



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİD İLE OLUŞTURULAN
LENS HASARINA ALFA LİPOİK ASİDİN ETKİLERİ

Yeşim ÖZTAYLAN

DANIŞMAN
Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

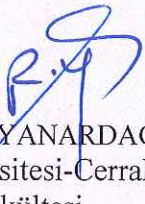
Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Programı

İSTANBUL-2019

Bu çalışma 18.06.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı,
Biyokimya Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ


Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Özlem SAÇAN
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi
Kimya Bölümü
Biyokimya Anabilim Dalı


Prof. Dr. Ayşen YARAT
Marmara Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa’nın aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 21656 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve deneysel çalışmalarım boyunca, bilgi ve birikimi ile her zaman yol gösteren, her konuda desteğini hissettiğim çok değerli danışman hocam Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans eğitimim süresince her zaman ve her konuda bana yol gösteren, iyi niyetini, hoşgörüsünü ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Tüm bu süreçte ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca her zaman ilgi ve desteğini gördüğüm Dr. Öğr. Üyesi Bertan Boran BAYRAK'a, Dr. Öğr. Üyesi İsmet Burcu TÜRKYILMAZ'a ve Arş. Gör. Onur ERTİK'e teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde beni destekleyen, aldığı her kararda yanımda olan, verdikleri emeğin borcunu asla ödeyemeyeceğim sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın deneysel kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Haziran 2019

Yeşim ÖZTAYLAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	ix
ÖZET	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. LENS	3
2.1.1. Lensin Yapısı.....	3
2.1.1.1. Kapsül.....	4
2.1.1.2. Epitel.....	5
2.1.1.3. Lens Lifleri.....	5
2.1.1.4. Lens Zonülleri (Zinn Lifleri).....	6
2.1.2. Lensin Biyokimyası.....	6
2.1.2.1. Lens Elektrolitleri	6
2.1.2.2. Lens Proteinleri	7
2.1.2.3. Lens Lipidleri.....	8
2.1.2.4. Lens Glukoz Metabolizması.....	9
2.1.2.5. Lenste Oksidan ve Antioksidan Faktörler.....	10
2.2. EPİLEPSİ	11
2.2.1. Epilepsinin Tanımı	11
2.2.2. Epilepsinin Tarihçesi	12
2.2.3. Epilepsinin Patofizyolojisi.....	13
2.2.4. Epilepsinin İnsidansı	13
2.2.5. Epilepsinin Tedavisi	14
2.2.6. Epilepsinin Tedavisinde Kullanılan İlaçlar	16
2.3. VALPROİK ASİT	17
2.3.1. Valproik Asidin Farmakokinetik Özellikleri.....	17

2.3.2. Valproik Asidin Yan Etkileri.....	18
2.4. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR	19
2.4.1. Serbest Radikaller.....	19
2.4.2. Oksidatif Stres	20
2.4.3. Antioksidanlar	21
2.4.3.1. Enzimatik Antioksidanlar.....	22
2.4.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar.....	23
2.5. ALFA LİPOİK ASİT	25
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	27
3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALET VE CİHAZLAR.....	27
3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	27
3.3. DENEY HAYVANLARI.....	29
3.4. LENS HASARI OLUŞTURULMASI	30
3.5. DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	30
3.6. LENS DOKU HOMOJENİZATININ HAZIRLANMASI	30
3.7. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTARI TAYİNİ.....	30
3.8. LENS DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	32
3.9. LENS DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTARI TAYİNİ	34
3.10. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTE TAYİNİ	36
3.11. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTE TAYİNİ.....	38
3.12. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	39
3.13. LENS DOKUSUNDA SORBİTOL DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	40
3.14. LENS DOKUSUNDA ALDOZ REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	42
3.15. LENS DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTARININ TAYİNİ.....	43
3.16. LENS DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ.....	45
4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
KAYNAKLAR.....	59
EKLER	73
ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Gözün yapısı (Gündoğan, 2018).....	4
Şekil 2.2: Lenste glukoz metabolizması.....	9
Şekil 2.3: Valproik asit.....	17
Şekil 2.4: Alfa lipoik asidin kimyasal formülü.	25



TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1: Reaktif oksijen ve azot türleri (Halliwell, 2005).....	20
Tablo 2.2: Oksidatif stres süreçleri, oluşan ürünler ve patolojik etkileri (Floyd, 1990).....	21
Tablo 2.3: Önemli antioksidanlar ve doku lokalizasyonları (Mates ve diğ., 1999).....	22
Tablo 4.1: Kontrol ve deney grubu sıçanlarına ait glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyon (LPO) değerleri.....	48
Tablo 4.2: Kontrol ve deney grubu sıçanlara ait lens süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivite değerleri.....	49
Tablo 4.3: Kontrol ve deney grubu sıçanlara ait lens glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktivite değerleri.....	50
Tablo 4.4: Kontrol ve deney grubu sıçanlara ait lens aldoz redüktaz (AR) ve sorbitol dehidrojenaz (SDH) aktiviteleri ile protein karbonil (PC) seviyeleri.....	51

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
dk	: Dakika
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
kDa	: Kilodalton
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
nm	: Nanometre
mm	: Milimetre

Kısaltmalar	Açıklama
AEİ	: Antiepileptik İlaç
ALA	: Alfa Lipoik Asit
ALT	: Alanin Transaminaz
AR	: Aldoz Redüktaz
AST	: Aspartat Transaminaz
ATP	: Adenozin Trifosfat
BZD	: Benzodiyazepin
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EEG	: Elektroensaflografiyi
GABA	: Gama Amino Bütirik Asit
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
GSSG	: Okside Glutasyon
GSH	: İndirgenmiş Glutasyon
KBZ	: Karbamazepin
LOOH	: Lipid Peroksit

LPO	: Lipid Peroksidasyonu
LTG	: Lamotrijin
MDA	: Malondialdehit
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADH	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
OXC	: Oksokarbazepin
PB	: Fenobarbital
PC	: Protein Karbonil
PK	: Paroksizmal Depolarizasyon Kayması
PHT	: Difenil Hidantoin
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SDH	: Sorbitol Dehidrojenaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TPM	: Topiramet
UGT	: Uridin Difosfat Glukuronosiltransferaz
VGB	: Vigabatrin
VPA	: Valproik Asit

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SIÇANLARDA VALPROİK ASİD İLE OLUŞTURULAN LENS HASARINA ALFA LİPOİK ASİDİN ETKİLERİ

Yeşim ÖZTAYLAN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Valproik asit (VPA), migren, bipolar bozukluklar ve epileptik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Valproik asidin uzun süreli kullanımını sonucunda, pankreatit, karaciğer toksisitesi, deri döküntüsü ve titreme gibi yan etkilerin ortaya çıktığı literatürde belirtilmiştir. VPA, serbest radikal üretimini arttırması nedeniyle doku ve organlarda hasara yol açar. Alfa lipoik asit (ALA) serbest radikallerin etkilerini önleyen güçlü bir antioksidan maddedir. Reaktif oksijen türlerini baskılayarak oksidatif stresi engellemektedir. Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan lens hasarına karşı alfa lipoik asidin koruyucu etkilerini araştırmaktır. Çalışmamızda sıçanlar dört gruba ayrıldı: Kontrol grubu, ALA verilen grup (50 mg/kg), VPA verilen grup (0.5 g/kg), VPA+ALA verilen grup (aynı doz ve sürede). Sıçanlara VPA uygulanmasından bir sat önce ALA verildi. ALA ve VPA sıçanlara 15 gün boyunca uygulandı. 16. günde sıçanlar sakrifiye edilerek lens örnekleri alındı. Hazırlanan lens homojenizatlarında VPA uygulanan grupta glutatyon seviyeleri ile glutatyon-S-transferaz aktiviteleri azalırken, lipid peroksidasyonu seviyeleri, süperoksid dismutaz, glutatyon

peroksidaz, glutatyon redüktaz, aldoz redüktaz, sorbitol dehidrojenaz aktiviteleri ile protein karbonil seviyeleri arttı. ALA uygulanması ile bu değerler tersine çevrildi. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, alfa lipoik asidin valproik asit ile oluşturulan lens hasarına karşı koruyucu etki gösterdiği sonucuna varıldı.

Haziran 2019, 88 sayfa.

Anahtar kelimeler: Epilepsi, valproik asit, alfa lipoik asit, lens.



SUMMARY

M.Sc. THESIS

EFFECTS OF ALPHA LIPOIC ACID ON LENS INJURY INDUCED BY VALPROIC ACID IN RATS

Yeşim ÖZTAYLAN

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ

Valproic acid (VPA) is a drug widely used in the treatment of migraine, bipolar disorders and epileptic diseases. As a result of long-term use of valproic acid, side effects such as pancreatitis, liver toxicity, skin rash and tremors are reported in the literatures. VPA increases the production of free radicals, causing damage to tissues and organs. Alpha lipoic acid (ALA) is a potent antioxidant that inhibits the effects of free radicals. It inhibits oxidative stress by suppressing reactive oxygen species. The aim of this study was to investigate the protective effects of alpha lipoic acid against valproic acid-induced lens damage in rats. In our study, rats were divided into four groups: the control group, the ALA-treated group (50 mg / kg), the VPA-treated group (0.5 g / kg), the VPA + ALA group (at the same dose and duration). The rats were given ALA prior to administration of VPA. ALA and VPA were administered to rats for 15 days. On day 16 rats were sacrificed and lens samples were taken. In the VPA treated lens homogenates, glutathione levels and glutathione-S-transferase activities decreased. Lipid peroxidation levels, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, aldose reductase, sorbitol dehydrogenase activities and protein carbonyl levels increased. These values were reversed upon administration of ALA. According to the results of our study, it was concluded that alpha lipoic acid had a protective effect against valproic acid-induced lens damage.

June 2019, 88 pages.

Keywords: Epilepsy, valproic acid, alpha lipoic acid, lens.



1. GİRİŞ

Epilepsi, beyindeki artmış nöronal uyarılabilirlik nedeniyle (nöronal hiperekstabilite) ortaya çıkan klinik bir durumdur. Epileptik nöbet epilepsinin özgül klinik belirtisidir ve serebral korteksteki nöron topluluklarının artmış, hızlı ve yerel elektriksel boşalmılarından kaynaklanır (Yılmaz ve diğ., 2000).

Valproik asit (VPA) 2-propil pentanoik ya da dipropil asetik asit olarak da anılan, sekiz karbonlu basit dallı zincirli karbosiklik bir asittir (Burton, 1882 ; Kusunoki ve diğ., 1988). VPA, epilepsi tedavisinde en fazla kullanılan, geniş spektrumlu antiepileptik ilaçtan biridir (Shorvon ve diğ. 2004). Epilepsi tedavisi dışında duygu bozukluğu, bipolar ve şizofrenik düzensizliklerin kontrol altına alınması, nöropatik acıların yok edilmesi ve migren tedavisinde de kullanılır (Gram ve Bentsen, 1985). VPA'nın en fazla rastlanılan yan etkileri bulantı, kusma ve hazımsızlık gibi mide bağırsak sistemi sorunlardır (Kayaalp ve Dalkara, 2000). Dozla ilişkili olarak tremor görülebilir. En önemli yan etkisi hepatoksisitedir.

Serbest radikaller; son yörüngelerinde ortaklanmamış elektrona sahip atom veya atom gruplarıdır. Bu eşleşmemiş elektron, serbest radikal molekülünün kararsız yapıda olmasına neden olur. Elektronunu başka bir elektronla eşleştirerek kararlı yapı kazanabilir. Bu nedenle serbest radikalın kimyasal aktivite potansiyeli yüksektir. Bu oksidan ürünlerin arttığı durumlarda hedef moleküller olan membran yapısındaki fosfolipidler, glikolipidler, membran proteinleri ve doymamış yağ asitleri oksidatif strese maruz kalırlar. Sonuçta metabolik bozukluklar, hücre hasarına ve hatta ölüme yol açarlar (Gutteridge ve Halliwell, 1991).

Serbest radikallerin meydana getirdiği zararlı etkilere karşı vücudumuzda koruyucu sistemler vardır. Bu sistemlerden bazıları serbest radikal oluşumunu, bazıları ise meydana gelmiş serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemektedir. Bu zararlı etkileri engelleyen maddelere genel olarak antioksidanlar denir. Antioksidan maddeler, serbest radikal oluşumunu engelleyerek, oluştuğlarında onları yok ederek, radikalleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak, okside olarak zarar görmüş hücresel yapıları onararak etki gösterirler (Zhang ve diğ., 2005).

Alfa lipoik asit (ALA) serbest radikallerin hasarını önleyen güçlü bir antioksidan maddedir (Karaca, 2009). Serbest oksijen, süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleri, hipoklorit ve

peroksinitrit gibi serbest radikalleri giderme aktivitesine sahip olan ALA suda ve yağda çözünebilen bir antioksidandır (Karaca, 2007). Mitokondrisi bol olan dokularda fazla miktarda bulunur. Mitokondri enzimlerinin kofaktörüdür. İnsanlarda alfa lipoik asit enerji oluşumunu içeren çeşitli α -keto asit dehidrojenazların bir parçasıdır (Karaca, 2007). Metalleri şelatlama yetenekleri sayesinde vücut için oldukça tehlikeli olan mangan, çinko, bakır, kurşun gibi toksik metalleri yakalar, bağlar ve nötralize eder (Maczurek ve diğ., 2008).

Oksidatif stres, serbest radikaller ile bu radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması sonucu meydana gelir (Sies, 1991). Oksidatif stres pek çok hastalığın meydana gelmesine yol açar. Çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların oluşturduğu yan etkiler organizmada çeşitli dokularda reaktif oksijen moleküllerinin oluşmasına neden olur. Bu reaktif oksijen moleküllerinin oluşturduğu oksidatif hasar lensin yapısını bozar. Organizmada bulunan antioksidan sistemler serbest radikallerin oluşturduğu hasara karşı lensi korurlar (Keklikçi ve diğ., 2008; Taysi ve diğ., 2011).

Antiepileptik bir ilaç olan VPA'nın nörolojik, hematolojik, gastrointestinal ve üreme sistemleri üzerine etkilerinin olması ve alfa lipoik asidin ise antioksidan ve serbest radikal giderici olması nedeniyle bu çalışmada, VPA ile oluşturulan lens hasarına karşı bir antioksidan aktiviteye sahip olan alfa lipoik asidin koruyucu etkilerinin olup olmadığı biyokimyasal yöntemler ile araştırılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

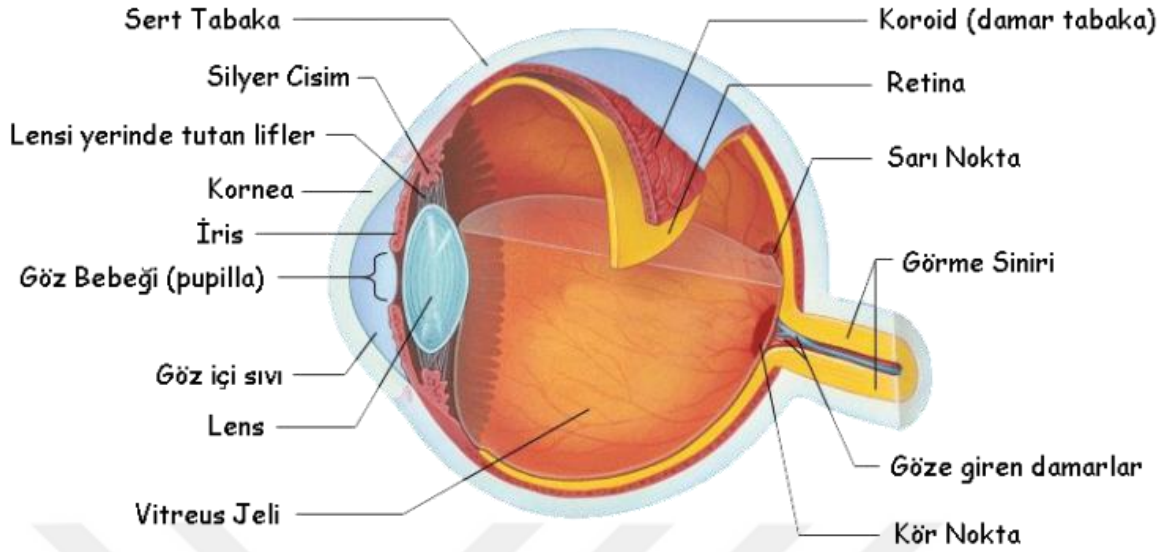
2.1. LENS

2.1.1. Lensin Yapısı

Lens, bikonveks yapıya sahip, irisin arkasında ve vitrenin önünde bulunan, özel biçimde diferansiye olmuş epitel kitlesinden meydana gelen saydam bir mercektir (Şekil 2.1.). Zonüler lifleri ile siliyer cisme bağlı olarak bulunur. Pupilla üzerinden göze giren ışığı kırar ve retina üzerinde toplar. Siliyer cisim, zonüller ve lens arasındaki bir mekanizma ile ışığın retina üzerinde odaklanması olayı gerçekleştirir. Işığın odaklama gücü lens yaşlandıkça azalır (Miller, 1989; Bengisu, 1990; Apaydın, 2001).

Lens'in ön yüzü arka yüzüne göre daha düz bir yapıya sahiptir. Ön yüzün tepe noktasına ön kutup, arka yüzün tepe noktasına ise arka kutup adı verilir. Lensin ön ve arka kutuplarının ortasından geçen ve bu iki kutbu birleştiren hayali çizgiye optik aks adı verilir. Lensin ön ve arka yüzünün birleştiği, lensi boyuna çevreleyen birleşim yerine ise ekvator denir. Lensin en geniş çevresi ekvator olup kutup aksı ile ekvator aksı birbirine diktir (Tamçelik ve Özçetin, 2004). Lens yaşam boyunca büyümeyi sürdürür. Yeni doğanda ekvatoryal uzunluk yaklaşık olarak 6.4 mm, ön- arka uzunluk 3.5 mm, ağırlık 90 mg'dır. Adölesan dönemde ise ekvatoryal uzunluk 9 mm'ye, ön-arka uzunluk 4-4.5 mm'ye ulaşırken, ağırlık yaklaşık olarak 255 mg değerindedir. İleriki dönemlerde ekvatoryal çap dengede iken, ön-arka aksta kalınlaşma meydana gelir (Karel ve Aslan, 2010).

Saydam bir doku olan lensin başlıca işlevleri saydamlığını korumak, ışığı kırmak ve akomodasyonu sağlamaktır. Fetal gelişimden sonra innervasyonu ve kan dolaşımı yoktur, bu dönemden sonra metabolik gereksinimlerin tamamı hümeör aközden sağlanır (O'Dwyer, 2008-2009). Damar ve sinir dokusu bulunmayan lens, kapsül, epitel ve lif hücrelerinden oluşmuştur (Savaşlı, 2005).



Şekil 2.1: Gözün yapısı (Gündoğan, 2018).

2.1.1.1. Kapsül

Kapsül, elastik ve şeffaf bazal bir zar olup, lensin ana elemanları epitel hücreleri ve fibrilleri sarar. Vücudumuzdaki diğer temel zarlardan farkı sürekli olarak kalınlaşması ve vücudumuzun en kalın temel zarı olmasıdır (Demir, 2012). Kapsül kalınlığı yaş ve bulunulan yere göre değişim gösterir. Kapsül kalınlığı yaşa bağlı olarak artmaktadır. Kapsülün en kalın yeri ekvatora yakın kısmıdır ve kalınlığı 23 mikrondur. Buna karşılık 4 mikron boyutundaki arka kutupdaki yer en ince kısmıdır. Lens kapsülü yapısal olarak temel membrana benzer. Lens kapsülünün dış kısmı aselüler elastik zar ile sarılmıştır. Bu aselüler zar sayesinde lens şeklinin korunması sağlanır ve küçük moleküllerin geçişine izin verilir (Snell ve Lemp, 1989; Olivero ve Furcht, 1996).

Kapsül, lensi enfeksiyöz bakteri ve virüslere karşı korumaktadır. Lens kapsülü lens için bir destekten daha fazlasını sağlar. Epitel hücreleri ve fibril hücreleri için içerdiği bağlantı noktaları ile lens hücrelerinin yaşaması, diferansiasyonu ve migrasyonu gerçekleşir. Ayrıca lens kapsülü salgılanan büyüme faktörleri için rezervuar görevi görmektedir. Bu büyüme faktörlerinin serbest bırakılması ve aktivasyonu hücrelerin diferansiasyonunu uyarır (Danysh ve Duncan, 2009).

