



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİPOİK ASİDİN, VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN  
TOKSİSİTEDE, KARACİĞERDE BAZI ANTİOKSİDAN VE  
OKSİDAN PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİNİN  
İNCELENMESİ**

SEDA GÜLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. AYŞEN YARAT

2016-İSTANBUL



### TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Programın seviyesi : Yüksek Lisans  
Anabilim Dalı : Eczacılık Fakültesi Biyokimya  
Tez Sahibi : Seda Güler  
Tez Başlığı : Lipoik asidin, valproik asit ile oluşturulan toksisitede, karaciğerde bazı antiosidan ve oksidan parametreler üzerine etkisinin incelenmesi  
Sınav Yeri : Diş Hekimliği Fakültesi Biyokimya Bilim Dalı  
Sınav Tarihi : 23/09/2016

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Ayşen Yarat	M.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi- Biyokimya	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof.Dr.Ebru Işık Alturfan	M.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi- Biyokimya	
Prof.Dr.Refîye Yanardağ	I.Ü.Mühendislik Fakültesi- Biyokimya	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 20./10./2016 tarih ve 107 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.

-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



SEDA GÜLER

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans süresince ve tezimin her aşamasında bana yardımını, anlayışını, eğitimim boyunca yoluma ışık tutan ve değerli zamanını desteğini esirgemeyen en başından beri kendisiyle çalışmak istediğim değerli çok sevdiğim hocam Sayın **Prof. Dr. AYŞEN YARAT'a** sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim. Tecrübesi, güler yüzüyle çalışmalarım boyunca bana destek olan **Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a** ve **Yrd. Doçent Dr. Ismet Burcu TURKYILMAZ'a** tezimin yürütmesinde en başta anlayışını, herhangi bir hatamda beni yargılamayan tavrını, güler yüzünü ve desteğini esirgemeyen doktora öğrencisi **Burçin ALEV TÜZÜNER'e** teşekkürü bir borç bilirim.

Sevgi ve özveriyle bugünlere gelmemi sağlayan, hoşgörülerini ile her zaman yanımda olan ailem; canım annem **Sema GÜLER**, babam **Şahsıvar GÜLER** ve kardeşim **Selda GÜLER'e**, ağabeyim **Serdar GÜLER'e**, ananem **Emine ŞEREMENT'e** sonsuz teşekkürler...

## İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
KISALTMALAR ve SİMGELER .....	vi
TABLO LİSTESİ .....	viii
ŞEKİL LİSTESİ .....	ix
1. TÜRKÇE ÖZET .....	1
2. İNGİLİZCE ÖZET .....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ .....	ii
4. GENEL BİLGİLER.....	3
4.1. Epilepsi.....	5
4.1.1. Epilepsi tedavisi .....	6
4.2. Valproik Asit.....	8
4.3. Karaciğer .....	11
4.3.1. Valproik asit'in karaciğer üzerine etkileri.....	14
4.4. Alfa Lipoik Asit .....	15
4.5. İncelenen Parametreler.....	18
4.5.1. Lipid peroksidasyonu .....	18
4.5.2. Glutatyon.....	20
4.5.3. Süperoksit dismutaz .....	22
4.5.4. Katalaz.....	23
4.5.5. Doku faktörü .....	24
5. GEREÇ ve YÖNTEM.....	26
5.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	25
5.2. Kullanılan Kimyasal maddeler.....	25

5.3. Deney Hayvanları ile Oluşturulan Gruplar ve İzlenen Protokol.....	27
5.4. Deney Hayvanlarının Beslenmesi .....	28
5.5. İncelenen Parametrelere ait Tayin Yöntemleri .....	29
5.5.1. Total protein tayini .....	29
5.5.2. Lipit peroksidasyonu tayini.....	31
5.5.3. Glutasyon tayini.....	32
5.5.4. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini.....	33
5.5.5. Katalaz aktivitesi tayini.....	35
5.5.6. Doku faktörü aktivitesi tayini.....	36
5.6. İstatiksel Değerlendirme .....	36
<b>6. BULGULAR</b> .....	<b>37</b>
6.1. Total Protein Sonuçları .....	37
6.2. Lipit Peroksidasyon Sonuçları .....	38
6.3. Glutasyon Sonuçları .....	39
6.4. Süperoksit Dismutaz Sonuçları .....	40
6.5. Katalaz Aktivitesi Sonuçları .....	41
6.3. Doku Faktörü Sonuçları .....	42
<b>7. TARTIŞMA</b> .....	<b>43</b>
<b>8. SONUÇ</b> .....	<b>42</b>
<b>09. KAYNAKLAR</b> .....	<b>50</b>
<b>EK-1</b> .....	<b>60</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>61</b>
<b>KONGRE BİLDİRİMLERİ VE ÖZET</b> .....	<b>61</b>



