



1 **Absans Epilepside Apelinin Rolü**

2 Program Kodu: 3501

3 Proje No: 113S210

4  
5  
6 **Proje Yürütücüsü:**

7 Yrd. Doç. Dr. Gönül GÜROL ÇİFTÇİ

8  
9  
10  
11 **Araştırmacılar:**

12 Doç. Dr. Fatih EKİCİ

13 Doç. Dr. Sinan CANAN

14 Yrd. Doç. Dr. Deniz BİLLUR

15 Uzm. Dr. Şule BİLEN

16  
17 **Danışman:**

18 Prof. Dr. Nuray YAZIHAN

19  
20  
21  
22 **EKİM 2015**

23 **SAKARYA**



24

25

26

27

28

29

30

31 Absans epilepsili WAG/Rij sıçanlardaki epileptik nöbetler ile Apelinerjik sistemin  
32 etkileşiminin altında yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına yönelik olarak  
33 tamamlanmış olan bu proje, inflamatuvar süreçler aracılığıyla Apelin-12'nin beyinde etkin bir  
34 role sahip olabileceğini göstermektedir.

35 Çalışma 113S210 numaralı 3501 projesi olarak Türkiye Bilimsel ve Teknik  
36 Araştırmalar Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenerek hayata geçirilmiştir. Bu nedenle  
37 TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız.

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47



## İÇİNDEKİLER

48		
49	İÇİNDEKİLER .....	III
50	TABLolar .....	VIII
51	ŞEKİLLER .....	X
52	RESİMLER .....	XIV
53	ÖZET .....	XVI
54	1. GİRİŞ.....	1
55	2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	3
56	3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	8
57	3.1. Hayvanlar .....	8
58	3.2. Deney Düzeni .....	8
59	3.3. Cerrahi İşlemler .....	9
60	3.4. EEG Kayıtlarının Alınması.....	9
61	3.4.1. Apelin-12 uygulaması .....	9
62	3.5. EEG Analizi.....	9
63	3.5.1. Absans aktivitesinin tesbiti .....	9
64	3.5.2. EEG Verilerinin Okunması .....	10
65	3.6. Transkardiyak Perfüzyon .....	11
66	3.7. Biyokimyasal/ELISA Ölçümler.....	11
67	3.7.1 ELISA Çalışmaları.....	12
68	3.8. Western Blot Uygulamaları .....	12
69	3.8.1 Örneklerin Hazırlanması .....	14
70	3.8.2 Jelden membrana antijenlerin transferi: .....	14



71	3.8.3. Western Blotting: .....	14
72	3.9. İmmünohistokimyasal İncelemeler .....	14
73	3.9.1. Dokuların Hazırlanması.....	15
74	3.10. İstatiksel analiz: .....	15
75	4. BULGULAR .....	15
76	4.1. Tüm Deney Gruplarındaki Biyokimyasal/ELISA Sonuçlarının Betimsel Analiz	
77	Sonuçları .....	16
78	4.1.1. Korteksdeki Betimsel Analizler.....	16
79	4.1.1.1. Apelin Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	16
80	4.1.1.2. Sitokrom C Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	16
81	4.1.1.3. TNF $\alpha$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	18
82	4.1.1.4 IL-1 $\alpha$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	19
83	4.1.1.5. IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	19
84	4.1.1.7. IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	21
85	4.1.1.8. IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	22
86	4.1.1.9. IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	23
87	4.1.1.10. IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	24
88	4.1.1.11. IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	25
89	4.1.1.12. TGF- $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	26
90	4.1.1.13. IFN $\gamma$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	27
91	4.1.1.14. NGF Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	28
92	4.1.1.15. NF $\kappa$ B Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	29
93	4.1.1.16. p38/MAPK Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	30
94	4.1.1.17. Apelinin İmmünohistokimyasal Analizi.....	31



95	4.1.2. Talamusdaki Betimsel Analizler .....	32
96	4.1.2.1. Apelin Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	32
97	4.1.2.2. Sitokrom C Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	33
98	4.1.2.3. TNF $\alpha$ Düzeyleri Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	34
99	4.1.2.4. IL-1 $\alpha$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	35
100	4.1.2.5. IL-2 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	36
101	4.1.2.6. IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	37
102	4.1.2.7. IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	38
103	4.1.2.8. IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	39
104	4.1.2.9. IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	40
105	4.1.2.10. IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	41
106	4.1.2.11. Talamus Dokusunda Apelinin İmmunohistokimyasal Analizi .....	42
107	4.1.3. Apelin-12 Enjeksiyonunun Absans Epilepsideki Etkisinin Değerlendirildiği B	
108	Grubunda Serum Analizlerinin Betimsel Analizler .....	43
109	4.1.3.1. Apelin Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	43
110	4.1.3.2. TNF $\alpha$ Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	44
111	4.1.3.3. IL-1 $\alpha$ Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	45
112	4.1.3.4. IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	46
113	4.1.3.5. IL-2 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	47
114	4.1.3.6. IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	48
115	4.1.3.7. IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	49
116	4.1.3.8. IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	50
117	4.1.3.9. IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	51
118	4.1.3.10. IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	52



119	4.1.3.11. TGF $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	53
120	4.1.3.12. IFN $\gamma$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	54
121	4.1.3.13. NGF Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	55
122	4.2. Absans epilepside beyin ve serum dokularında Apelin düzeylerinin, apoptoz ve	
123	sitokin seviyelerinin değerlendirildiği grup .....	56
124	4.2.1. A grubundaki Apelin Düzeylerinin ELISA İle Karşılaştırılması.....	56
125	4.2.2. A grubundaki Apelin Düzeylerinin İmmunohistokimya İle Değerlendirilmesi .....	56
126	4.2.3. A grubundaki Sitokrom C Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	57
127	4.2.4. A grubundaki TNF $\alpha$ Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	57
128	4.2.5. A grubundaki IL-1 $\alpha$ Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	58
129	4.2.6. A grubundaki IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	58
130	4.2.7. A grubundaki IL-2 Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	59
131	4.2.8. A grubundaki IL-4 Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	59
132	4.2.9. A grubundaki IL-6 Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	59
133	4.2.10. A grubundaki IL-10 Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	60
134	4.2.11. A grubundaki IL-12 Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	60
135	4.2.12. A grubundaki IL-17 Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	61
136	4.2.13. A grubundaki TGF $\beta$ Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	61
137	4.2.14. A grubundaki IFN $\gamma$ Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	62
138	4.2.15. A grubundaki NGF Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	62
139	4.2.16. A grubundaki NFkB Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	63
140	4.2.17. A grubundaki p38/MAPK Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	63
141	4.3. Apelin-12 enjeksiyonunun Absans epilepsideki etkilerinin değerlendirildiği grup .	64
142	4.3.1. B Grubundaki Apelin Düzeylerinin ELISA İle Değerlendirilmesi.....	64



143	4.3.2. B grubundaki Apelin Düzeylerinin İmmunohistokimya İle Değerlendirilmesi.....	64
144	4.3.3. B Grubundaki Sitokrom C Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	65
145	4.3.4. B Grubundaki TNF $\alpha$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	65
146	4.3.5. B Grubundaki IL-1 $\alpha$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	66
147	4.3.6. B Grubundaki IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	66
148	4.3.7. B Grubundaki IL-2 Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	67
149	4.3.8. B Grubundaki IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	67
150	4.3.9. B Grubundaki IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	68
151	4.3.10. B Grubundaki IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	68
152	4.3.11. B Grubundaki IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	69
153	4.3.12. B Grubundaki IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	69
154	4.3.13. B Grubundaki TGF $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	69
155	4.3.14. B Grubundaki IFN $\gamma$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	69
156	4.3.15. B Grubundaki NGF Düzeylerinin Değerlendirilmesi.....	70
157	4.3.16. B Grubundaki NF $\kappa$ B Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	70
158	4.3.17. B Grubundaki p38/MAPK Düzeylerinin Değerlendirilmesi .....	70
159	4.4. Western Blot Sonuçları .....	70
160	4.5. EEG Sonuçları .....	71
161	5.TARTIŞMA VE SONUÇ .....	72
162	6. KAYNAKLAR .....	81
163		



## TABLULAR

164	
165	Tablo 1. Korteksdeki Apelin düzeylerinin betimsel analizleri .....16
166	Tablo 2. Korteksdeki Sitokrom C düzeylerinin betimsel analizleri.....17
167	Tablo 3. Korteksdeki TNF $\alpha$ düzeylerinin betimsel analizleri .....18
168	Tablo 4. Korteksdeki IL-1 $\beta$ düzeylerinin betimsel analizleri .....19
169	Tablo 5. Korteksdeki IL-2 düzeylerinin betimsel analizleri .....20
170	Tablo 6. Korteksdeki IL-4 düzeylerinin betimsel analizleri .....21
171	Tablo 7. Korteksdeki IL-6 düzeylerinin betimsel analizleri .....22
172	Tablo 8. Korteksdeki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri .....23
173	Tablo 9. Korteksdeki IL-12 düzeylerinin betimsel analizleri .....24
174	Tablo 10. Korteksdeki IL-17 düzeylerinin betimsel analizleri .....25
175	Tablo 11. Korteksdeki TGF- $\beta$ düzeylerinin betimsel analizleri.....26
176	Tablo 12. Korteksdeki IFN $\gamma$ düzeylerinin betimsel analizleri.....27
177	Tablo 13. Korteksdeki NGF düzeylerinin betimsel analizleri.....28
178	Tablo 14. Korteksdeki NFkB düzeylerinin betimsel analizleri .....29
179	Tablo 15. Korteksdeki p38/MAPK düzeylerinin betimsel analizleri .....30
180	Tablo 16. Korteksdeki Apelinin immunohistokimyasal düzeylerinin betimsel analizleri
181	.....31
182	Tablo 17. Talamusdaki Apelin düzeylerinin betimsel analizleri.....32
183	Tablo 18. Talamusdaki Sitokrom C düzeylerinin betimsel analizleri .....33
184	Tablo 19. Talamusdaki TNF $\alpha$ düzeylerinin betimsel analizleri.....34
185	Tablo 20. Talamusdaki IL-1 $\alpha$ düzeylerinin betimsel analizleri .....35
186	Tablo 21. Talamusdaki IL-2 düzeylerinin betimsel analizleri.....36
187	Tablo 22. Talamusdaki IL-4 düzeylerinin betimsel analizleri.....37





188	Tablo 23. Talamusdaki IL-6 düzeylerinin betimsel analizleri.....	38
189	Tablo 24. Talamusdaki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri.....	39
190	Tablo 25. Talamusdaki IL-12 düzeylerinin betimsel analizleri.....	40
191	Tablo 26. Talamusdaki IL-17 düzeylerinin betimsel analizleri.....	41
192	Tablo 27. Talamusdaki Apelin düzeylerinin betimsel analizleri.....	42
193	Tablo 28. Serumdaki Apelin düzeylerinin B gruplarına göre betimsel analizleri.....	43
194	Tablo 29. Serumdaki TNF $\alpha$ düzeylerinin betimsel analizleri.....	44
195	Tablo 30. Serumdaki IL-1 $\alpha$ düzeylerinin betimsel analizleri.....	45
196	Tablo 31. Serumdaki IL-1 $\beta$ düzeylerinin betimsel analizleri.....	46
197	Tablo 32. Serumdaki IL-2 düzeylerinin betimsel analizleri.....	47
198	Tablo 34. Serumdaki IL-6 düzeylerinin betimsel analizleri.....	49
199	Tablo 35. Serumdaki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri.....	50
200	Tablo 36. Serumdaki IL-12 düzeylerinin betimsel analizleri.....	51
201	Tablo 37. Serumdaki IL-17 düzeylerinin betimsel analizleri.....	52
202	Tablo 38. Serumdaki TGF $\beta$ düzeylerinin betimsel analizleri.....	53
203	Tablo 39. Serumdaki IFN $\gamma$ düzeylerinin betimsel analizleri .....	54
204	Tablo 40. Serumdaki NGF düzeylerinin betimsel analizleri .....	55
205	Tablo 41. Korteks ve Talamustaki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri.....	60
206		



## ŞEKİLLER

207	
208	Şekil 1. Korteksdeki Apelin-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....16
209	Şekil 2. Korteksdeki Sitokrom C verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....17
210	Şekil 3. Korteksdeki TNF $\alpha$ verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....18
211	Şekil 4. Korteksdeki IL-1 $\beta$ verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....19
212	Şekil 5. Korteksdeki IL-2 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....20
213	Şekil 6. Korteksdeki IL-4 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....21
214	Şekil 7. Korteksdeki IL-6 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....22
215	Şekil 8. Korteksdeki IL-10 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....23
216	Şekil 9. Korteksdeki IL-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....24
217	Şekil 10. Korteksdeki IL-17 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....25
218	Şekil 11. Korteksdeki TGF- $\beta$ verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....26
219	Şekil 12. Korteksdeki IFN $\gamma$ verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....27
220	Şekil 13. Korteksdeki NGF verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği .....28
221	Şekil 14. Korteksdeki NFkB verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....29
222	Şekil 15. Korteksdeki p38/MAPK verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....30
223	Şekil 16. Korteksdeki Apelin-12'nin immunohistokimyasal verilerinin tüm gruplara göre
224	dağılım grafiği. ....31
225	Şekil 17. Talamusdaki Apelin-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....32
226	Şekil 18. Talamusdaki Sitokrom C verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.....33
227	Şekil 19. Talamusdaki TNF $\alpha$ verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....34
228	Şekil 20. Talamusdaki IL-1 $\alpha$ verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....35
229	Şekil 21. Talamusdaki IL-2 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....36
230	Şekil 22. Talamusdaki IL-4 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....37



231	Şekil 23. Talamusdaki IL-6 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	38
232	Şekil 24. Talamusdaki IL-10 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	39
233	Şekil 25. Talamusdaki IL-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	40
234	Şekil 26. Talamusdaki IL-17 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	41
235	Şekil 27. Talamusdaki Apelin-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	42
236	Şekil 28. Serumdaki Apelin-12 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	43
237	Şekil 29. Serumdaki TNF $\alpha$ verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	44
238	Şekil 30. Serumdaki IL-1 $\alpha$ verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	45
239	Şekil 31. Serumdaki IL-1 $\beta$ verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	46
240	Şekil 32. Serumdaki IL-2 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	47
241	Şekil 33. Serumdaki IL-4 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	48
242	Şekil 34. Serumdaki IL-6 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	49
243	Şekil 35. Serumdaki IL-10 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	50
244	Şekil 36. Serumdaki IL-12 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	51
245	Şekil 37. Serumdaki IL-17 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	52
246	Şekil 38. Serumdaki TGF $\beta$ verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	53
247	Şekil 39. Serumdaki IFN $\gamma$ verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği. ....	54
248	Şekil 40. Serumdaki NGF verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği. ....	55
249	Şekil 41. Korteks (A) ve talamusdaki (B) Apelin-12 (ng/ml) düzeyleri. ....	56
250	Şekil 42. Korteks (A) ve talamusdaki (B) Sitokrom C (ng/ml) düzeyleri. ....	57
251	Şekil 43. Korteks (A) ve talamusdaki (B) TNF $\alpha$ (pg/ml) düzeyleri. ....	57
252	Şekil 44. Talamusdaki IL-1 $\alpha$ (pg/ml) düzeyleri. ....	58
253	Şekil 45. Korteksdeki IL-1 $\beta$ (pg/ml) düzeyleri. ....	58

254	Şekil 46. Korteks (A) ve talamusdaki (B) IL-2 (ng/ml) düzeyleri .....	59
255	Şekil 47. Korteks (A) ve talamusdaki (B) IL-6 (pg/ml) düzeyleri .....	59
256	Şekil 48. Korteks (A) ve talamusdaki (B) IL-12 (pg/ml) düzeyleri .....	60
257	Şekil 49. Korteks (A) ve talamusdaki (B) IL-17 (ng/ml) düzeyleri .....	61
258	Şekil 50. Korteksdeki TGF $\beta$ (pg/ml) düzeyleri.....	61
259	Şekil 51. Korteksdeki IFN $\gamma$ (pg/ml) düzeyleri.....	62
260	Şekil 52. Korteksdeki NGF (ng/ml) düzeyleri.....	62
261	Şekil 53. Korteksdeki NFkB (ng/ml) düzeyleri .....	63
262	Şekil 54. Korteksdeki p38/MAPK (ng/ml) düzeyleri .....	63
263	Şekil 55. B grubunun korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerinde Apelin-12	
264	(ng/ml) düzeyleri .....	64
265	Şekil 56. B grubunda Korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerinde Sitokrom C	
266	(ng/ml) düzeyleri .....	65
267	Şekil 57. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerinde TNF $\alpha$	
268	(pg/ml) düzeyleri .....	65
269	Şekil 58. B grubunun talamus (A) ve serum (B) örneklerinde IL-1 $\alpha$ (pg/ml) düzeyleri	66
270	Şekil 59. B grubunda korteks (A) ve serum (B) örneklerinde IL-1 $\beta$ (pg/ml) düzeyleri .	66
271	Şekil 60. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-2	
272	(ng/ml) düzeyleri .....	67
273	Şekil 61. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-4	
274	(pg/ml) düzeyleri .....	67
275	Şekil 62. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-6	
276	(pg/ml) düzeyleri .....	68
277	Şekil 63. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-10	
278	(pg/ml) düzeyleri .....	68
279	Şekil 64. B grubunda korteks (A) ve serum (B) örneklerinde TGF $\beta$ (pg/ml) düzeyleri	69



280	Şekil 65. B grubunda korteks (A) ve serum (B) örneklerindeki NFkB (ng/ml) düzeyleri
281	.....70
282	Şekil 66. Apelin-12 enjeksiyonu öncesi ve sonrası DDD'lerin sayıları (A) ve DDD'lerin
283	sürelerinin (B) Apelin-12 enjeksiyonu öncesi ve sonrası değişimi. ....71
284	
285	



## RESİMLER

286

287 Resim 1. 6 aylık WAG/Rij sıçanlardan elde edilen EEG görüntüsü YER SORUNU  
288 NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ..... 9

289 Resim 2. LabChart 7.0 yazılımında yapılan analizlerden bir ekran görüntüsü YER  
290 SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.....10

291 Resim 3. Analiz ekranı YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
292 YÜKLENDİ.....10

293 Resim 4. LabChart yazılımının otomatik seçme (Multiple add to datapad) işlevine  
294 yönelik bir ekran görüntüsü. YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK  
295 SİSTEME YÜKLENDİ. ....11

296 Resim 5. Kortekste Apelin immunoreaktivitesinin AI (A) ve AII (B) gruplarında  
297 gösterilmesi YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
298 YÜKLENDİ.....56

299 Resim 6. Talamusda Apelin immunoreaktivitesinin AI ve AII gruplarında gösterilmesi  
300 YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ. ....56

301 Resim 7. Kortekste Apelin immunoreaktivitesinin BI, BII ve BIII gruplarında  
302 gösterilmesi YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.  
303 .....64

304 Resim 8. Talamusda Apelin immunoreaktivitesinin BI, BII ve BIII gruplarında  
305 gösterilmesi YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
306 YÜKLENDİ.....64

307 Resim 9. Tüm grupların korteksindeki NFkB'nin protein düzeyinin Western blot  
308 yöntemi ile gösterilmesi. YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
309 YÜKLENDİ.....71

310 Resim 10. NFkB'nin epileptojenik beyin dokusundaki etkisi YER SORUNU  
311 NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.....73

312 Resim 11. LPS ile uyarılmış NFkB sinyal yolağı YER SORUNU NEDENİYLE EK  
313 DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ .....74



314	Resim 12. Serebral iskemi-reperfuzyonunda aktive NFkB sinyal yolağı. YER	
315	SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.....	75
316	Resim 13. PI3K/Akt/mTOR yolağında GPCR'lerin gösterilmesi YER SORUNU	
317	NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.....	76
318	Resim 14. mTORve NFkB sinyal transdüksiyon yolağı YER SORUNU NEDENİYLE	
319	EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.....	78
320		



## ÖZET

321

322 Epilepsi yaygın bir sağlık problemidir. Epilepsi tek bir bozukluk olmaktan öte altta yatan  
323 çeşitli hastalıkların sendromlarının bir grubudur. Epilepside inflamatuvar sistemin  
324 aktivasyonunun ve proinflamatuvar sitokinlerin aşırı üretiminin epilepsinin patofizyolojisinde rol  
325 oynadığını bildiren birçok delil literatürde bulunmaktadır. Son veriler Apelinin immun  
326 yanıtların düzenlenmesine katkı sağladığını hatta immunoregülatör olabileceğini  
327 göstermektedir. İki aşamalı olan bu çalışmanın ilk basamağında, absans epilepsinin  
328 poligenetik sıçan modeli olan Wistar Albino Glaxo/Rij (WAG/Rij) sıçanların farklı dokularında  
329 Apelin ve sitokin ekspresyonunun değişimlerinin belirlenmesi, Apelin düzey değişimlerinin  
330 beyin dokusunda inflamatuvar süreç değişimleriyle olan ilişkisinin saptanması  
331 amaçlanmaktadır. İkinci aşamada ise 6 aylık WAG/Rij sıçanlarda, Apelin uygulaması öncesi  
332 ve sonrasında alınan elektroensefalogram (EEG) kayıtlarının değerlendirilmesi  
333 amaçlanmaktadır. Ayrıca planlanan bu çalışmada, Apelin-12 uygulamasının absans  
334 epilepsinin gelişmesindeki etki mekanizmalarını; inflamatuvar süreçler, Nükleer Faktör kappa  
335 B (NFkB) ve mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) aktivasyonu ve apoptotik belirteçler  
336 açısından değerlendirildi. Apelin-12'nin, apoptozis ve inflamasyon ile ilişkili hücre içi sinyal  
337 yollarının, sitokinlerin düzeyleri Enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) yöntemiyle beyin  
338 dokularında ve serumda saptandı. Verilerin confirmasyonu western blot ve  
339 immunohistokimya ile desteklendi. Apelin-12 uygulamasının belirgin bir biçimde tümör  
340 nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve interlökin (IL-6) gibi proinflamatuvar sitokinleri ve NFkB'yi  
341 beyinde azalttığını, EEG'de diken dalga deşarjları (DDD)'lerin sayı ve sürelerini  
342 düşürdüğünü sonuçlarımız gösterdi. Üstelik WAG/Rij sıçanlarda Apelin-12 uygulamasının  
343 NFkB miktarını azalttığı western blot yöntemi ile de teyit edildi. Sonuçlarımız ile WAG/Rij  
344 sıçanlarda Apelin-12'nin hem antiinflamatuvar hem de antikonvulsan etkilerinin altında yatan  
345 önemli bir mekanizmanın fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K)/Akt aracılı NFkB aktivitesinin  
346 olabileceği önerilebilir.

347

348 **Anahtar Kelimeler:** Apelin, WAG/Rij sıçan, Absans Epilepsi, İnflamasyon

349





350 ABSTRACT

351

352 Epilepsy is a common health problem. Epilepsy is not a single disorder but rather a group of  
353 syndromes with a variety of underlying diseases. There have been alot of evidence reported  
354 in the literature that epilepsy is accompanied by the activation of the inflammatory system,  
355 and overproduction of pro-inflammatory cytokines may play a role in the pathophysiology of  
356 epilepsy. Current evidence supports that Apelin contributes to regulation of immune  
357 responses, and even it might have been a immunoregulator. The focus of the proposed  
358 project was 1) in the first step of this study; to determine the changes of Apelin-12 and  
359 cytokine expression in the different tissues of polygenetic rat model of absence epilepsy in  
360 the Wistar Albino Glaxo/Rij (WAG/Rij) rats, the relationship between changes of  
361 inflammatory processes and Apelin-12 levels, 2) in the second step of this study; to  
362 investigate electroencephalogram (EEG)recordings at before and after Apelin-12  
363 administration in WAG/Rij rats. Also, planned this study will determine the efficiency of  
364 mechanisms in in the development of absence epilepsy; inflammatory processes, Nuclear  
365 Factor kappa B (NFkB) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) activation and  
366 apoptotic markers. Levels of Apelin-12, cytokines associated with apoptosis and  
367 inflammation intracellular signaling pathways were detected in the brain and blood tissue via  
368 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Data confirmation was supported by western  
369 blot and immunohistochemistry. The results showed that treatment with Apelin-12 markedly  
370 decreased proinflammatory cytokine, such as tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and  
371 interleukin (IL)-6 levels in brain, and significantly decreased the number and duration of  
372 spike-and-wave discharges (SWDs) in EEG, and NFkB activity in WAG/Rij rats.  
373 Furthermore, Western blotting and ELISA analysis results demonstrated that administration  
374 of Apelin-12 reduced the amount of NFkB in WAG/Rij rats. Our results may suggest that  
375 reduction of phosphatidylinositol kinases (PI3K)/Akt related NFkB activity is a crucial  
376 mechanism underlying the both antiinflammatuar and anticonvulsant effects of Apelin-12 in  
377 WAG/Rij rats.

378

379 **Key Words:** Apelin, WAG/Rij rat, Absence Epilepsy, Inflammation

380

## 1. GİRİŞ

381 Epilepsi dünya çapında populasyonun %1 'ini etkileyen ciddi bir hastalıktır Schulze-Bonhage  
382 (2011). Epilepsi merkezi sinir sisteminde (MSS), kortikal veya subkortikal bölgelerdeki nöron  
383 gruplarının ani, anormal ve hipersenkron deşarjları sonucu ortaya çıkan, gelip geçici ve  
384 genellikle tekrarlayıcı nitelikte nöbetlerle karakterize klinik bir tablodur Fisher vd. (2005).  
385 Epilepsi tıbbi bir durum olmasına karşılık, epilepsili hastalar epilepsinin psikolojik ve sosyal  
386 sorunlarıyla da başa çıkmak zorundadırlar Hills (2007). Bu yüzden epilepsili hastalara  
387 günümüzde uygulanan tedavi stratejilerinde öncelikli olarak epileptik nöbetlerin önlenmesi  
388 hedeflenmektedir.

389 Absans epilepsi, jeneralize idiyopatik epilepsilerin bir prototipi olarak, çocukluk çağı epilepsi  
390 hastalıklarının en yaygın görülen formudur ve elektroensefalogramda (EEG)'de simltan  
391 olarak gözüken bilateral, senkron, simetrik jeneralize diken dalga deşarjları (DDD) ile ilişkili  
392 olarak kısa süreli ve sık tekrarlayan bilinç kaybı ile karakterize olan bir durumdur Crunelli  
393 ve Leresche (2002). İnsandaki absans epilepsinin klinik ve farmakolojik özellikleri ile  
394 benzerlikler gösterdiğinden dolayı, geçerli ve iyi tanımlanmış bir genetik model olarak  
395 kullanılan Wistar Albino Glaxo Rats from Rijswijk (WAG/Rij) ve Genetic Absence Epilepsy  
396 Rats from Strasbourg (GAERS) sıçanların EEG'lerinde kendiliğinden gözüken DDD'lerin  
397 talamokortikal döngüdeki anormal salınımlardan kaynaklandığı bilinmektedir Sitnikova ve  
398 Van Luijtelaar (2006, 2007), Coenen ve Van Luijtelaar (2003). Deneysel epilepsi modelleri  
399 aracılığıyla epilepsinin patogenezinin açıklanmasının yanı sıra yeni tedavi stratejilerinin  
400 geliştirilmesine olanak sağlanmasına rağmen, nöbetlerin oluşum sürecinde etkin olan  
401 yolakların birçoğu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

402 Son dönemlerde yapılan çalışmalar epileptik süreçte; inflamasyonun ve immun hücre  
403 regulasyonlarındaki değişikliklerin etkin rollerinin olduğunu göstermektedir Vezzani vd.  
404 (2011a), Jieun vd. (2008). 1998 yılında tanımlanan ve ilk olarak sığır mide dokusundan izole  
405 edilen ve 77 aminoasit uzunluğunda bir adipositokin olan Apelinin, homeostasisin  
406 sağlanması için vücutta birçok temel sistemin düzenlenmesinde ve pek çok hastalığın  
407 patogenezinde rol aldığı ifade edilmektedir Khaksari vd. (2012), Cheng vd. (2012). Üstelik  
408 Apelinin immün yanıtların düzenlenmesinde de etkin olabileceği gösterilmiştir Cobellis vd.  
409 (2007), Telejko vd. (2010); Lim vd. (2013). Bununla birlikte MSS, nörolojik hastalıklarda  
410 Apelinin ekspresyonunun değiştiği ifade edilmektedir. Literatürde epilepside Apelin ile ilişkili  
411 olarak yayınlanmış iki yeni çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların birinde, epilepsi  
412 hastalarında ve epileptik sıçan modellerinde beyinde Apelinin up-regüle olduğu



413 bildirilmektedir. Ayrıca eksojen Apelin uygulamasının, epilepsi nöbetlerinden sonra  
414 nöroprotektif etki göstererek nöronal kaybın önlenmesinde etkili olabileceği belirtilmektedir  
415 Zhang vd. (2011). Yapılan diğer çalışmada ise, idiyopatik jeneralize epilepsi hastası olan ve  
416 valporik asid alan 44 çocukta kontrol grubuna göre, Apelin gibi adipositokinlerin ekspresyon  
417 düzeyinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bildirilmiştir Meral vd. (2011).

418 Apelin uygulamasının birçok etkisinin olduğu bilinmesine rağmen, absans epilepsi ile olan  
419 ilişkisi henüz bilinmemektedir. Bununla birlikte epilepside Apelinin ekspresyon düzeyinde  
420 meydana gelen değişiklikler gösterilmiş fakat Apelin uygulamasının absans epilepsideki  
421 etkisi çalışılmamıştır.

422 İki aşamalı olan bu çalışmanın ilk basamağında, absans epilepsinin poligenetik sıçan modeli  
423 olan WAG/Rij sıçanların farklı beyin dokularında (korteks ve talamus) Apelin-12 ve sitokin  
424 ekspresyonlarının değişimleri saptandı. Bu aşamada Apelin-12 düzey değişimlerinin beyin  
425 dokusundaki inflamatuvar süreç değişimleri ile olan ilişkisinin belirlenmesi amaçlandı.

426 İkinci aşamada ise 6 aylık WAG/Rij sıçanlarda, Apelin-12 uygulaması öncesi ve sonrasında  
427 alınan EEG kayıtlarındaki DDD'ler değerlendirildi.

428 Ayrıca planlanan bu çalışma ile Apelin-12 uygulamasının absans epilepsinin gelişmesindeki  
429 etki mekanizmaları; inflamatuvar süreçler, Nükleer Faktör kappa B (NFkB) ve mitojen aktive  
430 edici protein kinaz (MAPK) MAPK aktivasyonu ve apoptotik belirteçler açısından da  
431 değerlendirildi.

432

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

434 Kronik olarak düşük olan bir nöbet eşiğinden dolayı nöbet oluşturmaya kalıcı bir yatkınlık ile  
435 karakterize olan epilepsinin, dünya çapında populasyonun yaklaşık %0,5-1'ini etkileyen en  
436 yaygın nörolojik hastalıklardan biri olduğu düşünülmektedir Riazi vd. (2010). Epilepsinin  
437 etyolojisi çeşitlilik göstermektedir. Bunlar arasında konjenital bozukluklar, kafa travmaları,  
438 enfeksiyonlar (intrauterin enfeksiyonlar, her yaşta geçirilen menenjit ve ensefalitler, kronik ve  
439 ağır otitis media), kitle lezyonları, metabolik bozukluklar, toksik durumlar, vasküler lezyonlar,  
440 dejeneratif ve demiyelinize hastalıklar, sistemik hastalıklar, MSS'de inhibisyon yapan  
441 maddelerin ani kesilmesi (alkol, morfin, hipnotik ilaçlar, vb. ), yüksek doz fenotiazinler,  
442 nöroleptikler, trisiklik antidepresanlar yer almaktadır Sonat (2009).

443 Son on yılda epilepsi ile inflamasyon arasında bir bağlantı kurulmaktadır. Ancak nöbetlerden  
444 dolayı aktiflenen sitokin kaskadının mekanizması hala bilinmemektedir Lehtimäki vd. (2009).  
445 Sitokinler fizyolojik koşullarda sağlıklı beyin dokusunda çok düşük düzeylerde eksprese  
446 olmaktadır. Epileptik aktivite esnasında kemirgenlerin beyin dokusunda birkaç proinflamatuvar  
447 sitokin (kemokinler, sitokinler, Toll benzeri reseptör (TLR, *Toll Like Receptor*), NFkB),  
448 prostaglandinler, komplemant faktörleri, hücre adhezyon molekülleri) hızlı bir şekilde  
449 indüklendiği gösterilmiştir Rao vd. (2009).

450 Klinik ve prelinik çalışmalarda epileptik beyin bölgelerinde glial anormalliklerin olduğu  
451 gösterilmektedir Yamamura vd. (2013). Epileptik beyinde astrositlerde görülen fonksiyonel  
452 ve morfolojik değişikliklerin yanı sıra astroglotik reaksiyonlar da bulunmaktadır (Seifert vd.,  
453 2006; Yamamura vd. 2013). Bununla birlikte astrositlerden salınan glutamatın epileptiform  
454 nöbetleri tetikleyen senkronize deşarjların oluşmasında önemli rol oynadığı vurgulanmaktadır  
455 (Tian vd., 2005; Yamamura vd. 2013). Glial hücrelerin beyindeki immun sisteme katıldığıının  
456 bulunması ile bazı nöbetlerin beyinde immun yanıtla neden olabileceği de ileri  
457 sürülmektedir Rodgers vd. (2009). Yapılan çalışmalarda astrositlerin iyon homeostazisinde  
458 önemli rol oynadığı, birçok nöroaktif bileşik sentezlediği ve salgıladığı, nöronlara metabolik  
459 ve trofik destek sağladığı ve toksisiteye karşı koruyucu rol oynadığı, nörotransmitter  
460 (Glutamat, gama-aminobütirik asid (GABA) vs.) ve nörohormon reseptörünü eksprese ettiği,  
461 L-glutamat, D-serine, GABA ve kynurenin asidi salgıladığı gösterilmiştir. Bununla birlikte  
462 nöronlar tarafından eksprese edilen tüm reseptörler glia hücrelerinde de bulunmuş böylece  
463 sinaptik aktivitenin saptanması adına bu hücrelerin uygun bir sensör olarak donatıldığı ifade  
464 edilmiştir (Verkhatsky ve Kettenmann, 1996; Schipke ve Kettenmann, 2004, Takuma vd.  
465 2004, Cooper ve Brown, 1995; Yılmaz ve Taskiran, 2010, Hamilton ve Attwell, 2010; Onat,  
466 2012).

467 Enfeksiyonu takiben periferik olarak veya lokal bir hasar ile MSS'de mikroglia, astrosit ve  
468 nöronlar aktive olmaktadır. Bu hücrelerden de IL-1 $\beta$ , IL-1R1 ve toll like reseptör (TLR4)'ün  
469 aktivasyonu aracılığıyla, nöron ve glialar gibi hedef hücrelerde (inflamatuvar kaskadı oluşturan  
470 high-mobility gurup protein 1 (HMGB1) benzeri tehlike sinyalleri gibi proinflamatuvar sitokinler  
471 salınmaktadır. Nöronlarda sinyalin aktiflenmesi sonucunda NR2B alt biriminin fosforilasyonu  
472 ile ilişkili olan seramid/Src aracılığıyla, N metil D aspartat (NMDA) reseptörlerinin Ca<sup>++</sup>  
473 akışında hızlı bir artış meydana gelmektedir. Uzun dönemde ise epileptogenezdeki hem  
474 moleküler hem hücresele değişiklikleri içerecek şekilde transkripsiyon genlerini aktifleyerek,  
475 nöbet eşiğini düşürmekte ve beyin inflamasyonunu sürekli kılmaktadır. IL1R/TLR sinyalinin  
476 aktiflenmesi ile başlayan beyin inflamasyonu, nöronal uyarılmanın eşiğinde azalmayı  
477 indükleyerek bireysel nöbetlerin üretilmesine neden olmaktadır. Nöbetlerin tekrarlaması  
478 epilepsinin gelişmesine katkısı olan kısır döngüleri oluşturarak daha ileri inflamasyon  
479 süreçlerini aktiflemektedir Vezzani vd. (2011b).

