	203,00	255,00	
	Karvakrol 75	7	158,71	140,70	17,00	161,00	296,00	
	Karvakrol 150	7	139,00	141,74	0,00	141,00	271,00	
100-110dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	192,57	229,47	10,00	17,00	435,00	0.718
	Karvakrol 25	7	129,14	101,18	10,00	130,00	191,00	
	Karvakrol 75	7	138,14	146,01	3,00	90,00	266,00	
	Karvakrol 150	7	113,14	119,04	0,00	122,00	238,00	
110-120dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	209,14	257,32	6,00	13,00	480,00	0.878
	Karvakrol 25	7	101,86	91,04	15,00	106,00	154,00	
	Karvakrol 75	7	127,86	141,76	1,00	87,00	237,00	
	Karvakrol 150	7	106,57	107,18	0,00	138,00	228,00	
120-130dk Diken dalga sayısı	Kontrol	7	187,29	234,07	0,00	6,00	465,00	0.959
	Karvakrol 25	7	77,57	89,79	9,00	16,00	179,00	

Karvakrol 75	7	91,14	135,94	0,00	31,00	118,00
Karvakrol 150	7	84,71	88,23	0,00	105,00	132,00

*Kruskal-Wallis testi ve post hoc Dunn testi. Aralarında anlamlı düzeyde farklılık olan gruplar tamamen harflerle gösterilmiştir.



ekil 3.1. Gruplara göre diken dalga sayısındaki periyodik değişim.

Karvakrol Dozlarının Dalga Genliğine (Amplitüd) Etkisi

Her bir grup için periyotlardaki maksimum dalga genlikleri birbiriyle karşılaştırıldığında, en yüksek olduğu periyot Kontrol grubunda 30-40. dakikalar arası, Karvakrol-25 grubunda 30-50. dakikalar arası, Karvakrol-75 ve Karvakrol-150 grubunda ise 20-30. dakikalar arasıdır. Penisilin verilmesinden sonraki maksimum dalga genliğinin en düşük olduğu periyot Kontrol, Karvakrol-75 ve Karvakrol-150 gruplarında 120-130. dakikalar arası, Karvakrol-25 grubunda ise 110-120. dakikalar arasıdır. Periyotlardaki dalga genliğinin gruplara göre karşılaştırılması Tablo 20’de verilmiştir. Genlikteki periyodik değişim Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

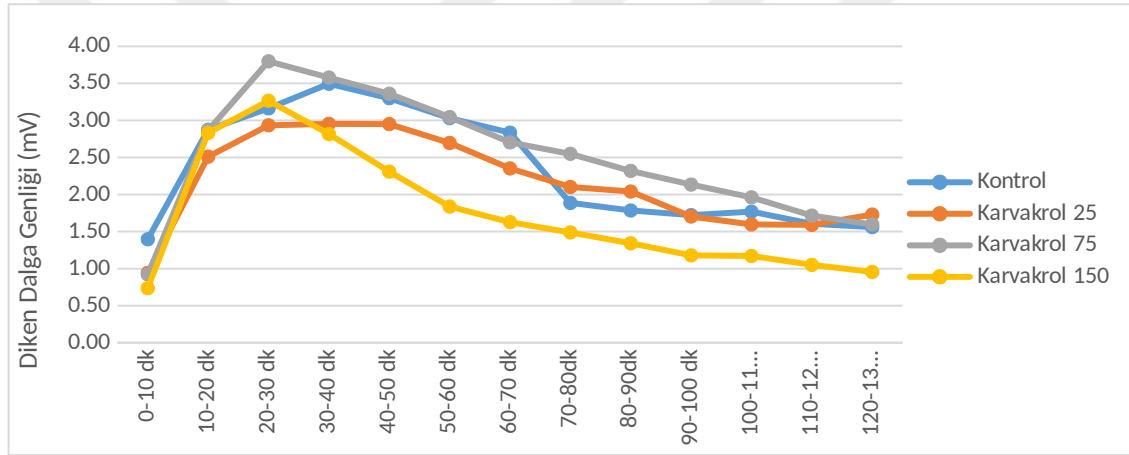
Her bir periyot için maksimum dalga genliğinin gruplar arası karşılaştırmasında, 80–90. dakikalar arasındaki dalga genliği, Kontrol (1,78mV) ve Karvakrol-150 (1,34mV) gruplarında, Karvakrol-25 (2,04mV) ve Karvakrol-75 (2,32mV) gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Diğer ölçüm periyotlarında 4 grup arasında dalga genliği bakımından anlamlı bir farka rastlanmamıştır (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Dalga genliğinin farklı periyotlar ve gruplara göre tanımlayıcı değerleri.

Amplitüd Periyot	Grup	N	Ort.	SD	Persantil			p
					25.	Medyan	75.	
10-20 dk Amplitüd	Kontrol	7	2,87	1,16	1,93	3,45 ^a	3,59	0.007*
	Karvakrol 25	7	2,51	1,33	1,62	2,55 ^a	3,86	
	Karvakrol 75	7	2,87	1,04	1,95	2,69 ^a	4,00	
	Karvakrol 150	7	2,83	1,15	1,80	2,63 ^a	3,75	
	SF + Karvakrol 150	7	0,58	0,30	0,36	0,50 ^b	0,77	
20-30 dk Amplitüd	Kontrol	7	3,16	1,10	2,88	3,55 ^a	4,01	0.006*
	Karvakrol 25	7	2,93	1,46	1,53	3,28 ^a	4,38	
	Karvakrol 75	7	3,80	1,25	2,65	3,67 ^a	4,91	
	Karvakrol 150	7	3,27	0,95	2,49	3,27 ^a	4,14	
	SF + Karvakrol 150	7	0,55	0,37	0,30	0,42 ^b	0,77	
30-40 dk Amplitüd	Kontrol	7	3,49	0,94	3,26	3,56 ^a	4,26	0.003*
	Karvakrol 25	7	2,95	1,38	1,53	3,42 ^a	4,43	
	Karvakrol 75	7	3,58	1,31	2,32	3,39 ^a	4,84	
	Karvakrol 150	7	2,82	0,87	1,78	2,84 ^a	3,36	
	SF + Karvakrol 150	7	0,57	0,36	0,29	0,44 ^b	0,94	
40-50 dk Amplitüd	Kontrol	7	3,30	1,20	2,67	3,12 ^a	4,12	0.002*
	Karvakrol 25	7	2,95	1,20	1,86	3,15 ^a	4,24	
	Karvakrol 75	7	3,36	1,46	1,80	3,43 ^a	4,87	
	Karvakrol 150	7	2,31	1,06	1,26	2,65 ^a	3,11	
	SF + Karvakrol 150	7	0,43	0,27	0,18	0,39 ^b	0,65	
50-60dk Amplitüd	Kontrol	7	3,03	1,36	1,81	2,95 ^a	4,10	0.003*
	Karvakrol 25	7	2,70	1,41	1,66	2,00 ^a	4,52	
	Karvakrol 75	7	3,04	1,37	1,55	3,55 ^a	3,98	
	Karvakrol 150	7	1,84	1,09	0,88	2,25 ^a	2,54	
	SF + Karvakrol 150	7	0,48	0,30	0,18	0,45 ^b	0,75	
60-70 min Amplitüd	Kontrol	7	2,83	1,43	1,51	2,79 ^a	3,97	0.003*
	Karvakrol 25	7	2,35	1,31	1,43	1,66 ^a	3,96	
	Karvakrol 75	7	2,70	1,29	1,28	2,57 ^a	3,62	
	Karvakrol 150	7	1,63	1,03	0,79	1,80 ^a	2,23	
	SF + Karvakrol 150	7	0,42	0,20	0,19	0,44 ^b	0,62	
70-80 min Amplitüd	Kontrol	7	1,89	1,38	,43	2,48 ^a	2,91	0.018*
	Karvakrol 25	7	2,10	1,29	1,36	1,44 ^a	3,21	
	Karvakrol 75	7	2,55	1,71	0,99	1,86 ^a	4,11	
	Karvakrol 150	7	1,49	0,92	0,78	1,57 ^a	1,78	
	SF + Karvakrol 150	7	0,39	0,18	0,22	0,38 ^b	0,52	
80-90 min Amplitüd	Kontrol	7	1,78	1,42	0,23	2,16 ^a	2,93	0.035*
	Karvakrol 25	7	2,04	1,39	1,13	1,31 ^b	3,47	
	Karvakrol 75	7	2,32	1,75	0,80	1,53 ^b	3,58	
	Karvakrol 150	7	1,34	0,84	0,75	1,25 ^a	1,71	
	SF + Karvakrol 150	7	0,40	0,20	0,23	0,40 ^c	0,51	
90-100 min Amplitüd	Kontrol	7	1,72	1,49	0,22	1,70	2,90	0.115
	Karvakrol 25	7	1,70	1,61	0,76	1,13	3,21	
	Karvakrol 75	7	2,13	1,64	0,64	1,51	3,10	
	Karvakrol 150	7	1,18	0,80	0,36	1,06	1,64	
	SF + Karvakrol 150	7	0,43	0,18	0,23	0,45	0,58	
	Kontrol	7	1,77	1,53	0,88	1,04	2,69	0.238

