

# SİNİR BİLİMLERİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI 2022

1. **Ş\*\*\*\* A\*\*\*\*** Huzursuz Bacaklar Sendromlu Multipl Skleroz Hastalarında Oksidatif Stres ve Serum Mineral Değerleri
2. **B\*\*\*\* K\*\*\*\*** 6-Paradol Molekülünün Amiloid Beta Enjeksiyonu ile Oluşturulmuş Alzheimer Hastalığı Modelindeki Nöroinflamatuvar ve Nöroprotektif Etkilerinin Araştırılması
3. **T\*\*\*\* B\*\*\*\*** Deneysel Migren Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Timokinon'un Analjezik Etkisi ve Nörogial Aktivite ve Öğrenme-Bellek ile İlişkisinin Değerlendirilmesi

## HUZURSUZ BACAĞLAR SENDROMLU MULTİPL SKLEROZ HASTALARINDA OKSİDATİF STRES VE SERUM MİNERAL DEĞERLERİ

### ÖZET

Multipl skleroz (MS), enflamasyon, demiyelinizasyon ve akson hasarı ile seyreden, korteks, beyaz madde ve derin gri cevherin de tutulabildiği fokal ve multifokal plaklarla karakterize otoimmün bir santral sinir sistemi (SSS) hastalığıdır. SSS'nin en sık görülen inflamatuvar demiyelinizan hastalığıdır ve sıklıkla genç yetişkinlerde ortaya çıkar. Kronik bir hastalık olan MS'in bir kısmı ataklarla seyrederken bir kısmı ilerleyicidir.

Multipl sklerozda etkilenmenin varlığı ve derecesini belirlemek için detaylı hikâye, fizik muayene yanında laboratuvar ve görüntüleme yöntemleri kullanılmaktadır. MS hastalarında MSS hasarına bağlı olarak tahmin edilen tüm belirti ve bulgular meydana gelse de sıklıkla ekstremitelerde kuvvet kaybı, duysal belirtiler, ataksi, mesane problemleri, yorgunluk, diplopi, görme bulanıklığı gibi görsel belirtiler, dizatri, bellek-konsantrasyon-dikkat bozukluğu gibi kognitif yakınmalar görülmektedir.

MS klinik tipleri, klinik izole sendrom (KİS), relapsing (ataklarla seyreden) MS ve progresif (kötüleşen) MS olarak üç ana başlık altında tanımlanmıştır. KİS, izole optik nöropati, medulla spinalis tutulumu, beyin sapı sendromu, nispeten daha az sıklıkla hemisferik tutulum ile klinik bulgu vererek ortaya çıkan ilk nörolojik tablo olarak tanımlanmaktadır. Ataklarla seyreden MS (RRMS), akut atakların görüldüğü ve ataklar arasında hastalıkta kötüleşmenin gözlenmediği MS tipidir. Progresif seyreden MS ise atak ve iyileşmeler ile devam eden hastalık seyri boyunca özürüllüğün eklendiği klinik seyir tipidir.

Yapılan çalışmalarda MS oluşumu sürecinde birden fazla immün mekanizmanın rol aldığı, miyelin kaybının yanı sıra aksonal kaybın da gerçekleşebildiği, dejenerasyon ve tamir mekanizmalarının eş zamanlı rol aldığı aktif bir süreç olduğu gösterilmiştir. Bağımsız dönemlerde farklı ataklarla lezyonlar oluşturması, her hasta ve ataklarda klinik seyrin değişken olması otoimmün sürecin kompleks ve heterojen bir mekanizmanın rol oynadığı düşündürmektedir.

Huzursuz bacaklar sendromu (HBS), Willis-Ekbom hastalığı olarak da bilinen, akşam saatlerinde görülen ve geceleri kötüleşen, istirahat halinde iken bacakları hareket ettirme dürtüsü veya ihtiyacı ile ortaya çıkan sensori-motor, kronik, ilerleyici bir hareket bozukluğudur. Literatüre bakıldığında HBS, ilk olarak 175 vaka serisi ile hazırlanan derleme yazısında "Restless Legs Syndrome" olarak adlandırılmıştır. 17. Yüzyılda Sir Thomas Willis tarafından gözlemlenmiş ancak sendrom tanımlaması 1945 yılında 'Huzursuz Bacaklar' klinik bulguları ile Ekbom tarafından yapılmıştır.