480 İki majör proinflamatuvar sitokin olan IL-1 $\beta$  ve IL-1 $\alpha$  inflamasyon esnasında hem  
481 makrofajlardan hem de glial ve nöronal hücrelerden sentezlenmektedir Hopkins ve Rothwell  
482 (1995). Status epileptikusun akut fazı esnasında IL-1  $\beta$ 'nin mikroglia benzeri hücrelerde ve  
483 astrositlerde up regüle olduğu belirtilmiştir Vezzani vd. (2008). Japon topluluğunda  
484 hipokampal sklerozlu temporal lobe epilepsili hastaların proinflamatuvar sitokin IL-1 $\beta$ 'yi  
485 kodlayan genin promotör bölgesindeki bir polimorfizmin hipokampal hasar ile ilişkili olduğu  
486 bulunmuştur Kanemoto vd. (2000). Ancak hipokampal sklerozlu mesiyal temporal lobe  
487 epilepsili Türk hastalarda IL-1 $\alpha/\beta$  gen polimorfizmi arasında bir bağlantı bulunamamıştır  
488 Ozkara vd. (2006). Lityum pilokarpinle indüklenen nöbetlerden sonra IL-1 $\beta$ , IL-1 reseptör  
489 antagonistinin (IL-1Ra) ve IL-1 reseptör 1 (IL-1R1)'in ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir  
490 Zhang vd. (2010). Deneysel modellerde IL-1 $\beta$ 'nin prokonvulsan gibi görünmekte olduğu  
491 buna karşın ise IL-1Ra'nın antikonvulsan olduğu bildirilmektedir Ravizza vd. (2006).  
492 Sitokinlerin direkt intraserebral enjeksiyonunun nöbet aktivitesini kötüleştirdiği bildirilmiştir  
493 Choi ve Koh (2008). IL-1 $\beta$ 'nin eksojen uygulananın kainatın indüklediği hipokampal EEG  
494 nöbetlerini glutamaterjik nörotransmisyonu artırarak uzattığı bildirilmiştir Vezzani vd. (1999).

495 Absans epilepsi, jeneralize idiyopatik epilepsilerin bir prototipi olarak, çocukluk çağı epilepsi  
496 hastalıklarının en yaygın görülen formudur ve EEG'de simultan olarak gözüken bilateral,  
497 senkron, simetrik jeneralize DDD ile ilişkili olarak kısa süreli ve sık tekrarlayan bilinç kaybı ile  
498 karakterize olan bir durumdur Crunelli ve Leresche (2002). İnsandaki absans epilepsinin  
499 klinik ve farmakolojik özellikleri ile benzerlikler gösterdiğinden dolayı, geçerli ve iyi  
500 tanımlanmış bir genetik model olarak kullanılan WAG/Rij ve GAERS sıçanların EEG'lerinde

501 kendiliğinden gözükten DDD'lerin talamokortikal döngüdeki anormal salınımlardan  
502 kaynaklandığı bilinmektedir Sitnikova ve van Luijtelaar (2006, 2007), Coenen ve Van  
503 Luijtelaar (2003). Glial hücrelerin konvulsif nöbetlerdeki etkisi yaygın bir şekilde çalışılmış  
504 olmasına rağmen, non-konvulsif epilepsilerdeki özellikle absans epilepsideki bu tür  
505 hücrelerin etkisine dair oldukça az veri bulunmaktadır Onat (2013). İnflamasyonun  
506 prokonvulsan etkileri, geniş bir inflamatuvar yanıtı indükleyen veya spesifik sitokinleri kullanan  
507 lipopolisakkarit (LPS) ile hayvanlarda çalışılmıştır. MSS'de LPS'nin etkileri değişik glial  
508 sitokinlerin üretiminin uyarılması ile ilişkili iken, direkt etkinin TLR aracılığıyla olmasının  
509 muhtemel olduğu bildirilmektedir Auvin vd. (2010). Sistemik ve beyin inflamasyonuna neden  
510 olan LPS'nin, sistemik uygulanımı lityum pilokarpin status epileptikus modelindeki postnatal  
511 14 günlük sıçanlarda epileptogenezisi arttırmıştır. LPS uygulanımının immatur sıçanlarda  
512 kindling epileptogenezisindeki evre 4'teki nöbetlerin sayı ve sürelerini de arttırdığı ve IL-1  
513 reseptörünün antagonistinin uygulanımı ile de LPS ile artmış olan epileptogenezideki artışın  
514 azaldığı bildirilmiştir Auvin vd. (2010). Genetik olarak epileptik olan WAG/Rij sıçanlardaki  
515 epileptik aktivitenin intraperitoneal LPS uygulanımı ile kolaylaştığı buna paralel olarak da  
516 sitokin düzeylerinin arttığı bulunmuştur Kovács vd. (2006). Keza intraserebroventriküler LPS  
517 uygulanımının da WAG/Rij sıçanlardaki DDD'yi arttırdığı bulunmuştur Kovács vd. (2011).  
518 Yeni yapılan bir çalışmada da GAERS sıçanlarda IL-1 $\beta$ 'nin proiktojenik özelliğinin olduğu  
519 bulunmuştur Akın vd. (2011). Absans nöbetlerin primer sebebi olarak özellikle belirtilen  
520 talamo-kortikal senkronizasyon, proinflamatuvar sitokinlerden güçlü bir şekilde etkilenmektedir  
521 Miller vd. (1991), Schiffelholz ve Lancel (2001), Kovacs vd. (2006).

522 Son dönemlerde yapılan çalışmalar epileptik süreçte ve nörolojik sistemlerle ilgili dejeneratif  
523 bozukluklarda inflamasyonun ve immun hücre regülasyonlarındaki bozukların NFkB ve  
524 MAPK sinyal yolunun önemli olduğunu göstermiştir. MAPK ailesi ekstra sellüler kinaz (ERK),  
525 stres aktive komponentler c-jun N terminal kinaz (JNK) ve p38 den oluşur. MAPK  
526 fosforilasyonunun NF-kB, ve aktive edici protein (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin  
527 aktivasyonuna neden olur Choi ve Koh (2008).

528 1998 yılında tanımlanan ve ilk olarak sığır mide dokusundan izole edilen ve 77 aminoasit  
529 uzunluğunda bir adipositokin olan Apelin, homeostasisin sağlanması için vücutta birçok  
530 temel sistemin düzenlenmesinde ve dünya genelinde morbidite ve mortalite oranları oldukça  
531 yüksek olan pek çok hastalığın patogenezinde de rol oynayan kilit bir moleküldür Khaksari  
532 vd. (2012), Cheng vd. (2012). Apelin hücre yüzeyindeki transmembran G proteininin endojen  
533 ligandıdır Ahabab ve Yenigün (2011). Beyindeki Apelinerjik (APJ) nöronların topografik  
534 dağılımına bakıldığında Apelinin, septum ve amigdala'da ve yüksek yoğunlukta

535 paraventricüler talamik nükleus, periaquaduktal gri madde ve dorsal rafe nükleusta, ponsta;  
536 parabrakiyal ve Barrington nükleusunda, soliter trakt nükleusu, lateral retikular, prepositus  
537 hypoglossal ve spinal trigeminal nükleusta bulunduğu görülmüştür Reaux vd. (2002). Ayrıca  
538 insan beyinde APJ nöronlarda, oligodendrositlerde ve astrositlerde ifade edilirken,  
539 makrofajlar ve mikroglialarda tespit edilmemiştir. APJ MSS'de nöronlarda özellikle  
540 hipokampus ve hipotalamusta yüksek derecede ifade edilmektedir Zhang vd. (2011).  
541 İmmünohistokimyasal çalışma sonuçlarına göre, nöronlarda Apelin reseptörleri talamik ve  
542 hipotalamik nükleuslar gibi beyin nükleuslarında çok geniş bir skalada yer almaktadır Lee vd.  
543 (2004).

544 Apelinin G-protein bağlı reseptörü olan APJ ile interaksiyonundaki, sinyal  
545 transdüksiyon mekanizmalarından biri, Ras proteini bağımsız ancak Protein-kinaz C bağımlı  
546 olarak gerçekleşmektedir. Bu yolda, protein kinaz C (PKC), fosfolipaz C (PLC), Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>  
547 değiştiricileri (NHE) ve Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> değiştiricileri (NCE) inhibe olduğu takdirde, Apelinin  
548 etkisinin önemli derecede azaldığı belirtilmekte ve bu etkinin pozitif inotropik etki olduğu  
549 bildirilmektedir Falcao-Pires vd. (2005), Szokodi vd. (2002), Ladeiras-Lopes vd. (2008).  
550 Adenilat siklaz yolunun inhibisyonuna ek olarak Apelin, perfüzyon toksin duyarlı G protein  
551 aracılığıyla ekstrasellüler olarak regüle olan kinaz (ERK'i, ekstrasellüler-regulated kinaz) de  
552 aktive ederek sinyal yolağını düzenleyebilmektedir Masri vd. (2002), Ladeiras-Lopes vd.  
553 (2008). PI3K- p70 S6 kinaz (p70S6K) endotelial hücre proliferasyonunun kontrolü Apelinin,  
554 2 ana mekanizmayı aktive etmesiyle gerçekleşmektedir. Bunlardan birincisi ERK bağımlı,  
555 ikincisi ise PI3K bağımlı mekanizmalardır. PI3K/ Akt yolağının fosforilasyondan sorumlu  
556 olduğu düşünülmektedir ve bunun sonucunda Apelinin vazodilatör etkisinde en önemli etken  
557 olan endotelial nitrik oksit (NO) sentez aktive edilmektedir (Tatemoto vd., 2001; Ladeiras-  
558 Lopes vd. 2008).

559 Son çalışmalarda, Apelin peptidlerinin nöroprotektif fonksiyona sahip olduğu tespit edilmiştir.  
560 Apelin-13'ün (1,0-5,0 nM) belirgin bir şekilde nöronal apoptozisi engellediği görülmüştür.  
561 Apelin-13'ün serum deprivasyonu ile indüklenen nöronal apoptozda reaktif oksijen türleri  
562 (ROS, reactive oxygen species) oluşumunu, mitokondriyal depolarizasyonunu, sitokrom c  
563 salınımını ve kaspaz-3 aktivasyonunu engellediği belirtilmiştir. Apelin-13 Akt ve ERK 1/2  
564 fosforilasyonu, serum deprivasyonu ile indüklenen değişiklikleri engellemektedir. Buna ek  
565 olarak, Apelin-13'ün NMDA-aracılı intrasellüler Ca<sup>2+</sup> birikimini azalttığı belirtilmiştir. Apelin bu  
566 yönüyle hücrel ve moleküler mekanizmalar aracılığı ile apoptoz ve eksitotoksik ölümü  
567 engelleyen endojen bir nöroprotektif adipositokindir. Yapılan çalışmalarda Apelinin ROS  
568 antagonisti olduğu gösterilmiş, sıçan kalp ve insan osteoblastlarında apoptozisi engellediği

569 belirtilmiştir. Bununla birlikte, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybı membran  
570 geçirgenliğini değiştirmektedir. Apoptotik süreçte mitokondriyal permeabilite por açılması  
571 önemli bir basamaktır ve Apelinin bu basamağı inhibe ettiği belirtilmektedir (Simpkin  
572 vd.,2007, O'Donnell vd., 2007, Xie vd., 2007, Chauvier vd., 2005; Zeng vd., 2010). Ayrıca  
573 Apelin-13 direkt olarak, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP, Nicotinamide Adenine  
574 Dinucleotide Phosphate) oksidaz aracılı süperoksit oluşumu ile rostralventrolateral  
575 medulla'da hücresel sinyal mekanizmasının uyarılması yoluyla nöronal aktiviteyi  
576 arttırmaktadır Yao vd. (2011). Başka bir çalışmada ise Apelin-13'ün, geçici fokal serebral  
577 iskemi modelinde iskemik reperfüzyon yaralanmalarına ve serebral ödeme karşı beyni  
578 koruduğu belirtilmiştir Khaksari vd. (2012).

579 NMDA reseptörünün fazla aktivasyonu ile oluşan nöronal hasar sonucu pek çok nörojenik  
580 rahatsızlık oluşmaktadır. Apelinin nöronal hayatta kalmayı, NMDA reseptör aracılı  
581 eksitotoksik sinyal kaskadının inhibe ederek, prosurvival sinyal yollarını aktive ettiği  
582 düşünülmüş ve yapılan çalışmaların sonucunda Apelin prosurvival sinyal yollarında,  
583 inozitol tri fosfat (IP3), protein kinaz C, mitojen ile aktive olan protein kinaz 1/2 (MEK1/2)'yi  
584 aktive ederek eksitotoksisteye karşı koruduğu gösterilmiştir. Ayrıca Apelin, NMDA  
585 reseptörünün attenuasyonu yoluyla ve NMDA reseptörünün 2B alt ünitesini (NR2B) serin  
586 aminoasidinden fosforilleyerek eksitotoksik sinyalizasyonu inhibe etmektedir Cook vd.  
587 (2011). Özetle Apelin aracılı nöroprotektif etki; apoptotik kaskad inhibisyonu, mitokondri  
588 membran potansiyeli ve mitokondriyal fonksiyonun düzenlenmesi, Ca<sup>2+</sup> dengesinin  
589 korunması, IP3, AKT ve ERK1/2'nin fosforilasyonu ile sağlanmaktadır Zeng vd. (2010).

590 İki aşamalı olan bu çalışmanın ilk basamağında, absans epilepsinin poligenetik sıçan modeli  
591 olan WAG/Rij sıçanların farklı dokularında Apelin-12 ve sitokin ekspresyonunun  
592 değişimlerinin belirlenmesi, Apelin-12 düzey değişimlerinin beyin dokusunda inflamatuvar  
593 süreç değişimleriyle ilişkisinin saptanması amaçlanmaktadır. İkinci aşamada ise 6 aylık  
594 WAG/Rij sıçanlarda, Apelin-12 uygulaması öncesi ve sonrasında alınan EEG kayıtlarının  
595 değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca planlanan bu çalışma, Apelin-12 uygulamasının  
596 absans epilepsinin gelişmesindeki etki mekanizmalarını; inflamatuvar süreçler, NFkB ve  
597 MAPK aktivasyonu ve apoptotik belirteçler açısından değerlendirecek olan ilk çalışmadır.

598



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Hayvanlar

Çalışmada 6 aylık erkek Wistar (n=8) ve WAG/Rij (n=32) hayvanlar kullanıldı. Tüm hayvanlar standart laboratuvar koşullarında, 12/12 saat aydınlık karanlık döngüsünde, yiyecek ve içecek alımları serbest olacak şekilde barındırıldı. Hayvanlar, steryotaksik cerrahinin ardından bireysel kafeslerinde tutuldu.

Sakarya Üniversitesi Bünyesinde Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan ruhsatı alınmış bir deney hayvanları laboratuvarı/merkezi henüz olmadığından dolayı, önerilen projenin hayvan deneyleri etik onayının da alınmış olduğu Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinde yapıldı. Projenin moleküler çalışmaları ise Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fیزیopatoloji Anabilim Dalının Laboratuvarında uygulandı. İmmunohistokimyasal araştırmalar ise Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalının Laboratuvarında gerçekleştirildi.

#### 3.2. Deney Düzeni

Deney grupları aşağıdaki şekilde planlandı. İmmunohistokimyasal incelemeler için aynı düzende aynı sayıda hayvan kullanıldı.

A. Absans epilepside beyin dokularında ve serumda Apelin-12 düzeylerinin, apoptoz ve sitokin seviyelerinin değerlendirileceği grup

AI. Deney Grubu; 6 aylık WAG/Rij sıçanlar (n: 8)

All. Kontrol Grubu; 6 aylık epileptik olmayan Wistar sıçanlar (n: 8)

B. Apelin-12 enjeksiyonunun Absans epilepsideki etkilerinin değerlendirileceği grup

BI. Deney Grubu(1); Apelin-12'nin çözücüsünün (% 0.9'luk NaCl) uygulanıp Bazal EEG kaydı alındıktan bir gün sonra aynı saatte Apelin-12 enjeksiyonunun uygulanacağı ve EEG takibinin yapılacağı 6 aylık WAG/Rij sıçanlar (n: 8)

BII. Deney Grubu(2); Apelin-12 enjeksiyonunun uygulanacağı ve sonrasında apoptoz ve sitokinlerin değerlendirileceği 6 aylık WAG/Rij sıçanlar (n: 8)

BIII. Kontrol Grubu; Apelin-12'nin çözücüsünün (%0.9'luk NaCl) uygulanacağı sonrasında apoptoz ve sitokinlerin değerlendirileceği 6 aylık WAG/Rij sıçanlar (n: 8)

### 627 **3.3. Cerrahi İşlemler**

628 Cerrahi işlemler sırasında 6 aylık WAG/Rij sıçanlara (büyük çoğunluğuna) ketamin (120  
629 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (15 mg/kg, i.p.) anestezisi altında, steryotaksi alet yardımıyla  
630 koordinatları Paxinos ve Watson atlasına uygun olacak şekilde tripolar EEG kayıt elektrotları  
631 yerleştirildi (Plastic Products Company, MS 333/2A). Elektrotlar, yerleştirildikten sonra dental  
632 akrilik yardımıyla kafatasına sabitlendi. Elektrot koordinatları EEG kaydı için; AP 2.0, L 3.5  
633 (frontal bölge), AP -6.0, L 2.0 (pariyeto-okspital bölge) ve referans elektrodu serebellum  
634 üzerinde olacak şekilde tripolar kayıt elektrodu yerleştirildi.

### 635 **3.4. EEG Kayıtlarının Alınması**

636 EEG kaydı için elektrod yerleştirilmesinden sonra sıçanlar bir haftalık dinlenme periyoduna  
637 bırakıldı. Hayvanların hem kayıtların alınacağı sisteme alışmalarını sağlamak ve hem de ırk  
638 açısından kontrollerinin yapılması amacıyla hayvanlardan 1 saatlik (bazal) EEG kaydı alındı  
639 (Power Lab Kayıt sistemi, USA). 6 aylık WAG/Rij sıçanlardan elde edilen EEG görüntüsü  
640 Resim 1' de gösterilmiştir.

641 Resim 1. 6 aylık WAG/Rij sıçanlardan elde edilen iki kanallı olarak kaydedilen EEG  
642 görüntüsü (Yeşil renkli kayıttaki WAG/Rij sıçanda DDD aktivitesi anındaki EEG görüntüsü, pembe renkli  
643 kayıttaki WAG/Rij sıçanda da DDD'nin olmadığı andaki EEG görüntüsü gösterilmektedir)

644 YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.

### 645 **3.4.1. Apelin-12 uygulananımı**

646 Deney günü Apelin-12 enjeksiyonu yapılmadan, tüm gruplardaki hayvanlardan 1 saatlik  
647 (bazal) EEG kaydı alındı (Power Lab Kayıt sistemi, USA). Bazal EEG kayıtları alındıktan  
648 sonra deney grubuna 200 µl %0.9'luk NaCl çözeltisinde hazırlanan 800 µg/kg Apelin-12,  
649 kontrol gruplarına %0,09'luk serum fizyolojik intraperitoneal olarak uygulandı ve EEG  
650 kayıtlarına 3 saat daha devam edildi Takayama vd. (2008). WAG/Rij sıçanlarda Apelin-12  
651 uygulamasının öncesi ve sonrası kaydedilen kortikal EEG kayıtlarında, WAG/Rij sıçanlarda  
652 spontan olarak gözlenen, DDD'lerin sayısı ve süresi değerlendirildi.

653

### 654 **3.5. EEG Analizi**

#### 655 **3.5.1. Absans aktivitesinin tesbiti**



656 Uyanık hayvanlardan kaydedilen 1kHz örnekleme hızındaki dijital EEG verileri üzerinden elle  
657 tesbit yöntemi ile spontan olarak oluşan DDD ile kendini gösteren absans aktivite bölgeleri  
658 seçildi (Resim 2).

659

660 Resim 2. LabChart 7.0 yazılımında yapılan analizlerden ss (seizure start) ve bitişte de se  
661 (seizure end) yorumları ile işaretlenen bir ekran görüntüsü YER SORUNU NEDENİYLE EK  
662 DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.

### 663 3.5.2. EEG Verilerinin Okunması

664 Analiz için yazılımın işaretleme işlevi kullanılarak tanımlanabilen tüm epileptiform aktivite  
665 bölgeleri başlangıç noktasında ss ve bitişte de se yorumları ile işaretlendi. İşaretlenen nöbet  
666 bölgelerinde otomatik diken sayımının yapılması için LabChart programının parametre  
667 ayarları yapıldı (Resim 3). Bireysel kayıtlardaki bazı küçük farklılıklara bağlı olarak farklı  
668 deneklerde bu tespit parametrelerinde ayarlamalar da yapılmıştır.

669

670 Resim 3. Analiz ekranı YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
671 YÜKLENDİ.

672 Sonrasında, LabChart yazılımının macro komutları (Resim 4) ile işaretlenen tüm aktivite  
673 bölgeleri, ss-se arasında seçildi ve aşağıdaki parametreler yazılıma otomatik olarak  
674 hesaplatıldı:

675 1. Comment text (yapılan enjeksiyon işlemlerine dair işaretlemeleri gösteren kayıt  
676 bilgileri)

677 2. Seçim süresi (seçilen başlangıç bitiş noktaları arasındaki süre; nöbet aktivitesinin  
678 süresi)

679 3. RMS (Nöbet aktivitesinin gücünü gösteren root mean square hesaplaması)

680 4. Ortalama diken sayısı (Event count)

681 5. Ortalama nöbet spektral gücü

682 6. Maksimum güç frekansı

683 7. Minimum güç frekansı



684 Resim 4. LabChart yazılımının otomatik seçme (Multiple add to datapad) işlevine yönelik bir  
685 ekran görüntüsü. YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ.

### 686 3.6. Transkardiyak Perfüzyon

687 Deneysel süreçlerin tüm hayvanlarda tamamlanmasının ardından, hayvanlara ketamin (120  
688 mg/kg, i.p.) ve ksilazin (15 mg/kg, i.p.) anestezisi uygulanmasını takiben +4°C' de  
689 soğutulmuş % 0,9' luk NaCl çözeltisi ile transkardiyak perfüze edildi. Perfüzyon hızı 20  
690 ml/dak ve kullanılan çözelti miktarı 150 ml'dir.

691 Tüm sıçanlardan genel anestezi altında intrakardiyak yolla alınan kan örnekleri jelli serum  
692 ayırma tüplerine konulup santrifüj (1200rpm, +40°C, 10 dk) edildi. Elde edilen serum  
693 örnekleri, ölçüm zamanına kadar -80°C'de saklandı.

694 Kan alımını takiben giyotin aracılığıyla hayvanlar dekapite edildi. Kemik makası yardımıyla  
695 beyin dokusu çıkarıldı ve kuru buz üzerinde beyin bölgelerinin disseksiyonu gerçekleştirildi.  
696 Tüm beyinden izole edilen bölgeler etiketlenerek ependroflara konuldu ve moleküler  
697 çalışmalar başlayıncaya kadar -80°C'de bekletildi.

698 Beyin dokuları epileptik süreçte önemli olan kortikotalamik döngünün ayrı ayrı  
699 değerlendirilebilmesi açısından korteks ve talamus bölgelerine ayrıldı.

700 Beyin dokusunda apoptozisin değerlendirilmesi caspase-3 aktivitesi ve sitokrom C ölçümüyle  
701 yapıldı.

702 Beyin dokusunda NFkB protein düzeylerinin belirlenmesi Western blot yöntemi ile yapıldı.

### 703 3.7. Biyokimyasal/ELISA Ölçümler

704 Doku protein düzeyi Bradford yöntemi ile ölçüldü; 100 µg protein içeren doku örneği, kaspaz-  
705 3 düzeyi için değerlendirildi. Deney sonunda doku örnekleri assay ile lizize uğrattıldı (50 mM  
706 HEPES, pH 7.4, 100 mM NaCl, % 0.1 CHAPS, 10 mM DTT, 2 mM EDTA, 2 mM EGTA,  
707 %0.1Triton X-100). Kaspaz-3 florimetrik ölçüm kiti asetil Asp-Glu-Val-Asp 7-amido-4-  
708 metilkumarinin (Ac-DEVD-AMC) Kaspaz-3 ile hidrolize olmasına dayanmaktadır. AMC nin  
709 ekzitasyon emisyon dalga boyları 360 nm ve 460 nm dir. AMC nin farklı konsantrasyonlarının  
710 değerlendirilmesiyle elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak ortama salınan AMC miktarı  
711 ölçülerek kaspaz-3 düzeyi belirlendi.

712

713 **3.7.1 ELISA Çalışmaları**

714 ELISA çalışmaları üretici firmaların önerileri doğrultusunda ölçüm prosedürlerine uygun  
715 olarak gerçekleştirilmiştir. Örneklerdeki miktar tayini kit içeriğinde verilen standartlar  
716 kullanılarak hesaplanmıştır.

717 **3.8. Western Blot Uygulamaları**

718 Total ve fosforile p38/MAPK, NF-kb protein düzeyleri hücre lizatlarında gradient sodyum  
719 dodesil sülfat (SDS) page kullanılarak değerlendirildi. İnternal kontrol olarak beta aktin  
720 kullanıldı. Yöntem semi-dry uygulandı. NF-kb değerlendirmeleri için hücrenin nükleer  
721 sitozolik fraksiyonları ayrıştırıldı her iki bölgede NFkB ayrı ayrı değerlendirildi. Deney  
722 sonunda hücreler toplanarak ultrasantrifüj ile sitoplazmik ve nükleer proteinler elde edildi.  
723 Hücreler buzda hipotonik tamponda (% 0.5 nonidet NP-40 içeren 10 mM Hepes, 20 mM KCl,  
724 1 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8.0, with 1 mM dithiothreitol (DTT), 1 mM PMSF, 1 mM 1,10-  
725 phenanthroline 100 uM leupeptin) homojenize edildi. Buzda 20 dk bekletildikten sonra 3000  
726 g de 15 dk 4°C de nükleer pellet elde etmek üzere santrifüj edildi. Süpernatant (sitoplazmik  
727 fraksiyon) değerlendirme yapılarına kadar -80°C de saklandı. Nükleer pellet hipotonik buffer  
728 ile yıkandı, sonra yüksek tuzlu buffer ile (20 mM Hepes, 400 mM NaCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8.0,  
729 0.5 mM DTT, 1 mM PMSF, 1 mM 1,10-phenanthroline ve 100 uM leupeptin, % 0.1 nonidet  
730 NP) de yıkandı. Her örneğin vorteklenmesini takiben buzda 30 dk bekletildikten sonra 15000  
731 g de 30 dk +4°C de çevrilecek süpernatant nükleer kısım olarak kullanıldı ve deney  
732 prosedüründe kullanılmak üzere -80°C de saklandı. NFkB proteinlerinin p65 fragmentine  
733 karşı antikolar kullanılarak sitoplazmik ve nükleer NFkB protein düzeyleri oranlanarak  
734 değerlendirildi.

735



736 Gradient jel hazırlamak için:

737 RESOLVING JEL (2 GELS)

	%5	%20
Acrylamide (%30)	0.84 ml	3.3 ml
Tris 1.5 M pH 8.8	1.25 ml	1.25 ml
% 10 SDS	0.05 ml	0.05 ml
dH <sub>2</sub> O	2.85 ml	Yok
APS (% 10)	45 ul	10 ul
TEMED	1.7 ul	1.7 ul
Sükroz		5

---

738

739 STACKING JEL

Acrylamide (%30)	1.34 ml
Tris 1.5 M pH 8.8	1.25 ml
% 10 SDS	0.05 ml
dH <sub>2</sub> O	7.3 ml
APS (% 10)	0.04 ml
TEMED	0.1 ml

---

740

741

### 742 3.8.1 Örneklerin Hazırlanması

743 12 µl örnek denaturasyon karışımı (Sample Buffer + β mercaptoethanol) üzerine 12 µl  
744 örnek ilave edilerek ve 96°C derecede 5 dk kaynatıldı. Markerden 12 µl ( 2 jel için) alınarak  
745 bir ependorf tüpe aktarılarak 96°C derecede 1dk kaynatıldı. Kuyucuklara örneklerden 15 µl  
746 (7.5 µl sample+7.5 µl SB) markerden 5 µl şırınga yardımıyla yüklendi. Jel başına yaklaşık  
747 olarak 20 mA akım ve voltaj da 200 V'yi geçmeyecek şekilde ayarlanarak bantlar sistemin en  
748 alt kısmına gelinceye kadar çalıştırıldı.

### 749 3.8.2 Jelden membrana antijenlerin transferi:

750 Hazırlanmış bu transfer solüsyonu temiz ve geniş bir cam kaba aktarıldı. 9x9 ebatlarında  
751 kesilmiş olan 8 tane filtre kağıdı ve fiske edilmiş PVDF membran bu solüsyonun içinde  
752 bekletildi (5-10 dk). Elektroforez işleminin tamamlanmasından sonra jelin üzerinde yer alan  
753 stacking jel ve altında bulunan agaroz jel kesilerek uzaklaştırıldı. Jelin üzerine iki tane  
754 ıslatılmış filtre kağıdı yerleştirildi. Birden fazla jel kullanıldığında transfer sırasında  
755 proteinlerin membranlar arasında geçişini önlemek için araya bir sefalon kağıdı konarak  
756 işlemler aynı sırayla tekrarlandı. Transferin tamamlanmasından sonra akım kesildi. Katot  
757 plakası kaldırıldı. Transfer membranı çıkarılarak Western Blotting aşamasına geçildi.

### 758 3.8.3. Western Blotting:

759 Membran Blocking Buffer ile (PBS+%3 BSA) (for preventing non-specific binding ) oda  
760 sıcaklığında gece boyunca çalkalayıcıda inkübe edildi. PBS-Tween ile 2x5 dk yıkandı. 1°  
761 antibody (rabbit serum) 1:1000 oranında ( 40 µl rabbit serum: 40 ml) ve 1:2000 oranında (20  
762 µl: 40 ml) uygun antijen (protokole göre dilusyonda) % 1'lik PBS 'li BSA (100 ml +1 gr BSA)  
763 içerisine ilave edildi ve membranlar çalkalayıcıda 2 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. PBS -  
764 Tween ile 3 X 10 dk yıkandı. Antikor (goat anti-rabbit serum, HRP işaretli) 1:2000 oranında  
765 (20 µl: 40 ml) % 1'lik PBS 'li BSA (100 ml +1 gr BSA) içerisine ilave edildi. Membranlar  
766 çalkalayıcıda 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. 3,3'-diaminobenzidine (DAB) substratı ile  
767 enzim substrat reaksiyonu geliştirilerek ve renk değişimi gözlemlendi.

### 768 3.9. İmmünohistokimyasal İncelemeler

769 Doku Apelin-12 düzeyleri hakkında bilgi edinmek üzere WAG/Rij sıçanlardan tüm beyin  
770 dokusu alınarak kortikal ve talamik bölgede Apelin-12 ekspresyon değerlendirmeleri  
771 immunhistokimyasal olarak yapılmıştır.

772

### 773 3.9.1. Dokuların Hazırlanması

774 Beyin dokuları %10 fosfat tamponlu formalin ile 96 saat tespit edildi. Rutin takip aşamaları  
775 sonrası elde edilen parafin bloklardan 4 µm kalınlığında alınan kesitler polilizin kaplı lamalar  
776 üzerine alındı. Gece boyunca 60°C'lik etüvde ksilen ile deparafinize edilen kesitler dereceli  
777 alkol serilerinden geçirilerek hidrate edildi. Tripsin ile antijenik maskelenmenin  
778 engellenmesini takiben PBS (phosphate buffered saline) ile yıkandı. Endojen peroksidaz  
779 aktivitesinin önlenmesi için %0.3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 15 dakika işlem gören dokular PBS ile yıkanarak 1  
780 saat, 37°C'de bloking solüsyon (goat serum) ile inkübe edildi. Primer antikor (primary rabbit  
781 anti-Apelin ( 1:100, ab59469, ABCAM) ) ile 4°C de gece boyunca inkübasyon sonrası  
782 dokular oda ısısında 1 saat sekonder antikor ile (goat anti-rabbit IgG) inkübe edildi. Negatif  
783 kontrol olarak primer antikor yerine PBS sıvısı kullanıldı. Kesitler 30 dakika avidin-biotin  
784 kompleks (ABC) ile inkübe edildikten sonra PBS ile yıkandı ve kromojen olarak kesitlerin  
785 üzerine DAB solüsyonu damlatılarak 5 dakika beklendi. Harris Hematoksilen ile ters boyama  
786 yapılarak kesitler dehidrate edildi entellan ile kapatıldı.

787 Her bir kesit için ışık mikroskobu ile (Carl Zeiss Axio-A1, Germany) ile x40 büyütmede 4  
788 farklı alandan elde edilen fotoğraflar immunpozitiflik açısından semikantitatif olarak  
789 değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu 0 (yok), 1 (zayıf), 2 (orta) ve 3 (yoğun) olarak belirlendi.  
790 Boyanan yüzey ve hücrelerin yüzdesi (Pi) %0-100 arasında değerlendirildi. İmmünboyanma,  
791 Şentürk vd. (1999)'nın çalışmasından uyarlanan H-SCORE histolojik skorlama sistemi ile H-  
792 SCORE=Σ Pi (i + 1) denklemine göre hesaplandı. 1 optik yoğunluğun düzeltilmesi için  
793 kullanıldı.

### 794 3.10. İstatiksel analiz:

795 Veriler SPSS 17.0 (SPSS Ver. 17.0 Chicago IL, USA) paket programı ile değerlendirildi.  
796 Grupların betimsel analizleri (ortalama, standart sapma, çeyrekler arasındaki fark)  
797 hesaplandı. Elde edilen sonuçlarının normal dağılıma uyumu (%95 güven aralığında)  
798 Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. p>0.05 normal dağılım olarak kabul edildi. Gruplar  
799 arasındaki istatistiksel farklılık One-Way ANOVA ile saptandı. p<0.05 anlamlı farklılık olarak  
800 kabul edildi. İstatistiksel değerlendirmelerde kullanılan grafiklerde Excel 2010 (Microsoft  
801 Windows, USA) programından yararlanıldı.

