

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TONİK-KLONİK EPİLEPTİK NÖBETLERİN SIÇAN SAĞ VE
SOL BEYİN HEMİSFERLERİNDEKİ BİYOFİZİKSEL
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

DİLAN YILDIRIM

KOCAELİ 2019

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

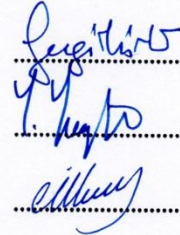
BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TONİK-KLONİK EPİLEPTİK NÖBETLERİN SIÇAN SAĞ VE
SOL BEYİN HEMİSFERLERİNDEKİ BİYOFİZİKSEL
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

DİLAN YILDIRIM

Dr. Öğr. Üyesi Sevgi TÜRKER KAYA
Danışman, Kocaeli Üniv.
Doç. Dr. Yonca YÜZÜGÜLLÜ KARAKUŞ
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv.
Dr. Öğr. Üyesi İlknur DURSUN
Jüri Üyesi, Altınbaş Üniv.



Tezin Savunulduğu Tarih: 30.12.2019

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Wistar sıçanlarda Pentilentetrazol ile oluşturulmuş epileptik nöbetlerin sıçan sağ ve sol beyin hemisferlerine etkilerinin Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi ile belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi.

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini hissettiğim, her türlü soruma sabırla cevap veren, bilgi birikimini ile bana her zaman katkı sağlayan değerli danışman hocam Sevgi TÜRKER-KAYA' ya sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımnda kullandığım sıçan beyin dokularını sağlayan Sayın Doç. Dr. Gül İLBAY hocama teşekkürü bir borç bilirim.

Lisans ve Yüksek lisans eğitimim boyunca verdikleri sonsuz destekle her zaman yanımda olan, laboratuvar çalışmalarımnda desteklerini esirgemeyen ve aynı yolda yürüdüğüm sevgili arkadaşlarım Didem ŞENTÜRK ve Kübra DAĞCI' ya teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan, sabırla beni destekleyip, maddi ve manevi desteklerini hiç eksik etmeyen canım aileme, özellikle dert ortağım canım ablam Büşra YILDIRIM' a ve sevgili annem Fatma YILDIRIM' a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamı destekleyen Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje Numarası: 2018/040 HD) birimine şükranlarımı sunarım.

Aralık-2019

Dilan YILDIRIM

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	ix
GİRİŞ	1
1.GENEL BİLGİLER	3
1.1. Epilepsi.....	3
1.1.1. Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması.....	4
1.1.2. Jeneralize tonik-klonik nöbetler	7
1.1.3. Epilepsinin genel patofizyolojisi	8
1.2. Hayvan Modelleri.....	9
1.2.1. Pentilenetrazol (PTZ, Metrazol).....	10
1.3. Hemisferik Asimetri	12
1.3.1. Anatomik ve nörokimyasal asimetri	14
1.3.2. Epilepsi ve hemisferik asimetri	16
1.4. Kızılötesi (IR) Spektroskopisi	17
1.4.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi.....	19
1.4.2. FT-IR Spektroskopisinin biyolojik sistemlerde kullanılması.....	20
2. MALZEME VE YÖNTEM.....	21
2.1. Hayvan Deneyleri.....	21
2.2. FT-IR Spektroskopisi için Örneklerin Hazırlanması.....	21
2.3. Bradford Testi.....	22
2.4. TBARs Testi.....	23
2.5. Analiz	24
2.5.1. FT-IR Spektrumlarının analizi	24
2.5.2. Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA).....	24
2.5.3. Verilerin istatistiksel analizi.....	25
3. BULGULAR	26
3.1. FT-IR Çalışmaları.....	26
3.1.1. 3050-2800 cm ⁻¹ frekans aralığı	27
3.1.2. 1800-900 cm ⁻¹ bölgesi	33
3.2. Bradford Testi.....	43
3.3. TBARs Testi.....	43
3.4. Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA).....	44
4. TARTIŞMA	46
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	58
KAYNAKLAR	60

EKLER.....	72
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER	777
ÖZGEÇMİŞ	788



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Jeneralize tonik-klonik nöbetlerin yüksek frekanslı EEG görüntüsü.....	8
Şekil 1.2.	PTZ' nin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 1.3.	Beynin anatomik asimetrisi.....	15
Şekil 1.4.	Moleküler titreşim tipleri.....	18
Şekil 1.5.	FT-IR spektrometresi çalışma prensibi.....	19
Şekil 3.1.	4000 - 900 cm ⁻¹ spektral aralığında kontrol sağ ve sol hemisferlere ait FT-IR spektrumları.....	26
Şekil 3.2.	3050-2800 cm ⁻¹ spektral aralığında kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait FT-IR spektrumları.....	28
Şekil 3.3.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait olefinik =CH bant alanı (A) ve olefinik/lipit alanı değerleri (B).....	29
Şekil 3.4.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait CH ₂ asimetrik bant alanı (A) ve CH ₂ simetrik bant alanı (B) değerleri.....	30
Şekil 3.5.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait CH ₂ asimetrik frekans değerleri.....	31
Şekil 3.6.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait CH ₂ simetrik frekans değerleri.....	32
Şekil 3.7.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait CH ₂ asimetrik bant genişliği.....	32
Şekil 3.8.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ- sol hemisferlere ait CH ₂ simetrik bant genişlik.....	33
Şekil 3.9.	1800-900 cm ⁻¹ spektral aralığında kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait FT-IR spektrumları.....	34
Şekil 3.10.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait C=O bant alanı değerleri.....	35
Şekil 3.11.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait C=O frekans değerleri.....	36
Şekil 3.12.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait amid I alan değerleri.....	37
Şekil 3.13.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait amid II bant alan değerleri.....	37
Şekil 3.14.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait lipit/protein alan oranı değerleri.....	38
Şekil 3.15.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait COO ⁻ simetrik bant alan değerleri.....	39
Şekil 3.16.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait PO ₂ asimetrik bant alanı (A) ve PO ₂ simetrik bant alanı (B) değerleri.....	40
Şekil 3.17.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait PO ₂ asimetrik bant frekans değerleri.....	40
Şekil 3.18.	Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait PO ₂ simetrik bant frekans değerleri.....	41

Şekil 3.19. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait fosfat/lipit alan oranları.....	42
Şekil 3.20. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait C-N ⁺ -C bant alan değerleri	42
Şekil 3.21. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait protein miktarları	43
Şekil 3.22. Kontrol ve JTKN sağ-sol hemisferlere ait MDA konsantrasyon değerleri.....	44
Şekil 3.23. Kontrol ve JTKN sağ-sol hemisfer gruplarının 1700-1600 cm ⁻¹ bölgesine ait HCA dendogramı	45
Şekil B.1. Bradford standart eğri grafiği	74
Şekil C.1. TBARs standart eğri grafiği	75
Şekil D.1. Hayvan deneyleri etik kurul belgesi.	76



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1. 2017 ILAE epilepsi sınıflandırması; nöbet tiplerinin sınıflandırması.....	6
Tablo 1.2. Sağ ve sol hemisferin fonksiyonları	14
Tablo 1.3. Kızılötesi spektral bölgeleri	17
Tablo 2.1. Standart eğri hazırlanmasında kullanılan BSA konsantrasyonları	22
Tablo 2.2. Standart eğri hazırlanmasında kullanılan MDA konsantrasyonları.....	23
Tablo 3.1. Sıçan beyin dokusuna ait FT-IR spektrumunun ortalama frekans değerleri ve bant tanımları.....	27
Tablo A.1. Kontrol ve PTZ uygulanan sıçan sağ ve sol beyin hemisfer gruplarına ait spektral parametreler.....	73

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μL	: Mikrolitre
μg	: Mikrogram
nm	: Nanometre
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
kJ	: Kilojoule

Kısaltmalar

AEİ	: Antiepileptik İlaç
BSA	: Bovine Serum Albumin (Sığır Serum Albümin)
EEG	: Elektroensofalogram
FT-IR	: Fouirer Transform Infrared Spektroskopisi (Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi)
GABA	: Gama Amino Butirik Asit
ILEA	: International League Against Epilepsy (Uluslararası Epilepsi Ligi)
IR	: Infrared (Kızılötesi)
İJE	: İdiopatik Jeneralize Epilepsi
JTKN	: Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet
KBR	: Potasyum Bromür
MDA	: Malondialdehit
NMDA	: <i>N</i> -metil-D-aspartat
PTZ	: Pentilentetrazol,
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SWD	: Spike–Wave Discharges (Ani Diken-Dalga Deşarj)
TBARs	: Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler
TCA	: Trikloro Asetik Asit

TONİK-KLONİK EPİLEPTİK NÖBETLERİN SIÇAN SAĞ VE SOL BEYİN HEMİSFERLERİNDEKİ BİYOFİZİKSEL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Epilepsinin karmaşık ve çok faktörlü mekanizmaları ve bunlar hakkında ki bilgilerin sınırlı olması nedeniyle kesin bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Bu kapsamda, beynin hemisferik asimetrisi nedeniyle nöbetlerin hangi hemisferden kaynaklandığı tespit edilememekle birlikte sol hemisferin sağ hemisferden daha epileptojenik olabileceğiyle ilgili çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca bu durumun altında yatan mekanizmalar açıklanamadığından yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Tez çalışmasında, konuya katkı sağlamak amacıyla, sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulmuş jeneralize tonik-klonik nöbetlerin (JTKN), sağ ve sol hemisferlerine etkileri karşılaştırmalı olarak Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi ile incelendi. Ayrıca, Bradford ve TBARs testleri çalışmaya dahil edildi. Spektral analizlere göre, olefinik, CH₂ asimetric, CH₂ simetric, COO⁻, PO₂⁻ simetric ve asimetric bant alan değerlerinin JTKN grubu sol hemisferde sağ hemisferden daha yüksek oranda artması fosfolipitler, kolesterol esterler, yağ asitleri gibi lipit moleküllerinin sol hemisferde daha fazla artmış olduğu bulgusunu verdi. Ayrıca, olefinik alanı, olefinik/lipit ve TBARs testi sonuçları, sol hemisferde daha yoğun lipit peroksidasyon ürünleri olduğunu belirlendi. Diğer taraftan amid I, amid II alanlarına ve Bradford test sonuçlarına göre sağ hemisferde daha yüksek seviyede protein miktarı tespit edildi. Ek olarak, JTKN takiben sağ ve sol hemisferlerde CH₂ simetric bandının genişlemesi, membran akışkanlığının arttığını, C=O, PO₂⁻ simetric, PO₂⁻ asimetric ve CH₂ asimetric frekanslarındaki değişiklikler ise membran lipitlerinin paketlenme derecelerinde oluşan farklılıkları gösterdi. Spektral parametrelere dayalı hiyerarşik kümeleme analizi ile nöbetler sonucunda farklı hemisferlerde oluşan değişikliklerin anlamlı derecede ve birbirlerinden ayırt edilebilir seviyede oldukları ortaya kondu. Çalışmamızda tespit ettiğimiz biyofiziksel değişimlerin sol hemisferde sağa göre daha yoğun olması, sol hemisferin daha epileptojenik özellikte olmasına katkı sağlayan sebeplerden olabileceği sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler: Beyin, Epilepsi, FT-IR, Hemisfer, Pentilentetrazol.

INVESTIGATION OF BIOPHYSICAL EFFECTS OF TONIC-CLONIC EPILEPTIC SEIZURES IN RAT RIGHT AND LEFT BRAIN HEMISPHERES

ABSTRACT

There is no treatment because of limited information about the complex and multifactorial mechanisms of epilepsy. In this context, it is impossible to determine from which hemisphere epileptic seizures originate due to hemispheric asymmetries, but there are studies on left hemisphere may be more epileptogenic than right hemisphere. As the underlying mechanisms cannot be explained, new approaches are needed. In this study, effects of pentylenetetrazole-induced generalized tonic-clonic seizures (JTKN), observed in human epilepsy, on right and left hemispheres of rats were comparatively examined by Fourier Transformation Infrared Spectroscopy. Additionally, Bradford and TBARs tests were included. Analysis revealed that olefinic, CH₂ asymmetric, CH₂ symmetric, COO⁻, PO₂⁻ symmetric and asymmetric area values increased more in JTKN group left hemisphere than in right hemisphere. Furthermore, high amount lipid peroxidation products were detected in left hemisphere according to olefinic area, olefinic / lipid and TBARs results. However, higher levels of protein were explored in right hemisphere obtained from amide I, amide II modes, and Bradford results. Moreover, following JTKN, in right and left hemispheres broadening of CH₂ symmetric band showed that an increment in membrane fluidity. And, the shifting of C=O, PO₂⁻ symmetric, PO₂⁻ asymmetric and CH₂ asymmetric frequencies indicated changes in package of membrane lipids. Hierarchical clustering analysis revealed that changes in different hemispheres upon seizures were significant and distinguishable. It can be concluded that the biophysical alterations we detected in our study are more intense in left hemisphere than right, which may be reasons contributing to epileptogenic properties of left one.

Keywords: Brain, Epilepsy, FT-IR, Hemisphere, Pentylenetetrazole.

GİRİŞ

Epilepsi, nöronlarda meydana gelen ani-anormal elektrik deşarj sonucu tekrarlayan nöbetler ve sonucunda ortaya çıkan sendromlar grubuna verilen isimdir. Epilepsi, inme(felç) sonrası dünyada ikinci sırada görülen kronik nörolojik hastalıktır (Kiyak ve Dayapoglu, 2017). Epileptik nöbetlerin nedenleri çok çeşitli ve değişkenlik gösterdiğinden mevcut tedavi yöntemlerine (anti-epileptik ilaçlar, ameliyat) rağmen hastaların %30'unda nöbetler kontrol altına alınamamaktadır (Tanaka ve diğ., 2016).

Epileptogenesizin karmaşık ve çok faktörlü doğasını anlamak ve bu doğrultuda tedavisi yönünde gerçekleştirilen farmakolojik araştırmaları desteklemek üzere pek çok hayvansal epilepsi modeli geliştirilmiştir (You ve diğ., 2013). Pentilentetrazol (PTZ) ile muamele edilen hayvan modelleri epilepsi araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. PTZ etki mekanizması çok karmaşık bir ajandır ve yüksek dozlarda beyinde birçok reseptör üzerinde etki yapabilir. Sıçanlarda tekli ve tekrarlayan intraperitoneal PTZ enjeksiyonu dozuna bağlı olarak, insan epilepsisinde gözlenen benzer değişikliklerle sonuçlanan jeneralize tonik-klonik nöbetlere (JTKN) neden olur (Gholami ve diğ., 2012).

Literatürde insanında dahil olduğu memeliler, kuşlar ve sürüngenler gibi pek çok canlıda beyin işlevsel ve yapısal asimetri barındırdığı bilinmektedir. Serebral laterizasyon beyin sağ-sol hemisferleri arasında anatomik ve fonksiyonel farklılaşma olarak tarif edilir ve memelilerde bu farklılıklar, bir hemisfere göreceli olarak zaman boyutunda, diğer hemisfere uzaysal boyutta analiz yeteneği kazandırır (Pençe, 2000; Gülbetkin, 2016). Bu nedenle memelilerde, karmaşık ve ardışık hareketlerin kontrolü sol hemisfere, bütünsel-uzaysal işlevlerin kontrolü sağ hemisfere lateralize olmuştur. Serebral laterizasyon göz önünde bulundurulduğunda, JTKN oluşumunda hemisferik farklılık olduğu bilinmektedir, aynı zamanda nöbetler her iki hemisferi homojen etkilememektedir. Çalışmalara göre sol hemisferin sağ hemisferden daha epileptojeniktir. Fakat bu durumun altında yatan mekanizmaları açıklayan bir yayın bulunmamaktadır. Dolayısıyla nöbetlerin sağ-sol hemisferdeki

etkilerinin karşılaştırılarak moleküler seviyede incelenmesi çok büyük önem arz etmektedir.

Bu konuya katkı sağlamak amacı ile Wistar sıçanlarda PTZ ile oluşturulmuş JTKN sağ ve sol beyin hemisferlerinde biyofiziksel parametreler üzerine etkisi kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak, FT-IR Spektroskopisi ile incelendi. Böylelikle nöbetlerin sağ-sol beyin hemisferleri üzerindeki etkileri; protein miktarı, lipit düzeni ve akışkanlığı gibi parametreler araştırıldı. Ayrıca Bradford testinde, protein miktarı ve tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARs) testi ile de lipit peroksidasyon ürünü olan malondealdehit (MDA) miktarındaki değişimler araştırıldı. Böylece nöbetlerin beyin hemisferlerinde meydana getirmiş olduğu değişimlerin karşılaştırmalı olarak ortaya konması hedeflendi.

1.GENEL BİLGİLER

1.1.Epilepsi

Epilepsi, “beyindeki anormal, aşırı ve senkronize nöronal aktivite nedeniyle geçici belirti veya semptomların ortaya çıkması” olarak tanımlanmaktadır (Falco-Walter ve diğ., 2018). Epilepsinin ayırt edici özelliği; ani ve geçici motor, duyuşsal, otonomik veya psişik kökenli anormal ataklardan oluşan iki veya daha fazla nöbetin tekrarlanması sonucu kalıcı yatkınlık ile karakterize olan beyin hastalığı olmasıdır (Cerri ve diğ., 2017; Bambal ve diğ., 2011). Epileptik nöbet ise beyindeki anormal, aşırı veya senkronize nöronal aktivite sonucu oluşan geçici semptomlardır (Bambal ve diğ., 2011; Nandini ve diğ., 2019). Nöbet oluşumuna yol açan pek çok etki mekanizması vardır (Bambal ve diğ., 2011). Travma, tümörler, inme, metabolik bozukluklar, inflamasyon, oksidatif stres, nörotoksisite, bozulmuş kan beyin bariyeri (KBB), nörodejenerasyon, anormal aksonal ve dendritik plastisite, uyarıcı ve inhibe edici nörotransmisyonunda yer alan reseptörler, iyon kanalları, taşıyıcılar ve enzimlerdeki yapısal ve fonksiyonel değışiklikler gibi pek çok mekanizma epileptik nöbetleri tetiklemektedir (Krasniqi ve diğ., 2019; Patel ve diğ., 2019). Aynı zamanda nöbetlerin genetik yatkınlıktan kaynaklandığı ve epigenetik mekanizmaların nöbet oluşumunda rol oynadığı bilinmektedir (Nandini ve diğ., 2019).

Hücreşel düzeyde, epilepsi patogenezi oldukça karmaşıktır (Erdogan ve diğ., 2019). Çoklu risk faktörleri ve tanımlanabilir nedenler tüm epileptik vakaların %25-45’ ini oluşturmaktadır (Thijs ve diğ., 2019; Erdogan ve diğ., 2019). Tüm bu nedenlerden artan anti-epileptik ilaç (AEİ) çeşitliliğı, nörogörüntüleme, farmakogenetik ve nöropatolojideki gelişmelere rağmen hastaların %30’unda nöbetler kontrol altına alınamamaktadır (Krasniqi ve diğ., 2019;Erdogan ve diğ., 2019). Ayrıca epileptik nöbetlere neden olan moleküler mekanizma tam olarak anlaşılamadığından etkili tedavi yöntemlerinin ortaya çıkması yavaşlamaktadır (Hauser ve diğ., 2017). Sık kullanılanlar dahil olmak üzere birçok AEİ, dar bir terapötik pencereye sahiptir ve klinik olarak önemli yan etkileri bulunmaktadır (Erdogan ve diğ., 2019). Mevcut

AEİ'lar nöbetlerin altında yatan patogenezi ele almak yerine, semptomları kontrol etmek amacı ile kullanılır (Younus ve diğ., 2018). Nöbetleri kontrol altına alınan hastalar bile tedavinin süresi boyunca devam eden olumsuz etkilere maruz kalırlar. Bu nedenle yeni tedavi yöntemleri epileptologlar ve biyomedikal araştırma topluluğu için ilgi alanı olmaya devam etmektedir (Erdogan ve diğ., 2019).

Epilepsi yılda 2 milyon yeni vaka ile dünya genelinde 70 milyondan fazla insanı etkileyen önemli bir halk sağlığı sorunudur (Thijs ve diğ., 2019). Her yaşta insanı etkilediği gibi bebekler ve ileri yaş grupları için yüksek risk taşımaktadır (Thijs ve diğ., 2019; Xiao ve diğ., 2015). İnsanların yaklaşık %10'u yaşamlarının belirli bir döneminde tek bir epileptik nöbet geçirmektedir (Aniol ve diğ., 2013). Uluslararası çalışmalara göre epilepsi prevalansı, 1.000/6.4 ve yıllık indians 100.000/67.8'dir (Devinsky ve diğ., 2018). Düşük ve orta gelirli ülkelerde bu oranlar yüksek gelirli ülkelere göre daha yüksektir. Dünya nüfusunun yaklaşık %1'ini oluşturan epilepsi hastaların çoğu düzenli AEİ tedavisi alamamakta ve kaynakların yetersiz olduğu ülkelerde yaşamaktadır (Devinsky ve diğ., 2018).

1.1.1. Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması

Epilepsi çok sayıda farklı mekanizmanın rol aldığı nörolojik veya sistemik bozuklukların sonucudur. Bu nedenle, epilepsi etiyolojisinin, nöbet tipinin ve epilepsi sendromunun kesin sınıflandırılmasının belirlenmesi uygun tedavi ve prognozda vazgeçilmez bir adımdır (Bosak ve diğ., 2019). Nöbetlerin sınıflandırılması ilk kez 1964 yılında Uluslararası Epilepsi Ligi (International League Against Epilepsy, "ILEA") tarafından yapılmıştır. Nöbet sınıflandırması ilk olarak 1981'de klinik pratiği etkilemiş olan elektroensefalografi (EEG) yaygın kullanımı sonucu güncellenmiştir. 1981 sınıflandırmasında ILAE, bugüne kadar kullanılmakta olan "basit parsiyel", "karmaşık parsiyel", "jeneralize" ve "sınıflandırılmayan" terimlerini yayınladı. Kapsamlı tartışmalar sonucunda 2010 yılında kısmen güncellenmiştir. ILAE, epilepsinin patofizyolojisi konusundaki anlayışımız üzerine ilerlemelerin bir yansıması olarak 2017 yılında raporunu güncelledi (Tablo 1.1). Önceden sınıflandırılmayan nöbet tiplerinin sınıflandırılmasını mümkün kılmak, epilepsilerin sınıflandırılması için daha pratik bir yapı sağlamak, ayrıca doktorlar ve hastalar arasındaki iletişimi ve karşılıklı anlayışı geliştirmek amacı ile güncellendi.

Yeni ILAE nöbet sınıflandırması ve epilepsiler, sosyoekonomik özellikler ve coğrafi farkları dikkate alınarak tüm yaş grupları, popülasyonlar ve alanlar için evrensel bir araç olarak tasarlanmıştır. Coğrafi, sosyoekonomik ve kültürel etkenler (örneğin etnik köken, spesifik bulaşıcı hastalıkların prevalansı veya ortak akrabalık) epilepsi etiyojisini etkileyebilir ve çeşitli epilepsi epidemiyolojisinde potansiyel farklılıklara yol açabilir. Ayrıca, yetersiz kaynaklar ve sınırlı olan teşhis çalışmalarının, 'bilinmeyen' olarak sınıflandırılan epileptik nöbet oranları üzerine katkısı vardır (Bosak ve diğ., 2019; Scheffer ve diğ., 2017).

Epilepsi sınıflandırma çerçevesinin başlangıç noktası, nöbet tipinin belirlenmesidir. Klinisyen epileptik nöbet tanısı koymak üzere, epileptik olanı epileptik olmayan olaylardan ayırmak için tanısız bir algoritma oluşturmalıdır. Nöbet Tipi Sınıflandırması, Tablo 1.1'de yer alan yeni isimlendirmeye göre belirlenir (Scheffer ve diğ., 2017).

Nöbetler fokal başlangıçlı, jeneralize başlangıçlı ve bilinmeyen başlangıçlı olarak üç ana kategoriye ayrılır. Nöbet tipinin teşhisinden sonra bir sonraki adım; fokal epilepsi, jeneralize epilepsi, jeneralize ve fokal epilepsi ve ayrıca kaynağı bilinmeyen bir epilepsi grubu dahil olmak üzere epilepsi tipinin teşhis edilmesidir (Scheffer ve diğ., 2017).

Fokal Epilepsiler, tek yarım kürede meydana gelen nöbetlerin yanı sıra, tek odaklı veya çok odaklı nöbetleri de içerir. Fokal farkındalık korunmuş nöbetler, fokal farkındalığın bozulduğu nöbetler, fokal motor nöbetler, fokal motor olmayan nöbetler ve bilateral tonik-klonik nöbetler gibi çeşitli nöbet tipleri görülebilir. EEG'de tipik olarak fokal epileptiform deşarjları gösterir, ancak tanı EEG kayıtlarını destekleyen klinik göstergeler sonucunda konur (Scheffer ve diğ., 2017).

Jeneralize Epilepsi tanısı için hasta tipik olarak EEG'de tüm beyine yayılan ani diken-dalga deşarj (SWD) aktivitesi göstermektedir. Jeneralize epilepsili kişilerde, absans, miyoklonik, atonik, tonik ve tonik-klonik nöbetler gibi çeşitli nöbet tipleri olabilir. Jeneralize epilepsi tanısı, tipik EEG deşarjlarının bulunmasıyla desteklenen klinik belirtiler beraberinde konur (Scheffer ve diğ., 2017; Falco-Walter ve diğ., 2018).

Kombine jeneralize ve fokal epilepsi grubu, hem jeneralize hem de fokal nöbet geçiren hastalar olduğu için mevcuttur. Tanı, EEG bulguları ile desteklenen klinik bilgiler ile konur. EEG’de hem jeneralize hem de fokal epileptiform SWD gösterebilir. Her iki nöbet tipinin de ortaya çıktığı Dravet sendromu ve Lennox-Gastaut sendromu örnek olarak gösterilebilir.

“Bilinmeyen” terimi, klinisyen tarafından epilepsi tipinin yeterli bilgi olmadığı, fokal veya jeneralize olup olmadığını belirleyemediği durumlarda kullanılmaktadır. Bu, çeşitli nedenlerden dolayı olabilir. EEG'ye erişim olmayabilir veya EEG çalışmalarından yeterli bilgi edinilememiş olabilmektedir. Örneğin, hasta odak özellikleri ve normal EEG kayıtları olmadan birkaç tonik-klonik nöbet geçirmiş olabilir. Bu nedenle nöbetlerin başlangıcı bilinmemektedir ve kişinin bilinmeyen bir epilepsi tipi vardır (Scheffer ve diğ., 2017; Falco-Walter ve diğ., 2018).