## **KISALTMALAR VE SİMGELER**

**ALA:** Alfa lipoik asit

**$\alpha$ :** Alfa

**$\beta$ :** Beta

**CAT:** Catalase

**DF:** Doku faktörü

**DNA:** Deoksiribo nükleik asit

**GSH:** Glutasyon

**nm:** Nanometre

**R $\cdot$ :** Organik radikaller

**St:** Standart

**GABA:**  $\gamma$ -Amino butirik asit

**DF:** Doku faktörü

**GSSG:** Glutasyon disülfid

**HO $\cdot$ :** Hidroksil radikali

**kDa:** kilo dalton

**KAT:** Katalaz

**LA:** Lipoik asit

**LOO $\cdot$ :** Lipit peroksid radikali

**LOOH:** Lipit hidroperoksid

**LPO:** Lipit peroksidasyon

**MDA:** Malondialdehit

**\*O $_2$ :** Singlet oksijen

**O $_2^{\cdot-}$ :** Süperoksid anyon radikali

**O $_3$ :** Ozon

**ONOO $\cdot$ :** Peroksinitrit

**PB:** Fenobarbital

**PHT:** Fenitoin

**PUFA:** Çoklu doymamış yağ asidleri

**RNA:** Ribo nükleik asit

**RO $\cdot$ :** Alkoksil

**ROS:** Serbest oksijen birleşikleri

**SSS:** Santral sinir sistemi

**SOD:** Süperoksid dismutaz

**θ:** Theta

**TBA:** Tiyobarbitürik asit

**TCA:** Triklorasetik asit

**TSH:** Tiroid uyarıcı hormon





## TABLO LİSTESİ

**Tablo 1:** Deney hayvanlarının yem içeriği

**Tablo 2:** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait total protein değerleri ve karşılaştırılması

**Tablo 3:** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait malondialdehit değerleri ve karşılaştırılması

**Tablo 4:** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait glutatyon değerleri ve karşılaştırılması

**Tablo 5:** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait süperoksit dismutaz değerleri ve karşılaştırılması

**Tablo 6:** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait katalaz değerleri ve karşılaştırılması

**Tablo 7:** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait doku faktörü değerleri ve karşılaştırılması

## ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1:** Anti konvülsan etkili valproik asit ve türevleri

**Şekil 2:**  $\alpha$  Lipoik asit'in yapısal gösterimi

**Şekil 3:** Glutasyon biyosentezi ve glutasyon redoks döngüsü

**Şekil 4:** Karaciğer dokusu total proteinin değerlerinin grafiksel gösterimi

**Şekil 5:** Karaciğer dokusu malandialdehit değerlerinin grafiksel gösterimi

**Şekil 6:** Karaciğer dokusu glutasyon değerlerinin grafiksel gösterimi

**Şekil 7:** Karaciğer dokusu süperoksit dismutaz değerlerinin grafiksel gösterimi

**Şekil 8:** Karaciğer dokusu katalaz değerlerinin grafiksel gösterimi

**Şekil 9:** Karaciğer dokusu doku faktörü değerlerinin grafiksel gösterimi

# 1. ÖZET

## **Lipoik Asidin, Valproik Asit Ile Oluşturulan Toksikitede, Karaciğerde Bazı Antiosidan Ve Oksidan Parametreler Üzerine Etkisinin İncelenmesi**

**Öğrenci Adı:** Seda Güler

**Danışman:** Prof.Dr.Ayşen Yarat

**Anabilim Dalı:** Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı

**Amaç:** Alfa-lipoik asit (LA), serbet radikallere karşı reaktivitesinin yüksek olması nedeniyle C ve E vitaminlerinin rejenerasyonunu kolaylaştırarak doku glutatyon düzeylerini artırır. Antiepileptik bir ilaç olan valproik asit (VPA) ise antioksidan-oksidan dengesini bozarak dokularda bazı zararlı etkiler oluşturabilir. Bu çalışmada amaç, VPA ile oluşturulan toksisitede sıçan karaciğer dokusu üzerine alfa lipoik asidin olası koruyucu etkisini araştırmaktır.

**Materyal ve Metod:** Dişi sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı. Zeytin yağı verilen kontrol grubu (1 mL, gavaj); LA verilen grup (50 mg/kg/day, gavaj); VPA verilen grup (500mg/kg/day, ip) ve VPA+LA verilen grup (aynı dozlarda). LA, VPA uygulamasından 1 saat önce sıçanlara verilmiştir. VPA enjeksiyonundan 16 gün sonra sıçanlar dekapite edilerek karaciğer örnekleri alınarak homojenize edilmiştir. Biyokimyasal inceleme için glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) düzeyleri, superoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT) and doku faktörü (DF) %10 g lık (w/v) karaciğer homojenatlarında tayin edilmiştir.

**Bulgular:** VPA uygulanan grupta kontrol grubuna göre karaciğer MDA, GSH düzeyleri anlamlı olarak artmış, SOD ve KAT aktiviteleri ise anlamlı olarak azalmıştı. DF deki değişim ise anlamlı değildi. Sıçanlara LA verilmesi, VPA grubunda GSH düzeylerinde, SOD ve DF aktivitelerinde anlamlı artışa, MDA ve KAT değerlerinde ise anlamlı azalmaya neden olmuştur.

**Sonuç:** Bu bulgularımıza göre LA'in, VPA'nın karaciğerde oluşturduğu oksidatif stresi önleyebileceğini söylebiliriz.

**Anahtar kelimeler:** Karaciğer, valproik asit, alfa lipoik asit, antioksidan-oksidan parametreler

## 2. SUMMARY

### **The Investigation of the Effects Of Lipoic Acid on Liver Antioxidant-Oxidant Parameteres in Valproic Acid Induced Toxicity**

**Student's Name:** Seda Güler

**Supervisor:** Prof.Dr.Ayşen Yarat

**Department:** Department of Biochemistry, Faculty of Pharmacy

**Aim:** Alpha-lipoic acid (LA) increases glutathione levels through its high reactivity to free radicals that facilitates vitamins C and E regeneration. Valproic acid (VPA) is an antiepileptic drug that has some adverse effects on tissues as it impairs the oxidant-antioxidant balance. The aim of this study was to investigate the putative protective role of LA on rat liver in VPA toxicity.