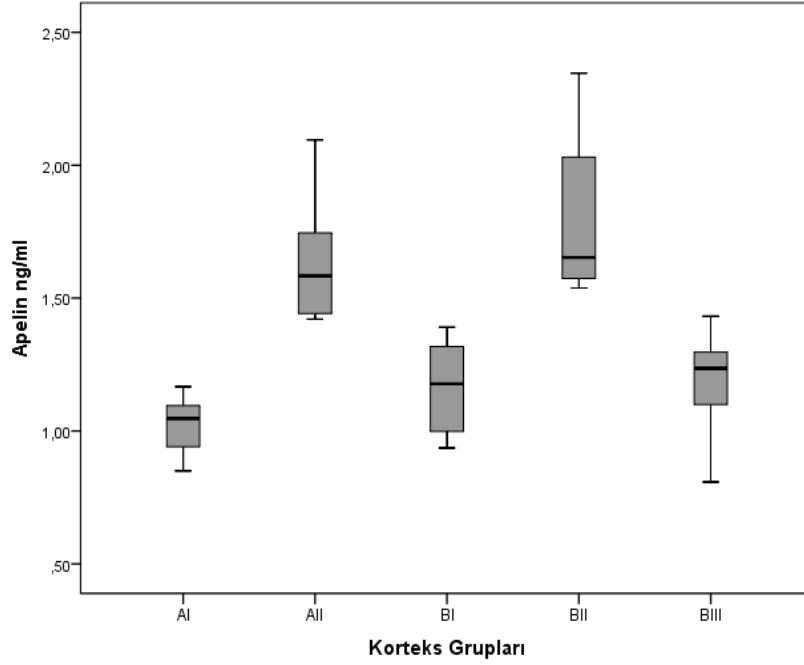


## 802 4. BULGULAR

### 803 4.1. Tüm Deney Gruplarındaki Biyokimyasal/ELISA Sonuçlarının Betimsel Analiz 804 Sonuçları

#### 805 4.1.1. Korteksdeki Betimsel Analizler

##### 806 4.1.1.1. Apelin-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi



807

808

Şekil 1. Korteksdeki Apelin-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

809

Tablo 1. Korteksdeki Apelin-12 düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hatası	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	1,022	0,038	0,109	0,19	0,471	AII, BII
AII	1,632	0,081	0,229	0,31	0,149	AI, BI, BIII
BI	1,164	0,064	0,184	0,36	0,217	AII, BII
BII	1,799	0,116	0,331	0,59	0,007	AI, BI, BIII
BIII	1,188	0,067	0,191	0,22	0,471	AII, BII

810

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

811

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05)

812

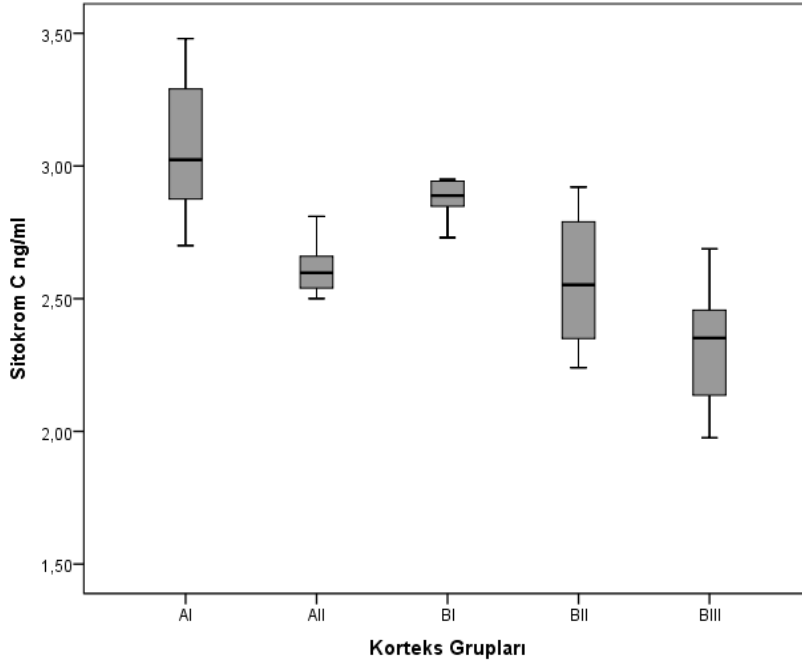
813

814

Korteks dokusu ile yapılan ELISA çalışmalarında en yüksek Apelin 12 düzeyi BII grubunda saptandı. Yapılan istatistiksel analizlerde tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p<0,001).

816

817 **4.1.1.2. Sitokrom C Düzeylerinin Değerlendirilmesi**  
818



819

820 Şekil 2. Korteksdeki Sitokrom C verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

821 Tablo 2. Korteksdeki Sitokrom C düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hatası	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	3,069	0,097	0,275	0,52	0,627	AII, BII, BIII
AII	2,588	0,051	0,146	0,16	0,584	AI
BI	2,902	0,041	0,116	0,11	0,402	BIII
BII	2,568	0,090	0,255	0,48	0,499	AI
BIII	2,319	0,081	0,231	0,34	0,881	AI, BI

822

823 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

824 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
825 saptanan gruplar (p<0,05)

826 Korteks dokusu ile yapılan ELISA çalışmalarında en yüksek Sitokrom C düzeyine AI

827 grubunda rastlandı. En düşük Sitokrom C ortalamasına da BIII grubu sahipti. Tüm gruplar

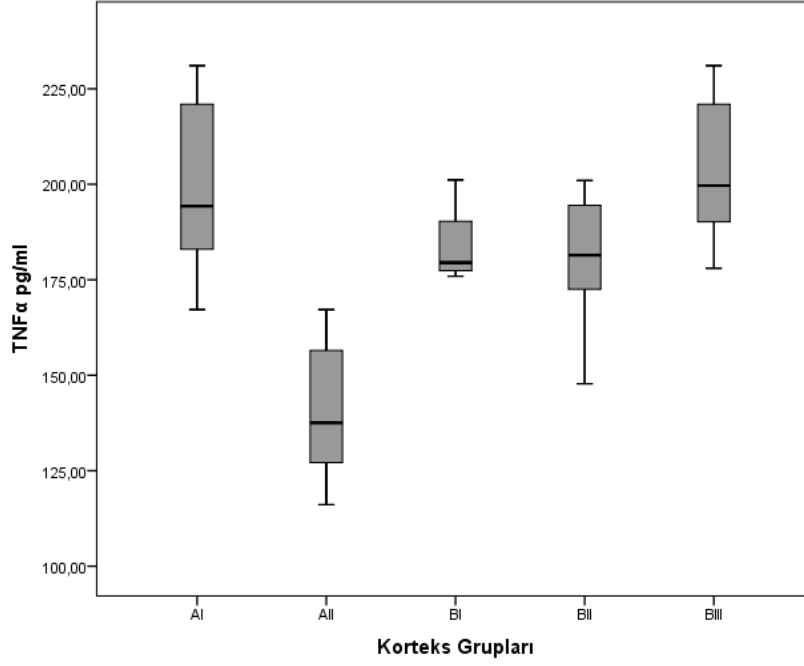
828 arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,044). Korteks grupları arasında yer alan

829 AI'in AII, BII ve BIII gruplarından anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği tespit edildi. Bu durum

830 tablo 2 de p\*\* sütununda gösterildi.

831

832 **4.1.1.3. TNF $\alpha$  Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



833

834 Şekil 3. Korteksdeki TNF $\alpha$  verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

835 Tablo 3. Korteksdeki TNF  $\alpha$  düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart Hatası	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	199,33	8,04	22,74	40,97	0,627	All
AII	140,71	6,11	18,47	34,33	0,396	AI, BI, BII, BIII
BI	183,71	3,51	9,93	17,06	0,010	All
BII	180,91	6,13	17,35	25,89	0,614	AII, BIII
BIII	203,83	6,61	18,67	32,39	0,692	All

836

837 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

838 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
839 saptanan gruplar (p<0,05)

840

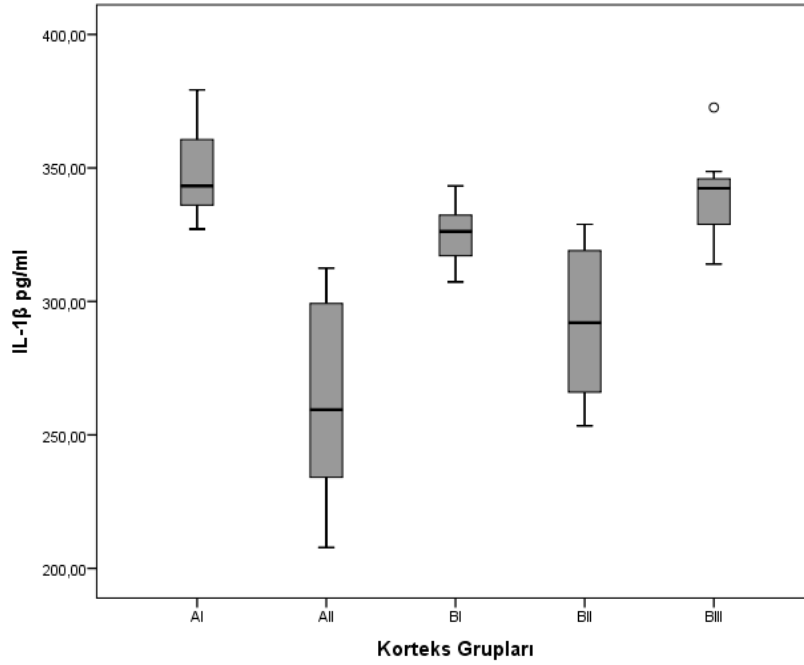
841 Korteks dokusu ile yapılan ELISA çalışmalarında en yüksek TNF $\alpha$  düzeyine BIII grubundaki  
842 örneklerle yapılan çalışmalarda rastlandı. Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık  
843 bulundu (p<0,001). En düşük TNF $\alpha$  seviyesi kontrol grubu olan AII'de saptandı. Bu grubun  
844 tüm gruplar ile istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği saptandı.

845

#### 846 4.1.1.4 IL-1 $\alpha$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi

847 Korteks dokusunda IL-1 $\alpha$  düzeylerinin belirlenmesi için ELISA çalışmaları iki kez  
848 tekrarlanmasına rağmen sonuç elde edilemedi. Çalışmanın geneli açısından bir olumsuzluk  
849 söz konusu olmamakla birlikte olayın kullanılan ekipman kaynaklı olduğu anlaşılıp sonraki  
850 çalışmalarda bu olumsuzluğun yaşanmaması için gerekli önlemler alındı.

#### 851 4.1.1.5. IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi



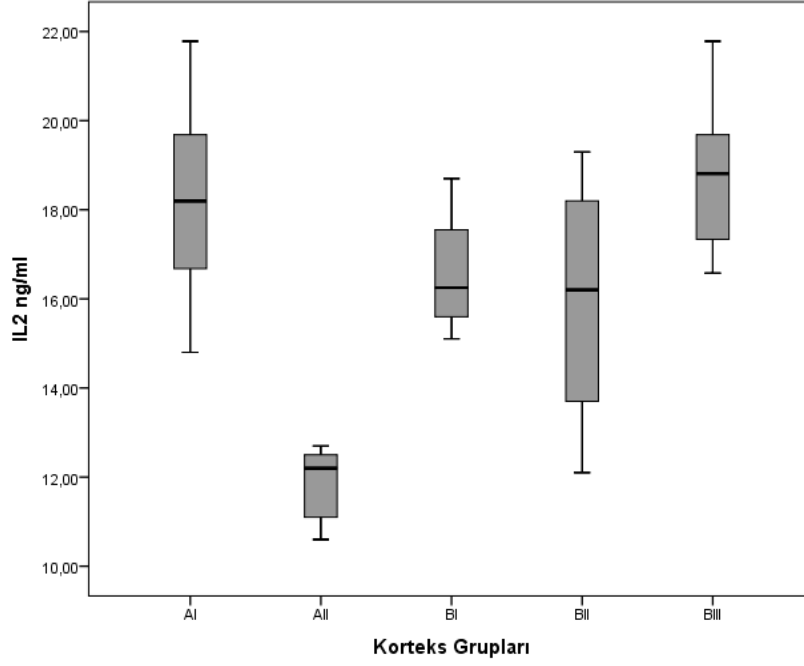
852 Şekil 4. Korteksdeki IL-1 $\beta$  verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.  
853

854 Tablo 4. Korteksdeki IL-1 $\beta$  düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart Hatası	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	348,29	6,55	18,53	33,27	0,197	AII, BII
AII	263,23	13,43	37,99	71,96	0,940	AI, BI,BIII
BI	325,22	4,03	11,41	17,77	0,997	AII
BII	292,04	10,81	30,57	61,56	0,206	AI, BIII
BIII	340,13	6,11	17,29	19,32	0,718	AII, BII

855 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).  
856 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
857 saptanan gruplar (p<0,05).  
858 **Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulundu (p=0,012). En yüksek IL-1 $\beta$**   
859 **düzeyi AI korteks grubunda saptandı.**  
860

861 **4.1.1.6. IL-2 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



862

863 Şekil 5. Korteksdeki IL-2 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

864 Tablo 5. Korteksdeki IL-2 düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grubu	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hata	Standart Sapma	Çeyrekler arasındaki fark	P*	P**
AI	18,21	0,78	2,19	3,15	0,995	AII
AII	11,86	0,29	0,81	1,51	0,145	AI, BI, BII, BIII
BI	16,58	0,49	1,41	2,78	0,153	AII
BII	16,05	0,99	2,81	5,85	0,257	AII, BIII
BIII	18,75	0,61	1,71	2,72	0,816	AII, BII

865

866 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

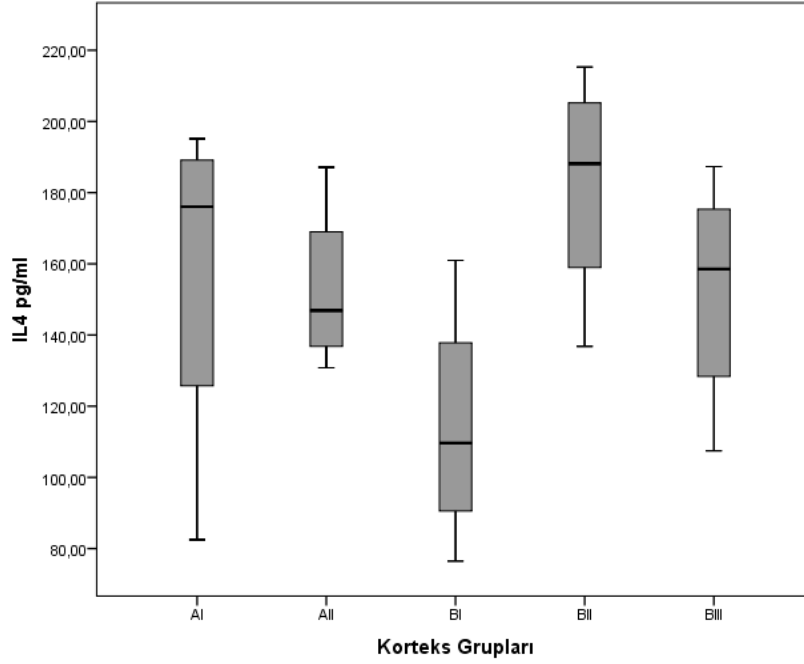
867 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
868 saptanan gruplar ( $p < 0,05$ ).

869 Korteks dokusu ile yapılan ELISA çalışmalarında en yüksek IL-2 düzeyine BIII grubundaki  
870 örneklerle yapılan çalışmalarda rastlandı. En düşük IL-2 düzeyine de AII grubunda saptandı.  
871 Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulundu ( $p = 0,006$ ). AII korteks grubunda  
872 saptanan IL-2 düzeyi tüm gruplarla anlamlı istatistiksel farklılık gösterdi.

873

874 **4.1.1.7. IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

875



876

877 Şekil 6. Korteksdeki IL-4 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

878 Tablo 6. Korteksdeki IL-4 düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	157,43	16,72	47,04	88,03	0,205	-
AII	152,91	7,93	22,45	44,26	0,096	-
BI	114,18	11,51	32,52	65,89	0,145	BII
BII	182,08	10,89	30,81	62,37	0,117	BI
BIII	152,49	10,13	28,59	52,76	0,668	-

879 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

880 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

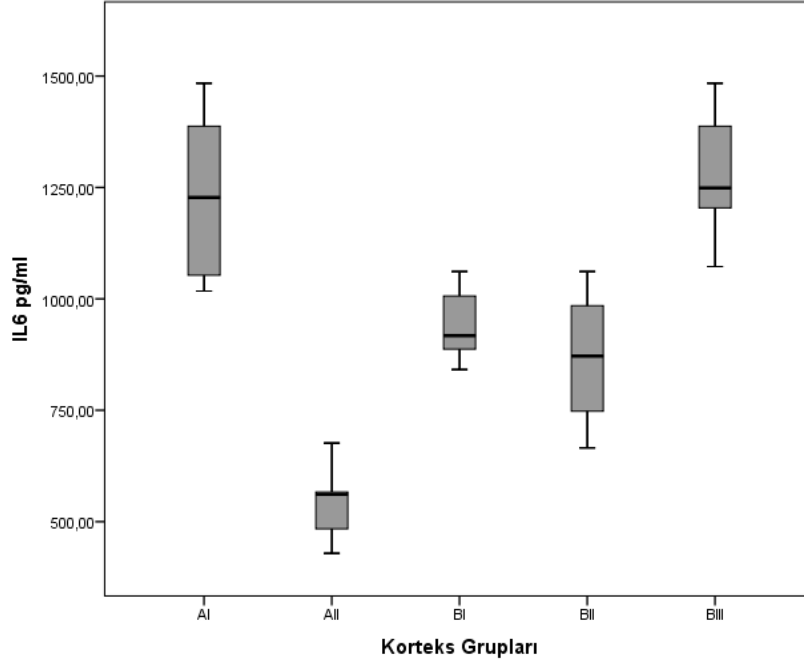
882 Korteks dokusu ile yapılan ELISA çalışmalarında en yüksek IL-4 düzeyine BII grubundaki örneklerle yapılan çalışmalarda rastlandı. En düşük IL-4 düzeyine de BI grubunda saptandı.

884 Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,017). BI ve BII grupları

885 arasında p<0,05 düzeyinde anlamlı istatistiksel farklılık saptandı.

886

887 **4.1.1.8. IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



888

889 Şekil 7. Korteksdeki IL-6 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

890 Tablo 7. Korteksdeki IL-6 düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	1229,59	63,68	180,13	359,43	0,449	AI, BI, BII
AII	541,06	28,52	80,66	110,31	0,123	AI, BI, BIII
BI	940,63	27,14	76,77	137,23	0,647	AI, AII, BIII
BII	866,93	52,39	148,19	299,75	0,472	AI, AII, BIII
BIII	1278,66	47,01	132,98	205,20	0,915	AII, BI, BII

891 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

892 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

894 **IL-6 düzeyleri için yapılan çalışmalarda en yüksek düzey BIII grubunda saptandı.**

895 **Sağlıklı hayvanlarda (AII) ise en düşük IL-6 düzeyi saptandı. Tüm gruplar arasında**

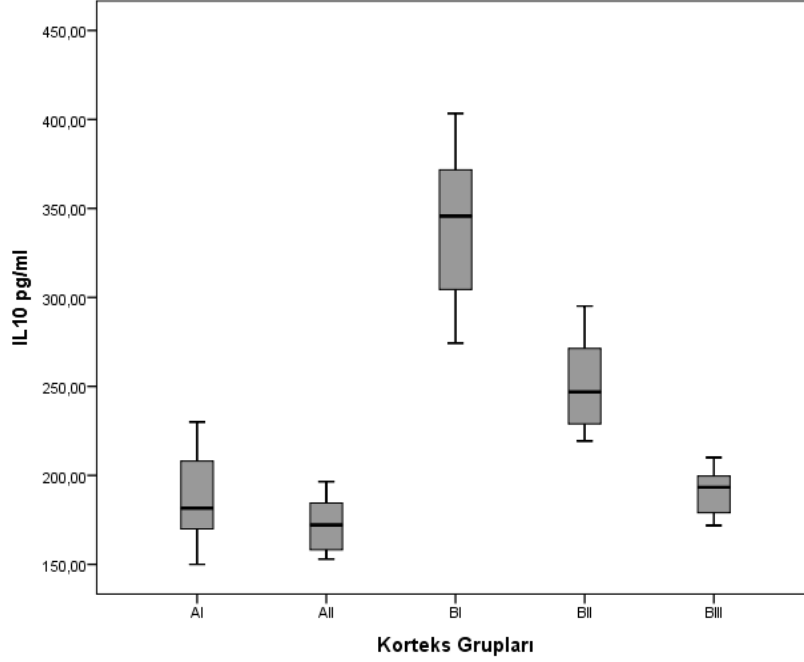
896 **anlamlı istatistiksel farklılık bulundu (p<0,001). BIII ve AI gruplarının verileri birbirine**

897 **yakın saptandı. Diğer gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde**

898 **farklılık gösterdi.**

899 **4.1.1.9. IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

900



901

902

Şekil 8. Korteksdeki IL-10 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

903

Tablo 8. Korteksdeki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	187,38	9,93	26,37	42,98	0,626	BI, BII
AII	172,40	5,96	16,87	34,88	0,158	BI, BII
BI	345,46	12,87	36,41	55,21	0,789	AI, AII, BII, BIII
BII	251,09	9,43	26,69	46,28	0,732	AI, AII, BI, BIII
BIII	190,72	4,78	13,52	25,05	0,466	BII, BIII

904

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

905

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

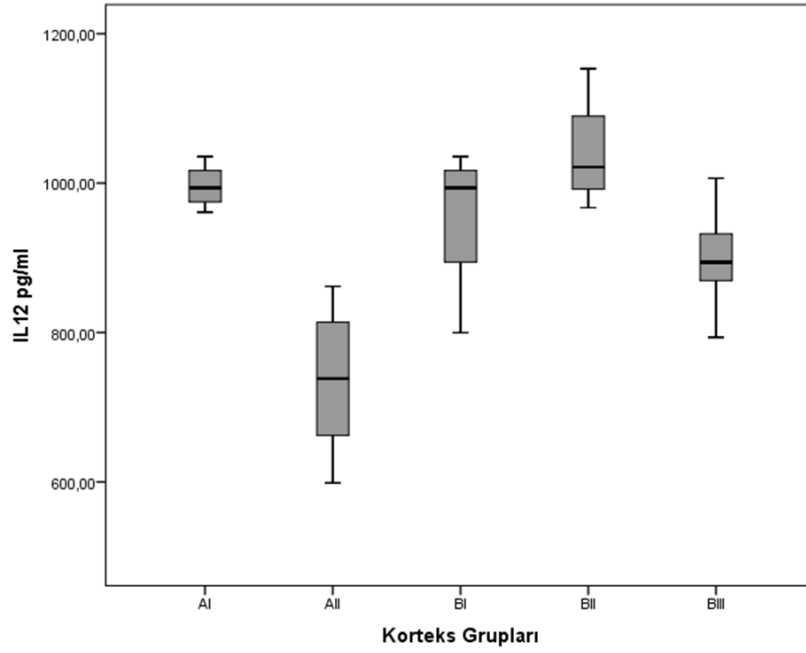
906

IL-10 düzeyleri için yapılan çalışmalarda en yüksek düzey BI grubunda saptandı. Sağlıklı hayvanlarda (AII) ise en düşük IL-10 düzeyi saptandı. Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık vardı (p<0,001). BI ve BII grupları IL-10 düzeyi bakımından hep birbirleri ile hem de diğer gruplar ile anlamlı istatistiksel farklılık gösterdi. Bu durum p\*\* sütununda ifade edildi.

912



913 **4.1.1.10. IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



914

915 Şekil 9. Korteksdeki IL-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

916 Tablo 9. Korteksdeki IL-12 düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	995,87	10,95	28,45	58,13	0,199	All
AII	736,13	32,36	91,53	162,29	0,893	AI, BII
BI	955,57	32,22	91,13	165,08	0,027	-
BII	979,46	25,91	73,38	142,83	0,128	All
BIII	898,96	22,05	62,37	73,78	0,957	-

917

918 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

919

920

921 IL-12 için yapılan çalışmalarda en yüksek düzey AI grubunda saptandı. Sağlıklı hayvanlarda

922 (AII) ise en düşük IL-12 düzeyi saptandı. Ancak yapılan analizlerde sadece AII grubunun AI

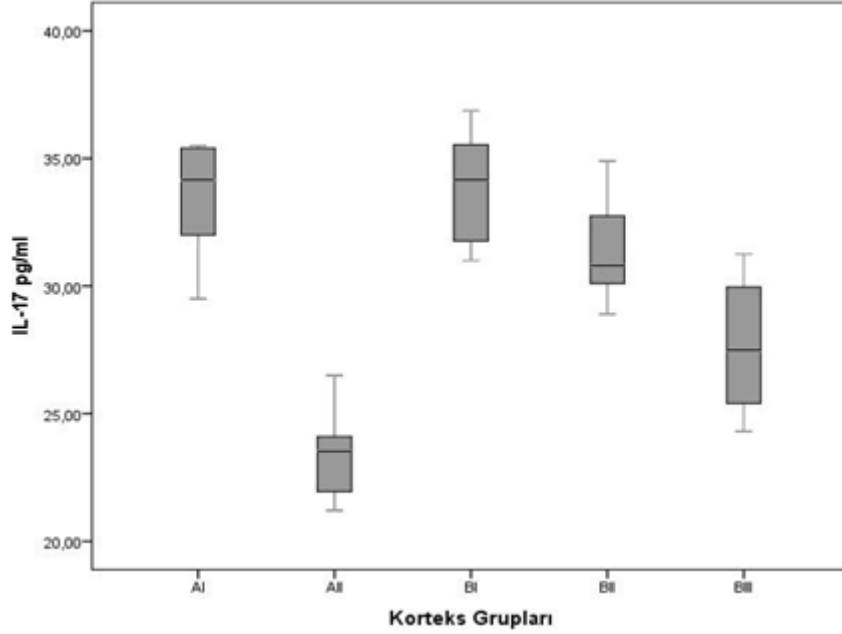
923 ve BII ile anlamlı istatistiksel farklılık gösterdiği saptandı (p<0,05).Korteks çalışma grupları

924 arasında yer alan BI, BII ve BIII arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

925

#### 926 4.1.1.11. IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

927



928

929 Şekil 10. Korteksdeki IL-17 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

930 Tablo 10. Korteksdeki IL-17 düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	33,51	0,78	2,25	3,67	0,090	All
AII	23,36	0,61	1,72	2,58	0,645	AI, BI, BII
BI	33,84	0,78	2,21	4,32	0,551	All,
BII	31,38	0,73	1,98	3,23	0,662	All
BIII	27,66	0,91	2,59	4,84	0,518	-

931

932 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

933 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
934 saptanan gruplar ( $p < 0,05$ ).

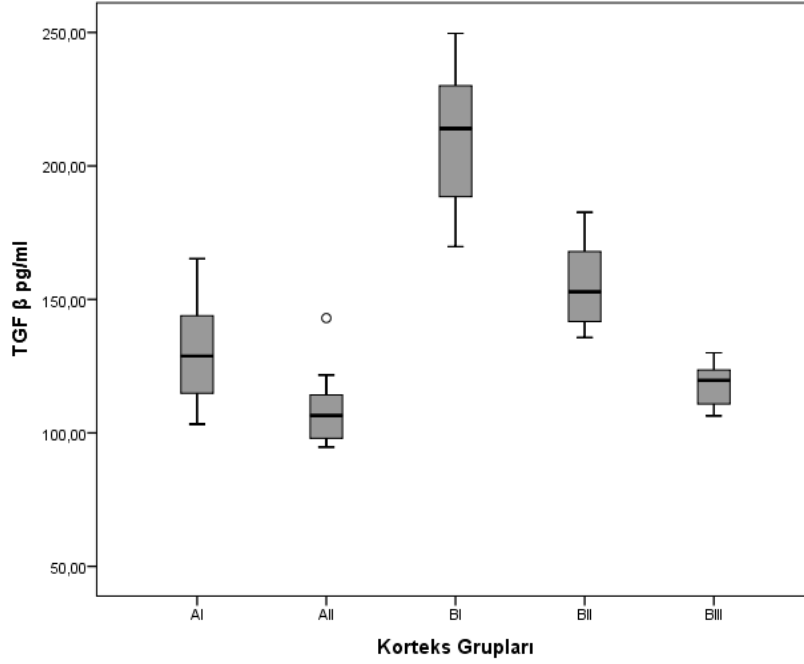
935 **IL-17 için yapılan çalışmalarda en yüksek düzey 33,84 pg/ml ile BI grubunda saptandı.**

936 **Sağlıklı hayvanlarda (AII) ise en düşük IL-17 düzeyi saptandı. Gruplar arasında anlamlı**

937 **istatistiksel farklılık bulundu ( $p < 0,036$ ).**

938 **4.1.1.12. TGF- $\beta$  Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

939



940

941 Şekil 11. Korteksdeki TGF- $\beta$  verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

942 Tablo 11. Korteksdeki TGF- $\beta$  düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	130,45	7,24	20,57	33,68	0,886	BI
AII	109,391	5,67	16,03	21,59	0,132	BI, BII
BI	210,57	9,53	26,96	45,31	0,892	AI, AII, BII, BIII
BII	155,42	5,81	16,52	28,65	0,687	AII, BI,
BIII	118,05	2,95	8,37	15,52	0,664	BI

943

944 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

945 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
946 saptanan gruplar (p<0,05).

947 TGF- $\beta$  için yapılan çalışmalarda en yüksek düzey 210,57 pg/ml ile BI grubunda saptandı.

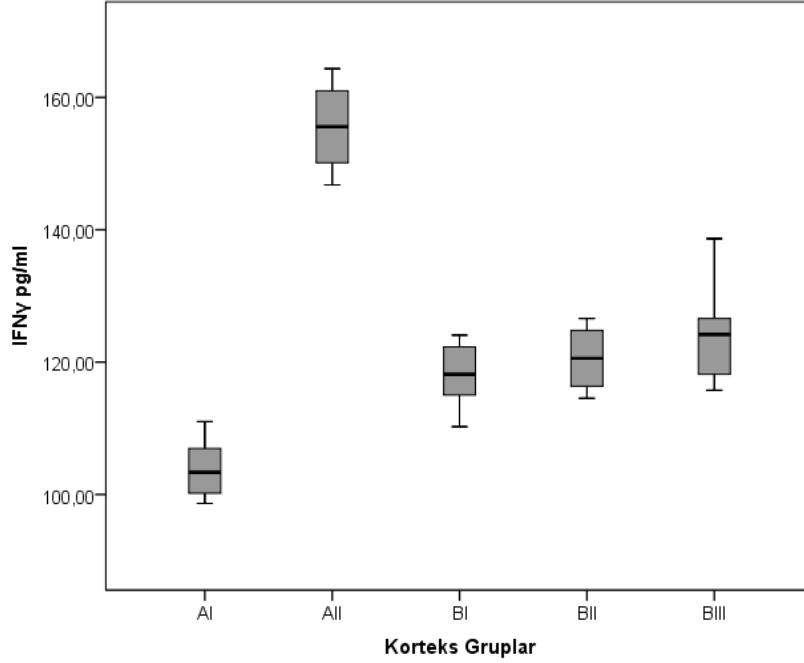
948 Sağlıklı hayvanlarda (AII) ise en düşük TGF- $\beta$  düzeyi saptandı. Tüm gruplar arasında

949 anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p<0,001). BI grubu TGF- $\beta$  düzeyi bakımından diğer

950 gruplar ile istatistiksel anlamlı olarak farklı bulundu.

951

952 **4.1.1.13. IFN $\gamma$  Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



953

954

Şekil 12. Korteksdeki IFN $\gamma$  verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

955

Tablo 12. Korteksdeki IFN $\gamma$  düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	103,83	3,93	11,18	19,02	0,502	AII
AII	155,56	5,78	16,35	29,92	0,458	AI
BI	118,16	6,48	18,32	36,26	0,221	-
BII	120,57	10,05	28,44	19,27	0,244	-
BIII	123,98	6,78	19,23	22,05	0,450	-

956

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

957

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

958

959

960

IFN $\gamma$  için yapılan ELISA çalışmalarında en yüksek düzey AII grubunda saptandı. En düşük

961

IFN $\gamma$  düzeyi de AI grubunda saptandı. Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık

962

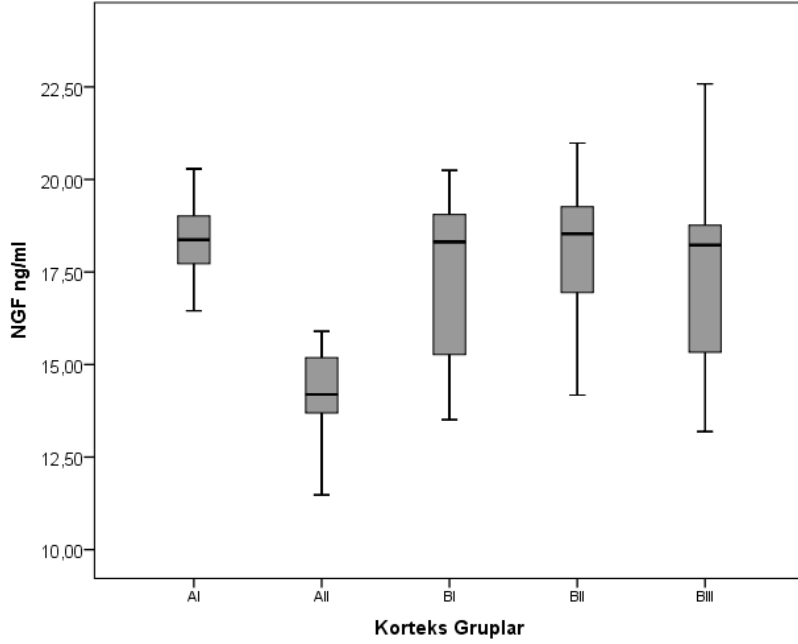
saptandı (p=0,031). Ancak IFN $\gamma$  düzeyleri bakımından çalışmaya değer katacak düzeyde

963

anlamlı farklılık saptanmadı.

964

965 **4.1.1.14. Nöronal büyüme faktörü (Nörogrowth faktör, NGF) Düzeylerinin**  
 966 **Değerlendirilmesi**



967

968 Şekil 13. Korteksdeki NGF verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği

969 Tablo 13. Korteksdeki NGF düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	18,37	0,41	1,15	1,96	0,085	AII
AII	14,19	0,38	1,12	1,89	0,368	AI
BI	17,38	0,29	0,98	1,39	0,101	-
BII	18,08	0,43	1,21	2,01	0,350	AII
BIII	17,87	0,55	1,56	3,19	0,429	-

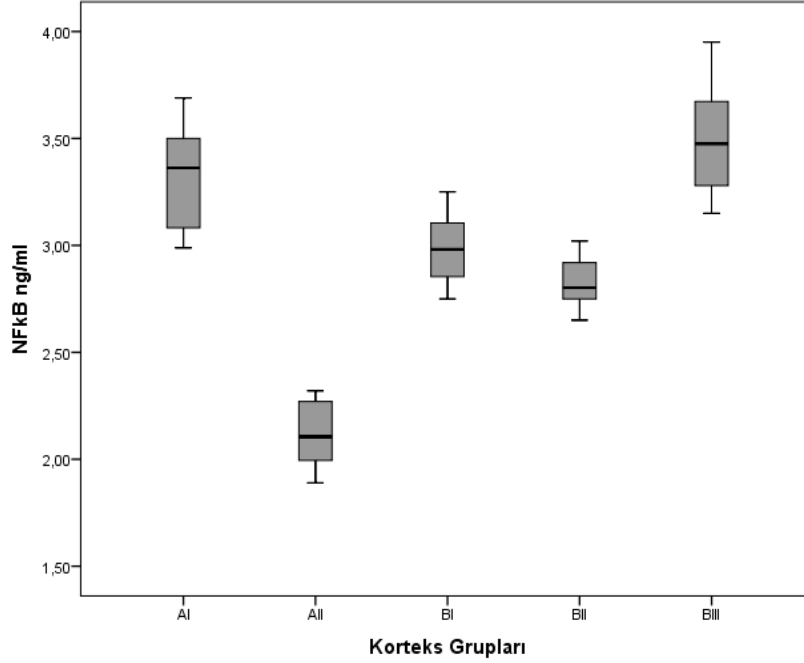
970 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

971 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
 972 saptanan gruplar (p<0,05)

973 NGF için yapılan ELISA çalışmalarında 18,37 ng/ml ile en yüksek düzey AI grubunda  
 974 saptandı. En düşük NGF düzeyi de 14,19 ng/ml ile AII grubunda saptandı. Tüm gruplar  
 975 arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,037). Elde edilen NGF düzeyleri  
 976 arasındaki farklılık çalışma gruplarına yansımadi.