Tablo 1.1. 2017 ILAE epilepsi sınıflandırması; nöbet tiplerinin sınıflandırması

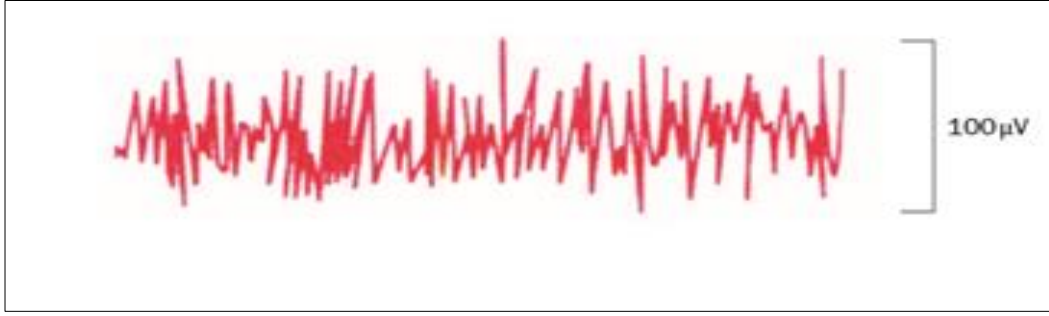
Nöbet Sınıflandırması				
Fokal Başlangıç	Farkındalık Korunmuş	Motor Başlangıç	Otomatizmalar Atonik Klonik Epileptik Spazmlar Hiperkinetik Miyoklonik Tonik	Fokal ve bilateral tonik-klonik
	Farkındalığın bozulduğu	Nonmotor Başlangıç	Otonomik Hareketlerin durması Kognitif Duyusal Duyusal	
Jeneralize başlangıç		Motor	Tonik-klonik Klonik Tonik Myoklonik Myoklonik-tonik-klonik Miyoklonik –atonik Epileptik Spazmlar	
		Nonmotor (absans)	Tipik Atipik Miyoklonik Gözkapağı miyoklonisi	
Bilinmeyen başlangıç		Motor	Tonik-klonik Epileptik spazmlar	
		Motor olmayan	Hareketlerde duraksama	
Sınıflandırılmayan				

1.1.2. Jeneralize tonik-klonik nöbetler

İdiopatik jeneralize (İJE) epilepsi, üç nöbet sınıfını kapsar: Absans epilepsi, juvenil miyoklonik epilepsi ve Jeneralize Tonik-Klonik nöbetler (JTKN, Grandmal Epilepsi). JTK nöbetler en yaygın İJE türüdür (Ke ve diğ., 2017). Mevcut epilepsi hastalarının yaklaşık %90'ı JTKN'lerden muzdariptir (Emoto ve diğ., 2015). JTKN, her yaşta insanda görülebilir ve tekrar tekrar meydana gelmesi durumunda kronik bir hal alır (Aniol ve diğ., 2013). Farklı epileptik nöbetler arasında, aura görülmeyen jeneralize nöbetler (tonik-klonik, atonik, absans ve miyoklonik nöbetler dahil) için yaralanma riskinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Özellikle tonik-klonik nöbetleri olan hastalarda beklenmedik ölümler (örneğin boğulma, yanma veya düşme) ve kaza sonucu yaralanma riski fokal nöbetleri olan hastalardan çok daha fazladır (Salas-Puig ve diğ., 2019; Shorvon ve diğ., 2018). Ayrıca bu nöbetlerde hafıza hasarı ve bilişsel bozukluklar sıklıkla gözlenen ve iyi bilinen komplikasyonlardır (Aniol ve diğ., 2013; Shorvon ve diğ., 2018).

JTKN'ler, tüm uzuvların sertleşmesi (tonik faz) ardından uzuvların ve yüzün sürekli ritmik sarsıntısı (klonik faz) ile birlikte meydana gelen bilinç kaybı ile karakterizedir. Nöbet süresi tipik olarak 1-3 dakikadır. Nöbet başlangıcında ağlama, düşme, dil ısırma ve inkontinans olabilmektedir (Fisher ve diğ., 2017).

JTKN'ler beynin her iki hemisferinde eş zamanlı başladığı gibi epileptik boşalmanın bir odaktan başlayıp yayılması ile de jeneralize hale gelebilir (Cavanna ve diğ., 2009). Genel olarak bu nöbetlerin beyin korteksi ve talamustan oluşan kortikal sistemdeki anormal etkileşimler ile meydana geldiği düşünülmektedir (Fan ve diğ., 2015). JTKN'de yüksek frekanslı ve genlikli SWD'ları ile karakterize edilir (Şekil 1.1.) Tonik faz sırasında EEG'de yüksek frekans aktivitesi belirlenir ve nöral aktivite büyük ölçüde artmıştır. Klonik fazda ise EEG kayıtlarında senkronize SWD ile belirlenir; bu dönüşümlü olarak güçlü patlamalarla ateşlenen ve sessizleşen büyük nöron gruplarının aktivitesine karşılık gelir (Cavanna ve diğ., 2009).



Şekil 1.1. Jeneralize tonik-klonik nöbetlerin yüksek frekanslı EEG görüntüsü

JTKN'li hastalarda anormal bihemisferik senkronizasyon jeneralize SWD, interhemisferik iletişim veya uyarılabilirliğin artmış bir nedeni olarak gösterilmektedir (Ji ve diğ., 2014). JTKN'ler beyin sapında üretilir, başlamasının hemen ardından korpus kallosum ve diğer komisür yollarla modüle edilen akıcı interhemisferik iletişim sonucu her iki hemisfere yayılır (Mares ve diğ., 2013; Ji ve diğ., 2014). Bu nedenle, JTKN'li hastalarda interhemisferik senkronizasyonu karakterize etmek, bu hastalığın patofizyolojisini anlamak için oldukça önemlidir. Bununla birlikte, JTKN'lerde interhemisferik iletişim ve bunun sonucunda hemisferlerde meydana gelen değişimler hakkında çok az şey bilinmektedir (Ji ve diğ., 2014).

Tüm bunlar göz önüne alındığında bu tez çalışması kapsamında JTKN'lerin beyin hemisferlerinde meydana getirmiş olduğu moleküler değişimlerin biyofiziksel olarak aydınlatılması amaçlandı.

1.1.3. Epilepsinin genel patofizyolojisi

Epileptogenezde yaygın olarak, hem artan nöronal uyarılabilirlik hem de senkronizasyon etkilidir. Hücrel mutasyona uğramış iyon kanalları, uyarıcı ve inhibe edici nörotransmisyon arasındaki hassas dengeyi arttırabilir ve böylece nöronların genel uyarılabilirliğini değiştirerek nöbetlere neden olur. Uyarıcı nörotransmisyonun aşağı ve yukarı regülasyonuna neden olan mutasyonlar, beyinde disinhibisyon ve hipereksitabilite ardından nöbet eşiğinin düşmesine neden olur (Erdogan ve diğ., 2019).

Epileptogenez için en iyi bilinen mekanizmalardan biri, insan ve memeli beyinde baskın ve iyi bilinen inhibitör nörotransmitter olan γ -aminobutirik asidin (GABA)

metabolizmasının değişmesidir. Epileptogenez sırasında, azalmış GABA üretimi, mevcudiyeti veya aktivitesinin, nöronlarda aşırı uyarılmaya neden olduğu bilinmektedir ve bunun tersine GABA aktivitesini artıran ligandların, antiepileptik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. GABA' daki bir azalma kalsiyum, sodyum, klorür ve potasyum akımlarını değiştirir, tüm bunların da nöbet başlangıcının ortak bir nedeni olduğu bilinmektedir. Epileptogenezde önemli rol oynayan başka moleküller de vardır. Örneğin, beyindeki en yaygın uyarıcı nörotransmitterlerden biri olan glutamat fazlalığı, nöbet riskini arttırır. Tersine, N-metil-D-aspartat (NMDA) antagonist reseptörlerin nöroprotektif etkisi vardır (Erdogan ve diğ., 2019; Wang ve diğ., 2018; Huberfeld ve diğ., 2015).

Nöronal dokudaki artmış kalsiyum iyon konsantrasyonu, epileptik durumdan sonra nöronal hücre ölümünü tetikleyen biyokimyasal tepkimelere yol açmaktadır. Hücre içi kalsiyum iyonunun artması, süperoksit radikallerinin üretimini artmasına neden olur. Yüksek seviyelerde hücre içi kalsiyum iyonları, biyosistemdeki reaktif oksijen türlerini (ROS), adenin dinükleotid fosfat yoluyla indüklemektedir. Yapılan birçok biyolojik deney, ROS ve diğer türlerin nöbetlerle ilişkisini doğrulamıştır. (Shekh-Ahmad ve diğ., 2019; Yusuf ve diğ., 2012;).

Epilepsinin başlıca patogenezlerinden biri de oksidatif strestir. Beyin diğer vücut organlarına kıyasla yüksek miktarda oksijen kullanır, bu sebeple yetersiz oksijen durumunda oksidatif strese maruz kalarak nöbetlere sebep olur. Bu da hücrel bozulmalara, hasara ve nihai hücre ölümüne neden olur (Yusuf ve diğ., 2012). Oksidatif stres, proteinler, lipitler ve nükleotitler gibi fonksiyonel biyomoleküllerin çeşitli hücrelerde oksidasyonundan kaynaklanır. Protein oksidasyonu birkaç enzimin deaktivasyonuna yol açar (Filho ve diğ., 2018). Tüm bunlarla ilişkili nöbetler fonksiyonel değişiklikler sonucunda lipit peroksidasyonu, membran yapı değişikliklerine, membran akıcılığı, geçirgenliği ve biyolojik işlevsellikte de değişikliklere neden olur (Prakash ve diğ., 2019; Yusuf ve diğ., 2012).

1.2.Hayvan Modelleri

Epilepsi çok çeşitli klinik, davranışsal ve elektriksel belirtileri içerir. Her biri farklı kazanılmış ya da genetik kökenlere, çeşitli davranışsal farklılıklara, farmakolojik profillere ve histopatolojilere sahip olan epilepsi tipleri vardır ve buna paralel olarak

deneysel çalışmalar eşit derecede geniş hayvan modelleri dizisi ortaya koymuştur. Bu nedenle, epilepsi hayvan modelleri, elektrografik deşarjların yanı sıra, nöbetlere yol açan, nöroanatomik, biyokimyasal ve genetik faktörlerinin çoğunu özümsemeye ve aydınlatmaya çalışır (Grone ve Baraban 2015; Jones ve Brien, 2012).

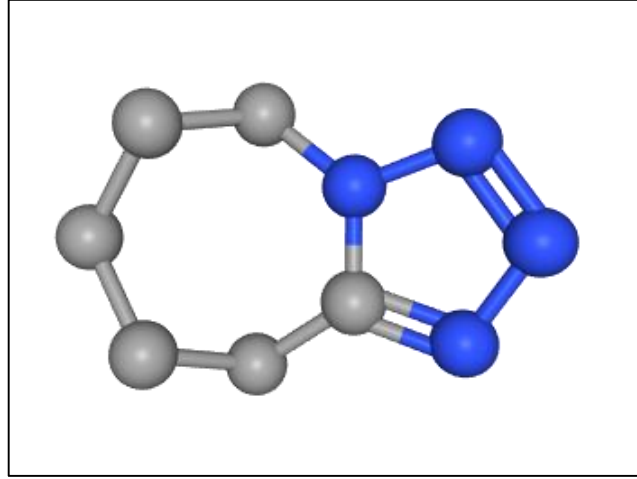
Epilepsi araştırmaları, çok sayıda memeli türü üzerinde karşılaştırmalı anatomik ve fizyolojik çalışmaların uzun bir geçmişine sahiptir (Grone ve diğ., 2015). Hayvan modellerini kullanan çalışmalar, epileptojenik süreci moleküler ve hücresele seviyede tanımlamıştır. Bunlar genellikle epileptik durumu indüklemek için elektrik stimülasyonu ve kemo-konvülsanların kullanımını içerir (Brennan ve diğ., 2017; Löscher, 2011). Genetik modeller ise nöbetlere neden olan spontan veya indüklenmiş genetik modifikasyonları barındırır (Devinsky ve diğ., 2018). Tüm bu epileptik nöbetleri teşvik edici olaylar ve kendiliğinden tekrarlayan nöbetlerin ortaya çıkmasının ardından epileptojenik dönemi tetikler. İnsanlardaki gibi ilk spontan nöbetin ortaya çıkma süresi, epileptogenezin patolojik özellikleri sıklıkla paylaşıldığı halde modeller arasında farklılık gösterir (Brennan ve diğ., 2017).

İnsan epilepsisinin özelliklerini gösteren ve kendiliğinden nöbet geçiren kemirgenler, epilepsinin patojenik mekanizmalarını ve potansiyel terapötik hedeflerini incelemek için sıklıkla kullanılmaktadır (Devinsky ve diğ., 2018).

Jeneralize (birincil olarak veya ikincil olarak) nöbetler, serbestçe hareket eden hayvanlarda, beynin doğrudan elektriksel olarak uyarılmasıyla, genetik bir sorun sonucu kendiliğinden veya kimyasal maddelerin sistemsel olarak enjekte edilmesi (konvansiyonel ilaçlar) ile gelişebilirler.

1.2.1.Pentilenetrazol (PTZ, Metrazol)

Nörokimyasal ajanlar, elektriksel stimülasyon protokolleri, travmatik yaralanmalar da dahil olmak üzere insanlarda nöbet tiplerinin çeşitliliğini yansıtan pek çok deneysel epilepsi modeli vardır (Samokhina ve diğ., 2018). Pentilenetrazol (PTZ, $C_6H_{10}N_4$), epileptik nöbetlerin oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan kimyasal bir ajandır.



Şekil 1.2. PTZ' nin kimyasal yapısı

Bu model oksidatif stres, nörokimyasal değişiklikler, beyindeki yapısal değişiklikler ve ilaca dirençli epilepsi modelini araştırmak için önemli ve kullanışlı hale gelmiştir (Inoue ve diğ., 2014; Bagheri ve diğ., 2019). PTZ, sadece epileptik nöbet aktivitesi oluşturmakla kalmaz, aynı zamanda insan epilepsisinde gözlenen patofizyolojik değişimlere benzer nöbet kaynaklı değişiklikleri de gösterir (Turker ve diğ., 2011). PTZ, biyolojik membranlar arasında kolay penetrasyon, intraperitoneal enjeksiyondan sonra organlara hızlı dağılım, çok kısa etki süresi, beyinde üniform dağılımı ve GABA'yı bloke ederek epileptojenik aktiviteyi uyarma kabiliyeti nedeniyle yüksek biyoyararlanım ile karakterize edilir (Samokhina ve diğ., 2018).

PTZ muamelesinin neden olduğu patofizyolojik değişikliklerin sırası henüz tam olarak bilinmemektedir. Her ne kadar doğrudan PTZ mekanizması ayrıntılı olarak bilinmese de, literatürde hipokampus dahil olmak üzere bir çok beyin bölgesinde GABAerjik, Glutamerjik sistemlerde ve antioksidan savunma sistemlerinde değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Erkeç ve diğ., 2015; Sehar ve diğ., 2015).

Sıçanlarda tek ve tekrarlayan dozlarda kullanıldığında sarsıcı bir aktiviteye sahiptir (Erkeç ve diğ., 2015). PTZ, yetişkin sıçanlarda üç farklı tipte epileptik nöbet türünü doza bağlı bir şekilde uyarabilir: absans nöbet modeli, minimal nöbetler (ihmal edilebilir tonik bileşenli klonik nöbetler - miyoklonik nöbet modeli) ve JTKN. İlk iki nöbet tipi yaşa bağlıdır ve doğum sonrası yaşamın ikinci haftasından sonra sistemik PTZ enjeksiyonu ile ortaya çıkarılabilir. JTKN'ler ise tüm gelişim aşamalarında gözlemlenebilir (Mares ve diğ., 2013). Yetişkin sıçanlarda düşük dozda (20-45

mg/kg) absans benzeri nonkonvulsif nöbet oluşumu gözlemlenirken, yüksek ve tekrarlanan dozlarda PTZ enjeksiyonu ise tonik-klonik konvulsiyonlara yol açar (Mares ve diğ., 2013; Samokhina ve diğ., 2018; Özdamar, 2019).

PTZ, GABA reseptör kompleksindeki pikrotoksin bölgesine etki eden bir antagonisttir (Cremer ve diğ.,2009; Inoue ve diğ., 2014). Yapılan çalışmalarda ayrıca PTZ'nin GABA reseptörünün benzodiazepin tanıma bölgeleriyle de etkileşime girdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, nükleotitlerin bozulması ve iyon hareketlerinde değişiklikler söz konusudur (Samokhina ve diğ.,2018). PTZ' nin GABA reseptörleri üzerinde inhibe edici etki mekanizması, klorür iyonlarına karşı geçirgen olan membrandan Cl⁻ alımını belirgin bir şekilde azalttığı bilinmektedir. PTZ kronik uygulanmasına takiben nöron membranından geçerek kasılmalara neden olur (Samokhina ve diğ.,2018). PTZ ayrıca beynin birçok yerinde farklı glutamat reseptör alt tiplerinin yoğunluğunda ve hassasiyetinde bir değişikliğe ve hipokampal bölgede glutamat nörotransmitterinin yoğunluğunda artışa neden olur. Bunun sonucunda çeşitli davranışsal, nörofizyolojik ve nörokimyasal değişiklikler meydana gelir. PTZ tutması sırasında glutamat reseptör yoğunluğu ve inositol trifosfat oluşumunda bir artış meydana gelir, glutamat taşıyıcılarında moleküler ekspresyondaki bu değişiklikler epileptogenezi tetikler (Erkeç ve diğ.,2015). Benzer şekilde, PTZ'nin, hücre membranı ile etkileşimi yoluyla potasyum kanalı üzerindeki etkisi olduğu bilinmektedir. Bu, PTZ'nin lipofilikliğinin artmasının, ajanın epileptojenik potansiyelini arttırdığı gerçeğine karşılık gelir (Turker, 2009).

1.3.Hemisferik Asimetri

Beynin yaklaşık %85'ini oluşturan serebral korteks, sağ ve sol olmak üzere iki hemisferden (yarıküreden) meydana gelmektedir (Natali ve diğ., 2019; Şişman, 2014). Hemisferik asimetri veya Serebral Laterizasyon, iki beyin yarım küresi arasındaki anatomik, fonksiyonel ve nörokimyasal farklılıkları ifade eder. Çevresel ve endojen faktörlerin etkisinde dinamik bir fenomendir (Ramirez ve diğ., 2004). Beyin lateralizasyonu, özellikle dil ve el tercihinin altında yatan fonksiyonları belirtir. İnsan beyнинin benzersiz bir özelliği olmasına rağmen beyin asimetrisi, yapısal ve fonksiyonel seviyelerde insan dışı türlerde de görülmektedir (Shirakawa ve diğ.,2001). Günümüzde insanın da dahil olduğu memelilerde, kuşlar, sürüngenler

Tablo 1.2. Sağ ve sol hemisferin fonksiyonları

Sağ Hemisfer Fonksiyonları	Sol Hemisfer Fonksiyonları
Vücudun sol tarafının kontrolünü sağlar	Vücudun sağ tarafının kontrolünü sağlar
Seslerin algılanması	Konuşma, sözel simgelerin kullanılması
Cinselliğin yönetilmesi	Yaratıcılık, düş kurma
Uzaysal algı, üç boyutlu düşünebilme, görsel imgeleri kullanabilme	Mantık ve analitik düşünce
Yüz tanıma ve duygusal ifadelerin okunması	Okuma, yazma, anlama
Dokunma	Ayrıntıların algılanması
Müziksel öğeleri ayırt etme	Matematiksel işlemler
Negatif duyguların işlenmesi	Pozitif duyguların işlenmesi
Uzamsal dikkatin otomatik olarak yönlendirilmesinde	Kategorileme ve nesne yerini belirleme

Tüm bu fonksiyonel asimetrielerin yanı sıra beyinde birçok anatomik ve nörokimyasal farklılık bulunmaktadır. Fonksiyonel asimetrielerin beyin iki yarım küresi arasındaki yapısal asimetri sonucunda yansıtıldığı öne sürülmektedir (Burlakoti ve diğ., 2018). Beynin anatomik asimetrisinin, fonksiyonel asimetri ile lateralleşmesi arasındaki ilişki kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Ancak fonksiyonel asimetri ve anatomik asimetri arasındaki ilişki henüz tam olarak bilinmemektedir (Ramirez ve diğ., 2004).

1.3.1. Anatomik ve nörokimyasal asimetri

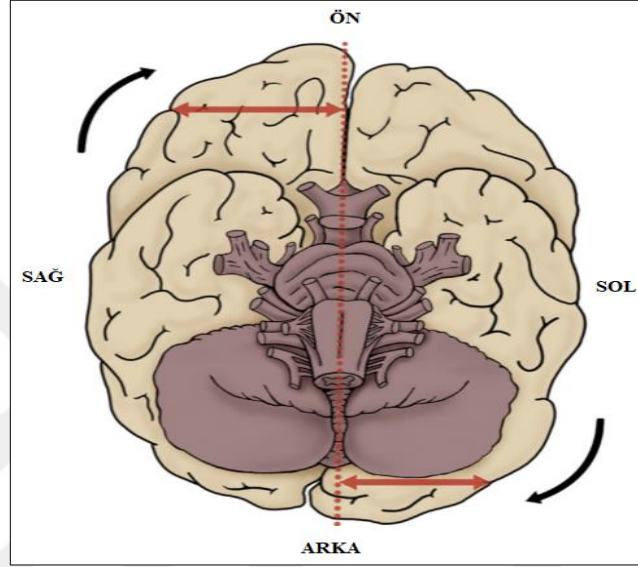
Serebral korteks asimetrisi, orta gebelikte gelişmekte olan fetal beyin en belirgin anatomik asimetrisidir. Çeşitli çalışmalar, perinatal dönemde sol hemisferin daha büyük olmasına rağmen, sağ hemisferin fonksiyonel olarak daha hızlı olgunlaştığını göstermektedir (Kovel ve diğ., 2018).

Sağ ve sol yarımkürenin ortalama ağırlığı ve toplam büyüklüğü sağlıklı yetişkinlerde çok benzer olsa da, hemisferler arasında iki büyük anatomik fark tanımlanmıştır.

- 1- Genellikle insan beyininde sağ frontal lob anterior yönde soldan dışarı uzanırken, sol oksipital lobun ise arka yönde sağdan dışarı doğru uzandığı bilinmektedir.

Ayrıca, sağ frontal korteks çoğu kişide soldan daha genişken, sol oksipital lob ise sağdan daha geniştir.

- 2- Ayrıca insan beyni çoğunlukla sağ ön korteksin orta hattı boyunca sol tarafa uzanırken, sol oksipital korteks ise orta hat boyunca sağ tarafa uzanmaktadır. Böylece, beyin bu yönde dönmüş-bükülmüş gibi görünmektedir. (Şekil 1.3.) (Ocklenburg ve diğ., 2018)



Şekil 1.3. Beynin anatomik asimetrisi

Hücre büyüklüğü ve yoğunluğu, bölgesel hacim farklılıkları ve dendritlerin yapısındaki asimetri araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Serebral hemisferlerde boz maddenin ak madde hacmine oranı genç bireylerde 1: 3'tür ve yaşla birlikte bu asimetrinin değiştiği bilinmektedir (sırasıyla 50 ve 100 yaşında 1: 1 ve 1: 5). Sol hemisferde daha fazla miktarda ak madde varlığı iki hemisferin hücre organizasyonundaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda nöron ve glia hücrelerinin sol hemisferde daha kompakt bir şekilde paketlendiği bildirilmiştir. Sağ hemisferin kortikal bölgelerde (% 5'e kadar sinir hücrelerinin hacim yoğunluğundaki fark) daha yüksek bir hücre soma yüzdesi ile karakterize olduğunu gösterilirken, sol hemisfer daha fazla dendrit, akson ve sinaps içerir (Natali ve diğ., 2019; Ittura –Medina ve diğ., 2011; Watkins ve diğ., 2001).

Hemisferler arası aksonal ve kortikal çapta ak maddenin, miyelin kılıfının kalınlığındaki farklılıklara neden olduğu bilinmektedir. Bu farklılıklar, sol ve sağ yarım küre arasındaki iletkenlik değişimine neden olur. Böyle bir farkın yararı henüz

net değil, ancak son zamanlarda hemisferik iletişimin azalmasıyla bağlantılı hemisferik baskınlığa yol açabileceği ve böylece lateralize fonksiyonların işlem süresini geliştirebileceği öne sürülmüştür (Natali ve diğ., 2019).

Hemisferler içerdikleri nöron sayısı bakımından farklılık gösterir: sol hemisfer, sağ hemisferden 186 milyon daha fazla nörona sahiptir (Natali ve diğ., 2019). Korteksteki asimetric bölgeler nöron sayılarındaki farklılıkların sonucu olabilir. Bununla birlikte, insan korteksinin muazzam büyüklüğü, geniş ve değişken katlama modeli, karşılık gelen alanları kesin olarak karşılaştırmayı zorlaştırır (Sun ve diğ. 2006).

Sağ ve sol hemisfer arasındaki anatomik asimetrielerin yanı sıra, belirli nöroaktif kimyasalların ve nörotransmitterlerin; kolin asetil transferaz, GABA ve norepinefrinlerin aktivitesinin miktarında hemisferik farklılıklar vardır (Labar ve diğ., 2001). Ayrıca sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada dopaminin sol bazal ganglia ya da sağ globus pallidusa göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, dopamin seviyeleri ile sol-sağ dopamin asimetrieleri arasındaki ilişki, insan bazal gangliyasında da belirgindir. Daha yüksek dopamin varlığının sağ yanlılıkla, daha az dopamin varlığının ise sol yanlılıkla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Glick ve diğ.,1981).

1.3.2.Epilepsi ve hemisferik asimetri

Yaşlanma, Şizofreni, Alzheimer ve Epilepsi gibi birçok nörodejeneratif ve nörolojik hastalık ile beyin asimetrisi değişir (Ji ve diğ., 2014). Epileptik nöbet deşarjı, kortikal bölgede tetiklenir ve daha sonra hızlı bir şekilde hemisferler arası yollar boyunca yayılır (Vinogradova ve diğ., 2012) . JTKN'lerin başlaması için korpus kallosum ve diğer komisür yollarla modüle edilen akıcı bir interhemisferik iletişim gerektirdiği bilinmektedir. Bu nedenle, JTKN'lere sahip hastalarda interhemisferik senkronizasyonu karakterize etmek, bu hastalığın patofizyolojisini anlamak için çok önemlidir. Bununla birlikte, JTKN'li hastalarda hemisferler arası fonksiyonel senkronizasyon ile ilişkili anatomik bağlantılar ve nöbet sonucunda beyin hemisferlerinde meydana gelen değişimler hakkında çok az şey bilinmektedir. Ayrıca JTKN'lerin tüm beyni homojen olarak etkilemediği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada sol hemisferin sağdan daha epileptojenik olduğu görülmektedir(Ji ve diğ.,

2014). Bu tür sağ taraflı nöbet direnci, nörokimyasal asimetrilere kaynaklanabilir. Yüksek dopamin seviyesine sahip yarım küre, düşük nöbet oranı sergilediğinden, sağ yarım kürenin dopaminerjik aktivitesinin artması, epileptogeneze karşı daha yüksek direncinin sebebi olabilir (Ji ve diğ., 2014). Tüm bu nedenlerden nöbetlerin beyin hemisferlerinde meydana getirdiği değişimler hastalığın patofizyolojisini aydınlatmada oldukça önemlidir (Ji ve diğ. 2014) .

1.4. Kızılötesi (IR) Spektroskopisi

Elektromanyetik spektrumun 0.78 μ (780 nm) – 1000 μ (1 mm) arası kızılötesi (IR) bölgedir ve yakın, orta, uzak olmak üzere üç alt bölgeye ayrılır (Turker, 2009) (Tablo 1.3.).