100-110 min Amplitüd	Karvakrol 25	7	1,60	1,38	0,63	1,10	3,06	
	Karvakrol 75	7	1,96	1,58	0,59	1,56	2,91	
	Karvakrol 150	7	1,17	0,83	0,37	1,03	1,65	
	SF + Karvakrol 150	7	0,62	0,40	0,39	0,49	0,84	
110-120 min Amplitüd	Kontrol	7	1,61	1,55	0,41	1,00	2,25	0.149
	Karvakrol 25	7	1,59	1,40	0,55	1,18	3,13	
	Karvakrol 75	7	1,72	1,50	0,67	1,42	2,35	
	Karvakrol 150	7	1,05	0,69	0,41	0,85	1,46	
120-130 min Amplitüd	SF + Karvakrol 150	7	0,45	0,16	0,27	0,47	0,58	0.186
	Kontrol	7	1,56	1,59	0,38	0,84	2,14	
	Karvakrol 25	7	1,73	1,74	0,51	0,91	3,98	
	Karvakrol 75	7	1,60	1,55	0,47	1,28	2,26	
	Karvakrol 150	7	0,96	0,60	0,41	0,75	1,33	
	SF + Karvakrol 150	7	0,45	0,13	0,37	0,44	0,58	

*Kruskal-Wallis testi ve post-hoc Dunn testi. Anlamlı düzeyde farklı olan gruplar tamamen farklı harflerle gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Genlikteki periyodik değişim.

Karvakrolün Bazal Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Karvakrolün bazal epileptiform aktivite üzerine bir etkisinin olup olmadığını incelemek için, 5. grupta hayvanlara penisilin yerine SF (2.5 µl, i.c.) verildi. 40. dakikada i.p. 150mg/dl karvakrol uygulandı. Bu grupta ECoG kaydı süresince diken dalga oluşmadı ve dalga genliği bakımından periyotlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Karvakrolün nöronların spontan elektriksel aktivitesine herhangi bir etkisi görülmemiştir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada erkek Wistar sıçanlarda 25, 75 ve 150 mg/dl dozlarında intraperitoneal olarak uygulanan karvakrolün PTZ ve penisilin ile indüklenmiş epilepsiye akut etkisi araştırılmıştır. Karvakrolün epilepsinin ilk miyoklonik jerkin görülme zamanına (latens) olan etkisi daha önce MES ve PTZ modellerinde test edilmiştir. Farelerde yapılan bir PTZ ve MES çalışmasında karvakrolün 200 mg/kg'da, nöbetlerin latens süresini uzattığı ve klonik konvulsiyonları önlediği gösterilmiştir [8]. PTZ'den 4 saat önce ratlara uygulanan 100 mg/kg karvakrol, miyoklonik jerk başlangıcını geciktirmiştir [187]. Sunulan çalışmanın PTZ basamağında, ilk miyoklonik jerkin görülme zamanının 25 mg/dl ve 75 mg/dl karvakrol verilen gruplarda gecikmesine rağmen sadece 150 mg/dl karvakrol verilen sıçanlarda anlamlı bir etki gözlenmiştir. Miyoklonik jerk süresi dışında epileptik davranışsal aktiviteye anlamlı bir etkisi görülmemiştir. Bu bakımdan PTZ uygulamasının sonucu literatür ile uyumludur. Karvakrolün epileptik davranışsal aktivite açısından yalnızca latens süreye etkisi olması güçlü bir antikonvulsan etkisi olmadığını düşündürmektedir. Ancak antikonvulsanların etkilerinin modelden modele değişiklik gösterdiği de hesaba katılmalıdır. Örneğin levetirasetamın 6-Hz psikomotor nöbet modelinde etkiliyken, MES ve PTZ modellerinde etkisiz olduğu görülmüştür [188]. Buna ilaveten karvakrolün 6-Hz psikomotor nöbet modelinde, nöbetleri tamamen önleyebildiği görülmüştür ($ED_{50}=35.8$ mg/kg) [189].

Literatürde karvakrolün penisilin modeli üzerine etkisiyle ilgili daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Yapmış olduğumuz elektrofizyoloji çalışmasında spike sayısı, 75 mg/dl karvakrol verilen grupta 30-50.dk periyodunda kontrol grubuna göre anlamlı düşüş göstermiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada,

penisilin enjeksiyonundan 30dk önce 20 ve 40 mg/kg levetirasetam verilen ratlarda kontrol grubuna göre penisilin enjeksiyonundan sonraki 30. ve 60. dakikalarda ortalama spike frekansının anlamlı şekilde düştüğü bildirilmiştir [190]. Çalışmada karvakrolün bazal elektriksel aktiviteye etkisi de incelenmiştir. Penisilin yerine SF uygulanmış sıçanlara verilen 150 mg/dl karvakrol, herhangi bir epileptiform aktiveye sebep olmamıştır. Bu verilere dayanarak karvakrolün nöbetleri önlemede etkili olabileceği ileri sürülebilir.

Karvakrolün sınırlı akut etkisi, epileptik odağa sekestre olması için yeterli sürenin geçmemesinden dolayı olduğu düşünülebilir. Ratlarda yapılan bir SE modelinde, nöbetlerin durdurulmasından sonraki ilk 24 saat içinde intraperitoneal 75 mg/kg karvakrol uygulandığında erken ve tekrarlayan nöbetlerin azaldığı bildirilmiştir [191]. Literatür taramamızdan yola çıkarak karvakrolün kronik antikonvulsan etkinliğinin daha yüksek olabileceği düşünülmektedir.

İyon kanallarının nöronal uyarılabilirlikteki etkileri nedeniyle epilepsiye katkıları iyi bilinmektedir. Beyindeki başlıca inhibitör nörotransmitter GABA'dır. Ligand kapılı bir iyon kanalı olan GABA_A reseptörüne bağlanarak hücre içine Cl⁻ akışını sağlar ve hücrenin hiperpolarizasyonuna sebep olur. Metabotropik G-protein bağlı reseptörü olan GABA_B ise K⁺ kanallarını açıp, Ca⁺² kanallarını kapayarak hiperpolarizasyona neden olur. İnhibisyon ve eksitasyon arasındaki dengenin bozukluğu epilepsinin esas nedenlerinden biridir ve GABA'nın uyarılabilirlikteki bu inhibisyonu epilepsi için çok önemlidir. Epilepsi tedavisinde kullanılan benzodiazepinler, GABA_A reseptör agonistleridir. Karvakrolün GABA_A reseptörlerini güçlendirici bir etkisi olduğu daha önceki çalışmalarla bildirilmiştir [192-194]. Voltaj kapılı Na⁺ kanalları, nöronal uyarılabilirliğe etki eden iyon kanallarındandır. Bu kanalların epilepside rol oynadığına dair bazı çalışmalar mevcuttur. Kanalin alt birimini kodlayan gen olan “scn1b” genindeki mutasyon sonucu “febril nöbetli jeneralize epilepsi tip 1 hastalığı” oluşmaktadır [195]. Karvakrolün, dorsal kök gangliyon (DRG) nöronlarında voltaj kapılı Na⁺ kanallarındaki akımı azaltarak nöronal akımı bloke ettiği gösterilmiştir [196]. Karvakrolün sıçanlarda, aort endotelindeki vazodilatatör etkisini, voltaj-kapılı K⁺ kanalları üzerinden yaptığı öne sürülmüştür [197]. Bu kanallardan biri olan “Kv1.1” kanalını kodlayan gendeki mutasyon sonucu “miyokimili epizodik ataksi tip 1” görülmektedir [195]. Hipokampus ve DRG nöronlarının sitozolünde Ca⁺² iyonu birikimi epilepsi etiyolojisinin başlıca nedenlerindendir. Karvakrolün, köpeklerin