977

978 **4.1.1.15. NFkB Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



979

980 Şekil 14. Korteksdeki NFkB verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

981 Tablo 14. Korteksdeki NFkB düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	3,32	0,09	0,25	0,50	0,566	AII
AII	2,11	0,06	0,15	0,31	0,644	AI BI,BII,BIII
BI	2,98	0,05	0,17	0,29	0,973	AII
BII	2,82	0,04	0,12	0,21	0,435	AII
BIII	3,49	0,09	0,26	0,47	0,908	AII

982

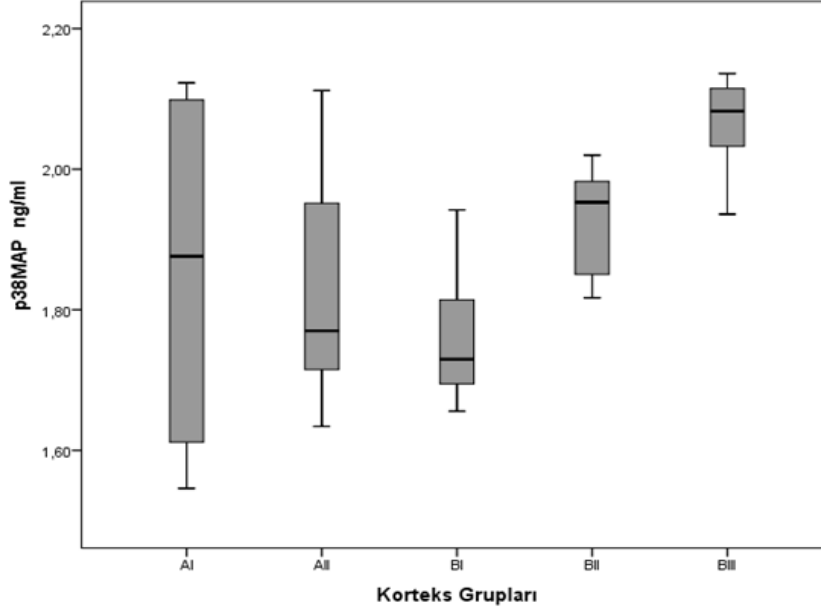
983 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

984 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
985 saptanan gruplar (p<0,05) .

986 NFkB için yapılan ELISA çalışmalarında 3,49 ng/ml ile en yüksek düzey BIII grubunda  
987 saptandı. En düşük NFkB düzeyi de 2,11 ng/ml ile AII grubunda saptandı. Yapılan  
988 analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p<0,001).

989

990 **4.1.1.16. p38/MAPK Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



991

992 Şekil 15. Korteksdeki p38/MAPK verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

993 Tablo 15. Korteksdeki p38/MAPK düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hata	Standart Sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	1,85	0,09	0,26	0,50	0,018	-
AII	1,82	0,06	0,17	0,25	0,534	-
BI	1,76	0,04	0,09	0,13	0,394	-
BII	1,92	0,03	0,08	0,15	0,256	-
BIII	2,07	0,02	0,07	0,09	0,374	-

994 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

995 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

997 Korteks doku örnekleri ile yapılan p38/MAPK ELISA çalışmalarında 2,07 ng/ml ile en yüksek

998 düzey BII grubunda saptandı. En düşük p38/MAPK düzeyi de 2,61 ng/ml ile BI grubunda

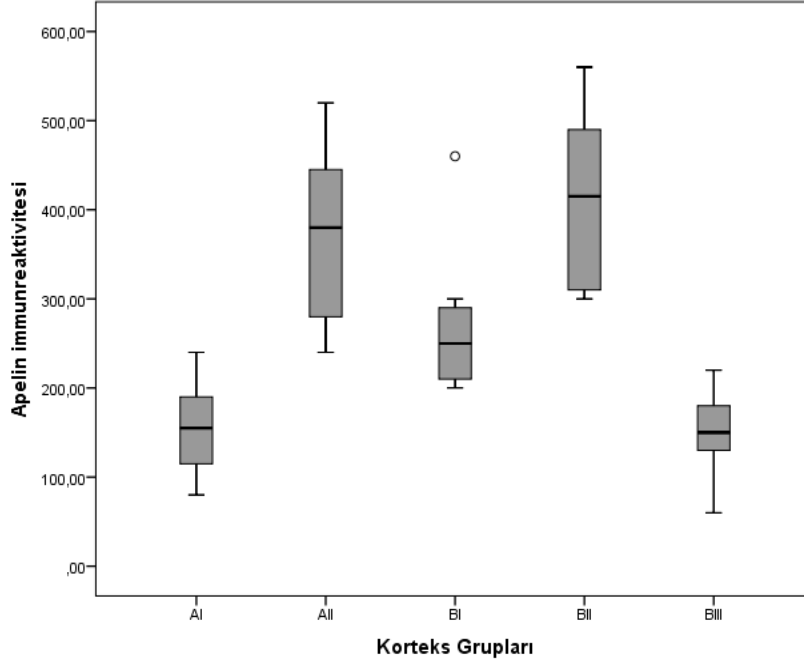
999 saptandı. Yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı

1000 (p=0,268). Elde edilen p38/MAPK sonuçları BI, BII ve BIII grupları açısından çalışmayı

1001 yansıtmayacak düzeye ulaşmadı.

1002

1003 **4.1.1.17. Apelin-12'nin İmmunohistokimyasal Analizi**



1004

1005 Şekil 16. Korteksdeki Apelin-12'nin immunohistokimyasal verilerinin tüm gruplara göre  
1006 dağılım grafiği.

1007 Tablo 16. Korteksdeki Apelin-12'nin immunohistokimyasal düzeylerinin betimsel analizleri

Korteks Grupları	Ortalama	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	155.01	18.91	53.51	71,59	0,001	AII BII
AII	371.32	35.52	100.21	125,10	0,001	AI BIII
BI	270.00	29.91	84.72	87.25	0,903	BII
BII	411.23	36.06	101.09	136,50	0,127	AI BI BIII
BIII	150,05	17.32	48.09	77,57	0,721	AII BII

1008 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1009 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
1010 saptanan gruplar (p<0,05).

1011

1012

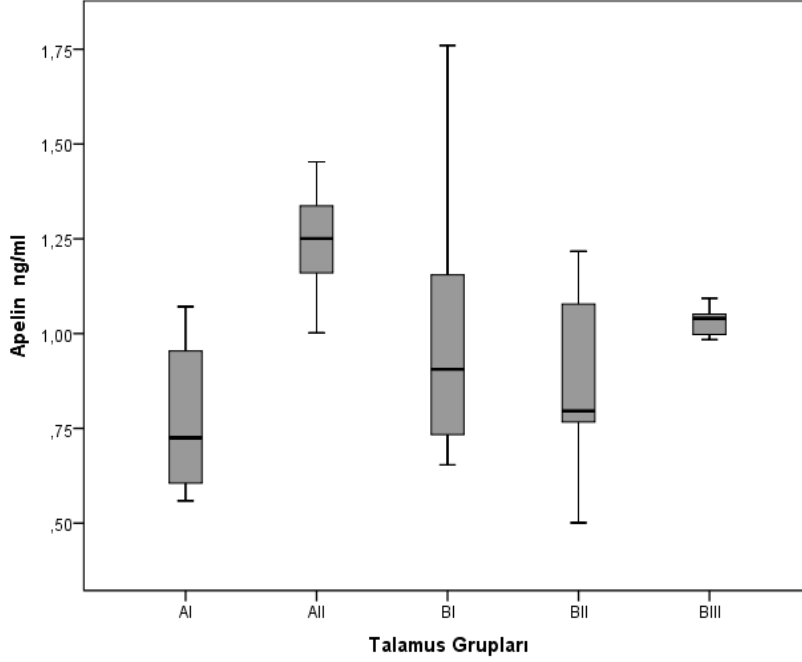
1013 Korteks doku örneklerinin Apelin bakımından immunohistokimyasal olarak  
1014 değerlendirilmesinde 411,23 ile en yüksek düzey BII grubunda saptandı. En düşük Apelin  
1015 düzeyi de 150,05 ile BIII grubunda saptandı. SPSS programı ile yapılan analizlerde gruplar  
1016 arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p<0,001).

1017



1018 **4.1.2. Talamusdaki Betimsel Analizler**

1019 **4.1.2.1. Apelin-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1020

1021 Şekil 17. Talamusdaki Apelin-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1022 Tablo 17. Talamusdaki Apelin-12 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hatası	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	0,779	0,071	0,198	0,35	0,181	All
AII	1,243	0,052	0,147	0,24	0,656	AI, BII
BI	1,003	0,127	0,361	0,46	0,133	-
BII	0,875	0,083	0,236	0,36	0,466	All
BIII	1,018	0,023	0,066	0,06	0,083	-

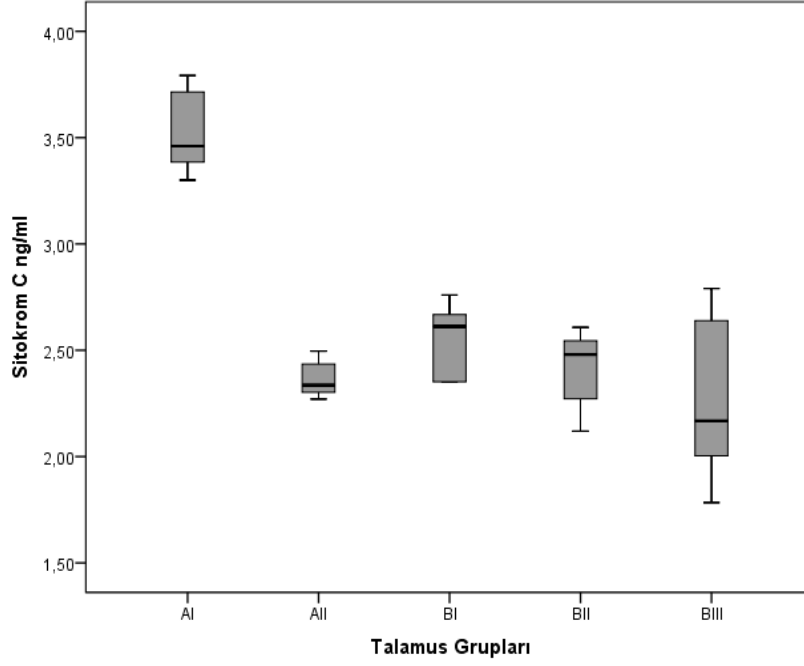
1023 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1024 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1025 Talamus doku örneklerinin Apelin-12 bakımından ELISA yöntemi ile değerlendirilmesi  
 1026 sonucunda 1,243 ng/ml ile en yüksek düzey AII grubunda saptandı. En düşük Apelin düzeyi  
 1027 de 0,779 ng/ml ile AI grubunda saptandı. SPSS programı ile yapılan analizlerde tüm gruplar  
 1028 arasında anlamlı istatistiksel farklılık vardı (p=0,003). Apelin-12 düzeyleri AI ve BII  
 1029 gruplarında en düşük düzeyde saptandı. Bu gruplar AII ile istatistiksel olarak anlamlı fark  
 1030 gösterdi.  
 1031

1032

1033 **4.1.2.2. Sitokrom C Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1034

1035 Şekil 18. Talamusdaki Sitokrom C verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1036 Tablo 18. Talamusdaki Sitokrom C düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hatası	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p*
AI	3,526	0,066	0,187	0,36	0,272	AII, BI; BII,BIII
AII	2,364	0,029	0,084	0,15	0,225	AI
BI	2,547	0,060	0,017	0,32	0,051	AI
BII	2,415	0,061	0,175	0,31	0,336	AI
BIII	2,274	0,133	0,377	0,74	0,316	AI

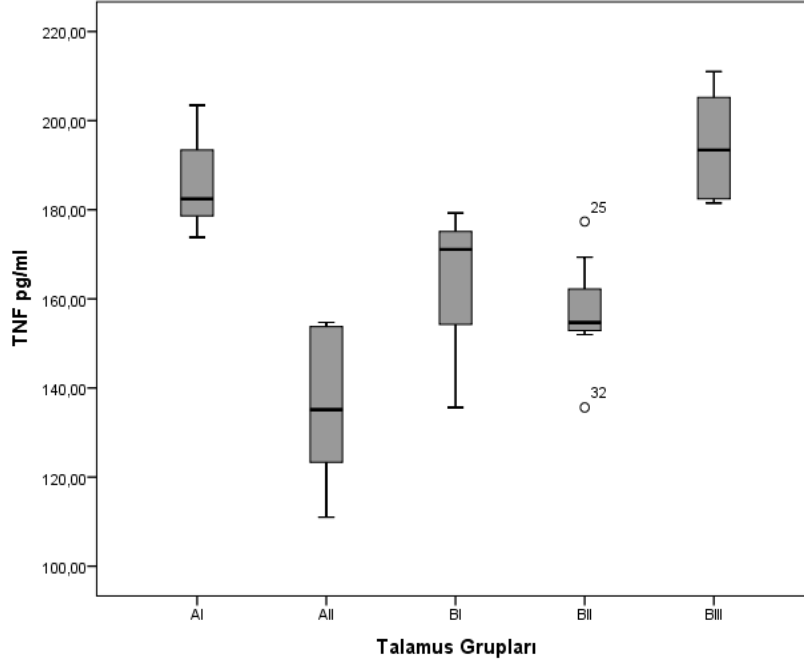
1037 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1038 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1040 Talamus dokularında Sitokrom C için yapılan ELISA çalışmalarında 3,526 ng/ml ile en yüksek düzey AI grubunda saptandı. En düşük Sitokrom C düzeyi de 2,274 ng/ml ile BIII grubunda saptandı. SPSS paket programı ile yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında p=0,005 düzeyinde anlamlı istatistiksel farklılık saptandı. AI grubu diğer gruplardan p<0,05 düzeyinde anlamlı istatistiksel farklılık gösterdi.

1045

1046 **4.1.2.3. TNF $\alpha$  Düzeyleri Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1047

1048 Şekil 19. Talamusdaki TNF $\alpha$  verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1049 Tablo 19. Talamusdaki TNF  $\alpha$  düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	185,77	3,88	10,98	20,29	0,088	AII
AII	136,27	6,25	17,67	36,11	0,196	AI, BIII
BI	164,46	5,33	15,07	22,22	0,949	-
BII	156,57	4,37	12,37	13,35	0,207	BIII
BIII	194,32	4,46	12,55	23,68	0,245	AII, BII

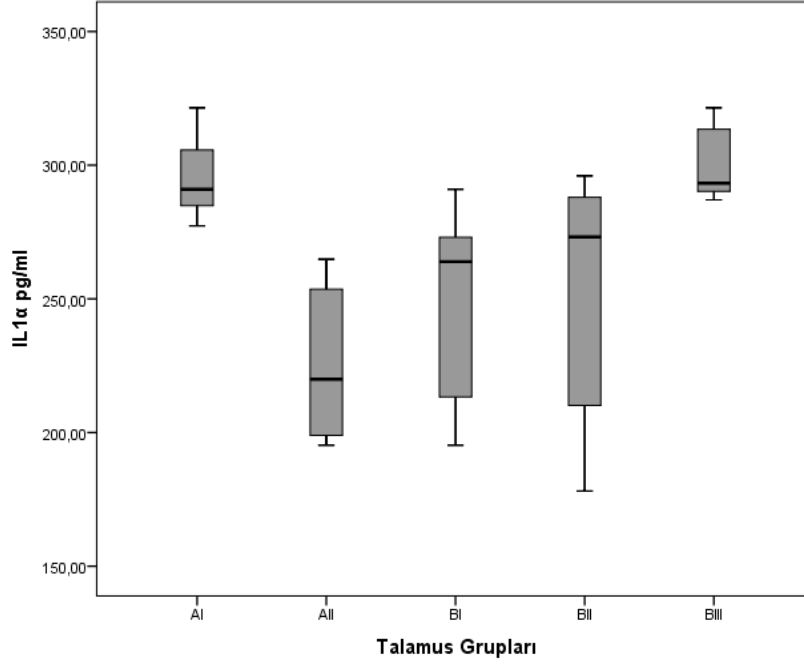
1050 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1051 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05)

1052 Talamus dokularında TNF $\alpha$  için yapılan ELISA çalışmalarında 194,32 pg/ml ile en yüksek düzey BIII grubunda saptandı. En düşük TNF $\alpha$  düzeyi de 136,27 pg/ml ile AII grubunda saptandı. SPSS paket programı ile yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,007). AII talamus grubu AI ve BIII ile en az p<0,05 düzeyinde anlamlı istatistiksel farklılık gösterdi.

1058

1059 **4.1.2.4. IL-1 $\alpha$  Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1060

1061

Şekil 20. Talamusdaki IL-1 $\alpha$  verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1062

Tablo 20. Talamusdaki IL-1 $\alpha$  düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grubları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	295,22	5,65	15,71	28,20	0,197	AII, BI
AII	225,62	10,09	28,61	29,03	0,203	AI, BIII
BI	248,34	12,71	36,05	66,87	0,233	AI, BIII
BII	252,08	16,31	46,13	85,82	0,094	-
BIII	300,27	4,48	13,50	24,83	0,073	AII, BI

1063

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1064

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar ( $p < 0,05$ ).

1065

1066

IL-1 $\alpha$  için yapılan ELISA çalışmalarında 300,27 pg/ml ile en yüksek düzey BIII grubunda saptandı. En düşük IL-1 $\alpha$  düzeyi de 225,62 pg/ml ile AII grubunda saptandı Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı ( $p = 0,028$ ). BII talamus grubu hiçbir grupta anlamlı istatistiksel farklılık göstermedi. Bu durum tablo 20'de p\*\* sütununda ifade edildi.

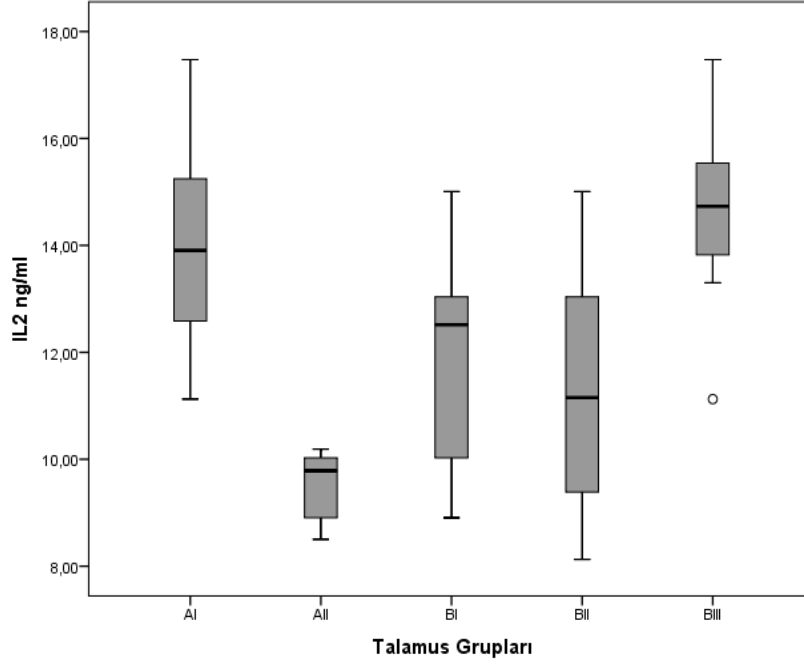
1067

1068

1069

1070

1071 **4.1.2.5. IL-2 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1072

1073 Şekil 21. Talamustaki IL-2 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1074 Tablo 21. Talamustaki IL-2 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hata	Standart Sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	14,01	0,72	2,04	3,22	0,976	All
AII	9,51	0,22	0,65	1,21	0,151	AI, BIII
BI	11,89	0,72	2,04	3,15	0,612	-
BII	11,28	0,84	2,37	3,95	0,774	-
BIII	14,59	0,65	1,84	2,03	0,782	All

1075 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1076 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1078 Talamus dokularında IL-2 için yapılan ELISA çalışmalarında 14,59 ng/ml ile en yüksek düzey

1079 BIII grubunda saptandı. En düşük IL-2 düzeyi de 9,51 ng/ml ile AII grubunda bulunan sağlıklı

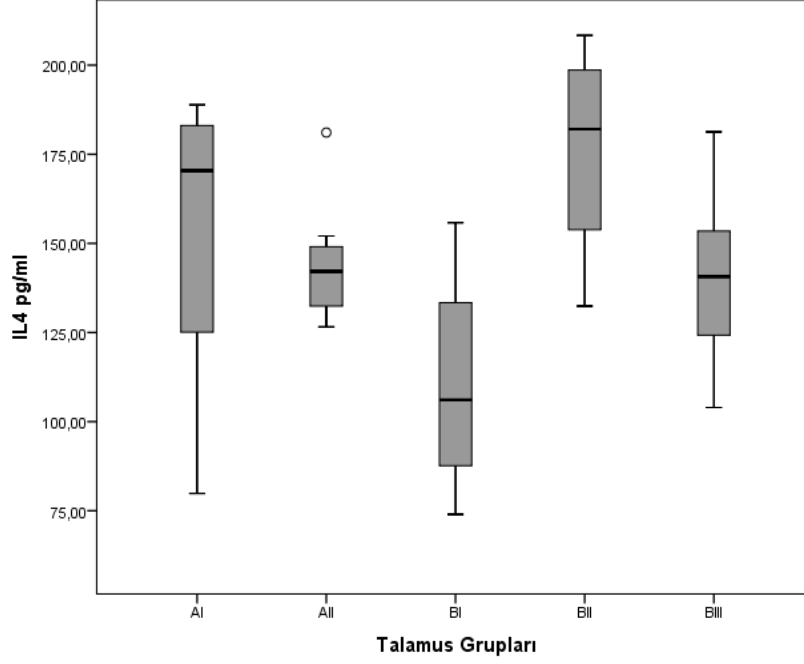
1080 grubunda saptandı. SPSS paket programı ile yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında

1081 anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,029). BI ve BII talamus grupları diğer gruplar ile

1082 anlamlı istatistiksel farklılık göstermedi. Bu durum tablo 21'de ifade edildi.

1083

1084 **4.1.2.6. IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1085

1086

1087

Şekil 22. Talamusdaki IL-4 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1088

Tablo 22. Talamusdaki IL-4 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grubu	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	P*	P**
AI	153,21	15,65	44,28	60,12	0,088	-
AII	144,36	6,15	17,41	21,07	0,136	-
BI	110,51	11,12	31,47	53,67	0,045	BII
BII	176,22	10,54	27,82	50,36	0,117	BI
BIII	140,24	8,51	21,04	33,10	0,981	-

1089

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1090

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05)

1091

1092

**IL-4 için yapılan ELISA çalışmaları sonucunda en yüksek düzey 176,22 ile BII**

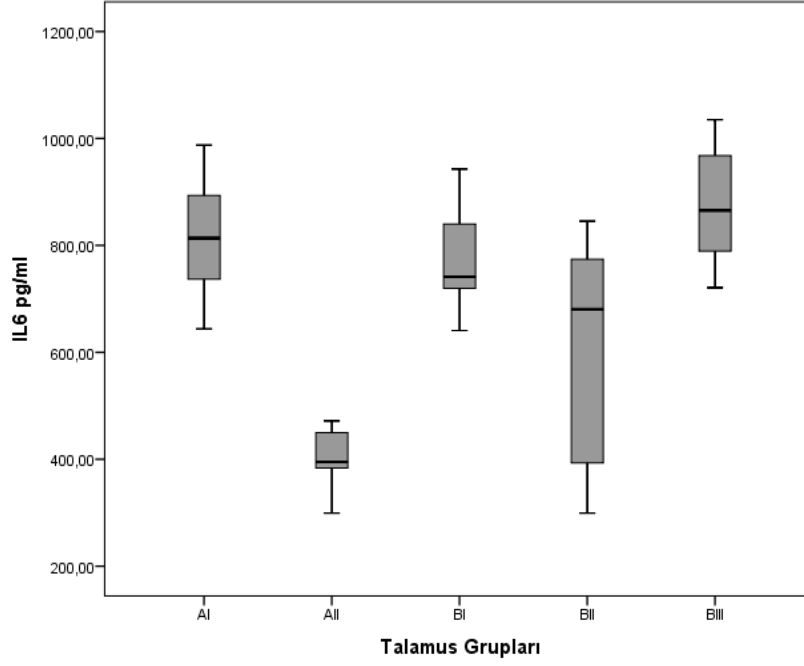
1093

**grubunda saptanmıştır. SPSS paket programı ile yapılan analizlerde BI ve BII grupları**

1094

**arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulundu (p=0,048).**

1095 **4.1.2.7. IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1096

1097 Şekil 23. Talamusdaki IL-6 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1098 Tablo 23. Talamusdaki IL-6 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	814,83	39,37	11,30	173,71	0,997	All
AII	403,56	19,43	54,96	75,68	0,451	AI, BI, BIII
BI	773,19	33,58	94,98	125,56	0,635	All
BII	605,01	74,73	211,38	390,56	0,186	All, BIII
BIII	875,12	39,24	111,01	209,66	0,850	All, BII

1099 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

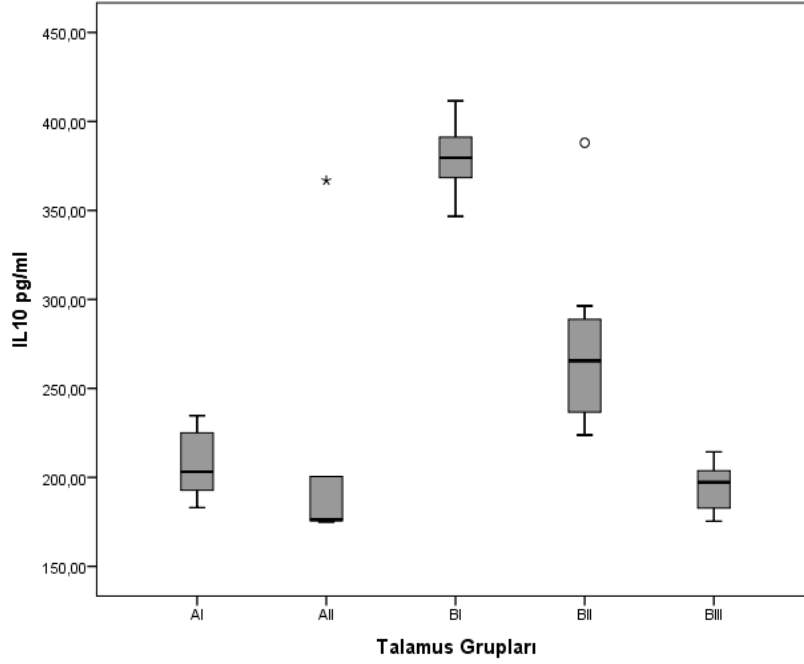
1100 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar ( $p < 0,05$ ).

1102 Uygulanan Apelin-12'nin talamus dokusunda IL-6 seviyesi üzerine etkili olduğu saptandı. BI ve BII gruplarında IL-6 düzeyleri AI ve BIII gruplarına göre daha düşük bulundu. Yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı ( $p < 0,001$ ). En düşük IL-6 düzeyi, AII grubunda saptandı.

1106

1107 **4.1.2.8. IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1108



1109

1110 Şekil 24. Talamusdaki IL-10 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1111 Tablo 24. Talamusdaki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grubları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	207,46	6,72	19,02	37,19	0,586	BI, BII
AII	205,84	23,35	66,01	25,05	0,000	BI, BII
BI	379,57	7,24	20,48	31,51	0,759	AI,AII, BIII
BII	274,23	18,48	52,38	59,24	0,095	AI, AII, BIII
BIII	194,62	4,87	13,80	25,56	0,664	BI, BII

1112 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

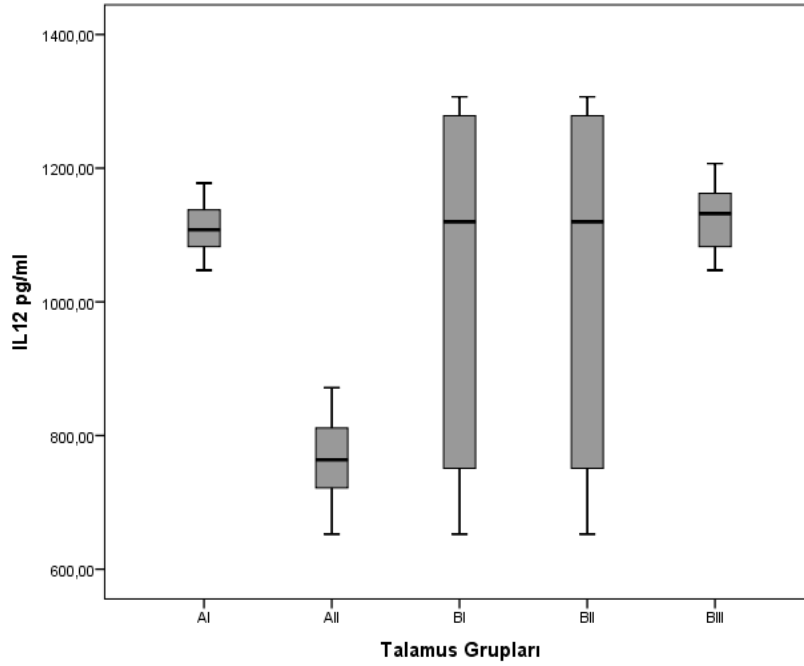
1113 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1114 Uygulanan Apelin-12'nin talamus dokusunda IL-10 seviyesi üzerine yüksek düzeyde etkili olduğu saptandı. Özellikle BI ve BII gruplarında IL-10 düzeyleri AI ve BIII gruplarına göre daha yüksek bulundu. Yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık vardı (p<0,001). En düşük IL-10 düzeyi BIII grubunda saptandı.

1119



1120 **4.1.2.9. IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1121

1122

Şekil 25. Talamusdaki IL-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1123

Tablo 25. Talamusdaki IL-12 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grubu	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	1110,21	15,01	42,34	62,33	0,857	AII
AII	764,61	24,51	69,34	98,69	0,983	AI, BI, BII, BIII
BI	1233,80	32,16	90,97	152,35	0,205	AII
BII	1059,19	12,10	34,23	68,07	0,091	AII
BIII	1126,04	18,89	53,43	89,87	0,957	AII

1124

1125

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1126

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05)

1127

Uygulanan Apelin-12'nin talamus dokusunda IL-12 seviyesi üzerine etkili olmadığı saptandı.

1128

Sağlıklı kontrol grubunda diğer gruplara göre en düşük IL-12 düzeyi saptandı. AII diğer

1129

gruplardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü. Yapılan analizlerde tüm gruplar

1130

arasında anlamlı istatistiksel farklılık vardı (p=0,002). En yüksek IL-12 düzeyi BI grubunda

1131

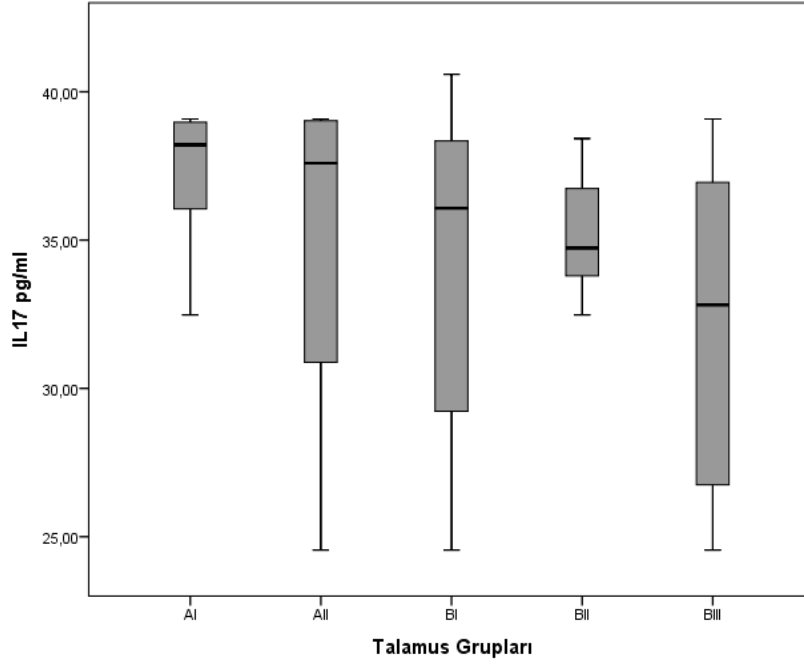
tespit edildi.

1132

1133

1134 **4.1.2.10. IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1135



1136

1137 Şekil 26. Talamusdaki IL-17 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1138 Tablo 26. Talamus dokusunda IL-17 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart Hata	Standart Sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	37,26	0,89	2,32	3,05	0,040	-
AII	34,82	2,14	6,05	10,62	0,004	-
BI	34,05	2,10	5,94	11,13	0,208	-
BII	35,17	0,71	1,99	2,87	0,648	-
BIII	32,08	1,95	5,51	10,79	0,467	-

1139

1140 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1141 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık

1142 saptanan gruplar (p<0,05)

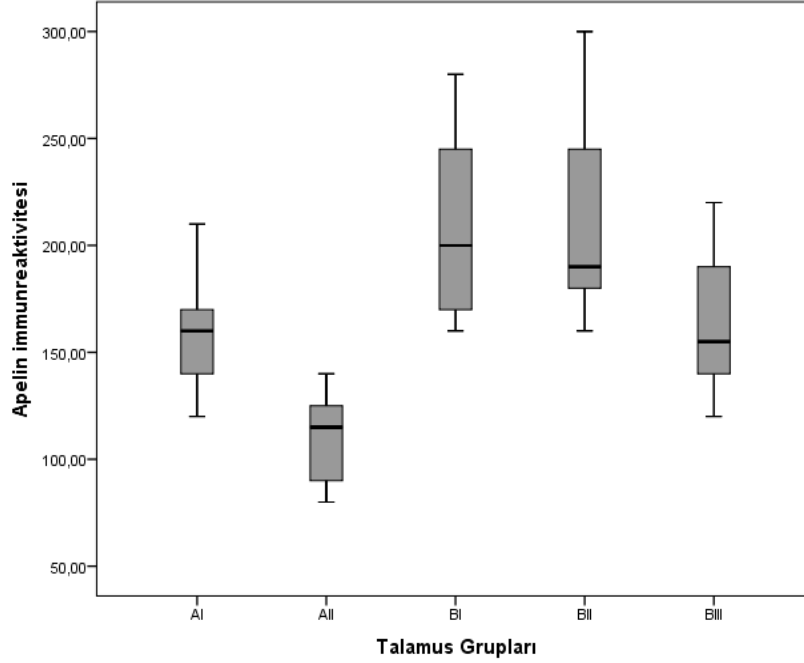
1143 Talamus doku örnekleri ile yapılan ELISA çalışmalarında birbirine yakın sonuçlar elde edildi.

1144 Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanamadı (p=0,306). Bu durum p\*\*

1145 sütununda gösterildi

1146

1147 **4.1.2.11. Talamus Dokusunda Apelin-12'nin İmmunohistokimyasal Analizi**



1148

1149 Şekil 27. Talamusdaki Apelin-12 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1150 Tablo 27. Talamusdaki Apelin-12 düzeylerinin betimsel analizleri

Talamus Grupları	Ortalama	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
AI	158,75	9,71	27,48	35,00	0,640	-
AII	110,50	7,79	22,03	42,50	0,502	BI, BII
BI	208,75	16,84	47,64	97,50	0,083	AII
BII	211,25	18,84	53,30	87,50	0,115	AII
BIII	163,75	11,94	33,77	55,00	0,699	-

1151

1152 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

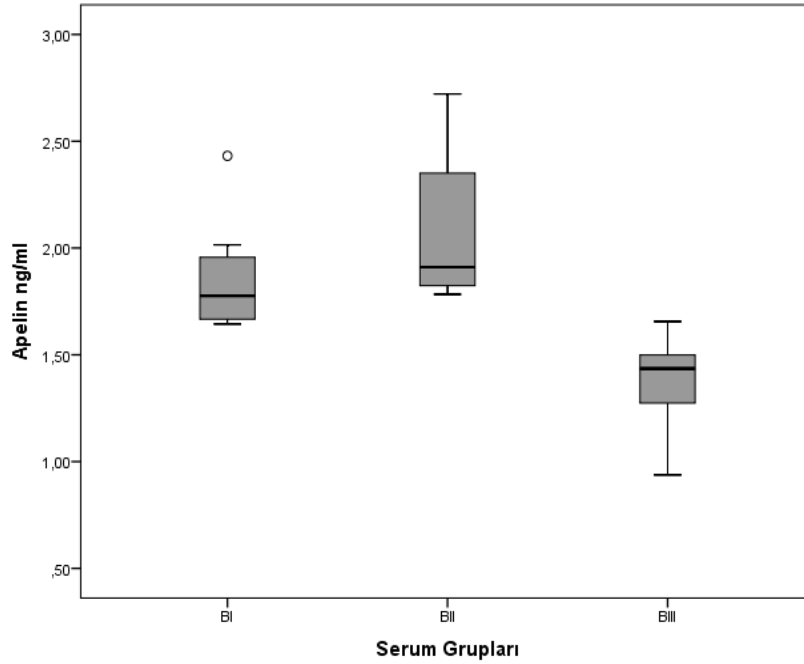
1153 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1155 Talamus doku örneklerinin Apelin-12 bakımından immunohistokimyasal olarak değerlendirilmesinde 211,25 ile en yüksek düzey BII grubunda saptandı. En düşük Apelin-12 düzeyi de 110,50 ile AII grubunda saptandı. SPSS programı ile yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık bulundu (p=0,008).