Tablo 1.3. Kızılötesi spektral bölgeleri

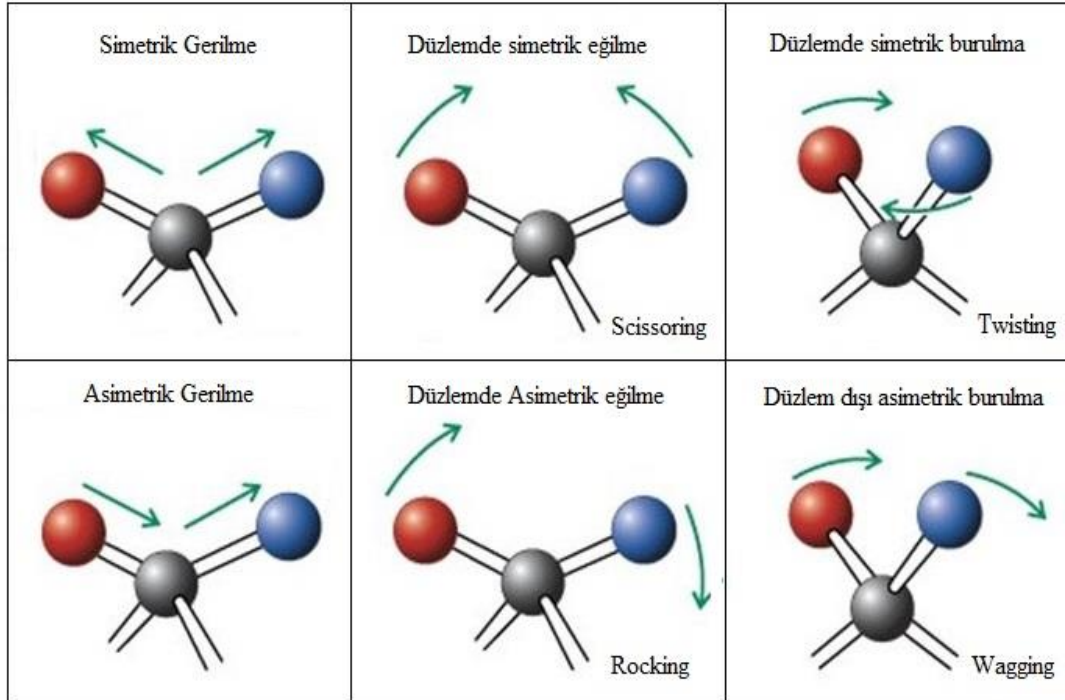
Bölge	Dalga Sayısı Aralığı (cm^{-1})
Uzak-IR	400-4
Orta-IR	4000-400
Yakın-IR	14000-4000

Orta IR radyasyon, 2500 ila 25.000 nm arasındaki dalga boylarına karşılık gelen 4000-400 cm^{-1} spektral bölgedeki ışığı kapsar. Radyasyon, moleküllerde elektron geçişine neden olmayacak kadar düşük olan 4,8 (400 cm^{-1}) ile 48 kJ/mol fotonlar (4000 cm^{-1}) arasındaki enerjileri kapsar. Molekül titreşim geçişleri orta IR radyasyonunun emiliminden kaynaklanır, bu nedenle orta IR spektroskopisi titreşim spektroskopisi alanına aittir. Bileşimin moleküler yapısına ve molekülleri çevreleyen ortama bağlı olarak farklı dalga boylarında meydana gelir. Bu haliyle, orta IR spektral analizi, moleküler yapı hakkında bilgi sağlamak ve polimorfik form gibi faktörlerden etkilenecek olan molekülün yerel ortamına ilişkin bir fikir edinmek için kullanılabilir (Eerdenbrugh ve diğ., 2011).

IR spektroskopisi moleküller arası etkileşimi esas alır. Kızılötesi ışık, kovalent bağlara sahip birçok molekülde moleküler titreşimler veya rotasyonlar meydana getirmek için yeterli enerji içerir. Bir molekülün kimyasal yapı özellikleri kızılötesi spektrumundan belirlenebilir, çünkü her bir bağ türü IR tayfi içinde farklı bir

absorpsiyon aralığına sahiptir(optik izomerler dışında). Bu özellik, IR spektroskopinin molekülleri tanımlamak için bir 'parmak izi' tekniği olarak hareket etmesini sağlar. Moleküller titreştikçe ve bağlarının etrafında döndükçe salınırlar. Titreşimler iki ana tipte gelir: Gerilme ve eğilme titreşimleri. Gerilme titreşimleri, bağ eksenini boyunca iki atom arası mesafedeki değişiklik ile karakterize edilirken, eğilme titreşimleri ise iki bağ arasındaki açının değişmesiyle meydana gelir. Eğilme titreşimleri sallanma (düzlem dışına), makaslama, sallama(düzlem içine) ve burulma hareketlerine ayrılır (Petrovic ve diğ., 2019; Monnier, 2018) (Şekil 1.4.).

Her titreşim hareketi, hareket tipine, atomların kütlelerine ve bağların kuvvetine dayanan kendi frekansına sahiptir. Bu frekanslar elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölgesine karşılık gelir. Bir maddeye (bir gaz, sıvı veya katı olabilen) kızılötesi radyasyon kaynağı yönlendirildiğinde, maddeyi oluşturan moleküllerin dipol momentinde net bir değişim meydana gelir ve enerjileri, molekülün nicelendirilen iki değeri arasındaki farka karşılık gelen fotonları absorbe eder. Gelen radyasyonla aynı frekansta değişen elektrik dipolü olmayan bağlar enerjiyi absorbe etmez. Enerji absorpsiyonları, madde için bir IR spektrumu üreten, IR spektrometreleri kullanılarak ölçülebilir (Monnier, 2018).



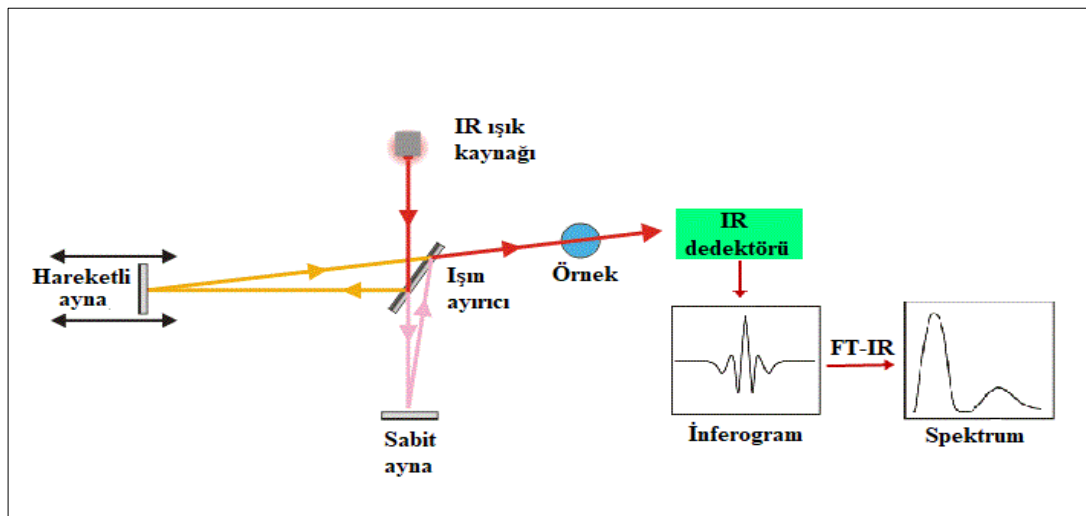
Şekil 1.4. Moleküler titreşim tipleri

IR spektrumdaki karakteristik frekanslar, yoğunluklar ve bant genişlikleri, fonksiyonel molekül gruplarının tanımlanmasına ve biyolojik moleküllerdeki konformasyonel olarak farklı yapıların karakterizasyonuna izin verir. Doku gibi biyolojik örneklerin IR spektrumları, mevcut çeşitli moleküllerin tüm kızılötesi aktif titreşim modlarının üst üste binmesini temsil eder. Bu nedenle, IR spektroskopisi, materyalin kimyasal bileşenleri (proteinler, lipitler, nükleik asitler, polisakaritler, vb.) ve bunların kimyasal yapısı hakkında bilgi sağlayabilir (Kneipp ve diğ., 2000; Petibois ve diğ., 2006).

1.4.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi

Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) tekniği, kızılötesi ışığın kovalent bağlardaki titreşimli geçişler tarafından absorbe edilmesine dayanır. Burada yoğunluklar nicel bilgi sağlar ve frekanslar bu bağların yapısı ve moleküler ortamları ile ilgilidir (Petibois ve diğ., 2006).

FT-IR spektrometresinde, kaynaktan çıkan IR radyasyonu, interferometre tarafından kızılötesi spektrumdaki tüm frekansları içeren zamana karşı yoğunluk grafiği olan bir interferograma dönüştürür. Örnekten çıkan ışık, dedektör tarafından interferogram olarak toplanır ve daha sonra frekansa karşı yoğunluk grafiği çizerek, moleküle özgü absorbans frekansları ayıran bir Fourier dönüşümü ile dönüştürülerek spektrum elde edilir. FT-IR spektroskopisi, daha büyük bir sinyal-gürültü oranı, daha yüksek dalga boyu çözünürlüğü ve yüksek hızla sonuçlanan önemli bir yöntemdir (Monnier, 2018). Şekil 1.5.'te FT-IR spektroskopisinin çalışma prensibi verilmiştir.



Şekil 1.5. FT-IR spektrometresi çalışma prensibi

1.4.2. FT-IR Spektroskopisinin biyolojik sistemlerde kullanılması

Karmaşık biyolojik sistemlerde, IR spektrumu mevcut biyomoleküllerin (örneğin proteinler, lipitler, şekerler ve nükleik asitler) katkılarının toplamıdır. Biyomoleküllerin kimyasal yapısının özellikleri kızılötesi spektrumundan belirlenebilir, çünkü her bir bağ türü IR tayfı içinde kendine özgü bir absorpsiyon aralığına sahiptir (Monnier, 2018). FT-IR proteinler, lipitler, polisakaritler ve nükleik asitler dahil olmak üzere makromoleküllerin fonksiyonel gruplarının titreşim modlarını aynı anda izleyebilir. İnfrared spektrumda karşılık gelen absorpsiyon bant yoğunlukları hesaplanarak yaralanma veya hastalıkla ilişkili makromoleküllerin kantitatif analizini sağlar. Ayrıca, geleneksel histolojik yöntemlerden farklı olarak, moleküler ve yapısal bileşim, kimyasal reaktifler olmadan biyolojik dokularda incelenebilir (Zhang ve diğ., 2015). Tüm bu nedenler FT-IR spektroskopisini biyolojik sistemler hakkında yapısal ve işlevsel bilgileri örneğe zarar vermeden düşük maliyetle elde etmek için mükemmel bir teknik haline getirmiştir (Demir ve diğ., 2015; Büyüksırt ve diğ., 2014). Ek olarak, FT-IR spektrometreleri, spektrumları 4 cm^{-1} çözünürlüğünde birkaç yüz nanosaniye içinde hızlı bir şekilde kaydedebilir. Bu da zamana bağlı süreçleri izlerken büyük avantaj sağlamaktadır (Petit ve diğ., 2018). Tüm bu nedenlerden son yıllarda bu yöntem, çeşitli kanser tipleri, Alzheimer hastalığı ve epilepsi gibi nörodejeneratif hastalıklar, diyabet, miyokard enfarktüsü gibi birçok hastalığın teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Onada ve diğ., 2017; Turker ve diğ. 2014a; Kneipp ve diğ., 2002; Doğan, 2018).

FT-IR spektroskopisinin önemli bir analitik avantajı, analizden önce örnek içerik modifikasyonu gerektirmemesidir (Petibois ve diğ., 2006). FT-IR spektrometresinde gaz, çözelti ve katı formdaki pek çok örnek kolaylıkla çalışılabilir (Monnier, 2018). FT-IR; proteinler, doymuş-doymamış lipitler, polisakaritler ve nükleik asitlerde bulunan fonksiyonel grupların titreşim modlarını izler. Bant konumlarındaki kaymalar, bant genişliğindeki değişiklikler, kızılötesi bantların bant alanı değerleri kullanılarak sistem hakkında değerli yapısal ve işlevsel bilgiler elde edilir. Ayrıca absorpsiyon bantlarının alanı doğrudan moleküllerin konsantrasyonuyla ilişkilidir (Sivakumar ve diğ. 2012).

2.MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Hayvan Deneyleri

Hayvan deneyleri Kocaeli Üniversitesi DETAB' ta gerçekleştirildi. Tüm hayvan deneyleri Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KOÜ HAYDEK 7/3-2016) tarafından uygulanan kurallara uygun olarak gerçekleştirildi. Çalışmada yetişkin Wistar albino erkek sıçanlar kontrol grubu (n=6) ve 60 mg/kg PTZ uygulanan (n=7) grup olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Sıçanların 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusunda sabit ısılı bir odada yiyecek ve su alımları serbest tutuldu. Beş gün boyunca Kontrol grubuna salin çözeltisi uygulanırken, JTKN grubuna, intraperitoneal olarak 60 mg/kg doz PTZ enjekte edildi. PTZ uygulamasını takiben hayvanların geçirdikleri nöbetler Racine skalasına göre değerlendirildi. Hayvanlar derin eter anestezisi altında dekapite edildi. Beyin dokuları çıkarılarak, her beyin sağ-sol hemisferlerine ayrıldı ve analizleri yapılmaya kadar -80°C ' de saklandı.

2.2. FT-IR Spektroskopisi için Örneklerin Hazırlanması

FT-IR spektroskopi incelemeleri için beyin dokuları "Freeze Dryer" (dondurarak kurutucu) da 24 saat boyunca sudan arındırıldı. Kurutulan her bir beyin hemisferi toz haline getirildi. Pelet hazırlamak için kullanılan Potasyum Bromür (KBr) 100' er mg tartılarak ependorf içerisine alındı. 60°C 'de 24 saat boyunca su buharından uzaklaştırıldı. Toz haline getirilen her bir örnekten 1 mg tartılarak 100'er mg (1:100 oranında) KBr ile karıştırılarak homojen hale getirildi. Karışım paslanmaz çelik hidrolik preste 1300 psi basınçla 5 dk bekletilerek katı bir pelet haline getirildi. Sonuçların güvenilirliğini artırmak adına her bir beyin hemisferi için 2'şer adet pelet hazırlandı. Böylece her bir örnekten 2 adet spektrum elde edildi ve ortalamaları alındı. FT-IR spektrometresinde spektrumları $4000-400\text{ cm}^{-1}$ frekans aralığında 4 cm^{-1} çözünürlükte kaydedildi. Spektrumlar Perkin Elmer Spectrum One programı ile ayrıntılı analiz edildi. Ayrıca FT-IR spektroskopisi çalışmalarının tamamı her bir beyin hemisferinden iki tekrarlı olarak yapıldığından sonuçlar istatistiksel olarak analiz edildi.

Atmosferdeki CO₂ ve H₂O, doku spektrumuna ait protein ve lipid bantlarını kamufle edebilir. Bu nedenle örnek spektrumları alınmadan önce atmosferik su buharının etkisini azaltmak amacı ile havanın arka plan spektrumu alındı. Elde edilen hava spektrumunu bilgisayar programı aracılığı ile matematiksel olarak örnek spektrumlarından çıkartılarak, atmosferik su buharının numune spektrumları üzerine etkisi azaltıldı (Turker ve diğ. 2014a; Monnier, 2018).

2.3. Bradford Testi

Bradford yöntemi, uygulama kolaylığı, analiz hızı ve hassasiyeti nedeniyle protein konsantrasyonunu belirlemede sıklıkla kullanılan kalorimetrik yöntem haline gelmiştir. Bu yöntem, Coomassie brilliant blue G-250 boyası ile amino asitler arasındaki etkileşimlere dayanır. Boya ve aminoasit etkileşimi sonucu değişik renk şiddetinde çözelti oluşur ve 595 nm'de ışığı yoğun bir şekilde absorbe eder (Sherovski ve diğ., 2018). Çalışmamızda bu yöntem esas alınarak beyin hemisferlerindeki protein konsantrasyonları belirlendi. Beyin hemisferlerine ait protein miktarı Thermo Coomassie (Bradford) Protein Assay Kit prosedürüne göre belirlendi. Standart Serum Albumin (BSA) farklı miktarlarda (Tablo 2.1) dilüe edilerek standart eğri (Ek- B) çizildi

Tablo 2.1. Standart eğri hazırlanmasında kullanılan BSA konsantrasyonları

Tüp	Fosfat Buffer	BSA Hacmi	BSA Konsantrasyonu
A	0	300 µL stoktan	2000 µg/ml
B	125 µL	375 µL stoktan	1500 µg/ml
C	325 µL	325 µL stoktan	1000 µg/ml
D	175 µL	175 µL B tüpünden	750 µg/ml
E	325 µL	325 µL C tüpünden	500 µg/ml
F	325 µL	325 µL E tüpünden	250 µg/ml
G	325 µL	325 µL F tüpünden	125 µg/ml
H	400 µL	100 µL G tüpünden	25 µg/ml
I	400 µL	0	0 µg/ml

Her bir beyin hemisferi 5 mg tartıldı, üzerine 1000 µl eklenen fosfat buffer ile Tissue Lyser da homojenize hale getirildi. Her bir doku homojenizatından 10 µl alınarak üzerine 1,5 ml Bradford çözeltisi ilave edildi. 10 dk oda sıcaklığında renk

sabitlenmesi için beklendi ve örnekler köre karşı 595 nm ayarlı spektrofotometrede okutuldu. Protein konsantrasyonları, bilinmeyen beyin hemisferleri Standart eğri formülünde hesaplanarak protein konsantrasyonları belirlendi.

2.4. TBARs Testi

TBARS testi, lipit peroksidasyonunun bir yan ürünü olan Malondialdehit(MDA) miktarını belirlemede kullanılır. Temel olarak MDA- Thiobarbituric asit (TBA) ile kompleks oluşturma esasına dayanır (Dawn-Linsley ve diğ., 2005).

Her bir beyin hemisferi 25 mg tartılarak 250 µL RIPA buffer ile Tissue Lyser da homojenize edildi. Homojenize edilen doku örnekleri 10 dk 3000 rpm de santrifüj edildi. Daha önceden etiketlenen tüplere santrifüje edilen her örnek süpernatantından 100'er µL konuldu. Renk reaktifi için 0,24 N HCl, %37 Tiobarbiturik (TBA), %15 Trikloro Asetik Asit (TCA) hazırlandı, her bir çözültiden 50 ml (1:1:1 oranında) alınarak erlen içersinde karıştırıldı. Hazırlanan her tüp içine 2 ml renk reaktifi ve 100 ml SDS eklenerek hafifçe vortekslendi. Hazırlanan tüpler 100 °C'de 15 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra örnekler 10 dakika buz üzerinde bekletilerek soğutuldu. Soğutulan örnekler 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek köre karşı 532 nm'de spektrofotometrede okutuldu. Miktarı bilinen MDA solüsyonu farklı miktarlarda(Tablo 2.2) dilüe edilerek standart eğri çizildi (Ek-C). Bulunun değerler standart eğride hesaplandı.

Tablo 2.2. Standart eğri hazırlanmasında kullanılan MDA konsantrasyonları

Tüp	MDA µL	Su µL	MDA Konsantrasyonu (µg/ml)
A	0	1000 µL	0 µg/ml
B	5 µL	995 µL	0,625 µg/ml
C	10 µL	990 µL	1,25 µg/ml
D	20 µL	980 µL	2,5 µg/ml
E	0 µL	960 µL	5 µg/ml
F	80 µL	920 µL	10 µg/ml
G	200 µL	800 µL	25 µg/ml
H	400 µL	600 µL	50 µg/ml

2.5. Analiz

2.5.1. FT-IR Spektrumlarının analizi

Elde edilen spektrumlar $4000-400\text{ cm}^{-1}$ bölgede 4 cm^{-1} çözünürlükte kaydedilerek Perkin Elmer Spektrum One programı ile ayrıntılı olarak analiz edildi. Örneklere ait FT-IR spektrumları bant frekansı, bant alanı ve bant genişliklerinde meydana gelen değişimlerin analiz edilmesine olanak sağlar. Bant pozisyonu, pik yüksekliğinin %70' inin merkezine karşılık gelen frekans kullanılarak ölçülmüştür. Spesifik bantların bant genişlik değerleri, pik yüksekliğinin %70' inden elde edilen değerin cm^{-1} cinsine çevrilmesiyle hesaplandı (Türker-Kaya.ve diğ., 2018). Bant alan değerleri $4000-2000-900\text{ cm}^{-1}$ noktalarına baseline düzeltilmesi uygulanarak, piklerin başlangıç ve bitiş noktaları belirlendi. Bant alan değerleri bilgisayar yazılımı tarafından başlangıç ve bitiş değerlerinin girilmesiyle otomatik olarak hesaplandı.

Spesifik bantlara göre normalizasyon yapıldı. Normalizasyon işlemi sadece gruplar arasındaki farklılıkların görsel olarak gösterimi için yapıldı. Spektral parametrelerin doğru değerlendirilmesi için her bir örnekten ortalama spektrum analiz edildi.

Ayrıca deneysel koşullardan kaynaklanan farklılıkları en aza indirilebilmek için bazı özel bölgelerin alan oranları hesaplandı. Olefinik/ lipit oranı olefinik (3012 cm^{-1}) bant alanının, lipit alanlarının toplamına (CH_2 asimetric ve simetric gerilme bant alanlarının toplamı) bölünmesiyle hesaplandı. Lipit/protein oranı, CH_2 asimetric ve simetric gerilme ($2924\text{ cm}^{-1} - 2851\text{ cm}^{-1}$) bant alan toplamlarının, amid I ve amid II ($1645\text{ cm}^{-1} - 1547\text{ cm}^{-1}$) bant alanlarının toplamına bölünmesi ile elde edildi. Ayrıca fosfat/lipit oranı ise PO_2 asimetric (1236 cm^{-1}) ve PO_2 simetric (1074 cm^{-1}) bantlarının alan değerleri toplamının, CH_2 asimetric ve simetric gerilme ($2924\text{ cm}^{-1} - 2851\text{ cm}^{-1}$) bant alanları toplamına oranlanması ile belirlendi.

2.5.2. Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA)

Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA), çok parametrelili verilerin analizi için en popüler yöntemlerden biridir. HCA verilerin iç yapısını ortaya koymakta, benzerlik dereceleriyle ilgili gruplandırmaktadır (Akopov ve diğ., 2013). Bu özellikleri sebebiyle FT-IR spektroskopisinden elde edilen spektrumlara, uygun frekans

aralığında HCA tekniği uygulandı. Analiz için OPUS 5.5 (OPUS, Bruker Optics, Ettlingen, Germany) programı kullanıldı.

2.5.3.Verilerin istatistiksel analizi

Kontrol sağ-sol hemisfer ve nöbet geçiren sağ-sol beyin hemisferi arasındaki farklılıklar ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. IBM SPSS Statistics 22 istatistik programı kullanılarak istatistiksel anlamlılığının karşılaştırılabilmesi için One-Way Anova testi uygulandı. * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,001$ önem dereceleri dikkate alındı ve anlamlı olarak kabul edildi.

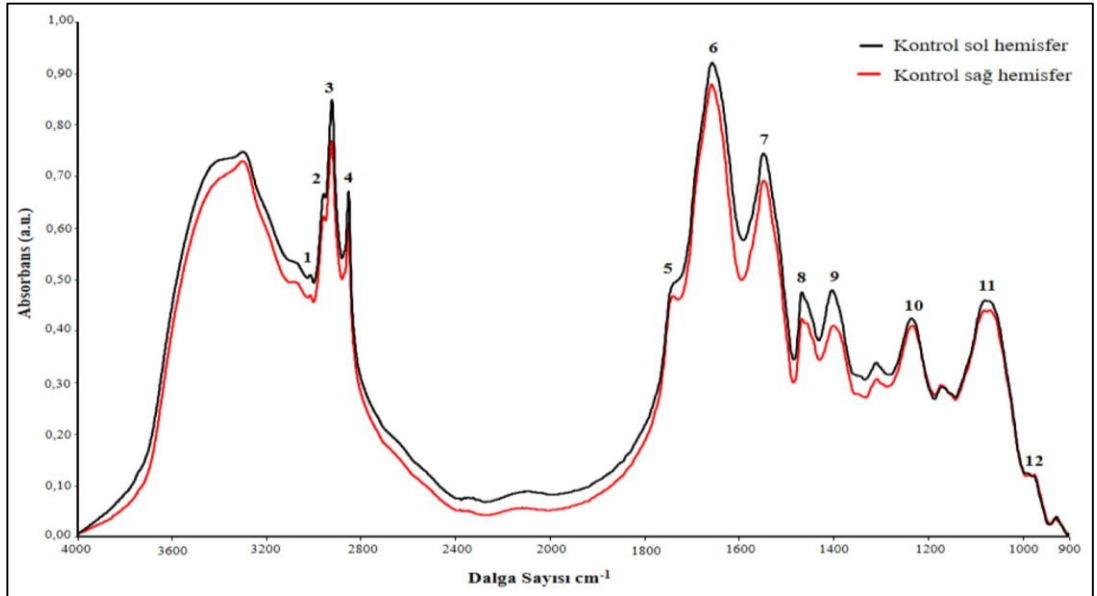


3. BULGULAR

3.1. FT-IR Çalışmaları

Tez çalışması kapsamında, FT-IR spektrumlarından elde edilen sonuçlar, PTZ ile oluşturulmuş JTKN'lerin sıçan sağ-sol beyin hemisferlerine etkilerini ortaya koymak amacıyla kontrol grubu beyin hemisferleri ile karşılaştırmalı olarak incelendi. Ek olarak nöbetlerin beyin hemisferleri üzerine olan etkilerini belirlemek amacı ile JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldı. Böylelikle JTKN'lerin sağ sol beyin hemisferleri üzerindeki biyofiziksel etkileri belirlendi. Ayrıca FT-IR spektrumlarından elde edilen sonuçlar Bradford ve TBARs testleri ile desteklendi.

Biyolojik örnekler, proteinler, lipitler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi farklı moleküllerden oluşur. Tüm biyokimyasal bileşenlerin kendilerine özgü titreşim parmak izleri olduğundan, karmaşık ve üst üste binen absorpsiyon bantlarına sahip kızılötesi spektrum oluştururlar. Bu nedenle, kızılötesi spektrumdaki bir bant birkaç bileşik ile ilişkilendirilebilir (Çakmak ve diğ., 2011; Palaniappan ve Pramod 2011). 4000-900 cm^{-1} bölgesinde, kontrol sıçan sağ-sol beyin hemisferlerine ait FT-IR spektrumları Şekil 3.1.'de gösterildi. Analiz edilen her bir bant numaralandırıldı.