2.1.1.2. Epitel

Epitel ön kapsül altında tek sıra halinde ekvatora kadar uzanmaktadır. Boyutları 10x15 mikron olan bu hücreler küp şeklindedir. Temel yüzleri ön kapsüle sıkıca yapışmış, ön yüzleri ise yeni meydana gelen fibriller ile komşuluk yapar (Lo ve Harding, 1983; Kuzsak ve Brown, 1994). Lensin enerji ihtiyacı lens epiteli tarafından ATP yapımı ile karşılanır. Mitotik olan epitel hücrelerinde, lensin ön kapsülünün preekvatoryal bölgesini çevreleyen germinatif zon bölgesi mitoz aktivitenin en yoğun olduğu yerdir (Demir, 2012). Çekirdek ve sitoplazmik organellere sahip olan epitel hücreleri fonksiyonel olarak iki kısma ayrılmaktadırlar. Aktif olarak bölünerek lens fibrillerine farklılaşan hücreler ekvatorunda bulunurlar. Bölünmeyen epitel hücreleri ise aköz ile lens arasında madde alışverişini sağlayarak kapsül materyali salgılar (Tuzcu, 2000).

2000 dolayında küp şeklinde tek katlı hücrelerden oluşan epitel hücreleri, sadece merceğin ön orta kısmında bu şekillerini korurlar. Ekvatora yaklaştıkça uzunlamasına büyüyerek ince uzun bir lif şeklini alırlar ve ekvatoru dolanarak lens içine girerler. Lens lifine dönüşen hücrelerde çekirdek, mitokondri ve ribozom gibi organeller yok olur. Lens lif üretimi sürekli devam ederken yeni oluşan lifler eskilerini dıştan sararak sayıları 2000-3000'i bulan lamelleri meydana getirir (Bengisu, 1990).

2.1.1.3. Lens Lifleri

Lensin ana yapı elemanlarından olan lens fibrilleri, ekvator çevresinde bulunan ve bölünme özelliğine sahip lens epitel hücrelerinden oluşurlar. Bu epitel hücreleri seksen yıl boyunca 200 milyon lens fibrili üretir. Lens vezikülünden intrauterin hayatın ilk 3 ayında gelişen birincil lens liflerinin etrafını saran ikincil lens lifleri, doğuma kadar fetal çekirdeği meydana getirir. Lifler ön kısımda Y arka kısımda ise ters Y şeklinde birleşerek sütür adı verilen yapıları oluşturur. 8 ay boyunca küre şeklinde olan lens zamanla yassılaşır. Embriyonik çekirdekte sütür yapı söz konusu değildir. Fetal zamana kadar üç dallı olan sütür yapısı orta yaşlara gelindiğinde yirmi dala ulaşır. Meydana gelen dallanma yeni bir lens lif katmanını ifade eder. Kapsüle en yakın paketler halinde bulunan hücreler genç ve yeni oluşan hücrelerdir (Snell ve Lemp, 1989; Tamçelik ve Özçetin, 2004). Genç lif hücrelerinin sitoplazma ve çekirdekleri belirgin iken merkeze doğru ilerledikçe çekirdek ve mitokondri gibi normal organelleri kaybolmaktadır. Merkezde bulunan yaşlı lifler ise genç lif hücrelerine göre daha koyu renkte görülürler. Katlar arasındaki optik yoğunluktan dolayı farklı optik bölgeler ortaya çıkmaktadır. Bunlar fetal,

yetişkin çekirdekler, embriyoner, medikal ve kabuk olarak ayırt edilir (Bengisu, 1990; Arıncı ve Elhan, 1997; Karel ve Aslan, 2010).

2.1.1.4. Lens Zonülleri (Zinn Lifleri)

Lensin yerinde durmasını sağlayan lens ekvatoru ile siliyer cisim arasında bulunan ince liflerdir. Siliyer cisimden çıkan lens lifleri, lens ekvatorunda kapsüle tutunurlar (Başmak, 2005). Zonüller lifler ile kirpiksi kaslara bağlı olan lens, kirpiksi kasın görme sırasında kasılması ile kalınlaşır ve kırıcılığı artar (Çakınel, 1992). Yakındaki cisimlerin net görülebilmesi için lensin kırıcılığının artmasına akomodasyon (uyum) denir (Yıldırım, 1996).

2.1.2. Lensin Biyokimyası

2.1.2.1. Lens Elektrolitleri

Lens şeffaflığının devamı açısından elektrolit ve su dengesi son derece önemlidir. Çünkü hücresel hidrasyonun bozulması lens opaklaşmasına sebebiyet vermektedir.

Aköz hümör ve vitreustan farklı olarak lens, daha fazla potasyum iyonu ve amino asit içerir. Sodyum iyonu, klor iyonu ve su içeriği ise çevresindeki yapılarda olduğundan daha az miktardadır. Hücre zarının geçirgenlik özelliklerine ve sodyum pompası aktivitesine bağlı olarak katyon dengesinin korunması gerçekleşir. Sodyum pompası mekanizmasının çalışması Na^+/K^+ -ATPaz enzimi tarafından kontrol edilir ve ATP parçalanması ile oluşur. Epitel hücrelerinde çok aktif olan bu pompa ile Na^+ dışarı atılırken K^+ lens içine alınır. Na^+/K^+ -ATPaz enzimi kullanılarak 3 Na^+ u dışarı atıp 2 K^+ u içeri almak için 1 mol ATP harcanır. Lens epitel hücreleri ve yüzeysel kortikal lif hücreleri Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin en yoğun olduğu bölgelerdir. Na^+/K^+ -ATPaz enziminin inhibe olması katyon dengesini bozarak lensin su içeriğinin artmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda osmotik denge bozulur ve lens şişer. Lens iyon dengesizliği ortaya çıkarak lensin şeffaflığı kaybolur.

Lensin pompala-sızdır sistemi aktif taşıma ile hücre zarı geçirgenliği kombinasyonundan oluşur. Pompala-sızdır teorisine göre potasyum ve amino asit gibi çeşitli moleküller lensin ön bölümüne aköz hümörden epitel hücreleri aracılığıyla alınır. Daha sonra ise pasif difüzyon ile lensin arka bölümüne taşınmaktadır. Lens içeriğindeki pasif difüzyonun çoğu hücreler

arasındaki düşük dirençli gap junctionlar (geçit bölgesi) ile gerçekleşmektedir. Sodyum iyonunun taşınması ise bunun tam tersi bir mekanizma ile gerçekleşir.

Hücre zarı boyunca tek taraflı elektrolit dağılımının olması, lens içi ve dışı arasında elektriksel potansiyel fark oluşturmaktadır. Lens içi yaklaşık -70 milivolt olup elektronegatifdir. Lensin ön ve arka tarafı arasında -23 milivoltluk potansiyel fark mevcuttur.

Kalsiyum hemostazı da lens için çok önemli olup Ca^{2+} -ATPaz ile hücre içi ve dışı arasındaki kalsiyum konsantrasyon farkının oluşması sağlanır. Kalsiyum hemostazının bozulması; yüksek kalsiyum seviyesi nedeniyle glukoz metabolizmasının bozulması, yüksek moleküler ağırlıkta protein agregatları oluşumu, yıkıcı proteaz aktivasyonu gibi negatif değişikliklere neden olarak lens metabolizmasına zarar verebilir. Ca^{2+} , lenste membran geçirgenliği, membran proteinlerinin organizasyonu, protein sentezi ve lens proteinlerinin çözünürlüğü üzerinde etkilidir.

Lens beslenmesi açısından hücre zarı geçirgenliği ve aktif taşınması önemlidir. Lens epitelinde amino asitlerin lens içine alınması, sodyum pompalarının oluşturduğu konsantrasyon farkı ile aktif taşınmayla gerçekleşir. Glukozun lens içine alınması ise direkt olarak aktif taşınmanın rol oynamadığı kolaylaştırılmış difüzyon ile sağlanır (Uğuz, 1993; O'Dwyer, 2008-2009).

2.1.2.2. Lens Proteinleri

Organizmada en yüksek oranda protein içeren organ lenstir. Total ağırlığının yaklaşık % 33'ünü protein oluşturmaktadır. Lensin şeffaflığının ve kırılma gücünün yüksek olmasını sağlamak, lens proteinlerinin en önemli görevidir (Bengisu, 1990).

Lens, su veya serum fizyolojik ile homojenize edildikten sonra santrifüj işlemine tabi tutulursa, proteinlerin % 85'i süpernatantta, % 15'i ise çöktide kalır. Süpernatantta kalan proteinler suda çözünebilir proteinlerdir ve kristalinler olarak adlandırılırlar. Kristalinler ise alfa kristalin (% 30), beta kristalin (% 55) ve gama kristalin (% 15) olarak molekül ağırlıklarına göre sınıflandırılmışlardır. Çöktide bulunan proteinler ise suda çözünemeyen proteinlerdir ve albuminoidler olarak adlandırılırlar. Hücre iskeleti ve membran proteinleri bu tip protein sınıfını oluşturur. Albuminoidler de kendi aralarında ürede çözünen proteinler ve çözünmeyen proteinler olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadırlar. Çözünmeyen proteinlerin büyük bir kısmı

lens çekirdeğinde bulunurken, çözünebilen proteinlerin çoğu ise lens korteksinde bulunmaktadır (Davson, 1990; Sütapak, 2007).

Alfa kristalinler çözüner proteinler içinde en yüksek molekül ağırlığına sahip olup, molekül ağırlıkları 60-400 kDa arasında değişmektedir (Dilley ve Harding, 1975). Embriyonik lens proteini olarak da bilinen alfa kristalinler doğumdan önce oluşarak yaşam boyunca varlıklarını sürdürürler. Gençlerde alfa kristalin miktarı kortekste en yüksek değerde olup, albuminoid miktarı ise nükleusta yüksektir. Yaşlandıkça albuminoidlerin miktarı artarken, alfa kristalinler azalır. İlerleyen yaşla birlikte suda çözünmeyen protein oranının artması agregatların oluşmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak ışığın daha çok saçılmasına sebebiyet veren lens opasitleri meydana gelir. Lensin toplam protein miktarında zamanla azalma gerçekleşir. Yaş ilerledikçe polipeptidlerde bozulma, erime ve sülfidril gruplarında azalma görülür. Bunun sonucunda ise lens şeffaflığını kaybetmektedir (O'Dwyer, 2008-2009; Karel ve Aslan, 2010)

Çözüner lens proteinlerinin en büyük kısmını beta kristalinler oluşturmaktadır. Molekül ağırlıkları 20- 40 kDa arasında değişen beta kristalinler, oksidasyonlara hassas olmaları nedeniyle agregat oluşturmaya meyillidirler. Embriyonik dönemde beta kristalinler, alfa kristalinlere göre daha az oranda bulunurken, doğumdan sonra miktarları artmaktadır. En düşük molekül ağırlığına sahip olan gama kristalinlerin molekül ağırlığı ise 20 kDa civarındadır. Tek bir polipeptid zincirinden oluşan gama kristalinler lens çekirdeğinde kapsüle oranla daha fazla bulunurlar. Gama kristalinler lens epitelinde bulunmamaktadır (Davson, 1990).

2.1.2.3. Lens Lipidleri

Lensin kuru ağırlığının % 3-5'i lipidlerden oluşturmaktadır. Lens lipidlerinin çoğu hücre zarıyla ilgili oldukları için, bunlar bir protein-lipid kompleksi halinde bulunurlar. İnsan lensindeki lipidlerin yaklaşık % 50'si kolesterolden, % 45'i fosfolipidlerden, % 5'i ise glikosfingolipidler ve seramidlerden oluşur. Lens lif membranının ana bileşeni olan lipidlerin sentezinde meydana gelen azalma veya yıkımlarında gerçekleşen bir bozulma lif membranlarında tahribata neden olmaktadır. Bu tahribat, lensin transport mekanizmalarının bozulmasına yol açarak opaklaşmaya neden olur (Cotlier, 1987).

gibi bazı fizyolojik özelliklerin korunmasında, glutatyon ve proteinlerin sentezinde kullanılmaktadır. Glikolizin son ürünleri laktik asit, CO₂ ve H₂O' dur. Laktik asit, kamaralar sıvısına diffüze olarak buradan sirkülasyon sıvısı ile uzaklaştırılır (Uğuz,1993; Pınar, 2015). Epitelde meydana gelen krebs döngüsünde, glikoliz sonucu meydana gelen Glikoliz sonucu oluşan laktik asidin büyük bir kullanılmaktadır. Krebs döngüsü ile enerji üretimi epitelle sınırlı olup lenste toplam glukozun yalnızca % 3'ü krebs döngüsü aracılığı ile kullanılır. Lensteki toplam enerji gereksiniminin % 25'i buradan elde edilmektedir (Suryanarayana ve diğ., 2005; Raju ve diğ., 2006).

Lens glikozunun % 5'i pentoz fosfat yoluna girer. Bu yol daha çok artmış glikoz düzeylerinde uyarılmaktadır. Lenste oldukça aktif olan bu yolda ATP üretilmez fakat nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oluşumu gerçekleşir. Lenste NADPH, glutatyon redüktaz ve aldoz redüktaz enzimlerinin aktivasyonu için gereklidir. Glukoz metabolizmasının başka bir yolu olan sorbitol yolunda anahtar enzim olarak aldoz redüktaz görev alır (Uğuz,1993; Pınar, 2015).

Lensteki glukoz miktarının %5'i ise sorbitol yoluna girmektedir. Aldoz redüktaz enziminin aktive olmasıyla glukozun bir kısmı sorbitole dönüşür. Oluşan sorbitol, dehidrojenaz enzimi ile fruktoza dönüşür. Lens glukozunun aşırı olduğu durumlarda, oluşan glikoliz son ürünlerinin fed-bek etkisi ile anaerobik glikoliz durdurularak, glukozun aldoz redüktaz enzimi ile sorbitole dönüşümü sağlanır. Bu durum geçirgenliği sorbitole az olan lenste sorbitol birikimine neden olur. Miktarı artan sorbitol osmotik basıncı arttırarak su alımına neden olur ve bunun sonucunda liflerde şişme, lens yapısında değişim ve matlaşma meydana gelir (Hatemi ve diğ., 1983; Suyadal, 2007; Pınar, 2015).

2.1.2.5. Lenste Oksidan ve Antioksidan Faktörler

Lensin normal hücrel metabolik aktivitesi nedeniyle veya güneşten yayılan radyan (elektromanyetik) enerji gibi dış etkenler sonucu serbest radikaller oluşur. Yüksek reaktif kapasiteye sahip bu serbest radikaller, lens liflerinde hasara yol açabilmektedir. Ayrıca serbest radikaller lens opasifikasyonunun nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Lipit peroksidasyonu gerçekleşirken, okside edici ajan aracılığıyla hidrojen atomu çıkartılarak, doymuş yağ asitleri radikal yağ asitlerine dönüşür. Radikal yağ asidinin ise moleküler oksijene bağlanması sonucu lipid peroksi radikali oluşur. Bu zincirleme reaksiyon sırasında, lipid

peroksi (LOOH) meydana gelir. LOOH, daha sonra malondialdehit (MDA) adı verilen çapraz bağ oluşturan bir ajana dönüşmektedir.

Lens içerisinde ve çevresinde oksijen basıncı düşüktür. Bu nedenle serbest radikaller moleküler oksijen yerine daha çok diğer moleküller ile reaksiyona girmektedir. Serbest radikaller nedeniyle DNA kolayca zarar görmektedir. Lensteki hasarın bir kısmı tamir edilebilirken bir kısmı tamir edilemez. Korteksteki proteinler ve hücre zarı lipidleri de serbest radikaller nedeniyle zarar görür. Zamanla artan bu zararı tamir edecek bir mekanizma bulunmamaktadır. Serbest radikaller, protein sentezinin yürütülemediği lens liflerinde lipid ve proteinlerin polimerizasyonuna ve çapraz bağların oluşmasına yol açmaktadır. Bunun sonucunda ise lensteki suda çözünmeyen protein içeriği artar (O'Dwyer, 2008-2009).

Lens için oksidasyon-redüksiyon mekanizmalarının önemi büyüktür. Oksidatif hasar birçok moleküler değişikliğe yol açarak katarakt gelişimine neden olur. Glutasyon bu hasardan korunmada çok önemli bir rol oynar. Lens içindeki glutasyonun yaklaşık tamamı redükte formda (GSH) bulunmaktadır. Glutasyon, proteinlerdeki tiyol gruplarının korunmasında, disülfid bağları arasındaki protein agregasyonunun önlenmesinde ve normal katyon transportu için gerekli olan sülfhidril gruplarının korumasında görev alır. İnsan ve deneysel katarakt tiplerinde glutasyon düzeyi belirgin olarak azalmaktadır. Oksidatif hasara karşı lens savunmasız kalır. Glutasyon lensin majör antioksidanı olup H_2O_2 ve organik peroksitleri, glutasyon peroksidaz enzimini kofaktör olarak rol aldığı reaksiyonlarla detoksifiye ederek etki gösterir. Lenste ayrıca süperoksit dismutaz (SOD) enzimi de bulunmaktadır. Normal lenste yüksek konsantrasyonda bulunan SOD, kataraktöz lenslerde düşük konsantrasyonda bulunur (Borazan, 2003).

2.2. EPİLEPSİ

2.2.1. Epilepsinin Tanımı

Epileptik kriz, bir kısım serebral sinir hücresinin ani, anormal ve aşırı boşalmasına bağlı olarak geçici belirti ve/veya bulguların ortaya çıkması olayıdır (Fisher ve diğ., 2005). Travma, ateş gibi tetikleyici sebepler olmadan iki veya daha fazla epileptik nöbetin meydana gelmesi epilepsi olarak tanımlanmaktadır (Aysun, 1994; Bebin ve Neurol, 2002). Epilepsi, primer veya sekonder artmış nöronal uyarılabilirlik nedeniyle beynin gri maddesinde ani, düzensiz ve yoğun elektrik deşarjı sonucu ortaya çıkarak, motor, duysal, otonom, bilişsel veya afektif bileşenlerden

oluşan, bilinç düzeyinde bozulmanın eşlik edebildiği beyin fonksiyonlarında geçici ve yineleyici bozukluklara neden olur (Adams ve diğ., 2001). Günümüzde kullandığımız epilepsi eski Yunanca'da "epilambanein" kelimesinden gelmektedir (Eskazan, 2008). Günlük dilimizde ise epilepsi karşılığı olarak Arapça kökenli 'sara' sözcüğü kullanılmaktadır ve 'yere serme' anlamına gelmektedir (Yeni ve Bora, 2013).

2.2.2. Epilepsinin Tarihçesi

Tarihsel verilere göre, bir hastalık belirtisi olarak epileptik fenomenler ve özellikle de jeneralize nöbetler oldukça eski dönemlerden beri, çeşitli toplumlarca fark edilmiştir (Eskazan, 2008). Epilepsi ile ilgili elde edilen en eski kayıtlar Mezopotamya uygarlığına aittir. Babil kralı Hammurabi'nin yasalarında (M.Ö. 1750) 'Eğer satın alınan erkek ya da kadın bir kölede, bir ay geçmeden bennu hastalığı ortaya çıkarsa, köleyi alan kişi satıcısına geri verecek ve ödenmiş olan parayı geri alacaktır.' denilmektedir. O dönemde 'bennu' sözcüğü epilepsi sözcüğünün karşılığı olarak kullanılmaktadır (Yeni ve Bora, 2013). Epilepsiden ilk olarak klasik Çin kitaplarında M.Ö. 770-221 yılları arasında bahsedilmiştir. M.Ö. 460 yılında Hipokrat, epilepsi ile ilgili ilk monograf olan kitabında hastalığın beyin merkezli olduğunu belirtmiş ve epilepsiyi ilk kez bir beyin hastalığı olarak tanımlamıştır. Epilepsinin tanımlanması ve gelişmesi yönünde gelişmeler 16.yy'dan sonra olmaya başlamıştır (Goldenson, 1997; Atagün, 2016).

Beyindeki elektriksel deşarjların epilepsi nöbetlerine neden olduğunu 1849 yılında İrlandalı doktor Robert Bentley Todd ileri sürmüştür. İlk kez 1875 yılında Richerd Caton tarafından hayvan beyininde elektriksel akımın varlığı gösterilmiştir. John Hughlings Jackson hastaların ayrıntılı incelenmesi sonucu epilepsi nöbetlerinin anlaşılmasını kolaylaştırmış ve epilepsiyi "nöronlarda ara sıra meydana gelen düzensiz ve aşırı boşalımı" şeklinde XIX. yüz yılın sonlarında tarif etmiştir. İlk etkili ilaç tedavisi 1912 yılında fenobarbital olarak bulunmuştur. Epilepsi pratiği ve araştırmalarında önemli bir yeri olan elektroensaflografi (EEG) 1929'da Hans Berger tarafından geliştirilmiştir. 1937'de ise fenitoinin bulunması önemli basamaklardan biridir. Gowers'ın epilepsi nöbetlerini sınıflandırma çalışmaları ise çağdaş sınıflandırmanın başlangıcıdır. Yapılan bu ve buna benzer çalışmalar epilepsi üzerindeki sır perdesini yavaşça aralayarak Hipokrat'ın 2400 yıl önce yaptığı açıklamaları doğrulamaya başlamıştır (Yeni ve Bora, 2013; Atagün, 2016).