Son yıllarda en fazla çalışılan konulardan olan serbest radikaller ve antioksidanlar gün geçtikçe daha da önem kazanmaktadır. Normal şartlar altında canlı metabolizması sağlıklı iken antioksidanlar ile serbest radikaller denge halindedir. Ancak bu denge

serbest radikaller lehine değiştiği zaman, oksidatif stres kaynaklı hastalıklara yatkınlık gözlenmektedir.

**Anahtar kelimeler:** relapsing remitting multipl skleroz, huzursuz bacaklar sendromu, oksidatif stres, çinko, klor, sodyum, potasyum

## 6-PARADOL MOLEKÜLÜNÜN AMİLOİD BETA ENJEKSİYONU İLE OLUŞTURULMUŞ ALZHEİMER HASTALIĞI MODELİNDEKİ NÖROİNFLAMATUVAR VE NÖROPROTEKTİF ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZET

Alzheimer hastalığı (AH) insanlarda yaşla birlikte görülen ilerleyici bir demans türüdür. Hastalığın ilerlemesinde mikroglia aktivasyonuna bağlı oksidatif stresin artmasının etkili olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar zencefil metabolitlerinden olan 6-Paradol'un hafıza üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu ve mikroglia aktivasyonuna bağlı olarak artan nöroinflamasyonu azalttığı göstermiştir. Bu nedenle, bu çalışmada, amiloid beta ( $A\beta_{1-42}$ ) enjekte edilerek oluşturulmuş AH modeli sıçanlarda 6-Paradol kullanımının nöroprotektif ve anti-nöroinflamatuvar etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada 33 adet erişkin sıçan (12 aylık) 5 gruba ayrıldı; sağlıklı kontrol (n=6, hiçbir işleme tabi tutulmayan), Sham kontrol (n=6, beyin içi enjeksiyonla (i.c.v)  $A\beta_{1-42}$  çözücüsü (5  $\mu$ L) verilen),  $A\beta_{1-42}$  (n=9, hipokampüse i.c.v yolla 5  $\mu$ L  $A\beta_{1-42}$  verilen), Pozitif kontrol (n=6, hipokampüse i.c.v yolla 5  $\mu$ L  $A\beta_{1-42}$  verilen ve 21 gün donepezil (2mg/kg) tedavisi uygulanan), 6-Paradol (n=6,  $A\beta_{1-42}$  verilen ve 2 hafta boyunca 6-Paradol (5 mg/kg) tedavisi uygulanan). İki haftalık tedavi sonrasında davranış testleri yapıldı. Daha sonra sıçanlar sakrifiye edilerek histolojik ve moleküler çalışmalar gerçekleştirildi. Yapılan analizler sonucunda  $A\beta_{1-42}$  ile AH modeli oluşturan grubun Morris su tankında ve pasif sakınma ile yapılan deneylerde kontrol grubuna göre geç öğrendiği ve uzun dönem belleğinde bozulmanın olduğu, 6-Paradol'un öğrenme ve bellek üzerinde etkili olmadığı gözlemlendi. Hematoksilen ve eozin ile yapılan çalışmalarda kontrol grupları ve pozitif tedavi grubuna (donepezil) ait beyin dokularının histolojik yapılarının birbirine benzer ve sağlıklı olduğu izlendi. Ancak Alzheimer oluşturulan  $A\beta_{1-42}$  ile 6-Paradol grubuna ait kesitlerde bazı nöron hücrelerinin nükleuslarının düzensiz ve piknotik olduğu görüldü. Ayrıca 6-Paradol grubuna ait beyin dokusunda vakuolizasyon olduğu dikkati çekti. Nissl boyama ile yapılan hücre sayımlarında hipokampüsün CA1 bölgesinde  $A\beta_{1-42}$  verilen grupta hücre sayısında anlamlı bir azalışın olduğu tespit edildi (p<0.05). Donepezil ve 6-Paradol verilen tedavi gruplarında hücre sayısında artış görüldü. Amiloid plakların varlığını gösteren Kongo-red boyamasında ise amiloid plakların sayısında tedavi ile birlikte bir değişim saptanmadı. Western blot ile yapılan protein ekspresyon çalışmalarında ise apoptozun  $A\beta_{1-42}$  verilen grupta arttığı ve tedavi gruplarında ise anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Mikroglia aktivasyonu ile ilişkili olan fraktalkin ve fraktalkin reseptörü ekspresyonlarına bakıldığında  $A\beta_{1-42}$  verilen grupta fraktalkin miktarında herhangi bir değişim gözlenmezken fraktalkin reseptöründe anlamlı bir artışın olduğu (p<0.05) ve bu artışın 6-Paradol ile düzeldiği gösterildi. Alzheimer göstergesi olan fosforile Tau ve PSEN1 miktarı  $A\beta_{1-42}$  ile artarken 6-Paradol kullanımı ile bu proteinlerin konsantrasyonları kontrol seviyelerine geriledi. BACE ve reelin proteinlerinde ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık

gözenmedi. Sonuç olarak, 6-Paradol kullanımını mikrogliya ile ilişkili proteinlerde bir düzelmeye sebep olduğundan anti-inflamatuvar etki göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Alzheimer Hastalığı, 6-Paradol, Nöroprotektif, Nöroinflamasyon

## DENEYSEL MİGREN MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA TİMOKİNON'UN ANALJEZİK ETKİSİ VE NÖROGLİAL AKTİVİTE VE ÖĞRENME-BELLEK İLE İLİŞKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

### ÖZET

Migren, tekrarlayıcı ataklarla seyreden, tek taraflı ve zonklayıcı özellikteki baş ağrısı ile karakterize nörovasküler bir bozukluktur. Baş ağrısına, birçok semptomla birlikte dikkat eksikliği gibi kognitif bozukluklar da eşlik edebilmektedir. Timokinon, çörek otunun ana biyoaktif maddesidir ve yüzyıllardır bitkisel bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Günümüzde yapılan çalışmalar ise timokinonun, antikanser, antimikrobiyal, antiinflamatuar, antihistaminik, antidiyabetik, gastroprotektif, hepatoprotektif, kardiyoprotektif ve nefroprotektif etkileri olan bir bileşik olduğunu ortaya koymuştur. Tüm bu etkileri yanında antinosiseptif, nöroprotektif ve antioksidan aktiviteleri olduğu da bildirilmektedir. Çalışmamızda, migren modeli oluşturulan sıçanlarda timokinonun ağrı, öğrenme-bellek ve nöroglial aktivasyon üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada, 3 aylık, ağırlıkları 250-350 gram arasında değişen 27 adet yetişkin erkek *Wistar albino* türü sıçan kullanıldı. Migren modeli nitrogliserin (NTG) kullanılarak oluşturuldu. NTG, %0.9 izotonik serum fizyolojik (SF) ile dilüe edilerek her bir hayvan için 10 mg/kg/1 ml olacak şekilde hazırlandı. Kontrol (K) grubu (n=6), nitrogliserin (NTG) grubu (n=7), timokinon (TQ) grubu (n=7) ve nitrogliserin ile timokinon (NTG+TQ) uygulanan grup (n=7) olmak üzere 4 grup oluşturuldu. K grubu ve NTG grubuna 15 gün boyunca 1 ml mısır yağı gastrik gavaj ile uygulandı. TQ ve NTG+TQ gruplarına ise 15 gün boyunca, mısır yağında çözdürülen TQ 10 mg/kg/1 ml olacak şekilde gastrik gavaj ile uygulandı. NTG ve NTG+TQ gruplarına 1, 5, 10 ve 15. günlerde 10 mg/kg NTG intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. K ve TQ gruplarına ise aynı günlerde 0.3 ml SF i.p. olarak uygulandı. Hayvanların ağrı eşliğini belirlemek için, gastrik gavajdan hemen önce ve i.p. enjeksiyon uygulamasından 2 saat sonra tail flick test gerçekleştirildi. Deneyin 16. gününde, öğrenme-bellek fonksiyonlarını değerlendirmek için Morris su labirenti testi uygulandı. Deneyin 22. gününde hayvanlar 10 mg/kg ksilazin i.p. ve 100 mg/kg ketamin i.p. ile oluşturulan genel anestezi altında dekapite edildi ve beyinleri çıkarıldı. Beyinlerin bir yarıküresinin hipokampal bölgesi öğrenme-bellek ve oksidatif stres belirteçlerinin değerlendirilmesi amacıyla biyokimyasal analizlerde kullanıldı. Beyinlerin diğer yarıküresinin hipokampal bölgesi ise nöroglial aktivasyonun değerlendirilmesi amacıyla immunohistokimyasal çalışmalarda kullanıldı. Veriler tek yönlü varyans analizi uygulanarak Benforroni'nin çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirildi ve değerler  $\pm$  standart sapma olarak verildi.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Timokinon, Morris su labirenti testinde hayvanların platformu bulma sürelerini, TQ (\*\*\*) $p < 0.001$ ) ve NTG+TQ (\* $p < 0.05$ ) gruplarında anlamlı olarak azalttı. NTG grubunun platformu bulma süresinde ise anlamlı bir artış (\*\* $p < 0.01$ ) olduğu