Şekil 3.1. 4000 - 900 cm^{-1} spektral aralığında kontrol sağ ve sol hemisferlere ait FT-IR spektrumları

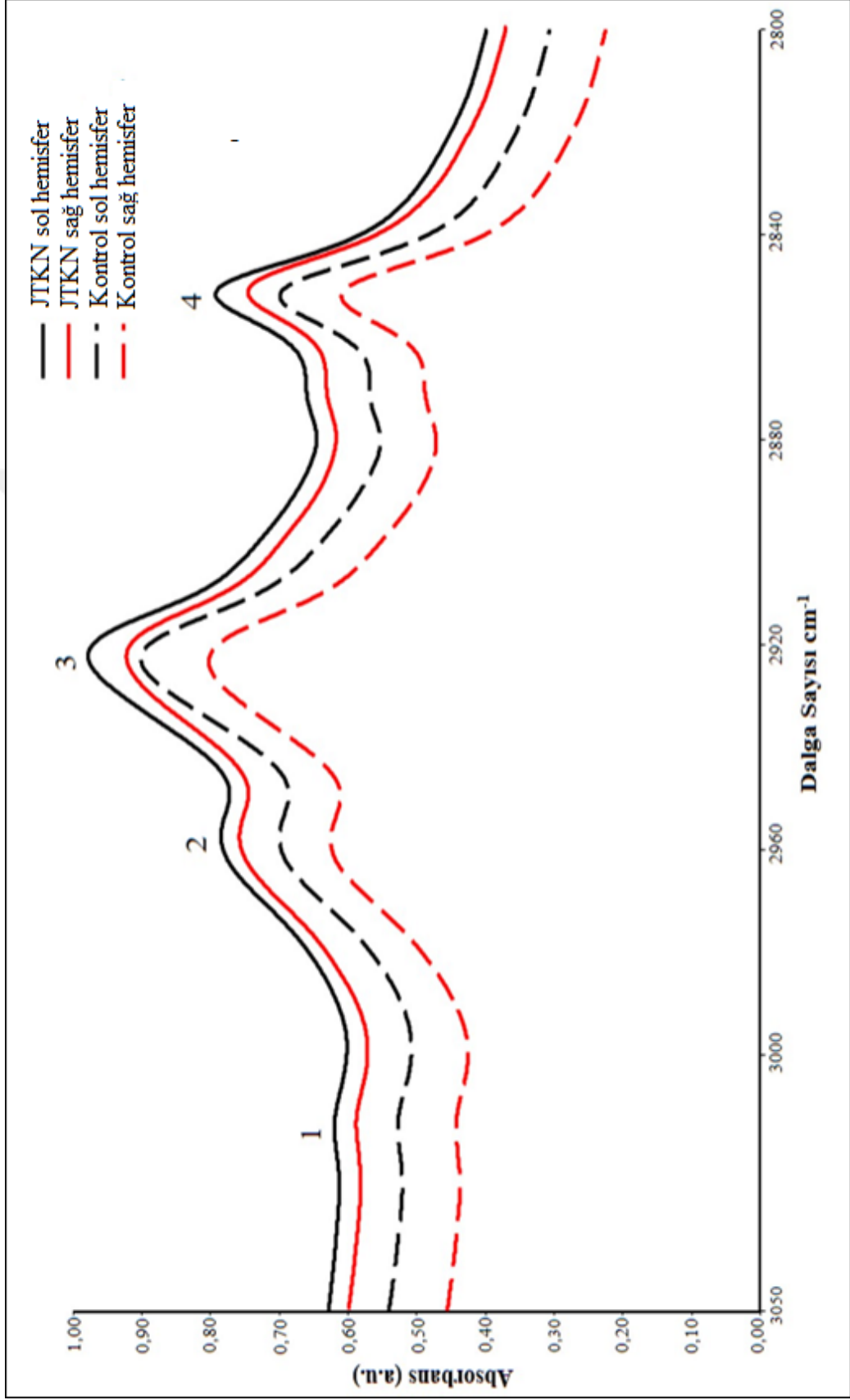
Tez çalışması kapsamında analiz edilen, FT-IR spektrumuna ait her bir bant literatüre dayalı olarak ayrıntılı bir biçimde Tablo 3.1.'de tanımlandı. Gruplar arasındaki spektral farklılıkların kolayca gözlemlenebilmesi için spektrumlar, 3050-2800 cm^{-1} ve 1800-900 cm^{-1} bölgeleri olmak üzere 2 bölgeye ayrıldı. Ayrıca analiz edilen bantlara ait tüm numerik veriler Ek-A da verildi.

Tablo 3.1. Sıçan beyin dokusuna ait FT-IR spektrumunun ortalama frekans değerleri ve bant tanımları

Bant No	Frekans (cm^{-1})	Spektral Bant Tanımları
1	3012	Olefinik = CH gerilme: doymamış lipitler
2	2956	CH ₃ asimetric gerilme: çoğunlukla lipitler, az miktarda proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler
3	2925	CH ₂ asimetric gerilme: çoğunlukla lipitler, az miktarda proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler
4	2852	CH ₂ simetric gerilme: esas olarak lipitler, az miktarda proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler
5	1740	Karbonil C=O gerilme: çoğunlukla kolesterol esterler, fosfolipitler, trigliseritler
6	1645	Amid I: protein C=O gerilme
7	1547	Amid II: protein N-H bükülme, C-N gerilme
8	1467	CH ₂ bükülme: çoğunlukla lipitler
9	1400	COO ⁻ simetric gerilme: yağ asitleri ve amino asitler
10	1236	PO ₂ asimetric gerilme: Nükleik asitler ve fosfolipitler
11	1080	PO ₂ simetric gerilme: Nükleik asitler ve fosfolipitler
12	970	C-N ⁺ -C gerilme: nükleik asitler

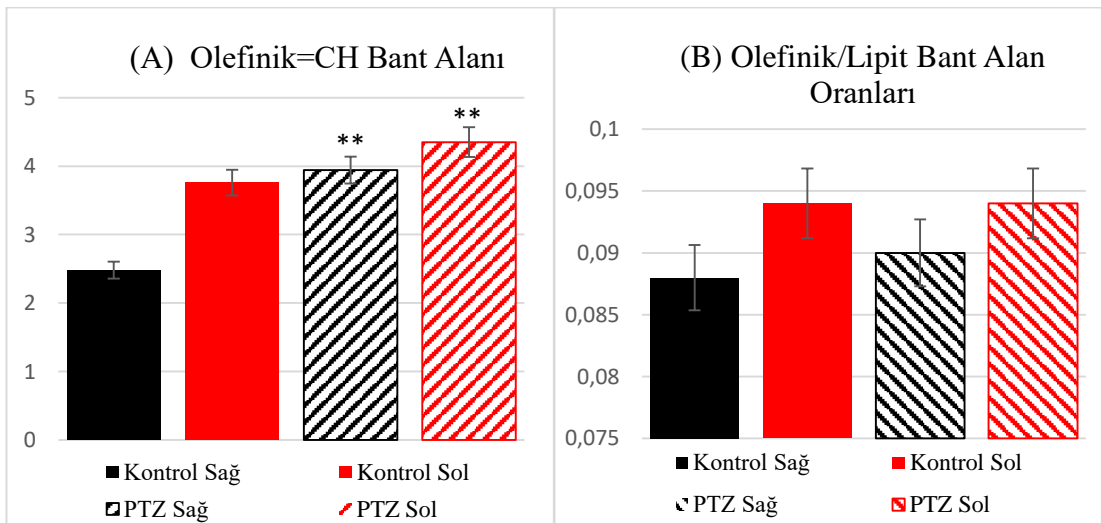
3.1.1. 3050-2800 cm^{-1} frekans aralığı

3050-2800 cm^{-1} arası spektral bölgede çoğunlukla hücrel membranlardaki yağ asitlerinde bulunan, C-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanan absorpsiyon bantları hakimdir. Ayrıca bu bantlar üzerine proteinlerin de katkısı olduğu bilinmektedir (Alujo ve diğ., 2019; Elibol ve diğ., 2011). Sırasıyla 1 numaralı olefinik = C-H (3012 cm^{-1}), 3 numara CH₂ asimetric (2925 cm^{-1}) ve 4 numaralı CH₂ (2850 cm^{-1}) simetric banlarını gösteren, kontrol ve JTKN grubu sıçan sağ-sol beyin hemisferlerine ait FT-IR spektrumları Şekil 3.2.'de gösterilmektedir (Alujo ve diğ., 2019; Sivakumar ve diğ., 2013).



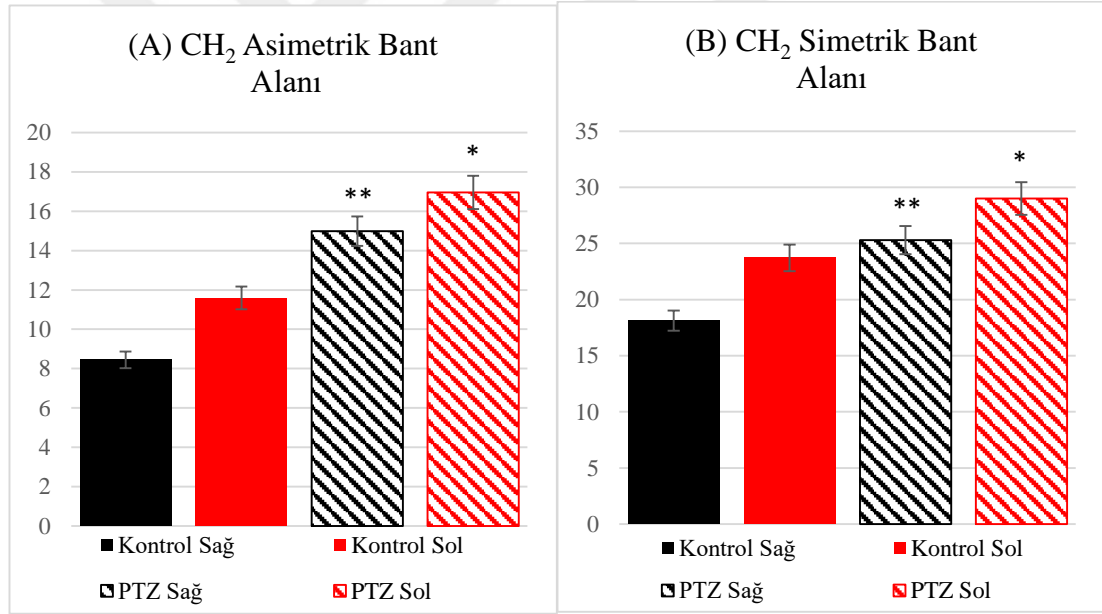
Şekil 3.2. 3050-2800 cm^{-1} spektral aralığında kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait FT-IR spektrumları

Şekil 3.2. de 3012 cm^{-1} frekansında görülen 1 numaralı olefinik bantı, doymamış yağ asitlerinin $\text{HC}=\text{CH}$ gruplarının C-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanır (Dağcı, 2019; Sivakumar ve diğ., 2012). Şekil 3.3. (A) de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlerin olefinik bant alan değerleri verilmiştir. Kontrol sağ ve sol hemisferler karşılaştırıldığında olefinik bant alan değerinin sol hemisferde daha yüksek değerde olduğu tespit edildi. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu, kontrol sol hemisfer ile JTKN sol hemisfer grubu karşılaştırıldığında ise JTKN nöbet geçiren sağ-sol hemisferlerde olefinik bant alan değerlerinin kontrol gruplarına göre anlamlı derecede ($p<0,001^{**}$) artmış olduğu bulundu. Ayrıca JTKN sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında sol hemisferde söz konusu bant alanının nöbet geçiren sağ hemisfer grubundan anlamlı derecede ($p<0,05^*$) yüksek olduğu tespit edildi. Doymamış lipitlerin doymuş lipitlere oranları (Olefinik/lipit) Şekil 3.3. (B) de verilmiştir. Olefinik/lipit bant alan oranlarına bakıldığında, kontrol sol hemisfer grubu oranının, sağ hemisfer grubuna göre yüksek değerde olduğu görüldü. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer grupları karşılaştırıldığında, JTKN sağ hemisfer grubunda kontrol sağ hemisfere göre artış gözlemlendi ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Aynı zamanda kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, söz konusu gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. JTKN geçiren sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise olefinik/lipit oranının nöbet sonrası sol hemisfer grubunda anlamlı derece ($p<0,05^*$) yüksek değerlerde olduğu saptandı.



Şekil 3.3. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait olefinik=CH bant alanı (A) ve olefinik/lipit alanı değerleri (B)

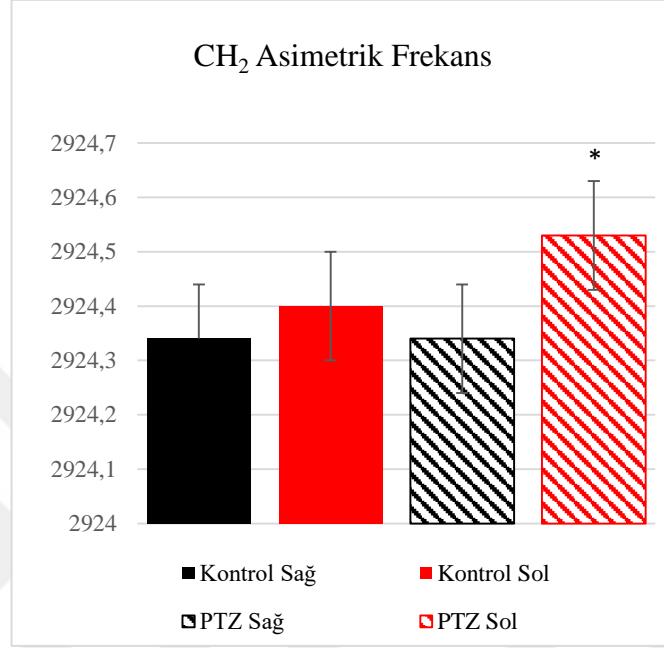
3 numaralı CH₂ asimetric (2923 cm⁻¹) ve 4 numaralı CH₂ simetric (2850 cm⁻¹) bantları lipid açil zincirlerindeki metilen grubunun asimetric ve simetric gerilme titreşimlerinden kaynaklanır (Palaniappan ve Pramod, 2011). Şekil 3.4. (A) ve (B) de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait CH₂ asimetric ve CH₂ simetric bant alanları verilmiştir. Her iki bant alanı için, kontrol sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, kontrol sol hemisferde daha yüksek değerde olduğu tespit edildi. Kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu (p<0,001**) ve kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grubu (p<0,05*) karşılaştırıldığında, nöbet sonrası her iki hemisfer grubunda söz konusu bantların alan değerlerinin anlamlı derecede arttığı görüldü. Ayrıca JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise bant alanlarının sol hemisfer grubunda anlamlı derecede (p<0,05*) yüksek olduğu belirlendi.



Şekil 3.4. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait CH₂ asimetric bant alanı (A) ve CH₂ simetric bant alanı (B) değerleri

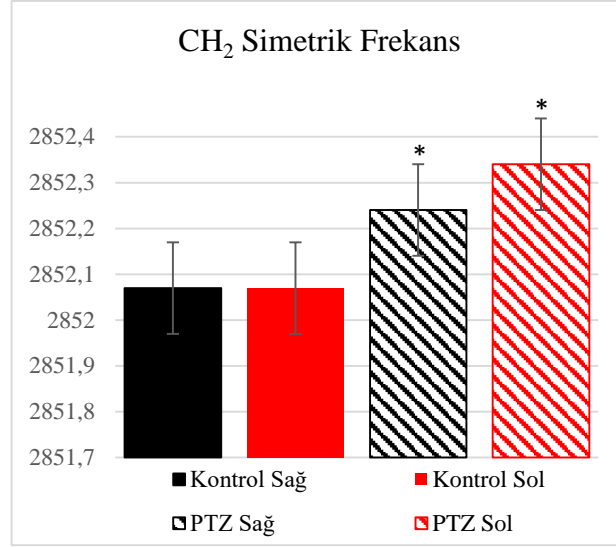
Şekil 3.5' de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait CH₂ asimetric bant frekans değerleri verildi. Kontrol sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, kontrol sol hemisfer frekans değerinin sağdan yüksek değerlerde olduğu görüldü. Kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu karşılaştırıldığında frekans değerlerinde anlamlı bir değişiklik meydana gelmediği görüldü. Ayrıca kontrol sol ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise nöbet geçiren sol hemisfer grubunda frekans değerinin anlamlı derece (p<0,05*) yüksek

değerlere kaydığı tespit edildi. JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise JTKN geçiren sol hemisfer grubu frekans değerlerinin sağ hemisfer grubundan yüksek değerlere kaydığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi.



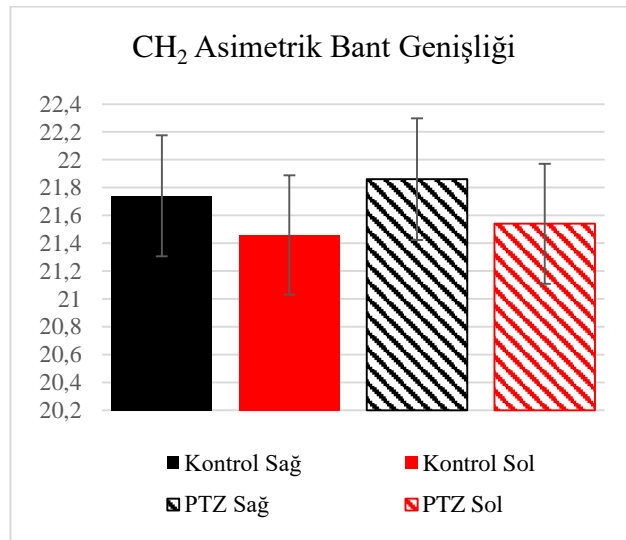
Şekil 3.5. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait CH₂ asimetrik frekans değerleri

Şekil 3.6' da Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait CH₂ simetrik bant frekans değerlerini görülmektedir. Kontrol sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında hemisferler arası frekans değerlerinde anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. Kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu, kontrol sol ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise JTKN geçiren her iki hemisfer frekans değerlerinde anlamlı derecede ($p < 0,05^*$) yüksek değerlere kayma tespit edildi. Ayrıca JTKN geçiren sağ- sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise nöbet sonrası sol hemisfer frekans değerinin sağ hemisferden anlamlı derece ($p < 0,05^*$) yüksek değerlere kaydığı görüldü.



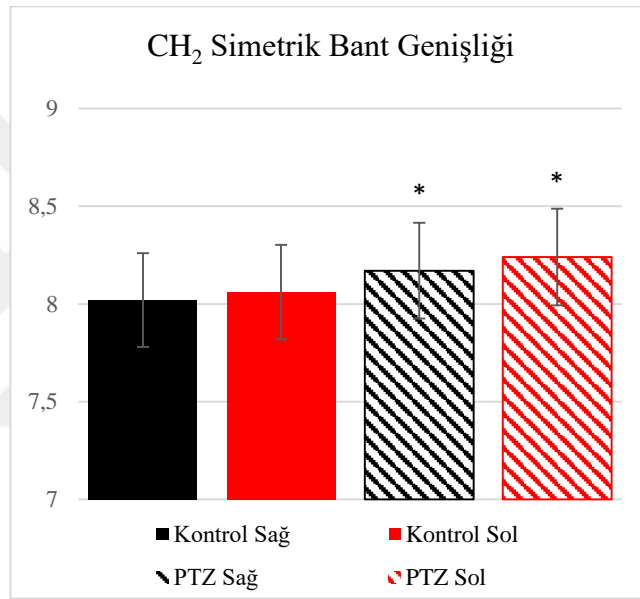
Şekil 3.6. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait CH₂ simetrik frekans değerleri

Şekil 3.7.'de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfere ait, CH₂ asimetrik bant genişlik değerleri verildi. Kontrol sağ ve sol hemisferler karşılaştırıldığında, sağ hemisferde bant genişliğinin daha yüksek olduğu saptandı. Ayrıca kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grubu karşılaştırıldığında JTKN geçiren her iki hemisferde bant genişliğinin arttığı görüldü. JTKN geçiren sağ- sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise söz konusu bant genişliğinin sağ hemisferde daha yüksek değerlere kaydığı görüldü. Ancak tüm bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Şekil 3.7. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait CH₂ asimetrik bant genişliği değerleri

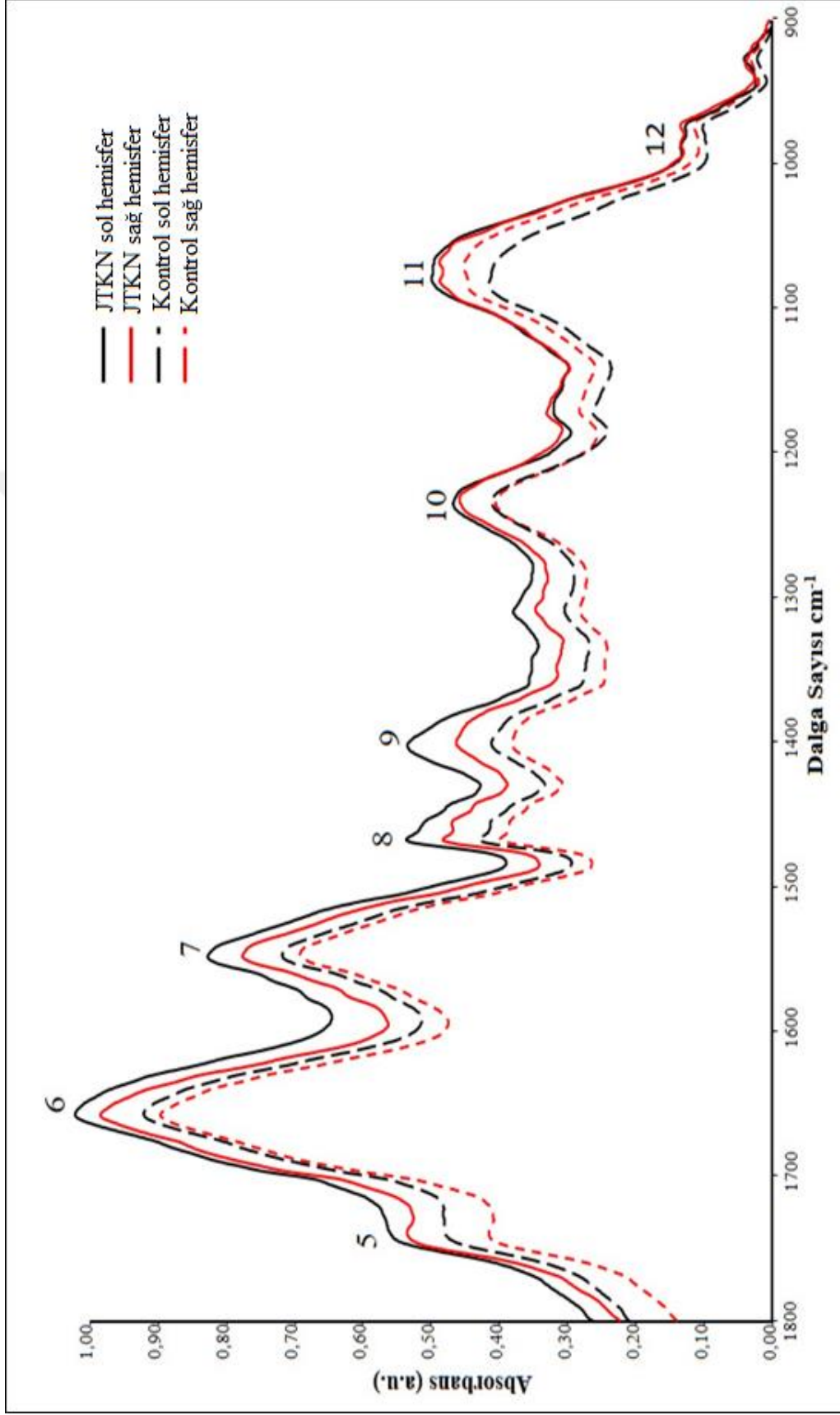
Şekil 3.8.'de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait CH₂ simetrik bant genişlik değerleri verildi. Kontrol sağ ve sol hemisferler karşılaştırıldığında söz konusu bant genişlik değerinin sol hemisfer grubunda daha yüksek olduğu görüldü. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grubu karşılaştırıldığında, nöbet sonrası her iki hemisferde kontrol gruplarına göre anlamlı derece (p<0,05*) artış görüldü. Ayrıca JTKN geçiren sağ-sol hemisferler karşılaştırıldığında ise söz konusu bant genişlik değerinin JTKN geçiren sol hemisferde daha yüksek değerlere kaydığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi.



Şekil 3.8. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait CH₂ simetrik bant genişlik değerleri

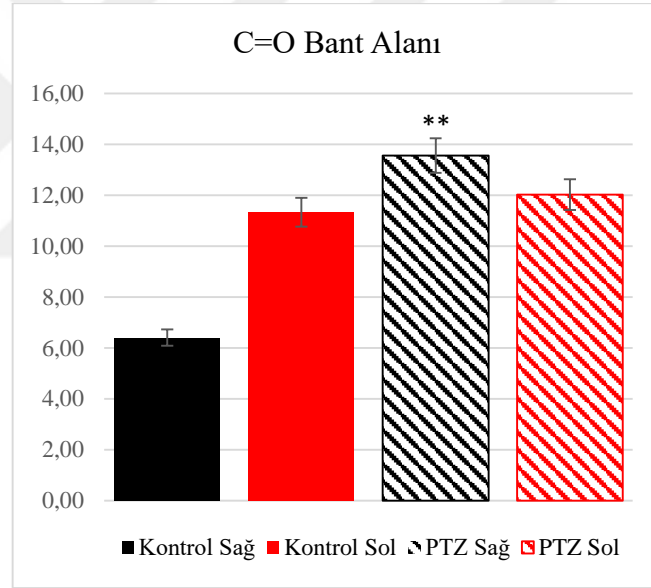
3.1.2.1800-900 cm⁻¹ bölgesi

Parmak izi bölgesi olarak adlandırılan 1800-900 cm⁻¹ spektral aralığı, sisteme özgü fonksiyonel grup titreşimlerinden kaynaklanan bantları içerir (Hands ve diğ., 2013). Şekil 3.9'da 1800-900 cm⁻¹ spektral aralığında kontrol ve JTKN geçiren sıçan beyin sağ-sol hemisferlerine ait spektrumlar gösterilmektedir.



Şekil 3.9. 1800-900 cm^{-1} spektral aralığında kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait FT-IR spektrumları

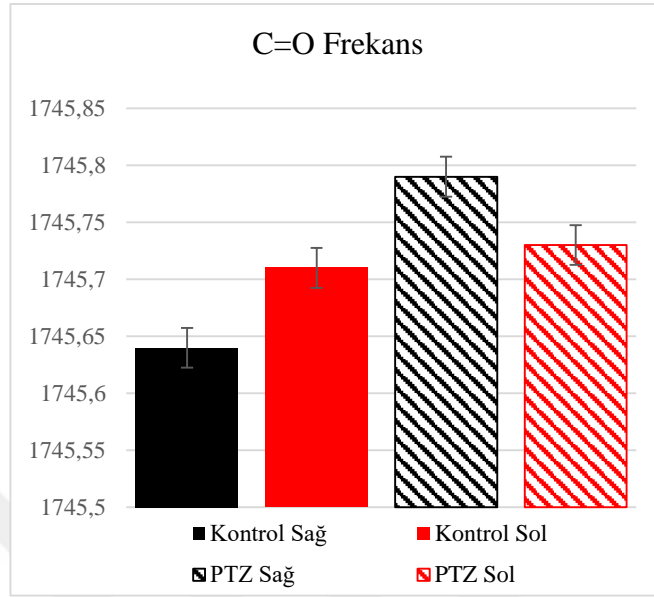
1740 cm^{-1} de bulunan 5 numaralı bant, lipid esterlerin C=O titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Zhang ve diğ., 2017; Sivakumar ve diğ., 2012). Şekil 3.10'da kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait C=O gerilme bant alanları verilmektedir. Şekilde görüldüğü üzere kontrol sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında kontrol sol hemisfer grubunda söz konusu bant alanının daha yüksek olduğu görüldü. Kontrol sağ ile JTKN sağ hemisfer grubu karşılaştırıldığında nöbet geçiren sağ hemisferde bant alan değerinin anlamlı derece ($p<0,001^{**}$) arttığı görüldü. Kontrol sol hemisfer ile JTKN sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise JTKN geçiren sol hemisferde bant alanının arttığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Ayrıca JTKN geçiren sağ hemisferde bant alan değerinin, JTKN geçiren sol hemisfer grubundan anlamlı derece ($p<0,05^{*}$) yüksek olduğu tespit edildi.



Şekil 3.10. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait C=O bant alanı değerleri

Şekil 3.11.'de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait C=O frekans değerleri verildi. Kontrol sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında kontrol sol hemisfer frekansının sağ hemisferden yüksek olduğu görüldü. Kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer grupları, kontrol sol ile JTKN sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer gruplarında frekansın yüksek değerlere kaydığı tespit edildi. Ayrıca JTKN sağ hemisfer grubunda söz konusu frekans değerinin, JTKN geçiren sol hemisfer grubuna göre yüksek değerlere

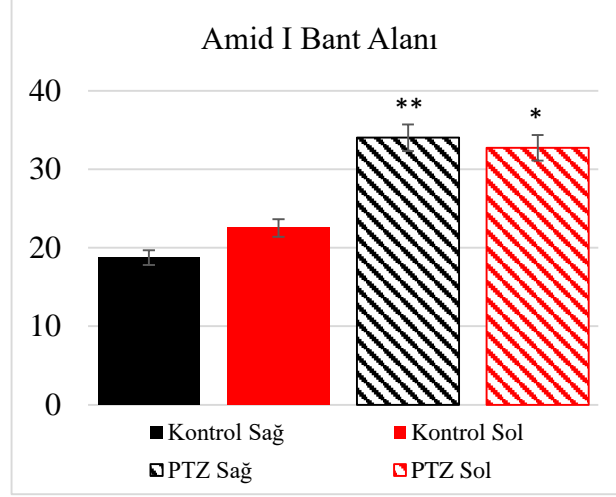
kaydığı belirlendi. Ancak tüm bu karşılaştırmalar sonucu görölen frekans değerlerindeki kaymalar istatistiksel olarak anlamlı değildi.