1159

1160 **4.1.3. Apelin-12 Enjeksiyonunun Absans Epilepsideki Etkisinin Değerlendirildiği B**  
1161 **Grubunda Serum Analizlerinin Betimsel Analizler**

1162 **4.1.3.1. Apelin Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1163

1164 Şekil 28. Serumdaki Apelin-12 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1165 Tablo 28. Serumdaki Apelin-12 düzeylerinin B gruplarına göre betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	1,859	0,09	0,26	0,33	0,041	BIII
BII	2,084	0,13	0,38	0,69	0,006	BIII
BIII	1,375	0,07	0,21	0,25	0,450	BI, BII

1166 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1167 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık  
1168 saptanan gruplar (p<0,05)

1169 Serum Apelin-12 seviyelerinin B grubunda özellikle tedavi gruplarında yüksek bulundu.

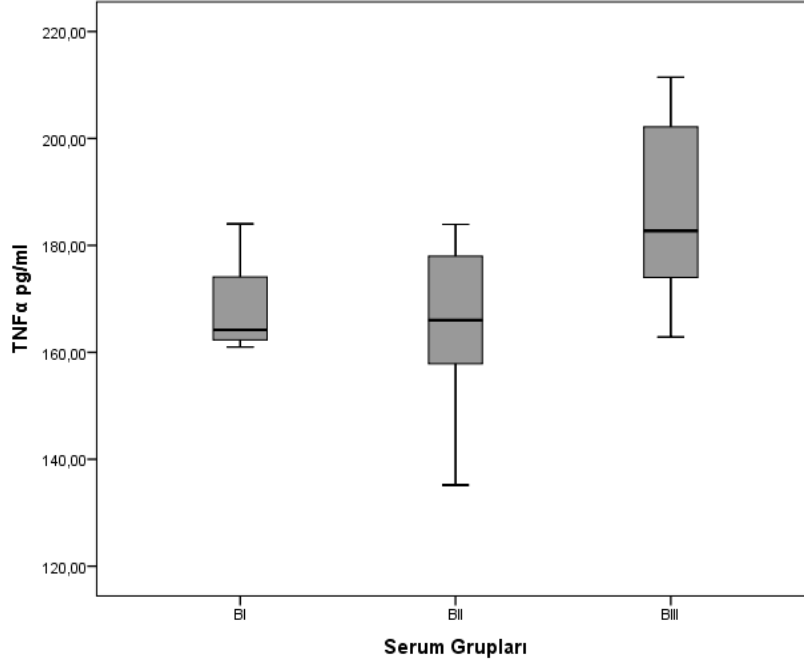
1170 Yapılan analizlerde tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p<0,001). En

1171 yüksek Apelin-12 düzeyi 2,084 ng/ml ile BII grubunda saptandı. Bu durum tabloda ifade

1172 edildi. En düşük Apelin-12 düzeyi de BIII grubunda saptandı.

1173

1174 **4.1.3.2. TNF  $\alpha$  Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1175

1176

1177 Şekil 29. Serumdaki TNF  $\alpha$  verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1178 Tablo 29. Serumdaki TNF  $\alpha$  düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	168,28	3,21	9,09	15,61	0,010	-
BII	165,34	5,61	15,88	23,69	0,614	-
BIII	186,51	6,03	17,08	29,64	0,692	-

1179 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

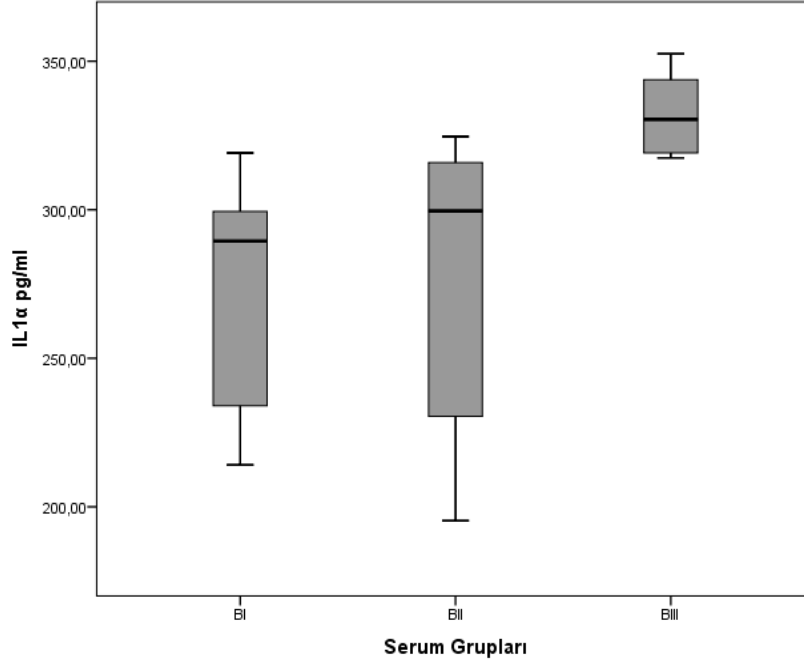
1180 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar ( $p < 0,05$ ).

1182 Serum TNF  $\alpha$  seviyelerinin B grubunda özellikle tedavi gruplarında düşük bulundu. Ancak yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanamadı ( $p = 0,102$ ). Bu durum tabloda ifade edildi. En yüksek TNF  $\alpha$  düzeyi de BIII grubunda saptandı.

1185

1186

#### 1187 4.1.3.3. IL-1 $\alpha$ Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi



1188

1189

Şekil 30. Serumdaki IL-1 $\alpha$  verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1190

1191

Tablo 30. Serumdaki IL-1 $\alpha$  düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	272,37	13,98	39,54	73,34	0,203	BIII
BII	276,47	17,89	50,62	94,12	0,094	BIII
BIII	332,06	4,89	13,83	25,97	0,203	BI, BII

1192

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1193

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1194

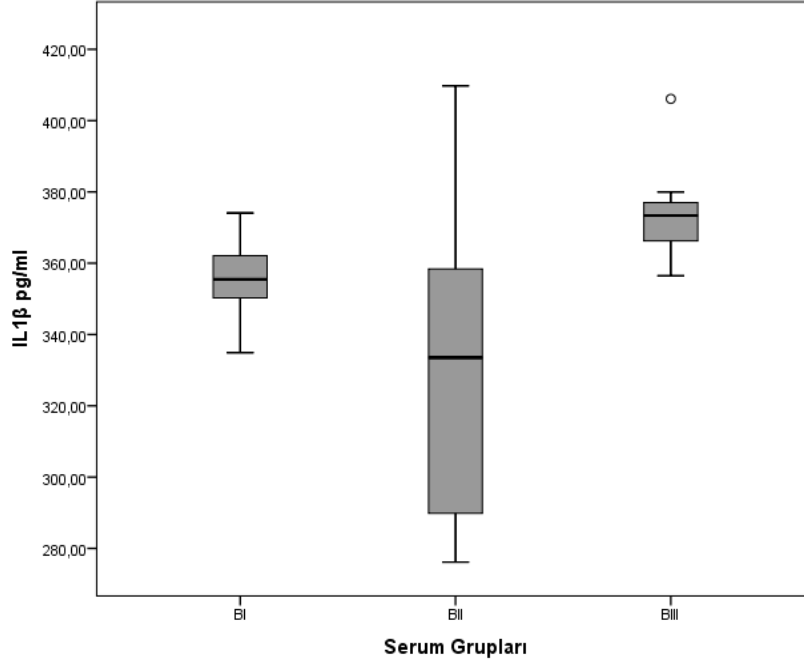
1195

Serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinin B grubunda özellikle tedavi gruplarında düşük bulundu. Tedavi uygulanmayan kontrol grubunda yüksek bulundu. Yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,008). IL-1 $\alpha$  düzeyleri bakımından serum gruplarında en düşük seviye BI'de saptandı.

1198

1199

#### 1200 4.1.3.4. IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi



1201

1202

Şekil 31. Serumdaki IL-1 $\beta$  verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1203

1204

Tablo 31. Serumdaki IL-1 $\beta$  düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	355,60	4,13	11,69	39,17	0,939	-
BII	331,19	15,95	45,13	72,46	0,651	-
BIII	374,48	5,28	14,94	15,18	0,119	-

1205

1206

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1207

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık

1208

saptanan gruplar ( $p < 0,05$ )

1209

Serum IL-1 $\beta$  seviyelerinin B grubunda özellikle tedavi gruplarında düşük bulundu. Tedavi

1210

uygulanmayan kontrol grubunda yüksek bulundu. Ancak yapılan analizlerde gruplar arasında

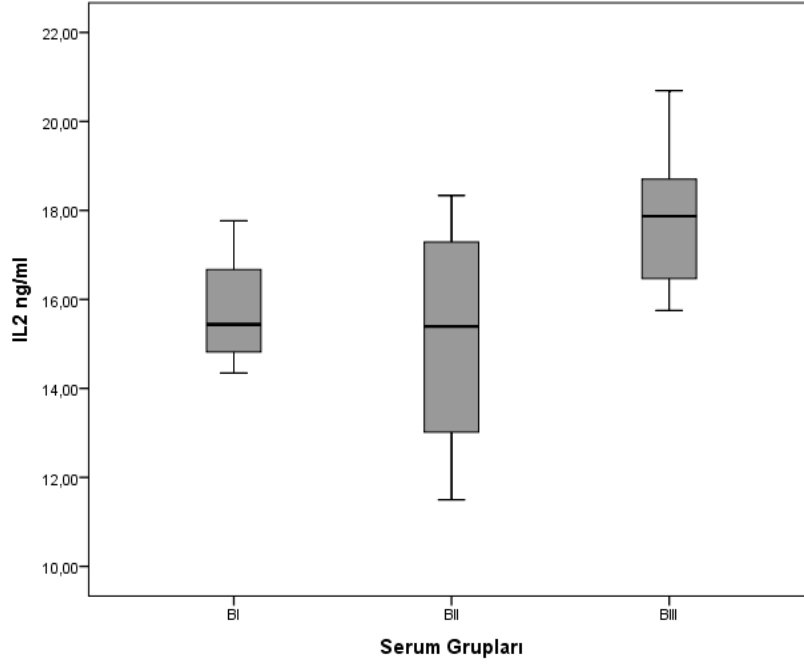
1211

anlamlı istatistiksel farklılık saptanamadı (Şekil 31, Tablo 31,  $p = 0,097$ ).

1212

1213 **4.1.3.5. IL-2 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1214



1215

1216 Şekil 32. Serumdaki IL-2 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1217

1218 Tablo 32. Serumdaki IL-2 düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hata	Standart Sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	15,74	0,47	1,34	2,64	0,053	-
BII	15,16	0,95	2,95	5,56	0,277	-
BIII	17,81	0,57	1,62	2,58	0,816	-

1219 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1220 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05)

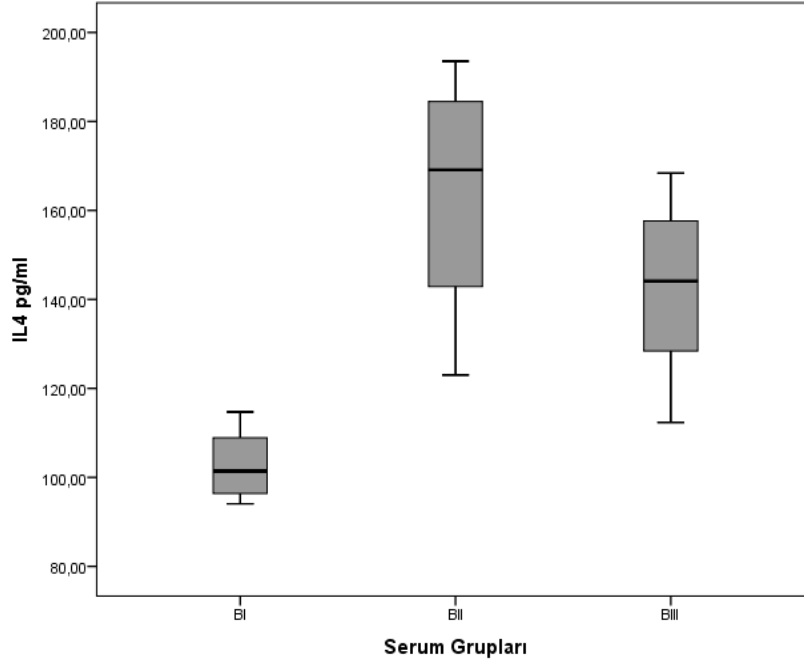
1222 Serum IL-2 seviyelerinin B grubunda özellikle tedavi gruplarında düşük bulundu. Tedavi uygulanmayan kontrol grubunda yüksek bulundu. Ancak yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanamadı (p=0,219). Ek olarak BIII grubu diğer gruplardan yaklaşık %15 düzeyinde yüksek IL-2 seviyesi gösterdi (Şekil 32, Tablo 32).

1226



1227 **4.1.3.6. IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1228



1229

1230

Şekil 33. Serumdaki IL-4 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1231

1232 Tablo 33. Serumdaki IL-4 düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	102,77	2,87	8,12	20,65	0,129	BII
BII	163,59	9,79	27,70	56,07	0,117	BI
BIII	142,63	7,01	19,85	37,84	0,642	-

1233

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1234

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1235

1236

IL-4 serum seviyelerinin B grubunda farklılık gösterdiği izlendi. Tedavi uygulanan grupta BI

1237

en düşük oran gözlenirken, BII grubunda en yüksek oran saptandı. Yapılan analizlerde

1238

gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,021).BIII serum grubunda

1239

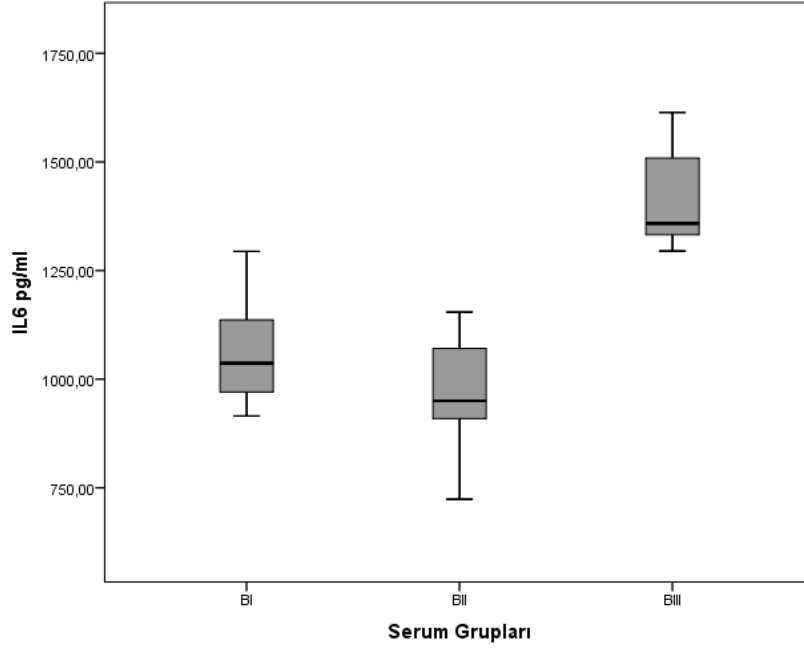
saptanan değer BI ve BII'den istatistiksel olarak farksızdı.

1240

1240

#### 1241 4.1.3.7. IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

1242



1243

1244 Şekil 34. Serumdaki IL-6 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1245

1246 Tablo 34. Serumdaki IL-6 düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart Hata	Standart Sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	1062,22	42,98	124,41	185,59	0,675	-
BII	967,38	48,11	136,01	188,43	0,720	BIII
BIII	1413,56	41,08	116,21	197,28	0,164	BII

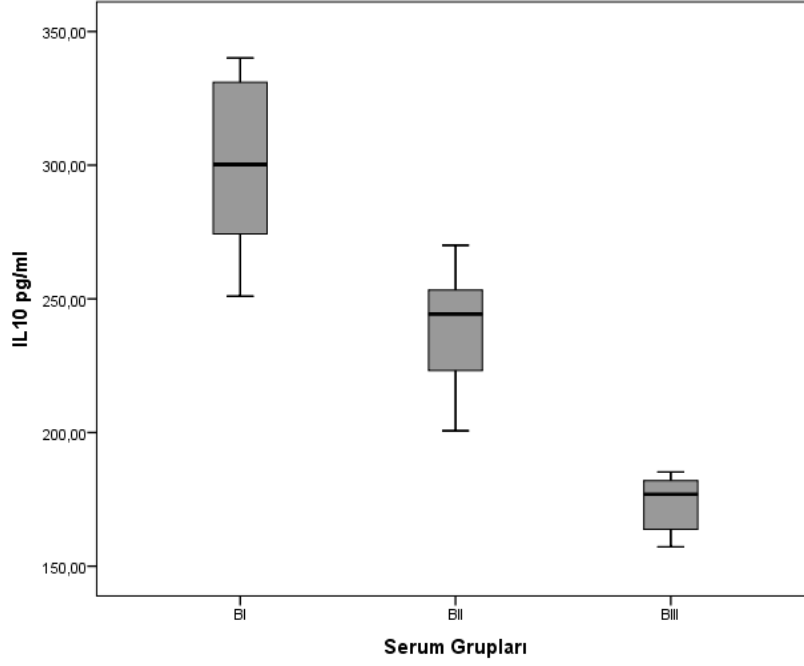
1247 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1248 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1250 Serum IL-6 seviyelerinin B grubunda özellikle tedavi gruplarında kontrol grubuna göre düşük bulundu. Tüm gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptandı (p=0,041). EEG yapılan gruptan elde edilen IL-6 düzeyi BII ve BIII'den istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi (Şekil 34, Tablo 34).

1254

1255 **4.1.3.8. IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**



1256

1257

Şekil 35. Serumdaki IL-10 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1258

1259

Tablo 35. Serumdaki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	300,26	11,75	33,24	64,59	0,601	BII, BIII
BII	239,03	8,03	22,73	35,87	0,630	BIII
BIII	173,48	3,87	10,96	21,93	0,196	BI, BII

1260

\*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1261

\*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1262

1263

IL-10 serum seviyelerinin B grubunda farklılık gösterdiği izlendi. Özellikle tedavi uygulanan gruptan BI'de en yüksek oran gözlenirken, hem BI hem de BII kontrol grubundan anlamlı olarak istatistiksel olarak farklılık gösterdi (p<0,001). Bu durum tabloda p\*\* sütununda ayrıntılandırıldı.

1264

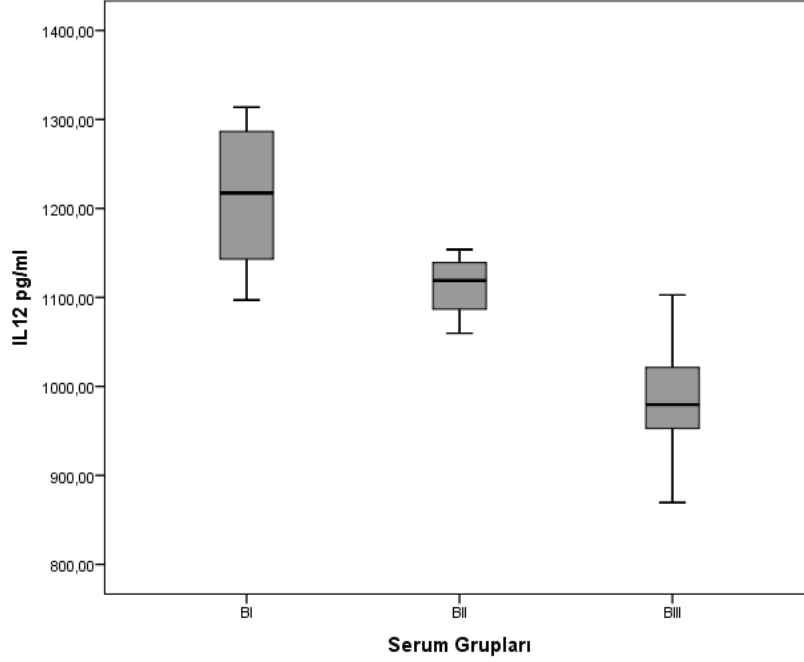
1265

1266

1267

1268 **4.1.3.9. IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1269



1270

1271 Şekil 36. Serumdaki IL-12 verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1272

1273 Tablo 36. Serumdaki IL-12 düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	1213,08	30,59	86,52	151,43	0,093	-
BII	1112,93	12,87	36,42	73,21	0,110	-
BIII	984,90	24,16	68,33	233,33	0,957	-

1274 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1275 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1276

1277 Serumdaki IL-12 düzeyleri için gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanamadı

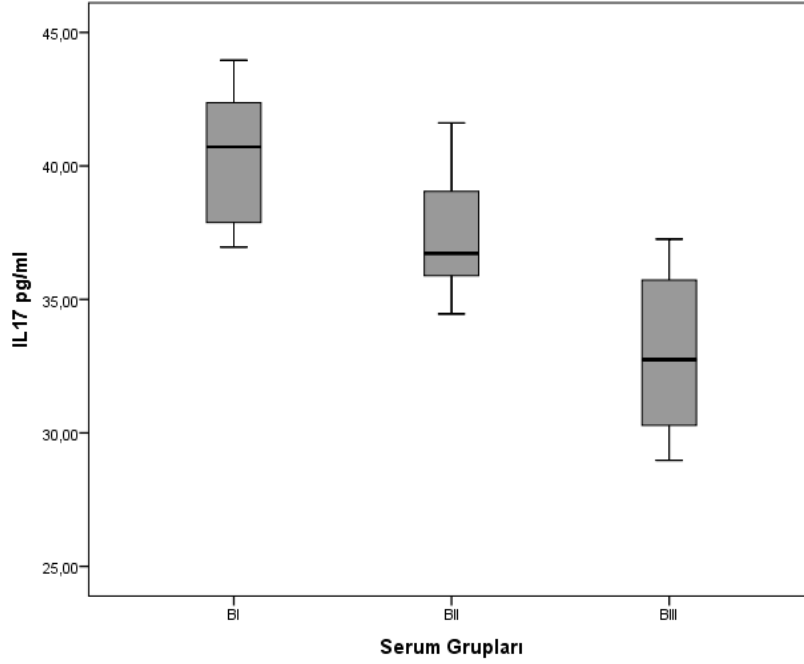
1278 (p=0,108). Tüm grupların IL-12 düzeyi birbirine yakındı (Şekil 34, Tablo 36).

1279

1280

#### 1281 4.1.3.10. IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

1282



1283

1284 Şekil 37. Serumdaki IL-17 verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1285 Tablo 37. Serumdaki IL-17 düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	40,36	0,92	2,62	5,15	0,550	-
BII	37,42	0,84	2,36	3,85	0,662	-
BIII	32,97	1,09	3,08	5,77	0,558	-

1286

1287 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

1288 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

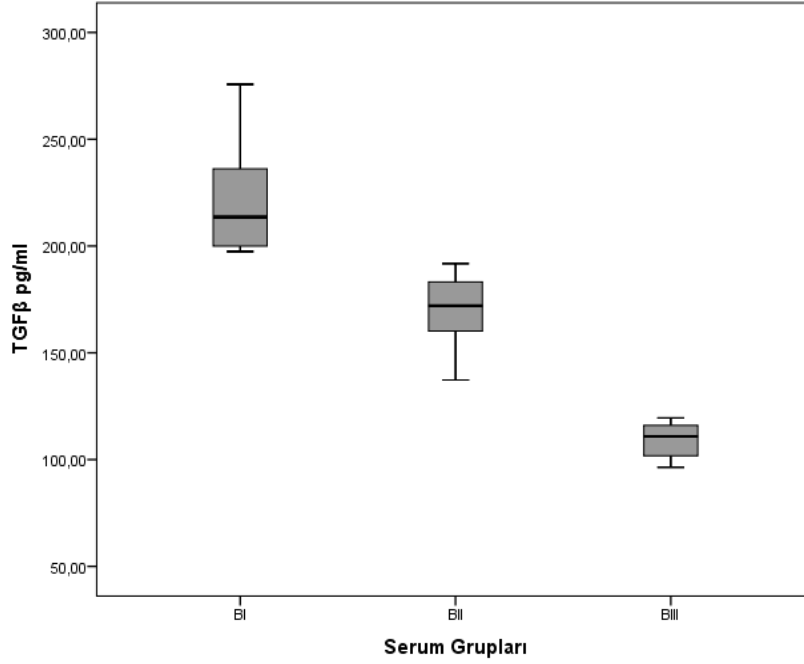
1290 Apelin-12 tedavisinin IL-17'ye etki etmediği gözlemlendi. Serum örnekleri ile yapılan  
1291 çalışmalarda benzer sonuçlar elde edildi. Yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında  
1292 anlamlı istatistiksel farklılık saptanamadı (p=0,144). Tüm grupların IL-17 düzeyi birbirine  
1293 benzerdi (Şekil 37, Tablo 37).

1294

1295

#### 1296 4.1.3.11. TGF $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi

1297



1298

1299 Şekil 38. Serumdaki TGF $\beta$  verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1300 Tablo 38. Serumdaki TGF $\beta$  düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	221,56	10,01	28,32	44,78	0,056	BII, BIII
BII	169,96	6,23	17,64	27,07	0,778	BI, BIII
BIII	109,15	2,94	8,33	14,49	0,528	BI,BII

1301

1302 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında).

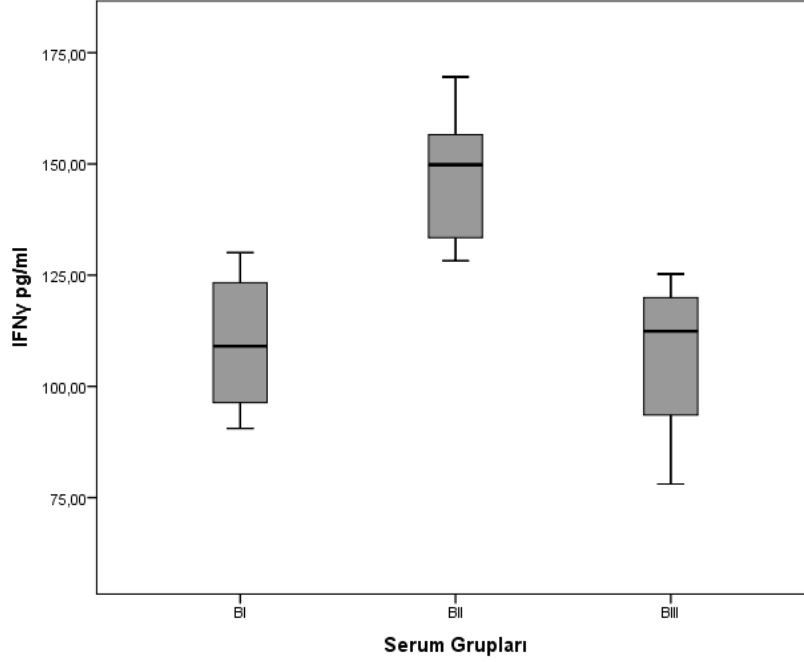
1303 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05).

1305 TGF $\beta$  için yapılan ELISA ölçümlerinde en düşük düzey 109,15 pg/ml ile BIII grubunda saptandı. En yüksek düzey ise BI grubunda saptandı. SPSS ile yapılan istatistiksel analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık gözlemlendi (p<0,001). BII ve BIII grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı.

1309

#### 1310 4.1.3.12. IFN $\gamma$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi

1311



1312

1313 Şekil 39. Serumdaki IFN $\gamma$  verilerinin B gruplarına göre dağılım grafiği.

1314

1315 Tablo 39. Serumdaki IFN $\gamma$  düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	109,75	5,35	15,14	29,39	0,417	-
BII	147,18	5,18	14,67	27,47	0,670	-
BIII	106,54	5,94	16,81	28,79	0,380	-

1316

1317 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

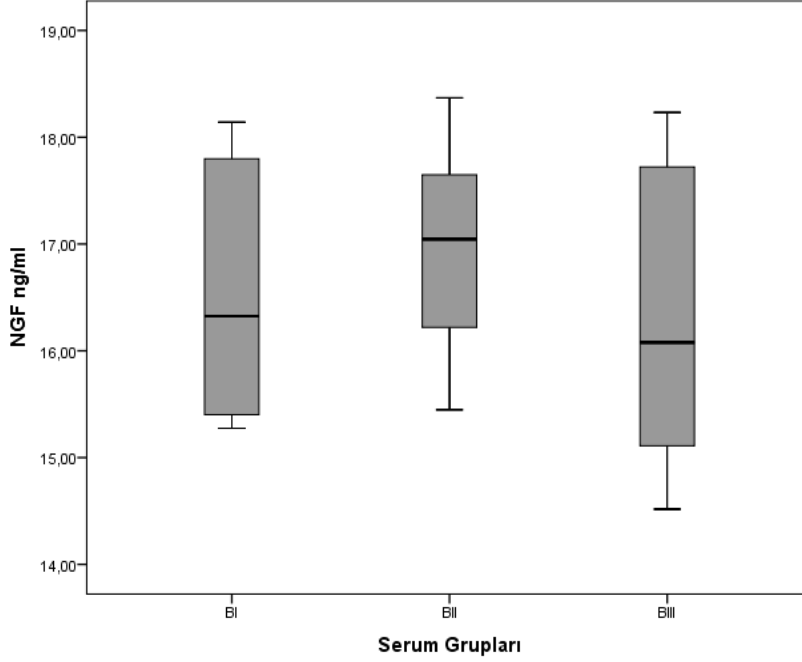
1318 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05)

1320 Apelin-12 tedavisinin serum IFN $\gamma$  düzeyleri üzerine etkisinin olmadığı gözlemlendi. Yapılan analizlerde gruplar arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı (p=0,134). Söz konusu durum p\*\* sütununda gösterildi (Şekil 39, Tablo 39).

1323

1324 **4.1.3.13. NGF Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1325



1326

1327 Şekil 40. Serumdaki NGF verilerinin tüm gruplara göre dağılım grafiği.

1328

1329 Tablo 40. Serumdaki NGF düzeylerinin betimsel analizleri

Serum Grupları	Ortalama (ng/ml)	Ort. Standart Hata	Standart Sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p*	p**
BI	16,56	0,45	1,26	2,29	0,062	-
BII	16,92	0,34	0,98	1,53	0,808	-
BIII	16,32	0,51	1,42	2,91	0,431	-

1330 \*Normal dağılım için yapılan Shapiro-Wilk testi sonuçları (%95 güven aralığında)

1331 \*\*Çoklu karşılaştırma (One Way ANOVA-Tukey) sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanan gruplar (p<0,05)

1333 Yapılan ELISA çalışmalarında serum NGF düzeyleri birbirine oldukça yakın bulundu. Serum

1334 grupları arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı (p=0,912). Serum grupları arasında

1335 gözlenen benzerlik dikkat çekici olup, p\*\* sütununda ifade edildi (Şekil 40, Tablo 40).

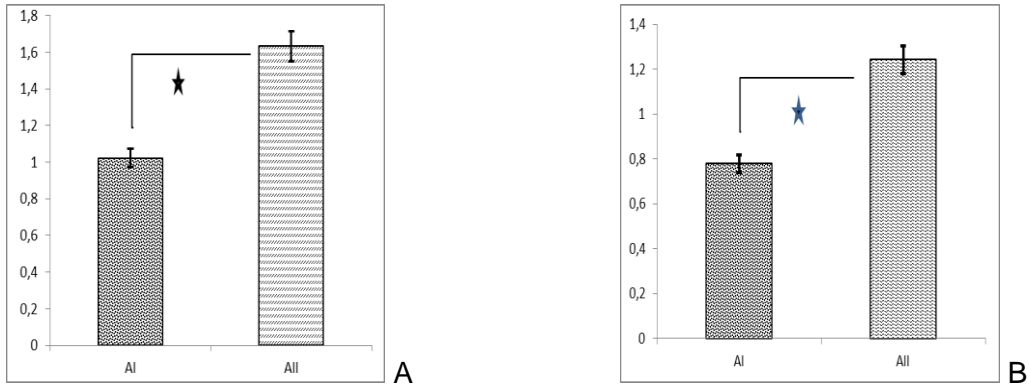
1336



1337 **4.2. Absans epilepside beyin dokularında ve serumda Apelin-12 düzeylerinin, apoptoz**  
1338 **ve sitokin seviyelerinin değerlendirildiği grup**

1339 **4.2.1. A grubundaki Apelin-12 Düzeylerinin ELISA İle Karşılaştırılması**

1340 Korteks (A) ve talamusdaki (B) (Şekil 41) Apelin-12 miktarının WAG/Rij ve Wistar  
1341 sıçanlardaki düzeylerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark  
1342 olduğu belirlendi (\* $p < 0,05$ ).



1343 Şekil 41. Korteks (A) ve talamusdaki (B) Apelin-12 (ng/ml) düzeyleri

1344

1345 **4.2.2. A grubundaki Apelin-12 Düzeylerinin İmmunohistokimya İle Değerlendirilmesi**

1346 Korteks ve talamus bölgelerinde gruplar arasında Apelin-12 yoğunluğu karşılaştırıldığında  
1347 istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ancak WAG/Rij sıçanların her iki beyin  
1348 bölgesinde (Resim 5, 6) Apelin-12 yoğunluğunun Wistar sıçanlara göre daha yüksek olduğu  
1349 görüldü.

1350 Resim 5. Kortekste Apelin-12 immunoreaktivitesinin AI (A) ve AII (B) gruplarında  
1351 gösterilmesi Mikrograflarda ok ile işaretli bölgede Apelin-12 için immunohistokimyasal  
1352 reaksiyon izlenmektedir. (bar = 50  $\mu$ m) YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK  
1353 SİSTEME YÜKLENDİ.

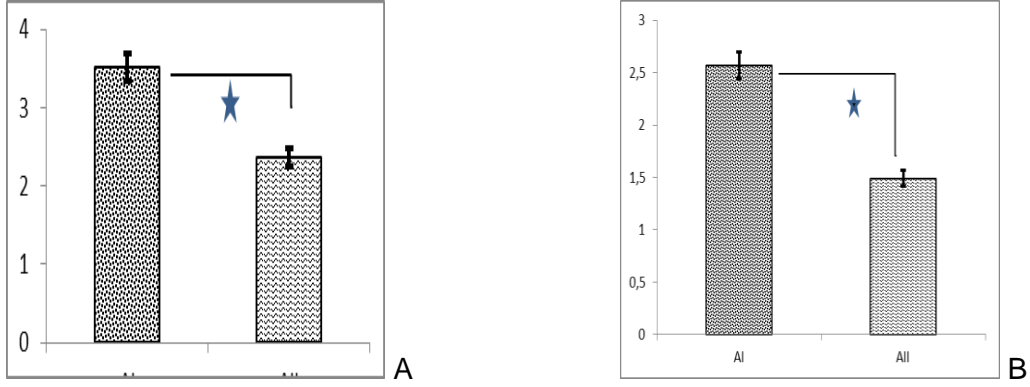
1354 Resim 6. Talamusda Apelin-12 immunoreaktivitesinin AI (A) ve AII (B) gruplarında  
1355 gösterilmesi Mikrograflarda ok ile işaretli bölgede Apelin-12 için immunohistokimyasal  
1356 reaksiyon izlenmektedir. (bar = 50  $\mu$ m) YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK  
1357 SİSTEME YÜKLENDİ.

1358

1359 **4.2.3. A grubundaki Sitokrom C Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1360 Korteks (A) ve talamusdaki (B) (Şekil 42) Sitokrom C'nin WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki  
1361 düzeylerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi  
1362 (\*p<0,05).