**Materials and Methods:** Female rats were randomly divided into four groups as follows: Olive oil given control group (1mL, gavage); LA given group (50 mg/kg/day, gavage); VPA given group (500mg/kg/day, ip) and VPA+LA given group (in same doses). LA was given 1 h prior VPA administration. 16 days after VPA injection, rats were decapitated and liver samples were taken and homogenized. For biochemical analysis, glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) levels, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and tissue factor (TF) activities were determined in 10% (w/v) liver homogenates.

**Results:** Liver MDA, GSH levels increased and SOD, CAT activities decreased significantly in the VPA group when compared with control group. The change in TF activity was not significant. In the VPA group, LA administration caused significant increases in GSH levels, SOD and TF activities; significant decreases in MDA levels and CAT activities.

**Conclusion:** Based on these results we suggest that LA might prevent VPA induced oxidative stress in liver.

**Key words:** Liver, valproic acid, alpha lipoic acid, antioxidant-oxidant parameters

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi hastalığı beyinde bulunan sinir hücrelerinin çeşitli nedenlerden dolayı uyarımının artmasından (nöranal hipereksitabilite) kaynaklanan epizodik serebral bir bozukluktur. Epilepsi nöbeti gri maddedeki artmış, hızlı elektriksel boşaltımlardan köken alır ve klinikte, belli bir süreye özgü davranış, bilgi, duygu, hareketlerde ve algılamamanın fonksiyonlarında stereotipik bir bozukluk gözlenir (Ethemoglu, 2006).

Valproik asit (2-propil-pentanoik asid, VPA), çocuklar ile yetişkinlerde, dünyada çok yaygın olarak tercih edilen bir antiepileptik ilaçtır. Geniş spektrumlu bir ilaç olan VPA epilepsili hastaların tedavisinde, duygu bozukluğu, bipolar ve şizoefektif düzensizliklerin kontrol altında tutulmasında, nöropatik acıların ve migren tedavisinde kullanılmaktadır (Gram ve Bentsen, 1985; Silva ve ark., 2008). Çeşitli nöbet tiplerinde monoterapi ya da ek tedavi şeklinde de kullanılmaktadır. Valproik asit kullanımı bazı durumlarda ciddi komplikasyonlara neden olabilir. Bunların mekanizması, nasıl olduğu henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Çeşitli çalışmalar oksidatif stres kaynaklı olduğunu göstermektedir (Spiller ve ark., 2000). Uzun zamanlı kullanımı şart olan epileptik ilacın yararının olduğu kadar, bu ilaca bağlı oluşan yan etki ve zararlarının bilinmesi, bu yönde takibi oldukça önemlidir. Valproik asit kullanımına bağlı yan etkilerin çoğunluğu benign özellikte olmasına karşın hepatotoksisite, teratojenite ve pankreatit gibi ciddi etkiler de gözlenebilmektedir (Levin ve ark., 1997; Herzog ve Schacter, 2001). Yapılan bazı araştırmalarda yüksek dozlarda uygulanan VPA'nın karaciğerde toksik hasara yol açtığı gösterilmiştir (Gram ve Bentsen, 1985; Rimmer ve Richens, 1985; Rettie ve ark., 1998). Valproik asit'in yüksek dozda alınması koma ve ölüm ile sonuçlanmaktadır (Gram ve Bentsen, 1985; Rimmer ve Richens, 1985; Spiller ve ark., 2000).

Valproik asit, serum proteinlerinden özellikle de albumine bağlandığından, albumin düşüklüğü önemlidir. Hipoalbuminemi olan kişilerde proteine bağlı olmayan VPA düzeyi artacağından toksisite riski de artacaktır (Haroldson ve ark., 2000; Rugino ve ark., 2003). Epilepsiye veya antiepileptik ilaç kullanımına bağlı sekonder olarak oluşabilecek ve immun sistemi etkileyen değişiklikler, hastalarda tekrarlayan enfeksiyonlar, malignansiler ve otoimmun hastalıklara yol açabilmektedir. Antiepileptik ilaçların immün sistem üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların sonuçları farklı farklıdır (Hemingway ve ark., 1999; İncecik ve ark., 2007).

Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek hücre hasarını önlerler. Bu özellikleriyle hücrelerin anormalleşme ve tümör oluşturma riskini azaltırlar (Aslan ve ark., 1995). Alfa lipoik asit olarak da anılan Lipoik asit (LA) vücutta sentezlenen ve bazı besinlerde bulunan antioksidan bir maddedir. Hem suda hem de yağda çözünür. Serbest radikalleri uzaklaştırır, E vitamini, C vitamini gibi diğer antioksidanları rejenere eder, ağır metalleri bağlayıp atımlarını kolaylaştırır. Mitokondirisi bol olan dokularda fazlaca bulunur. Mitokondiri enzimlerinin kofaktörüdür. İnsanlarda LA enerji oluşumunu içeren çeşitli 2-okso asit dehidrogenazların parçasıdır (Karaca, 2007). Sekiz karbonlu olup ditiyolen halka yapısında iki sülfür atomu içerir. Lipoik asidin okside ve redükte olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Redükte formuna dihidrolipoik asit de (DHHLA) denilir. Dihidrolipoik asit diğer formuna göre daha aktiftir. Lipoik asit açıl gruplarını bağlar ve onları diğer enzim kompleksinin bir parçasına transfer eder. Bu işlem boyunca LA, DHHLA'ya indirgenir ki bu sonradan NADH' in oluşumu altında lipoamid dehidrogenaz ile reokside olur. Böylece LA ve DHHLA bir redoks çifti gibi davranabilir (Snell ve ark., 1937). Lipoik asit'in DHHLA'e indirgenmesi antioksidan aktivite için önemlidir. Lipoik asit ve DHHLA süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, peroksil radikalleri ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen bileşikleri ile reaktive olur. E vitamini ve C vitaminini rejenere eder (Kagan ve ark., 1992; Cremer ve ark., 2006). Lipoik asit oral olarak verildiğinde %93 den fazlası barsaktan emilir. Karaciğerde metabolize edilir. Emilimini takiben ditiyolen halkası indirgenerek DHHLA formu oluşur. Sonra S-metilasyona uğrayabilir. Lipoik asit ve DHHLA her ikisinde beta oksidasyonana uğrar. Lipoik asit idrarla atılır (Busse ve ark., 1992; Packer ve ark., 1995).

Antiepileptik bir ilaç olan VPA'nın gastrointestinal, nörolojik, hematoloji ve üreme sistemi üzerine etkilerinin olması, LA ise potansiyel serbest radikal önleyicisi olması nedeniyle bu çalışmanın amacı lipoik asidin, VPA ile oluşturulan toksisitede karaciğerde antioksidan-oksidan parametreler üzerine etkisini karaciğer homojenatında total protein, glutatyon (GSH), lipid peroksidasyon göstergesi olan malondialdehit (MDA), süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (KAT) ve doku faktörü (DF) aktivitesi tayin ederek incelemektir. Epilepsi tedavisinde kullanılan VPA'nın oluşturduğu karaciğer hasarında LA'nın koruyucu etkisinin gösterilmesi epilepsi tedavisine katkı sağlayacaktır.

## 4.GENEL BİLGİLER

### 4.1. EPİLEPSİ

İlk çağlardan beri bilinmekle birlikte ilk kez M.Ö. 460 yılında epilepsi Hipokrat tarafından bir beyin hastalığı olarak, 19. yüzyılın sonlarında ise “sinir dokusunun ara sıra, aşırı, düzensiz deşarjı” olarak tarafından tanımlanmıştır (Seğmen, 2005).

Bu hastalık, beyinde sinir hücrelerinin çeşitli nedenlerden dolayı artmış uyarılabilirliği dolayısıyla (nöronal hipereksitabilite) epizodik serebral bir bozukluktur. Bu nöbetler gri maddedeki artmış, hızlı elektriksel boşalımlardan köken alır ve klinikte belli bir zamana bağlı sınırlı olarak, bilinç, davranış, duygu, hareket ve algılama görevleriyle alakalı stereotipik bir bozukluk olarak gözlenir (Shih ve ark., 1999). Epilepsi hastalığı oldukça fazla rastlanan, sonuçlarında insan hayatını ve yaşam kalitesini etkileyen mühim nörolojik hastalıklardandır. Epilepsi prevalansı 5-10/1000 kişi arasında değişmektedir (Zahn ve ark., 1998).

Etyolojileri baz alınarak epileptik nöbetler; idiopatik, kriptojenik ve semptomatik sınıflara ayrılmaktadır. İdiopatik epilepsilerin geçmişinde patolojik olarak farklı süreçler bulunmamaktadır, ailesel özellikler ve nöbetler değişiklik göstererek daha azdır böylece tedaviye olumlu cevap vermektedir. Semptomatik epilepside altta yatan beyin hastalığına ve 5 tane nörolojik bozuklukların neden olduğu saptanmıştır. Tedaviye cevaplar değişkendir ve spontan son verme ihtimali oldukça düşük olmaktadır. Kriptojenik epilepsilerde nedeni bilinmeyen ama altında edinsel nedenlerin olduğu düşünülen gruptur. Epilepsi çeşitleri anatomik şekilde lokalize edildiğinde ise; temporal, frontal, oksipital ve parietel lob epilepsileri şeklinde sınıflara ayrılmıştır. Epilepsili hastalarda fokal başlangıçlı olan nöbetler daha fazla görülmektedir (Patsalos ve ark.,2002).

Toksik veya akut metabolik nedenlere bağlı nöbetler diğer hastalıklarda olduğu gibi kompleks bir kalıtım gösterirler bunların saptanmasında moleküler genetik çalışmalar zor olmaktadır. Birçok epilepsinin %40-60'ının etyolojisinde genetik faktörlerin rol oynadığı özellikle vurgulanmaktadır. Epilepsili hastalarda yapılması gereken ilk işlem tanının doğru olarak konması, bunun devamında da ilaçlarla tedaviye gerek olup olmadığı saptanmasıdır. Epilepsili hastalarda %80'inde nöbetlerin antiepileptik tedaviyle ya tam olarak kontrol altına alınabilir veya sıklığı azaltılabileceği vurgulanmaktadır. Epilepsi'de antiepileptik olan bu ilaçların epilepsiyi tam bir tedavisini sağlamamakla birlikte nöbetlerin önlenmesi için önem arz etmektedir.