şekil 3.11. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait C=O frekans değerleri

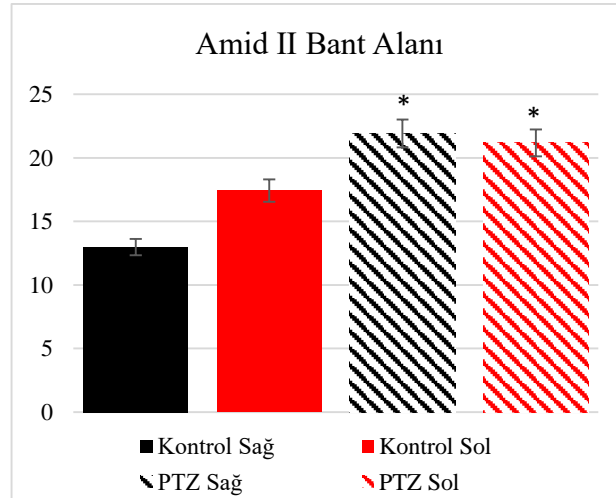
6 numaralı (1650 cm⁻¹) ve 7 numaralı (1540 cm⁻¹) belirgin bantlar, yapısal proteinlerin amid I ve amid II titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Palaniappan ve Pramod, 2011). Amid I (1650 cm⁻¹) bandı, çoğunlukla C = O gerilme (%80), az miktarda ise C-N ve N-H bükölme titreşimlerinden kaynaklanır (Kobayashi ve diğ., 2017; Kong ve Yu, 2007).

şekil 3.12.'de amid I bandına ait alan değerleri verildi. Kontrol sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında amid I alan değerinin kontrol sol hemisfer grubunda daha yüksek olduğu tespit edildi. Kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu karşılaştırıldığında, JTKN geçiren sağ hemisfer grubunun alan değerinde anlamlı derecede (p<0,001**) artış göröldü. Kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grubu karşılaştırıldığında ise nöbet sonrası sol hemisfer bant alan değerlerinin anlamlı derecede (p<0,05*) arttığı belirlendi. Ayrıca JTKN sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise söz konusu bant alanının sağ hemisferde sol hemisferden anlamlı derece (p<0,05*) yüksek olduğu göröldü.



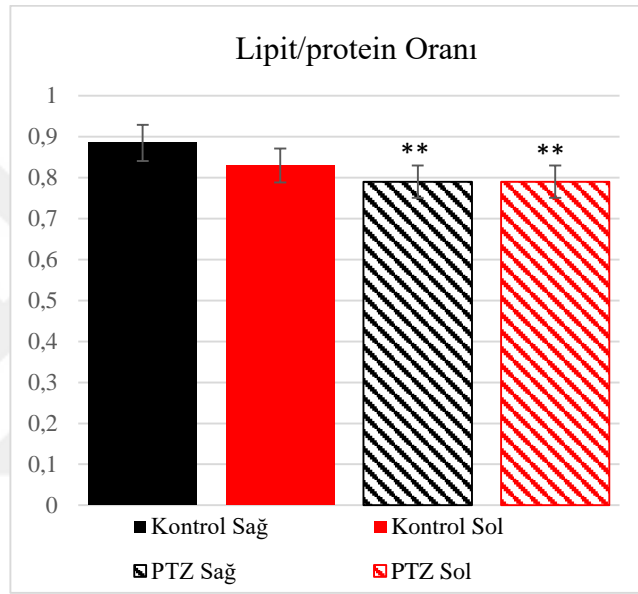
Şekil 3.12. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait amid I alan değerleri

Amid II (1540 cm^{-1}) bandı, N-H bükülme, C-N ve C-C gruplarının gerilme titreşimlerine karşılık gelir (Kobayashi ve diğ., 2017; Turker-Kaya ve diğ., 2016). Şekil 3.13.'de amid II bant alan değerleri verilmiştir. Kontrol sağ ve sol gruplarına ait amid II bant alan değerleri karşılaştırıldığında, kontrol sol grubu alan değerinin sağ hemisfer grubuna göre yüksek olduğu görüldü. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN sağ grubu, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, nöbet sonrası sağ-sol hemisfer gruplarında alan değerlerinin anlamlı derece ($p < 0,05^*$) arttığı tespit edildi. Ayrıca JTKN geçiren sağ hemisfer grubu alan değerinin JTKN geçiren sol hemisfer grubundan yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi.



Şekil 3.13. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait amid II bant alan değerleri

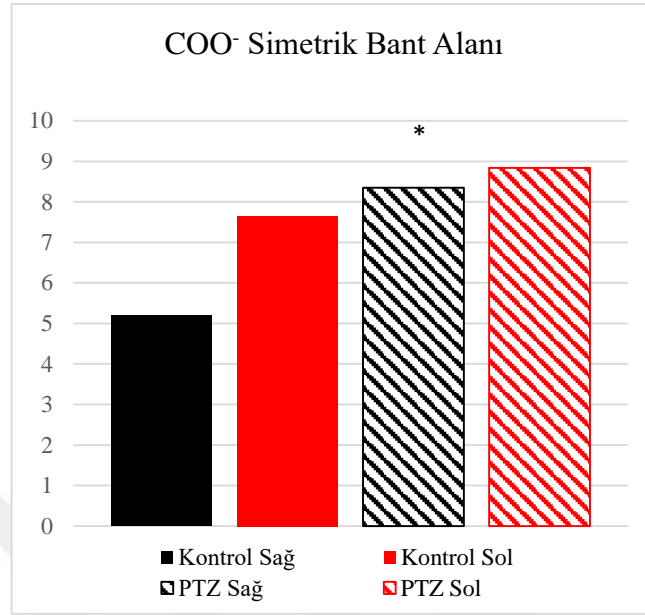
Şekil 3.14.'de kontrol ve JTKN sağ-sol hemisfer gruplarına ait lipit/protein oranları verildi. Kontrol sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, lipit/protein oranının kontrol sağ hemisferde daha yüksek değerde olduğu tespit edildi. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN sağ hemisfer, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, söz konusu oran değerinin nöbet sonrası her iki hemisfer grubunda anlamlı derecede ($p<0,001^{**}$) düşük değerlere kaydığı görüldü. Ayrıca JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi.



Şekil 3.14. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait lipit/protein alan oranı değerleri

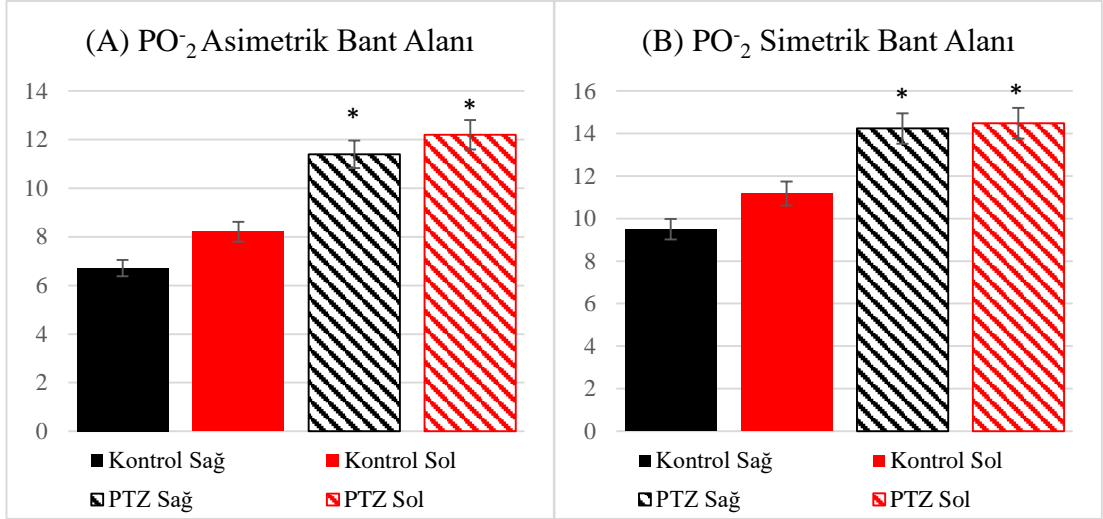
1400 cm^{-1} den bulunan 9 numaralı bant, çoğunlukla yağ asitlerinin COO^- simetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklanır (Chen ve diğ., 2017). Şekil 3.16.'da kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait COO^- simetrik bant alan değerleri verildi. Kontrol sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında kontrol sol hemisferde alan değerinin yüksek olduğu gözlemlendi. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer grupları karşılaştırıldığında söz konusu bant alanının nöbet sonrası sağ hemisferde anlamlı derecede arttığı ($p<0,05^*$) belirlendi. Kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise, bant alanının nöbet geçiren sol hemisfer grubunda arttığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Ayrıca JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları kendi aralarında

karşılaştırıldığında bant alanının nöbet geçiren sol hemisfer grubunda sağdan anlamlı derecede ($p<0,05^*$) yüksek olduğu görüldü.



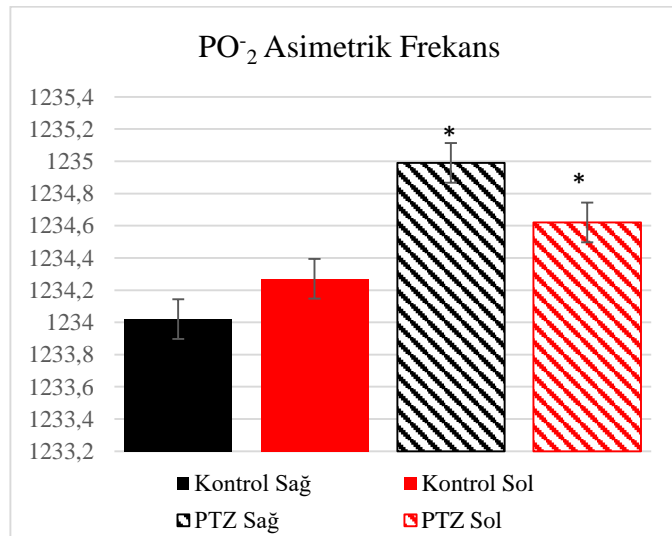
Şekil 3.15. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait COO⁻ simetrik bant alan değerleri

1236 cm⁻¹ de bulunan 10 numaralı PO₂ asimetric ve 1080 cm⁻¹ de bulunan PO₂ simetrik bantları fosfolipitler ve nükleik asitlerden kaynaklanmaktadır. Şekil 3.16. (A) ve (B)'da kontrol sağ-sol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait PO₂ asimetric ve PO₂ simetrik bant alanları verildi. Her iki bant alanı için kontrol sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, alan değerlerinin kontrol sol hemisfer grubunda daha yüksek olduğu görüldü. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, PO₂ asimetric ve PO₂ simetrik bant alan değerlerinin nöbet sonrası her iki hemisferde anlamlı derecede ($p<0,05^*$) arttığı tespit edildi. Ayrıca JTKN geçiren sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, söz konusu bant alanlarının sol hemisferde anlamlı derecede ($p<0,05^*$) yüksek değerlere kaydığı gözlemlendi.



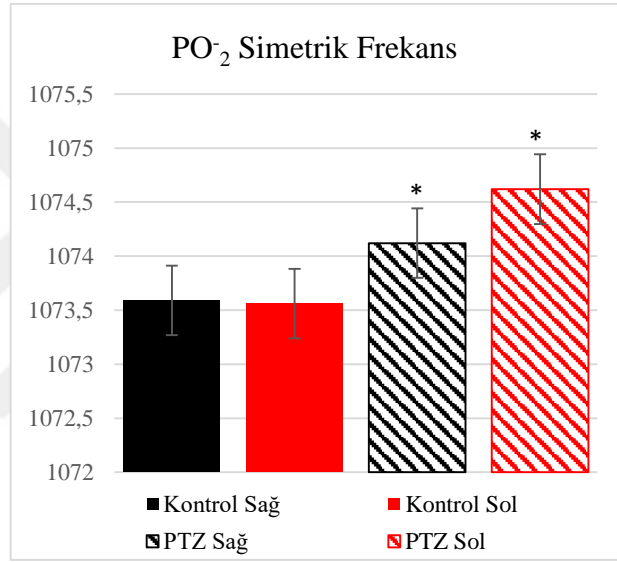
Şekil 3.16. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait PO₂ asimetrik bant alanı (A) ve PO₂ simetrik bant alanı (B) değerleri

Şekil 3.17.'de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlerin PO₂ asimetrik bant frekans değerleri verildi. Kontrol sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, PO₂ asimetrik frekans değerinin sol hemisferde daha yüksek olduğu görüldü. Ayrıca kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grubu karşılaştırıldığında, bant frekans değerinin PTZ uygulanan sağ-sol hemisferlerde anlamlı derecede (p<0,05*) yüksek değerlere kaydığı görüldü. JTKN geçiren sağ-sol hemisfer grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise PO₂ asimetrik bant frekans değerinin nöbet sonrası sağ hemisfer grubunda, soldan anlamlı derecede (p<0,05*)yüksek değerlere kaydığı tespit edildi.



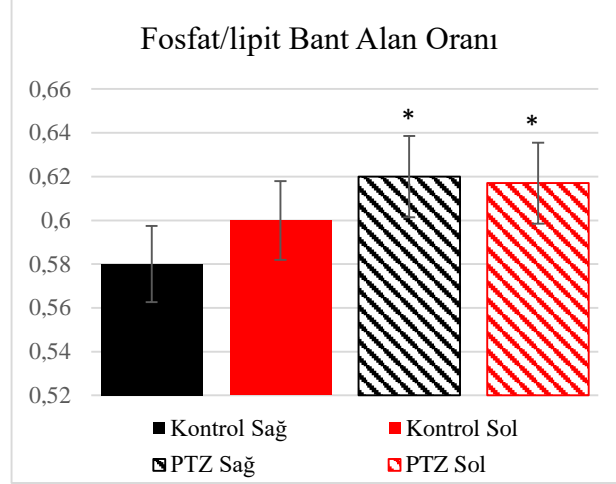
Şekil 3.17. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait PO₂ asimetrik bant frekans değerleri

Şekil 3.18.'de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlerin PO₂ simetrik bant frekans değerleri verildi. Kontrol sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, PO₂ simetrik frekans değerinin sağ hemisferde daha yüksek olduğu görüldü. Ayrıca kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer grubu, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grubu karşılaştırıldığında, bant frekans değerlerinin JTKN geçiren sağ-sol hemisferlerde anlamlı derece (p<0,05*) yüksek değerlere kaydığı görüldü. JTKN geçiren sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise PO₂ simetrik bant frekans değerinin nöbet geçiren sol hemisfer grubunda anlamlı derecede (p<0,05*) yüksek değerlere kaydığı tespit edildi.



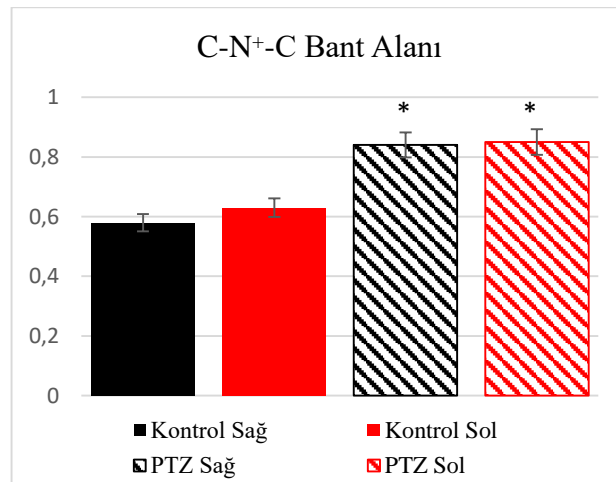
Şekil 3.18. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait PO₂ simetrik bant frekans değerleri

Şekil 3.19.'da kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait fosfat/lipit oranları verildi. Kontrol sağ ve sol hemisfer grup oranları karşılaştırıldığında, kontrol sol hemisferde bu oranın daha yüksek değerde olduğu görüldü. Ayrıca kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer ve kontrol sol ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, nöbet sonrası her iki hemisfer grubunda alan oranlarının anlamlı derece (p<0,05*) yüksek değerlere kaydığı tespit edildi. JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise, sağ hemisfer oranının soldan daha yüksek olduğu belirlendi. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Şekil 3.19. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait fosfat/lipit alan oranları

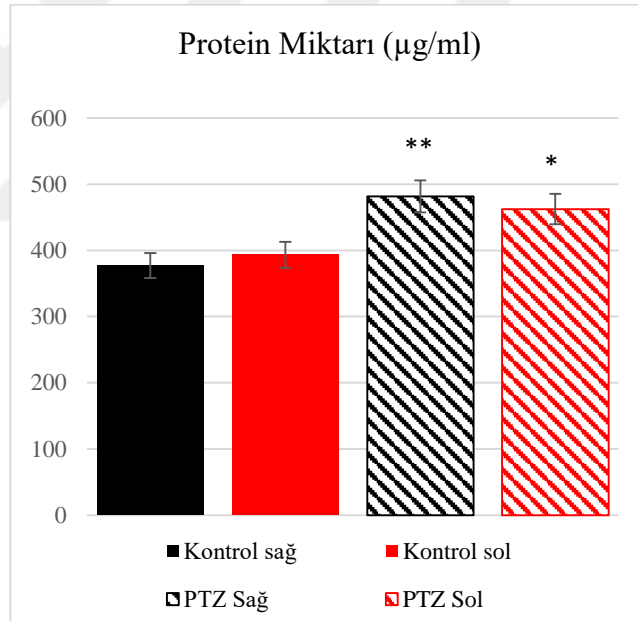
970 cm^{-1} deki 12 numaralı C-N⁺-C gerilme bandı, nükleik asitlerin, fosfolipitlerin ve RNA omurgasının riboz-fosfat ana zincir titreşimlerinin simetrik gerilme modlarından kaynaklanır (Türker-Kaya ve diğ., 2018). Şekil 3.20.'de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait bant alan değerleri verildi. Kontrol sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, kontrol sol hemisfere ait alan değerlerinin daha yüksek olduğu görüldü. Kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer, kontrol sol ile JTKN geçiren sol hemisferler grupları karşılaştırıldığında, nöbet sonrası sağ-sol hemisfer gruplarında kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derece ($p < 0,05^*$) artış tespit edildi. Ayrıca PTZ uygulanan sağ ve sol hemisferler karşılaştırıldığında, PTZ uygulanan sol hemisfer alan değerinin daha sağdan daha yüksek olduğu görüldü, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Şekil 3.20. Kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait C-N⁺-C bant alan değerleri

3.2. Bradford Testi

Şekilde kontrol ve JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer gruplarına ait protein miktarları verildi. Kontrol sağ ve sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, protein miktarının sağ hemisferde daha yüksek değerde olduğu görüldü. Kontrol sağ ile JTKN geçiren sağ hemisfer ($p<0,001^{**}$), kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer ($p<0,05^{*}$) grupları karşılaştırıldığında karşılaştırıldığında JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarında protein miktarının nöbet sonrası anlamlı derece arttığı tespit edildi. JTKN geçiren sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise nöbet sonrası sağ hemisferdeki protein miktarının sol hemisferden yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Bradford testinden elde edilen bu sonuçların, protein kaynaklı amid I ve amid II bant alan değerleri ile uyumlu olduğu görüldü.

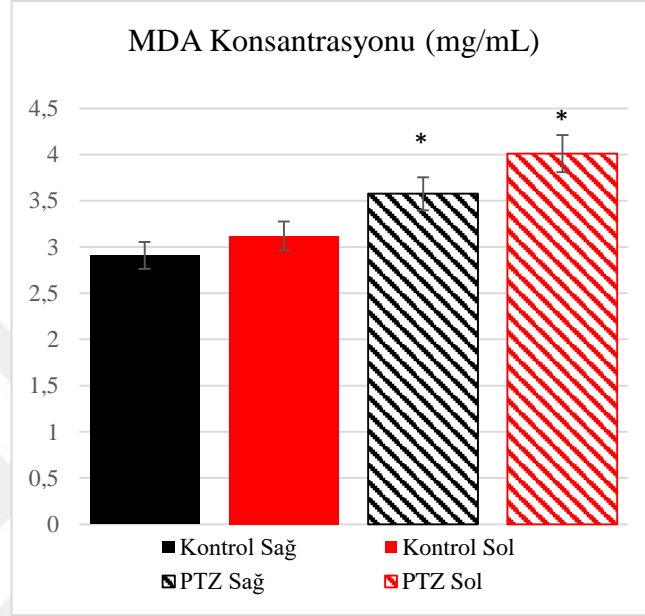


Şekil 3.21. Kontrol ve JTKN geçiren sağ - sol hemisferlere ait protein miktarları

3.3.TBARs Testi

Şekil 3.22' de kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisferlere ait MDA seviyeleri verildi. Kontrol sağ-sol hemisferler karşılaştırıldığında, sol hemisfer MDA seviyesinin daha yüksek değerde olduğu görüldü. Kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, MDA seviyesinin nöbet geçiren her iki hemisferde anlamlı

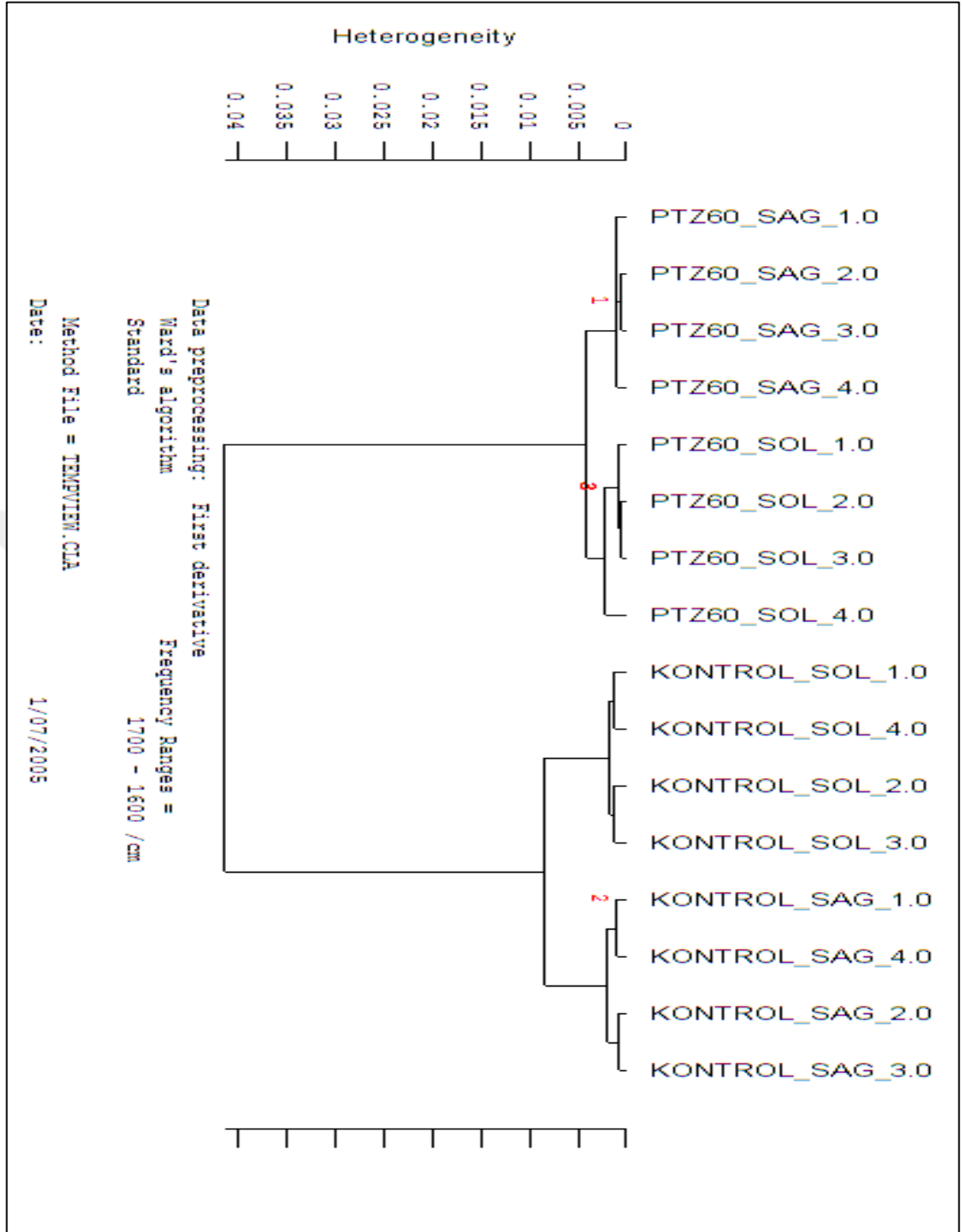
derecede ($p<0,05^*$) arttığı tespit edildi. JTKN geçiren sağ-sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında ise JTKN geçiren sol hemisfer grubunda MDA seviyesinin, sağ hemisferden anlamlı derecede ($p<0,05^*$) yüksek olduğu görüldü. Ayrıca bu sonuçlar, olefinik bant alan değerlerine uygun olarak nöbetleri takiben her iki hemisferde MDA seviyesindeki yükselmeyi doğruladı.



Şekil 3.22. Kontrol ve JTKN sağ-sol hemisferlere ait MDA konsantrasyon değerleri

3.4. Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA)

Ayrıntılı spektral analiz sonucunda kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol beyin hemisferleri arasında belirgin spektral farklılıklar tespit edildi. Gruplar arasındaki spektral farklılıklara bağlı olarak, grupları ayırt etmek üzere $1700-1600\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde kümeleme analizi yapıldı. HCA analizine göre kontrol ve JTKN geçiren sağ-sol hemisfer gruplarına ait spektrumlar %100 heterojenite ile başarılı bir şekilde birbirinden ayrıldı.



Şekil 3.23. Kontrol ve JTKN sağ-sol hemisfer gruplarının 1700-1600 cm^{-1} bölgesine ait HCA dendrogramı

4.TARTIŞMA

Pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan nöbet modelleri, geniş spektrumlu ve epilepsi modeli olarak kullanılan deneysel bir prosedürdür (Mousavi-Hasanzadeh ve diğ., 2019). Bu model oksidatif stresi, nörokimyasal ve beyindeki yapısal değişiklikleri araştırmak için önemli ve kullanışlı epilepsi modelidir (Bagheri ve diğ., 2019). Birçok epilepsi modelinde olduğu gibi, PTZ modeli, nöronal ağların yapısal organizasyonundaki uzun ömürlü ve potansiyel olarak geri dönüşümsüz değişikliklerden kaynaklanabilecek hücre kaybı dahil nörokimyasal, davranışsal ve nörofizyolojik düzeyde geniş bir fenotip dizisine yol açar (Mousavi-Hasanzadeh ve diğ., 2019). Bu sebeplerden dolayı PTZ, epilepsi araştırmalarında yaygın olarak kullanılır. PTZ'nin yüksek ve tekrarlayan dozlarda uygulanması ile nöbet aktivitesinde progresif bir artış oluşturarak insan epilepsisinin %90'ında görülen jeneralize tonik-klonik nöbetlere (JTKN) sebep olur (Zhao ve Holmes, 2006; Maciejak ve diğ., 2010). Hemisferik asimetriden dolayı JTKN'lerin tüm beyni homojen olarak etkilemediği bilinmektedir. Bu nedenle nöbet sonrası beyin hemisferlerinde meydana gelen değişiklikleri incelemek epilepsinin patofizyolojisini anlama açısından oldukça önem arz etmektedir (Jun Ji ve diğ., 2014). Fakat literatürde PTZ indüklenmesi ile oluşturulmuş JTKN'lerin farklı beyin hemisferlerinde yarattığı biyofiziksel parametrelerdeki değişimlerin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Konuya katkı sağlamak amacıyla bu tez çalışması kapsamında JTKN'lerin beyin sağ-sol hemisferlerinde biyofiziksel parametrelerde meydana getirdiği etkiler FT-IR spektroskopisi ile incelendi. Spektroskopik verilerin analizinde titreşim modlarının frekansları, bant genişlikleri ve bant alanlarındaki farklılıkları izlenerek nöbetlerin sağ-sol hemisferler üzerindeki etkileri hakkında genel bir bakış açısı elde edilmesi amaçlandı. Ayrıca FT-IR spektroskopisinden elde edilen bazı bulgular yaygın olarak uygulanan biyokimyasal testler ile desteklenerek karşılaştırmalı olarak ele alındı.