1363



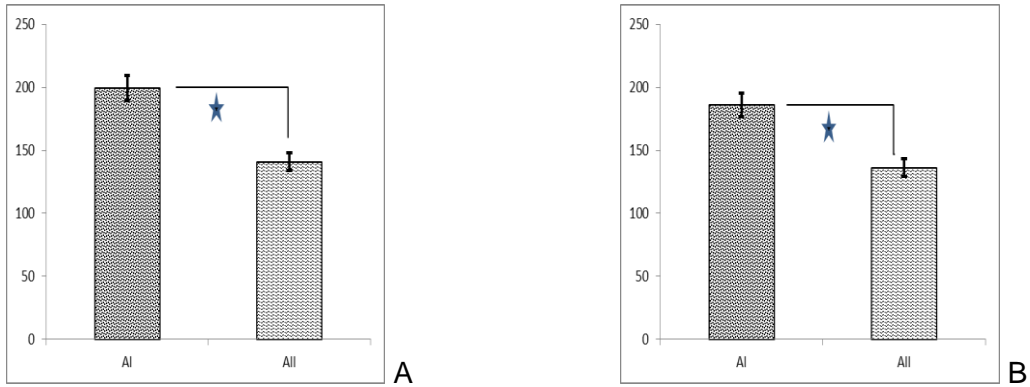
1364 Şekil 42. Korteks (A) ve talamusdaki (B) Sitokrom C (ng/ml) düzeyleri.

1365

1366 **4.2.4. A grubundaki TNF $\alpha$  Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1367 Korteks (A) ve talamusdaki (B) (Şekil 43) TNF $\alpha$ 'nın WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki  
1368 düzeylerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi  
1369 (\*p<0,05).

1370



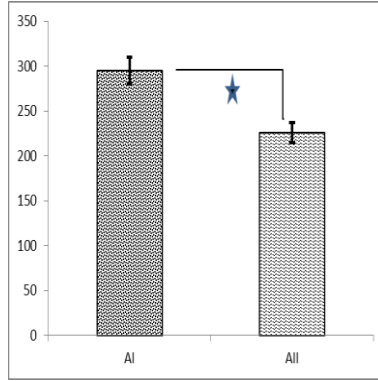
1371 Şekil 43. Korteks (A) ve talamusdaki (B) TNF $\alpha$  (pg/ml) düzeyleri

1372

1373 **4.2.5. A grubundaki IL-1 $\alpha$  Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1374

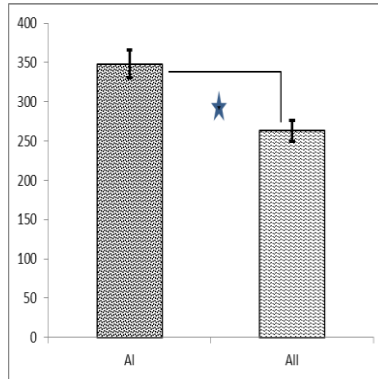
1375 Korteks dokusunda IL-1 $\alpha$  ELISA sonucu ekipman kaynaklı bir prosedür hatası nedeniyle elde  
1376 edilemedi. Sonraki çalışmalarda ekipman hatası giderilerek talamustaki (Şekil 44) WAG/Rij  
1377 ve Wistar sıçanlardaki düzeylerine bakıldı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir  
1378 fark olduğu belirlendi (\*p<0,05).



1379 Şekil 44. Talamustaki IL-1 $\alpha$  (pg/ml) düzeyleri

1380 **4.2.6. A grubundaki IL-1 $\beta$  Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1381 Korteksde (Şekil 45) IL-1 $\beta$ 'nin WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki düzeylerine bakıldığında  
1382 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi (\*p<0,05). Talamus  
1383 dokusunun küçük olması nedeniyle tüm parametreler çalışılmadı. Ancak projemizde beyin  
1384 dokusunda ifadesi kullanıldığı için IL-1 $\beta$  kortekste çalışıldı.

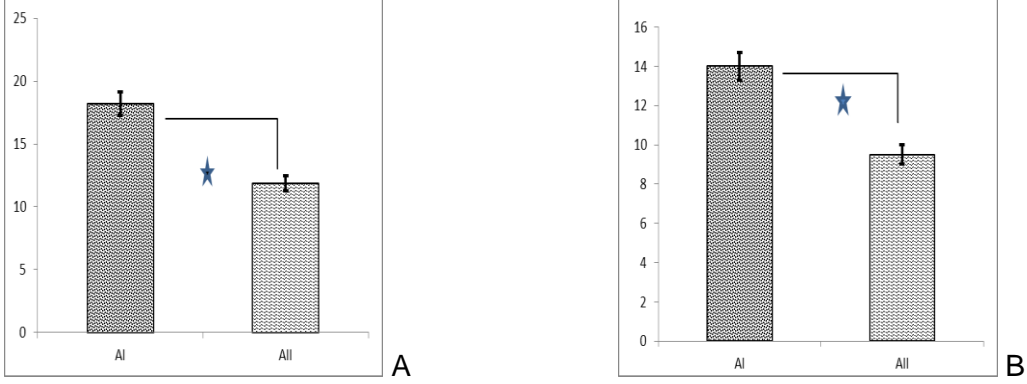


1385 Şekil 45. Korteksdeki IL-1 $\beta$  (pg/ml) düzeyleri

1386

1387 **4.2.7. A grubundaki IL-2 Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1388 Korteks (A) ve talamus (B) dokuları ile yapılan ELISA çalışmalarında (Şekil 46) IL-2'nin  
1389 WAG/Rij ve Wistar sıçanlarda farklı düzeyler saptandı. Yapılan analizlerde gruplar arasında  
1390 istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi (\*p<0,05).



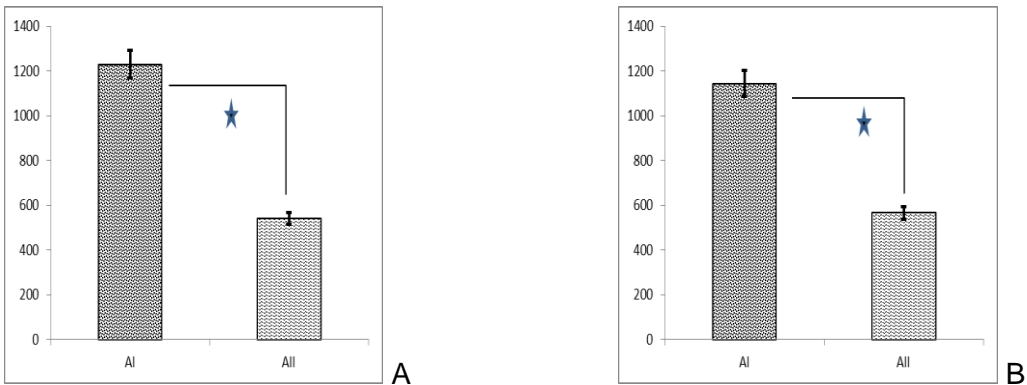
1391 Şekil 46. Korteks (A) ve talamustaki (B) IL-2 (ng/ml) düzeyleri

1392 **4.2.8. A grubundaki IL-4 Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1393 Wistar ve WAG/Rij hayvanları için hem korteks hem de talamus dokusunda IL-4 miktarları  
1394 (pg/ml) açısından benzer sonuçlar elde edildi. Yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı  
1395 bir fark olmadığı gözlemlendi.

1396 **4.2.9. A grubundaki IL-6 Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1397 Korteks (A) ve talamusta (B) doku örneklerinde (Şekil 47) elde edilen IL-6 miktarının  
1398 WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki düzeylerinin bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak  
1399 anlamlı bir fark olduğu belirlendi (\*p<0,05).



1400 Şekil 47. Korteks (A) ve talamustaki (B) IL-6 (pg/ml) düzeyleri

1401 **4.2.10. A grubundaki IL-10 Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1402 Korteks ve talamus dokuları ile yapılan çalışmalarda gruplar arasında IL-10 (pg/ml) düzeyine  
1403 ilişkin farklılık gözlenmedi (Tablo 41). Yapılan istatistiksel analizlerde de istatistiksel olarak  
1404 anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Elde edilen IL-10 düzeyleri birbirine çok yakındı.

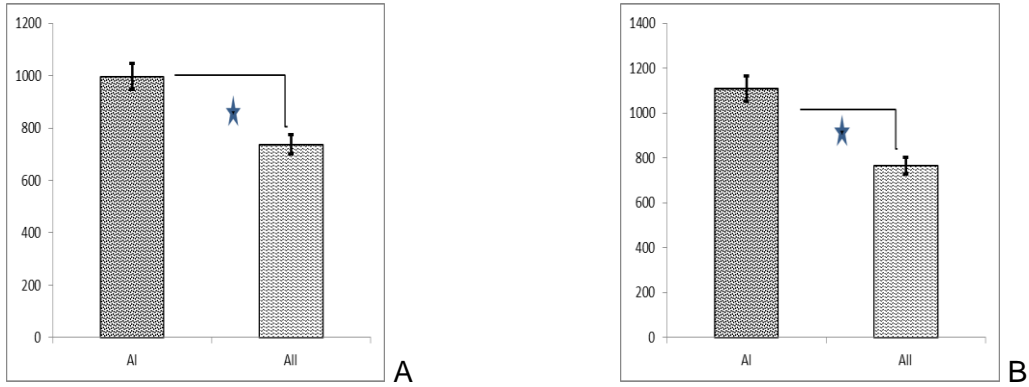
1405 Tablo 41. Korteks ve talamustaki IL-10 düzeylerinin betimsel analizleri

Gruplar		Ortalama (pg/ml)	Ort. Standart hata	Standart sapma	Çeyrekler arasındaki fark	p
Korteks	AI	197,18	7,75	29,13	41,06	>0,05
	AII	177,41	5,46	21,07	36,03	
Talamus	AI	189,05	8,13	28,97	44,91	
	AII	163,13	5,96	19,81	31,64	

1406

1407 **4.2.11. A grubundaki IL-12 Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1408 Korteks (A) ve talamusda (B) (Şekil 48) IL-12 miktarının WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki  
1409 düzeylerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi  
1410 (\*p<0,05).

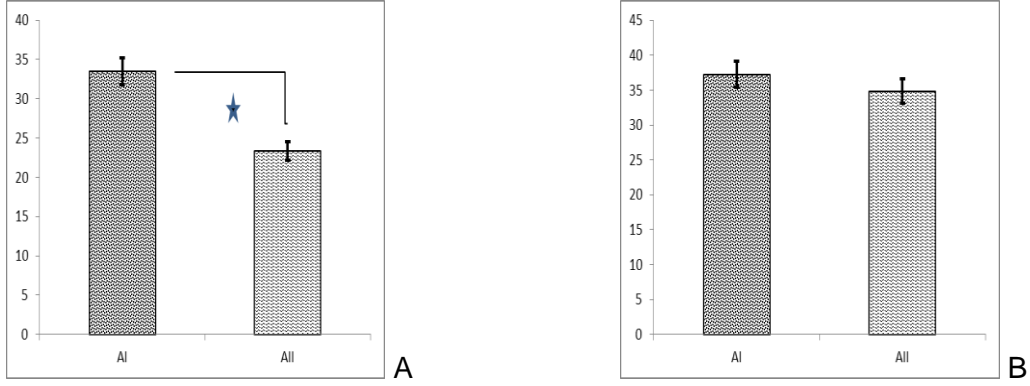


1411 Şekil 48. Korteks (A) ve talamusdaki (B) IL-12 (pg/ml) düzeyleri

1412

1413 **4.2.12. A grubundaki IL-17 Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1414 Korteks (A) ve talamusda (B) (Şekil 49) IL-17 miktarının WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki  
1415 düzeylerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi  
1416 (\*p<0,05).

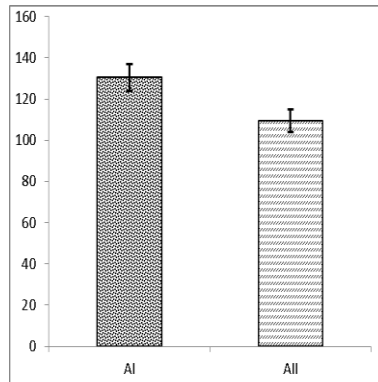


1417 Şekil 49. Korteks (A) ve talamusdaki (B) IL-17 (ng/ml) düzeyleri

1418

1419 **4.2.13. A grubundaki TGFβ Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1420 Korteksde TGFβ'nın WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki düzeylerine bakıldığında gruplar  
1421 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı (Şekil 50) ancak WAG/Rij sıçanlarda  
1422 miktarının daha yüksek olduğu belirlendi. Talamus dokusunun küçük olması nedeniyle tüm  
1423 parametreler çalışılmadı. Ancak projemizde beyin dokusunda ifadesi kullanıldığı için TGFβ  
1424 (pg/ml) yalnızca kortekste çalışıldı.



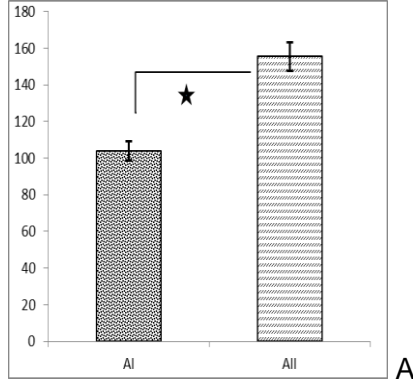
1425

1426 Şekil 50. Korteksdeki TGFβ (pg/ml) düzeyleri

1427

1428 **4.2.14. A grubundaki IFN $\gamma$  Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1429 Korteksde (Şekil 51) IFN $\gamma$ 'nın WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki düzeylerine bakıldığında  
1430 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi (\* $p < 0,05$ ). Talamus  
1431 dokusunun küçük olması nedeniyle tüm parametreler çalışılmadı. Ancak projemizde beyin  
1432 dokusunda ifadesi kullanıldığı için IFN $\gamma$  yalnızca kortekste çalışıldı.

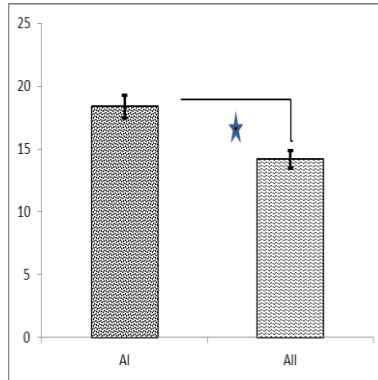


1433 Şekil 51. Korteksdeki IFN $\gamma$  (pg/ml) düzeyleri

1434

1435 **4.2.15. A grubundaki NGF Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1436 Korteksdeki (Şekil 52) NGF'nin WAG/Rij ve Wistar sıçanlardaki düzeylerine bakıldığında  
1437 gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi (\* $p < 0,05$ ).  
1438 Talamus dokusunun küçük olması nedeniyle tüm parametreler çalışılmadı. Ancak projemizde beyin  
1439 dokusunda ifadesi kullanıldığı için NGF yalnızca kortekste çalışıldı.

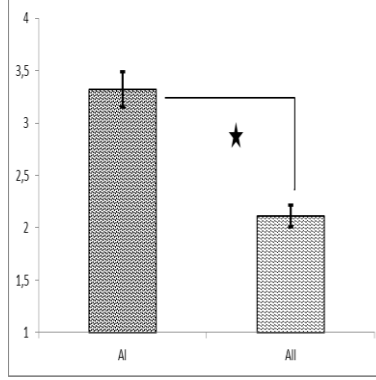


1440 Şekil 52. Korteksdeki NGF (ng/ml) düzeyleri

1441

1442 **4.2.16. A grubundaki NFkB Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1443 Gruplar arasında korteksdeki (Şekil 53) NFkB düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak  
1444 anlamlı fark saptandı (\* $p < 0,05$ ). Wistar sıçanların korteks bölgesinde NFkB yoğunluğunun  
1445 WAG/Rij sıçanlara göre oldukça düşük olduğu görüldü. Talamus dokusunun küçük olması  
1446 nedeniyle tüm parametreler çalışılmadı. Ancak projemizde beyin dokusunda ifadesi  
1447 kullanıldığı için NFkB yalnızca kortekste çalışıldı.



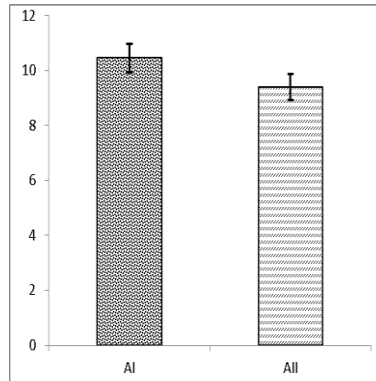
1448 Şekil 53. Korteksdeki NFkB (ng/ml) düzeyleri

1449

1450 **4.2.17. A grubundaki p38/MAPK Düzeylerinin Karşılaştırılması**

1451 Gruplar arasında korteksdeki p38/MAPK düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak  
1452 anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil 54). Talamus dokusunun küçük olması nedeniyle tüm  
1453 parametreler çalışılmadı. Ancak projemizde beyin dokusunda ifadesi kullanıldığı için  
1454 p38/MAPK yalnızca kortekste çalışıldı.

1455



1456

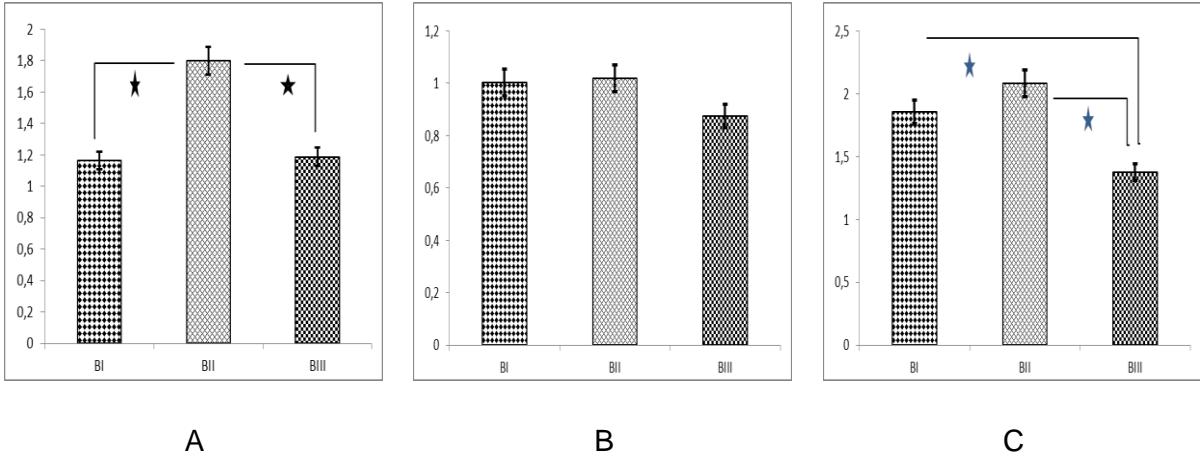
1457 Şekil 54. Korteksdeki p38/MAPK (ng/ml) düzeyleri



1458 **4.3. Apelin-12 enjeksiyonunun Absans epilepsideki etkilerinin değerlendirildiği grup**

1459 **4.3.1. B Grubundaki Apelin-12 Düzeylerinin ELISA İle Değerlendirilmesi**

1460 Apelin-12 uygulamasının yapıldığı grupta korteksdeki (Şekil 55.A) Apelin-12'nin düzeyleri  
1461 grup içinde karşılaştırıldığında B1 grubu ile B2 grubu ve B2 ile B3 arasında istatistiksel  
1462 olarak anlamlı olduğu belirlendi (\* $p < 0,05$ ). Ancak talamus (Şekil 55.B) dokusunda  
1463 istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı. Serum örneklerinde (Şekil 55.C) ise B1 ve B3, B2  
1464 ve B3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (\* $p < 0,05$ ).



1465 Şekil 55. B grubunun korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerinde Apelin-12 (ng/ml)  
1466 düzeyleri

1467 **4.3.2. B grubundaki Apelin-12 Düzeylerinin İmmunohistokimya İle Değerlendirilmesi**

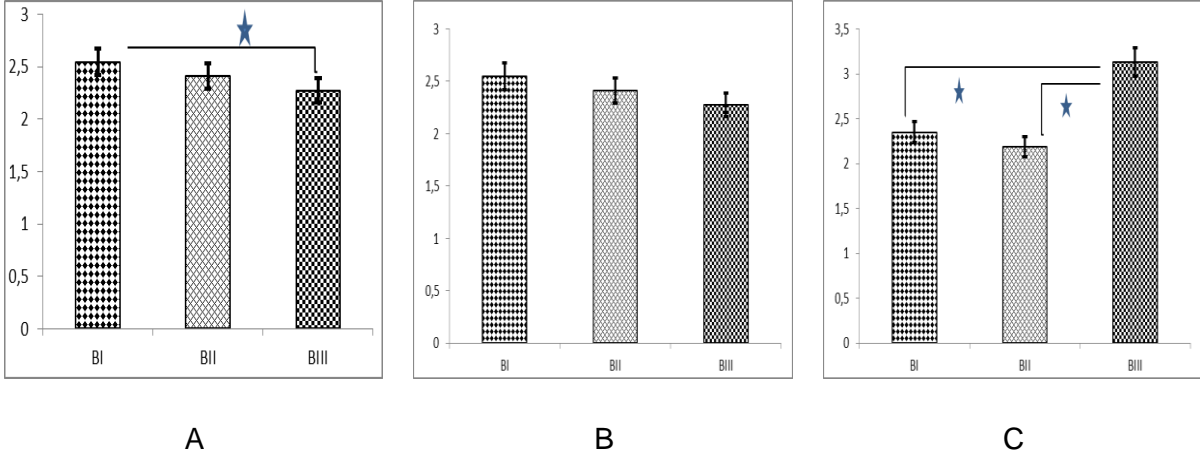
1468 Korteks (Resim 7) ve talamus (Resim 8) bölgelerinde gruplar arasında Apelin-12  
1469 yoğunluğunda farklılıklar vardı. Her iki doku grubunda da B3 grubunda Apelin-12 düzeyinde  
1470 düşüklük saptandı. Ancak yapılan istatistiksel analizlerde anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

1471 Resim 7. Kortekste Apelin-12 immunoreaktivitesinin B1, B2 ve B3 gruplarında gösterilmesi  
1472 Mikrograflarda ok ile işaretli bölgede Apelin-12 için immunohistokimyasal reaksiyon  
1473 izlenmektedir. (bar = 50  $\mu\text{m}$ ) YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
1474 YÜKLENDİ.

1475 Resim 8. Talamusta Apelin-12 immunoreaktivitesinin B1, B2 ve B3 gruplarında gösterilmesi  
1476 Mikrograflarda ok ile işaretli bölgede Apelin-12 için immunohistokimyasal reaksiyon  
1477 izlenmektedir. (bar = 50  $\mu\text{m}$ ) YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
1478 YÜKLENDİ.

1479 **4.3.3. B Grubundaki Sitokrom C Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

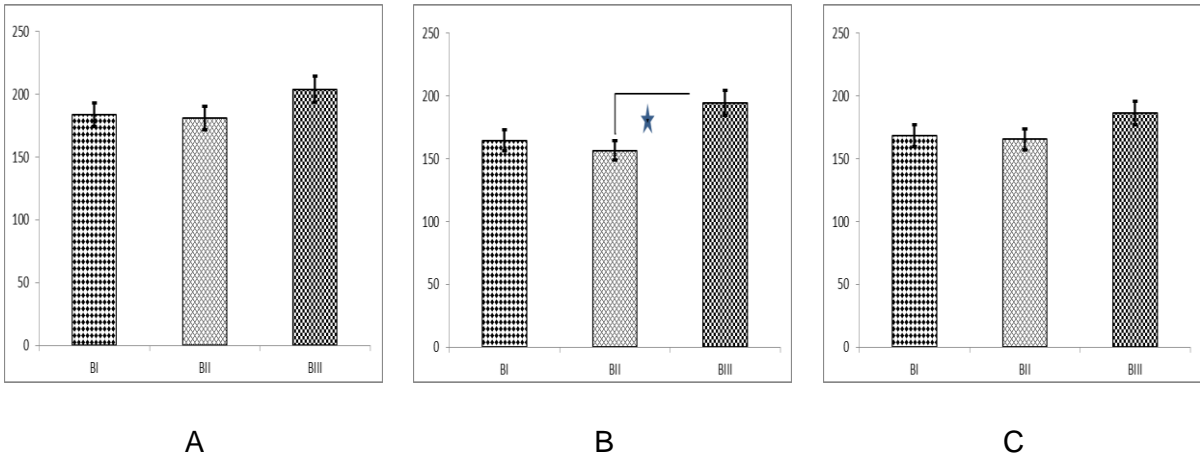
1480 Apelin-12 uygulamasının yapıldığı grupta korteks ve talamustaki (Şekil 56.A) sitokrom C'nin  
 1481 düzeyleri grup içinde karşılaştırıldığında BII ile BIII arasında istatistiksel olarak anlamlı  
 1482 olduğu belirlendi (\* $p < 0,05$ ). Serum örneklerinde (Şekil 56.B) ise BI ve BIII, BII ve BIII grupları  
 1483 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (\* $p < 0,05$ ).



1484 Şekil 56. B grubunda Korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerinde Sitokrom C (ng/ml)  
 1485 düzeyleri

1486 **4.3.4. B Grubundaki TNF $\alpha$  Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

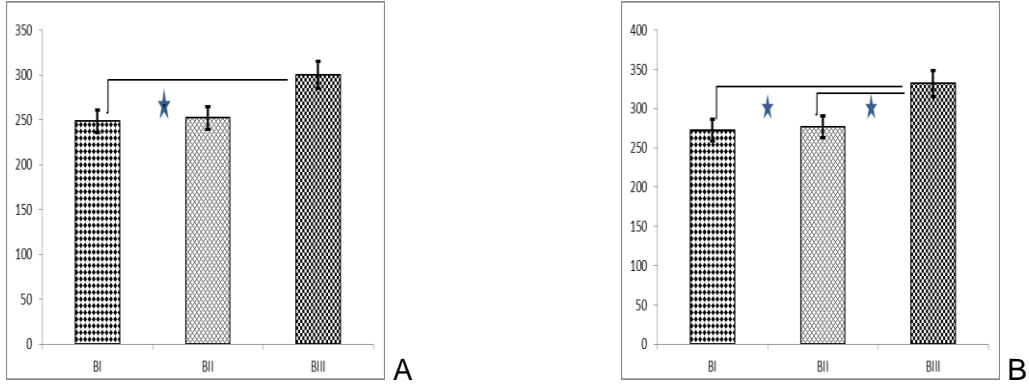
1487 Korteks (A) ve talamus (B) (Şekil 57) bölgelerinde gruplar arasında TNF $\alpha$  miktarları  
 1488 karşılaştırıldığında korteksde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülürken  
 1489 talamusta BII ve BIII grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu bulundu  
 1490 (\* $p < 0,05$ ). Serum örnekleri (C) arasında da istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı.



1491 Şekil 57. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerinde TNF $\alpha$  (pg/ml)  
 1492 düzeyleri

#### 1493 4.3.5. B Grubundaki IL-1 $\alpha$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi

1494 Korteks dokusunda IL-1 $\alpha$  ELISA sonucu ekipman kaynaklı bir prosedür hatası nedeniyle elde  
1495 edilemedi. Talamusda (Şekil 58.A) gruplar arasında IL-1 $\alpha$  miktarları karşılaştırıldığında, BI ve  
1496 BIII grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (\* $p < 0,05$ ). Serumda (Şekil  
1497 58. B) ise BI ve BIII, BII ve BIII örnekleri arasında da istatistiksel olarak bir anlamlı bir fark  
1498 bulundu (\* $p < 0,05$ ).

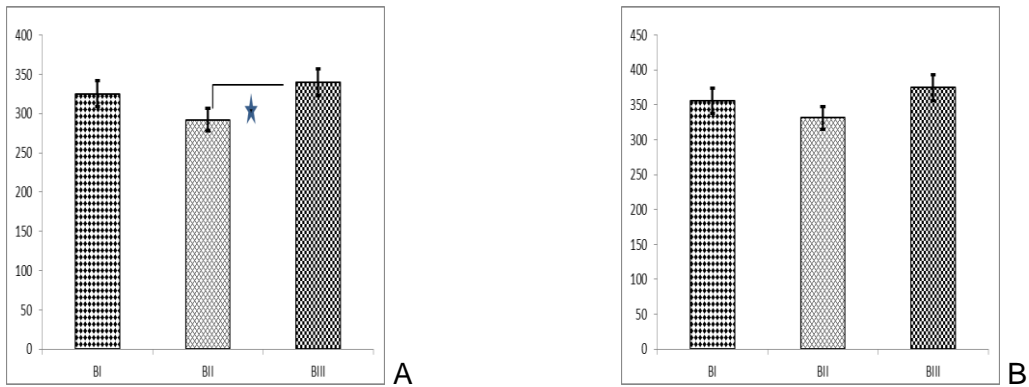


1499 Şekil 58. B grubunun talamus (A) ve serum (B) örneklerinde IL-1 $\alpha$  (pg/ml) düzeyleri

1500

#### 1501 4.3.6. B Grubundaki IL-1 $\beta$ Düzeylerinin Değerlendirilmesi

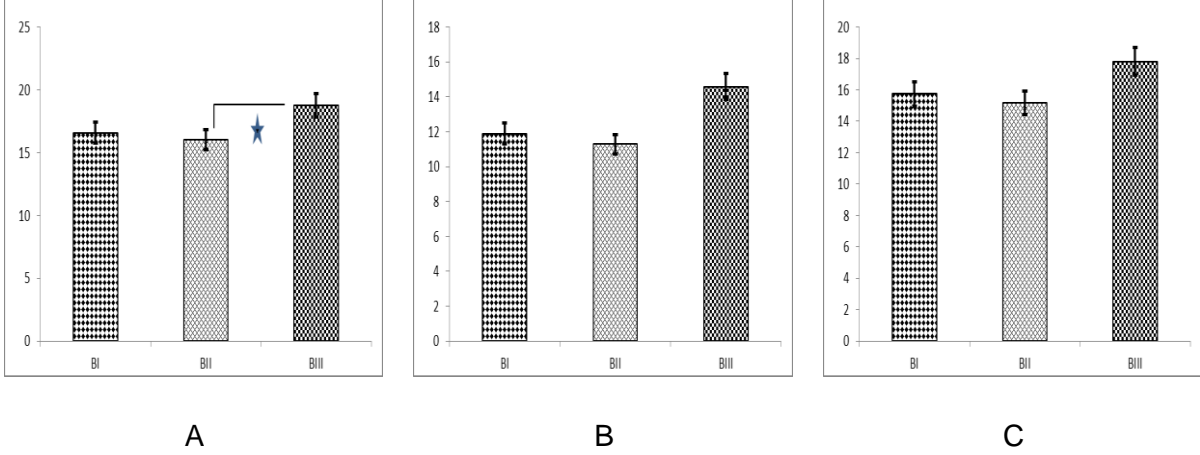
1502 Korteksde (Şekil 59.A) gruplar arasında IL-1 $\beta$  miktarları karşılaştırıldığında, BII ve BIII  
1503 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (\* $p < 0,05$ ). Talamus dokusunun  
1504 küçük olması nedeniyle tüm parametreler çalışılmadı. Ancak projemizde beyin dokusunda  
1505 ifadesi kullanıldığı için IL-1 $\beta$  korteks ve serum örneklerinde çalışıldı. Serum örneklerinde  
1506 (Şekil 57.B) ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.



1507 Şekil 59. B grubunda korteks (A) ve serum (B) örneklerinde IL-1 $\beta$  (pg/ml) düzeyleri

1508 **4.3.7. B Grubundaki IL-2 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

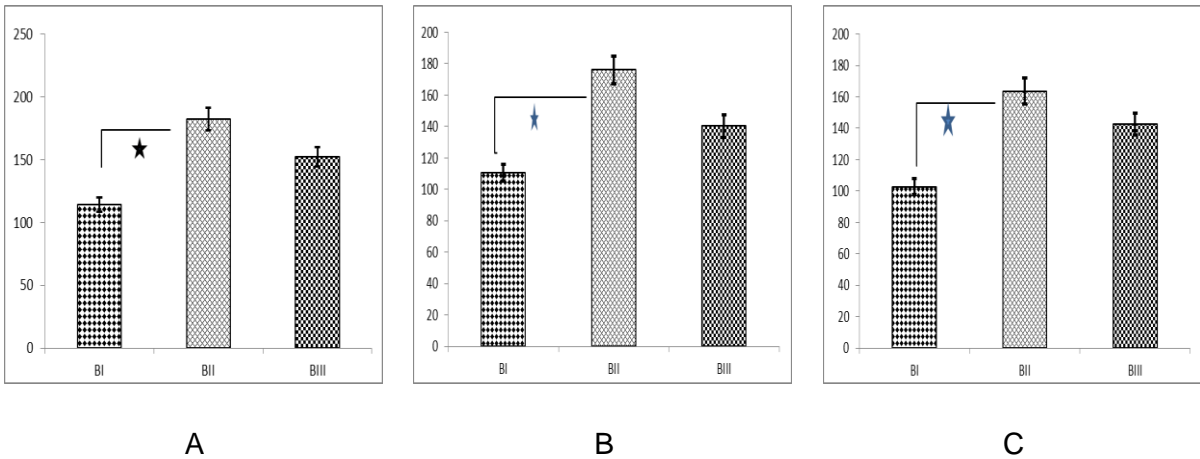
1509 Korteksde gruplar arasında IL-2 miktarları karşılaştırıldığında, BII ve BIII grupları arasında  
1510 istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (\* $p < 0,05$ ). Talamus ve serum örneklerinde gruplara  
1511 rasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. (Şekil 60).



1512 Şekil 60. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-2 (ng/ml)  
1513 düzeyleri

1514 **4.3.8. B Grubundaki IL-4 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

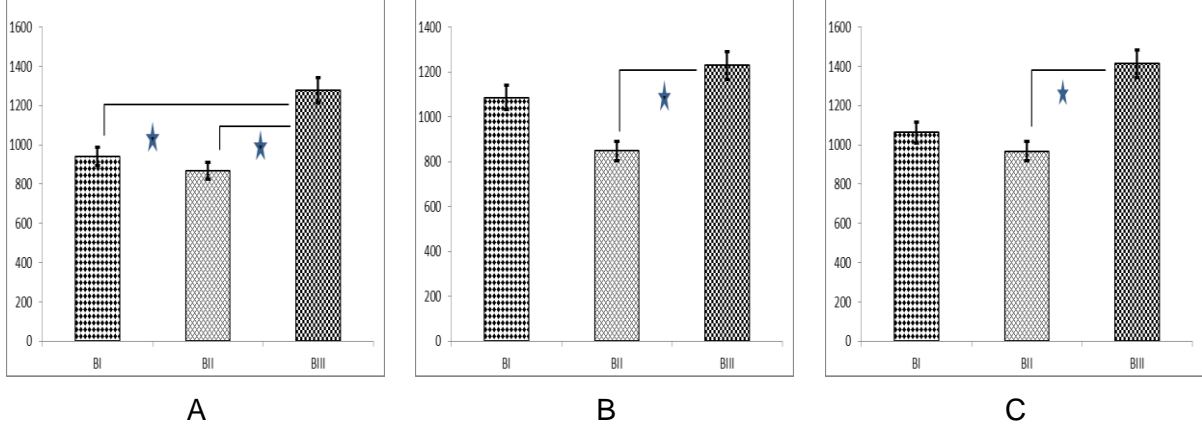
1515 Korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerinde çalışma grupları için IL-4 miktarları  
1516 karşılaştırıldığında, BI ve BII grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı  
1517 olduğu gözlemlendi (\* $p < 0,05$ ) (Şekil 61).