2.2.3. Epilepsinin Patofizyolojisi

Hayvan ve insanlar üzerinde yapılan deneysel araştırmalarda, kortikal sinir hücrelerinin zar potansiyellerinde ve ateşlenme şekillerinde nöbet öncesi gerçekleşen bazı yapıya özel bozukluklar belirlenmiştir. Paroksizmal depolarizasyon kayması (PDK) adı verilen bu olayda, zarı nötralize eden postsinaptik potansiyel anormal şekilde uzar. PDK'nın, uyarıcı nörotransmitterler olan glutamik asit ve aspartik asit ile inhibitör nörotransmitter olan gama-aminobutirat sistemleri arasındaki istikrarsızlıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Merkezi sinir sisteminde denge halinde bulunan eksitator ve inhibitör aktiviteyi düzenleyen sistemlerden ilkinde artma, ikincisinde azalma sonucu nöronal uyarılabilirlik artar. Ayrıca paroksizmal depolarizasyon kaymasının ortaya çıkmasında, membranlarda bulunan iyon kanallarındaki bozuklukların da etkili olduğu ileri sürülmektedir. Nöronlarda eksitasyon, membranın Na^+ ve Ca^{++} 'a, inhibisyon ise Cl^- ve K^+ 'a geçirgenliğinin artması ile gerçekleşir. Bu bilgilere rağmen, EEG'de rastlanan anormal ritmlerin fizyolojik temeli ve nöbet aktivitesine neden olan hipersenkronizasyondan sorumlu mekanizmalar henüz tam anlamıyla açıklanamamaktadır (Dam, 1990; Aminoff, 1992; Niedermeyer ve Lopes da Silva, 1993; Kayaalp, 1994; Fish, 2002).

Epileptik nöbet gerçekleşirken, beyindeki nöronların hipersenkron ve tekrarlayıcı aktivasyonu meydana gelir. Odaksal kortikal bir kriz aktivitesinin gerçekleşebilmesi için, ilgili sinir hücrelerinde öncelikle hipereksitabilite ve senkronizasyon olmak üzere 2 fizyopatolojik özelliğin birarada olması gerekir. Eksitasyon alanını çevreleyen inhibitör nöronların inaktivasyonu ile nöbet aktivasyonunun yayılması meydana gelir (Aminoff, 1992).

Nöbetle birlikte gerçekleşen anormal deşarjların fizyolojisi hakkında bilgiye sahip olunmasına karşın, epileptogenezin hücrel mekanizmalarında bilinmeyenler oldukça fazladır. Membranda iç ve dış yük farklılığının kararsızlığına yol açan primer bir nöronal membran defekti üzerinde durulmaktadır. Bu mekanizmalar potasyum aktarımında eksiklik, voltaja hassas kalsiyum kanallarında bozukluk veya ATP bağımlı iyon transportunda defekt şeklinde özetlenebilir (Dam, 1990).

2.2.4. Epilepsinin İnsidansı

Epilepsi insidansı; gelişmiş ülkelerde yılda 100.000'de 40-70 iken, az gelişmiş ülkelerde 100.000'de 100-190 olarak bildirilmiştir (Sander ve Shorvon, 1996). Gelişmekte olan ülkelerde epilepsi insidansının daha yüksek olmasında doğum travması, kafa travması, sağlık

hizmetlerine kısıtlı erişim gibi faktörler rol oynamaktadır. Hijyen koşullarının yetersizliği, merkezi sinir sistemini etkileyen ve nöbetlere yol açan enfeksiyöz hastalıkların sık görülmesine neden olur. (De Bittencourt ve diğ. 1996). Alkol ve madde bağımlılığı gibi epilepsiye dolaylı yoldan neden olan sosyal hastalıkların riski gelişmekte olan ülkelerde daha yüksektir (Bradley ve diğ., 2008).

Doğumdan sonraki ilk birkaç ayda insidans en yüksek değerindedir. Erişkin yaşamda insidans daha düşük olup stabil bir seyir izler. Yaşlanma ile birlikte ise insidans yeniden artar. Epilepsi, hastaların % 50–60'ında 16 yaşından önce ortaya çıkar. Kırk yaşın altında epilepsili yeni olguların ortalama % 50'si parsiyel, % 50'si jeneralize kaynaklıdır. Kırk yaş sonrasında ise parsiyel epilepsilerin dağılımı % 75'lere ulaşır. Çalışmalar arası farklılıklar göstermekle birlikte erkeklerde epilepsi görülme oranı kadınlara göre 1-2.4 kat daha fazladır (Ertem, 2012).

2.2.5. Epilepsinin Tedavisi

Ketojenik diyet, ilaç tedavisi, cerrahi tedavi ve vagal stimülasyon gibi yöntemler epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır. Epilepsinin tedavi sürecinde hastalığın psikolojik, sosyal ve eğitim yönü de ele alınmalıdır (Türkdoğan, 2006). Epilepside ilk olarak nöbetleri tetikleyen nedenlerin belirlenmesi ve eğer varsa bu nedenlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Böylece ilaç tedavisine başvurulmadan, nöbetin gerçekleşmesini tetikleyen etkenlerden uzak durulması yeterli olabilmektedir. Hastanın tedavi yöntemine karar verirken, yöntem ve ilaç seçimi, tedavinin sonlandırılmasının hastaya getireceği etkiler ile oluşturacağı geçici veya kalıcı hasarla ve tedavinin yan etkileri dikkate alınmalıdır (Aicardi ve diğ., 2007).

Antiepileptik ilaçlar (AEİ), epilepsili hastalarda en sık kullanılan tedavi yöntemidir. Ancak antiepileptik ilaç tedavisi, hastalığın nedenini ortadan kaldıramadığı ve epilepsinin ilerlemesini durduramadığı gibi riskli kişilerde epilepsi gelişmesini de önleyememektedir. Antiepileptik ilaçlarla tedavi, yalnızca epileptik nöbetlerin tekrarlamasını önlemektedir (Schachter, 2002). Bütün AEİ'lerin potansiyel bazı yan etkileri bulunmaktadır ve tedavideki en önemli amaçlardan biri ilacın yol açtığı bu istenmeyen etkileri oluşturmaksızın nöbetleri kontrol altına almaktır. Bu nedenle ilaçların kullanılma endikasyonları dikkatle hesap edilmelidir (Aicardi ve diğ., 2007).

Antiepileptik ilaç tedavisine başlamak için ilk şart, epilepsi tanısının yeterince güvenilir olmasıdır. Bunun için, öncelikle hastanın geçirdiği nöbetin veya nöbetlerin epileptik olduğunun

doğrulanması gerekir. Eğer nöbetlerin epileptik olduğu kanısına varılmış ise ‘akut semptomatik nöbetlere’ neden olabilecek bir akut beyin etkilenmesinin olmadığı belirlenmesi gerekmektedir. Tedaviye başlanması için ikinci önemli nokta ise, ilk kez epileptik nöbet geçiren bir kişinin yeniden nöbet geçirme olasılığının değerlendirilmesidir. Çeşitli araştırmalarda ilk nöbetten sonra ikinci bir nöbet geçirme riski, % 27-81 arasında değişim göstermektedir. Parsiyel nöbet, nörolojik muayenede fokal bulgu saptanması veya EEG’de epileptiform anormalliklerin bulunması tekrar nöbet geçirme riskini gösteren etmenlerdir. İlk krizden sonra epilepsinin tedavisine AEİ ile başlanılıp başlanılmayacağı konusunda doktorların ortak bir kararı bulunmamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri’nde genellikle ilk nöbetten sonra AEİ tedavisine başlanmaktadır. Avrupa’da ise çoğunlukla ikinci nöbetin gerçekleşmesini beklemek tercih edilmektedir. Nitekim ikinci nöbetten sonra tekrar nöbet geçirme olasılığı çok daha yüksektir. (Hauser ve diğ., 1998). İki veya daha fazla uyarılmamış epileptik nöbet geçirmiş bireylerde, tekrar meydana gelebilecek nöbeti engellemek amacıyla antiepileptik ilaç tedavisinin uygulanması genel kabul görmektedir (Deckers ve diğ., 2003). Genellikle epilepsi tedavisinin altın standardı olarak tek ilaçla tedavi kabul edilmektedir. Ancak ikili tedavinin, tek ilaçla tedaviden daha fazla yan etkisi bulunmadığını bildiren yayınlar bulunmaktadır (Deckers ve diğ., 2003).

Epilepsili hastaların çoğunda, belli bir süre tedavi gerçekleştikten sonra kalıcı bir düzelme görülmektedir. Antiepileptik ilaçların yan etkileri nedeniyle, böyle bir durumda tedaviyi devam ettirmek risklidir ve tedavinin kesilmesi uygun bir seçimdir. Ancak antiepileptik ilaç tedavisi yavaşça kesilen hastaların hemen hemen yarısında nöbetler tekrarlarlarken, antiepileptik ilaç tedavisini sürdürenlerin yalnızca dördte birinde nöbetler tekrar etmektedir (Berg ve Shinnar, 1994). Antiepileptik ilaç tedavisinin durdurulması, epilepsinin uzun süreli prognozunu değiştirmez. Ancak nöbet geçirme riski, antiepileptik ilaç kesildikten sonraki 1-2 yıl içerisinde artar (Chadwick ve diğ., 1996). Özellikle parsiyel nöbet geçiren ve anormal EEG’li çocuklarda antiepileptik ilaçla tedaviyi kesmeden önce en az iki yıl nöbet geçirmemesini beklemek daha doğrudur (Sirven ve diğ., 2001). Antiepileptik ilaç tedavisini keserken, nöbetlerin tekrarlama riski konusunda doktorun hastayı bilgilendirmesi büyük önem taşır. Dirençli epilepsilerde AEİ dışında cerrahi tedavi, ketojenik diyet ve vagus sinir uyarımı gibi alternatif tedavi yöntemleri uygulanabilmektedir (Erdem ve diğ., 2002).

2.2.6. Epilepsinin Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

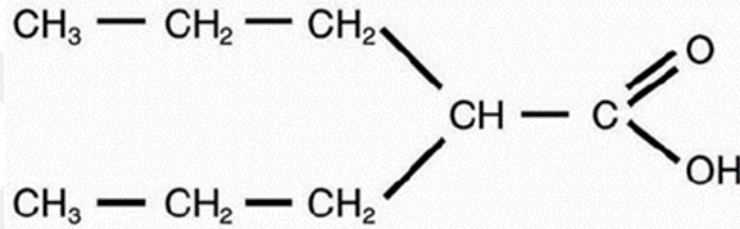
İdeal bir antiepileptik ilacın, emiliminin taşıyıcıya bağlı olmaması, plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanmaması, metabolizmaya uğramaması, ilaç etkileşimlerinin olmaması, yan etkilerinin az olması ve belirli bir epileptik sendrom için etkili olduğunun kanıtlanmış olması istenen temel özellikleridir (Berkovic, 2005; Onat ve Eşkazan, 2008).

Antiepileptik ilaçların başlıca etki mekanizmaları:

1. Sinir zarlarında mevcut olan voltaja bağlı sodyum kanallarını kapatarak, yüksek frekanslı tekrarlayıcı aksiyon potansiyellerinin ateşlenmesine engel olanlar: KBZ (Karbamazepin), PHT (difenil hidantoin), LTG(Lamotrijin), OXC (Oksokarbazepin), VPA (Valproik asit) (Macdonald, 1989).
2. Gama-aminobütirat'a bağımlı inhibisyonun aktif bölge dışında bir yere bağlanması yoluyla arttırılmasını sağlayanlar: PB (fenobarbital), BZD (Benzodiyazepin), TPM (topiramet) (Macdonald, 1989).
3. Nöronlarda mevcut kalsiyum kanalları sinir hücrelerinde geniş bir alana yayılmıştır. Bu kanallar Na, P ve Q tipi şeklinde ayrılarak sinir sonlanmalarındaki nörotransmitter salınımını gerçekleştirirler. Jeneralize absans tipi epilepsinin oluşumunda talamusta mevcut T-tipi kalsiyum kanalının rol aldığı düşünülmektedir. T tipi kalsiyum kanalını etosüksimid gibi antiepileptiklerin etkileyerek nöbeti engellediği savunulmaktadır (Deckers ve diğ., 2003).
4. Gama amino bütirat transaminaz inhibisyonu: Vigabatrin (VGB) gama amino bütiratın analogudur ve gama amino bütirat transaminaz enzimini geri dönüşümsüz olarak inhibe etmektedir (Bora ve Taşkapılıoğlu, 2003).
5. Eksitator amino asit olan glutamatik asit reseptörünü engelleyerek veya direkt olarak glutamatik asidin salınımını inhibe ederek etki edenler: Topiramet (TPM) , Lamotrijin (LTG) (Deckers ve diğ., 2003).
6. Sinaptik vezikül proteinine bağlanarak etki edenler: Levatirasetam'ın presinaptik düzeyde sinaptik vezikül proteini olan SV2A'ya spesifik olarak bağlanarak, bu proteinin ekzositoz işlevini modüle ettiği düşünülmektedir (Goodman ve Gilman, 2001).

2.3. VALPROİK ASİT

Valproik asit (VPA) B. S. Burton tarafından 1882 yılında sentezlenmiş, kimyasal yapı olarak 2-propil pentanoik ya da dipropil asetik asit olarak da isimlendirilmiş, sekiz karbonlu basit dallı zincirli bir karboksilik asittir. (Burton, 1882 ; Kusunoki ve diğ., 1988) (Şekil 2.3). VPA, epilepsi tedavisinde en fazla kullanılan, geniş spektrumlu AEİ'den biridir. (Shorvon ve diğ. 2004). 1963 yılına kadar antiepileptik özelliğinden bahsedilmemiştir (Grant and Barot, 1975). Pierre Eymard'ın diğer bazı bileşikler çözme amacı ile bu ilacı kullanmasıyla, antikonvülzan özelliği tesadüfen bulunmuştur (Brodie ve diğ., 2007). VPA, antiepileptik etkisini temel olarak beyinde GABA düzeyini artırarak göstermektedir. Ayrıca voltaj bağımlı sodyum ve kalsiyum kanallarını da etkilediği bilinmektedir (Onat ve Eşkazan, 2008; Panayiotopoulos, 2009).



Şekil 2.3: Valproik asit.

2.3.1. Valproik Asidin Farmakokinetik Özellikleri

Ağızdan alındıktan sonra tamamına yakını (% 95-100) hızla emilir. Plazmada tepe konsantrasyonuna, sodyum tuzu ortalama 1.5 saat, asit şekli 2 saat, enterik kaplı tabletler ise 4-8 saat sonunda ulaşmaktadır. Yemekten sonra alınması etkisini değiştirmez fakat emilimini geciktirir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı konsantrasyonla ilişkili olup, yaklaşık % 90 oranında bağlanma gerçekleşmektedir. Valproik asidin yaklaşık % 3-4 kadarı metabolize olmadan idrarla atılmaktadır. Geri kalanı ise karaciğerde aktif metabolitlere dönüştürüldükten sonra atılır. Erişkinde eliminasyon yarılanma ömrü ortalama 12 saattir. Tedaviye başladıktan dört gün sonra kararlı duruma ulaşır. Yaklaşık % 95 oranında karaciğer uridin difosfat glukuronosiltransferaz (UGT) enzimi ile organizmada kullanılmaktadır (Onat ve Eşkazan, 2008; Panayiotopoulos, 2009).

VPA'nın plazma terapötik aralığı genellikle 50-100 mcg/mL arasındadır. Erişkinlerdeki dozu günde 500-3000 mg, çocuklarda kg başına 10-40 mg'dır. 100 mcg/mL'nin üstünde genellikle tremor gibi yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Anne kanından plasenta aracılığıyla yüksek oranda fetüse geçer. Ayrıca anne sütüne de %2-5 oranında geçtiği belirtilmiştir. Karaciğer hastalığı olanlarda VPA kullanımı önerilmemektedir (Şimşek, 2014).

2.3.2. Valproik Asidin Yan Etkileri

VPA'nın en fazla görülen yan etkileri hazımsızlık, bulantı ve kusma gibi mide barsak sistemi sorunlardır. Bulantı ve kusmaya VPA'nın mideye olan doğrudan etkisinin neden olduğu düşünülmektedir. Bu etkiler ilacın dozunun azaltılması, tok karnına kullanılması ve enterik kaplı şekilde alınması ile önlenmektedir. Yan etkilerin azaltılması amacıyla ilaca düşük dozla başlanıp, doz yavaş yavaş arttırılmalıdır (Kayaalp ve Dalkara, 2000).

Dozla ilişkili olarak titreme görülebilir. Titreme olayı doz ayarlaması ile kaybolmaktadır. Özellikle yüksek dozlarda kullanılması halinde öğrenmede güçlük, bellekte zayıflama meydana gelebilir. Hiperaktivite, yorgunluk, depresyon görülebilir. Sedasyon yapabileceği gibi uykusuzluğa da neden olabilmektedir.

VPA'nın en önemli yan etkisi hepatoksisitedir. Nadir olarak ciddi hepatoksisiteye yol açar ve 3 yaşın altında 1/600 oranında görülmektedir. VPA tedavisi uygulanan hastaların %15-30'unda ise karaciğer fonksiyon testlerinde geçici artış izlenmektedir. Hepatoksisite iki farklı tipte görülür. Daha fazla görülen hepatoksisite geçicidir, doza bağlıdır ve karaciğer enzimlerinde asemptomatik artış gözlenir. Nadir görülen hepatoksisite ise ağır seyreder, ilaç dozuna bağlı değildir ve semptomatik hepatit izlenir. Sık rastlanan hepatoksisite genellikle tedavinin ilk 3 ayında görülmektedir. Aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) aktivitesi dozun azaltılması ile azalmaktadır. Hatta doz azaltılmadan tedaviye devam edilmesi halinde de kendiliğinden düşme gözlenmektedir. İkinci tip hepatoksisite ise nadir de olsa ölümcül seyredebilmektedir. İki yaşın altında olanlarda ve farklı ilaçları kullanmakta olan hastalarda bu risk yüksektir. Belirli aralıklarla özellikle tedavinin ilk 6 ayında daha fazla olmak üzere, karaciğer fonksiyon testlerinin yapılması önerilmektedir.

VPA, karaciğerde CoA'ya bağlanarak yağ asitlerinin beta oksidasyonunu inhibe etmekte ve ketoasidoza neden olabilmektedir. Yine karaciğerde üre siklus enzim eksikliği olanlarda, üre sentezini engelleyerek amonyak düzeyinde artmaya (hiperamonyemi) neden olabilmekte ve

bunun sonucunda ölümcül olabilen ensefalopati görülebilmektedir. Karaciğer yağlanması ile syreden Reye sendromuna benzer klinik tablo en korkulan yan etkidir. Mitokondriyal enzim eksikliği olan hastalarda bu risk oldukça fazladır. Bu nedenle iki yaşın altında özellikle metabolik hastalık riski taşıyan çocuklarda kullanılmamalıdır.

Trombositopeniye ve kanama-pıhtılaşma testlerinde bozulmaya yol açabilme ihtimaline karşı, belirli aralıklarla trombosit sayımı önerilmektedir. Özellikle cerrahi müdahale gerçekleştirilecek VPA kullanan hastalarda, müdahale öncesinde kanama-pıhtılaşma testleri mutlaka incelenmelidir.

VPA hastalarda kilo artışına neden olabilmektedir. Adölesan kız hastalarda polikistik over gelişimi gözlenebilir (Herranz ve diğ., 1988; Kayaalp ve Dalkara, 2000; Onat ve Eşkazan, 2008; Panayiotopoulos, 2009).

2.4. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR

2.4.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller son yörüngelerinde ortaklanmamış bir elektrona sahip atom ya da moleküllerdir (Del Maestro, 1980; Kehrer and Smith, 1994). Yük açısından pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Son derece reaktif moleküllerdir. Serbest radikallerin yaşam sürelerinin oldukça kısa olmasıyla birlikte, oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasındaki denge sağlandığı sürece organizma bundan etkilenmemektedir. Oksidan miktarının arttığı ya da antioksidan miktarının yetersiz olduğu durumlarda vücut oksidatif strese maruz kalır. Buna bağlı olarak da, hücresel metabolizmanın işleyişi bozulmuş olur. Oksidatif stresin sonucunda karaciğer, beyin, kalp, böbrek, mide, akciğer gibi çoğu yaşamsal öneme sahip organlarda hasar meydana gelir (Halliwell, 1994; Akkus, 1995; Kılınç ve Kılınç, 2002).

Biyolojik sistemlerde meydana gelen radikaller içerisinde oksijenden oluşan serbest radikaller, biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikallerdir. Oksijen türevi serbest radikaller dışında, organizmada daha az olarak karbon ve kükürt kaynaklı radikaller de oluşmaktadır (Girotti, 1998; Carr ve Frei, 1999; Halliwell, 1994). Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijen radikallerini ve oksitleyici ajanları kolaylıkla radikal haline dönüştürebilen, radikal ve radikal olmayan oksijen bileşikleri içeren kompleks bir tanımdır. Reaktif nitrojen türleri (RNS) ise nitrik oksit

(NO), azot dioksit (NO₂) ve radikal olmayan azot bileşikleri içeren kompleks bir tanımdır (Bottje ve diğ., 1995; Haklar ve diğ., 1999) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Reaktif oksijen ve azot türleri (Halliwell, 2005).