Literatüre dayalı olarak elde edilen verilerin yorumlanmasında, sonuç kısmında da ayrıntılı olarak bahsedildiği gibi kontrol sağ hemisfer ile JTKN geçiren sağ hemisfer

grubu, kontrol sol hemisfer ile JTKN geçiren sol hemisfer grubu karşılaştırıldı. Ayrıca JTKN'lerin hemisferler arasında meydana getirdiği değişimleri ortaya koymak üzere nöbet sonrası sağ- sol hemisfer grupları karşılaştırıldı.

Beynin kuru ağırlığının yaklaşık %60'ı lipitlerden ve bu lipit içeriğinin yaklaşık % 30'u doymamış yağ asitlerinden oluşur (Dreissig ve diğ., 2009; Taha ve diğ., 2010). Lipitler nöronal membranların önemli bir yapısal bileşenidir ve çeşitli farklı mekanizmalar vasıtasıyla nöronal fonksiyonların düzenlenmesi, iyon kanalları ile etkileşimi, membran biyofiziksel özelliklerinin modülasyonu, nörotransmitter salınımının düzenlenmesi, nörotransmitter sinyalleme, biyolojik olarak uyarıcı oksijenli türevlerin sentezi ve nükleer reseptör kaynaklı genlerin transkripsiyonu gibi pek çok mekanizmada önemli rol oynarlar (Taha ve diğ., 2010). Bununla birlikte lipitler, sinyal iletimi, çözünen taşınımı ve membranla bağlantılı enzimlerin aktivitesi gibi birçok membran fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Shivanoor ve David, 2016). Tüm bu sebeplerden anormal lipit metabolizması epilepsinin patogeneğinde rol oynar (Ma ve diğ., 2007). Örnek olarak, geçici veya geri dönüşebilir olmasına rağmen nöbet sonrası lipolitik enzimlerin aşırı uyarılması geri dönüşümsüz membran hasarlarına neden olabildiği rapor edilmiştir (De Martinez ve diğ., 1985). Ayrıca nöbet esnasında yoğun derecede ihtiyaç olan glutamat gibi nörotransmitterlerin sentezi için lipitlerin kaynak olarak kullanılabilmesi için bazı enzimlerin aktive olduğu gösterilmiştir (Eva ve diğ., 2009). Bu bilgiler ışığında, biyolojik örneklerde herhangi bir patoloji ya da hastalık durumunda lipitlerin içeriği ve yapısında meydana gelen değişiklikler, lipit moleküllerine atfedilen bantlarda spektral değişiklikler meydana getirir (Turker ve diğ., 2014; Çakmak ve diğ., 2011; Ozek ve diğ., 2010). Tüm bu nedenlerden, çalışmamızda doymuş ve doymamış yağ asitleri, kolesterol esterler, fosfolipitler ve membran lipitlerindeki farklılıklara özel olarak odaklandık.

Beyin serbest radikallere karşı oldukça duyarlı olan çoklu doymamış yağ asitleri bakımından en zengin organdır (Shivanoor ve David, 2016). Epileptik nöbetlerin, beyinde belirgin oksidatif strese, hücresel proteinlerin, membran lipitlerinin ve genetik malzemelerin anormal yapısal değişikliklerine yol açtığı bilinmektedir (Turker ve diğ., 2014a; Turker ve diğ., 2014b; Abdel-Zaher ve diğ., 2017). Oksidatif stres, lipitler, proteinler, DNA gibi hücre bileşenlerini ve ayrıca fragmentasyonlara

neden olan enzimleri, hasarlı moleküllerin peroksidasyonunu etkiler, böylece önemli biyolojik moleküllerin denatürasyonuna neden olan hasarın geri kazanılmasını engeller (Anastassopoulou ve diğ., 2017). Epileptik nöbetler esnasında çok yüksek oranda gerekli olan enerji ihtiyacını karşılamak için mitokondride yoğun aktivasyon oluşur. Bu yoğun derecede oluşan aktivasyon, belli bir zaman sonra gerekli olan enerjiyi karşılayamaz ve mitokondriyal kökenli reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumu gerçekleştirir (Samokhina ve Samokhin, 2018). Benzer şekilde PTZ'nin kronik uygulamasıyla tetiklenen nöbetlerin ROS üretimine yol açtığı ve bunun sonucunda bilişsel işlev bozukluklarına katkı sağladığı bilinmektedir (Samokhina ve Samokhin, 2018). Oluşan ROS doymamış lipitlerle kolayca reaksiyona girmesi ve antioksidanların aktivitesinin ileri seviyede azalmasıyla lipit peroksidasyonu gerçekleşir. Böylelikle çoklu doymamış yağ asitlerinin, doymuş yağ asitlerine dönüşmesine neden olur (Shivanoor ve David, 2016). Bahsedilen olayla ilgili olarak farklı nöbet modellerinde, farklı beyin bölgelerindeki lipitlerin peroksidasyonunun arttırdığı bilinmektedir (Samokhina ve Samokhin, 2018). Ayrıca nöbet sonrası hücre ve doku seviyesindeki hasarların sebeplerinin başında lipit peroksidasyon olayının olabileceğini belirten literatürde çalışmalar bulunmaktadır (Arhan ve diğ., 2011; Abdel-Zehar ve diğ., 2017). Lipit peroksidasyon olayının nöbet sonrası görülen en önemli olaylardan biri olduğu göz önünde bulundurarak, çalışmamızda farklı hemisferlerdeki lipit peroksidasyon seviyelerini inceledik. Bu bağlamda, elde ettiğimiz spektrumlarda 3012 cm^{-1} frekansında bulunan olefinik bantı doymamış lipitlerin HC=CH gruplarının C-H gerilme modlarından kaynaklandığından, incelenen örnekteki lipitlerin doymamışlık seviyesi ve lipit peroksidasyonu hakkında bilgi verir (Turker ve diğ., 2014a; Leskovjan ve diğ., 2010; Palaniappan ve Vijayasundaram, 2009). =CH grubu içeren lipit peroksidasyon son ürünlerinden kaynaklı olarak, olefinik bant alanı ve olefinik = CH/lipit oranında bir artış beklenmektedir (Leskovjan ve diğ., 2010; Turker ve diğ., 2014; Ozek ve diğ., 2014; Turker-Kaya ve diğ., 2016; Turker-Kaya ve diğ., 2018). Elde edilen bulgulara göre, kontrol grupları ile karşılaştırıldığında JTKN sağ ve sol hemisferin her ikisinde olefinik bant alanındaki ($p<0,001^{**}$) ve olefinik = CH / lipit oranındaki artış, doymamış yağ asitlerinin konsantrasyonunda bir artmaya (Çakmak ve diğ., 2012) ve lipit peroksidasyon ürünlerinde meydana gelen yükselmeyi işaret eder (Leskovjan ve diğ., 2010; Turker ve diğ., 2014a). Fakat olefinik bant alanı ve olefinik/lipit oranında

tespit edilmiş olan bu artma lipit peroksidasyon ürünlerinden mi yoksa doymamış lipitlerin miktarındaki artmadan mı kaynaklı olduğu FT-IR spektroskopisi ile tespit edilemediğinden konuyu netleştirmek adına çalışmamızda TBARs testi uyguladık. TBARs testi sonucunda, lipit peroksidasyon son ürünü olan MDA miktarının JTKN geçiren her iki hemisferde ki artma, FT-IR bulgularından elde edilen PTZ gruplarındaki artma verisinin lipit peroksidasyon ürünlerinden kaynaklı olduğu sonucunu vermektedir. Patsoukis ve arkadaşlarının (2004) yaptığı çalışmada ve Turker ve arkadaşlarının (2014a) JTKN sonrası tüm beyni incelediği çalışmada artan lipit peroksidasyon ürünlerinin belirlenmiş olması, elde ettiğimiz bulguları destekler niteliktedir. Ayrıca JTKN sol hemisferdeki olefinik bant alanının, olefinik/lipit oranının ve TBARs sonuçlarının sağ hemisfer değerlerinden daha yüksek olması, nöbet sonrası sol hemisferde lipit peroksidasyon ürünlerinin daha fazla biriktiği ve böylelikle nöbetlerin yarattığı oksidatif stresten daha fazla etkilendiği anlamına gelebilir (Kaya, 2016).

Plazma membrandaki lipitlerin, membran fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rolleri vardır (Shivanoor ve David, 2016; Turker ve diğ., 2014b). Membran lipit çift tabakalarının hidrofobik kısmı iki uzun hidrofobik zincirden, yani bir metil grubu tarafından sonlandırılan metilen gruplarının zincirlerinden oluşur (Demir ve diğ., 2015). CH₂ asimetrik ve CH₂ simetrik bantları temel olarak fosfolipit açıl zincirlerinin metilen gruplarının C-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanır (Turker ve diğ., 2014b; Demir ve diğ., 2015). CH₂ asimetrik ve CH₂ simetrik bantlarının alanları doymuş lipitlerin miktarları ile ilgilidir (Turker ve diğ., 2014a; Shivanoor ve David, 2016). Elde edilen bulgulara göre, CH₂ asimetrik ve CH₂ simetrik bant alanlarının JTKN geçiren sağ hemisferde (p<0,001**) ve sol hemisferdeki (p<0,05*) artışı beyin hemisferlerinde artan doymuş lipit içeriğinin göstergesidir (Shivanoor ve David, 2015; Krishnakumar ve diğ., 2012). JTKN geçiren sağ ve sol hemisferler birbirleri ile karşılaştırıldığında, söz konusu bant alanlarının sol hemisferde daha fazla (p<0,05*) arttığı tespit edilmesi JTKN sonrası sol hemisferin sağ hemisferden daha yoğun doymuş yağ içerdiğini göstermektedir. Bu durum ayrıca sistemde epileptik nöbetlerin etkisi ile doymamış lipitlerin lipit peroksidasyonu ile doymuş lipitlere dönüştüğünü destekler niteliktedir (Shivanoor ve David, 2016). Doymuş lipit içeriğindeki bu artış JTKN'leri takiben beynin, özellikle sol hemisferin nöbetlere karşı tepki göstergesi

olabilir (Shivanoor ve David, 2016). Dolayısıyla, yağ asidi sentezi hızındaki değişiklikler nedeniyle olabilir (Demir ve diğ., 2015). Ek olarak, sıçan beyin yağ asitlerinin, bazal seviyeleri sağ hemisferde sol hemisfere göre yaklaşık %35 daha düşüktür. Martinez ve arkadaşlarının (1985) yaptığı çalışmada hem bazal içerik hem de elektroşoklara karşı duyarlılık açısından, yağ asitlerinin iki beyin yarım küresi arasında asimetrik olarak dağıldığı rapor edilmiştir. Ak madde lipitlerinin %25'inden fazlasını oluşturan galaktolipitler fazla sayıda C-H gruplarını barındırır. Bu nedenle ak maddeyi oluşturan lipitlerdeki değişimler CH₂ simetrik ve asimetrik bantlarında değişikliklere neden olur (Levine ve Wetzel, 1993). Söz konusu bant alanlarının sol hemisferde daha yüksek değerlerde gözlenmesi, Natali ve ark. bildirdiği üzere sol hemisferdeki yüksek ak madde miktarından kaynaklanıyor olabilir (Natali ve diğ., 2019). Ek olarak, bu farklılıklar sol hemisferdeki yüksek nöron, akson ve glia sayısından kaynaklanıyor olabilir (Natali ve diğ., 2019).

CH₂ asimetrik ve simetrik bantlarının frekansları, açıl zincirlerinin konformasyon değişikliklerinin derecesine bağlıdır (Palaniappan ve Vijayasundaram, 2009). Bundan dolayı bu bantlardaki kaymalar açıl zinciri esnekliğindeki (lipitlerin düzen / düzensizlik durumu) değişikliklerin tespiti için belirteç olarak kullanılır (Krishnakumar ve diğ., 2012; Kneipp ve diğ., 2000; Turker-Kaya ve diğ., 2018; Ozek ve diğ., 2014). CH₂ asimetrik bant frekans değerleri için JTKN geçiren sağ hemisferde herhangi bir değişim gözlenmezken, sol hemisferde anlamlı derece ($p < 0,05^*$) artma tespit edildi. CH₂ simetrik bant frekans değerinin ise sağ ve sol hemisferlerde JTKN sonrası anlamlı derecede ($p < 0,05^*$) yüksek değerlere kaydığı görüldü. Özellikle, söz konusu değişimin nöbet sonrası sol hemisferde, nöbet geçiren sağ hemisfere göre daha etkin olduğu tespit edildi. JTKN sağ ve sol hemisfer grupları için CH₂ asimetrik ve simetrik frekans değerlerinin yüksek değerlerde bulunması, yağ asitlerinde gauche konformerlerin sayısının arttığının gösterir. Bu durum membran düzensizliğinin artmasının bir belirteçidir (Krishnakumar ve diğ., 2012; Turker ve diğ., 2014b; Lewis ve McEllhaney, 2012). Membran lipitlerinin konformasyonlarında meydana gelen bu tarz değişimleri yüksek derecede interaksiyon halinde buldukları membran proteinlerinin konformasyonlarının dolayısıyla onların fonksiyonlarındaki değişiklikleri tetikleyebilir (Ozek ve diğ., 2014; Turker ve diğ., 2014b; Turker-Kaya ve diğ., 2017). Bir başka deyişle,

membran lipitleri, açıl zincirlerinde meydana gelen bu tarz değişimler proteinlerle teması maksimuma çıkarmak onları yapısal değişikliklere zorlarlar. Örneğin, hücre reseptörleri olarak çalışabilen ve hücre sinyallemesinden sorumlu olan glikolipitlerin ve glikoproteinlerin fonksiyonlarını etkileyebilirler (Coulter, 2001; Turker ve diğ., 2014a). İlave olarak, uyarana bağlı olarak voltaj kapılı K^+ kanalları, asetilkolin reseptörleri ve diğer birçok membran reseptörü ve iyon kanallarının fonksiyonu da etkilenir (Waldbaum ve Patel, 2010; Turker ve diğ., 2014b). Söz konusu durum PTZ ile indüklenen JTKN'lerin ve absans nöbetlerin tüm beyin dokusu membranlarına etkilerinin incelendiği çalışmayla da gösterilmiştir (Turker ve diğ., 2014b). İlaveten, verilerimize göre membran lipitlerinin açıl zincirlerindeki yapısal değişikliklerin nöbet sonrası sol hemisferde sağ hemisfere göre daha yüksek seviyede olması, sol hemisferde sayıca fazla bulunan dendrit, akson ve sinapsların fonksiyonlarının da nöbetten daha fazla etkilenebildiği yorumu getirilebilir (Natali ve diğ., 2019; Ittura-Medina ve diğ.,2011). Sonuç olarak, epileptik nöbetlerden kaynaklanan değişmiş lipit organizasyonu ile birlikte proteinlerdeki yapısal değişiklikler muhtemelen membran dinamiklerini değiştirebilir.

Membran akışkanlığı/dinamiği, sırayla hücre sel süreçleri ve hastalık durumlarını etkileyen hücre membranlarının düzgün çalışması için önemli bir parametredir (Turker, 2012). Çalışmalar membran akışkanlığındaki değişikliklerin sodyum, potasyum ve klorid dahil olmak üzere farklı iyonik kanalların kinetiğini ve fonksiyonunu etkileyerek ve membran uyarılabilirliğini değiştirdiğini göstermektedir (Awayda ve diğ., 2004; Shivanoor ve David, 2016). Muhtemelen farklı lipit düzeniyle birlikte membran dinamiğindeki bu tarz değişiklikler, iyon kanallarının uzun süre aktivasyonunda rol oynar; bu da beyindeki anormal sinyal iletimini tetikler (Shivanoor ve David, 2016). Membran akışkanlığındaki değişiklikler, CH_2 asimetric ve simetric bant genişlik değerleri incelenerek belirlenebilir (Turker-Kaya ve diğ., 2016; Alugoju ve diğ.,2019; Turker ve diğ., 2014a). Verilerimize göre, JTKN sağ ve sol hemisfer gruplarının her ikisinde de kontrol gruplarına kıyasla CH_2 asimetric bant genişlik değerlerinin arttığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Ek-A). JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise JTKN sağ hemisfer grubunda bant genişlik değerinin daha yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. CH_2 simetric bant genişlik

değerlerine bakıldığında ise JTKN nöbetlerinin etkisiyle birlikte sağ ve sol hemisferde anlamlı derece ($p < 0,05^*$) artış gözlemlendi. Nöbet sonrası her iki hemisferde bant genişlik değerlerindeki artış, membran akışkanlığının arttığını yansıtır (Türker-Kaya ve diğ., 2016; Severcan ve diğ., 2005; Toyran ve diğ., 2004). Bu artış fosfolipazların etkisi ile membranda daha kısa zincirli lipitlerin varlığından, ayrıca oksidasyon sonucu hidrokarbon zincirlerinin düzensizleşmesinden kaynaklanabilir (Türker-Kaya ve diğ., 2016; Carmona ve diğ., 2008). Ayrıca membran akışkanlığının artması, hücrenin membran düzenini korumak üzere göstermiş olduğu tepki olabilir. Değişen membran akışkanlığı, buna bağlı olarak, iyon kanallarının ve reseptörlerinin fonksiyonlarının değişmesine veya inhibe edilmesine ve daha sonra membran bağlı enzim aktivitesinde değişimlere neden olur (Alugoju ve diğ., 2019). Ancak Türker ve arkadaşlarının (2014a) yaptığı çalışmada, düşük ve yüksek dozlarda PTZ uygulanmasının ardından nöbet gözlenen sıçan beyin dokularında CH_2 simetrik ve asimetric bant genişliklerinin azaldığı dolayısıyla membran akışkanlığının azaldığını bildirmişlerdir. Bu durum çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ile çelişmektedir. Bunun en olası sebebi, yukarıda bahsi geçen çalışmada tüm beynin çalışılmış olmasıdır. Tezin giriş kısmında da ayrıntılı olarak anlatıldığı gibi sağ ve sol hemisferler arasında hücresel farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılıklardan dolayı JTKN sağ ve sol hemisferleri tüm beyne kıyasla daha farklı şekilde etkilemiş olabilir.

Doku örneklerinde 1740 cm^{-1} 'deki $C=O$ bandı kolesterol ester, trigliserit, ve membran lipitlerinin karbonil gruplarından kaynaklanır (Levine ve Wetzel, 1993; Çakmak ve diğ., 2003). Fakat çalışmamızda beyin dokularını incelediğimiz için bu bantta trigliserit moleküllerinin etkisinden bahsedemeyiz. Karbonil bant frekansı arayüzey bölgesindeki konformasyonel değişikliklere ve membran lipitlerinin gliserol iskeletinin yani sulu kısma yakın grubunun hidrasyon seviyesine duyarlıdır (Czeslik ve diğ., 1998; Turker ve diğ., 2014a; Turker-Kaya ve diğ., 2017). $C=O$ bandında meydana gelen herhangi bir kayma fosfolipitlerin su molekülleri ile moleküller arası hidrojen bağları durumundaki değişiklikler ile doğrudan ilgilidir. (Akkaş ve diğ., 2007; Czeslik ve diğ., 1998). Sonuçlarımıza göre JTKN sonrası her iki hemisferde bant frekans değerlerinin yüksek değerlere kaydığı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. 1230 cm^{-1} ve 1080 cm^{-1} 'deki PO_2^- 'deki asimetric ve simetric bantları ise membran fosfolipitlerinin kafa gruplarından

kaynaklanmaktadır (Depciuch ve diğ., 2015; Çakmak ve diğ., 2016). Yine C=O bant frekansıyla ilgili sonuçlarımıza paralel olarak JTKN sağ ve sol hemisfer grupları için PO₂ asimetric ve simetric bantlarının frekanslarında anlamlı derece (p<0,05*) artış tespit edildi. C=O, PO₂ simetric ve asimetric bantlarının nöbet sonrası her iki hemisferde de yüksek değerlere kayması membran fosfolipitlerinin gliserol iskeleti ve fosfat kafa grupları arasında hidrojen bağlarının zayıfladığı bilgisini verdi (Akkas ve diğ., 2007). Bu durum membran fosfolipitlerinin polar bölgelerinin paketlenme derecelerinde değişimleri işaret eder (Çakmak ve diğ., 2016). Buna göre, lipitlerin proteinlerle etkileşimi nedeniyle, lipitlerin yeniden düzenlenmesi ayrıca yapıdaki ve topoloji membran proteinlerindeki değişikliklerden de kaynaklanabilir (Türker ve diğ., 2014a). Lipitlerin polar bölgelerindeki paketlenme farklılıkları özellikle etkileşimde buldukları periferik membran proteinlerde yapısal, dolayısıyla fonksiyonel değişimlere neden olabilir (Depciuch ve diğ., 2015). Örneğin, epileptik nöbet esnasında organizasyonunu değişen lipit tabakasının etkisi ile sinaptik Mg²⁺ ve Ca²⁺ bağımlı ekto-ATPaz ve Ca²⁺ ve Mg²⁺ pompalarının aktivitesindeki azalma olduğu rapor edilmiştir (Walton ve diğ., 1998).

C=O bandı ile ilgili olarak, lipit peroksidasyonu uzun yağ asidi zincirlerinin daha küçük parçalara parçalanmasına neden olduğundan alkanlar ve karbonil bileşikleri gibi reaktif karbonil türleri olarak adlandırılan geniş bir reaktif ara ürün yelpazesi üreten hidroperoksitler ve endoperoksitlerin üretilmesine neden olur (Alujoju ve diğ., 2019). Bu durum C=O bandının alanında bir artmayla sonuçlanır (Çakmak ve diğ., 2012). Bulgularımıza göre, C=O bant alanının JTKN her iki hemisfer grubunda arttığı ancak bu artışın sağ hemisferde istatistiksel olarak anlamlı (p<0,001**) sol hemisferde anlamlı olmadığı gözlemlendi. Bunun olası nedeni, nöbet tetiklenmesi esnasında üretilen ROS'un, aminoasit yan zincir amino gruplarının karşılık gelen serbest radikal kaynaklı karbonillere dönüştürülmesi olabilir (Shivanoor ve David., 2016). Söz konusu artış TBARs testinden elde edilen MDA gibi lipit peroksidasyon verilerini doğrular niteliktedir.

Protein yapısal çalışmalarında en yaygın kullanılan bantlar, amid I ve amid II'dir. Amid I bandı temel olarak peptid grubunun C=O gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Jagadeesan ve diğ., 2005). Amid II bandı, öncelikle C-N gerilme titreşimlerinin bir katkısı ile N-H bükülmedir. Amid alanlarının değişimleri temelde

Beer-Lambert spektroskopik yasasına dayanarak protein miktarıyla doğru orantılıdır (Akkas ve diğ., 2007; Turker-Kaya ve diğ., 2018). Amid I ve amid II bant alanlarının JTKN gruplarında her iki hemisferde anlamlı derecede artması ($p < 0,05^*$), JTKN gruplarında sağ ve sol hemisfer dokularında protein miktarının arttığı buna bağlı olarak protein sentezinde de artma olduğu yorumuna gidilebilir. Ayrıca özellikle amid I bandı için açıklamak gerekirse, bu bant proteinlerin alfa heliks, beta plakalı ya da düzensiz katlanmalar gibi ikincil yapılarına ait alt bantlardan oluşmaktadır (Turker-Kaya ve diğ., 2016). Haris ve Severcan (1999) çalışmaların da gösterildiği üzere amid I bandının ikincil türev analizi X-ray kristolografisi verileri ile uyumludur (Haris ve diğ., 1999). Bu sebeple amid bantlarının protein konformasyonuna duyarlı olduğu kabul edilir; ve bant alanlarında meydana gelen bir artma ya da azalma, bütün protein modelinin bileşimindeki bir değişimle ilgilidir (Jagadeesan ve diğ., 2005; Shivanoor ve David, 2015). Bununla ilgili olarak, amid I alanlarındaki artmanın protein miktarı ile olan ilişkisinin yanı sıra yapısal değişimlerden de kaynaklı olduğunu test etmek üzere amid I bandının kabaca ikincil türev analizini gerçekleştirdik ve JTKN grupları için protein ikincil yapılarına ait bantlarda farklılıklar tespit ettik (veriler tez çalışması sonucuna dahil edilmedi). Benzer olarak Turker ve arkadaşlarının (2014a) yaptığı çalışmada PTZ ile oluşturulan nöbetlerin proteinlerin ikincil yapılarında önemli değişiklikler meydana getirdiği tespit edildi. Ayrıca FTIR spektroskopisinden elde ettiğimiz protein miktarı ile ilgili veriler Bradford testinden elde edilen sonuçları (Şekil 3.21.) destekler niteliktedir. Söz konusu bant alanları JTKN sağ sol hemisfer grupları karşılaştırıldığında, sağ hemisfer de daha yüksek değerlerde tespit edilmesi nöbet oluşumunu takiben glutamerjik sistemin aşırı aktivitesine karşı telafi edici bir reaksiyon olarak yorumlanabilir (Maciejak ve diğ., 2010). Bu tarz bir reaksiyon olarak sağ hemisferde daha yüksek dopaminerjik aktivitenin gerçekleştiği rapor edilmiştir (Vinogradova ve Shatskova, 2012). Gelişmiş dopamin seviyesine sahip yarımkürede, düşük epileptik oran sergilediğinden, sağ yarım kürenin dopaminerjik aktivitesinin artması, epileptogeneze karşı daha yüksek direncinden sorumlu olabilir. Ek olarak Vinogradova ve Shatskova' nın bildirdiği üzere Wistar sıçanlarda sola göre sağ nigrada GABA içeriği artmıştır. Çünkü nigral GABAerjik mekanizmalar beyinde oluşan nöbetlerin yayılmasında kritik rol oynamaktadır (Vinogradova ve Shatskova, 2012). Artmış GABA miktarı epileptogeneze karşı direncin artmasına katkıda

bulunabilir. Çalışmamız sonucu JTKN sonrası sağ hemisferde artan protein miktarı, literatürden elde edilen verileri destekler niteliktedir. Vinogradova ve Shatskova, Wistar sıçanlarda sol hemisferin sağdan daha yüksek nöbet duyarlılığına sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca sağ ve sol hemisferlerin nöbetlerden farklı derecelerde etkilendiği ve bu verilerin klinik çalışmalarla uyumlu olduğu görülmüştür (Vinogradova ve Shatskova, 2012). Buna ilave olarak, literatüre göre nöbet aktivitesi, bölgeye özgü hücre ölümü ve ROS üretiminin artmasına neden olur. Söz konusu bu değişiklikler sonucunda beynin oksidatif stresten korunması ve hasar sonrası beynin korunması için yeni protein sentezi gerekmektedir ve hemen erken gen ürünlerinin hızlı bir şekilde düzenlenmesiyle ilişkilendirilir (Chwiej ve diğ., 2010). Protein miktarlarında meydana gelen bu artış, hasar sonrası oksidatif strese karşı beyinde meydana gelen savunma mekanizması olabilir. Juárez-Rebollar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hücrel savunma proteini ve serbest radikallerin temizlenmesinde etkili olan melatonin ekspresyonunun PTZ ile oluşturulan nöbet sonrasında arttığını göstermişlerdir (Juárez-Rebollar ve diğ., 2015). Ek olarak Maciejak ve ark. yaptığı çalışmada PTZ'nin uyarıcı amino asit salgısındaki (glutamat ve aspartat) bir artışla doğrudan bağlantılı olduğunu gösterilmiştir (Maciejak ve diğ., 2010). Bu da nöbet sonucunda meydana gelen hücrel hasara karşı sistemdeki protein artışını destekler niteliktedir.