ventrikül miyositlerinde bu kanal ailesinden olan L-tipi Ca^{+2} kanallarını baskıladığı görülmüştür [198].

Hücre içerisine Ca^{+2} , VKKK dışında başka kanallar ile de girmektedir. Seçici olmayan katyon kanalları olan TRP kanalları, bunlardan biridir. Mekanik, kimyasal veya fiziksel pek çok uyarılarla uyarılırlar. Beyinde yaygın olarak eksprese edilirler [199]. Antiepileptiklerin potansiyel bir hedefi olabileceği düşünülen TRP kanalları ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Chen ve ark., farelerde MES ve PTZ modelleriyle yaptıkları bir çalışmada, TRPV1 selektif antagonisti olan kapsazepinin, piperinin antiepileptik etkilerini bloke ettiği gösterilmiştir [200]. Karvakrolün TRPM2 ve TRPM7 kanallarını inhibe ettiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir [190,201,202].

Epilepsi oluşumunda iyon kanalları gibi aşırı oksidatif stres, apoptoz ve nöroinflamasyonun rolünün de olduğu iyi bilinmektedir. Epilepsi patogeneğinde önemli bir yere sahip olan hipokampus, oksidatif strese oldukça duyarlıdır [203]. Karvakrolün oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoza karşı koruyucu etkisi, epilepside kullanılabilecek potansiyel bir ajan olabileceğini düşündürmektedir. Farelerde yapılan bir hipoksik iskemik modelinde, 30 dk önce verilen karvakrolün hipoksik-iskemik beyin hasarına karşı nöroprotektif etkili olduğu, Bcl-2/Bax oranını ve kaspaz-3'ü azalttığı gösterilmiştir [204]. Reaktif oksijen türevleri ile aktive olan Ca^{+2} geçirgen TRPM2 kanalı epilepsi oluşumunda rol oynayabilir. Bir çalışmada, PTZ uygulamasından önce dolaylı TRPM2 kanal blokeri verilen sıçanlarda, tedavi edilmeyen gruba göre hücre içi Ca^{+2} , serbest radikaller, kaspaz 3, kaspaz 9 ve PARP1 gibi apoptotik marker düzeylerinin düşük olduğu gözlenmiştir. Ayrıca epileptik atak geçirme sürelerinin azaldığı da bildirilmiştir. Pentilentetrazol uygulamasından 2 saat önce TRPM2 kanal blokeri enjekte edilmiştir. Bunun sonucunda, hipokampusta bulunan TRPM2 kanallarının, mitokondriyal oksidatif stres ile apoptozu düzenlediği kanısına varılmıştır [205]. Epilepside oksidatif stresin rolünü araştıran yayınlar oldukça fazladır. Fakat oksidatif stres aracılı TRPM2 kanal aktivasyonunun epileptik nöronlarda etkisi hakkında literatürde yeterince bilgi mevcut değildir.

Beyin iskemisi ve travmatik beyin hasarındaki nöronal ölüm ile TRPM7 kanalı ilişkilendirilmiştir [206,207]. Nöbet kaynaklı nöronal ölümün hücre içi çinko birikiminden olduğu düşünülmektedir [208]. Kalsiyum geçirgen TRPM7'nin hücre içine magnezyum ve çinko girişini düzenlediği de bilinmektedir [209]. Sıçanlarda yapılan

kronik bir model olan SE modelinde ise status indüksiyonundan sonra diazepam verilerek nöbetler durdurulduktan sonraki nöronal hasarın en fazla olduğu dönem olan ilk 24 saat içinde 3 doz karvakrol (75 mg/kg, i.p.) uygulanmıştır. Karvakrol uygulamasının, erken ve tekrarlayan nöbetleri azalttığı ve nöronal kaybın en çok görüldüğü bölgelerden biri olan CA1'deki hücre ölümüne karşı koruyucu etkisi olduğu ve CA1, CA3 ve hilus bölgelerindeki hipokampal nöronlarda TRPM7 ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada T-maze testine göre SE kaynaklı kognitif bozukluğu önemli ölçüde düzelttiği görülmüştür [190]. Bir pilokarpin modelinde, statustan sonra diazepam verilerek nöbetler durdurulmuş, 50 mg/kg karvakrol uygulaması sonrası TRPM7 ekspresyonunun ve nöbet sonrası nöronal apoptozun azaldığı görülmüştür. Ayrıca oksidatif stres ve kan beyin bariyeri yıkımının da baskılandığı bildirilmiştir [202]. Kan-beyin bariyerinin bozulmasının da epilepsi gelişimine zemin hazırlayan bir durum olduğu bilinmektedir [62].

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan çalışmada karvakrolün, akut anti-konvulsan etkinliğinin olduğu gösterildi. Karvakrolün bu sınırlı akut etkisi, epileptik odağa yetersiz geçişiyle ilişkili olabilir. Maddi kısıtlılıklar nedeniyle karvakrolün biyokimyasal ve moleküler etkisine bakılmamış sadece elektrofizyolojik epileptiform aktiviteye etkisine bakılmıştır. Kronik epilepsi modelleri ile çalışılmamıştır ve bu konuda yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmanın, karvakrolün penisilin-indüklü epilepsi modelinde denendiği ilk çalışma özelliğine sahip olması nedeniyle literatüre yaptığı katkı değer taşımaktadır. Gelecekte karvakrol ile ilgili yapılabilecek kronik epilepsi modellemeleri ile moleküler ve farmakokinetik çalışmalar bu konuya ışık tutacaktır.

KAYNAKÇA

- [1] Stafstrom CE, Carmant L. Seizures and epilepsy: An overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015; 5(6): 1–19.
- [2] WHO. The world health report: Mental health: New understanding, new hope. 2001.
- [3] Löscher W, Schmidt D. Experimental and clinical evidence for loss of effect (tolerance) during prolonged treatment with antiepileptic drugs. *Epilepsia.* 2006; 47(8): 1253–1284.
- [4] Nsour WM, Lau CBS, Wong ICK. Review on phytotherapy in epilepsy. *Seizure.* 2000;9(2):96-107.
- [5] Schachter SC. Botanicals and Herbs: A Traditional Approach to Treating Epilepsy. *Neurotherapeutics.* 2009;6(2):415–420.
- [6] Xu H, Delling M, Jun JC, and Clapham DE. Oregano, thyme and clove-derived flavors and skin sensitizers activate specific TRP channels. *Nat. Neurosci.* 2006;9(5):628–635.
- [7] Baser KHC. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr. Pharm. Des.* 2008;14(29):3106–3119.
- [8] Quintans-Júnior LJ, Guimarães AG, Araújo BES, et al. Carvacrol,(-)-borneol and citral reduce convulsant activity in rodents. *African Journal of Biotechnology.* 2010;9(39):6566-6572.
- [9] Clapham DE, Montell C, Schultz G, Julius D. International Union of Pharmacology. XLIII. Compendium of Voltage-Gated Ion Channels: Transient Receptor Potential Channels. *Pharmacol. Rev.* 2003 Dec;55(4):591-6.
- [10] Joca HC, Cruz-Mendes Y, Oliveira-Abreu K, et al. Carvacrol decreases neuronal excitability by inhibition of voltage-gated sodium channels. *J. Nat. Prod.* 2012;75(9):1511-7.
- [11] Alyu F and Dikmen M. Inflammatory aspects of epileptogenesis: contribution of molecular inflammatory mechanisms. *Acta Neuropsychiatr.* 2017;29(1):1-16.
- [12] Geronzi U, Lotti F, Grossi S. Oxidative stress in epilepsy. *Expert Rev. Neurother.* 2018;18(5):427–434.
- [13] Anwar H, Khan QU, Nadeem N, Pervaiz I, Ali M, Cheema FF. Epileptic seizures. *Discoveries (Craiova).* 2020;8(2):e110.
- [14] Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia.* 2017;58(4):512-521.
- [15] GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019;18(5):459-480.