Reaktif oksijen türleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
O₂^{·-} Superoksit	H₂O₂ Hidrojen peroksit
OH[·] Hidroksil	HOCl⁻ Hipoklorik asit
RO₂[·] Peroksil	O₃ Ozon
RO[·] Alkoksil	¹O₂ Singlet oksijen
HO₂[·] Hidroperoksil	ONOO⁻ Peroksinitrit
Reaktif azot türleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
NO[·] Nitrik oksit	ONOO⁻ Peroksinitrit
NO₂[·] Nitrojen dioksit	ROONO Alkil peroksinitrit
	N₂O₃ Dinitrojen trioksit
	N₂O₄ Dinitrojen tetraoksit
	HNO₂ Nitroz asit
	NO₂⁺ Nitronyum anyonu
	NO⁻ Nitroksil anyonu
	NO⁺ Nitroksil kasyonu
	NO₂Cl Nitril kloride

Serbest oksijen reaktiflerinin eksojen ve endojen olmak üzere iki önemli kaynağı vardır. Eksojen radikal kaynakları alkol, uyuşturucu gibi bağıışıklık yapan maddeler, radyasyon, hava kirliliği, pestisitler, solventler, anesteziik maddeler, aromatik hidrokarbonlar, sigara ve antineoplastiklerdir. Mitokondrial elektron transport sistemi, iskemi, travma, intoksikasyona bağı oksidatif stres durumları, peroksizom enzimleri, tiyoller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, endoplazmik retikulum ve nukleus membranındaki elektron transport sistemleri, NADPH oksidaz, lipooksijenaz, prostaglandin sentetaz gibi hücre içi enzimler de endojen radikal kaynaklarındandır (Cam, 2007).

2.4.2. Oksidatif Stres

Oksidatif stres, serbest radikaller ile bu radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması sonucu meydana gelir (Sies, 1991). Doğal bir süreç olan oksidatif stresi kontrol altında tutan özelleşmiş mekanizmalar mevcuttur. Bu mekanizmaların

yetersiz kaldığı durumlarda oksidatif hasar oluşmaktadır (Floyd, 1992). Aşırı oluşan oksidatif stres proteinler, lipidler ve DNA üzerinde zararlı etkiler yaratır (Johansen ve diğ., 2005).

Oksidatif stres; ateroskleroz ve buna bağlı kalp hastalıkları, kanser, astım, romatoid artrit, diabetes mellitus, alzheimer, parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların ve psöriyazis gibi kronik inflamatuvar hastalıkların oluşumuna ve yaşlanmaya neden olmaktadır (Sies ve diğ., 1992).

Tablo 2.2: Oksidatif stres süreçleri, oluşan ürünler ve patolojik etkileri (Floyd, 1990).

Oksidatif Süreç	Ürünler	Olası Patolojik Etkileri
Lipid peroksidasyonu	Membran yapı değişiklikleri Lipofuskin Malondialdehit 4-Hidroksinoenal	Membran enzim aktivitelerinde değişiklik yapar. Yaşlanmaya neden olur. Nükleik asit ve proteinler ile reaksiyona girer, mutajenik olabilir. LDL reaksiyona girer ve ateroskleroza neden olur.
Protein oksidasyonu	Genel protein oksidasyonu Okside olmuş inaktif enzimler (glutamin sentetaz) Okside LDL Okside α_1 -proteaz inhibitör	Yaşlanmaya neden olur. Felç meydana gelmesine neden olur. Ateroskleroza neden olur. Proteazın aktive olmasına yol açarak akciğer ödemeine yol açar.
Nükleik Asit oksidasyonu	Kırılmış zincir Değişmiş bazlar 8-hidroksiguanin 5-hidroksimetil urasil Timin glikol	Mutagenezi destekler. Mutajeniktir ve karsinogenezi destekler.

2.4.3. Antioksidanlar

Organizmada serbest radikal oluşumunu ve serbest radikallerin zararlı etkilerini önleyen koruyucu mekanizmalara antioksidanlar denir (Tablo 2.3). Antioksidanlar, radikalleri kendilerine bağlayarak reaksiyon zincirini kırar ve okside olarak zarar görmüş hücresel yapıları onarırlar (Day ve Thopson, 1984 ; Chesnut ve diğ., 1993 ; DeLa Cruz ve diğ., 1998 ; Zhang ve diğ., 2005). Antioksidan moleküller dört farklı şekilde savunma gösterirler:

1. Toplayıcı etki: Radikalleri tutar veya daha az reaktif olan farklı bir moleküle çevirirler.

2. Bastırıcı etki: Serbest oksijen radikallerine hidrojen aktararak aktivitelerini azaltır veya inaktif şekle dönüştürürler.
3. Zincir kırıcı etki: Radikalleri bağlayarak zincir reaksiyonlarını kırarlar.
4. Onarıcı etki: Serbest radikallerin oluşturduğu hasarı onarırlar. (Shahidi, 1996).

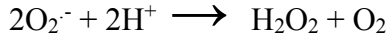
Tablo 2.3: Önemli antioksidanlar ve doku lokalizasyonları (Mates ve diğ., 1999).

1.ENZİMATİK	DOKU LOKALİZASYONU
-SOD	Mitokondri ve Sitozol
-GSH redoks sistemi GSH-peroksidaz GSH-redüktaz	Sitozol ve mitokondri Sitozol ve mitokondri
-Katalaz	Peroksizomlar
2.NON-ENZİMATİK	
a)Yağda Çözünenler	
E vitamini	Membranlar ve ekstraselüler sıvı
B-Karoten	Membranlar
Ubiquinol	Mitokondri
b)Suda Çözünenler	
C vitamini	İntraselüler ve ekstraselüler sıvıda yaygın
Glutasyon	İntraselüler
Ürik asit	Genel dağılımlı
Albümine bağlı bilirubin	Plazma
c)Demir ve Bakır Bağlayan Proteinler	
Albumin	Plazma
Transferrin	Plazma
Serüloplazmin	Plazma

2.4.3.1. Enzimatik Antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), metalloprotein yapısında olup süperoksit radikalini hidrojen perokside dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda görevli bir enzimdir. SOD enziminin fizyolojik önemi; süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı oksijeni metabolize eden hücreleri koruyarak lipid peroksidasyonunun başlamasını önlemektir. Reaktif oksijen türlerine karşı organizmada enzimatik yolun ilk savunmasını SOD oluşturur. SOD'nin, katalaz ve glutasyon peroksidazdan farkı serbest radikali substrat olarak kullanmasıdır (Gaeta ve diğ., 2002).

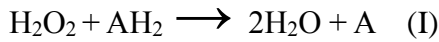
SOD



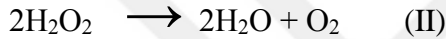
Katalaz (CAT), hidrojen peroksidi moleküler oksijen ve suya katalizleyen hemoproteindir.

Hidrojen peroksidin düşük yoğunlukta olduğu durumlarda peroksidatik reaksiyon (I) ile, yüksek yoğunlukta olduğu durumlarda ise katalitik reaksiyon (II) ile etki gösterir (Sun ve diğ., 2000).

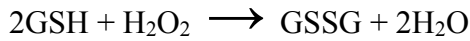
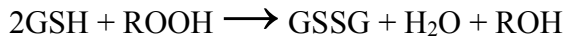
CAT



CAT

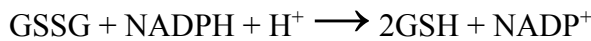


Glutasyon Peroksidaz (GPx), prostetik grup olarak selenyum taşıyan bir metalloenzimdir. H_2O_2 ve lipid peroksidlerin indirgenmiş GSH ile reaksiyona girerek, su ve yükseltgenmiş GSH oluşmasını katalizler (Paglia ve Valentine, 1967).

GP_xGP_x

Glutasyon redüktaz (GR), okside glutasyonu NADPH kullanarak yeniden redükte glutatyonu dönüştürür (Urso ve Clarkson, 2003).

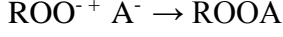
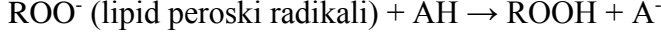
GR



2.4.3.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

Vitamin E, peroksit ve hidroperoksitleri hidrojen iyonları ile doyurarak peroksit radikallerinin etkisini azaltır. Lipid peroksit zincirini kırarak lipid peroksidasyonu tepkimelerini engeller. Zar

fosfolipidlerinde bulunan araşidonik aside bağlanır ve kendi başlattığı reaksiyon ile bir radikale (A^{\cdot}) dönüşerek peroksidasyon zincir reaksiyonunu durdurur (Pieri ve Recchioni, 1994).



β -karoten, A vitamininin metabolik ön maddesidir. Süperoksit radikalini temizler, singlet oksijeni bastırır ve peroksit radikalleriyle etkileşerek antioksidan görevi görür. LDL yapısında bulunur ve LDL'yi oksidasyona karşı korur (Miller ve diğ., 1996).

Ubikinonların indirgenmiş hali olan ubikinoller etkili antioksidanlardır. Ubikinon-10 (Koenzim Q) insanlarda bulunan temel ubikinondur ve temel görevi solunum zincirinde redoks taşıyıcılığıdır. Lipid peroksidasyonunu ve biyomoleküllerin hasar görmesini, oksijen kaynaklı radikaller ve singlet oksijen ile etkileşime girerek engeller (Senyelli, 1999).

C Vitamini (Askorbik Asit), süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijen ile reaksiyona girerek, onları etkisiz hale getirir. Radikalleri temizleyerek lipid peroksidasyonunun başlamasını engeller. Tokoferoksil radikalinin α -tokoferole indirgenmesinde görev alır ve LDL'yi oksidasyona karşı korur (Carr ve Frei, 1999).

Glutatyon

(GSH), karaciğerde glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptittir. GPx, GR ve GST enzimlerinin substratı veya ko-substratıdır. Protein yapısında bulunan sülfidril (-SH) gruplarının yükseltgenmesini önleyerek birçok proteinin ve enzimin aktivitesini göstermesini sağlar. Oksidatif hasara karşı peroksit ve serbest radikaller ile reaksiyona girer (Öztürk ve diğ., 2001).

Ürik asit, insan ve gelişmiş primatlarda pürin metablozmasının son ürünüdür. Normal plazma konsantrasyonlarında antioksidan olarak etki göstererek süperoksit, peroksil ve hidroksil radikallerini temizler. Demir ve bakır iyonlarını bağlayarak etkisizleştirir (Senyelli, 1999).

Bilirubin hemoglobinin metabolizasyonu sırasında meydana gelen ürünlerdendir. Mikromolar konsantrasyonda olduğu durumlarda dahi peroksil radikalini yakalar ve zincir kıran etki ile antioksidan özellik gösterir (Gürsoy, 2008).

Albumin kanda serbest yağ asitlerinin ve bilirubinin taşıyıcısıdır. Yapısındaki sülfidril grubu aracılığı ile bakır iyonlarını bağlayarak, proteinlerin hasara uğramasını engeller (Senyelli, 1999).

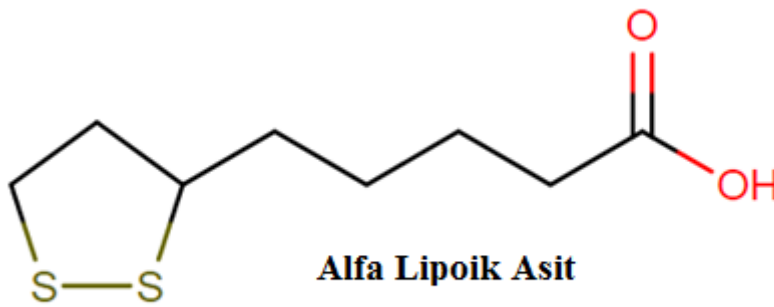
Dolaşımda serbest olarak bulunan demir, demir bağlayıcı kan plazma glikoproteinleri tarafından bağlanarak fenton reaksiyonlarının meydana gelmesini engeller (Halliwell,1989).

Organizmadaki, iki değerlikli demirin üç değerlikli demire yükseltgenmesi seruloplazmin tarafından engellenerek ,yerek fenton reaksiyonu inhibe edilir (Crichton, 2001).

2.5. ALFA LİPOİK ASİT

Alfa lipoik asit (ALA) diğer ismiyle tiotik asit vücutta düşük miktarda sentezlenir ve bazı besin maddelerinde bulunur. Yağda ve suda çözünebilir, serbest radikallerin hasarını önleyen güçlü bir antioksidan maddedir. ALA, mitokondriyal enzim komplekslerindeki spesifik proteinlere kovalent bağla bağlanmaktadır (Karaca, 2009).

ALA, sekiz karbonlu bir moleküldür. İçerdiği beşli halka yapısında iki sülfür atomu ve bir karboksilik asit grubu bulundurur (Şekil 2.4). Bu disülfid yapıdan dolayı tiyol bileşikleri grubunda yer alır (Atmaca, 2003). Ana rolü Krebs döngüsündeki dehidrojenaz enziminin kofaktörü olarak işlev göstermesidir (Packer ve diğ., 1995).



Şekil 2.4: Alfa lipoik asidin kimyasal formülü.

Alfa lipoik asidin iki formu oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarıyla birbirlerine transforme olabilirler (Gözükara, 1989). Redükte formu dihidrolipoik asit (DHHLA), okside formu ALA olarak bilinir. ALA ve aktif indirgenmiş formu olan DHHLA reaktif oksijen türlerini baskılayarak oksidatif stresi engellemektedir (Jiang ve diğ., 2008). ALA ve DHHLA, vücutta kolay emilebildiklerinden, metallere sabit kompleksler oluşturarak vücuttaki ağır metalleri elimine ettikleri için çok etkili antioksidan maddeler olarak bilinmektedirler (Packer ve diğ., 1995). ALA, hipokloröz asit ve hidroksil radikallerini vücuttan elimine edebilirken, peroksil ve süperoksit radikallerine etkisi çok azdır. DHHLA peroksil radikal ürünlerini de elimine ederek lipid peroksidasyonunu engelleyebilmektedir (Coleman ve diğ., 2001).

Bu çalışmada, valproik asit ile meydana getirilen lens doku hasarına karşı alfa lipoik asidin koruyucu etkisinin olup olmadığı biyokimyasal yöntemler ile araştırıldı.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. DENEYLERDE KULLANILAN ALET VE CİHAZLAR

Buzdolabı	: Arçelik
Derin Dondurucular	: New-Brunswick Scientific-76 °C, Beko-20 °C
Destile Su Cihazı	: Brand MonoDest 3000
Etüv	: Nüve FN 500
Homojenizatör	: Cam Homojenizatör
pH Metre	: Beckman pH Meter H5
Santrifüj Cihazı	: Denley BS400
Soğutmalı Santrifüj	: Sigma Laboratory Centrifuges 3K30
Sonikatör	: Bandelin Sonorex
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-Vis Spectrophotometers 1240
Su Banyoları	: Clifton, Memmert
Teraziler	: Mettler H10, Radwag AS220/C/2 Terazi, Radwag XA 60/220/X terazi, Gec Avery Terazi
Vorteks	: Fisons Whirlimixer

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Glutasyon (GSH) miktar tayininde, metafosforik asit (Carlo Erba 407465), etilendiamintetraasetik asit sodyum tuzu (EDTA $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$; Merck 2604134), sodyum klorür (NaCl; Merck 6400), trisodyum sitrat dihidrat ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$; Merck 6432), 5'5'- ditiyobis-2-nitro benzoik asid (DTNB; Fluka 43760), sekonder sodyum fosfat (Na_2HPO_4 ; Merck 106586), glutasyon (GSH; Fluka 49750) maddeler kullanıldı.

Lipid peroksidasyonu (LPO) miktar tayininde, triklorasetik asit (TCA; Riedel de H en 27242), sodyum hidroksit (NaOH; Merck 6462), 2-tiyobarbitürik asit (TBA; Merck 108180), 1,1,3,3-tetra etoksi propan (Sigma T9889) ve n-butanol (Merck 101990) kullanıldı.

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayininde, tampon  ozelti için sekonder sodyum fosfat (Na_2HPO_4 ; Merck 106586), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 ; Merck 105101), etilendiamintetraasetik asit (EDTA $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 2604134), riboflavin (Sigma 47861) ve o-dianisidin hidroklorür (Fluka 33430) kullanıldı.

Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi tayininde, tampon  ozelti için dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4 ; Merck A116773847), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 ; Merck 105101) kullanıldı. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 2604134), sodyum azid (NaN_3 ; Sigma 71289), glutasyon (GSH; Fluka 49750), indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid 2' fosfat tetrasodyum tuzu (NADPH; Sigma N1630), glutasyon redüktaz (GR; Sigma G3664) ve H_2O_2 (Merck 1080600) kullanıldı.

Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi tayininde, tampon  ozelti için Tris-HCl ($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3\text{HCl}$; Merck 108387), etilendiamintetraasetik asit (EDTA $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; Merck 2604134), indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid 2'fosfat tetrasodyum tuzu (NADPH; Sigma N1630) ve okside glutasyon (GSSG; Sigma G45776) kullanıldı.

Glutasyon-S-transferaz aktivitesi tayininde, tampon  ozelti için sekonder sodyum fosfat (Na_2HPO_4 ; Merck 106586), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 ; Merck 105101), glutasyon (GSH; Fluka 49750) ve 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB; Fluka 24440) kimyasal maddeler kullanıldı.

Protein karbonil (PC) miktar tayininde, 2,4-dinitrofenil hidrazin (DNPH; Merck 3081), hidroklorik asit (HCl; Merck 100314), triklorasetik asit (TCA; Riedel de H en 27242), guanidin hidroklorür (Fluka 50940), etanol (Riedel de H en 32221) ve etilasetat (Merck 822277) kullanıldı.

Aldoz redüktaz miktar tayininde, tampon  ozelti için sekonder sodyum fosfat (Na_2HPO_4 ; Merck 106586), potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4 ; Merck 105101) kullanıldı. İndirgenmiş nikotin amid adenin dinükleotid fosfat tetrasodyum tuzu (NADPH; Sigma N1630), DL-gliseraldehid (Sigma G5001), sorbitol dehidrojenaz miktar tayininde, tampon  ozelti için Tris-

HCl ($C_4H_{11}NO_3HCl$; Merck 108387), β -NAD⁺ (Sigma 43410), MgCl₂ (Fluka 63065) ve Sorbitol (Merck 7758) gibi kimyasal maddeler kullanıldı.

Total protein tayininde, sodyum karbonat (Na_2CO_3 ; Riedel de Haen 13418), sodyum hidroksit (NaOH; Merck 6462), dipotasyum tartarat ($C_4H_4K_2O_6 \cdot 0,5 \cdot H_2O$; Merck 5160), bakır sülfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$; Panreac), sodyum tungstat (Merck 106673), sodyum molibdat (Merck 6521), fosfat asidi (H_3PO_4 ; Merck 4967293), hidroklorik asit (HCl; Merck 100314), lityum sülfat ($LiSO_4 \cdot H_2O$; Merck 5695), brom (Merck 1945) ve sodyum klorür (NaCl; Merck 6400) kullanıldı.

3.3. DENEY HAYVANLARI

Çalışmada rastgele dört gruba ayrılmış olan 6 aylık Sprague Dawley türü 28 adet dişi sıçanlar kullanıldı.

Grup 1: Kontrol Grubu	(n=7)
Grup 2: Alfa-Lipoik asit verilen sıçanlar	(n=7)
Grup 3: Deney grubu : Valproik asit verilen sıçanlar	(n=7)
Grup 4: Valproik asit + Alfa-lipoik asit verilen sıçanlar	(n=7)

Kontrol Grubu: 15 gün boyunca 1 mL zeytin yağı verilen grup.

Alfa Lipoik Asit Grubu: 15 gün boyunca sadece alfa lipoik asit (50 mg/kg) verilen grup.

VPA grubu: 15 gün boyunca sadece VPA verilen grup (0.5 g/kg).

VPA+Alfa lipoik asit grubu: Aynı doz ve süre ile VPA+ALA verilen grup

3.4. LENS HASARI OLUŞTURULMASI

Çalışmamızda lens hasarı oluşturmak amacıyla valproik asit kullanıldı. Lens hasarı üzerindeki etkilerini araştırmak üzere ise, sıçanlara antioksidan bir madde olan alfa-lipoik asit verildi. 1.grubu oluşturacak sıçanlar kontrol grubu olarak kullanıldı ve bu gruptaki sıçanlara 1 mL intraperitonel olarak enjekte edildi. 2.grubu oluşturacak sıçanlara 15 gün süre ile intraperitonel olarak deney süresi boyunca sabah 09:00-10:00 saatleri arasında (50 mg/kg) ALA enjekte edildi. 3.grubu oluşturacak sıçanlara (deney grubu) 15 gün süre ile 0.5 g/kg VPA enjekte edildi. 4.grubu oluşturacak sıçanlara 15 gün süre ile aynı dozda VPA ve ALA verildi.