1518 Şekil 61. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-4 (pg/ml)  
1519 düzeyleri

#### 1520 4.3.9. B Grubundaki IL-6 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

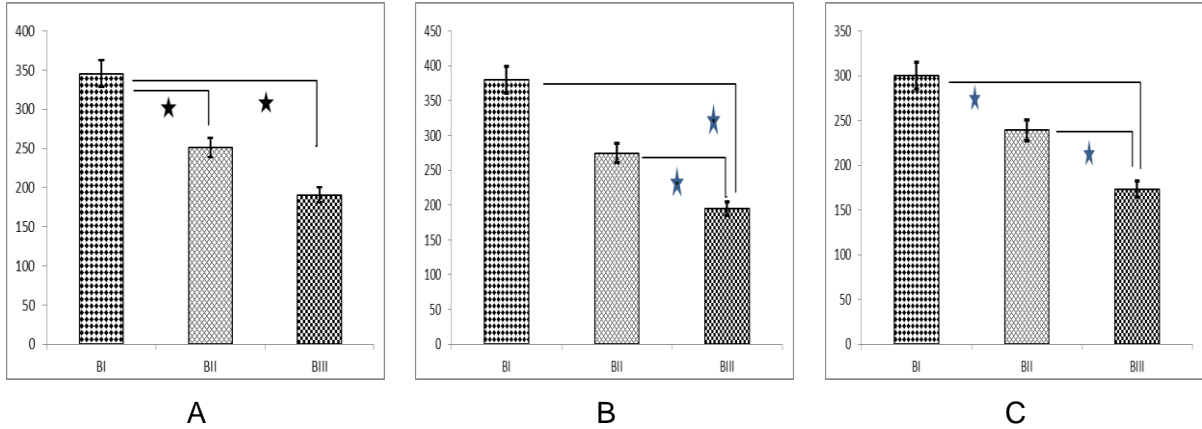
1521 Apelin-12 uygulamasının yapıldığı grupta korteksdeki IL-6'nın düzeyleri grup içinde  
1522 karşılaştırıldığında BI grubu ile BIII grubu ve BII ile BIII arasında istatistiksel olarak anlamlı  
1523 olduğu belirlendi (\* $p < 0,05$ ). Talamusda BII ile BIII grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı  
1524 bir fark bulundu (\* $p < 0,05$ ). B grubunun serumlarındaki IL-6 düzeyleri karşılaştırıldığında ise  
1525 BII ile BIII grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (\* $p < 0,05$ ). (Şekil 62)



1526 Şekil 62. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-6 (pg/ml)  
1527 düzeyleri

#### 1528 4.3.10. B Grubundaki IL-10 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

1529 Korteksde IL-10'nun düzeyleri grup içinde karşılaştırıldığında BI grubu ile BII grubu ve BI ile  
1530 BIII arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi (\* $p < 0,05$ ). Talamusda ise BI ile BIII  
1531 ve BII ile BIII grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (\* $p < 0,05$ ). Serum  
1532 örneklerinde ise BI ve BIII, BII ve BIII grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark  
1533 saptandı (\* $p < 0,05$ ). (Şekil 63)



1534 Şekil 63. B grubunda korteks (A), talamus (B) ve serum (C) örneklerindeki IL-10 (pg/ml)  
1535 düzeyleri

1536 **4.3.11. B Grubundaki IL-12 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1537 B grubunda IL-12 için korteks, talamus ve serum örneklerinde yapılan çalışmaların sonuçları  
1538 istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bu veriler daha  
1539 önceki bölümlerde sunulduğu için burada tekrar verilmemiştir.

1540

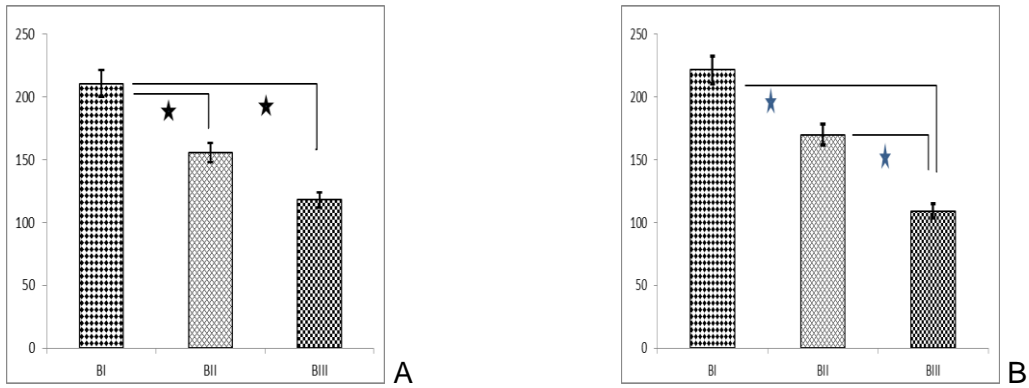
1541 **4.3.12. B Grubundaki IL-17 Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1542 Korteks, talamus ve serum örnekleri ile yapılan IL-17 ELISA çalışmalarında her üç grup için  
1543 istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. Söz konusu veriler daha önceki  
1544 bölümlerde sunulduğu için burada tekrar verilmemiştir.

1545

1546 **4.3.13. B Grubundaki TGFβ Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1547 Korteks (A) ve serum (B) örneklerinde (Şekil 64) TGFβ'nın düzeyleri için karşılaştırıldığında  
1548 BI grubu ile BII grubu ve BI ile BIII arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi  
1549 (\*p<0,05). Betimsel veriler önceki bölümlerde sunulduğu için tekrar olmaması açısından  
1550 burada ifade edilmedi.



1551 Şekil 64. B grubunda korteks (A) ve serum (B) örneklerinde TGFβ (pg/ml) düzeyleri

1552 **4.3.14. B Grubundaki IFNγ Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1553 Korteks, talamus ve serum örneklerinde gruplar arasındaki IFNγ miktarı açısından  
1554 istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

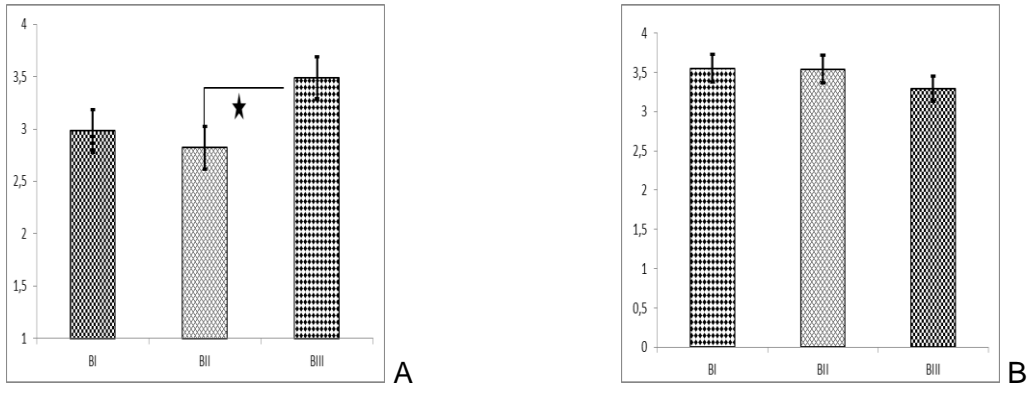
1555

1556 **4.3.15. B Grubundaki NGF Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1557 Korteks ve serum örnekleri ile yapılan çalışmalarda gruplar arasındaki NGF miktarı  
1558 açısından küçük farklılıklar saptandı ancak yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı bir  
1559 fark olmadığı görüldü.

1560 **4.3.16. B Grubundaki NFkB Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1561 Korteks (A) ve serum (B) örneklerinde (Şekil 65) gruplar arasındaki NFkB miktarı açısından  
1562 irdelendiğinde, korteks dokusunda BII ve BIII grupları arasında istatistiksel farklılık saptandı.  
1563 Ancak serum gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.



1564 Şekil 65. B grubunda korteks (A) ve serum (B) örneklerindeki NFkB (ng/ml) düzeyleri

1565 **4.3.17. B Grubundaki p38/MAPK Düzeylerinin Değerlendirilmesi**

1566 Korteks dokusu ve serum örneklerinde yapılan ELISA çalışmalarında gruplar arasındaki  
1567 p38/MAPK miktarı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı.

1568 **4.4. Western Blot Sonuçları**

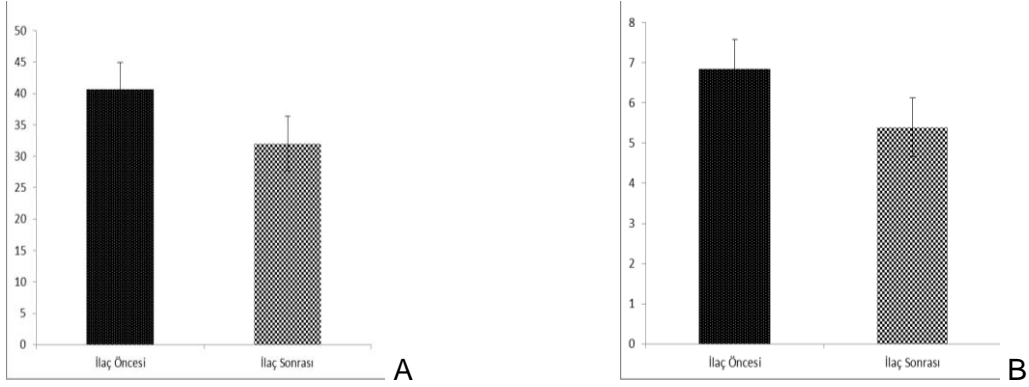
1569 Elde edilen ELISA sonuçlarında p38MAPK protein düzeyleri için korteks grupları arasında  
1570 istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanamamıştır ( $p > 0,05$ ) Ancak NFkB'nin  
1571 ekspresyonunda görülen anlamlılık Western blot analizi ile de teyit edilmiştir (Resim 9). Bu  
1572 durum literatürde ilk kez ifade bulacaktır. Proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2 ve  
1573 IL-6) miktarındaki artış NFkB ile ilişkili olabilir. Zira NFkB ve proinflamatuvar sitokinlerin  
1574 düzeyleri arasında benzerlik bulunmuştur.

1575 Resim 9. Tüm grupların korteksindeki NFkB'nin protein düzeyinin Western blot yöntemi ile  
1576 gösterilmesi. YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ

#### 1577 4.5. EEG Sonuçları

1578 EEG kayıtlarından elde edilen veriler, Apelin-12 enjeksiyonu öncesi ve sonrası durumlar için  
1579 karşılaştırıldı. Enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası alınan EEG kayıtlarında ortalama  
1580 nöbet gücü, ortalama maksimum güç frekansı, ortalama minimum güç frekansı arasında  
1581 istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Apelin-12 enjeksiyonu öncesi ve  
1582 sonrası EEG'deki DDD'lerin sayıları (Şekil 66A) karşılaştırıldığında  $p=0,05$  bulundu ve sınırda  
1583 bir değer olup göreceli anlamlı olarak kabul edildi. Ayrıca ilaç öncesi ve ilaç sonrası  
1584 DDD'lerin sürelerinde (Şekil 66B) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ( $p<0,02$ ).

1585



1586 Şekil 66. Apelin-12 enjeksiyonu öncesi ve sonrası DDD'lerin sayıları (A) ve DDD'lerin  
1587 sürelerinin (B) Apelin-12 enjeksiyonu öncesi ve sonrası değişimi.

1588

1589 Bulgularımıza göre Apelin-12 enjeksiyonu absans epilepsili sıçanlarda nöbet süresini ve  
1590 nöbetler sırasında gözlenen diken aktivite sayısını anlamlı olarak azaltmıştır. İncelenen diğer  
1591 dalga dinamiklerinde Apelin-12 enjeksiyonunun anlamlı bir etkisi gözükmemektedir. Bunlara  
1592 göre, Apelin-12, nöbet dinamiklerini etkilemeden nöbetler üzerinde baskılayıcı bir etki  
1593 göstermektedir.

1594



1595

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

1596 Apelin-12' nin absans epilepsideki öneminin ortaya konulması amaçlanarak tamamlanmış  
1597 olan bu çalışmada; Apelin-12'nin absans epilepsinin genetik sıçan modeli olan WAG/Rij  
1598 sıçanlarda görülen nöbet paterni üzerine olan etkisinin yanı sıra WAG/Rij sıçanlardaki  
1599 absans nöbetlerin gelişiminin altında yatan mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır. Klinik  
1600 ve prelinik çalışmalarda absans nöbetlerin EEG bulgusu olan DDD'lerin oluşumunda  
1601 talamus ve neokorteksin birlikte katıldığına gösterilmiş olmasından dolayı bu çalışmada  
1602 korteks ve talamus beyin bölgeleri olarak seçilmiştir (Gloor ve Fariello, 1988; Meeren vd.,  
1603 2005). Ayrıca bu çalışmada olasılık olarak incelenen, Apelin-12 uygulananın epilepsi  
1604 gelişimine yatkınlığın öngörülmesini sağlayacak olan yeni biyolojik işaretlerin kanda var olup  
1605 olmadığını belirlemek amacıyla Apelin-12 enjeksiyonu yapılan grupta serum örnekleri de  
1606 çalışılmıştır.

1607 Çalışmamızın A grubunda absans epilepsinin poligenetik sıçan modeli olan WAG/Rij  
1608 sıçanların farklı dokularında Apelin-12 ve sitokin ekspresyonunun değişimleri belirlenmiş,  
1609 Apelin-12 düzey değişimlerinin beyin dokusundaki inflamatuvar süreç değişimleriyle ilişkisi  
1610 saptandı. Bu aşamada WAG/Rij sıçanlarda IL-2, IL-6, IL-12, IL-17 gibi proinflamatuvar  
1611 sitokinlerin düzeylerinin Wistar kontrol sıçanlarına göre istatistiksel olarak anlamlı olacak  
1612 şekilde yüksek olduğu bulundu. Verilerimizle uyumlu olarak literatürde birçok araştırma  
1613 bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada pilokarpine indüklenen status epileptikusdan sonra  
1614 hipokampusdaki glial ve perivasküler hücrelerde IL-6 ekspresyonunda bir artış bulunmuştur  
1615 Jankowsky vd. (2000). İnsanlarda tonik klonik nöbetlerden sonraki 72 saat içinde IL-6'nın  
1616 plazma konsantrasyonunun epileptik hastalarda anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir  
1617 Peltola vd. (2002). Dolayısıyla verilerimiz literatürdeki sonuçlara genel anlamda epileptik  
1618 nöbetler adına özel anlamda da absans epilepsi adına yeni veriler sunarak katkı  
1619 sağlamaktadır. İlginç bir bulgu olarak hem ELISA hem de immunohistokimyasal analizlerde  
1620 Apelin-12'nin düzeyinin WAG/Rij sıçanlarda düşük olduğu saptanmıştır. Bu bulgu çalışma  
1621 ekibimiz tarafından literatüre ilk kez sunulmuş olacaktır.

1622 Çalışmamızın B grubunda absans epilepsinin poligenetik sıçan modeli olan WAG/Rij  
1623 sıçanlara Apelin-12 uygulananı ile IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, TNF  $\alpha$ , gibi proinflamatuvar  
1624 sitokinlerin azaldığı bulundu. Ayrıca antiinflamatuvar özellik gösteren IL-4 korteks, talamus ve  
1625 serumda düşük çıktı. Diğer antiinflamatuvar sitokinlerden olan IL-10 ve TGF- $\beta$  ise korteks,  
1626 talamus ve serumda Apelin-12 uygulananı ile artmıştır. Bulgularımız Apelin-12'nin  
1627 antiinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarmasının yanı sıra (daha etkin olarak)  
1628 proinflamatuvar sitokinlerin salınımını da azaltarak epilepsideki nöbetlerin sayı ve süresini

1629 azalttığını göstermektedir. İlginç olarak ise bulgularımız Apelin-12'nin proinflamatuvar genlerin  
1630 bir regülatörü olarak bilinen NFkB'nin aktivasyonunu düzenleyerek/baskılayarak,  
1631 proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  'ı da azaltarak epileptik nöbetlerde  
1632 antikonvulsan etki gösterdiğini desteklemektedir. Bu bulgu da çalışma ekibimiz tarafından  
1633 literatüre ilk kez sunulmuş olacaktır.

1634 Son çalışmalarda epilepsi ile inflamatuvar mekanizmaların ilişkisi incelenmektedir. Fakat bu  
1635 alanda birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen, nöbet ile aktiflenen sitokin kaskadının  
1636 mekanizması hala bilinmemektedir. Sitokinler fizyolojik koşullarda sağlıklı beyin dokusunda  
1637 çok düşük düzeylerde eksprese olmaktadır. Epileptik aktivite esnasında kemirgenlerin beyin  
1638 dokusunda birkaç proinflamatuvar sitokin (kemokinler, sitokinler, TLR, NFkB (Resim 10),  
1639 prostaglandinler, komplemant faktörleri, hücre adhezyon molekülleri) hızlı bir şekilde  
1640 indüklendiği gösterilmiştir Rao vd. (2009).

1641 Resim 10. Epileptik beyin dokusundan salınan inflamatuvar moleküllerden NFkB'nin NMDA  
1642 reseptörleri üzerine olan etkisi Kleen ve Holmes (2010). YER SORUNU NEDENİYLE EK  
1643 DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ

1644 Literatürde MSS'de glial hücrelerin epilepsideki nöbetlerin altında yatan hipereksitabilite  
1645 fenomeninde fonksiyonel bir role sahip olabileceği öne sürülmektedir Vezzani (2008).  
1646 Epileptik beyinin, astrositlerde görülen fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler ve astroglotik  
1647 reaksiyonlar ile karakterize olduğu da literatürde belirtilmektedir Seifert vd. (2006),  
1648 Yamamura vd. (2013). Bununla birlikte astrositlerden salınan glutamatin epileptiform  
1649 nöbetleri tetikleyen senkronize deşarjların oluşmasında önemli rol oynadığı vurgulanmaktadır  
1650 (Tian vd., 2005; Yamamura vd., 2013). Glial hücrelerin beyindeki immun sisteme katıldığıının  
1651 bulunması ile bazı nöbetlerin beyinde immun yanıtla neden olabileceği de ileri  
1652 sürülmektedir Rodgers vd. (2009). Nöbetlerin indüklemediği glial aktivasyonun ve  
1653 proinflamatuvar sitokinlerin up regülasyonunun ya direk olarak glutamaterjik nörotransmisyon  
1654 ile etkileşerek ya da indirekt olarak gen transkripsiyonunu aktive ederek nöronal uyarılmaya  
1655 ve nöronal hasara neden olabileceği çeşitli deneysel verilerle vurgulanmaktadır. Keza  
1656 sitokinlerin direkt intraserebral enjeksiyonunun nöbet aktivitesini kötüleştirdiği bildirilmiştir  
1657 Choi ve Koh (2008). Enfeksiyonu takiben periferik olarak veya lokal bir hasar ile MSS'de  
1658 mikroglia, astrosit ve nöronlar aktive olmaktadır. Bu hücrelerden de IL-1beta, IL-1R1 ve  
1659 TLR4'ün aktivasyonu aracılığıyla, nöron ve glialar gibi hedef hücrelerde (inflamatuvar kaskadı  
1660 oluşturan HMGB1 benzeri tehlike sinyalleri gibi) proinflamatuvar sitokinler salınmaktadır.  
1661 Nöronlarda sinyalin aktiflenmesi sonucunda NR2B alt biriminin fosforilasyonu ile ilişkili olan  
1662 seramid/Src aracılığıyla, NMDA reseptörlerinin Ca<sup>++</sup> akışında hızlı bir artış meydana

1663 gelmektedir. Uzun dönemde ise epileptogenezdeki hem moleküler hem hücrel  
1664 değişiklikleri içerecek şekilde transkripsiyon genlerini aktifleyerek, nöbet eşiğini düşürmekte  
1665 ve beyin inflamasyonunu sürekli kılmaktadır. IL1R/TLR sinyalinin aktiflenmesi ile başlayan  
1666 beyin inflamasyonu, nöronal uyarılmanın eşiğinde azalmayı indükleyerek nöbetlerin  
1667 üretilmesine neden olmaktadır. Nöbetlerin tekrarlaması epilepsinin gelişmesine katkısı olan  
1668 kısır döngüleri oluşturarak daha ileri inflamasyon süreçlerini aktiflemektedir Vezzani vd.  
1669 (2011b). Dolayısıyla çalışmamızın ilk aşamasında WAG/Rij sıçanlarda Wistar sıçanlara göre  
1670 yüksek düzeyde tespit edilen proinflamatuvar ajanlar absans epilepsideki talamokortikal  
1671 döngünün inflamatuvar sinyallerden etkilendiğini desteklemektedir.

1672 Epileptik aktivite sırasında beyinde proinflamatuvar sinyallerin hızlı bir şekilde indüklendiği  
1673 bildirilmektedir. Bu sinyaller; sitokinler, kemokinler, prostaglandinler, TLR, NFkB ve hücre  
1674 adhezyon molekülleridir Bu proinflamatuvar sinyallerin nöbetlerin öncesinde mi yoksa  
1675 nöbetleri takiben mi eksprese edildikleri hala tam olarak bilinmemektedir Vezzani (2005).  
1676 Üstelik bu proinflamatuvar sitokinlerin beyin dokusundaki glial hücreler tarafından  
1677 sentezlendiği gösterilmiştir Vezzani vd. (2008).

1678 NFkB apoptozis ve hücre proliferasyonunun kontrolünde etkin bir rol oynamaktadır. Bu  
1679 etkisinin yanısıra immun yanıtların, inflamatuvar süreçlerin ve akut faz yanıtlarının  
1680 düzenlenmesinde transkripsiyon faktörü olduğu bilinmektedir Rayet ve Gélinas (1999).  
1681 Endotoksin veya gram negatif bakteriden türetilmiş LPS ile NFkB'nin aşırı aktivasyonu  
1682 sonucunda (Resim 11) TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi sitokinlerde yüksek düzeyde transkripsiyona  
1683 uğramaktadır Yang vd. (2012).

1684 Resim 11. LPS ile uyarılmış NFkB sinyal yolağı (Düz çizilmiş mavi renk ile gösterilmektedir)  
1685 ve NFkB'nin TNF-  $\alpha$  ile indüklenen pozitif feedback düzenlenmesi kesik mavi çizgiler ile  
1686 gösterilmektedir Maiti vd. (2015). YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK  
1687 SİSTEME YÜKLENDİ

1688 Makrofajların LPS ile uyarılması neticesinde hücre yüzeylerinde bulunan TLR4 reseptörleri  
1689 LPS-TLR4 kompleksini oluşturarak I $\kappa$ B $\alpha$  kinazın aktivasyonunu tetiklemiş olur bu da I $\kappa$ B $\alpha$ -  
1690 NFkB'nin fosforilasyonu ve I $\kappa$ B $\alpha$ 'nın degradasyonu, ubiquitinasyonu ile sonuçlanır. İnaktif  
1691 I $\kappa$ B $\alpha$ -NFkB'den katalitik olarak NFkB'nin salınımı nükleus içine yönlenmesine ve hedef  
1692 genlerindeki transkripsiyonunun aktiflenmesine neden olur. İnflamasyon ve immun  
1693 regülasyonda NFkB için tanımlanmış birçok hedef gen bulunmaktadır. Bunlardan  
1694 proinflamatuvar olarak en çok TNF - $\alpha$ 'dan antiinflamatuvar olarak da IL-10 çalışılmıştır Maiti vd.  
1695 (2015).

1696 LPS'nin epileptik nöbetlerde etkin bir role sahip olduğu araştırmalar ile ortaya konulmuştur.  
1697 MSS'de LPS'nin etkileri değişik glial sitokinlerin üretimini uyarılması ile ilişkili iken, direkt  
1698 etkinin hücresele düzeyde TLR aracılığıyla olmasının muhtemel olduğu bildirilmektedir. TLR4  
1699 aktivasyonu IL-1 $\beta$  gibi sitokinlerin salınımı ve sentezini tetiklemektedir Vezzani vd. (2011b).  
1700 Sonrasında da nöronların ve astrositlerin plazma membranında bulunun IL reseptörlerinin  
1701 aktive olması ile NFkB sinyal yolağı aktiflenmektedir Györffy vd. (2014). Sistemik ve beyin  
1702 inflamasyonuna neden olan LPS'nin, sistemik uygulanımı lityum pilokarpin status epileptikus  
1703 modelindeki postnatal 14 günlük sıçanlarda epileptogenezisi arttırmıştır. LPS uygulanımının  
1704 immatur sıçanlarda kindling epileptogenezisindeki evre 4'deki nöbetlerin sayı ve sürelerini de  
1705 arttırdığı ve IL1 reseptörünün antagonistinin uygulanımı ile de LPS ile artmış olan  
1706 epileptogenezideki artışın azaldığı bildirilmiştir Auvin vd. (2010). Genetik olarak epileptik  
1707 olan WAG/Rij sıçanlardaki epileptik aktivitenin intraperitoneal LPS uygulanımı ile kolaylaştığı  
1708 buna paralel olarak da sitokin düzeylerinin arttığı bulunmuştur Kovács vd. (2006). Keza  
1709 intraserebroventriküler LPS uygulanımının da WAG/Rij sıçanlardaki DDD'leri arttırdığı  
1710 bulunmuştur Kovács vd. (2011). Yeni yapılan bir çalışmada da GAERS sıçanlarda IL-1 $\beta$ 'nin  
1711 proinflatuar özelliğinin olduğu bulunmuştur Akın vd. (2011). Bu veriler 6 aylık WAG/Rij  
1712 sıçanların beyin dokusunda yüksek olarak bulunan proinflatuar sitokinlerin nedenlerini  
1713 açıklamakta ve verilerimizin literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir.

1714 Endotel hücrelerinde NFkB, beyindeki iskemik alana lökositlerin migrasyonunu indükleyen  
1715 proinflatuar sitokinlerin ve hücresele adhezyon moleküllerinin göçünü sağlayarak  
1716 proinflatuar fenotip göstermektedir. Glial hücrelerde ise NFkB, proinflatuar sitokinlerin  
1717 ekspresyonuna neden olmaktadır. Nöronlarda (Resim 12) ise apoptotik yolağın  
1718 ekspresyonunu indüklemektedir Godínez-Rubí vd. (2013). Bununla birlikte NFkB ile aktive  
1719 olan nöron spesifik sinyaller, NGF'yi aktiflemektedir. Ek olarak, nöronlar arasındaki sinaptik  
1720 transmisyon ve nöronlardaki elektriksel aktivite NFkB aktivasyonunda etkili olan bir  
1721 uyarandır. NFkB'nin nöronal uyarılabilirliği ve nöbet yatkınlığının modülasyonunda anahtar  
1722 role sahip olduğuna dair birçok kanıt bulunmaktadır Miller vd. (2014). Kainat ile indüklenmiş  
1723 nöbetleri takiben 4-16 saat içinde hipokampal nöronlarda NFkB'nin aktivitesinin arttığı  
1724 bulunmuştur Mattson ve Camandola (2001). NFkB beyinde glutamat (NMDA ve AMPA/KA  
1725 reseptörleri) aracılığıyla etki göstermektedir O'Neill ve Kaltschmidt (1997).

1726 Resim 12. Serebral iskemireperfüzyonunda aktive olan NFkB sinyal yolağının nöronlar ve  
1727 glial hücreler üzerine olan etkileri. Godínez-Rubí vd. (2013). Bcl2, B-hücresi lenfoma 2; CBF,  
1728 serebral kan akımı; COX-2, siklooksijenaz 2; Cytoc, sitokrom; ICAM, intersellüler adhezyon molekülü; Ikb, kappa  
1729 B inhibitörleri; IKK, Ikb kinaz; iNOS, indüklenbilir nitrik oksit sentaz; JNK3, c-Jun N-terminal kinaz 3; NIK, NF-  
1730  $\kappa$ B-iindükleyici kinaz; nNOS, nöronal nitrik oksit sentaz; NO, nitrik oksit; NOD, nitrik oksit donorleri; ONOO-,



1731 peroksinitrit; [n] S-nitrosilasyon YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME  
1732 YÜKLENDİ

1733 NFkB'nin beyin hasarında apoptozi düzenleyen sinyal transdüksiyon mekanizmalarına da  
1734 katkı sağladığı ifade edilmektedir Godínez-Rubí vd. (2013). Son çalışmalarda NFkB kaskadı  
1735 ile etkileşimde olan G protein aracılı sinyal sisteminin hücre proliferasyonunda ve  
1736 apoptozisde etkin olduğu vurgulanmaktadır. Bu ikili etkileşimin çeşitli düzeylerde olduğu  
1737 özellikle de G protein sinyal yolağının NFkB'nin transkripsiyon faktörünün aktivasyonunu  
1738 regüle ettiği bildirilmiştir Chen vd. (2015). G protein kaplı reseptör (GPCR) ailesini bir üyesi  
1739 olan Apelinin MSS'de eksprese olduğu ve immun sistem, nöronal korunma  
1740 mekanizmalarında fizyolojik ve patolojik etkiye sahip olduğu bilinmektedir Yang vd. (2005).  
1741 Ayrıca PI3K yolağının çok çeşitli olan upstream faktörlerinin arasında GPCR'ler (Resim 13)  
1742 bulunmaktadır Walker vd. (2013). Dolayısıyla literatürde Russo vd. (2015) tarafından hipotez  
1743 edilmiş olan bulgu tarafımızca gösterilmiştir.

1744 Resim 13. PI3K/Akt/mTOR (Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi) yolağında  
1745 GPCR'lerin gösterilmesi Walker vd. (2013). PI3K = fosfatidilinositol-3-kinaz, PTEN = Fosfataz ve tensin  
1746 homoloğu, mTOR = Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi, BAD = Bcl-2-bağımlı ölüm promotör;  
1747 FOXO1= (forkhead box O1 protein), LC3 II = Mikrotübül protein ile birleştirilmiş hafif zincir 3 II.

1748 YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ

1749 Apelin-13 iskemik hasarda hipokampal nöronları NMDA aracılı eksitotoksisteye karşı  
1750 korumaktadır, özetle nöroprotektiftir Zheng vd. (2010). Üstelik fokal serebral iskeminin sıçan  
1751 modelinde Apelin-13'ün intraserebrovasküler uygulananının beyin hasarını takiben oluşan  
1752 apoptozisi inhibe ettiği ve bu sayede koruyucu olduğu gösterilmiştir Aboutaleb vd. (2014).

1753 Memeli hücrelerindeki hücreyel apoptozisin mitokondriyal sinyal mekanizmalarından biri;  
1754 sitokrom C'nin salınımının uyarılmasıdır. Sitokrom C'nin salınımı da kaspaz kaskadını  
1755 aktiflemektedir ve sonunda da apoptozis meydana gelmektedir. Apelin-13 uygulamasının  
1756 nöronları iskeminin neden olduğu apoptozise karşı, PI3K/Akt ve ERK1/2 yolağı aracılığıyla  
1757 koruduğu gösterilmiştir Yang vd. (2014). Sitokrom C yolağının aktivasyonunun nöronal  
1758 apoptozise yol açarak epileptik hasarın oluşmasına neden olabileceği bildirilmektedir  
1759 Khurana vd. (2013). Dolayısıyla da mitokondriyal fonksiyonları regüle eden antioksidanların  
1760 kullanımının epilepside kullanımının etkili bir tedavi olabileceği önerilmektedir Xie vd. (2014).  
1761 Bulgularımıza göre sitokrom C düzeyinin absans epilepsi 6 aylık WAG/Rij sıçanlarda Wistar  
1762 kontrol sıçanlara göre hem korteks hem de talamus bölgesinde anlamlı olarak yüksek  
1763 bulunması, WAG/Rij sıçanlarda görülen DDD'lerin oluşumu esnasında bu bölgelerde

1764 mitokondriyal apoptozisin indüklendiğini desteklemektedir. Bu bulguların kaspazlar  
1765 aracılığıyla daha ayrıntılı olarak incelenerek sinyal yolağının tanımlanmasına dair yeni  
1766 çalışmaların planlanması gerekmektedir. Ayrıca epileptik nöbetler ile tetiklenen NFkB  
1767 aktivasyonunun 6 aylık WAG/Rij sıçanların beyinlerindeki proinflamatuvar sitokinlerin üretimini  
1768 arttırmış olmasının bir sonucu olarak da sitokrom C düzeyinin artmış olabileceği bu  
1769 çalışmada önerilebilir. Üstelik NGF'nin miktarının da wistar kontrollere göre daha yüksek  
1770 bulunması mikroglial NFkB'nin nöbetlerde etkin olarak salınan bir nörotropik faktör olduğunu  
1771 ve bu sayede nöronal hasara karşı koruyucu olabileceğini bir kez daha göstermektedir. Bu  
1772 bulgu da çalışmalar ile desteklenmektedir Mattson ve Camandola (2001). Ancak  
1773 çalışmamızın ikinci aşamasında kortekste Apelin-12 uygulandıktan sonra sitokrom C  
1774 seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olarak artması, Apelin-12'nin eksternal  
1775 uygulandıktan başka sinyal mekanizmalarının aracılık etmiş olabileceğini düşündürmektedir.  
1776 Ek olarak BIII grubunda saptanan düşük sitokrom C düzeyi dikkate değer olup BI ve BII  
1777 gruplarında elde edilen verilerle benzerdir. Apoptotik yolların mitokondriyal sinyal  
1778 mekanizmaları üzerinden açıklanması için ayrıntılı çalışmalar planlanmalıdır.

1779 Apelin-12 antikonvulsan etkisini NFkB sinyal yolağı aracılığıyla beyindeki nöroinflamatuvar  
1780 mediatörlerin salınımını da düzenleyerek gösterdiğini ifade edebiliriz. Apelin-12 uygulandıktan  
1781 ile korteksde NFkB'de saptanan azalmanın ELISA yöntemi ile saptanmasının yanı sıra  
1782 western blot verisi ile konfirmasyonunun sağlanması, Györfly vd. (2014) tarafından  
1783 saptanmış olan WAG/Rij sıçanlardaki kortikal ve talamik proteom datası ve/veya protein  
1784 network modellemesi ile uyumluluk göstermektedir. Bununla birlikte biz bu çalışmada Apelin-  
1785 12'nin bu etkisinde sitokrom C'lerin ekspresyonunun da katkı sağlayabileceğini önermekteyiz.

1786 Kompleks bir hastalık olan epilepsinin tedavisinde kullanılan antiepileptik ilaçlar çok yönlü  
1787 etki gösterebilmektedir. Antiepileptik tedavideki asıl amaç nöronların anormal elektriksel  
1788 ateşlenmelerinin azaltılması veya önlenmesi olduğu için, bu ilaçların etki mekanizmaları  
1789 eksitatör nöronların ve iyon akımının blokajını veya inhibitör internöronların ve iyonik  
1790 akımların yükseltilmesini içermektedir. Sıçanlarda penisilinle indüklenen nöbetlerde  
1791 ibuprofenol, parasetamol ve indometasin kullanımının nöbetleri azalttığı gösterilmiştir  
1792 Wallenstein (1987). Keza pentilentetrazol ve maksimal elektroşok ile indüklenen nöbetlere  
1793 karşı aspirinin koruyucu olduğu ve sodyum valproat ile diazepamın antikonvulsan etkisini  
1794 arttırdığı da bulunmuştur Srivastava ve Gupta (2001). Dolayısıyla birçok antiepileptik ilacın  
1795 humoral ve hücresele immunitiyi etkilediği ve inflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu  
1796 modifiye ettiği bugün bilinmektedir. Hatta bazı antiepileptik ilaçların NFkB aracılı olarak  
1797 immun modülatör etki gösterebileceği ifade edilmektedir Beghi ve Shorvon (2011). Sodyum

1798 ve kalsiyum akımlarına etki ederek mekanizmasını gösteren Valporat, immunodepresyon  
1799 yapan immunomodölatör olarak kullanılan kortikosteroidler, GABA agonisti olan propofol gibi  
1800 epilepside kullanılan tedavilerin NFkB inhibisyonuna neden olduğu ispatlanmıştır Marchi vd.  
1801 (2014). Projemizden elde edilen Apelin-12'nin antiepileptik etkisinin çeşitli antiepileptik ilaçlar  
1802 ile kombine edilerek aynı deneysel modelde incelenmesinin gerektiğini düşünmekteyiz.