Epilepsili hastalarda nöbetlerin başlangıcı hastalığın erken dönemindeki nöbet sayısı, antiepileptik tedaviye erken cevap ve bazı spesifik elektroensefalografi bulguları gibi özellikler, prognozu değerlendirmek için önem taşımaktadır. Nöbetlerin kontrolü açısından iyi bir prognoza sahip olmakla birlikte epilepsili hastalarda, epilepsi olmayanlara göre daha çok oranlarda ölüm riski olabilmektedir. Bu ölümün nedeni ise epilepsiye neden olan altta yatan durumlara bağlı veya epilepsinin tamamen kendisi de olabilmektedir (Sander, 2003).

#### **4.1.1. EPİLEPSİ TEDAVİSİ**

Özel bir etiyolojik yaklaşımın bulunmaması ve patofizyolojik işleyişin tam olarak çözülememesi sebebiyle, bu hastalığın ilaçla tedavisine yaklaşımı, epilepsiye neden olan etkenlerin yok edilmesinden daha çok, kronik antiepileptik ilaçların kullanımıyla semptomların kontrolü ve böylece nöbetleride baskılanabilmesi mümkün olmaktadır. Epilepsiye karşı kullanılan ilaçlar, epileptojenezis devamında beyin dokusunda gelişmiş durumda olan kronik hipereksitabilite etkisini göstermektedir. Tekrar hipereksitabilitenin seyrini azaltmak ile beraber, patolojik hücreler üzerinde inhibisyonun sağlanması şartıyla epileptik nöbetin oluşmasını önlemektedir. Bu sebeple antikonvulziv tedavi yalnızca semptomatik etki göstermektedir. Hastalığı tamamıyla tedavi edici ortadan kaldırıcı olmadığı bildirilmiştir (Löscher, 1998).

Tedavinin sağlanması için epilepsi hastalığı için son on yıl'da yeni antiepileptiklerin oluşturulması ve ayrıca eski ilaçların yapısındaki değişikliklerle beraber farklı ilerlemeler kat edilmiştir. Bunun sonucunda hastalarda yan etkiler oluşmuş ve tolere edilen antiepileptik doz seviyeleriyle zayıf nöbet kontrolünün olabileceği gösterilmiştir (Löscher, 1998)).

Epilepsinin tedavisinde birinci şart, tanının doğru konabilmesi bunun sonucunda ilaçla tedaviye gerek olup olmadığının belirlenmesi önemli bir aşamadır. Epilepsi hastalarında tedavi gerektiğinde günde en düşük dozlarla birlikte, yan etkisi görülmeden nöbet kontrolünün sağlanabileceği vurgulanmaktadır (Bora ve Taşkapıoğlu, 2003).

Tanısı yeni konmuş epileptik hastalarda antiepileptik tedaviye başlarken, monoterapi tedavisiyle başlanması gerekmektedir. Monoterapi tedavisiyle yaklaşık %60- 70 oranında epilepsili hastalarda oldukça başarılı bir nöbet kontrolünün olacağı gösterilmiştir. Bununla beraber epilepsi hastalarının 1/3'ünde monoterapi tedavi yöntemi nöbet kontrolünde yetersiz olamamakta ve politerapi olan bir tedaviye ihtiyaç olabilmektedir (Sander, 2004). Epilepsi tedavisinde başarı elde etmek için epileptik

nöbetin doğru teşhisi, teşhisten hemen sonra antiepileptiklerin de bu yönde doğru seçilmesi oldukça önem taşımaktadır (Yamatogi, 2004). Antiepileptiklerin zararları ve hasarları göz önünde tutulduğunda bugün için ilk basamak seçilen antiepileptiklerin jeneralize idiyopatik epilepside özellikle VPA kullanılırken, karbamezapin ve fenitoin gibi ilaçların parsiyel nöbetlerde daha iyi sonuç vereceğini göstermiştir. Antiepileptik ilaçlar günümüzde oldukça fazla bulunmaktadır. Başlarda kullanılmaya başlanan ilaçlar arasında fenitoin, fenobarbital, karbamezapin, VPA, şimdilerde yeni kullanılan ilaçlar arasında ise; oksokarbazepin, lamotirijin, vigabatrin, tiagabin, topiramat, gabapentin, levatirasetam gibi ilaçlar yerini almaktadır. Epileptik ilaçları kullananlarda bu hastalarının %60 kadarında çok iyi nöbet kontrolü sağlanırken, %40 kadarında erken ve yeterli dozda antiepileptiğe rağmen tedaviye direnç oluşabilmektedir. Antiepileptiklerde yeni ilaçların eskilerine göre daha iyi tolere edilebildiği belirtilmekle beraber tedaviye dirençli ve nöbet kontrolü zorlanan hastaların nicel değişimlerinde önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Bora ve Taşkapıoğlu, 2003).