- [16] Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a meta-analytic approach. *Epilepsia*. 2010;51(5):883-90.
- [17] Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*. 2017;88(3):296–303.
- [18] Beghi E and Hesdorffer D. Prevalence of epilepsy – an unknown quantity. *Epilepsia*. 2014;55(7):963–7.
- [19] Beghi E. The Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology*. 2020;54(2):185-191.
- [20] Camfield C and Camfield P. Incidence, prevalence and aetiology of seizures and epilepsy in children. *Epileptic Disord*. 2015 Jun;17(2):117-23.
- [21] WHO. Atlas Epilepsy Care in the World: Geneva:World Health Organization, 2005;24-25.
- [22] Değerliyurt A, Köken ÖY. Çocuklarda Epileptik Ensefalopatiler. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*. 2020;14: 538-546
- [23] Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Epilepsi Oluşum Mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi*. 2011;3(3):42-45
- [24] Shorvon SD. The etiologic classification of epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52(6):1052-7.
- [25] Fisher RS, Scharfman HE, deCurtis M. How can we identify ictal and interictal abnormal activity? *Adv. Exp. Med. Biol*. 2014;813:3-23.
- [26] Hotka M, Kubista H. The paroxysmal depolarization shift in epilepsy research. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2019;107:77-81.
- [27] Matsumoto H, Marsan CA. Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: interictal manifestations. *Exp. Neurol*. 1964;9:286-304.
- [28] Rubi L, Schandl U, Lagler M, et al. Raised Activity of L-Type Calcium Channels Renders Neurons Prone to Form Paroxysmal Depolarization Shifts. 2013 Sep;15(3):476-92.
- [29] Mohajerani MH, Sivakumaran S, Zacchi P, Aguilera P, Cherubini E. Correlated network activity enhances synaptic efficacy via BDNF and the ERK pathway at immature CA3-CA1 connections in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007;104(32):13176-81.
- [30] Schiller Y. Activation of a Calcium-Activated Cation Current During Epileptiform Discharges and Its Possible Role in Sustaining Seizure-Like Events in Neocortical Slices. *J. Neurophysiol*. 2004 Aug;92(2):862-72.
- [31] Staley K, Hellier JL, Dudek FE. Do Interictal Spikes Drive Epileptogenesis? *Neuroscientist*. 2005;11(4):272-6.
- [32] Traub RD, Borck C, Colling SB, Jefferys JGR. On the Structure of Ictal Events in Vitro. *Epilepsia*. 1996;37(9):879-91.
- [33] Stover JF, Pleines UE, Morganti-Kossmann MC, Kossmann T, Lowitzsch K, Kempinski OS. Neurotransmitters in cerebrospinal fluid reflect pathological activity. *Eur. J. Clin. Invest*. 1997(12):1038-43.
- [34] Çavuş I, Romanyshyn JC, Kennard JT, et al. Elevated basal glutamate and unchanged glutamine and gaba in refractory epilepsy: Microdialysis study of 79 patients at the yale epilepsy surgery program. *Ann. Neurol*. 2016;80(1):35-45.
- [35] Mayer ML, Armstrong N. Structure and function of glutamate receptor ion channels. *Annu. Rev. Physiol*. 2004;66:161-81.
- [36] Treiman DM. GABAergic Mechanisms in Epilepsy. *Epilepsia*. 2001;42(3):8-12.
- [37] Durlach A, Poenaru J, Rouhani S, Bara S, Guet-Bara M. The control of central neural hyperexcitability in magnesium deficiency. *Nutrients and Brain Function*. 1987, p.48.
- [38] Roshan-Milani S, Ferrigan L, Khoshnood MJ, Davies CH, Cobb SR. Regulation of epileptiform activity in hippocampus by nicotinic acetylcholine receptor activation. *Epilepsy Res*. 2003;56(1):51-65.
- [39] Ferencz I, Leanza G, Nanobashvili A, Kokaia Z, Kokaia M, Lindvall O. Septal cholinergic

- neurons suppress seizure development in hippocampal kindling in rats: comparison with noradrenergic neurons. *Neuroscience*. 2001;102(4):819-32.
- [40] Ferrendelli JA, Blank AC, Gross RA. Relationships between seizure activity and cyclic nucleotide levels in brain. *Brain Res*. 1980;200(1):93-103.
 - [41] Boulton CL, McCrohan CR, and O'Shaughnessy CT. Cyclic AMP analogues increase excitability and enhance epileptiform activity in rat neocortex in vitro. *Eur. J. Pharmacol*. 1993;236(1):131-6.
 - [42] Saly V, Andrew RD. CA3 neuron excitation and epileptiform discharge are sensitive to osmolality. *J. Neurophysiol*. 1993;69(6):2200-8.
 - [43] Barres BA. The Mystery and Magic of Glia: A Perspective on Their Roles in Health and Disease. *Neuron*. 2008;60(3):430-40.
 - [44] Tian G, Azmi H, Takano T, Xu Q, Peng W, Lin J. An astrocytic basis of epilepsy. *Nat. Med*. 2005;11(9):973-81.
 - [45] Thom M. Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2014 Aug;40(5):520-43.
 - [46] Vezzani A, Friedman A, Dingledine RJ. The role of inflammation in epileptogenesis. *Neuropharmacology*. 2013;69:16-24.
 - [47] Hopkins SJ, Rothwell NJ. Cytokines and the nervous system. I: Expression and recognition. *Trends Neurosci*. 1995;18(2):83-8.
 - [48] De Simoni MG, Perego C, Ravizza T, et al. Inflammatory cytokines and related genes are induced in the rat hippocampus by limbic status epilepticus. *Eur. J. Neurosci*. 2000;12(7):2623-33.
 - [49] Ichiyama T, Nishikawa M, Yoshitomi T, Hayashi T, Furukawa S. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 in cerebrospinal fluid from children with prolonged febrile seizures. Comparison with acute encephalitis/encephalopathy. *Neurology*, 1998;50(2):407-11.
 - [50] De Sarro G, Rotiroti D, Audino MG, Gratterer S, Nisticó G. Effects of interleukin-2 on various models of experimental epilepsy in DBA/2 mice. *Neuroimmunomodulation*. 1994;1(6):361-9.
 - [51] Vezzani A, Moneta D, Richichi C, et al. Functional Role of Inflammatory Cytokines and Antiinflammatory Molecules in Seizures and Epileptogenesis. *Epilepsia*. 2002;43(5):30-5.
 - [52] Młodzikowska-Albrecht J, Steinborn B, Zarowski M. Cytokines, epilepsy and antiepileptic drugs- is there a mutual influence? *Pharmacol. Rep*. 2007;59(2):129-38.
 - [53] Ye ZC, Sontheimer H. Cytokine modulation of glial glutamate uptake: a possible involvement of nitric oxide. *Neuroreport*. 1996;7(13):2181-5.
 - [54] Bianchi M, Ferrairo P, Zonta N, Panerai AE. Effects of interleukin-1 beta and interleukin-2 on amino acids levels in mouse cortex and hippocampus. *Neuroreport*. 1995;6(12):1689-92.
 - [55] Vezzani A, Ravizza T, Balosso S, Aronica E. Glia as a source of cytokines: implications for neuronal excitability and survival. *Epilepsia*. 2008;49(2):24-32.
 - [56] Somera-Molina KC, Nair S, Eldik LJ, Watterson DM, Wainwright MS. Enhanced microglial activation and proinflammatory cytokine upregulation are linked to increased susceptibility to seizures and neurologic injury in a 'two-hit' seizure model. *Brain Res*. 2009;1282:162-72.
 - [57] Vezzani A, Conti M, De Luigi A, et al. Interleukin-1beta immunoreactivity and microglia are enhanced in the rat hippocampus by focal kainate application: functional evidence for enhancement of electrographic seizures. *J. Neurosci*. 1999;19(12):5054-65.
 - [58] Nicoletti JN, Shah SK, McCloskey DP, et al. Vascular endothelial growth factor is up-regulated after status epilepticus and protects against seizure-induced neuronal loss in hippocampus. *Neuroscience*. 2008;151(1):232-41.
 - [59] Yıldırım M, Değirmenci U, Yalın S. Epilepside inflamasyonun rolü. *Mersin. Univ. Sağlık Bilim Derg*. 2019;12(3):525-533
 - [60] Pernot F, Heinrich C, Barbier L, et al. Inflammatory changes during epileptogenesis and spontaneous seizures in a mouse model of mesiotemporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2011;52(12):2315-25.