belirlendi. Hipokampus dokusunda BDNF düzeyleri K grubu ile kıyaslandığında, NTG grubunda azaldığı belirlendi. BDNF seviyeleri NTG grubuna göre kıyaslandığında ise TQ ve NTG+TQ gruplarının ikisinde de arttığı, ancak bu artışın sadece TQ grubunda anlamlı (\*\*p<0.01) olduğu belirlendi. CREB1 seviyelerinin K grubuna göre NTG ve NTG+TQ gruplarında azaldığı, ancak bu azalmanın sadece NTG grubunda istatistiksel olarak anlamlı (\*p<0.05) olduğu tespit edildi. Gruplar NTG grubuna göre kıyaslandığında ise, hem TQ (\*\*p<0.001) hem de NTG+TQ (\*\*p<0.01) gruplarında anlamlı bir artış olduğu görüldü. Hipokampus dokusunda SOD düzeyleri değerlendirildiğinde, TQ grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış (\*\*p<0.001) olduğu belirlendi. CAT düzeylerinin de benzer şekilde, TQ grubunda diğer tüm gruplara göre anlamlı olarak arttığı (\*p<0.05, \*\*p<0.001) görüldü. İmmunohistokimyasal boyamalar değerlendirildiğinde ise, GFAP pozitif hücre sayısının K grubuna kıyasla NTG, TQ ve NTG+TQ gruplarının üçünde de istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttığı görüldü (sırayla \*\*p<0.001, \*\*p<0.01, \*p<0.05). Tail flick testinde ise grup içinde ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, deneysel migren modelinde timokinon uygulamasının; migren ağrısı üzerinde analjezik etkisinin olmadığı, mekânsal öğrenme ve bellek mekanizmasına BDNF ve CREB1 seviyelerini artırarak katkı sağladığı, migrenle ilişkili oksidatif stres üzerine SOD ve CAT seviyelerini artırarak olumlu etki gösterdiği, migren ve oksidatif stres ile ilişkili öğrenme-bellek defisitine astrosit aktivasyonu ile olumlu etki edebileceği, migrenle ilişkili astroglial aktivasyon üzerinde protektif etki gösterebileceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Migren, Hipokampus, Timokinon, Ağrı, Öğrenme, Bellek, Oksidatif Stres, Nöroglial Aktivite, Astrosit