3.5. DOKU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Deneyin 16. gününde 1 gece öncesinden aç bırakılmış tüm sıçanlar sakrifiye edilerek kesildiler. Kesilen sıçanların gözleri çıkartıldı. Gözler serum fizyolojik içinde deney gününe kadar -80 °C derin dondurucuda bekletildiler.

3.6. LENS DOKU HOMOJENİZATININ HAZIRLANMASI

Gözden çıkarılan lens doku örnekleri tartıldı. Lens doku örnekleri cam homojenizatörde %0.9' luk serum fizyolojik ile homojenize edildi. %10'luk (w/v) lens dokusu homojenizatları hazırlandı. Homojenizatlar 10.000 rpm'de +4⁰ C'de 10 dakika santrifüje edildi. Elde edilen lens dokusu homojenizatları ependorflara konuldu ve deney gününde kullanılmak üzere -80⁰ C'de saklandı.

3.7. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTARI TAYİNİ

Ellman metoduna göre lens dokusunda glutatyon miktar (GSH) tayini yapıldı (Beutler, 1975). Sülfidril grupları ile Ellman ayırıcı ile reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli ürünün spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda absorbans değeri okundu.

Kullanılan Çözeltiler

Çöktürme Çözeltisi

1.67 g m-fosforik asid, 0.2 g etilendiamintetraasetik asit disodyum veya etilendiamintetraasetik asit dipotasyum ve 30 g sodyum klorür distile suda çözüldü. Elde edilen çözelti distile su ile 100 mL' ye tamamlandı. Çözelti 3 hafta +4⁰ C' de dayanıklıdır.

Sodyum Sitrat Çözeltisi (%1)

1 g sitrik asidin sodyum tuzu distile suda çözüldü ve çözelti 100 mL'ye tamamlandı. Ellman ayıracı hazırlanırken, sodyum sitrat çözeltisi kullanıldı.

Belirtme Reaktifi (Ellman Ayıracı) Çözeltisi (%40 mg DTNB)

40 mg 5-5'-ditiyo-bis-2-nitro benzoik asit (DTNB) yukarıda hazırlanılışı açıklanan sitrik asidin sodyum tuzu çözeltisinde çözüldü ve hacmi bu çözelti ile 100 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan Ellman ayıracı +4°C' de 13 hafta dayanıklıdır.

Sekonder Sodyum Fosfat Çözeltisi (0.3 M)

4.26 g Na₂HPO₄ distile suda çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Glutatyon Standart Çözeltisi

100 mg glutatyon (GSH) distile suda çözüldü ve hacmi 100 mL 'ye tamamlandı. Hazırlanan bu stok çözeltiden 1, 2.5, 5, 7.5, 10 mg GSH/ 100 ml olacak şekilde standart çözeltiler hazırlandı ve glutatyon standart eğrisi çizildi.

Deneyin Yapılışı

0.5 mL doku homojenizatu bir deney tüpüne konularak üzerine 0.75 mL çöktürme çözeltisi ilave edildi. Tüp iyice karıştırıldı ve 4000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüje edildi. Süpernatant ayrılarak çökelti atıldı. Daha sonra numune, kör, standart tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Çözeltiler	Numune	Standart	Kör
Süpernatant	0.5 mL	----	----
Distile Su	----	----	0.5 mL

Çalışma Standart Çözeltisi	----	0.5 mL	----
Sekonder Sodyum Fosfat Çözeltisi	2 mL	2 mL	2 mL
Belirtme Reaktifi (DTNB) Çözeltisi	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Tüpler vortekste iyice karıştırıldı. Daha sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi. Absorbans değerleri 412 nm' de köre karşı okundu. Lens dokusunda glutasyon miktar tayini aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Doku Glutasyon (GSH) Miktarı (nmol GSH/mg protein)} = \frac{N_{\text{abs}}}{\text{Std}_{\text{abs}}} \times A \times 2.5 / 307.3 \times 10^6 / P$$

N_{abs} : Numune absorbansı

Std_{abs} : Standart absorbansı

A = % mg standart konsantrasyonu

P = % mg doku protein miktarı

307.3: Glutasyonun molekül ağırlığı

3.8. LENS DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Lens dokusunda süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Mylorie ve diğ. (1986) tarafından geliştirilen yöntem ile tayin edildi.

Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (50 mM) (pH 7.8)

0.708 g Na_2HPO_4 distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 0.680 g KH_2PO_4 distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. pH 7.8 olan tamponu hazırlamak için 9 hacim Na_2HPO_4 ve 1 hacim KH_2PO_4 alınarak karıştırıldı.

Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) Çözeltisi (0.1 mM)

0.0037 g EDTA tartılarak 50 mM pH 7.8 olan sodyum-potasyum fosfat tamponu içinde çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (10 mM) (pH 7.5)

0.0355 g Na_2HPO_4 bir miktar distile suda çözülerek hacmi 25 mL'ye tamamlandı. 0.0340 g KH_2PO_4 bir miktar distile suda çözülerek hacmi 25 mL'ye tamamlandı. pH 7.8 olan tampon çözelti hazırlamak için 8 hacim Na_2HPO_4 ve 2 hacim KH_2PO_4 alınarak karıştırıldı.

Riboflavin Çözeltisi (0.2 mM)

1.825 mg riboflavin tartılarak, 10 mM pH 7.5 sodyum-potasyum fosfat tamponu ile çözüldü ve hacmi 25 mL'ye tamamlandı.

o-Dianisidin Hidroklorür Çözeltisi

19 mg o-dianisidin tartılarak 10 mL distile suda çözüldü.

SOD (120 IU /mL) Stok Standardı

SOD standardı 120 IU/mL olacak şekilde soğuk distile suda çözüldü. Bu stok standart çözeltiden 2, 4, 6, 8, 10 ünite olacak şekilde SOD standart çözeltileri hazırlandı. Deney tüpleri aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde hazırlanarak standartların absorbans değerleri spektrofotometrik olarak 460 nm'de okundu. Daha sonra absorbans ve konsantrasyon değerlerine göre standart eğrisi grafiği çizildi.

Deneyin Yapılışı

Numune, kör ve standart tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Standart	Numune
Sodyum-Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi	2.7 mL	2.6 mL	2.6 mL

o-Dianisidin Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Standart	---	0.1 mL	---
Doku Homojenizatu	---	---	0.1 mL
Riboflavin Çözeltisi	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL

Hazırlanan tüpler vortekste iyice karıştırıldı. 460 nm’de spektrofotometrik olarak ilk absorbans değerleri okundu. İlk okuma yapıldıktan sonra tüpler floresans ışık altında 8 dakika bekletildi; bekleme sonunda 460 nm’de köre karşı ikinci absorbans değerleri okundu.

Doku homojenizatının SOD aktivitesi, standart eğri grafiği yardımıyla (U/mg protein, dak.) cinsinden hesaplandı.

3.9. LENS DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU MİKTARI TAYİNİ

Ledwozyw metoduna göre lens dokusunda lipid peroksidasyonu tayin edildi. LPO ürünleri olan malondialdehit ile tiyobarbiturik asit arasındaki tepkime sonucuda meydana gelen pembe kırmızı rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirildi (Ledwozyw ve diğ., 1986).

Kullanılan Çözeltiler

1.22 M TCA Çözeltisi

48.83 g TCA, 0.6 M HCl’ de çözüldü ve 250 mL’ye 0.6 M HCl ile tamamlandı.

1 M NaOH

1 g NaOH distile suda çözülerek hacmi distile su ile 25 mL’ye tamamlandı.

Tiyobarbiturik Asit Çözeltisi (TBA)

500 mg tiyobarbitürük asit, 6 mL 1 M NaOH ve 69 mL bidestile su içerisinde çözüldü.

Standart Çözeltisi (4.4 nmol/mL 1,1,3,3-tetra etoksi propan)

0.1 mL 1,1,3,3-tetraetoksi propan distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.

n-Butanol

Direkt orijinal şişeden kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

Numune, standart ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

REAKTİFLER	TÜPLER		
	Numune	Standart	Kör
Doku Homojenizati	0.5 mL	----	----
TCA Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler vortekste karıştırılıp 15 dk beklendi.			
Standart Çözeltisi	----	0.5 mL	----
Distile Su	----	----	0.5 mL
TBA Çözeltisi	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL

Tabloya göre hazırlanan tüpler vortekste iyice karıştırıldı. Ağızları cam bilye ile kapatılarak 30 dakika boyunca kaynar su banyosunda bekletildi. Tüpler soğutulduktan sonra üzerlerine 2 mL n-butanol eklenerek 40-50 kez alt üst edildi. Daha sonra 10 dakika santrifüje edildi. Butanol fazı alınarak spektrofotometrede 532 nm'deki absorbans değerleri köre karşı okundu.

Lipid peroksidasyonu tayini aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{LPO Miktarı (nmol MDA / mg protein)} = \text{Nabs/ Std abs} \times 4.4 / P$$

N_{abs} : Numune absorbansı

Std_{abs} : Standart absorbansı

4.4 = Standart Çözeltisi (nmol/ mL tetraetoksi propan)

P= % mg cinsinden doku protein miktarı

3.10. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTE TAYİNİ

Glutasyon peroksidaz (GP_x) aktivitesi, Wendel (1981) yöntemine göre tayin edildi. H_2O_2 varlığında glutasyon peroksidaz, GSH'ın okside glutatyonla yükseltgenmesini katalizler. Bu reaksiyonlar sırasında NADPH'nın $NADP^+$ ye yükseltgenmesi ile oluşan absorbans azalışı spektrofotometrik olarak 366 nm dalga boyunda ölçülür ve GP_x aktivitesi hesaplanır (Wendel, 1981).

Kullanılan Çözeltiler

Potasyum Fosfat Tamponu (0.25 M)

4.35 g K_2HPO_4 bir miktar distile suda çözülerek hacmi 100 mL' ye tamamlandı. 3.4 g KH_2PO_4 bir miktar distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı. pH 7.0 tamponu için 6 hacim K_2HPO_4 ve 4 hacim KH_2PO_4 olacak şekilde karıştırıldı. 2.5 mM EDTA (0.093 g) ve 2.5 mM NaN_3 (0.0162 g) tartılarak pH'ı 7.0 olan çözeltiliye karıştırıldı.

GSH Çözeltisi (10 mM)

0.003 g GSH distile su ile çözülerek hacmi 1 mL' ye tamamlandı. Deneyden hemen önce taze hazırlandı.

NADPH Çözeltisi (2.5 mM)

0.002 g NADPH distile su ile çözülerek hacmi 1mL'ye tamamlandı. Deneyden hemen önce taze hazırlandı.

Glutasyon Redüktaz (6 U/L)

Deneyden hemen önce fosfat tamponu (0.25 M, pH 7.0) ile seyreltildi.

H₂O₂ Çözeltisi (12 mM)

13.6 µL %30' luk H₂O₂ distile su ile 10 mL' ye tamamlandı. Deneyden hemen önce taze hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Fosfat Tamponu	600 µL	400 µL
Doku Homojenizatı	----	200 µL
GSH Çözeltisi	100 µL	100 µL
NADPH Çözeltisi	100 µL	100 µL
Glutasyon Redüktaz	100 µL	100 µL
H ₂ O ₂ Çözeltisi	100 µL	100 µL

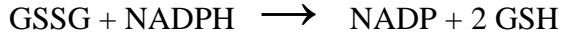
H₂O₂ ilave edilip karıştırıldıktan hemen sonra 5 dakika boyunca absorbanstaki azalma 366 nm' de kaydedildi. Ekstinksiyon katsayısı bu deney için 6.22 mM' dir. GP_x aktivitesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$GP_x \text{ Aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta OD / dk) / 6.22 \times 10^3 \times (V_T / V_Ö)] / \text{mg protein}$$

3.11. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTE TAYİNİ

Okside glutatyonun (GSSG) GR ile indirgenmesi sırasında yükseltgenen NADPH oranının hesaplanması yöntemin esasını oluşturur (Beutler, 1971).

GR



Kullanılan Çözeltiler

50 mM HCl Çözeltisi

5.16 mL 1M HCl çözeltisi distile su ile 100 mL'ye seyreltildi.

50 mM Tris Çözeltisi

0.62 g tris distile su ile çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

Tris-HCl Tamponu (50 mM, pH 8.0)

29 mL HCl çözeltisi ile 50 mL tris çözeltisi karıştırıldı ve pH 8' e ayarlandı. Hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlandı.

EDTA' lı Fosfat Tamponu (1 mM)

38 mg EDTA.Na₂.2H₂O Tris-HCl tamponu ile çözülerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

NADPH Çözeltisi (2 mM)

4 mg NADPH 2.5 mL Tris- HCl tamponu ile çözüldü. Hergün taze hazırlandı.

GSSG Çözeltisi (20 mM)

31 mg GSSG 2.5 mL Tris-HCl tamponu ile çözüldü. Hergün taze hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Tris-HCl Tamponu	870 µL	900 µL
NADPH Çözeltisi	50 µL	50 µL
GSSG Çözeltisi	50 µL	50 µL
Doku Homojenizati	30 µL	----

Absorbanstaki azalma 5 dakika boyunca 340 nm'de kaydedildi. Bu deneyde NADPH için belirlenmiş absorban katsayısı 6.22 olarak kullanıldı. Her bir örnek için GR aktivitesi yapılan seyreltmeler göz önüne alınarak aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{GR Aktivitesi (U/ mg protein)} = [(\Delta\text{OD}/ \text{dk}) / 6.22 \times (V_T / V_{\text{enzim}}) \times f] / \text{mg protein}$$

ΔOD : Absorbans farkı

3.12. LENS DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Lens dokusunda GST aktivitesi Habig ve Jacoby (1981) metoduna göre spektrofotometrik olarak tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

0.2 M Potasyum Fosfat Tamponu

0.2 M 100 mL K_2HPO_4 ve 0.2 M 100 mL KH_2PO_4 hazırlandı ve tampon pH 6.5'a ayarlandı.

Glutasyon Çözeltisi (GSH) (60 mM)

1 mL çözelti için 18.4 mg glutasyon tartıldı ve destile suda çözüldü. Hergün taze hazırlandı.

1-kloro-2,4-dinitrobenzen Çözeltisi (CDNB) (60 mM)

1 mL çözelti için 12.15 mg CDNB tartıldı ve absölu etanolde çözüldü. Hergün taze hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Doku Homojenizatu	0.5 mL	----
Fosfat Tamponu	1.5 mL	1.5 mL
GSH Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
CDNB Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
Distile Su	0.9 mL	1.4 mL

Tüpler yukarıda belirtildiği gibi hazırlandıktan sonra, 340 nm'de 3 dakika boyunca spektrofotometrik olarak absorbanst artışı kaydedildi.

GST aktivitesinin tayininde, ekstinksiyon katsayısı olarak glutatyon ve 1-kloro-2,4-benzenin reaksiyonu ile meydana gelen ürün için saptanmış olan $9.6 \text{ mm}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ molar absorpsiyon katsayısı kullanıldı. GST aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{GST Aktivitesi (U/ mg protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dk}) \times 0.625 \times f] / \text{mg protein}$$

ΔOD : Absorbans farkı

f: Seyreltme faktörü

3.13. LENS DOKUSUNDA SORBİTOL DEHİDROJENAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Sorbitol dehidrojenaz aktivitesi, Barretto ve Beutler (1975) metoduna göre spektrofotometrik yöntemle tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

Tris-HCl Tampon Çözeltisi (pH=8.0) (1M)

1M Tris çözeltisinden 50 mL alındı. Bu çözelti üzerine pH 8.0 olana kadar 1M HCl çözeltisinden ilave edildi. Çözeltinin hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

NAD⁺ Çözeltisi (50 mM)

33.16 mg NAD⁺ tartıldı. 1 mL distile suda çözüldü. Çözelti hergün taze olarak hazırlandı.

MgCl₂ Çözeltisi (100 mM)

20.33 mg MgCl₂ tartıldı. 1 mL distile suda çözüldü. Çözelti hergün taze olarak hazırlandı.

Sorbitol Çözeltisi (200 mM)

36.43 mg sorbitol tartıldı. 1 mL distile suda çözüldü. Çözelti hergün taze olarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
1 M Tris-HCl	100 µL	100 µL
NAD⁺ Çözeltisi	100 µL	100 µL
MgCl₂ Çözeltisi	100 µL	100 µL
Homojenizat	100 µL	----
Distile su	500 µL	600 µL
Yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan tüpler 37 ⁰ C 'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.		
Sorbitol Çözeltisi	100 µL	100 µL

Sorbitol çözeltisi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. 4 dakika boyunca 340 nm'de ve 37⁰ C'de absorbans artışı kaydedildi. Sorbitol dehidrojenaz aktivitesi U/mg protein cinsinden hesaplandı.

SDH Aktivitesi (U/mg protein) = $[\Delta\text{OD}/\text{dk} \times 6.2] \times V_T/V_N \times f / \text{mg protein}$

ΔOD : 0. ve 4. dakika arasındaki absorbans farkı

V_T = Toplam çözelti hacmi

V_N = Numune hacmi

f = Seyreltme faktörü

3.14. LENS DOKUSUNDA ALDOZ REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Aldoz redüktaz aktivitesi Hayman ve Kinoshita (1965) yöntemine göre tayin edildi.

Kullanılan Çözeltiler

Sodyum Potasyum Fosfat Tamponu (pH 6.2) (0.067 M)

0.067 M 100 mL çözelti hazırlamak için 0.951 g Na_2HPO_4 ve 0.911 g KH_2PO_4 tartıldı. Ayrı ayrı destile suda çözüldü. pH 6.2 olan tampon çözelti hazırlamak için 2 hacim Na_2HPO_4 ve 8 hacim KH_2PO_4 çözeltilerinden alınarak karıştırıldı.

NADPH Çözeltisi (0.25 mM)

1.04 mg NADPH tartıldı. 5 mL distile suda çözüldü. Çözelti hergün taze olarak hazırlandı.

DL-Gliseraldehit Çözeltisi (0.5 mM)

1.12 mg gliseraldehit tartıldı. 25 mL distile suda çözüldü. Çözelti hergün taze olarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Fosfat Tamponu	0.7 mL	0.7 mL
NADPH Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL
Homojenizat	0.1 mL	----
Distile su	----	0.1 mL
DL- Gliseraldehit Çözeltisi	0.1 mL	0.1 mL

Tüpler hazırlandıktan sonra 340 nm'de 3 dakika boyunca 30 saniye aralıklarla spektrofotometrik olarak absorbans değerleri kaydedildi. Aldoz redüktaz aktivitesi aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{Aldoz Redüktaz Aktivitesi (U/mg protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dk}) \times 6.22] / (V_T/V_N) \times f / \text{mg protein}$$

ΔOD = Absorbans farkı

V_T = Toplam çözelti hacmi

V_N = Numune hacmi

f = Seyreltme faktörü

3.15. LENS DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTARININ TAYİNİ

Doku PC miktarı spektrofotometrik olarak, 2,4-dinitro fenilhidrazinin karbonil grupları ile reaksiyona girerek 2,4-dinitro fenil hidrazonu oluşturmasına bağlı olarak belirlendi. Dokuda protein karbonil miktar tayini, Levine ve diğ. yöntemine göre yapıldı (1990).

Kullanılan Çözeltiler

DNPH (2,4-Dinitrofenilhidrazin) (10 mM)

0,198 g DNPH tartılarak 100 mL 2.5 M HCl'de çözüldü.

HCl Çözeltisi (2.5 M)

%37'lik derişik HCl çözeltisinden 51.81 mL alınarak distile su ile 250 mL'ye hacim tamamlandı.

Triklor Asetik AsitÇözeltisi (%20)

20 g triklor asetik asit tartıldı. Hacim 100 mL'ye distile suda çözümlenerek tamamlandı.

6 M Guanidin- HCl Çözeltisi

57.318 g Guanidin-HCl tartılarak distile suda çözüldükten sonra hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

EtOH-EtAC (1:1)

1:1 oranında %96'lık etil alkol ve etil asetat karıştırılarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Homojenizat	0.5 mL	0.5 mL
10 mM DNPH Çözeltisi	2 mL	----
2.5 M HCl Çözeltisi	----	2 mL
Tüpler karıştırıldı. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 1 saat bekletildi. 15 dakikada bir vorteks ile karıştırıldı.		
%20 TCA Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL

Tüpler karıştırıldıktan sonra 5 dakika boyunca buzun içinde bekletildi. Daha sonra santrifüj edildi. Üst faz atıldıktan sonra çökelti 3'er kez 2 mL EtOH-EtAC ile yıkandı. Tüplere 1 mL guanidin-HCl ilave edildi ve 37°C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra 370 nm'de spektrofotometrik olarak okuma yapıldı.

Protein karbonil için sonuçlar aşağıdaki formül ile hesaplandı.