- [61] Shimada T, Takemiya T, Sugiura H, Yamagata K. Role of inflammatory mediators in the pathogenesis of epilepsy. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:901-902.
- [62] Amna R, Musto AE. The role of inflammation in the development of epilepsy. *J. Neuroinflammation.* 2018;15(1):144.
- [63] Prager O, Kaminsky L, Hasam-Henderson LA, et al. Seizure-induced microvascular injury is associated with impaired neurovascular coupling and blood-brain barrier dysfunction. *Epilepsia.* 2019;60(2):322-336.
- [64] Oby E, Janigro D. The blood-brain barrier and epilepsy. *Epilepsia.* 2006;47(11):1761-74.
- [65] Schiber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr. Biol.* 2014;24(10):R453-62.
- [66] Köseoğlu E, Tomar A, Arman F, Karaman Y, Ersoy AÖ. Temporal lob epilepsili hastalarda hipokampal atrofi ve olaya bağlı endojen potansiyeller. *Epilepsi.* 2000;6(2):104-109.
- [67] Sloviter RS. The neurobiology of temporal lobe epilepsy: too much information, not enough knowledge. *C. R. Biol.* 2005;328(2):143-53.
- [68] Nakamura M, Sekino Y, Manabe T. GABAergic interneurons facilitate mossy fiber excitability in the developing hippocampus. *J. Neurosci.* 2007;27(6):1365-73.
- [69] Eichenbaum H. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 2000;1(1):41-50.
- [70] Ünal G. Kortiko-hipokampal Devre: Beynin haritalama ve deklaratif bellek merkezi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası.* 2019;72(1):13-23.
- [71] Thom M. Review: Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 2014;40(5):520-43.
- [72] Jedlicka P, Deller T, Schwarzacher SW. Computational modeling of GABAA receptor-mediated paired-pulse inhibition in the dentate gyrus. *J. Comput. Neurosci.* 2010;29(3):509-19.
- [73] Lomo T. Excitability changes within transverse lamellae of dentate granule cells and their longitudinal spread following orthodromic or antidromic activation. *Hippocampus.* 2009;19(7):633-48.
- [74] Talairach J, Bancaud J. Lesion, 'irritative' zone and epileptogenic focus. *Confin. Neurol.* 1966;27(1):91-4.
- [75] Shibata S, Matsushashi M, Kunieda T, et al. Magnetoencephalography with temporal spread imaging to visualize propagation of epileptic activity. *Clin. Neurophysiol.* 2017;128(5):734-743.
- [76] Brekelmans GJF, Boas WE, Velis DN, van Huffelen AC, Debets RMC, van Veelen CWM. Mesial temporal versus neocortical temporal lobe seizures: Demonstration of different electroencephalographic spreading patterns by combined use of subdural and intracerebral electrodes. *J. Epilepsy.* 1995;8(4):309-320.
- [77] Wennberg R, Arruda F, Quesney LF, Olivier A. Preeminence of extrahippocampal structures in the generation of mesial temporal seizures: evidence from human depth electrode recordings. *Epilepsia.* 2002;43(7):716-26.
- [78] Gloor P, Fariello RG. Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ from those of focal epilepsy. *Trends Neurosci.* 1988;11(2):63-8.
- [79] Türkel Y, Terzi M. Talamus'un anatomik ve fonksiyonel önemi. *J. Exp. Clin. Med.* 2007;24(4):144-154.
- [80] Gloor P. Contributions of electroencephalography and electrocorticography to the neurosurgical treatment of the epilepsies. *Adv. Neurol.* 1975;8:59-105.
- [81] Beyazçiçek E. Sıçanlarda akut ve kronik uygulanan elajik asidin penisilin ile oluşturulmuş epileptiform aktivite üzerine etkisi. doktora tezi (danışman: Prof. Dr. Seyit Ankaralı), Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017.
- [82] Timofeeva OA, Gordon CJ. Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to the acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine. *Brain Res.*

2001;893(1-2):165-77.

- [83] Kinay D. Epilepsi cerrahi uygulamalarında nörogörüntüleme. *Epilepsi*. 2012;18(1):18-29.
- [84] Sankaraneni R, Lachhwani D. Antiepileptic drugs--a review. *Pediatr. Ann.* 2015;44(2):36-42.
- [85] Wiebe S, Téllez-Zenteno JF, Shapiro M. An evidence-based approach to the first seizure. *Epilepsia*. 2008;49(1):50-7.
- [86] Berg AT. Risk of recurrence after a first unprovoked seizure. *Epilepsia*. 2008;49(1):13-8.
- [87] Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N. Engl. J. Med.* 2000;342(5):314-9.
- [88] Glauser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B, et al. Updated ILAE evidence review of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia*. 2013;54(3):551-63.
- [89] Ngugi AK, Kariuki SM, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Neurology*. 2011;77(10):1005-12.
- [90] Jentink J, Loane MA, Dolk H, et al. Valproic acid monotherapy in pregnancy and major congenital malformations. *N. Engl. J. Med.* 2010;362(23):2185-93.
- [91] Yörübulut M. Epilepsi Cerrahisinde Nöroradyolojik Görüntüleme Yöntemleri. *Türkiye Klin. J. Surg. Med. Sci.* 2007;3(16):22-29.
- [92] Sillanpää M, Schmidt D. Natural history of treated childhood-onset epilepsy: prospective, long-term population-based study. *Brain*. 2006;129(3):617-24.
- [93] Subcommittee of the American Academy of Neurology. Practice parameter: a guideline for discontinuing antiepileptic drugs in seizure-free patients--summary statement. Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 1996;47(2):600-2.
- [94] Beghi E, Giorgia G, Sander JW. The natural history and prognosis of epilepsy, *Epileptic Disord.* 2015;17(3):243-53.
- [95] Specchio LM, Beghi E. Should antiepileptic drugs be withdrawn in seizure-free patients? *CNS Drugs*. 2004;18(4):201-12.
- [96] Chang YC, Huang AM, Kuo YM, Wang ST, Chang YY, Huang CC. Febrile seizures impair memory and cAMP response-element binding protein activation. *Ann. Neurol.* 2003;54(6):706-18.
- [97] Bertram EH. Temporal lobe epilepsy: where do the seizures really begin? *Epilepsy Behav.* 2009;1(1):32-7.
- [98] Gaitatzis A, Sander JW. The mortality of epilepsy revisited. *Epileptic Disord.* 2004 Mar;6(1):3-13.
- [99] Forsgren L, Hauser WA, Olafsson E, Sander JWAS, Sillanpää M, Tomson T. Mortality of epilepsy in developed countries: a review. *Epilepsia*. 2005;46(11):18-27.
- [100] Tomson T, Beghi E, Sundqvist A, Johannessen SI. Medical risks in epilepsy: a review with focus on physical injuries, mortality, traffic accidents and their prevention. *Epilepsy Res.* 2004;60(1):1-16.
- [101] Bell GS, Sanders JW. Suicide and epilepsy. *Curr. Opin. Neurol.* 2009;22(2):174-8.
- [102] Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Deneysel epilepsi modelleri Models of experimental epilepsy. *Klin. ve Deney. Araştırmalar Derg.* 2011;2(1):118-123.
- [103] Walker AE, Johnson HC, Funderburk WH. Convulsive factor in commercial penicillin. *Arch Surg.* 1945;50(2):69-73.
- [104] Ethemoglu MS, Kutlu S, Seker FB, Erdogan CS, Bingol CA, Yilmaz B. Effects of agomelatine on electrocorticogram activity on penicillin-induced seizure model of rats. *Neurosci. Lett.* 2019;690:120-125.
- [105] Akdogan I, Adiguzel E, Yilmaz I, Ozdemir MB, Sahiner M, Tufan AC. Penicillin-induced