Lipitler ve proteinler, membranların ana bileşenleri olduklarından lipit ve protein miktarındaki değişiklikler, membran dinamiklerini ve yapısını önemli ölçüde etkiler (Demir ve diğ., 2015). Bundan dolayı FT-IR spektroskopisi uygulamalarında lipit/protein alan oranları membran dinamikleri ve hücrel transport hakkında bilgi verir (Turker ve diğ., 2014a; Turker ve diğ., 2014b). Nöbet aktivitesi sırasında anormal nöronal transmisyonun plasma membran düzeyinde gerçekleştiği göz önüne alınarak çalışmamıza lipit/protein oranını da dahil ettik. Bu bağlamda CH₂ asimetrik ve simetrik gerilme bant alanları toplamı, amid I ve amid II bant alanları toplamına bölündü.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre nöbet aktivitesini takiben her iki hemisferde lipit/protein oranında nöbetlere bağlı olarak anlamlı ($p < 0,001^{**}$) bir düşüş tespit edildi. Bu azalma lipit miktarında düşüş, protein miktarında artış ya da iki olay aynı anda gerçekleştiğinde elde edilir (Demir ve diğ., 2015). Fakat sonuçlarımızda lipit ve

protein kaynaklı bant alanlarında anlamlı derecede artış gözlemlendi. Lipit/protein oranında ki bu azalma ise JTKN gruplarında dokudaki protein kaynaklı bantların artmasının lipit bantlarındaki artıştan daha fazla olduğunu gösterir. JTKN sonrası sağ sol hemisferler arası istatistiksel bir farklılık görülmemesi protein ve lipit kaynaklı bantlardaki değişimlerin benzer olmasından kaynaklı olabilir. (Kaya, 2016). Lipit/protein oranındaki bu değişim ayrıca membran lipitlerinin kimyasal bileşimindeki değişikliklerle birlikte, membran dinamiğinde farklılığın göstergesidir. Bu tür olaylar epileptik aktivite sonrası membran bütünlüğü ve canlılık kaybına sebep olabilir (Türker ve diğ., 2014a).

1400 cm^{-1} COO^- simetrik bandı yağ asitlerinin simetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklanır (Severcan ve diğ., 2010; Akkaş ve diğ., 2007). JTKN her iki hemisferde söz konusu bant alanının artması yağ asitlerinin miktarındaki artışın göstergesidir. Bunun yanı sıra bu bulgu CH_2 asimetric ve simetrik bant alanlarından elde ettiğimiz JTKN gruplarında doymuş lipit miktarlarındaki artmayı da destekler niteliktedir. Ayrıca PTZ uygulanan sol hemisferde COO^- bant alanının yüksek olması, hemisferler arası yağ asitleri miktarı ve kompozisyonundaki farklılıklardan kaynaklı olabilir (Patsoukis ve diğ., 2004).

Sırasıyla 1240 cm^{-1} ve 1080 cm^{-1} 'deki PO_2^- asimetric ve simetrik fosfat gerilme bantları, esas olarak hücrel nukleik asitlerin fosfodiester omurgası ve yukarıda da belirtildiği gibi membran lipitlerinin fosfat kafa gruplarından kaynaklı bantlardır (Çakmak ve diğ., 2006). JTKN gruplarında bu bantların alanlarında ve fosfat/lipit oranında anlamlı derece ($p < 0,05^*$) artmanın tespit edilmesi her iki hemisferde nöbetlerin etkisi ile fosfat içeren biyomoleküllerde artmanın göstergesidir. Bu biyomoleküller hem nukleik asitler hem de membran lipitleri olabilirler. Beyin dokusu fosfolipitler bakımından zengin olduğundan, bu bantlarda meydana gelen değişimler, beyin fosfolipit içeriğindeki değişiklikleri ifade eder (Alujoju ve diğ., 2019). JTKN geçiren sağ ve sol hemisfer grupları fosfat bant alanları karşılaştırıldığında nöbet sonrası sol hemisfer bant alanlarının sağ hemisferden anlamlı derece ($p < 0,05^*$) yüksek olduğu dolayısıyla sol hemisferde fosfolipit miktarının arttığı anlamına gelir. Bu sonuçlar, muhtemelen doğal olarak lateralize serebral fonksiyonlarla ilişkili olabilecek spesifik membran fosfolipitlerini içeren

beyin asimetrisinin metabolik belirtileri olarak yorumlanabilir (De Martinez ve diğ., 1985).

975 cm^{-1} 'de olan C-N⁺-C bandı, genellikle DNA için hücrel nükleik asitlere atanır (Liao ve diğ., 2013). Söz konusu bant alanındaki artış, JTKN'lerin sağ-sol hemisfer dokularında, nükleik asitlerin nispi içeriğinde bir artışı ifade eder (Sivakumar ve diğ., 2014). JTKN geçiren her iki beyin hemisferinde söz konusu bant alanının arttığı ($p < 0,05^*$), ancak sağ ve sol hemisferler arasında bir farklılık olmadığı görüldü. Nükleik asit bandındaki bu artma protein sentezi ile ilgili olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (Turker 2014b; Turker-Kaya ve diğ., 2018; Sivakumar ve diğ., 2012). Bu bilgiler ışığında protein sentezinin her iki hemisfer arttığı dolayısıyla protein miktarının da arttığı anlamına gelebilir. PTZ uygulamasını takiben çeşitli çalışmalar PTZ ile oluşturulan nöbetlerin, memeli merkezi sinir sisteminin nöronlarında artmış protein ve mRNA veya diğer proteinlerin üretimine neden olduğunu göstermiştir. Bu da söz konusu bant alanındaki artışı destekler niteliktedir (Asunuma ve diğ., 1995). Bu ayrıca protein sentezindeki artışı yansıtan RNA üretimindeki artışı da gösterir. Ayrıca sonuçlarımız nöbet sonrası protein sentezinde hemisferler arası farklılık olmadığını gösterdi. Tüm bu nedenlerden epileptik nöbetler, nöral plastisitenin kalıcı değişimlerine yol açan moleküler olaylardan sorumludur (Türker-Görgülü, 2009).

HCA elde edilen spektral parametrelerdeki farklılıkların kontrol ve JTKN gruplarının birbirinden ne derecede ayırabileceğini test etmek amacıyla uygulandı. Analiz sonucunda Şekil 3.23'de görüldüğü üzere, PTZ ile oluşturulan JTKN'lerin sağ-sol hemisferlere ait FT-IR spektrumlarının birbirinden başarılı olarak ayrıştığı görüldü. Bu da FT-IR analiz sonuçlarını destekler nitelikte nöbetlerin hemisferler üzerinde meydana getirmiş olduğu farklılıkların anlamlı ve ayırt edici özellikte olduğunu gösterdi. Dendogram PTZ uygulanmasını takiben JTKN'lerin sağ ve sol beyin hemisferlerinde moleküler düzeyde farklılık olduğunu yansıtır düzeydedir.

5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Epilepsi, bozulmuş beyin aktivitesi ve anormal veya aşırı beyin nöronal aktivitesinden dolayı nöbet oluşumu ile karakterize edilen, dünya çapında yaklaşık 70 milyon kişiyi etkileyen ciddi bir sağlık sorunudur. Günümüzde epileptogenez üzerine birçok çalışma yapılmış olmasına karşın, epileptogenezin altında yatan patofizyolojiler belirsiz kalmaktadır. Patogenezde rol oynayan fonksiyonel, hücrel ve moleküler mekanizmaları anlamak epilepsi, nöbet oluşumuna müdahale eden yeni ilaçların gelişimini desteklemek amacıyla birçok epilepsi hayvan modeli oluşturulmuştur. Pentilentetrazol (PTZ) kaynaklı nöbet modeli, yaygın nöbet ve epilepsi modeli olarak kullanılan deneysel bir prosedürdür. PTZ' nin yüksek ve tekrarlanan dozlarda uygulanması beyinde birçok reseptör üzerine etki eder ve jeneralize tonik-klonik nöbetlere neden olur. JTKN'lerin beyinde yayılması interhemisferik bağlantılar gerektirir. Bu nedenle nöbetlerin beyin hemisferlerinde meydana getirmiş olduğu değişimleri aydınlatmak büyük önem arz etmektedir.

Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi, hastalıkların teşhisi, hastalığın neden olduğu anormalliklerin öngörülmesi, ilerlemesi ve evrelemesinde önemli rol oynamaktadır. Bu amaç ile PTZ ile oluşturulmuş JTKN'lerin sıçan sağ ve sol hemisferlerinde meydana getirmiş olduğu değişimler FT-IR spektroskopisi ayrıntılı olarak incelendi. Ayrıca FT-IR spektral analizlerini desteklemek üzere Bradford ve TBARs testleri uygulandı. FT-IR spektroskopisinden elde edilen spektral verilerin analizleri sonucunda lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler hakkında detaylı bilgiler elde edildi. Protein kaynaklı bantlardan elde edilen verileri desteklemek amacıyla Bradford testi ile protein miktarı, lipit peroksidasyon son ürünlerinin katkısıyla oluşan bantları desteklemek amacı ile de TBARs testi ile MDA miktar tayinleri gerçekleştirildi.

Bulgularımız sonucunda, PTZ ile oluşturulan nöbetlerin sıçan sağ ve sol beyin hemisferler dokularında moleküler düzeyde farklılıklar meydana getirdiği tespit edildi. Lipit içeriği, membran akışkanlığı ve nükleik asit kaynaklı bantlar sol hemisferde yüksek iken, protein kaynaklı bantların sağ hemisfer yüksek olduğu

görüldü. Ayrıca JTKN etkisiyle ile lipit/protein oranında azalma meydana geldi. Bu durum nöbetlerin sağ ve sol hemisferler farklı derecede etkilediğini ortaya koydu. Özellikle sol hemisferdeki değişimler sağ hemisfere nazaran daha yüksek orandadır. Tüm bu değişimler göz önüne alındığında nöbetlerin hemisferleri farklı derecede etkilemesi, beynin anatomik, fonksiyonel ve nörokimyasal asimetrisinden kaynaklanıyor olabilir. Bu bağlamda hemisferler arası asimetrisinin aydınlatılması hastalığın patofizyolojisini aydınlatmak açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasıyla, epilepsi patogenezinin aydınlatılması ve sonraki çalışmalara ışık tutması hedeflendi. Ayrıca bundan sonraki süreçte beynin nörokimyasal asimetrisi ile fonksiyonel asimetrisi ve hemisferik baskınlığın dikkate alınarak epilepsinin tedavisi yönelik, yeni çalışmalar gerçekleştirilmesi hedeflenmektedir.

KAYNAKLAR

Abdelrazzak A., El-Bahy G., FT-IR Spectroscopic Investigation of Ionizing Radiation-Induced Damage In The Small İntestine of Whole-Body Irradiated Rats, *Vibrational Spectroscopy*, 2018, **99**, 146-150.

Abdel-Zaher A., Farghaly H., Farrag M., Abdel-Rahman M., Abdel-Wahab B., A Potential Mechanism For The Ameliorative Effect of Thymoquinone on Pentylene-tetrazole-İnduced Kindling and Cognitive İmpairments in Mice, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, **88**, 553-561.

Akkas S., Severcan M., Yilmaz O., Severcan F., Effects of Lipoic Acid Supplementation on Rat Brain Tissue: An FTIR Spectroscopic and Neural Network Study, *Food Chemistry*, 2007, **105**(3), 1281-1288.

Akopov A., Moskovtsev A., Dolenko S., Savina G., Cluster Analysis in Biomedical Researches, *Patol Fiziol Eksp Ter*, 2013, **4**, 84-96.

Alugoju P., Narsimulu D., Bhanu J., Satyanarayana N., Periyasamy L., Role of Quercetin and Caloric Restriction on the Biomolecular Composition of Aged Rat Cerebral Cortex: An FTIR Study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, DOI:10.1016/j.saa.2019.05.033.

Anastassopoulou J., Kyriakidou M., Kyriazis S., Mavrogenis A., Mamareli V., Mamareli I., Petra M., Malesiou E., Kotoulas C., Kolovou P., Koutoulakis E., Markouizou A., Theophanides T., Oxidative Stress in Ageing and Disease Development Studied by FT-IR Spectroscopy, *Mechanisms of Ageing and Development*, 2018, **172**, 107-114.

Aniol V., Ivanova-Dyatlova A., Keren O., Guekht A., Sarne Y., Gulyaeva N., A Single Sentylenetetrazole-İnduced Clonic-Tonic Seizure Episode is Accompanied by a Slowly Developing Cognitive Decline in Rats, *Epilepsy&Behavior*, 2013, **26**(2), 196-202.

Arhan E., Serdaroglu A., Ozturk B., Ozturk H., Ozcelik A., Kurt N., Kutsal E., Sevinc N., Effects of Epilepsy and Antiepileptic Drugs on Nitric Oxide, Lipid Peroxidation and Xanthine Oxidase System in Children with İdiopathic Epilepsy, *Seizure*, 2011, **20**, 138-142.

Asanuma M., Nishibayashi S., Kondo Y., Iwata E., Tsuda M., Ogawa N., Effects of Single Syclosporin A Pretreatment on Pentylene-tetrazol-İnduced Convulsion and on TRE-Binding Activity in the Rat Brain, *Molecular Brain Research*, 1995, **33**(1), 29-36.

Awayda M., Shao W., Guo F., Zeidel M., Hill W., ENaC–Membrane Interactions: Regulation of Channel Activity by Membrane Order, *The Journal of General Physiology*, 2004, **123**(6), 709-727.

Bagheri S., Heydari A., Alinaghypour A., Salami M., Effect of Probiotic Supplementation on Seizure Activity and Cognitive Performance in PTZ-Induced Chemical Kindling, *Epilepsy&Behavior*, 2019, **95**, 43-50.

Bambal G., Çakıl D., Ekici F., Epilepsi Oluşum Mekanizmaları, *Konuralp Tıp Dergisi*, 2011, **3**(3), 42-45.

Bosak M., Słowik A., Kacorzyk R., Turaj W., Implementation of The New ILAE Classification of Epilepsies Into Clinical Practice-A Cohort Study, *Epilepsy&Behavior*, 2019, **96**, 28–32.

Brennan G., Henshall D., MicroRNAs in The Pathophysiology of Epilepsy, *Neuroscience Letters*, 2017, **667**, 47-52.

Burlakoti A., Kumaratilake J., Taylor J., Henneberg M., Asymmetries of Total Arterial Supply of Cerebral Hemispheres Do Not Exist, *Heliyon*, DOI: 10.1016/j.heliyon.2018.e01086.

Büyüksırt T., Kuleaşan H., Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (Ftir) Spektroskopisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı, *Gıda*, 2014, **39**(4), 235-241.

Cakmak G., Miller L., Zorlu F., Severcan F., Amifostine, a Radioprotectant Agent, Protects Rat Brain Tissue Lipids Against Ionizing Radiation Induced Damage: An FTIR Microspectroscopic İmaging Study, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, **520**(2), 67-73.

Cakmak G., Severcan M., Zorlu F. Severcan F., Structural and Functional Damages of Whole Body Ionizing Radiation on Rat Brain Homogenate Membranes and Protective Effect of Amifostine, *International Journal of Radiation Biology*, 2016, **92**(12), 837-848.

Cakmak G., Togan I., Severcan F., 17 β -Estradiol Induced Compositional, Structural and Functional Changes in Rainbow Trout Liver, Revealed by FT-IR Spectroscopy: A Comparative Study with Nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, 2006, **77**(1), 53-63.

Carmona P., Rodríguez-Casado A., Alvarez I., Miguel E., Toledano A., FTIR Microspectroscopic Analysis of The Effects of Certain Drugs on Oxidative Stress and Brain Protein Structure, *Biopolymers*, 2008, **89**(6), 548-554.

Cavanna A., Monaco F., Brain Mechanisms of Altered Conscious States During Epileptic Seizures, *Nature Reviews Neurology*, 2009, **5**(5), 267–276.

Cerri C., Caleo M., Bozzi Y., Chemokines as New Inflammatory Players in the Pathogenesis of Epilepsy, *Epilepsy Research*, 2017, **136**, 77-83.

Chen J., Guo B., Yan R., Sun S., Zhou Q., Rapid and Automatic Chemical Identification of the Medicinal Flower Buds of Lonicera Plants by the Benchtop and

Hand-Held Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, **182**, 81-86.

Chwiej J., Dulinska J., Janeczko K., Dumas P., Eichert D., Dudala J., Setkowicz Z., Synchrotron FTIR Micro-Spectroscopy Study of the Rat Hippocampal Formation After Pilocarpine-Evoked Seizures, *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2010, **40**(2), 140-147.

Coulter D.A., Epilepsy-Associated Plasticity in γ -aminobutyric Acid Receptor Expression, Function and Inhibitory Synaptic Properties, *Brain Plasticity and Epilepsy*, 2001, **45**, 237–252.

Cremer C., Palomero-Gallagher N., Bidmon H., Schleicher A., Speckmann E., Zilles K., Pentylentetrazole-Induced Seizures Affect Binding Site Densities for Gaba, Glutamate and Adenosine Receptors in The Rat Brain, *Neuroscience*, 2009, **163**, 490-499.

Czeslik C., Reis O., Winter R., Rapp G., Effect of High Pressure on the Structure of Dipalmitoylphosphatidylcholine Bilayer Membranes: A Synchrotron-X-Ray Diffraction and FT-IR Spectroscopy Study Using the Diamond Anvil Technique, *Chemistry and Physics of Lipids*, 1998, **91**(2), 135-144.

Çakmak G., Togan İ., Uguz C., Severcan F., FT-IR Spectroscopic Analysis of Rainbow trout Liver Exposed to Nonylphenol, *Applied Spectroscopy*, 2003, **57**(7), 835–41.

Dawn-Linsley, M., Ekinci, F., Ortiz, D., Rogers, E., Shea T., Monitoring Thiobarbituric Acid-Reactive Substances (Tbars) As an Assay for Oxidative Damage in Neuronal Cultures and Central Nervous System, *Journal of Neuroscience Methods*, 2005, **141**(2), 219-222.

Demir P., Akkas S., Severcan M., Zorlu F., Severcan F., Ionizing Radiation Induces Structural and Functional Damage on the Molecules of Rat Brain Homogenate Membranes: A Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopic Study, *Applied Spectroscopy*, 2015, **69**(1), 154-164.

Depciuch J., Sowa-Kucma M., Misztak P., Szewczyk B., Nowak G., Pankiewicz P., Parlinska-Wojtan M., Olfactory Bulbectomy-Induced Changes in Phospholipids and Protein Profiles in the Hippocampus and Prefrontal Cortex of Rats. A Preliminary Study Using a FTIR Spectroscopy, *Pharmacological Reports*, DOI: 10.1016/j.pharep.2015.12.005.

Depciuch J., Zawlik I., Skrzypa M., Pajak J., Potocka N., Łach K., Bartosik-Psujek H., Kozirowska A., Kaznowska E., Cebulski J., FTIR Spectroscopy of Cerebrospinal Fluid Reveals Variations in the Lipid:Protein Ratio at Different Stages of Alzheimer's Disease, *Journal of Alzheimer's Disease*, DOI:10.3233/JAD-181008.

Devinsky O., Vezzani A., O'Brien T., Jette N., Scheffer I., Curtis M., Perucca P., Epilepsy, *Nature Reviews Disease Primers*, DOI:10.1038/nrdp.2018.24.

Doğan Z., Neonatal Dönemde Kafein Uygulanımının Nöbet Modellerinde Elektroensefalografik ve Davranışsal Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2018, 520531.

Dreissig I., Machill S., Salzer R., Kafft C., Quantification of Brain Lipids By FTIR Spectroscopy and Partial Least Squares Regression, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2009, **71**, 2069-2075.

Eerdenbrugh B., Taylor L., Application of Mid-IR Spectroscopy for the Characterization of Pharmaceutical Systems, *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, **417**, 3-16.

Elibol-Can B., Jakubowska-Dogru E., Severcan M., Severcan F., The Effects of Short-Term Chronic Ethanol Intoxication and Ethanol Withdrawal on the Molecular Composition of the Rat Hippocampus by FT-IR Spectroscopy, *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 2011, **35**(11), 250-262.

Elmi F., Movaghar A., Elmi M., Alinezhad H., Nikbakhsh N., Application of FT-IR spectroscopy on breast cancer serum analysis, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, **187**, 87-91.

Emotoa M., Yamato M., Sato-Akabac H., Yamada K., Fujii H., Brain Redox Imaging in The Pentylene-tetrazole (PTZ)-Induced Kindling Model of Epilepsy by Using in Vivo Electron Paramagnetic Resonance and a Nitroxide Imaging Probe, *Neuroscience Letters*, 2015, **608**, 40-44.

Erdogan M., Yusuf D., Erdogan A., Erbas O., Levodropropizine Suppresses Seizure Activity in Rats with Pentylene-tetrazol-induced Epilepsy, *Epilepsy Research*, 2019, **150**, 32-37.

Erkeç Ö., Arıhan O., Pentylene-tetrazole Kindling Epilepsy Model, *Epilepsi*, 2015, **21**(1), 6-12.

Falco-Walter J., Scheffer I., Fisher R., The New Definition and Classification of Seizures and Epilepsy, *Epilepsy Research*, 2018, **139**, 73-79.

Fan D., Wang Q., Perc M., Disinhibition-Induced Transitions Between Absence and Tonic-Clonic Epileptic Seizures, *Scientific Reports*, DOI: 10.1038/srep12618.

Filho G., Martins D., Lopes A., Brait B., Furlan A., Oliveira C., Marques L., Souza D., Almeida E., Oxidative Stress in Patients With Refractory Temporal Lobe Epilepsy and Mesial Temporal Sclerosis: Possible Association With Major Depressive Disorder?, *Epilepsy & Behavior*, 2018, **80**, 191-196.

Fisher R., The New Classification of Seizures by the International League Against Epilepsy 2017, *Current Neurology and Neuroscience Reports*, 2017, **17**(6), 1-6.

Gholami M., Saboory E., Roshan-Milani S., Proconvulsant Effects of Tramadol and Morphine on Pentylene-tetrazol-Induced Seizures in Adult Rats Using Different Routes of Administration, *Epilepsy&Behavior*, 2014, **36**, 90-96.

Glick S., Ross D., Lateralization of Function in the Rat Brain: Basic Mechanisms May be Operative in Humans, *Trends in Neurosciences*, 1981, **4**, 196-199.

Grone B., Baraban S., Animal Models in Epilepsy Research: Legacies and New Directions, *Nature Neuroscience*, 2015, **18**(3), 339-343.

Gülbetekin E., Çocukların Bilişsel İşlevlerinde Hemisferik Asimetrliler, *Mediterranean Journal of Humanities*, 2016, **6**, 207-219.

Hands J., Dorling K., Abel P., Ashton K., Brodbelt A., Davis C., Dawson T., Jenkinson M., Lea R., Walker C., Baker M., Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR-FTIR) Spectral Discrimination of Brain Tumour Severity From Serum Samples, *Journal of Biophotonics*, 2014, **7**(3-4), 189-199.

Haris P. I., Severcan F., FTIR Spectroscopic Characterization of Protein Structure in Aqueous and Non-Aqueous Media, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 1999, **7**(1-4), 207-221.

Hauser R., Henshall D., Lubin F., The Epigenetics of Epilepsy and Its Progression, *The Neuroscientist*, 2017, **24**(2), 186-200.

Huberfeld G., Blauwblomme T., Miles R., Hippocampus and Epilepsy: Findings from Human Tissues, *Revue Neurologique*, 2015, **171**(3), 236-251.

Inoue M., Yamamoto A., Kaneko Y., Noda A., Naito H., Effects of Conventional Anticonvulsant Drugs on Generalized Tonic-Clonic Seizures in Noda Epileptic Rats, *Epilepsy Research*, 2014, **108**(7), 1158-1167.

Iturria-Medina Y., Fernández A., Morris D., Canales-Rodríguez E., Haroon H., Pentón L., Augath M., García L., Logothetis N., Parker G., Melie-García L., Brain Hemispheric Structural Efficiency and Interconnectivity Rightward Asymmetry in Human and Nonhuman Primates, *Cerebral Cortex*, 2011, **21**(1), 56-67.

Jagadeesan G., Kavitha A., Subashini J., FT-IR Study of the Influence of Tribulus Terrestris on Mercury Intoxicated Mice, Mus Musculus Liver, *Tropical Biomedicine*, 2005, **22**(1), 15-22.

Ji G., Zhang Z., Xu Q., Zang Y., Liao W., Lu G., Generalized Tonic-Clonic Seizures: Aberrant Interhemispheric Functional and Anatomical Connectivity, *Radiology*, 2014, **271**(3), 839-847.

Jones N., O'Brien T., Stress, Epilepsy, and Psychiatric Comorbidity: How Can Animal Models Inform The Clinic?, *Epilepsy & Behavior*, 2012, **26**(3), 363-369.

Juárez-Rebollar D., Manjarrez J., Nava-Ruíz C., Zaga-Clavellina V., Flores-Espinosa P., Heras-Romero Y., Díaz-Ruíz A., Méndez-Armenta M., Metallothionein Expression in the Rat Brain Following KA and PTZ Treatment, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2015., **40**(2), 530-534.

Kaya Y., Sistemik İnflamasyonun Sıçan Hipokampusünde Meydana Getirdiği Değişikliklerin Moleküler Düzeyde İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Düzce Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Düzce, 2016, 446979.

Ke M., Jin B., Liu G., Yang X., Impairments of Cingulated Cortex in the Generalized Tonic–Clonic Seizure Epilepsy by Combining Morphological and Functional Connectivity Magnetic Resonance Imaging, *Journal of Integrative Neuroscience*, 2017, **16**, 429-439.

Kiyak E., Dayapoglu N., An Evaluation of Knowledge and Attitudes Toward Epilepsy in Eastern Turkey, *Epilepsy & Behavior*, 2017, **75**, 241-245.

Kneipp J., Beekes M., Lasch P., Naumann D., Molecular Changes of Preclinical Scrapie Can Be Detected by Infrared Spectroscopy, *The Journal of Neuroscience*, 2002, **22**(8), 2989-2997.

Kneipp J., Lasch P., Baldauf E., Beekes M., Naumann D., Detection of Pathological Molecular Alterations in Scrapie-Infected Hamster Brain By Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)*, 2000, **1501**(2-3), 189-199.

Kobayashi Y., Mayer S., Park J., FT-IR and Raman Spectroscopies Determine Structural Changes of Tilapia Fish 2 Protein İsolate and Surimi Under Different Comminution Conditions, *Food Chemistry*, 2017, **226**, 156-164.

Kong J., Yu S., Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein Secondary Structures, *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2007, **39**(8), 549-559.

Kovel C., Lisgo S., Fisher S., Francks C., Subtle Left-Right Asymmetry of Gene Expression Profiles in Embryonic and Foetal Human Brains, *Scientific Reports*, DOI:10.1038/s41598-018-29496-2.

Krasniqi S., Daci A., Role of the Angiotensin Pathway and Its Target Therapy in Epilepsy Management, *International Journal of Molecular Sciences*, DOI:10.3390/ijms20030726.

Krishnakumar N., Prabu S., Sulfikkarali N., Quercetin Protects Against Cadmium-Induced Biochemical and Structural Changes in Rat Liver Revealed by FT-IR Spectroscopy, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2012, **2**(3), 179-185.