Protein Karbonil Miktarı (nmol protein karbonil/mg protein) = Abs×90.9/mg protein

Abs: Absorbans değeri

3.16. LENS DOKUSUNDA TOTAL PROTEİN MİKTAR TAYİNİ

Total protein miktarı Lowry metodu kullanılarak tayin edildi (Lowry ve diğ., 1951). Proteinlerin yapısındaki aromatik halka içeren amino asitler Folin reaktifi (fosfo molibdo tungstik asid) ile mavi renk oluştururlar. Bu yöntem amino asitlerin fosfo molibdo tungstik asidi indirgemeleri prensibine dayanmaktadır. Reaksiyon sonucunda oluşan mavi rengin spektrofotometrede verdiği absorbans değeri ile protein konsantrasyonu doğru orantılıdır.

Kullanılan Çözeltiler

A Reaktifi : Na₂CO₃ (%2)

0.1 N NaOH; 4 g NaOH tartılarak distile suda çözüldü ve hacmi 1 litreye tamamlandı.

%2 Na₂CO₃; 2 g Na₂CO₃ tartıldı ve 0.1 N NaOH çözeltisinde çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

B Reaktifi : CuSO₄.5H₂O (%0.5)

%1 dipotasyum tartarat; 1 g dipotasyum tartarat az miktarda distile suda çözüldü ve 100mL'ye hacmi tamamlandı.

%0.5 CuSO₄.5H₂O ; 0.05 g CuSO₄.5H₂O tartılarak %1'lik dipotasyum tartarat çözeltisinde çözüldü ve hacmi 10 mL'ye tamamlandı. B reaktifi hergün taze hazırlandı.

C Reaktifi

A reaktifinin 50 mL'si ile B reaktifinin 1 mL'si karıştırılarak hazırlandı. C reaktifi yarım saat dayanmaktadır, bu nedenle her kullanılışta yeniden hazırlandı.

E Reaktifi

1500 ml'lik cam balona 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat, 700 ml destile su, 50 ml %85'lik fosfat asidi ve 100 ml derişik HCl konuldu. 10 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatıldı. 150 g LiSO₄, 50 mL distile su ve birkaç damla brom ilave edildi. Bromun fazlasını uzaklaştırmak için 15 dakika kaynatıldı ve soğutulduktan sonra hacmi distile su ile 1 litreye tamamlandı.

Folin reaktifi olan bu stok, 1:2 oranında destile su ile seyreltikten sonra denemelerde kullanıldı.

Total protein miktarını spektrofotometrik olarak tayin etmek için %100 mg albumin ihtiva eden stok çözelti hazırlandı. Bu stok çözelti serum fizyolojik ile seyreltilerek % 5, % 10, % 15, % 20 ve % 25 mg albumin içeren çalışma standartları hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune	Standart
Standart Çözeltisi	----	----	0.5 mL
Süpernatant	----	0.5 mL	----
Serum fizyolojik	0.5 mL	----	----
C reaktifi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL
Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra 10 dakika bekletildi.			
E reaktifi	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Kör, numune ve standart tüpleri yukarıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı. Tüpler vortekste karıştırıldı ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Absorbans değerleri 500 nm’de köre karşı spektrofotometrik olarak okundu. % mg protein miktarları standart eğri yardımıyla hesaplandı.



4. BULGULAR

Çalışmamızda, VPA ile oluşturulan lens hasarında alfa lipoik asidin sıçan lens dokusu üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için lens dokularında çeşitli biyokimyasal parametreler incelendi. Elde edilen sonuçlar tablolar halinde, Tablo 4.1-4.4 arasında verildi.

Çalışmamızda, lens glutatyon ve süperoksit dismutaz aktivite değerleri Tablo 4.1’de gösterildi.

Tablo 4.1: Kontrol ve deney grubu sıçanlarına ait glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) değerleri.

Gruplar	GSH (nmol GSH/mg protein)*	SOD (U/mg protein)*
Kontrol	14.19 ± 3.96	3.387 ± 0.420
Kontrol + Alfa Lipoik Asit	13.51 ± 2.33	2.943 ± 0.690
VPA	7.09 ± 3.31 ^a	7.364 ± 1.754
VPA + Alfa Lipoik Asit	11.29 ± 2.68 ^b	2.326 ± 0.541 ^c
P_{ANOVA}	0.010	0.002

*Ortalama ± Standart sapma

^aP < 0.05 kontrol grubuna göre

^bP < 0.05 VPA grubuna göre

^cP < 0.005 VPA grubuna göre

Elde edilen verilere göre, tüm gruplara ait lens GSH değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edildi ($P_{ANOVA} = 0.010$). VPA verilen gruba ait lens GSH seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, GSH değerlerinde anlamlı olarak azalma meydana geldiği bulundu ($^aP < 0.05$). VPA grubuna alfa lipoik asid uygulanması ile VPA grubuna ait GSH değerlerinde ise anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.1).

Tüm gruplara ait SOD aktiviteleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu görüldü ($P_{ANOVA}=0.002$). Kontrol grubu ile VPA uygulanan grubun SOD aktivite değerleri karşılaştırıldığında, VPA grubunun SOD aktivitelerinde anlamsız bir artış olduğu gözlemlenirken, VPA grubuna alfa lipoik asid uygulanması bu gruba ait SOD aktivite değerlerinde anlamlı bir azalma meydana geldiği görüldü ($^cP < 0.005$) (Tablo 4.1).

Çalışmamızda tüm gruplara ait lens dokusu lipid peroksidasyonu ve glutatyon peroksidaz aktivite değerleri Tablo 4.2’de verildi.

Tablo 4.2: Kontrol ve deney grubu sıçanlara ait lens lipid peroksidasyon (LPO) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivite değerleri.

Gruplar	LPO (nmol MDA/mg protein)*	GPx (U/mg protein)*
Kontrol	0.36 ± 0.201	0.87 ± 0.15
Kontrol + Alfa Lipoik Asit	0.54 ± 0.206	1.74 ± 0.19 ^c
VPA	1.137 ± 0.187 ^a	1.89 ± 0.40 ^a
VPA + Alfa Lipoik Asit	0.227 ± 0.129 ^b	0.80 ± 0.27 ^d
P_{ANOVA}	0.0001	0.0001

*Ortalama ± Standart sapma

^aP < 0.005 kontrol grubuna göre

^bP < 0.0001 VPA grubuna göre

^cP < 0.0001 kontrol grubuna göre

^dP < 0.005 VPA grubuna göre

Dört gruba ait LPO değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, tüm gruplar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Kontrol grubu ile VPA grubu LPO değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, VPA grubuna ait LPO değerlerinde anlamlı bir artış olduğu görüldü ($^aP < 0.005$). VPA + alfa lipoik asid grubunun LPO değerleri ise VPA grubuna göre anlamlı olarak azalma gösterdi ($^bP < 0.0001$) (Tablo 4.2).

Dört gruba ait GPx aktiviteleri karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.0001$). Elde edilen verilere göre, alfa lipoik asid uygulanan kontrol grubuna ait GPx aktivitelerinde anlamlı bir artış meydana geldi ($^cP < 0.005$). VPA uygulanan gruba ait GPx aktivite değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bu gruba ait enzim aktivitesinde anlamlı bir artış olduğu saptandı ($^aP < 0.005$). VPA grubu ile VPA + alfa lipoik asid gruplarına ait GPx aktiviteleri karşılaştırıldığında, enzim aktivitesinde anlamlı bir azalma meydana geldiği tespit edildi ($^dP < 0.005$) (Tablo 4.2). Çalışmamızda kontrol ve deney gruplarına ait glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz aktivite değerleri Tablo 4.3'de belirtildi.

Tablo 4.3: Kontrol ve deney grubu sıçanlara ait lens glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-S-transferaz (GST) aktivite değerleri.

Gruplar	GR (mU/mg protein)*	GST (mU/mg protein)*
Kontrol	0.38 ± 0.05	16.98 ± 4.73
Kontrol + Alfa Lipoik Asit	0.56 ± 0.21	14.28 ± 6.62
VPA	0.60 ± 0.08 ^a	10.28 ± 3.38 ^a
VPA + Alfa Lipoik Asit	0.39 ± 0.05 ^b	17.35 ± 5.42 ^b
P_{ANOVA}	0.119	0.101

*Ortalama ± Standart sapma

^aP < 0.05 kontrol grubuna göre

^bP < 0.05 VPA grubuna göre

Tüm gruplara ait GR aktiviteleri birbiri ile karşılaştırıldı ($P_{ANOVA}=0.119$). VPA grubuna ait GR aktiviteleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bu gruba ait GR aktivitelerinde anlamlı bir artma tespit edildi ($^aP < 0.05$). VPA grubuna alfa lipoik asid uygulanması, bu aktivite değerlerini anlamlı olarak tersine çevirdi ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.3).

Kontrol ve VPA gruplarına ait GST aktivite değerleri birbiri ile karşılaştırıldığında, VPA grubunun GST aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlenirken ($^aP < 0.05$), VPA grubuna alfa lipoik asid uygulanması ile GST aktivite değerleri anlamlı olarak arttı ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.3). Çalışmamızda tüm gruplara ait aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrojenaz aktiviteleri ile protein karbonil seviyeleri Tablo 4.4'de verildi.

Tablo 4.4: Kontrol ve deney grubu sıçanlara ait lens aldoz redüktaz (AR) ve sorbitol dehidrojenaz (SDH) aktiviteleri ile protein karbonil (PC) seviyeleri.

Gruplar	AR (U/mg protein)*	SDH (mU/mg protein)*	PC (nmol karbonil/mg protein)*
Kontrol	0.0022 ± 0.001	0.12 ± 0.04	2.25 ± 0.01
Kontrol+ Alfa Lipoik Asit	0.0024 ± 0.001	0.22 ± 0.09	1.94 ± 0.13
VPA	0.0057 ± 0.0014 ^a	0.28 ± 0.07 ^c	2.72 ± 0.16 ^c
VPA + Alfa Lipoik Asit	0.0038 ± 0.001 ^b	0.17 ± 0.08	1.85 ± 0.33 ^b
P_{ANOVA}	0.001	0.136	0.002

*Ortalama ± Standart sapma

^aP < 0.0001 kontrol grubuna göre

^bP < 0.05 VPA grubuna göre

^cP < 0.05 kontrol grubuna göre

Dört gruba ait AR aktiviteleri birbiri ile karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulundu ($P_{ANOVA} = 0.001$). Elde edilen verilere göre, kontrol ve VPA grubuna ait AR aktiviteleri karşılaştırıldığında, AR aktivitelerinin VPA grubunda arttığı tespit edildi ($^aP < 0.0001$). VPA grubuna alfa lipoik asid uygulanması bu aktivite değerlerini tersine çevirdi ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.4).

Kontrol grubu ile VPA grubuna ait enzim aktiviteleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, SDH aktivitesinin VPA grubunda arttığı bulundu ($^cP < 0.05$). Alfa lipoik asid uygulanan VPA grubuna ait SDH aktivitelerinde ise anlamsız bir azalma meydana geldiği tespit edildi (Tablo 4.4).

Kontrol ve deney gruplarına ait PC seviyeleri birbirleri ile karşılaştırıldığında, gruplar arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu belirlendi ($P_{ANOVA} = 0.002$). Elde edilen sonuçlara göre, VPA uygulanan gruba ait PC seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artarken ($^cP < 0.05$), VPA grubuna alfa lipoik asid uygulanması, bu grubun PC seviyelerinde anlamlı bir azalma meydana getirdi ($^bP < 0.05$) (Tablo 4.4).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi dünyada en çok görülen kronik nörolojik hastalıklardan biridir. Halk arasında sara hastalığı denilen bu hastalık çocukluk ve ergenlik çağında görülür. Her yaş grubunda görülmesine rağmen, genellikle en genç ve en yaşlı kişilerde görülen nörolojik bir hastalıktır.

Epilepsi remisyona girmeyen (hastalık aktivitesinin bulunmadığı durumlar) hastaların uzun süreli olarak antiepileptik ilaç kullanmak zorunda kaldıkları kronik bir hastalıktır.

Epilepsi hastalığının tedavisinde valproik asit, fenitoin, karbamazepin gibi ilaçlar kullanılır. Antiepileptik ilaçların uzun yıllar etkin dozlarda kullanılması önemli yan etkileri beraberinde getirmektedir. Günümüzde epilepsi tedavisinde kullanılan antiepileptik ilaçların yan etkileri bulunmaktadır.

Antiepileptik ilaç kullanımının akut döneminde aşırıduyarlılık reaksiyonları ortaya çıkan yan etkilerdir. Kronik etkiler birçok şekilde ortaya çıkabilir ve yan etkilerin saptanması güç olabilmektedir.

Hastaların VPA kullanımı sırasında mide barsak sisteminde yan etki olarak hazımsızlık, bulantı ve kusma görülebilir. Dozla ilişkili olarak hastaların karaciğer enzimleri yükselir. Karaciğerde hepatotoksite oluşabilir (Shakya ve diğ., 2018; Guo ve diğ., 2019; Haznedar ve diğ., 2019). VPA miktarı ile ilgili olarak titreme, uyuşukluk, ataksi, aşırı kılınma, saç dökülmesi ve saç renginin değişimi gibi yan etkiler ortaya çıkar. 20 yaşın altındaki epilepsi hastalarının kullanımı ile polikistik over, hiperandrojenemi, menstrüel disfonksiyon görülebilir (Davis ve diğ., 1994).

Valproik asidin vücutta oluşturduğu hasarı önlemek için çeşitli deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda çeşitli antioksidan özelliğe sahip bileşikler veya çeşitli bitki ekstraktları kullanılmıştır. Bu çalışmalar agmatin (Ahmed ve diğ., 2018), çinko ve selenyum (Ahangar ve diğ., 2017), edaravon (Emekli-Alturfan ve diğ., 2015; Oktay ve diğ., 2015, Oktay ve diğ., 2016), B6 vitamini (Tunali, 2014; Zhou ve diğ., 2017), U vitamini (Sokmen ve diğ., 2012; Tunali ve diğ., 2015, Gezginci-Oktayoglu ve diğ., 2016), kuersetin (Chaudhary ve diğ., 2015), resveratrol (Oirique ve diğ., 2016a), pazı (Üstündağ ve diğ., 2016), taurin (Doğru-Abbasoğlu ve diğ., 2001), doymamış yağ asitleri (Li ve diğ., 2018), folik asit ve pantotenik asit (Dawson ve diğ., 2006), E vitamini (Oirique ve diğ., 2016)' dir.

GSH başta karaciğerde olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan ve glutamik asit, sistein ve gilislin amino asitlerinden sentezlenen bir tripeptiddir (Anderson ve Meister, 1989). GSH ve glutatyona bağlı olan enzimler antioksidan olarak ve detoksifikasyon sistemlerinde önemli rol oynarlar.

Lenste glutasyon major antioksidandır. H₂O₂ ve organik peroksitleri glutasyon peroksidaz enzimini kofaktör olarak rol aldığı reaksiyonlarla detoksifiye ederek antioksidan etki gösterir. Hücre membranında bulunan kolesterol ve doymamış yağ asitlerinin ROS ile reaksiyonu sonucunda lipit peroksitleri oluşur. Oluşan lipit peroksitleri hücresel komponentler üzerine toksik etki gösterirler (Kavas, 1994).

Doku hasarlarında ve çeşitli maddeler ile oluşturulan toksite deneylerinde kan ve doku glutasyon miktarının azaldığı tespit edilmiştir (Tunali ve diğ., 2019; Turkyılmaz ve diğ., 2019). VPA ile oluşturulan lens hasarında (Tunali ve diğ., 2015) ve karaciğer hasarında (Sokmen ve diğ., 2012) doku GSH değerinin azaldığı görülmüştür. 14 gün boyunca günde 500 mg/kg VPA verilen sıçanların karaciğerlerinde GSH düzeylerinin azaldığı Abdel ve diğ. (2014) tarafından ileri sürülmüştür (Abdel-Dayem ve diğ., 2014). Cakmak ve Yanardag (2015) tarafından VPA ile oluşturulan karaciğer hasarında, karaciğer GSH miktarının azaldığı bulunmuştur. Çalışmamızda VPA ile oluşturulan lens hasarında GSH düzeyinin azaldığı saptanmıştır. Lens GSH düzeyinin azalması oksidatif stresin artışına bağlı olarak GSH düzeyinin azaldığını bize göstermektedir. Sıçanlara güçlü ve etkili bir antioksidan madde olan alfa lipoik asit verilmesi ile GSH düzeyinin artması bize oksidatif stresin önlendiğini göstermektedir.

Lenste yüksek miktarda bulunan GSH değerinin koruyucu olarak görev yaptığı ve antioksidan özellik gösterdiği belirtilmektedir (Tok ve diğ., 2014).

LPO akciğer, kalp hasarı, kanser, ateroskleroz, karaciğer hastalıkları, inflamasyon, hiperlipidemi, diyabet gibi hastalıklarda hücresel hasarın temel belirtisi olarak kabul edilir (Horton ve Fairhurst, 1987).

Çalışmamızda VPA verilen sıçanların lens dokusunda LPO miktarının arttığı saptandı. VPA grubuna alfa lipoik asit verdiğimizde LPO miktarının azaldığı bulunmuştur. Lipoik asidin hücre içi ROS'ların pek çoğunun radikalik etkisini azaltarak oksidatif stresle reaksiyona girdiğini ve oksidatif stresin etkisini azalttığını gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur (Sahin ve diğ., 2017; Delbogo ve diğ., 2019).

Hagen ve arkadaşları diyetle aldıkları alfa lipoik asit uygulamasının yaşlı sıçanlarda artan MDA düzeyini azalttığını ileri sürmüşlerdir (Hagen ve diğ., 1999). Alfa lipoik asidin apikal periodontiteye bağlı kalp yaralanmasına karşı koruyucu etki gösterdiği Sehirli ve diğ. (2019) tarafından ortaya konulmuştur.

Veljkovic ve diğ. (2012) kadmiyum ve toksik etki oluşturan bir çalışmada alfa lipoik asit uygulamasının böbrek dokusunda LPO oluşumunu önlediğini ileri sürmüşlerdir. Karaciğer hücrelerinin mitokondrilerinde Methotrexate ile oluşturulan oksidatif strese lipoik asidin artan LPO miktarını azalttığı ileri sürülmüştür (Tabassum ve diğ., 2010).

CAT, SOD, GPx, GR ve GST hücrelerde reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan savunma sistemini oluşturan enzimlerdir. Reaktif oksijen türlerinin artması bu enzimlerin aktivasyonunun azalmasına neden olmaktadır (Brown ve Borutaite, 2006). SOD enzimi antioksidan savunmada ilk sırayı alır. Süperoksit radikalının H_2O_2 'e dismutasyonunu gerçekleştirir. Hücreleri oksijen radikallerinin zararlı etkilerinden koruyan ve serbest radikallere karşı savunmayı gerçekleştiren antioksidan bir enzimdir. Yapılan çalışmalarda SOD aktivitesinin VPA uygulanan sıçanlarda azaldığı Hamza ve El-Shenawy (2017) tarafından ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda SOD aktivitesinin VPA uygulanan sıçanlarda (Gezginci-Oktayoğlu ve diğ., 2016; Oktay ve diğ., 2016), diyabette (Sacan ve diğ., 2016), pentilentetrazol ile oluşturulan epilepsi modellerinde (Bayrak, 2015), arttığı veya azaldığı gösterilmiştir. Lityum karbonat ile oluşturulan böbrek hasarında (Ben Saad ve diğ., 2016) ve etanol ile oluşturulan karaciğer ve böbrek toksisitesinde de SOD aktivitesinin azaldığı görülmüştür (Kamoun ve diğ., 2017). Pipenger ve diğ., (1989) uzun süreli VPA alan hastaların eritrositlerindeki SOD aktivitesinin azaldığını, Yis ve diğ., (2009), epilepsi hastası olan çocukların eritrosit SOD aktivitelerinde artış olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yüksel ve diğ., (2000), 13 aylık bir periyotta valproat alan hastaların eritrositlerinde SOD aktivitelerinin arttığını rapor etmişlerdir. Ayrıca yine epileptik çocuklara uygulanan VPA'nın SOD aktivitesini azalttığı, Sobeniec ve diğ. (2006) tarafından öne sürülmüştür. Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanların lenslerinde SOD aktivitesinin arttığı saptanmıştır. Antioksidan bir madde olan alfa lipoik asit verildiğinde artmış olan SOD aktivitesinin azaldığı görülmüştür.

Glutasyon ve glutatyona bağlı enzimler antioksidan ve zehirsizleştirme özelliklerinden dolayı organizmada oluşan hasarları önlerler (Ketterer, 1988).