- epilepsy model in rats: dose-dependant effect on hippocampal volume and neuron number. *Brain Res. Bull.* 2008;77(4):172-7.
- [106] Ni H, Jiang YW, Tao LY, Cen JN, Wu XR. Effects of penicillin-induced developmental epilepticus on hippocampal regenerative sprouting, related gene expression and cognitive deficits in rats. *Toxicol. Lett.* 2009;188(2):161-6.
 - [107] Macdonald RL, Olsen RW. GABAA receptor channels. *Annu. Rev. Neurosci.* 1994;17:569-602.
 - [108] Turski W A, Cavalheiro EA, Calderazzo-Filho LS, Kleinrok Z, Czuczwar SJ, Turski L. Injections of picrotoxin and bicuculline into the amygdaloid complex of the rat: an electroencephalographic, behavioural and morphological analysis. *Neuroscience.* 1985;14(1):37-53.
 - [109] Goddard GV. Development of Epileptic Seizures through Brain Stimulation at Low Intensity. *Nat.* 1967;214(5092):1020-1.
 - [110] da Silva FHL, Kamphuis W, Titulaer M, Vreugdenhil M, Wadman WJ. An experimental model of progressive epilepsy: the development of kindling of the hippocampus of the rat. *Ital. J. Neurol. Sci.* 1995;16(1-2):45-57.
 - [111] Löscher W, Jäckel R, Czuczwar SJ. Is amygdala kindling in rats a model for drug-resistant partial epilepsy? *Exp. Neurol.* 1986;93(1):211-26.
 - [112] Carrea R, Lanari A. Chronic effect of tetanus toxin applied locally to the cerebral cortex of the dog. *Science.* 1962;137(3527):342-3.
 - [113] Rubio C, Rubio-Osornio M, Retana-Márquez S, Custodio MLV, Paz C. In vivo experimental models of epilepsy. *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.* 2010;10(4):298-309.
 - [114] Benke TA, Swann J. The tetanus toxin model of chronic epilepsy. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2004;548:226-38.
 - [115] Shinozaki H, Konishi S. Actions of several anthelmintics and insecticides on rat cortical neurones. *Brain Res.* 1970;24(2):368-71.
 - [116] Carriero G, Arcieri S, Cattalini A, Corsi L, Gnatkovsky V, de Curtis M. A guinea pig model of mesial temporal lobe epilepsy following nonconvulsive status epilepticus induced by unilateral intrahippocampal injection of kainic acid. *Epilepsia.* 2012;53(11):1917-27.
 - [117] Cepeda C, Tanaka T, Riche D, Naquet R. Limbic status epilepticus: behaviour and sleep alterations after intra-amygdaloid kainic acid microinjections in *Papio Papio* baboons. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1982;54(6):603-13.
 - [118] Bragin A, Wilson CL, Almajano J, IMody I, Engel Jr J. High-frequency oscillations after status epilepticus: epileptogenesis and seizure genesis. *Epilepsia.* 2004;45(9):1017-23.
 - [119] Li T, Ren G, Lusardi T, Wilz A, Lan JQ, Iwasato T et al. Adenosine kinase is a target for the prediction and prevention of epileptogenesis in mice. *J. Clin. Invest.* 2008;118(2):571-82.
 - [120] Li T, Lytle N, Lan JQ, Sandau US, Boison D. Local disruption of glial adenosine homeostasis in mice associates with focal electrographic seizures: a first step in epileptogenesis? *Glia.* 2012;60(1):83-95.
 - [121] Lévesque M, Avoli M. The kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2013;37(10-2):2887-99.
 - [122] Li X, Yang Q, Kuang H, Jiang N, Hu Y. Involvement of *Scn1b* and *Kcna1* ion channels in audiogenic seizures and PTZ-induced epilepsy. *Epilepsy Res.* 2005;66(1-3):155-63.
 - [123] Pitkänen A, Jolkkonen J, Honkanen KL, Riekkinen P. Effect of pentylenetetrazol-induced convulsions on somatostatin-like immunoreactivity in rat cerebrospinal fluid. *Neuropeptides.* 1987;9(1):19-24.
 - [124] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation II. motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1972;32(3):281-294.
 - [125] Toman JEP, Swinyard EA, Goodman LS. Properties of maximal seizures, and their alteration by anticonvulsant drugs and other agents. *J. Neurophysiol.* 1946;9:231-9.

- [126] Rubio C, Custodio V, Juárez F, Paz C. Stimulation of the superior cerebellar peduncle during the development of amygdaloid kindling in rats. *Brain Res.* 2004;1010(1-2):151-5.
- [127] Adrian ED. The spread of activity in the cerebral cortex. *J. Physiol.* 1936;88(2):127-61.
- [128] Castel-Branco MM, Alves GL, Figueiredo IV, Falcão AC, Caramona MM. The maximal electroshock seizure (MES) model in the preclinical assessment of potential new antiepileptic drugs. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 2009;31(2):101-6.
- [129] Kuhar M, Yamamura HI. Localization of cholinergic muscarinic receptors in rat brain by light microscopic radioautography. *Brain Res.* 1976;110(2):229-43.
- [130] Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L. Long-term effects of pilocarpine in rats: structural damage of the brain triggers kindling and spontaneous recurrent seizures. *Epilepsia.* 1991;32(6):778-82.
- [131] André V, Ferrandon A, Marescaux C, Nehlig A. The lesional and epileptogenic consequences of lithium-pilocarpine-induced status epilepticus are affected by previous exposure to isolated seizures: effects of amygdala kindling and maximal electroshocks. *Neuroscience.* 2000;99(3):469-81.
- [132] Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: Behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav. Brain Res.* 1983;9(3):315-35.
- [133] Baser KHC, Demirci F. Chemistry of essential oils. *Flavours and Fragrances.* Berger RG (Ed.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007;43-86.
- [134] Tabata M, Honda G, Sezik E, Yesilada E. A Report on Traditional Medicine and Medicinal Plants in Turkey, 1990- 1991, Kyoto, Japan: Faculty of Pharmaceutical Sciences of Kyoto University. 1993.
- [135] Aydin S, Baser KHC, Ozturk Y. The Chemistry and Pharmacology of Origanum (Kekik) Water. In Ch. Franz, A. Mathe and G. Buchbauer (eds), *Proceedings of the 27th International Symposium on Essential Oils, Essential Oils:Basic and Applied Research*, September 8 - 11, 1996, Vienna, Austria, 52-60.
- [136] Baydar H, Sağdıç O, Özkan G, Karadoğan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey. *Food Control.* 2004;15(3):169-172.
- [137] Akgül A, Kivanç M. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *Int. J. Food Microbiol.* 1988 May;6(3):263-8.
- [138] Tabanca N, Demirci F, Ozek T, Tumen G, Baser KHC. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Origanum × dolichosiphon P. H. Davis. *Chem. of Nat. Compd.* 2001;37(3):238-241.
- [139] Salehi B, Mishra AP, Shukla I, et al. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytother. Res.* 2018 Sep;32(9):1688-1706.
- [140] Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Apply Microbiol.* 2001;91(3):453-62.
- [141] Knobloch K, Weigand H, Weis N, Schwarm HM, Vogenschow H. Action of terpenoids on energy metabolism. *Progress in Essential Oil Research*, Brunke EJ (Ed.), De Gruyter, 1986;429-45.
- [142] Ultee A, Kets EP, Smid EJ. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999;65(10):4606-10.
- [143] Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68(4):1561-1568.
- [144] Burt SA, van der Zee R, Koets AP, de Graaff AM, van Knapen F, Gaastra W. Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007;73(14):4484-90.