#### 4.2. Valproik asit

Kimyasal yapı olarak VPA, 2-propil pentanoik ya da dipropil asetik asit olarak da anılan, basit dallı zincirli karboksilik bir asit olarak bilinmektedir. Organik çözücülerle iyi çözünebilen suda ise oldukça az çözünen renksiz bir sıvıdır (Kusunoki ve ark., 1987). Valproik asit, epilepsi türlerinin (fokal, sekonder, jeneralize, tonik klonik, absans, myokloni gibi) çoğunu etkileyen, özellikle yetişkin ve çocuk gruplarında oldukça yaygın kullanılan antiepileptik bir ilaçtır (Toprak, 2010). Valproik asit, yapı bakımından diğer antiepileptiklerden farklı olup bir yağ asididir (Gugler and Von unruh, 1980). İlk kez 1881 yılında Burton tarafından sentezlenmiş, ancak 1963 yılına dek antiepileptik özelliğinden söz edilmemiştir (Grant and Barot, 1975). Antikonvülsan özelliği ise Pierre Eymard'ın diğer bazı bileşikleri çözmek amacı ile bu ilacı kullanmasıyla tesadüfen bulunmuştur (Brodie, 2007). Antikonvülsan etkili valproik asit ve türevleri aşağıdaki Şekil 1' de gösterilmiştir.

Bileşik	Formül
<b>Valproik asit</b> 2-Propilpentanoik asit	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\underset{\text{C}_3\text{H}_7}{\text{CH}}\text{COOH}$
<b>Valpromit</b> 2-Propilpentanamit	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\underset{\text{C}_3\text{H}_7}{\text{CH}}\text{CONH}_2$
<b>Sodyum valproat</b> Sodyum 2-propilpentanoat	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\underset{\text{C}_3\text{H}_7}{\text{CH}}\text{COONa}$

## Şekil 1: Anti konvülsan etkili VPA ve türevleri

(<http://yunus.hacettepe.edu.tr/~ucalis/PDF/K04.pdf>, Erişim Tarihi: 11.08.2016).

Valproik asit, epilepsi hastalarına başlangıçta günde 600 mg dozunda oral olarak uygulanır, günlük dozlar, üçe bölünerek verilir ve günde 200 mg arttırılarak günde 2.5 g 'a kadar arttırılabilir (Kesim, 2009; Doğdu, 2013). Başlangıçtan itibaren yüksek dozda uygulanırsa belirgin sedasyon hatta koma oluşturabilir. Çocuklarda 30-40 mg/kg (maksimum) kullanılır. Tercihen yemeklerden sonra alınması önerilir (Doğdu, 2013).

Valproik asit, serum proteinlerine bağlanabilme özelliğindedir. Plazma proteinlerine % 90-95 oranında bağlanır. Özellikle albümine bağlanabilir. Terapötik etki ve toksisite için proteine bağlı olmayan VPA etkili olmaktadır. Albümin kısıtlığında, yani hipoalbüminemisi olan kişilerde proteine bağlı olmayan Valproik asit düzeyi artacağından toksisite riski de artar (Haroldson ve ark., 2000; Rugino ve ark., 2003). Valproik asit idame dozda verildiğinde plazma yarılanma ömrü 7-10 saattir. Aşırı dozda alındığında ise bu süre 30 saate kadar çıkabilmektedir. VPA karaciğerde metabolize edilen ve çok sayıda metaboliti oluşan yapıdadır. VPA ayrıca karaciğer enzim indüksiyonuna neden olmaz (Bayar, 2007). Valproik asit'in % 30-40 kadarlık kısmı ise metabolize olmadan atılır. Metabolize edilen valproat glukoronidle konjuge edilerek idrarla atılır (Kesim, 2009).

Yapılan çalışmalarda VPA'nın beyinde GABA'nın nöronal geri alımını inhibe ederek postsinaptik GABA etkinliğini arttırmak ve sodyum kanallarını inhibe etmek suretiyle etkili olduğu düşünülmektedir. Ancak beyin GABA düzeyi üzerindeki etkilerinin insanda tedavi dozlarında oluşması tartışmalıdır. Ayrıca valproatın membrandaki potasyum kanallarını açarak hiperpolarizasyon yaptığı da gösterilmiştir. Valproatın, geniş etki spektrumunu birden fazla moleküler mekanizmaya borçlu olduğu düşünülmektedir (Doğdu, 2013).

Valproik asit çeşitli ilaçlarla etkileşebilir. Trisklik antidepresanları potansiyelize edebilir. Aspirin valproatın plazma proteinlerine bağlanmasını azaltarak serbest fraksiyonun konsantrasyonunu artırır ve ilacın metabolizmasını inhibe eder. Valproik asit; Fenitoin (PHT) ile karmaşık şekilde etkileşir, başlangıçta serbest PHT serum konsantrasyonunu arttırabilir, sonra birkaç hafta içinde düşme olur ve 1-4 ay içinde PHT düzeyi normale döner. Fenobarbital (PB) verilmekte olan hastaya valproat da verilmeye başlanırsa, bu ilaç PB serum düzeyini artırır, belirgin sedasyon ve daha ciddi santral sinir sistemi (SSS) depresyonu belirtilerine neden olabilir (Doğdu, 2013).