Çalışmamızda VPA verilen sıçanların lens dokusundaki GPx ve GR aktivitelerinin arttığı bulunmuştur. Alfa lipoik asit uygulanması ile bu enzim aktivitelerinde azalma olduğu saptanmıştır. GST aktivitesinin VPA verilen sıçanların lens dokusunda azaldığı görülürken, alfa lipoik asit verildiğinde arttığı saptanmıştır. Günümüzde organizmada oluşan toksiteye ve karsinojen hasara karşı organizmayı korumak için çeşitli antioksidanların ve besin maddelerinin alınması gereklidir. Vitaminler organizmada oluşan reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırılabirler.

Aldoz redüktaz enzimi poliyol yolağının ilk enzimidir. Retina, lens ve vasküler hücrelerde bulunur. Aldoz redüktaz enziminin aktivasyonu ile sorbitol düzeyi artarak osmolariteyi artırır bu durumda lens içerisinde su akışının artmasına neden olur. Hücrenin membran geçirgenliği ve Na miktarı artarken, K miktarı azalır. Bu durumda katarakt oluşumuna sebep olan elektrolit dengesinin bozulmasına neden olur (Kyselova ve diğ., 2004; Mansour 2007).

Poliyol yolağının aktivasyonu sonucu hücrede NADPH konsantrasyonu azalır ve oksidatif stres meydana gelir (Kubo ve diğ., 1999; Browlee, 2001). Epitel hücrelerde meydana gelen antioksidan savunma sisteminin baskılanması ve yükseltgenmeler sonucu oluşan zararlı maddeler lens proteinlerinin zarar görmesine ve donuklaşmasına neden olurlar (Erdem, 2010).

Tunali ve diğ. (2015), VPA verilen sıçanlarda AR aktivitesinin arttığını öne sürmüşlerdir VPA verilen sıçanlara B6 vitamini ve U vitamini verilmesi ile aldoz redüktaz enziminin aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Tunali, 2014; Tunali ve diğ., 2015).

Aldoz redüktaz aktivitesinin azalması lens dokusunda oluşan hasarın önlendiğini bize göstermektedir. VPA ile ilgili olarak yapılan diğer bir çalışmada VPA verilen sıçanların lens dokusunda AR aktivitesinin arttığı, bu sıçanlara Edaravon verilmesi ile artan AR aktivitesinin azaldığı saptanmıştır (Alabak ve diğ., 2016).

Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanların lenslerinde AR aktivitesinin arttığı görülmüştür. VPA grubuna verilen alfa lipoik asidin lens AR aktivitesini azalttığı ve lenste oluşan hasarın önlendiğini bize göstermektedir.

Sorbitol dehidrojenaz enzimi poliol yolağının ikinci ve son enzimidir. Koenzim NAD⁺ varlığında sorbitol ve fruktoz arasındaki dönüşümlü oksidasyon-redüksiyon reaksiyonunu

katalizlemektedir (Lindstad ve diğ., 2013). Diyabette (Umar Imam ve diğ., 2019) karaciğer ve böbrekte sorbitol dehidrojenaz aktivitesinin arttığı saptanmıştır.

VPA verilen sıçanların karaciğer ve lens dokusunda sorbitol dehidrojenaz enziminin arttığı öne sürülmüştür (Sokmen ve diğ., 2012; Tunali ve diğ., 2015). Bu sıçanlara U vitamini verildiğinde dokularda artmış olan sorbitol dehidrojenaz enzim aktivitesinin azaldığı saptanmıştır. STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda lenste artan sorbitol dehidrojenaz aktivitesinin glisin verilmesi ile azaldığı saptandı (Bahmani ve diğ., 2012).

Lens dokusunda sorbitol dehidrojenaz aktivitesinin VPA verilmesi sonucunda arttığı, edaravon verilmesi ile azaldığı Alabak (2016) tarafından saptanmıştır. Çalışmamızda lens dokusunda VPA verilmesi ile poliyol yolağının bir enzimi olan SDH enzim aktivitesinin arttığı bulunmuştur. VPA verilen bu sıçanlara alfa lipoik asit verilmesi ile SDH aktivitesinin azalması hasar gören lens dokusunun hasarının önlendiğini bize göstermektedir.

Çeşitli toksik maddelerin organizmaya alınması ile serbest radikallerin proteinlerle etkileşimi neticesinde histidin, arjinin, prolin, lizin, sistein ve glisin gibi çok sayıda amino asit kalıntılarında ve peptit zincirlerinde oluşan oksidatif hasar sonucunda proteinlerin karbonil türevleri oluşur (Levine, 2002).

Oksidatif stresin erken aşamasında oluşan ve dolaşımda uzun süre kalabilen PC, proteinlerin oksidasyonunun güvenilir bir marker'ıdır (Massy ve Nguyen-Khau, 2002). Serbest radikaller proteinlerin tiyol (-SH) gruplarının oksidasyonuna yol açarak oksidatif protein hasarına neden olur (Takenaka ve diğ., 1991).

Radikallere bağlı protein hasarının belirtisi tiyol gruplarının disülfidlere ve oksidasyon asitlere dönüşümüdür. Yapısında -SH grupları olan biyolojik tiyoller oksidanlarla indüklenen proteinlerin inaktivasyonuna ya direkt olarak radikallerle reaksiyona girerek ya da indirekt olarak proteinlerdeki serbest tiyol grupları ile geri dönüşümlü bağlar oluşturarak önlerler.

VPA verilen sıçanların PC değerlerinin artması proteinlerin oksidasyonuna neden olduğunu ve buna bağlı olarak lenste hasar meydana geldiğini bize göstermektedir. Çalışmamızda VPA'nın oluşturduğu lens hasarında alfa lipoik asidin koruyucu etkisinin görülmesi, epilepsi hastalığının tedavisinde alfa lipoik asidin epilepsi tedavisine katkı sağlayabileceğini bize göstermektedir.

Sonuç olarak, VPA ile oluşturulan lens hasarında alfa lipoik asidin lens üzerinde koruyucu etkisi olduğu bulunmuştur. Alfa lipoik asidin lens dokusu üzerinde koruyucu etkisinin olması VPA kullanan epilepsi hastalarının tedavisinde bir alternatif yaklaşım olabileceği ve tedaviye katkı sağlayabileceği görülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdel-Dayem, M.A., Elmarakby, A.A., Abdel-Aziz, A.A., Pye, C., Said, S.A., El-Mowafy, A.M., 2014, Valproate-induced liver injury: modulation by the omega-3 fatty acid DHA proposes a novel anticonvulsant regimen, *Drugs in R&D*, 14, 85-94.
- Adams, R.D., Victor, M., Ropper, A.H., 2001, *Epilepsy and disorder of consciousness*, Principles of Neurology, In: Adams R.D., Victor M., Ropper A.H. (ed.), Chapter 4, McGraw Hill Medical Books, New York, 329-404.
- Ahangar, N., Naderi, M., Noroozi, A., Ghasemi, M., Zamani, E., Shaki, F., 2017, Zinc deficiency and oxidative stress involved in valproic acid induced hepatotoxicity: protection by zinc and selenium supplementation, *Biological Trace Element Research*, 179, 102-109.
- Ahmed, N., Aljuhani, N., Al-Hujaili, H.S., Al-Hujaili, M.A., Elkablawy, M.A., Noah, M.M., Abo-Haded, H., El-Agamy, D.S., 2018, Agmatine protects against sodium valproate-induced hepatic injury in mice via modulation of nuclear factor- κ B/inducible nitric oxide synthetase pathway, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32, e22227.
- Aicardi, J., Guerrini, R., Arzimaoglu, A., 2007, Aicardi'nin Çocuklarda Epilepsi, In: Dervent A., Eşkazan E. (ed.), İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 354-378.
- Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yayınları, Konya, 3-25.
- Alabak, H., 2016, *Valproik asid ile oluşturulan lens hasarına edaravon'un etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Aminoff, M.J., 1992, Aminoff's Electrodiagnosis in Clinical Neurology ,Churcill Livingstone Inc., USA, 41-91.
- Anderson, M.E., Meister, A., 1989, Glutathione monoesters, *Analytical Biochemistry*, 183, 16-20.
- Apaydın, C., 2001, *Anatomi*, Temel Göz Hastalıkları, In: Aydın, P., Akova, Y.A. (ed.), Güneş Kitabevi, Chapter 1, Ankara, 3-25.
- Arıncı, K., Elhan, A., 1997, *Anatomi*, Güneş Kitabevi, Ankara, 446-466.
- Atagün, B., 2016, *Epilepsi hastaları ve epilepsi dışında kalan nörolojik hastaları ve sağlıklı bireylerin internet, sigara ve alkol bağımlılığı açısından karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Atmaca, G., 2003, Sarımsağın ve tiyol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri, *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 20, 54-60.

- Aysun, S., 1994, Epilepsi tedavisi, *Katkı Pediatri Dergisi*, 15, 529-552.
- Bahmani, F., Bathaie, S.Z., Aldavood, S.J., Ghahghaei, A., 2012, Glycine therapy inhibits the progression of cataract in streptozotocin-induced diabetic rats, *Molecular Vision*, 18, 439-448.
- Barretto, O.C., Beutler, E., 1975, The sorbitol-oxidizing enzyme of red blood cells, *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 85, 645-649.
- Başmak, H., 2005, *Lens, Gözün Anatomisi ve Fiziyojisi*, In: Ekem, N.(ed.), Chapter 12, Esen Ofset Matbaacılık, Eskişehir, 107-112.
- Bayrak, G., 2015, *Sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulan epilepsiye U vitamininin etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Bebin, M., Neurol, J.C., 2002, Pediatric partial and generalized seizures, *Journal of Child Neurology*, 17, 65-69.
- Ben Saad, A., Rjeibi, I., Brahmi, D., Smida, A., Neib, S., Zouari, N., Zourgui, L., 2016, Malva sylvestris extract protects upan lithium carbonate-induced kidney damages in male rat, *Biomedicine Pharmacotherapy*, 84, 1099-1107.
- Bengisu, Ü., 1990, *Göz hastalıkları*, 3. Baskı, Beta basım yayın dağıtım A.Ş., İstanbul, 10, 118-132, 208.
- Berg, A.T., Shinnar, S., 1994, Relapse following discontinuation of antiepileptic drugs: a meta analysis, *Neurology*, 44, 601-608.
- Berkovic, S.F., 2005, Treatment with anti epileptic drugs, *Australian Family Physician*, 34, 1017-1020.
- Beutler, E., 1971, *Red cell metabolism. A manuel of biochemical methods*, 12th Academic Press., London, 68-70.
- Beutler, E., 1975, *Glutathione in: Red cell metabolism. A manual of biochemical methods*, 2nd ed., Grune and Stratton, New York, USA, 112-114.
- Bora, İ., Taşkapılıoğlu, Ö., 2003, Epilepsi tedavisinde yeni yönelimler, *Epilepsi*, 9, 91-102.
- Borazan, M., 2003, *Sodyum selenitle oluşturulan deneysel katarakt modelinde resrevatrolün etkisi*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Bottje, W., Enkvetchakul, B., Moore, R., McNew, R., 1995, Effects of α -tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers, *Poultry Science*, 74, 1356-1369.
- Bradley, W.G., Daroff, R.B., Fenichel, G.M., Jankovic, J., 2008, *Neurology in Clinical Practice*, 5. Edition, Elsevier, 1910.

- Brodie, M.J., Perucca, E., Ryvlin, P., Ben-Menachem, E., Meencke, H.J., 2007, Comparison of levetiracetam and controlled-release carbamazepine in newly diagnosed epilepsy, *Neurology*, 68, 402-408.
- Brown, G.G., Borutaite, V., 2006, Interactions between nitric oxide, oxygen, reactive oxygen species, *Biochemical Society Transactions*, 34, 953-956.
- Browlee, M., 2001, Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications, *Nature*, 414, 813-820.
- Burton, B.S., 1882, On the propyl derivatives and decomposition of ethylacetoacetate, *American Chemical Journal*, 3, 385-395.
- Cakmak, N.H., Yanardag, R., 2015, Edaravone: a free radical scavenger, protects liver against valproic acid induced toxicity, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80, 627-637.
- Carr, A.C., Frei, B., 1999, Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effect in humans, *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 1086-1107.
- Chadwick, D., Taylor, J., Johnson, T., 1996, Outcomes after seizure recurrence in people in well controlled epilepsy and the factors influence it, *Epilepsia*, 37, 1043-1050.
- Chaudhary, S., Ganjoo, P., Raiusddin, S., Parvez, S., 2015, Nephroprotective activities of quercetin with potential relevance to oxidative stress induced by valproic acid, *Protoplasma*, 252, 209-217.
- Chesnut, R.M., Marshall, L.F., Klauber, M.R., 1993, The role of secondary brain injury in determining outcome from severe head injury, *The Journal of Trauma*, 34, 216-222.
- Coleman, M.D., Eason, R.C., Bailey, C.J., 2001, The therapeutic use of lipoic acid in diabetes: a current perspective, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 167-172.
- Cotlier, E., 1987, *The lens*, Adler's physiology of the eye, In: Moses, R.A., Hart, W.M. (ed.), The CV mosby company st. louis, Washington, Toronto, 268-290.
- Crichton R., 2001, *Inorganic biochemistry of iron metabolism: from molecular mechanisms to clinical consequences*, John Wiley & Sons Ltd.
- Çakınel, T., 1992, *Suda eriyen dana lensi proteinleri üzerine kalsiyum ve glukozun etkileri*, Doktora tezi, İstanbul Üniveristesi.
- Çam, H., 2007, *Sıçanlarda aspirin ile uyarılan gastritin önlenmesinde kafeik asit fenetil esterinin etkinliğinin araştırılması*, Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Dam, M., 1990, Comprehensive epileptology, In: Dam M., Gram, L. (ed.), Mc Grow-Hill, New York, Raven Press, 34-40.

- Danysh, B.P., Duncan M.K., 2009, The lens capsule, *Experimental Eye Research*, 88, 151-164.
- Davis, R., Peter, D.H., McTavish, D., 1994, Valproic acid. A reappraisal of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy, *Drugs*, 47, 332-372.
- Davson, H., 1990, *The lens*, Davson's physiology of the eye, Macmillan press, London, 139-192.
- Dawson, J.E., Raymond, A.M., Winn, L.M., 2006, Folic acid and pantothenic acid protection against valproic acid-induced neural tube defects in CD-1 mice, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 211, 124-132.
- Day, I.N.M., Thopson, R.J., 1984, Levels of immunoreactive aldolase C, creatine kinase-BB, neuronal and nonneuronal enolase and 14-3-2 protein in circulating human blood cells, *Clinica Chimica Acta*, 136, 219-228.
- De Bittencourt, P.R., Adamolekun, B., Bharucha, N., 1996, Epilepsy in the tropics: I. Epidemiology, socioeconomic risk factors, and etiology, *Epilepsia*, 37, 111-112.
- Deckers, C.L., Genton, P., Sills, G.J., Schmidt, D., 2003, Current limitations of antiepileptic drug therapy: a conference review, *Epilepsy Research*, 53, 1-17.
- De La Cruz, J.P., Villalobos, M.A., Sedeno, G., Sanchez De La C.F., 1998, Effect of propofol on oxidative stress in an in vitro model of anoxia-reoxygenation in the rat brain, *Brain Research*, 800, 136-144.
- Delgobo, M., Agnes, J.P., Gonçalves, R.M., Dos Santos, V.W., Parisotto, E.B., Zamoner, A., Zanutto-Filho, A., 2019, N-acetylcysteine and alpha-lipoic acid improve antioxidant defenses and decrease oxidative stress, inflammation and serum lipid levels in ovariectomized rats via estrogen-independent mechanisms, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 67, 190-200.
- Del Maestro, R.F., 1980, An approach to free radicals in medicine and biology, *Acta Physiologia Scandinavica Supplementum*, 492, 153-168.
- Demir, E., 2012, *Sıçanlarda radyasyonla oluşturulan katarakta lens dokusunda oksidan/antioksidan sistem üzerine çörek otu yağı, timokinon, propolis ve kafeik asit fenetil esterinin etkisinin araştırılması*, Doktora Tezi, Gaziantep Üniversitesi.
- Dilley, K.J., Harding, J., 1975, Changes in proteins of the human lens in development and aging, *Biochemica et Biophysica Acta*, 386, 391-408.
- Doğru-Abbasoğlu, S., Kanbağlı, O., Balkan, J., Cevikbaş, U., Aykaç-Toker, G., Uysal, M., 2001, The protective effect of taurine against thioacetamide hepatotoxicity of rats, *Human & Experimental Toxicology*, 20, 23-27.
- Emekli-Alturfan E., Alev, B., Tunali, S., Oktay, S., Tunali-Akbay, T., Ozturk, L.K., Yanardag, R., Yarat, A., 2015, Effects of edaravone on cardiac damage in valproic acid induced toxicity, *Annals of Clinical Laboratory Science*, 45, 166-172.

- Erdem, A., Karatas, A., Kutlu, G., Savas, A., Serdaroglu, A., Bilir, E., 2002, Epilepsy and surgery, *Journal of Neurological Sciences*, 19, 1-11.
- Erdem, O., 2010, *Bazı yeni indol türevlerinin aldoz redüktaz enzim aktivitesi üzerine etkileri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Ertem, D.H., 2012, *Mezial temporal lob epilepsili ve juvenil miyoklonik epilepsili hastalarda psikiyatrik komorbidite ve yaşam kalitesi üzerine etkisinin araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman RuhSağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- Eskazan, E., 2008, *Tarihte Epilepsi ve Epileptolojinin Kısa Tarihçesi*, Epilepsi, In: Bora, I., Yeni, N.S., Gurses, C. (ed.), Nobel Tıp Kitabevleri, 1-12.
- Fish, B.J., 2002, *Fish and spehlmann's EEG Primer*, 2nd ed., New York.
- Fisher, R.S., Van Emde Boas, W., Blume, W., 2005, Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE), *Epilepsia*, 46, 470-472.
- Floyd, R.A., 1990, Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia, *The FASEB Journal*, 4, 2587-2597.
- Floyd, R.A., 1992, *DNA damage and repair in Oxidative Damage and Repair*, In: Davies, K.J.A. (ed.), Pergamon Press, 32,175-180.
- Gaeta, L.M., Tozzi, G., Pastore, A., Federici, G., Piemonte, F., 2002, Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subject, *Clinica Chimica Acta*, 322, 117-120.
- Gezginci-Oktayoglu, S., Turkyılmaz, I.B., Ercin, M., Yanardag, R., Bolkent, S., 2016, Vitamin U has a protective effect on valproic acid-induced renal damage due to its anti-oxidant, anti-inflammatory, and anti-fibrotic properties, *Protoplasma*, 253, 127-135.
- Girotti, A.W., 1998, Lipid hydroperoxide generation turnover and effector action in biological systems, *Journal of Lipid Research*, 39, 1529-1542.
- Goldenson, E.S., 1997, *Historical perspective*, Epilepsy, In: Engel, J., Pedly, T.A. (eds.), Lippincott-Raven, Philadelphia, 15-36.
- Goodman, L.S., Gilman, A., 2001, *The pharmacological basis of therapeutics*, In: Hardman, J.G., Limbird, L.E. (eds.), McGraw Hill, USA, 521-547.
- Gözükara, E.M., 1989, *Biyokimya*, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi yayınları, Malatya, 845-848.
- Gram, L., Bentsen, D.K., 1985, Valproate, an updated review, *Acta Neurologica Scandinavica*, 72, 129-139.

- Grant, R.H.E, Barot, M., 1975, The use of sodium valproate (Epilim) in severely handicapped patient with epilepsy. Clinical and pharmacological aspects of sodium valproate (epilim) in treatment of epilepsy, *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 1, 14-22.
- Guo, H.L., Jing, X., Sun J.Y., Hu, Y.H., Xu, Z.J., Nie, M.M., Chen, F., Lu, X.P., Qiu, J.C., Wang, T., 2019, Valproic acid and the liver injury in patients with epilepsy: an update, *Current Pharmaceutical Design*, doi:10.2174/1381612825666190329145428.
- Gutteridge, J.M.C., Halliwell, B., 1991, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd ed., Oxford: Clarendon Press, 1-276.
- Gündoğan, F., 2018, *Gözün Yapısı*, <https://gozdoktor.net/gozun-yapisi/>, [Ziyaret Tarihi : 13 Mart 2019].
- Gürsoy, Ş., 2008, *Düzenli spor yapan öğrenci gruplarında egzersizin total antioksidan kapasite ve serum lipit profili üzerine etkisi*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Habig, W.H., Jacoby, W.B., 1981, Assays for differentiation of glutathione-S-transferases, *Methods of Enzymology*, 77, 398-405.
- Hagen, T.M., Ingersoll, R.T., Lykkesfeldt, J., Liu, J., Wehr, C.M., Vinarsky, V., Bartholomew, J.C., Ames, A.B., 1999, (R)-alpha-lipoic acid-supplemented old rats have improved mitochondrial function, decreased oxidative damage, and increased metabolic rate. *The FASEB Journal*, 13, 411-418.
- Haklar, G., Yüksel, M., Soybaşı, H., Yalçın, A.S., 1999, Süperoksit radikali, nitrik oksit ve peroksinitritin hasar oluşturucu metabolizmadaki rolleri, *Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1, 53-67.
- Halliwell, B., 1989, Tell me about free radicals, doctor: a review, *Journal of the Royal Society of Medicine*, 82, 747-752.
- Halliwell, B., 1994, Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutrition Reviews*, 52, 253-265.
- Halliwell, B., 2005, *Free radicals and other reactive species in disease*, John Wiley & Sons.
- Hamza, R.Z., El-Shenawy, N.S., 2017, The beneficial effects of l-cysteine on brain antioxidants of rats affected by sodium valproate, *Human & Experimental Toxicology*, 36, 1212-1221.
- Hatemi, H., Boyar, F., Korugan, Ü., 1983, *Diabetes Mellitus*, 1st ed., Dergah Yayınları, İstanbul, 1-13.
- Hauser, W.A., Rich, S.S., Lee, J.R., Annegers, J.F., Anderson, V.E., 1998, Risk of recurrent seizures after two unprovoked seizures, *The New England Journal of Medicine*, 338, 429-434.