- [145] Schnitzler P, Koch C, Reichling J. Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2007;51(5):1859-62.
- [146] Tasdemir D, Kaiser M, Demirci F, Baser K. Essential oil of Turkish *Origanum onites* L. and its main components, carvacrol and thymol show potent antiprotozoal activity without cytotoxicity. *Planta Med.* 2006;72(11):1006.
- [147] Nesterkina M, Bilokon S, Aliksieieva T, Chebotar S, Kravchenko I. Toxic effect and genotoxicity of carvacrol ethers in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mutagen.* 2020;821:111713.
- [148] Aeschbach R, Löliger J, Scott BC, et al. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-geringol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chem. Toxicol.* 1994;32(1):31-6.
- [149] Samarghandian S, Farkhondeh T, Samini F, Borji A. Protective Effects of Carvacrol against Oxidative Stress Induced by Chronic Stress in Rat's Brain, Liver, and Kidney. *Biochem. Res. Int.* 2016;2016:2645237.
- [150] Prieto JM, Iacopini P, Cioni P, Chericoni S. In vitro activity of the essential oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and their main constituents in peroxynitrite-induced oxidative processes. *Food Chemistry.* 2007;104(3):889-895.
- [151] Zeytinoglu M, Aydın S, Öztürk Y. Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rats. *Acta Pharmaceutica Turcica.* 1998;40(2):93-98.
- [152] Aydın E, Türkeş H, Keleş MS. The effect of carvacrol on healthy neurons and N2a cancer cells: some biochemical, anticancerogenicity and genotoxicity studies. *Cytotechnology.* 2014;66(1):149-57.
- [153] Elshafie HS, Armentano MF, Carmosino M, Bufo SA, de Feo V, Camele I. Cytotoxic activity of *origanum vulgare* l. on hepatocellular carcinoma cell line hepg2 and evaluation of its biological activity. *Molecules.* 2017;22(9):1435.
- [154] Koparal AT, Zeytinoglu M. Effects of Carvacrol on a Human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Line, A549. *Cytotechnology.* 2003;43(1-3):149-54.
- [155] Zeytinoglu H, Incesu Z, Baser KH. Inhibition of DNA synthesis by carvacrol in mouse myoblast cells bearing a human N-RAS oncogene. *Phytomedicine.* 2003;10(4):292-9.
- [156] Fan K, Li X, Cao Y, et al. Carvacrol inhibits proliferation and induces apoptosis in human colon cancer cells. *Anticancer. Drugs.* 2015;26(8):813-23.
- [157] He L, Mo H, Hadisusilo S, Qureshi AA, Elson CE. Isoprenoids suppress the growth of murine B16 melanomas in vitro and in vivo. *J. Nutr.* 1997;127(5):668-74.
- [158] Stamatii A, Bonsi P, Zucco F, Moezelaar R, Alakomi H, von Wright A. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. *Food Chem. Toxicol.* 1999;37(8):813-23.
- [159] Karkabounas S, Kostoula OK, Daskalou T, et al. Anticarcinogenic and antiplatelet effects of carvacrol. *Exp Oncol.* 2006;28(2):121-5.
- [160] Arunasree KM. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine.* 2010;17(8-9):581-8.
- [161] Lampronti I, Saab AM, Gambari R. Antiproliferative activity of essential oils derived from plants belonging to the Magnoliophyta division. *Int J Oncol.* 2006;29(4):989-95.
- [162] Mezzoug N, Elhadri A, Dallouh A, et al. Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents. *Mutat. Res.* 2007;629(2):100-10.
- [163] Horvathova E, Turcaniova V, Slamenova D. Comparative study of DNA-damaging and DNA-protective effects of selected components of essential plant oils in human leukemic cells K562 - PubMed. *Neoplasma.* 2007;54(6):478-83.
- [164] Slamenova D, Horvathova E, Sramková M, Marsálková L. DNA-protective effects of two components of essential plant oils carvacrol and thymol on mammalian cells cultured in vitro.

Neoplasma. 2007;54(2):108-12.

- [165] Aydin S, Basaran AA, Basaran N. Modulating effects of thyme and its major ingredients on oxidative DNA damage in human lymphocytes. *J. Agric. Food Chem.* 2005;53(4):1299-305.
- [166] Aydin S, Basaran AA, Basaran N. The effects of thyme volatiles on the induction of DNA damage by the heterocyclic amine IQ and mitomycin C. *Mutat. Res.* 2005;581(1-2):43-53.
- [167] Son DJ, Park YH, Kim YM, Chung NH, Lee HS. Antiplatelet Activity of *Thujopsis dolabrata* var. *hondai*-Derived Component Against Platelet Aggregation. *J Microbiol Biotech.* 2005;15(2):425-427.
- [168] Aydin S, Ozturk Y, Beis R, Baser KHC. Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* Essential Oils for Analgesic Activity. *Phytotherapy Research.* 1996;10(4):342-344.
- [169] Melo FHC, Rios ERV, Rocha NFM, et al. Antinociceptive activity of carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 2012;64(12):1722-9.
- [170] Wagner H, Wierer M, Bauer R. [In vitro inhibition of prostaglandin biosynthesis by essential oils and phenolic compounds]. *Planta Med.* 1986;3(3):184-7.
- [171] Kacem R, Meraihi Z. Effects of essential oil extracted from *Nigella sativa* (L.) seeds and its main components on human neutrophil elastase activity. *Yakugaku Zasshi.* 2006;126(4):301-5.
- [172] Games E, Guerreiro M, Santana FR, et al. Structurally Related Monoterpenes p-Cymene, Carvacrol and Thymol Isolated from Essential Oil from Leaves of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) Protect Mice against Elastase-Induced Emphysema. *Molecules.* 2016;21(10):1390.
- [173] Uyanoglu M, Canbek M, Aral E, Baser KHC. Effects of carvacrol upon the liver of rats undergoing partial hepatectomy. *Phytomedicine.* 2008;15(3):226-9.
- [174] Canbek M, Uyanoglu M, Bayramoglu G, et al. Effects of carvacrol on defects of ischemia-reperfusion in the rat liver. *Phytomedicine.* 2008 ;15(6-7):447-52.
- [175] Cho S, Choi Y, Park S, Park T. Carvacrol prevents diet-induced obesity by modulating gene expressions involved in adipogenesis and inflammation in mice fed with high-fat diet. *J. Nutr. Biochem.* 2012;23(2):192-201.
- [176] Michiels J, Missotten J, Dierick N, Fremaut D, Maene P, de Smet S. In vitro degradation and in vivo passage kinetics of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde along the gastrointestinal tract of piglets. *J. Sci. Food Agric.* 2008;88(13):2371-2381.
- [177] Suntres ZE, Coccomiglio J, Alipour M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2015;55(3):304-18.
- [178] Schroder V, Vollmer H. The excretion of thymol, carvacrol, eugenol and guaiacol and the distribution of these substances in the organism. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 1932;168:331-353.
- [179] Austgulen LT, Solheim E, Scheline RR. Metabolism in rats of p-cymene derivatives: carvacrol and thymol. *Pharmacol. Toxicol.* 1987;61(2):98-102.
- [180] Dong RH, Fang ZZ, Zhu LL, et al. Identification of CYP isoforms involved in the metabolism of thymol and carvacrol in human liver microsomes (HLMs). *Pharmazie.* 2012;67(12):1002-6.
- [181] Anthony A, Caldwell J, Hutt AJ, Smith RL. Metabolism of estragole in rat and mouse and influence of dose size on excretion of the proximate carcinogen 1'-hydroxyestragole. *Food Chem. Toxicol.* 1987;25(11):799-806.
- [182] Averbeck D, Averbeck S, Dubertret L, Young AR, Morlière P. Genotoxicity of bergapten and bergamot oil in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Photochem. Photobiol. B.* 1990;7(2-4):209-29.
- [183] Stamatii A, Bonsi P, Zucco F, Moezelaar R, Alakomi HL, von Wright A. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. *Food Chem. Toxicol.* 1999;37(8):813-23.
- [184] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem. Toxicol.* 2008;46(2):446-75.