Valproik asit uzun soluklu bir kullanımı bazı durumlarda hepatotoksite, teratojenite ve pankreatit vb. gibi ciddi yan etkilere neden olabilmektedir (Levin ve ark., 1997; Herzog ve Schacter, 2001). Bunların mekanizması, nasıl olduğu henüz tam olarak anlaşılammıştır. Çeşitli çalışmalar oksidatif stres kaynaklı olduğunu göstermektedir (Doğdu, 2013). Yapılan bazı araştırmalarda yüksek dozlarda uygulanan VPA' ın karaciğerde toksik hasara yol açtığı gösterilmiştir (Levin ve ark., 1997). Valproik asit'in yüksek dozda alınması koma ve ölüm ile sonuçlanmaktadır (Doğdu, 2013). İlacın yan etkileri ve oluşabilecek toksisitenin takibi önem arz etmektedir (Levin ve ark., 1997; Herzog ve Schacter., 2001).

Epilepsi'ye bağlı olarak veyahut antiepileptik ilaçların kullanımına bağlı olarak sekonder oluşabilecek immun sistemi etkileyen değişiklikler, hastada tekrarlayabilecek enfeksiyonlar, malignansiler, ve otoimmun hastalıklara yol açabilir (Hemingway ve ark., 1999; Garzon ve ark., 1985). Antiepileptik ilaçların immün sistem üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların sonuçları farklı farklıdır (Callenbach ve ark., 2003; Aarli, 2000). Valproik asit'in immün sistem üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bazılarında VPA'in serum immünglobulin seviyesini düşürdüğü, bazılarında immünglobulin düzeyini artırdığını ve diğer bir kısmında ise serum immünglobulin seviyeleri üzerine etki etmediği belirtilmektedir (Hemingway ve ark., 1999; Callenbach ve ark., 2003; Joubert ve ark., 1977; Lenti ve ark., 1991). Bu nedenlerle VPA kullanan epileptik hastalarda, serum proteinleri ve immünglobulinlerinin belirli aralıklarla takibi yapılması gereklidir (İncecik ve ark., 2007). Valproik asit'in mitokondride beta-oksidasyonunu inhibe ettiği bildirilmektedir. Kronik VPA kullanımı sırasında yağ asitlerinin beta oksidasyonunun başka bir yoldan (omega-oksidasyon) gerçekleştiği ve bu sırada serbest karnitinin tüketildiği düşünülmektedir. Bir diğer görüş ise, VPA'nin kendisinin bir çeşit kısa zincirli yağ asidi olduğu ve beta- ya da omega-oksidasyona girerek karnitin tüketimine yol açtığı şeklindedir. Bununla birlikte, VPA kullanan hastalarda ortaya çıkan karnitin eksikliğinin kesin nedeni tam olarak bilinmemektedir (Seğmen, 2005).

### 4.3. KARACİĞER

Önemli bir organımız olan karaciğer’de sindirim kanalından emilimi sağlanan besinlerin işlem gördüğü ve diğer vücut bölgelerinde yararlanmak üzere içinden seçilenlerin ise depolandığı bazılarımsa acil bir şekilde dolaşıma katıldığı organımızdır.

Karaciğer tüm sistemlerle ilişkili olabilecek görevlere sahiptir.

Temel fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir (Sherlock and Dooley, 1997).

**1. Vasküler rezervuar görevleri:** Karaciğer genişleyebilen organ olması sebebiyle hepatik venler ile sinüsler içinde normalde var olan 450 ml’lik kan rezervuarına ek olarak 500 – 1000 ml daha kanı haznesine ekleyebilir bir yapıya sahiptir.

**2. Filtre görevleri:** Barsaktan portal sisteme gelen mikroorganizmalar hepatik sinüslerde bulunan kupffer hücrelerinin sayesinde bir süzgeçten geçirilir.

**3. Metabolik görevleri:** Karbonhidratların, yağların ve proteinlerin metabolizmalarında önemli fonksiyonları gerçekleştirmektedir. Barsakta glikoz, fruktoz ve galaktoz’un emilimi gerçekleşir. Karaciğerde fruktoz ve galaktoz, glikoza çevrilmektedir. Tüm hücrelerce glukoz monosakkaridi enerjinin temelini oluşturur ve ATP sentezinde önemli bir kaynaktır. Yağ dokusuyla birlikte karaciğer fosfoglukonat yolunu kullanıp enerji sağlamanın yanında yağ asidi sentezi gerçekleştirmektedir. İlk olarak glikoz, glikojen şeklinde glikojen kapasitesi sınırını aşması durumunda; yağ şeklinde depo edilmektedir. Glikojen çok hızlı olarak glukoz dönüşebilmektedir. Hücre içi osmolalitesinde bir katkısı bulunmamaktadır. Karaciğer ile kas hücrelerinde sadece glikojen olarak depo edebilmektedir. Bu glikojen depoları karaciğer için normal 70 gr kadar bulunmaktadır. Yirmidört saat aç kalındığında bu glikojen depoları tükenmektedir. Tükenmenin sonrasında ise çok acil olarak yeni bir glikoz oluşumuna gerek duyulmaktadır. Bazı enzimler örneğin; karaciğer laktat, piruvat, amino asitlerden ve yağ metabolizmasının ürünü gliserolden glukoz üretebilmektedir. Hepatik glukoneogenez kanda glukoz seviyesini normale yakın değerlerinde tutabilirler. Bazı protein ve karbonhidrat depoları dolunca bu depoların fazlasını yağa çevirirler. Bu yağ asitleri ya acil olarak enerji kaynağında kullanılır yada yağ dokusu için ve karaciğerde depo edilmektedir. Çoğunlukla bütün hücrelerde, eritrositlerle, böbrek medullasının dışında, yağ asitlerinin fonksiyonlarını devam ettirebilmek için enerji kaynağı şeklinde kullanılabilir. Bazı nöron hücreleri normal şartlarda glukozu uzun süren aç kalmada yağ asitlerini kullanabilmektedirler. Bu kullanımda; yağ asitleri ilk olarak asetil koenzim A’ ya