- Hayman, S., Kinotshita, J.H., 1965, Isolation and properties of lens aldose reductase, *Journal of Biological Chemistry*, 240, 877-882.
- Haznedar, P., Doğan, Ö., Albayrak, P., Öz Tunçer, G., Teber, S., Deda, G., Eminoğlu, F.T., 2019, Effects of levetiracetam and valproic acid treatment on liver function tests, plasma free carnitine and lipid peroxidation in childhood epilepsies, *Epilepsy Research*, 153, 7-13.
- Herranz, J.L., Armijo, J.A., Arteaga, R., 1988, Clinical side effects of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine and valproate during monotherapy in children, *Epilepsia*, 29, 794-804.
- Horton, A.A., Fairhurst, S., 1987, Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity, *Critical Reviews in Toxicology*, 18, 27-79.
- Jiang, Y., Gong, D., Liu, H., Yang, C., Sun, Z., Kong, C., 2008, Ability of alpha-lipoic acid to reverse the diabetic cystopathy in a rat model, *Acta Pharmacologia Sinica*, 29, 713-719.
- Johansen, J.S., Harris, A.K., Rychly, D.J., Ergul, A., 2005, Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice, *Cardiovascular Diabetology*, 4, 1-11.
- Kamoun, Z., Kamoun, A.S., Bougatef, A., Kharrat, R.M., Youssfi, H., Boudawara, T., Chakroun, M., Nasri, M., Zeghal, N., 2017, Hepatoprotective and nephroprotective effects of sardinelle (*Sardinella aurita*) protein hydrolysate against ethanol-induced oxidative stress in rats, *Environmental Science and Pollution Research International*, 24, 1432-1441..
- Karaca, G., 2007, *Dietilnitrozamin verilen ratlarda alfa lipoik asidin koruyucu etkilerinin araştırılması*, Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Karaca, E.G., 2009, Lipoik Asit: Evrensel Antioksidan, *AKÜ-Fen Bilimleri Dergisi*, 8, 231-245.
- Karel, F., Aslan B.S., 2010, Temel Göz Hastalıkları, In: Aydın, P., Akova, Y.(eds.), Chapter 9, Güneş Kitabevi, Ankara, 191-204.
- Kavas, G.Ö., 1994, Reaktif oksijen metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım, *Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of The Faculty of Medicine)*, 47, 579-592.
- Kayaalp O., 1994, *Antiepileptikler*, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, Feryal Matbaacılık, Ankara, 2027–2052.
- Kayaalp S.O., Dalkara T., 2000, *Antiepileptik İlaçlar*, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, In: Kayaalp S.O. (ed.), Pelikan Yayıncılık, 68, 93-1076.

- Kehrer, J.P., Smith, C.V., 1994, Free Radicals in Biology: Sources, Reactivities and Roles in the Etiology of Human Diseases, In: Frei B.(ed.), Natural Antioxidants in Human Health and Disease, *San Diego: Academic Press*, 25-62.
- Keklikçi, U., Akpolat, V., Özekinci, S., Ünlü, K., Çelik, M.S., Tunik, S., 2008, Çok düşük frekanslı manyetik alanın ratlarda lens üzerine etkileri, *Dicle Tıp Dergisi*, 35, 249-253.
- Ketterer, B., 1988, Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis, *Mutation Research*, 202, 343-361.
- Kılınç, K., Kılınç, A., 2002, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri, *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33, 110-118.
- Kubo, E., Miyoshi, N., Fukuda, M., Akagi, Y., 1999, Cataract formation through the polyol pathway is associated with free radical production, *Experimental Eye Research*, 68, 457-464.
- Kusunoki, M., Yamamura, T., Ichii, S., Fujita, S., Nakai, T., Utsunomiya, J., 1988, The effects of sodium valproate on plasma somatostatin and insulin in humans, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 67, 1060-1063.
- Kuzsak, J.R., Brown, H.G., 1994, Embryology and anatomy of lens. In Principles and Practice of Ophthalmology: Basic Sciences, ed. D.M. Albert and F.A. Jakobiec. Philadelphia: Saunders, pp. 82-96.
- Kyselova, Z., Stefek, M., Bauer V., 2004, Pharmacological prevention of diabetic cataract, *Journal of Diabetes Complications*, 18, 129-140.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., Kadziolka, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis, *Clinica Chimica Acta*, 155, 275-283.
- Levine, R.L., 2002, Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease, *Free Radical Biology & Medicine*, 32, 790-796.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., Stantman, E.R., 1990, Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods in Enzymology*, 186, 464-478.
- Li, K., Li, J., Gu, J., Guo, X., Gao, T., Li, D., 2018, The protective effect of polyunsaturated fatty acid intake during pregnancy against embryotoxicity of sodium valproate in mice, *Food Function*, 9, 2634-2643.
- Lindstad, R.I., Teigen, K., Skjeldal, L., 2013, Inhibition of sorbitol dehydrogenase by nucleosides and nucleotides, *Biochemistry and Biophysical Research Communications*, 435, 202-208.

- Lo, W.K., Harding, C.V., 1983, Tight junctions in the lens epithelia of human and frog: freeze-fracture and protein tracer studies, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 24, 396-402.
- Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the folin phenol reagent, *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Macdonald, R.L., 1989, Antiepileptic drug actions, *Epilepsia*, 30 (Suppl-1), 19-28.
- Maczurek, A., Hager, K., Kenklies, M., Sharman, M., 2008, Lipoic acid as antiinflammatory and neuroprotective treatment for alzheimer's disease, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 1463-1470.
- Mansour, M.A., 2007, Aldose Reductase in the retina, *Current Enzyme Inhibition*, 3, 49-60.
- Massy, Z.A., Nguyen-Khoa, T., 2002, Oxidative stress and chronic renal failure: markers and management, *Journal of Nephrology*, 15, 336-341.
- Mates, J.M., Gomez, C., De Castro, I.N., 1999, Antioxidant enzymes and human diseases, *Clinical Biochemistry*, 32, 595-603.
- Miller, N., Sampson, J., Candeias, L.P., Bromley, P.M., Evans, A.R., 1996, Antioxidants activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Letters*, 384, 240-242.
- Miller, S.J.H., 1989, *Parson's Temel Göz hastalıkları Teşhis ve Tedavi*, In: Özçetin, H. (ed.), Chapter 1, Atlas Tıp Kitapçılık Tic. Ltd. Şti. Yayınları, Ankara, 3-15.
- Myloie, A.A., Coolins, H., Umbles, C., Kyle, J., 1986, Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats inserting lead acetate, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 512-520.
- Niedermeyer, E., Lopes da Silva F.H., 1993, *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications and related field*, 3rd edition, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia.
- O'Dwyer, P., 2008-2009, *Lens ve Katarakt*, The Eye M.D. Association, *American Academy of Ophthalmology*, Güneş Kitabevi, Ankara, 11, 5-9, 11-17.
- Oktay, S., Alev, B., Tunalı S., Emekli-Alturfan, E., Tunalı-Akbay, T., Koc-Ozturk, L., Yanardag, R., Yarat, A., 2015, Edaravone ameliorates the adverse effects of valproic acid toxicity in small intestine, *Human & Experimental Toxicology*, 34, 654-661.
- Oktay, S., Alev, B., Koc Ozturk, L., Tunalı, S., Demirel, S., Emekli Alturfan E., Tunalı-Akbay, T., Akyuz, S., Yanardag, R., Yarat, A., 2016, Edaravone ameliorates valproate-induced gingival toxicity by reducing oxidative-stress, inflammation and tissue damage, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20, 232-240.

- Olivero, D.K., Furcht, L.T., 1996, Type IV collagen, laminin, and fibronectin promote the adhesion and migration of rabbit lens epithelial cells, *Investigate Ophthalmology and Visual Science*, 34, 2825-2834.
- Onat, F., Eşkazan, E., 2008, *Antiepileptik ilaçlar*, Epilepsi, In: Bora İ., Yeni S.N., Gürses C. (eds.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 595-607.
- Öztürk, M., Güzelhan, Y., Sayar, K., Tüzün, Ü., 2001, Yaygın gelişimsel bozukluğu olan çocuklarda plazma malondialdehit ve glutasyon düzeylerinin araştırılması, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11, 155-159.
- Packer, L., Witt, E., Tritschler, H.J., 1995, Alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant, *Free Radical Biology & Medicine*, 19, 227- 250.
- Paglia, D.E., Valentine, W.N., 1967, Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70, 158-169.
- Panayiotopoulos, C.P., 2009, *A clinical guide to epileptic syndromes and their treatment*, 2nd ed., London: Springer, 565-620.
- Pınar, L.C., 2015, *Katarakt hastalarının lens ön kapsülünde I- Cam-1 ve Vimentin'in araştırılması*, Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi.
- Pieri, C., Recchioni, R., 1994, Melatonin: A peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E, *Life Sciences*, 55, 271-276.
- Pipenger, C.E., Meng, X., Von Lente, F., Rothner, A.D., 1989, Valproate therapy depresses GSH-Px and superoxide dismutase enzyme activity. A possible mechanism for VPA induced idiosyncratic drug toxicity, *Clinical Chemistry*, 35, 1173-1177.
- Qurique, G.M., Pês, T.S., Saccol E.M., Finamor I.A., Glanzner, W.G., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., Gonçalves, P.B., Barreto, K.P., 2016, Resveratrol prevents oxidative damage and loss on sperm motility induced by long-term treatment with valproic acid in Wistar rats, *Experimental Toxicologic Pathology*, 68, 435-443.
- Qurique, G.M., Saccol, E.M., Pês, T.S., Glanzner, W.G., Schiefelbein, S.H., Woehl, V.M., Baldisserotto, B., Pavanato, M.A., Gonçalves, P.B., Barreto, K.P., 2016, Protective effect of vitamin E on sperm motility and oxidative stress in valproic acid treated rats, *Food and Chemical Toxicology*, 95, 159-167.
- Raju, T.N., Kumar, C.S., Kanth, V.R., Ramana, B.V., Reddy, P.U., Suryanarayana, P., Reddy, P.G., 2006, Cumulative antioxidant defense against oxidative challenge in galactose-induced cataractogenesis in wistar rats, *Indian Journal of Experimental Biology*, 44, 733-739.
- Sacan, O., Turkyilmaz, I.B., Bayrak, B.B., Mutlu, O., Akev, N., Yanardag, R., 2016, Zinc supplementation ameliorates glycoprotein components and oxidative stress changes in the lung of streptozotocin diabetic rats, *Biometals*, 29, 239-248.

- Sahin, Z., Ozkaya, A., Yilmaz, O., Yuce, A., Gunes, M., 2017, Investigation of the role of α -lipoic acid on fatty acids profile, some minerals (zinc, copper, iron) and antioxidant activity against aluminum-induced oxidative stress in the liver of male rats, *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 28, 355-361.
- Sander, J.W.A.S., Shorvon, S.D., 1996, Epidemiology of the epilepsies, *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 61, 433-443.
- Savaşlı, Z., 2005., *Diabetik sıçan lens ve retinasında moleküler seviyede meydana gelen değişiklikler ve antioksidanların rolü*, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi.
- Schachter, S.C., 2002, Current evidence indicates that antiepileptic drugs are anti-ictal, not antiepileptic, *Epilepsy Research*, 50, 67-70.
- Shirli, A.Ö., Aksoy, U., Kermeoglu, F., Kalender, A., Savtekin, G., Ozkayalar, H., Sayiner, S., 2019, Protective effect of alpha-lipoic acid against apical periodontitis-induced cardiac injury in rats, *European Journal of Oral Sciences*, 17, 1-7.
- Senyelli, B., 1999, *İntraperitoneal Mitomisin C ile geliştirilen deneysel kolitte antioksidanların etkisi*, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
- Shahidi, F., 1996, Natural antioxidants, chemistry, health effects and applications, AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Shakya, R., Hoque, M.K., Sapkota, A.S., Gupta P.K., 2018, Differential hepatotoxic effects of sodium valproate at different doses in albino rats, *Kathmandu University Medical Journal*, 16, 78-82.
- Shorvon, S., Perucca, E., Fish, D., 2004, The treatment of Epilepsy, 2nd ed., Oxford: Blackwell Publishing, 528-558.
- Sies, H., 1991, Oxidative stress: from basic research to clinical application, *The American Journal of Medicine*, 91, 31-38.
- Sies, H., Stahl, W., Sundquist, A.R., 1992, Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669, 7-20.
- Sirven, J.I., Sperling, M., Wingerchuck, D.M., 2001, Early versus late antiepileptic drug withdrawal for people with remission in epilepsy, *The Cochrane Database Systematic Reviews*, (3):CD001902.
- Snell, R.S., Lemp, M.A., 1989, *Clinical Anatomy Of The Eye*, Oxford: Blackwell Scientific, 119-194.
- Sobaniec, W., Solowiej, E., Kulak, W., Bockowski, L., Smigielska-Kuzia, J., Artemowicz, B., 2006, Evaluation of the influence of antiepileptic therapy on antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in erythrocytes of children with epilepsy, *Journal of Child Neurology*, 21, 558-62.

- Sokmen, B.B., Tunali, S., Yanardag, R., 2012, Effects of vitamin U (S-methyl methionine sulphonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, *Food and Chemical Toxicology*, 50, 3562-3566.
- Sun, Z., Wang, X., Deng, X., Lasson, A., Soltesz, V., Borjesson, A., 2000, Beneficial effects of lexipafant, a PAF antagonist on gut barrier dysfunction caused by intestinal ischemia and reperfusion in rats, *Digestive Surgery*, 17, 57-65.
- Suryanarayana, P., Saraswat, M., Mrudula, T., Krishna, T.P., Krishnaswamy, K., Reddy, G.B., 2005, Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats, *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 46, 2092-2099.
- Suyadal, B.Y., 2007, *Fakoemülsifikasyon cerrahisi sırasında vitreus içine düşmüş lens parçaları olgularında pars plana vitrektomi sonuçları*, Uzmanlık tezi, Beyoğlu Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.
- Sütpak, E., 2007, *Diabetik sıçan lens ve kan dokusunda oluşan oksidatif stres ve antioksidan enzim düzeylerinin incelenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi.
- Şimşek, F., 2014, *Karbamazepin ve valproik asit monoterapisi alan epilepsi hastalarında serum karnitin ve adiponektin düzeyi*, Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi.
- Tabassum, H., Parvez, S., Pasha, S.T., Banerjee, B.D., Raisuddin, S., 2010, Protective effect of lipoic acid against methotrexate-induced oxidative stress in liver mitochondria, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1973-1979.
- Takenaka, Y., Miki, M., Yasuda, H., Mino, M., 1991, The effect of alpha-tocopherol as an antioxidant on the oxidation of membrane protein thiols induced by free radicals generated in different sites, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 285, 344-350.
- Tamçelik, N., Özçetin, H., 2004, *Fakoemülsifikasyon*, 1st ed., Fikret Özsan Matbaası, İstanbul.
- Taysi, S., Okumuş, S., Ezirmik, S., Uzun, N., Yılmaz, A., Akyüz, M., Tekelioğlu, Ü., Dirier, A., Al, B., 2011, The protective effects of L-carnitine and vitamin E in rat lenses in irradiation-induced oxidative injury, *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 20, 15-21.
- Tok, L., Nazıroglu, M., Dogan, S., Kahya, M.C., Tok, O., 2014, Effects of melatonin on Wi-Fi-induced oxidative stress in lens of rats, *Indian Journal of Ophthalmology*, 62, 12-15.
- Tunali, S., 2014, The effects of vitamin B6 on lens antioxidant system in valproic acid-administered rats, *Human & Experimental Toxicology*, 33, 623-628.
- Tunali, S., Kahraman, S., Yanardag, R., 2015, Vitamin U, a novel free radical scavenger, prevents lens injury in rats administered with valproic acid, *Human & Experimental Toxicology*, 34, 904-910.
- Tunali, S., Catal, T., Bolkent, S., Yanardag, R., 2019, The effects of vitamins and selenium mixture against brain tissue induced by D-galactosamine. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, e22347.

- Turkyilmaz, I.B., Coskun, Z.M., Bolkent, S., Yanardag, R., 2019, The effects of antioxidant combination on indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats, *Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France)*, 65, 76-83.
- Tuzcu, M., 2000, *Diyabet oluşturulmuş sıçanlarda serbest radikal reaksiyonlarının lensdeki rolü ve antioksidanlar*, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi.
- Türkdoğan, D., 2006, Epilepsi Tedavisi, Çocuk Nörolojisi, Türkiye Çocuk Nörolojisi Derneği, 373-385.
- Umar Imam, M., Ismail, M., George, A., Chinnappan, S.M., Yusof, A., 2019, Aqueous leaf extract of *Clinacanthus nutans* improved metabolic indices and sorbitol-related complications in type II diabetic rats (T2D), *Food Science & Nutrition*, 7, 1482-1493.
- Uğuz, Z., 1993, *Kısa süreli akut diyabet oluşturulmuş sıçanlarda lens glutasyonu, lens proteinlerinin non-enzimatik glikolizasyonu ve önemi*, Yüksek lisans tezi, M.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Urso, M.L., Clarkson, P.M., 2003, Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation, *Toxicology*, 189, 41-54.
- Ustundag, U.V., Tunali, S., Alev, B., Ipekci, H., Emekli-Alturfan, E., Tunali Akbay, T., Yanardag, R., Yarat, A., 2016, Effects of chard (*Beta Vulgaris* L. var. cicla) on cardiac damage in valproic acid-induced toxicity, *Journal of Food Biochemistry*, 40, 132-139.
- Veljkovic, A.R., Nikolic, R.S., Kocic, G.M., Pavlovic, D.D., Cvetkovic, T.P., Sokolovic, D.T., Jevtovic, T.M., Basic, J.T., Laketic, D.M., Marinkovic, M.R., Stojanovic, S.R., Djordjevic, B.S., Krsmanovic, M.M., 2012, Protective effects of glutathione and lipoic acid against cadmium-induced oxidative stress in rat's kidney, *Renal Failure*, 34, 1281-1287.
- Wendel, A., 1981, Glutathione peroxidase, *Methods in Enzymology*, 77, 325-333.
- Yeni, N., Bora, I., 2013, *Epilepsinin Tarihiçesi, Epidemiyolojisi ve Prognozu*, Nöroloji Temel Kitabı, In: Emre M. (ed.), Güneş Tıp Kitabevleri, 1035-1037.
- Yıldırım, M., 1996, *İnsan Anatomisi*, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., 252- 256.
- Yilmaz, H., Mavioglu, H., Tosun, C., Okudur, I., 2000, Epilepsi olgularımızın demografik ve klinik özellikleri: poliklinik tabanlı bir çalışma, *Düşünen Adam*, 13, 180-184.
- Yis, U., Seçkin, E., Kurul, S.H., Kuralay, F., Dirik, E., 2009, Effects of epilepsy and valproic acid on oxidant status in children with idiopathic epilepsy, *Epilepsy Research*, 84, 232-237.
- Yuksel, A., Cengiz, M., Seven, M., Ulutin, T., 2000, Erythrocyte glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and serum lipid peroxidation in epileptic children with valproate and carbamazepine monotherapy, *Journal of Basic and Clinical Pharmacology*, 11, 73-81.

Zhang, Y., Chen, Z., Girwin, M., Wong, T., 2005, Remifentanyl mimics cardioprotective effects of ischemic preconditioning via protein kinase c activation in open chest of rats, *Acta Pharmacology*, 200, 446-500.

Zhou, H., Wang, N., Xu, L., Huang, H.L., Yu, C.Y., 2017, Clinical study on anti-epileptic drug with B vitamins for the treatment of epilepsy after stroke, *European Review for Medicinal and Pharmacological Sciences*, 21, 3327-3331.



EKLER



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Yeşim ÖZTAYLAN
Doğum Yeri	Mersin
Doğum Tarihi	25.12.1990
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05342566616
E-Posta Adresi	yesim_oztayan@hotmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi
Bölümü	Kimya Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	25.08.2014

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Anabilim Dalı
Programı	Biyokimya Programı

Makale ve Bildiriler	