- [185] Aydın E, Türkez H, Keleş MS. The effect of carvacrol on healthy neurons and N2a cancer cells: some biochemical, anticarcinogenicity and genotoxicity studies. *Cytotechnology*. 2014;66(1):149-57.
- [186] LLana-Ruiz-Cabello M, Maisanaba S, Puerto M, et al. Evaluation of the mutagenicity and genotoxic potential of carvacrol and thymol using the Ames Salmonella test and alkaline, Endo III- and FPG-modified comet assays with the human cell line Caco-2. *Food Chem. Toxicol*. 2014;72:122-8.
- [187] Sadegh M, Sakhaie MH. Carvacrol mitigates proconvulsive effects of lipopolysaccharide, possibly through the hippocampal cyclooxygenase-2 inhibition. *Metab. Brain Dis*. 2018;33(6):2045-2050.
- [188] Barton ME, Klein BD, Wolf HH, White HS. Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy. *Epilepsy Res*. 2001;47(3):217-27.
- [189] Mishra RK, Baker MT. Seizure prevention by the naturally occurring phenols, carvacrol and thmol in a partial seizure psychomotor model. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2014;24(23):5446-5449.
- [190] Khalil A, Kovac S, Morris G, Walker MC. Carvacrol after status epilepticus (SE) prevents recurrent SE, early seizures, cell death, and cognitive decline. *Epilepsia*. 2017;58(2):263-273.
- [191] Arik AE, Bağırıcı F, Sefil F, Marangoz C. Effect of Levetiracetam on penicillin induced epileptic activity in rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2014;74(3):266-75.
- [192] Kessler A, Sahin-Nadeem HS, Lummis SCR, et al. GABA(A) receptor modulation by terpenoids from *Sideritis* extracts. *Mol. Nutr. Food Res*. 2014;58(4):851-62.
- [193] Priestley CM, Williamson EM, Wafford KA, Sattelle DB. Thymol, a constituent of tyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA(A) receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br. J. Pharmacol*. 2003;140(8):1363-72.
- [194] Reiner GN, Fraceto LF, de Paula E, Perillo MA, Garcia DA. Effects of Gabaergic Phenols on Phospholipid Bilayers as Evaluated by ¹H-NMR. *Colloids Surf*. 2013;4(3):28-34.
- [195] Lerche H, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F. Ion channels and epilepsy. *Am. J. Med. Genet*. 2001;106(2):146-59.
- [196] Joca HC, Cruz-Mendes Y, Oliveira-Abreu K, et al. Carvacrol decreases neuronal excitability by inhibition of voltage-gated sodium channels. *J. Nat. Prod*. 2012;75(9):1511-7.
- [197] Testai L, Chericoni S, Martelli A, Flamini G, Breschi MC, Calderone V. Voltage-operated potassium (Kv) channels contribute to endothelium-dependent vasorelaxation of carvacrol on rat aorta. *J. Pharm. Pharmacol*. 2016;68(9):1177-83.
- [198] Sárközi S, Almássy J, Lukács B, Dobrosi N, Nagy G, Jóna I. Effect of natural phenol derivatives on skeletal type sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase and ryanodine receptor. *J. Muscle Res. Cell Motil*. 2007;28(2-3):167-74.
- [199] Benarroch EE. TRP channels: functions and involvement in neurologic disease. *Neurology*. 2008 Feb 19;70(8):648-52. doi: 10.1212/01.wnl.0000300643.95736.b4. PMID: 18285540.
- [200] Chen CY, Li W, Qu KP, and Chen CR. Piperine exerts anti-seizure effects via the TRPV1 receptor in mice. *Eur. J. Pharmacol*. 2013;714(1-3):288-94.
- [201] Chun YL, Kim M, Kim YH, et al. Carvacrol effectively protects demyelination by suppressing transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) in Schwann cells. *Anat. Sci. Int*. 2020;95(2):230-239.
- [202] Jeong JH, Lee SH, Kho AR, et al. The Transient Receptor Potential Melastatin 7 (TRPM7) Inhibitors Suppress Seizure-Induced Neuron Death by Inhibiting Zinc Neurotoxicity. *Int. J. Mol. Sci*. 2020;21(21):7897.
- [203] Barrientos RM, Higgins EA, Biedenkapp JC, et al. Peripheral infection and aging interact to impair hippocampal memory consolidation. *Neurobiol. Aging*. 2006;27(5):723-32.
- [204] Chen W, Xu B, Xiao A, et al. TRPM7 inhibitor carvacrol protects brain from neonatal hypoxic-ischemic injury. *Mol. Brain*. 2015;8:11.

- [205] Nazıroğlu M. Epilepsi nörobiyolojisinde TRPM2 katyon kanallarının rolünün sıçan hipokampus sinir hücrelerinde araştırılması. doktora tezi (danışman: Doç. Dr. Vedat Yürekli), Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 2018.
- [206] Aarts M, Iihara K, Wei WL, et al. A key role for TRPM7 channels in anoxic neuronal death. *Cell*. 2003;115(7):863-77.
- [207] Li WT, Zhang SY, Zhou YF, et al. Carvacrol attenuates traumatic neuronal injury through store-operated Ca^{2+} entry-independent regulation of intracellular Ca^{2+} homeostasis. *Neurochem. Int.* 2015;90:107-13.
- [208] Frederickson CJ, Hernandez MD, McGinty JF. Translocation of zinc may contribute to seizure-induced death of neurons. *Brain Res.* 1989;480(1-2):317-21.
- [209] Li H. TRP Channel Classification. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2017;976:1-8.

EKLER



T.C
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu

Sayı : 57
Konu: Kararlar

05.11.2020

BAŞVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAŞTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Karvakrolün, sıçanlarda penisilin ve pentilentetrazol ile oluşturulmuş deneysel epilepsi modellerinde antiepileptik etkileri
	ARAŞTIRMANIN İNGİLİZCE ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Antiepileptic effects of carvacrol in experimental epilepsy models induced by penicilin and petylenetetrozole in rats.
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Prof.Dr.Seyit ANKARALI
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Arş.Gör.Handan EKSİK, Doç.Dr.Erkan KILINÇ, Prof.Dr.Handan ANKARALI, Arş.Gör.Ibrahim Ethem TORUN
	ARAŞTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi

KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2020/34	Tarih (Date): 17.11.2020
	Prof.Dr.Seyit ANKARALI'nın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın 63 adet sıçan ile gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Tufan MERT (Başkan)	Biyofizik AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi	
Prof. Dr. Yeşim YENER (Üye)	Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Eğitim Fakültesi	
Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr.Uğur ÜYETÜRK (Üye)	Üroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr.Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK (Üye)	Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Canan AKÜNAL TÜREL (Üye)	Nöroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyokimya AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Veteriner Hekim Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	
Veteriner Hekim Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.	
Av.Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Aşağı Soku Mah. Şair Şinasi Sok. Ayşe Hanım Apt.24/6 BOLU	