Labar D., Dilone L., Solomon G., Harden C., Epileptogenesis: Left or Right Hemisphere Dominance? Preliminary Findings in a Hospital-Based Population, *Seizure*, 2001, **10**(8), 570–572.

Leskovjan A.C., Kretlow A., Miller L., Fourier Transform Infrared Imaging Showing Reduced Unsaturated Lipid Content in the Hippocampus of a Mouse Model of Alzheimer's Disease, *Analytical Chemistry*, 2010, **82**(7), 2711–2716.

Levine S., Wetzel D., Analysis of Brain Tissue by FT-IR Microspectroscopy, *Applied Spectroscopy Reviews*, 1993, **28**(4), 385-412.

Lewis R., McElhaney R.N., Membrane Lipid Phase Transitions and Phase Organization Studied by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, **1828**(10), 2347-2358.

Liao C., Rak M., Lund J., Unger M., Platt E., Albensi B., Hirschmugl C., Gough K., Synchrotron FTIR Reveals Lipid Around and Within Amyloid Plaques in Transgenic Mice and Alzheimer's Disease Brain, *Analyst*, 2013, **138**(14), 3991–3997.

Löscscher W., Critical Review of Current Animal Models of Seizures and Epilepsy Used in the Discovery and Development of New Antiepileptic Drugs, *Seizure*, 2011, **20**, 359-368.

Ma X., Liu G., Wang S., Chen Z., Lai M., Liu Z., Yang J., Evaluation of Sphingolipids Changes in Brain Tissues of Rats With Pentylentetrazol-Induced Kindled Seizures Using MALDI-TOF-MS, *Journal of Chromatography B*, 2007, **859**(2), 170-177.

Maciejak P., Szyndler J., Lehner M., Turzyńska D., Sobolewska A., Bidziński A., Płażnik A., The Differential Effects of Protein Synthesis Inhibition on the Expression and Reconsolidation of Pentylentetrazole Kindled Seizures, *Epilepsy & Behavior*, 2010, **18**(3), 193-200.

Maciejaka P., Szyndlerb J., Turzyńskaa D., Sobolewskaa A., Bidzińskia A., Kołosowskac K., Płażnik A., Time Course of Changes in the Concentrations of Amino Acids in the Brain Structures of Pentylentetrazole-Kindled Rats, *Brain Research*, 2010, **1342**, 150-159.

Magdalena Bosak M., Słowik A., Kacorzyk R., Turaj W., Implementation of the New ILAE Classification of Epilepsies Into Clinical Practice — A Cohort Study, *Epilepsy & Behavior*, 2019, **96**, 28-32.

Mares P., Kubová H., Hen N., Yagen B., Bialer M., Derivatives of Valproic Acid are Active Against Pentetrazol-Induced Seizures in Immature Rats, *EpilepsyResearch*, 2013, **106**(1-2), 64-73.

Martínez M., Turco E., Barrantes F., Endogenous Asymmetry of Rat Brain Lipids and Dominance of the Right Cerebral Hemisphere in Free Fatty Acid Response to Electroconvulsive Shock, *Brain Research*, 1985, **339**(2), 315-321.

Ming K., Bixia J., Guangyao L., Xiaoping Y., Impairments of Cingulate Cortex in The Generalized Tonic–Clonic Seizure Epilepsy by Combining Morphological and Functional Connectivity Cagnetic Resonance Imaging, *Journal of Integrative Neuroscience*, 2017, **16**(4), 429-439.

Monnier G., A Review of Infrared Spectroscopy in Microarchaeology: Methods, Applications, and Recent Trends, *Journal of Archaeological Science: Reports*, 2018, **18**, 806-823.

Mousavi-Hasanzadeh M., Rezaeian-Varmaziar H., Shafaat O., Jand A., Palizvan M., The effect of Co-Administration of Pentylentetrazole with Pilocarpine: New Modified PTZ Models of Kindling and Seizure, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2019, **182**, 7-11.

Nahar S., Tajmir-Riahi H., Carpentier R., A Quantitative Analysis of Protein Secondary Structure of Photosystem II Particles And Light-Harvesting Complex of Chloroplast Thylakoid Membranes by FT-IR Spectroscopy, *Journal of Molecular Structure*, 1994, **328**, 115-120.

Nandini H., Paudel Y., Krishna K., Envisioning the Neuroprotective Effect of Metformin in Experimental Epilepsy: A Portrait of Molecular Crosstalk, *Life Sciences*, DOI:10.1016/j.lfs.2019.116686

Natali F., Dolce C., Peters J., Stelletta C., Demé B., Ollivier J., Leduc G., Cupane A., Barbier E., Brain Lateralization Probed by Water Diffusion at The Atomic to Micrometric Scale, *Scientific Reports*, DOI: 10.1038/s41598-019-51022-1.

Nurdiana S., Goh Y., Hafandi A., Dom S., Syimal'ain A., Syaffinaz N., Ebrahimi M., Improvement of Spatial Learning and Memory, Cortical Gyrification Patterns and Brain Oxidative Stress Markers in Diabetic Rats Treated with Ficus Deltoidea Leaf Extract and Vitexin, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2017, **8**(1), 190-202.

Ocklenburg S., Güntürkün O., Structural Hemispheric Asymmetries, Beaton A., *The Lateralized Brain: The Neuroscience and Evolution of Hemispheric Asymmetries*, 1nd Ed., Academic Press, United Kingdom, 239-262, 2018.

Onoda A., Takayasu Kawasaki T., Tsukiyama K., Takeda K., Umezawa M., Perivascular Accumulation of β -Sheet-Rich Proteins in Offspring Brain Following Maternal Exposure to Carbon Black Nanoparticles, *Frontiers in Cellular Neuroscience*, DOI:10.3389/fncel.2017.00092.

Ozek N., Bal I.B., Sara Y., Onur R., Severcan F, Structural and Functional Characterization of Simvastatin-Induced Myotoxicity in Different Skeletal Muscles, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, **1840**(1), 406–415.

Özdamar S., Sıçanlarda İrkilmenin Ön Uyarıcı Aracılı İnhibisyon Eşiğine Göre Pentilentetrazol ile İndüklenen Epileptik Nöbetlerin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Üsküdar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Nörobilim Anabilim Dalı, İstanbul, 2019, 536269.

Palaniappan P., Pramod K., The Effect of Titanium Dioxide on the Biochemical Constituents of the Brain of Zebrafish (*Danio Rerio*): An FT-IR Study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, **79**(1), 206-212.

Palaniappan, P., Vijayasundaram V., The FT-IR Study Of The Brain Tissue of Labeo Rohita Due to Arsenic Intoxication, *Microchemical Journal*, 2009, **91**(1), 118-124.

Patel D., Tewari B., Chaunsali L., Sontheimer H., Neuron–Glia Interactions in the Pathophysiology of Epilepsy, *Nature Reviews Neuroscience*, DOI:10.1038/s41583-019-0126-4.

Patsoukis N., Zervoudakis G., Georgiou C., Angelatou F., Matsokis N., Panagopoulos N., Effect of Pentylentetrazol-Induced Epileptic Seizure on Thiol Redox State in the Mouse Cerebral Cortex, *Epilepsy Research*, 2004, **62**(1), 65-74.

Pençe S., Serebral Lateralizasyon, *Van Tıp Dergisi*, 2000, **7**(3), 120-125.

Petibois C., Déléris G., Chemical Mapping of Tumor Progression by FT-IR Imaging: Towards Molecular Histopathology, *Trends in Biotechnology*, 2006, **24**(10), 455-462.

Petit T., Puskar L., FTIR Spectroscopy of Nanodiamonds: Methods and Interpretation, *Diamond & Related Materials*, 2018, **89**, 52-66.

Petrovic G., Alexandre-Tudo J., Buica A., Viability of IR Spectroscopy for The Accurate Measurement of Yeast Assimilable Nitrogen Content of Grape Juice, *Talanta*, DOI:10.1016/j.talanta.2019.120241.

Prakash C., Mishra M., Kumar P., Kumar V., Sharma D., Dehydroepiandrosterone Alleviates Oxidative Stress and Apoptosis in Iron-Induced Epilepsy via Activation of Nrf2/ARE Signal Pathway, *Brain Research Bulletin*, 2019, **153**, 181-190.

Ramirez M., Prieto I., Vives F., Gasparo M., Alba F., Neuropeptides, Neuropeptidases and Brain Asymmetry, *Current Protein & Peptide Science*, 2004, **5**(6), 497-506.

Salas-Puig X., Iniesta M., Abraira L., Puig J., the QUIN-GTC studygroup, Accidental Injuries in Patients with Generalized Tonic–Clonic Seizures. A Multicenter, Observational, Cross-Sectional Study (QUIN-GTC Study), *Epilepsy&Behavior*, 2019, **92**, 135-139.

Samokhina E., Samokhin A., Neuropathological Profile of The Pentylentetrazol (PTZ) Kindling Model, *International Journal of Neuroscience*, 2018, **128**(11), 1086-1096.

Scheffer I., Berkovic S., Capovilla G., Connolly M., French J., Guilhoto L., Zuberi S., ILAE Classification of The Epilepsies: Positionpaper of The ILAE Commission for Classification and Terminology, *Epilepsia*, 2017, **58**(4), 512–521.

Sehar N., Agarwal N., Vohora D., Raisuddin S., Atorvastatin Prevents Development of Kindling by Modulating Hippocampal Levels of Dopamine, Glutamate, and GABA in Mice, *Epilepsy & Behavior*, 2015, **42**, 48-53.

Severcan F., Bozkurt O., Gurbanov R., Gorgulu G., FT-IR Spectroscopy in Diagnosis of Diabetes in Rat Animal Model, *Journal of Biophotonics*, 2010, **3**(8-9), 621–31.

Severcan F., Gorgulu G., Gorgulu S.T., Guray T., Rapid Monitoring of Diabetes-Induced Lipid Peroxidation by Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Evidence From Rat Liver Microsomal Membranes, *Analytical Biochemistry*, 2005, **339**(1), 36–40.

Shekh-Ahmad T., Lieb A., Kovac S., Gola L., Wigley C., Abramov, A., Walker M., Combination Antioxidant Therapy Prevents Epileptogenesis and Modifies Chronic Epilepsy, *Redox Biology*, DOI:10.1016/j.redox.2019.101278.

Sherovski P., Stojković G., Ristovska N., Development, Validation and Application of First Derivative Spectroscopy Ratio Method for Estimation of Bradford Assay, *Analytical Biochemistry*, 2018, **558**, 35-40.

Shirakawa O., Kitamura N., Lin X., Hasimoto T., Maeda K., Abnormal Neurochemical Asymmetry in the Temporal Lobe of Schizophrenia, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2001, **25**(4), 867-877.

Shivanoor S., David M., Fourier Transform Infrared (FT-IR) Study on Cyanide Induced Biochemical and Structural Changes in Rat Sperm, *Toxicology Reports*, 2015, **2**, 1347-1356.

Shivanoor S., David M., Reversal of Deltamethrin-Induced Oxidative Damage in Rat Neural Tissues by Turmeric-Diet: Fourier Transform-Infrared And Biochemical Investigation, *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 2016, **77**, 56-68.

Shorvon S., Bermejo P., Gibbs A., Huberfeld G., Kälviäinen R., Antiepileptic Drug Treatment of Generalized Tonic–Clonic Seizures: An Evaluation of Regulatory Data and Five Criteria For Drug Selection, *Epilepsy&Behavior*, 2018, **82**, 91-103.

Sivakumar S., Khatiwada C., Sivasubramanian J., Raja B., Protective Effects of Deferiprone and Desferrioxamine in Brain Tissue of Aluminum Intoxicated Mice: An FTIR Study, *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2014, **4**(1), 53-61.

Sivakumar S., Sivasubramanian J., Raja B., Aluminium Induced Structural, Metabolic Alterations and Protective Effects of Desferrioxamine in The Brain Tissue of Mice: An FTIR Study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2012, **99**, 252-258.

Sun T., Walsh C., Molecular Approaches To Brain Asymmetry and Handedness, *Nature Reviews Neuroscience*, 2006, **7**(8), 655-662.

Şişman S., Hemisferik Asimetri, El Tercihi ve Cinsiyet: Sözel ve Sözel Olmayan Nöropsikolojik Test Performansı, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Psikoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2014, 391392.

Tanaka T., Yajima N., Kiyoshi T., Miura Y., Iwama S., Simple N,N-dimethyl Phenylsulfonamides Show Potent Anticonvulsant Effect in Two Standard Epilepsy Models, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, **1**(1), 94-97.

Taha A., Burnham W., Auvin A., Polyunsaturated Fatty Acids and Epilepsy, *Epilepsia*, 2010, **51**(8), 1348-1358.

Thijs R., Surges R., O'Brien T., Sander J., Epilepsy in Adults, *Seminar*, 2019, **393**, 689-701.

Toyran N., Zorlu F., Dönmez G., Öge K., Severcan F., Chronic Hypoperfusion Alters the Content and Structure of Proteins and Lipids of Rat Brain Homogenates: A Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study, *European Biophysics Journal*, 2004, **33**(6), 549–554.

Turker S., Application of Infrared Spectroscopy in The Study of Neurological Diseases, *Biomedical Spectroscopy and Imaging*, 2012, **1**(4), 303-323.

Turker S., Ilbay G., Severcan M., Severcan F., Investigation of Compositional, Structural, and Dynamical Changes of Pentylene-tetrazol-Induced Seizures on a Rat Brain by FT-IR Spectroscopy, *Analytical Chemistry*, 2014a, **86**(3), 1395-1403.

Turker S., Severcan M., Ilbay G., Severcan F., Epileptic Seizures Induce Structural and Functional Alterations on Brain Tissue Membranes, *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014b, **1838**, 3088-3096.

Turker S., Wassall S., Stillwell W., Severcan F., Convulsant Agent Pentylene-tetrazol does not Alter the Structural and Dynamical Properties of Dipalmitoylphosphatidylcholine Model Membranes, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, **54**(2), 379-386.

Türker-Görgülü S., Molecular Investigation of Ptz-Induced Epileptic Activities In Rat Brain Cell Membranes And The Effects of Vigabatrin, Degree of Doctor, Middle East Technical University, Department of Biological Sciences, Ankara, 2009, 255103.

Türker-Kaya S., Celikyurt İ., Celikyurt U., Kına A., Inhibition of PDE4 by Low Doses of Rolipram İnduces Changes in Lipid and Protein Components of Mice Heart, *General Physiology and Biophysics*, 2018, **37**(1), 1-12.

Türker-Kaya S., Mutlu O., Çelikyurt İ., Akar F., Ulak G., Tianeptine, Olanzapine And Fluoxetine Show Similar Restoring Effects on Stress Induced Molecular Changes in Mice Brain: An FT-IR Study, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2016, **161**, 178-185.

Türker-Kaya., Kına A., Alın S., Divergent Interaction Profiles of Gabapentin and Levetiracetam with Dipalmitoylphosphatidylcholine Lipids, *International Journal of Epilepsy*, DOI:10.1016/j.ijep.2017.09.001.

Vinogradova L., Shatskova A., Lateral Asymmetry of Early Seizure Manifestations in Experimental Generalized Epilepsy, *Neuroscience*, 2012, **213**, 133-143.

Waldbaum S., Patel M., Mitochondria, oxidative stress and temporal lobe epilepsy, *Epilepsy Research*, 2010, **88**(1), 23–45.

Walton NY., Nagy AK., Treiman DM., Altered Residual ATP Content in Rat Braincortex Subcellular Fractions Following Statusepilepticus Induced By Lithium and Pilocarpine, *Journal of Molecular Neuroscience*, 1998, **11**(3):233– 242.

Wang Y., Wang Y., Chen Z., Double-Edged Gabaergic Synaptic Transmission in Seizures: The Importance of Chloride Plasticity, *Brain Research.*, 2018, **1701**, 126-136.

Watkins K., Paus T., Lerch J., Zijdenbos A., Collins D., Neelin P., Taylor J., Worsley K., Evans A., Structural Asymmetries in the Human Brain: a Voxel-based Statistical Analysis of 142 MRI Scans, *Cerebral Cortex*, 2001, **11**(9), 868-877.

Xiao Z., Peng J., Yang L., Kong H., Yin F., Interleukin-1 β Plays A Role in the Pathogenesis of Mesial Temporal Lobe Epilepsy Through the PI3K/Akt/Mtor Signaling Pathway in Hippocampal Neurons, *Journal of Neuroimmunology*, 2015, **282**, 110-117.

You Y., Zhao Y., Bai H., Liu Z., Meng F., Zhang H., Xu R., Glatiramer Acetate, an Anti-Demyelination Drug, Reduced Rats' Epileptic Seizures Induced by Pentylentetrazol via Protection of Myelin Sheath, 2013, **49**(3), 366-370.

Younus I., Reddy D., A Resurging Boom in New Drugs For Epilepsy and Brain Disorders, *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 2018, **11**(1), 27-45.

Yusuf M., Khan R., Khan M., Ahmed B., Plausible Antioxidant Biomechanics and Anticonvulsant Pharmacological Activity of Brain-Targeted β -Carotene Nanoparticles, *International Journal of Nanomedicine*, 2012, **7**, 4311-4321.

Zhang J., Huang P., Wang Z., Dong H., Application of FTIR Spectroscopy for Traumatic Axonal Injury: A Possible Tool for Estimating Injury Interval, *Bioscience Reports*, DOI:10.1042/BSR20170720.

Zhang J., Niu F., Dong H., Liu L., Li J., Li S., Characterization of Protein Alterations in Damaged Axons in the Brainstem Following Traumatic Brain Injury Using Fourier Transform Infrared Microspectroscopy: A Preliminary Study, *Journal of Forensic Sciences*, 2015, **60**(3), 759-763.



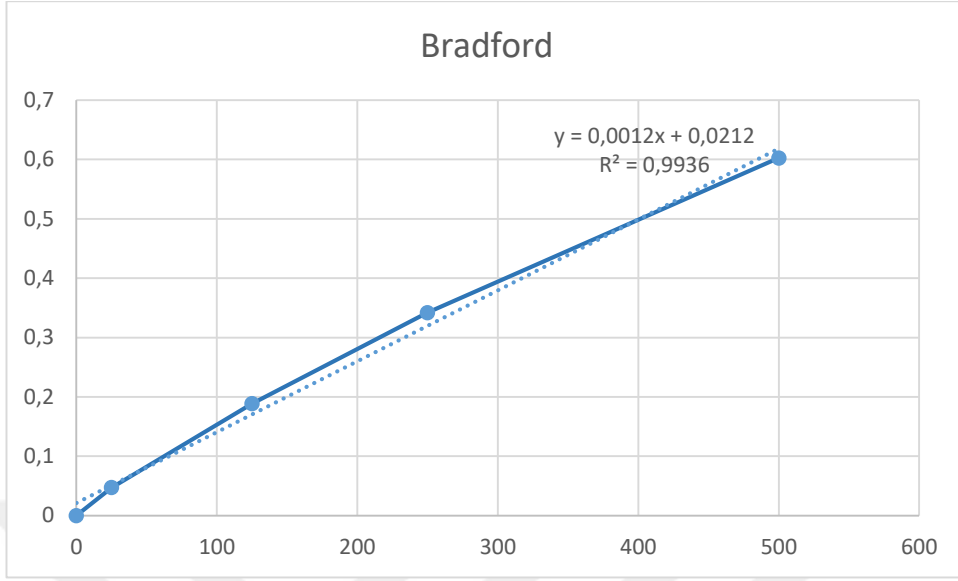
EKLER

Ek-A

Tablo A.1. Kontrol ve PTZ uygulanan sıçan sağ ve sol beyin hemisfer gruplarına ait spektral parametreler

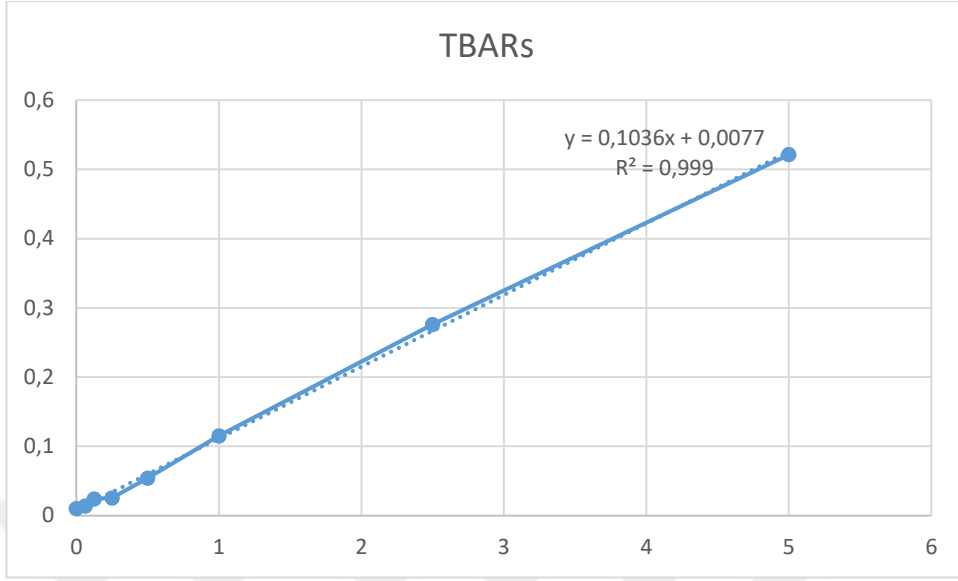
	Kontrol Sağ (n=6)	Kontrol Sol (n=6)	PTZ Sağ (n=7)	PTZ Sol (n=7)
Frekans				
CH ₂ asimetrik	2924.34 ± 0.21	2924.40 ± 0.13	2924.34 ± 0.22*	2924.53 ± 0.06*
CH ₂ simetrik	2852.07 ± 0.05	2852.07 ± 0.17	2852.24 ± 0.086	2852.34 ± 0.05
C=O	1745.64 ± 0.44	1745.71 ± 0.18	1745.71 ± 0.10	1745.73 ± 0.16*
PO ₂ asimetrik	1234.02 ± 0.54	1234.71 ± 0.60	1234.99 ± 0.45**	1234.62 ± 0.70*
PO ₂ simetrik	1073.47 ± 1.03	1073.73 ± 0.24	1074.12 ± 0.60*	1074.62 ± 0.65*
Bant alanları				
Olefinik	2.48 ± 0.30	3.76 ± 0.37	3.98 ± 0.23**	4.35 ± 0.29**
CH ₂ asimetrik	8.44 ± 0.84	11.59 ± 0.12	14.99 ± 0.68**	16.95 ± 0.87*
CH ₂ simetrik	18.12 ± 1.92	23.71 ± 2.62	25.29 ± 1.6**	29.00 ± 0.84*
C=O	6.40 ± 1.00	11.33 ± 0.98	13.55 ± 0.62**	12.26 ± 0.89
Amid I	18.76 ± 2.46	22.53 ± 3.43	34.02 ± 1.77**	32.74 ± 1.81*
Amid II	12.98 ± 1.31	17.44 ± 0.66	21.92 ± 0.94*	21.17 ± 1.40*
COO ⁻ simetrik	5.19 ± 0.68	7.65 ± 1.28	8.53 ± 1.10*	8.84 ± 1.10
PO ₂ asimetrik	6.72 ± 0.70	8.21 ± 1.40	11.40 ± 0.73*	12.2 ± 0.70**
PO ₂ simetrik	9.50 ± 0.50	11.18 ± 1.28	14.24 ± 1.32**	14.48 ± 1.50*
C ⁺ -N-C	0.58 ± 0.04	0.63 ± 0.12	0.84 ± 0.07*	0.85 ± 0.09*
Bant alan oranları				
Olefinik/lipit	0.088 ± 0.015	0.094 ± 0.018	0.090 ± 0.012	0.094 ± 0.014
Lipit/protein	0.88 ± 0.051	0.83 ± 0.060	0.79 ± 0.050**	0.79 ± 0.070**
Fosfat/lipit	0.58 ± 0.005	0.60 ± 0.004	0.62 ± 0.002**	0.61 ± 0.006**
Bant genişliği				
CH ₂ asimetrik	21.74 ± 0.44	21.46 ± 0.40	21.86 ± 0.25	21.54 ± 0.26
CH ₂ simetrik	8.02 ± 0.09	8.06 ± 0.11	8.17 ± 0.08*	8.24 ± 0.094*
Bradford Test				
	377.14 ± 18.24	393.44 ± 19.25	481.71 ± 51.48*	462.43 ± 52.59*
TBARs Test				
	2.90 ± 0.18	3.11 ± 0.42	3.57 ± 0.33**	4.01 ± 1.01*

Ek-B



Şekil B.1. Bradford standart eğri grafiği

Ek-C



Şekil C.1. TBARs standart eğri grafiği

Ek-D



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



PROJE NO: 2016/35	ARAŞTIRMANIN ADI	Akut ve Kronik Metilprednizolon tedavisinin Konvulsif ve nonkonvulsif epilepsi modellerinde nöbet ve kan-beyin bariyeri üzerine etkilerinin araştırılması.	
BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI KURUMU	Doç.Dr.Gül İLBAY / Kocaeli Üniversitesi Tıp Fak.	
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Yrd.Doç.Dr. Sevgi Türker Kaya	
DEĞERLENDİRİLEN BELGE	DEĞİŞİKLİK TALEBİ	*	
KARAR BİLGİLERİ	Tez projesi olarak yürütülen (proje no:2016/14) çalışmanın sıçanların kan ve beyin dokusu örneklerinde DSC ve FTIR ile analizinin yapılması ve Analizlerin Yrd.doç.Dr Sevgi Türker Kaya tarafından yapılması talebi uygun bulunarak onaylanmıştır. KARAR NO: KOU HADYEK 7/3-2016 KARAR TARİHİ: 24.11.2016		
ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İZİNİ
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOU) Tıp Fakültesi Nöroloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekil	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Veteriner Hekim Cüneyt ÖZER Raportör	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi Tıp Faciyesi Farmakoloji AD	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Yrd. Doç. Dr. Sabri CORA Üye	KOU Diğ. Hekimliği Fakültesi Endüstriyel AD	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Yard. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Canan BAYDEMİR Üye	KOU Tıp Fakültesi Biyostatistik ve Tıbbi Bilimler AD	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Yard. Doç. Dr. Gürler AKPINAR Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>
Veteriner Hekim Akan Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hekimler Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input type="checkbox"/> Katılılı <input type="checkbox"/> Katılmadı	<i>[Signature]</i>

Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Sekreterliği, Unuttepe Yerleşkesi, Eski İstanbul Yolu 10 km, 41300 Unuttepe / İZMİT
Tel: 0 262 303 70 15 - Faks: 0 262 303 70 03

Şekil D.1. Hayvan deneyleri etik kurul belgesi

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Yıldırım D., Türker-Kaya S., İlbağ G., Pentilentetrazol ile Oluşturulmuş Epileptik Nöbetlerin Sıçan Sağ-Sol Beyin Hemisferlerine Etkilerinin FT-IR Spektroskopisi ile Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi, *Uluslararası Marmara Fen ve Sosyal Bilimler Kongresi*, Kocaeli, Nisan 2019.

Türker-Kaya S., **Yıldırım D.**, Şentürk D., Dağcı K., İlbağ G., Comparative Analysis of Different Regions of Rat Brain Tissue by FT-IR Spectroscopy, *Advances in Health and Natural Sciences*, Chapter 11, Nova Medicine & Health, Aralık 2018.

Yıldırım D., Türker-Kaya S., İlbağ G., Tonik-Klonik Epileptik Nöbetlerin Sıçan Sağ ve Sol Beyin Hemisferlerindeki Etkilerinin FT-IR Spektroskopisi ile İncelenmesi, *24. Ulusal Biyoloji Kongresi*, Manisa, Eylül 2018.

ÖZGEÇMİŞ

1 Eylül 1994 yılından İstanbul’ da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 2013 yılında Kocaeli Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde başladığı lisans eğitimini 2017 yılında tamamladı. Aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde başladığı yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.