1803 Apelinin GPCR olan APJ ile interaksiyonundaki, sinyal transdüksiyon mekanizmalarından  
1804 biri, Ras proteini bağımsız ancak Protein-kinaz C (PKC) bağımlı olarak gerçekleşmektedir.  
1805 Bu yolda, protein kinaz C, fosfolipaz C (PLC), Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> değiştiricileri (NHE) ve Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup>  
1806 değiştiricileri (NCE) inhibe olduğu takdirde, Apelinin etkisinin önemli derecede azaldığı  
1807 belirtilmekte ve bu etkinin pozitif inotropik etki olduğu bildirilmektedir (Falcao-Pires vd., 2005,  
1808 Szokodi vd., 2002; Ladeiras-Lopes vd., 2008). Adenilat siklaz yolunun inhibisyonuna ek  
1809 olarak Apelin, perfüzyon toksin duyarlı G protein aracılığıyla ERK'i de aktive ederek sinyal  
1810 yolağını düzenleyebilmektedir (Masri vd., 2002; Ladeiras-Lopes vd., 2008). PI3K-p70S6K  
1811 endotelial hücre proliferasyonunun kontrolü Apelinin, 2 ana mekanizmayı aktive etmesiyle  
1812 gerçekleşmektedir. Bunlardan birincisi ERK bağımlı, ikincisi ise PI3K bağımlı  
1813 mekanizmalardır. PI3K/ Akt yolağının fosforilasyondan sorumlu olduğu düşünölmektedir ve  
1814 bunun sonucunda Apelinin vazoaktif etkisinde en önemli etken olan endotelial NO sentez  
1815 aktive edilmektedir (Tatemoto vd., 2001; Ladeiras-Lopes vd., 2008).

1816 PI3K/AKT sinyal yolağının hipokampal nöronlarda ve mikroglial hücrelerde LPS uyarımı ile  
1817 sitokin salınımının yanı sıra NFkB aktivasyonunda (Resim 14) önemli olduğu bildirilmiştir  
1818 Saponaro vd. (2012), Zhao vd. (2014). Bu veriler de Apelin-12'nin etkisini absans epilepside  
1819 NFkB üzerinden gösterebileceğini desteklemektedir. PI3K/Akt yolağında sinyal  
1820 transdüksiyonuna mTOR'un da katıldığı dikkat çekmektedir.

1821 Resim 14. mTOR ve NFkB sinyal transdüksiyon yolağı Nguyen (2011).

1822 IKK: Kappa B kinaz inhibitörü, pERK: ekstraselluler sinyal düzenleyici kinaz, eIF-4E: ökaryotik translasyon  
1823 başlatıcı faktör. YER SORUNU NEDENİYLE EK DOSYA OLARAK SİSTEME YÜKLENDİ

1824 mTOR yolağının epileptogenezdeki önemi epilepsinin en yaygın genetik nedenlerinden biri  
1825 olan tüberoskleroz kompleksi (TSK) ile en iyi yansıtılmaktadır. TSK'nın fare modelinde  
1826 mTOR inhibitörleri epilepsi gelişimini ve epileptogenezle ilişkili altta yatan beyin  
1827 anormalliklerini engellerler. Artan sayıda bulgu mTOR'un diğer nedenlere bağlı gelişen  
1828 epileptogeneze de katıldığını desteklemektedir. Bunlar arasında fokal kortikal displazi,  
1829 kazanılmış beyin hasarları (status epileptikus ya da travmatik beyin hasarını takip eden  
1830 hayvan modellerinde olduğu gibi), kafa travmaları bulunmaktadır. Böylece mTOR inhibisyonu

1831 farklı epilepsi tiplerinin (genetik ve kazanılmış epilepsiler) antiepileptojenik tedavisinde  
1832 potansiyel ajan olarak görülmektedir. TSK, epilepside mTOR katılımının araştırılması için ve  
1833 mTOR inhibitörlerinin antiepileptojenik potansiyelini test etmek için model bir bozukluk olarak  
1834 kabul edilmektedir Wong (2009). Ras'ın beyinde zenginleştirici homoloğu (Rheb) mTOR'un  
1835 upstream, Akt'ın ise downstream molekülü olarak görev görür. İnsuline benzer büyüme  
1836 faktörü (IGF) ya da insülin tarafından insülin sinyalinin başlatılması, Akt'ın aktivasyonuna yol  
1837 açan PI3K'yı artırır. Akt daha sonra TSK2'yi fosforile eder ve Rheb'in, TSK1/2 tarafından  
1838 sağlanan, negatif regülasyonunu inhibe eder (TSK1/2 kompleksi Rheb için GAP olarak işlev  
1839 görür). GTP'ye bağlı Rheb'in birikmesine yol açar ve GTP bağlı Rheb mTOR'un  
1840 aktivasyonuna yol açar Aspuria ve Tamanoi, (2004).

1841 TUBİTAK tarafından 108S196 numaralı proje olarak desteklen bir önceki çalışmamızda  
1842 absans epilepsili WAG/Rij sıçanların kortikal örneklerinde de mTOR yolağına ait bir protein  
1843 (GTP-binding protein Rheb) proteom çalışması ile tespit edilerek literatüre kazandırılmış ve  
1844 mTOR sinyal yolağının absans epilepsideki önemi ortaya konulmuştur Gürol vd. (2015).  
1845 Intraserebral LPS uygulanan WAG/Rij sıçanlardaki nöbet paterni ve davranışı üzerine  
1846 olan etkilerinin moleküler mekanizmalarının araştırıldığı yeni bir çalışmada, spesifik mTOR  
1847 inhibitörü olan rapamisin LPS'nin WAG/Rij sıçanlardaki etkilerine olan katkısı  
1848 değerlendirilmiştir. Rapamisin LPS ile indüklenen absans nöbetlerdeki şiddetlenmeyi ve  
1849 depresif benzeri davranışları mTOR yolağının aktivasyonu aracılığıyla inhibe ettiği ve bu  
1850 etkinin LPS ile indüklenen IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  gibi nöroinflamatuvar sitokinlerin artışının  
1851 geciktirilmesi ve/veya söndürülmesi ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Bununla beraber aynı  
1852 çalışmada bu etkinin muhtemel sinyal mekanizmasının NFkB aktivasyonunun inhibisyonu  
1853 aracılığıyla olabileceği önerilmiştir Russo vd. (2015). Apelin-12'nin WAG/Rij sıçanlardaki  
1854 nöroinflamatuvar yolağını PI3K/Akt fosforilizasyonu üzerinden modüle ederek NFkB'yi  
1855 azaltmasının yanı sıra mTOR sinyalizasyonunu da düşürmesi ile antiepileptik etki  
1856 gösterebileceğini bize sunmaktadır. Üstelik bu bulgular Apelin-12 uygulaması ile azalmış  
1857 bulunan proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6) ELISA yöntemi ile saptanması  
1858 ile desteklenmiştir. Sonuç olarak bulgularımız Apelin-12'nin antiepileptik ve antiinflamatuvar  
1859 etki gösterdiğini işaret etmektedir. Dolayısıyla literatürde Russo vd. (2015) tarafından  
1860 hipotize edilmiş olan bulgu tarafımızca gösterilmiştir. Bu bulguların elektrofizyolojik ve  
1861 moleküler yöntemler ile ekibimiz tarafından ortaya konulması projenin en büyük başarısıdır.

1862 Sonuç olarak Apelin-12'nin epileptik nöbetlerin neden olduğu nöroinflamatuvar yanıtları NFkB  
1863 sinyal yolağı aracılığıyla önleyerek absans epilepsideki DDD'lerin sayı ve sürelerini





1864 azaltabileceğini düşünmekteyiz. Üstelik bu etkileşimde mTOR yolağının da etkin olduğunu  
1865 önermekteyiz.

1866

## 6. KAYNAKLAR

1867

1868 Aboutaleb, N., Kalalianmoghaddam, H., Eftekhari, S., Shahbazi, A., Abbaspour, H.,  
1869 Khaksari, M. 2014. "Apelin-13 inhibits apoptosis of cortical neurons following brain ischemic  
1870 reperfusion injury in a transient model of focal cerebral ischemia", *Int J Pept Res Ther*,  
1871 20,127–132.

1872 Ahbab, S., Yenigün, M. 2011. " Yağ Dokusu Hormonları, Genel Bir Bakış", *Haseki Tıp*  
1873 *Bülteni*, 49,96-98.

1874 Akin, D., Ravizza, T., Maroso, M., Carcak, N., Eryigit, T., Vanzulli, I., vd. 2011. " IL-1B is  
1875 induced in reactive astrocytes in the somatosensorycortex of rats with genetic absence  
1876 epilepsy at the onset ofspike-and-wave discharges, and contributes to their occurrence",  
1877 *Neurobiol Dis*, 44,259–269.

1878 Aspuria, P.J., Tamanoi, F. 2004. "The Rheb family of GTP-binding proteins.", *Cell Signal.*,  
1879 16,10,1105-12.

1880 Auvin, S., Shin, D., Mazarati, A., Sankar, R. 2010. " Inflammation induced by LPS enhances  
1881 epileptogenesis in immature rat and may be partially reversed by IL1RA", *Epilepsia.*,  
1882 51,3,34-8.

1883 Beghi, E., Shorvon, S. 2011. "Antiepileptic drugs and the immune system" *Epilepsia.*,  
1884 52,3,40-44.

1885 Chen, C., Gu, S., Jiang, X., Zhang, Z. 2015. "Nuclear translocation of nuclear factor kappa B  
1886 is regulated by G protein signaling pathway in arsenite-induced apoptosis in HBE cell line ",  
1887 *Environ Toxicol.* doi: 10.1002/tox.22183.

1888 Cheng, B., Chen, J., Bai, B., Xin, Q. 2012. "Neuroprotection of Apelin and Its Signaling  
1889 Pathway", *Peptides*, 37,171–173.

1890 Choi, J., Koh, S.. 2008. " Role of Brain Inflammation in Epileptogenesis", *Yonsei Med J.*,  
1891 49,1,1-18.

1892 Cobellis, L., De Falco, M., Mastrogiacomo, A. 2007. "Modulation of Apelin and APJ Receptor  
1893 in Normal and Preeclampsia-Complicate Placentas", *Histol Histopathol.*, 22, 1, 1-8.

1894 Coenen, A.M., Van Luijelaar, E.L. 2003. "Genetic Animal Models For Absence Epilepsy: A  
1895 Review Of the WAG/Rij Strain of Rats", *Behav Genet.*, 33, 6, 635-55.



- 1896 Cook, D.R., Gleichman, A.J., Cross, S.A., Doshi, S., Ho, W., Jordan-Sciutto, K.L., Lynch, D.R.,  
1897 Kolson, D.L. 2011. "NMDA Receptor Modulation By The Neuropeptide Apelin: Implications  
1898 For Excitotoxic Injury", *J Neurochem.*, 118, 6, 1113-23.
- 1899 Cooper, C.E., Brown, G.C. 1995. "The Interactions between Nitric Oxide and Brain Nerve  
1900 Terminals As Studied by Electron Paramagnetic Resonance", *Biochem Biophys Res  
1901 Commun.*, 212, 404-412.
- 1902 Crunelli, V., Leresche N. 2002. "Childhood Absence Epilepsy: Genes, Channels, Neurons  
1903 and Networks", *Nat Rev Neurosci.*, 3, 371-382.
- 1904 Falcao-Pires, I., Leite-Moreira, A.F. 2005. "Apelin: A Novel Neurohumoral Modulator of The  
1905 Cardiovascular System: Pathophysiologic Importance and Potential Use As A Therapeutic  
1906 Target", *Rev Port Cardiol.*, 24, 10, 1263-76.
- 1907 Fisher, R.S., van Emde Boas, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., Engel, J.Jr. 2005. "Epileptic  
1908 seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy  
1909 (ILAE) and International Bureau for Epilepsy (IBE)", *Epilepsia*, 46, 470-72.
- 1910 Gloor, P., Fariello, R.G. 1988. "Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ  
1911 from those of focal epilepsy", *Trends in Neuroscience*, 11, 2, 63-8.
- 1912 Godínez-Rubí, M., Rojas-Mayorquín, A.E., Ortuño-Sahagún, D. 2013. "Nitric Oxide Donors  
1913 as Neuroprotective Agents after an Ischemic Stroke-Related Inflammatory Reaction",  
1914 *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 297357, 1-16.
- 1915 Gürol, G., Demiralp, D.Ö., Yılmaz, A.K., Akman, Ö., Ateş, N., Karson, A. 2015. "Comparative  
1916 proteomic approach in rat model of absence epilepsy", *J Mol Neurosci.*, 55(3), 632-43.
- 1917 Györffy, B., Kovács, Z., Gulyássy, P., Simor, A., Völgyi, K., Orbán, G., Baracska, P., Szabó,  
1918 Z., Janáky, T., Dobolyi, A., Juhász, G., Czurkó, A., Kékesi, K.A. 2014. "Brain protein  
1919 expression changes in WAG/Rij rats, a genetic rat model of absence epilepsy after  
1920 peripheral lipopolysaccharide treatment", *Brain Behav Immun.*, 35, 86-95.
- 1921 Hills, M.D. 2007. "The Psychological and Social Impact of Epilepsy", *Neurology Asia*.  
1922 12, 1, 10-12.
- 1923 Hopkins, S.J., Rothwell, N.J. 1995. "Cytokines and the Nervous System. I: Expression and  
1924 Recognition", *Trends, Neurosci.*, 18, 2, 83-88.



- 1925 Jankowsky, J.L., Derrick, B.E., Patterson, PH. 2000. "Cytokine Responses To LTP Induction  
1926 in The Rat Hippocampus: A Comparison of in Vitro and in Vivo Techniques", *Learn Mem.*,7,  
1927 400–412.
- 1928 Jieun, C., Sookyong, K. 2008. "Role of Brain Inflammation in Epileptogenesis", *Yonsei Med*  
1929 *J.*, 49, 1, 1–18.
- 1930 Kanemoto, K., Kawasaki, J., Miyamoto, T., Obayashi, H., Nishimura, M. 2000.  
1931 "Interleukin(IL)1beta, IL-1alpha, and IL-1 Receptor Antagonist Gene Polymorphisms in  
1932 Patients with Temporal Lobe Epilepsy", *Ann Neurol*, 47,5, 571-574.
- 1933 Khaksari, M., Aboutaleb, N., Nasirinezhad, F., Vakili, A., Madjd, Z. 2012 "Apelin-13 Protects  
1934 The Brain Against Ischemic Reperfusion Injury and Cerebral Edema in A Transient Model of  
1935 Focal Cerebral Ischemia", *J Mol Neurosci.*, 48, 1, 201-208.
- 1936 Khurana, D.S., Valencia, I., Goldenthal, M.J., Legido, A. 2013. " Mitochondrial dysfunction in  
1937 epilepsy", *Semin Pediatr Neurol*, 20,3, 176–187.
- 1938 Kleen, J.K., Holmes, GL. 2010. "Taming TLR4 may ease seizures", *Nat Med.*, 16,4, 369-70.
- 1939 Kovács, Z., Czurkó, A., Kékesi, K.A., Juhász, G. 2011. "Intracerebroventricularly  
1940 administered lipopolysaccharide enhances spike-wave discharges in freely moving WAG/Rij  
1941 rats", *Brain Res Bull.*,85,6, 410-416.
- 1942 Kovács, Z., Kékesi, K.A, Szilágyi, N., Abrahám, I., Székács, D., Király, N., Papp, E.,  
1943 Császár, I., Szego, E., Barabás, K., Péterfy, H., Erdei, A., Bártfai, T., Juhász, G. 2006. "  
1944 Facilitation of spike-wave discharge activity by lipopolysaccharides in Wistar Albino  
1945 Glaxo/Rijswijk rats", *Neuroscience.*, 140,2,731-742.
- 1946 Ladeiras-Lopes, R., Ferreira-Martins, J., Leite-Moreira, AF. 2008. " The Apelinergic System:  
1947 The Role Played in Human Physiology and Pathology and Potential Therapeutic  
1948 Applications", *Arq Bras Cardiol.*, 5, 343-349.
- 1949 Lee, D.K., Lanca, A.J., Cheng, R, Nguyen, T., Ji, X.D., Gobeil, F. Jr. 2004. " Agonist  
1950 Independent Nuclear Localization of The Apelin, Angiotensin AT1, and Bradykinin B2  
1951 Receptors", *J Biol Chem.*, 279, 9, 7901-7918.
- 1952 Lehtimäki, K.A., Keränen, T., Palmio, J., Rainesalo, S., Saransaari, P., Peltola, J. 2009.  
1953 "Regulation of cerebrospinal fluid levels of cytokines after seizures: the role of IL-6 and  
1954 glutamic acid ", *Eur J Neurol.*, 16,4, e75.



- 1955 Lim, R., Barker, G., Riley, C., Lappas, M. 2013. "Apelin Is Decreased With Human Preterm  
1956 and Term Labor and Regulates Prolabor Mediators In Human Primary Amnion Cells",  
1957 *Reprod Sci.* 20,8, 957-967.
- 1958 Maiti, S., Dai W., Alaniz, R.C., Hahn, J., Jayaraman, A. 2015. " Mathematical Modeling of  
1959 Pro- and Anti-Inflammatory Signaling in Macrophages", *Processes*, 3, 1, 1-18.
- 1960 Marchi, N., Granata, T., Janigro, D. 2014. "Inflammatory pathways of seizure disorders",  
1961 *Trends Neurosci.*, 37,2, 55-65.
- 1962 Masri, B., Lahlou, H., Mazarguil, H., Knibiehler, B., Audigier, Y. 2002. "Apelin (65-77)  
1963 Activates Extracellular Signal-Regulated Kinases Via A PTX-Sensitive G Protein", *Biochem*  
1964 *Biophys Res Commun.*, 290,1, 539-545.
- 1965 Mattson, MP., Camandola, S. 2001. " NF-kappaB in neuronal plasticity and  
1966 neurodegenerative disorders", *J Clin Invest.*, 107,3, 247-254.
- 1967 Meeren, H., Van Luijtelaaar, G., Lopes da Silva, F., Coenen, A. 2005."Evolving concepts on  
1968 the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory", *Archives of Neurology*,  
1969 62(3), 371-376.
- 1970 Meral, C., Cekmez, F., Vurucu, S., Tascilar, E., Pirgon, O., Canpolat, FE., Ipcioglu, O.M.,  
1971 Aydemir, G., Aydınozu, S. 2011. "New Adipocytokines (Vaspin, Apelin, Visfatin, Adiponectin)  
1972 Levels in Children Treated With Valproic Acid", *Eur Cytokine Netw.*, 22,2, 118-122.
- 1973 Miller, J.A., Kirkley, KA., Padmanabhan, R., Liang, L.P., Raol, Y.H., Patel, M., Bialecki, R.A.,  
1974 Tjalkens, R.B. 2014. " Repeated exposure to low doses of kainic acid activates nuclear  
1975 factor kappa B (NF-κB) prior to seizure in transgenic NF-κB/EGFP reporter mice",  
1976 *Neurotoxicology.*,44, 39-47.
- 1977 Nguyen, A. 2011. " Morphoproteomics Study For A Newly-Diagnosed Diffuse Large B Cell  
1978 Lymphoma Case" Medical School at Houston, Pathology  
1979 <http://hemepathreview.com/Nguyen/DLBCL-PrognosticMarkers-Concepts.htm>,
- 1980 Son Erişim Tarihi: 31 Kasım 2015
- 1981 O'donnell, L.A., Agrawal, A., Sabnekar, P., Dichter, M.A., Lynch, D.R., Kolson, D.L. 2007.  
1982 "Apelin, An Endogenous Neuronal Peptide, Protects Hippocampal Neurons Against  
1983 Excitotoxic Injury", *J Neurochem*, 102,1905–1917.
- 1984 Onat, F. 2013. " Astrocytes and Absence Epilepsy", *Br J Pharmacol.*, 168, 5,1086–1087.



- 1985 O'Neill, LA., Kaltschmidt, C. 1997. "NF-kappa B: a crucial transcription factor for glial and  
1986 neuronal cell function", *Trends Neurosci.*, 20, 6, 252-258.
- 1987 Ozkara, C., Uzan, M., Tanriverdi, T., Baykara, O., Ekinci, B., Yeni, N., Kafadar, A., Buyru, N.  
1988 2006. "Lack of Association Between IL-1beta/Alpha Gene Polymorphisms and Temporal  
1989 Lobe Epilepsy with Hippocampal Sclerosis", *Seizure*, 15, 5, 288-291.
- 1990 Peltola, J., Laaksonen, J., Haapala, A.M., Hurme, M., Rainesalo, S., Keränen, T. 2002.  
1991 "Indicators of inflammation after recent tonic-clonic epileptic seizures correlate with plasma  
1992 interleukin-6 levels." *Seizure*, 11, 1, 44-6.
- 1993 Puffer, B.A., Sharron, M., Coughlan, C.M., Baribaud, F., Mcmanus, C.M., Lee, B. 2000. "A  
1994 Expression and Coreceptor Function of APJ For Primate Immunodeficiency Viruses",  
1995 *Virology*, 276, 435–444.
- 1996 Rao, RS., Prakash A, Medhi B. 2009. "Role of different cytokines and seizure susceptibility:  
1997 a new dimension towards epilepsy research ", *Indian J Exp Biol.*, 47, 8, 625-634.
- 1998 Ravizza, T., Lucas, S.M., Balosso, S., Bernardino, L., Ku, G., Noé, F., Malva, J., Randle,  
1999 J.C., Allan, S., Vezzani, A. 2006. "Inactivation of Caspase-1 in Rodent Brain: A Novel  
2000 Anticonvulsive Strategy ", *Epilepsia*, 47, 7, 1160-1168.
- 2001 Rayet, B., Gélinas, C. 1999. "Aberrant rel/NFkB genes and activity in human cancer",  
2002 *Oncogene.*, 18, 49, 6938-6947.
- 2003 Reaux, A., Gallatz, K., Palkovits, M., Llorens-Cortes, C. 2002. "Distribution of Apelin  
2004 Synthesizing Neurons in The Adult Rat Brain", *Neuroscience* , 113, 653–662.
- 2005 Riazi, K., Galic, M.A., Pittman, Q.J. 2010. "Contributions of peripheral inflammation to  
2006 seizure susceptibility: cytokines and brain excitability", *Epilepsy Res.*, 89, 1, 34-42.
- 2007 Rodgers, K.M., Hutchinson, M.R., Northcutt, A., Maier, S.F., Watkins, L.R., Barth, D.S. 2009.  
2008 "The Cortical Innate Immune Response Increases Local Neuronal Excitability Leading to  
2009 Seizures", *Brain.*, 132,9, 2478-2486.
- 2010 Russo, E., Andreozzi, F., Iuliano, R., Dattilo, V., Procopio, T., Fiume, G., Mimmi, S., Perrotti,  
2011 N., Citraro, R., Sesti, G., Constanti, A., De Sarro, G. 2015. "Early molecular and behavioral  
2012 response to lipopolysaccharide in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy and  
2013 depressive-like behavior, involves interplay between AMPK, AKT/mTOR pathways and  
2014 neuroinflammatory cytokine release", *Brain Behav Immun.*, 42, 157-168.



- 2015 Saponaro, C., Cianciulli, A., Calvello, R., Dragone, T., Iacobazzi, F., Panaro, MA. 2012. “  
2016 The PI3K/Akt pathway is required for LPS activation of microglial cells.” *Immunopharmacol*  
2017 *Immunotoxicol.*, 34, 5, 858-865.
- 2018 Schiffelholz, T., Lancel, M. 2001. “ Sleep Changes Induced by Lipopolysaccharide in the Rat  
2019 are Influenced by Age”, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, 280,2, 398-403.
- 2020 Schipke, C.G., Kettenmann, H. 2004. “ Astrocyte Responses to Neuronal Activity”, *Glia.*, 47,  
2021 226-232.
- 2022 Seifert, G., Schilling K., Steinhauser, C. 2006. “ Astrocyte dysfunction in neurological  
2023 disorders: a molecular perspective”, *Nat Rev Neurosci.*, 7, 194–206.
- 2024 Senturk, L. M., Seli, E., Gutierrez, L. S., Mor, G., Zeyneloglu, H. B., Arici, A. 1999.  
2025 “Monocyte chemotactic protein-1 expression in human corpus luteum”, *Molecular Human*  
2026 *Reproduction*, 5, 8, 697–702.
- 2027 Simpkin, J.C., Yellon, D.M., Davidson, S.M., Lim, S.Y, Wynne, A.M., Smith, C.C. 2007. “  
2028 Apelin-13 and Apelin-36 Exhibit Direct Cardioprotective Activity Against Ischemia–  
2029 Reperfusion injury”, *Basic Res. Cardiol.* 102, 6, 518–528.
- 2030 Sitnikova, E., Van Luijtelaar, G. 2006. “Cortical and Thalamic Coherence during Spike-Wave  
2031 Seizures in WAG/Rij Rats”, *Epilepsy Res.*, 71, 2-3, 159-180.
- 2032 Sitnikova, E., Van Luijtelaar, G. 2007. “Electroencephalographic Characterization of Spike-  
2033 Wave Discharges in Cortex and Thalamus in WAG/Rij Rats”, *Epilepsia*, 48, 12, 2296-2311.
- 2034 Sonat, F. 2009. “ Hayvanlarda epilepsi ”, *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 28, 1, 47-52.
- 2035 Srivastava, A.K., Gupta, Y.K. 2001.” Aspirin modulates the anticonvulsant effect of diazepam  
2036 and sodium valproate in pentylenetetrazole and maximal electroshock induced seizures in  
2037 mice”, *Indian J Physiol Pharmacol.*,45,4, 475-480.
- 2038 Szokodi, I., Tavi, P., Foldes, G., Voutilainen-Mylyly, S., Ilves, M., Tokola, H. 2002. “Apelin,  
2039 The Novel Endogenous Ligand of The Orphan Receptor APJ, Regulates Cardiac  
2040 Contractility”, *Circ Res.*, 91, 5, 434-240.
- 2041 Takayama, K., Iwazaki H., Hirabayashi M., Yakabi K., Ro S. 2008. “Distribution of C-Fos  
2042 Immunoreactive Neurons in The Brain After Intraperitoneal Injection of Apelin-12 in Wistar  
2043 Rats”, *Neurosci Lett.*, 431, 3, 247-250.



- 2044 Takuma, K., Baba, A., Matsuda, T. 2004. “Astrocyte Apoptosis: Implications for  
2045 Neuroprotection”, *Prog Neurobiol.*, 72, 2, 111-127.
- 2046 Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M.X., Kumaki, I., Zh. Ang, W., Kumano, K. 2001. “The  
2047 Novel Peptide Apelin Lowers Blood Pressure Via A Nitric Oxide-Dependent Mechanism”,  
2048 *Regul Pept.*, 99, 2-3, 87-92.
- 2049 Telejko, B., Kuzmicki, M., Wawrusiewicz-Kurylonek, N. 2010. “Plasma Apelin Levels and  
2050 Apelin/APJ Mrna Expression in Patients With Gestational Diabetes Mellitus”, *Diabetes Res*  
2051 *Clin Pract.*, 87, 2, 176-183.
- 2052 Tian, GF., Azmi, H., Takano, T., Xu, Q., Peng, W., Lin J vd. 2005. “An astrocytic basis of  
2053 epilepsy.”, *Nat Med.*, 11, 973–981.
- 2054 Verkhatsky, A., Kettenmann, H. 1996. “Calcium Signalling in Glial Cells”, *Trends in*  
2055 *Neurosciences.*, 19, 8, 346-352.
- 2056 Vezzani, A. 2005. “Inflammation and epilepsy”, *Epilepsy Curr.*, 5, 1, 1-6.
- 2057 Vezzani, A., Balosso, S., Ravizza, T. 2008. “The role of cytokines in the pathophysiology of  
2058 epilepsy ”, *Brain Behav Immun.*, 22, 6, 797-803.
- 2059 Vezzani, A., Conti, M., De Luigi, A., Ravizza, T., Moneta, D., Marchesi, F., De Simoni, M.G.  
2060 1999. “Interleukin-1beta Immunore Activity and Microglia are Enhanced in the Rat  
2061 Hippocampus by Focal Kainate Application: Functional Evidence for Enhancement of  
2062 Electrographic Seizures”, *J Neurosci.*, 19, 12, 5054-5065.
- 2063 Vezzani, A., French, J., Bartfai, T., Baram, T.Z. 2011a. “The role of inflammation in  
2064 epilepsy”, *Nature Reviews Neurology.*, 7, 31-40.
- 2065 Vezzani, A., Maroso, M., Balosso, S., Sanchez, M.A., Bartfai, T. 2011b. “IL-1 Receptor/Toll-  
2066 Like Receptor Signaling in Infection, Inflammation, Stress and Neurodegeneration Couples  
2067 Hyperexcitability and Seizures”, *Brain Behav Immun.*, 25,7, 1281-1289.
- 2068 Walker, C.L., Liu, N.K., Xu, X.M. 2013. “PTEN/PI3K and MAPK signaling in protection and  
2069 pathology following CNS injuries.”, *Front Biol (Beijing).*, 8,4, 1-20.
- 2070 Wallenstein, MC. 1987. “Attenuation of penicillin models of epilepsy by nonsteroidal anti-  
2071 inflammatory drugs”, *Exp Neurol.*, 98, 152–160.





- 2072 Wong, M. 2009. “ Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibition as a potential  
2073 antiepileptogenic therapy: From tuberous sclerosis to common acquired epilepsies”,  
2074 *Epilepsia.*, 51,1, 27-36.
- 2075 Xie, N., Wang, C., Lian, Y., Wu, C., Zhang, H., Zhang, Q. 2014. “Puerarin protects  
2076 hippocampal neurons against cell death in pilocarpine-induced seizures through antioxidant  
2077 and anti-apoptotic mechanisms”, *Cell Mol Neurobiol.*, 34,8, 1175-1182.
- 2078 Yamamura, S., Hoshikawa, M., Dai, K., Saito, H., Suzuki, N., Niwa, O., Okada, M. 2013. “  
2079 ONO-2506 inhibits spike-wave discharges in a genetic animal model without affecting  
2080 traditional convulsive tests via gliotransmission regulation”. *Br J Pharmacol.*, 168, 5, 1088-  
2081 1100.
- 2082 Yang, R., Yang, L., Shen, X., Cheng, W., Zhao, B., Ali, KH., Qian, Z., Ji, H. 2012. “  
2083 Suppression of NF- $\kappa$ B pathway by crocetin contributes to attenuation of lipopolysaccharide-  
2084 induced acute lung injury in mice ”, *Eur J Pharmacol.*, 674(2-3), 391-396.
- 2085 Yang, Y., Lv, S.Y., Lyu, S.K., Wu, D., Chen, Q. 2015. “The protective effect of Apelin on  
2086 ischemia/reperfusion injury”, *Peptides.*, 63, 43-46.
- 2087 Yang, Y., Zhang, X., Cui, H., Zhang, C., Zhu, C., Li, L. 2014. “Apelin-13 protects the brain  
2088 against ischemia/reperfusion injury through activating PI3K/Akt and ERK1/2 signaling  
2089 pathways”, *Neurosci Lett.*, 568, 44-49.
- 2090 Yao, F., Modgil, A., Zhang, Q., Pingili, A., Singh, N., O'Rourke, S.T., Sun, C. 2011. “ r”, *J*  
2091 *Pharmacol Exp Ther.*, 336,2, 372-380.
- 2092 Yılmaz, O., Taskiran, D. 2010. “ Cytotoxicity in Astrocyte Cultures Due to pH Changes and  
2093 Protection by Glutathione”, *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*, 27,1, 061-068.
- 2094 Zeng, X.J., Yu, S.P., Zhang, L., Wei, L. 2010. “ Neuroprotective effect of the endogenous  
2095 neural peptide Apelin in cultured mouse cortical neurons”, *Exp Cell Res*, 316, 1773–1783.
- 2096 Zhang, S.J., Li, X.W., Wang, Y., Wei, D., Jiang, W. 2010. “ Expression of IL-1 mRNA in the  
2097 Dentate Gyrus of Adult Rats Following Lithium-Pilocarpine-Induced Seizures”, *Xi Bao Yu*  
2098 *Fen ZiMianYiXueZaZhi*, 26,3, 288-290.
- 2099 Zhang, X., Peng, X., Fang, M., Zhou, C., Zhao, F., Zhang, Y., Xu, Y., Zhu, Q., Luo, J., Chen,  
2100 G., Wang, X. 2011. “Up-Regulation of Apelin in Brain Tissue of Patients With Epilepsy and  
2101 An Epileptic Rat Model”, *Peptides.*, 32,9,1793-1799.



2102 Zhao, M1., Zhou, A2., Xu, L3., Zhang, X4. 2014. “ The role of TLR4-mediated  
2103 PTEN/PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway in neuroinflammation in hippocampal neurons.”  
2104 Neuroscience, 269, 93-101.

**TÜBİTAK**  
**PROJE ÖZET BİLGİ FORMU**

Proje Yürütücüsü:	Yrd. Doç. Dr. GÖNÜL GÜROL
Proje No:	113S210
Proje Başlığı:	Absans Epilepside Apelinin Rolü
Proje Türü:	3501 - Kariyer
Proje Süresi:	24
Araştırmacılar:	FATİH EKİCİ, ŞULİ BİLEN, SİNAN CANAN, DENİZ BILLUR
Danışmanlar:	NURAY YAZIHAN
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	SAKARYA Ü. TIP F. FİZYOLOJİ B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/11/2013 - 01/11/2015
Onaylanan Bütçe:	143050.0
Harcanan Bütçe:	111840.0
Öz:	<p>Epilepsi yaygın bir sağlık problemidir. Epilepsi tek bir bozukluk olmaktan öte altta yatan çeşitli hastalıkların sendromlarının bir grubudur. Epilepside inflammatuar sistemin aktivasyonunun ve proinflammatuar sitokinlerin aşırı üretiminin epilepsinin patofizyolojisinde rol oynadığını bildiren birçok delil literatürde bulunmaktadır. Son veriler Apelinin immun yanıtların düzenlenmesine katkı sağladığını hatta immunoregülatör olabileceğini göstermektedir. İki aşamalı olan bu çalışmanın ilk basamağında, absans epilepsinin poligenetik sıçan modeli olan Wistar Albino Glaxo/Rij (WAG/Rij) sıçanların farklı dokularında apelin ve sitokin ekspresyonunun değişimlerinin belirlenmesi, apelin düzey değişimlerinin beyin dokusunda inflammatuar süreç değişimleriyle olan ilişkisinin saptanması amaçlanmaktadır. İkinci aşamada ise 6 aylık WAG/Rij sıçanlarda, apelin uygulaması öncesi ve sonrasında alınan elektroensefalogram (EEG) kayıtlarının değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca planlanan bu çalışmada, apelin-12 uygulamasının absans epilepsinin gelişmesindeki etki mekanizmalarını; inflammatuar süreçler, Nükleer Faktör kappa B (NFkB) ve mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) aktivasyonu ve apoptotik belirteçler açısından değerlendirecektir. Apelin-12'nin, apoptozis ve inflamasyon ile ilişkili hücre içi sinyal yollarının, sitokinlerin düzeyleri Enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) yöntemiyle beyin ve kan dokularında saptandı. Verilerin konfirmasyonu western blot ve immunohistokimya ile desteklendi. Apelin-12 uygulamasının belirgin bir biçimde tümör nekrozis faktör alfa (TNF-?) ve interlökin (IL-6) gibi proinflammatuar sitokinleri ve NFkB'yi beyinde azalttığını, EEG'de diken dalga deşarjları (DDD)'lerin sayı ve sürelerini düşürdüğünü sonuçlarımız gösterdi. Üstelik WAG/Rij sıçanlarda Apelin-12 uygulamasının NFkB miktarını azalttığı western blot yöntemi ile de teyit edildi. Sonuçlarımız ile WAG/Rij sıçanlarda Apelin-12'nin hem antiinflammatuar hem de antikonvulsan etkilerinin altında yatan önemli bir mekanizmanın fosfotidilinositol-3-kinaz (PI3K)/Akt aracılı NFkB aktivitesinin olabileceği önerilebilir.</p>
Anahtar Kelimeler:	Apelin, WAG/Rij sıçan, Absans Epilepsi, İnflamasyon
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- The Effect of Apelin on Absence Epilepsy (Makale - Diğer Hakemli Makale),