okside olmaktadır. Sonucunda oluşan sitrik asit siklusunda okside olup enerji'yi oluşturmaktadır. Karaciğer hücresi olan hepatositlerden salınan asetoasetat yedek ek enerji oluşturmaktadır. Hücre membranları oluşturulurken gerekli olan kolesterol ve fosfolipidlerinde yapımı için asetil koenzim A kullanılmaktadır. Lipoproteinlerin karaciğerden oluşmaları ve lipid aktarımında oldukça önem arz etmektedir. Karaciğer proteinlerin metabolizması için ayrıca önemlidir. Amino asitlerinde karbonhidratla, yağa dönmeleri için deaminasyonun yani oluşum reaksiyonlarının olması gerekir. Enzimatik yollarla beraber amino asitlerde keto asitlere dönüştürülür yan ürün olarak amonyak oluşturulmaktadır. Hepatik glukoneogenez için alanin deaminasyonu önem arz eder. Bu organımız ayrıca dallı amino asitlerin dışında proteindeki amino asitlerin birçoğunu deamine edebilmektedir. Amino asitlerden dallı gruplar iskelet kaslarında metabolize olmaktadır. Amonyak deaminasyon'la oluşturulur ve barsakta bakteriler vasıtasıyla rezorbe olur. Enzimatik işlemler sonucu karaciğer iki molekül amonyakla birlikte karbondioksit'den üre oluşturmaktadır. Bu oluşturulan üre ise böbrekle atılır. Karaciğerde keto asitlerin transaminasyonu non esansiyel amino asitlerini oluşturmakta ve diyetle eksikliklerini karşılamaktadır. Bazı esansiyel amino asitlerin oluşmaları vücutta yapılamayıp besinle birlikte alınmak şarttır. İmmün globulinlerin dışında plazma proteinlerinin hepsi karaciğerde sentezlenip oluşturulmaktadır. Proteinlerden en mühim olanı albüminle birlikte koagülasyon faktörleride yer almaktadır. Proteinlerden albümin plazmanın onkotik basıncını sağlayan önemli bir proteindir, birçok ilaç ve hormonlarda taşıyıcı görevleri üstlenir. Önemli protein olan albümin konsantrasyonunun azalmasıyla ilaçlarda serbest parçalar artabilmektedir. Faktör VIII ve von Willebrand faktörü dışında bütün koagülasyon faktörleri karaciğerde yapılmaktadır. Protrombin (FII), F VII, IX ve X 'un oluşmaları için K vitaminine gerek duyulmaktadır.

**4. Detoksifikasyon görevleri:** Bazı dışardan alınması gerekli ilaçların, dışarıdan alınmış yada endokrin sistem içinde oluşturulmuş hormonların fazlasının yada kalsiyum gibi minerallerin fazlası tekrar biyotransformasyonlarıda karaciğer gerçekleştirmektedir. Oluşturulan son ürünler inaktif olabilmekte veyahut suda çözünebilen safra yada idrar ile birlikte atılmı kolaylaştırılmış maddelerden oluşur.

**5. Sekretuar görevleri:** Bütün sistemlerle etkileşimi olan karaciğerde safra asitlerinin yapımı ile gastrointestinal sisteme aktarımı işlevlerini de yerine getirmektedir. Karaciğer hücresi hepatositlerce, kolesterolden yapımı sağlanan safra asitleri barsakta yağların emilimini kolaylaştırmaktadır. Safra asitleri'nin diğer önemli bir yardımcıda kolesterol eliminasyonunu sağlar. Kolik asit ile kenodeoksi kolik asit başta olmak üzere iki asitin

tuz formu oluşmaktadır. Safrayla çıkmazdan önce glisin ve taurin konjuge olmaktadır. Bu safra tuz oluşumu ve salgılanmadaki aksamalarda, yağlar ve yağda çözünen vitaminler (A, D, E, K vitaminleri) emilimi bozulmaktadır.

**6. Bilirubin metabolizmasında görevleri:** Karaciğerin bilirubin metabolizmasında mühim bir görevi bulunmaktadır. Son ürünü olan hemoglobin metabolizmasında unkonjuge bilirubin serum albumine bağlanıp karaciğere taşınmaktadır. Sinzoidlerde albuminden ayrılan bilirubin ise diffüzyon ile birlikte hepatosit içerisine alınmaktadır. Bilirubin alındıktan sonra sitoplazma içinde konjuge edilecek olan mikrozoamlara taşınmaktadır. Bundan sonra üridin difosfat glukuronosil transferaz enziminin vasıtasıyla glukuronik asitle konjuge olabilir. Bilirubinler konjuge olduktan sonra safra kanalikllerinden ekskrete edilebilmektedir . Üstlendiği bütün buradaki önemli görevleri sebebiyle insan biyokimyası bilimi için önemli odağında bulunan organımız karaciğer bulunmaktadır (kten, 2001).



### 4.3.1. Valproik asit' in karaciğer üzerine etkileri

Valproik asit' in karaciğer üzerinde toksik etkisi vardır. Nadir de olsa fetal hepatit yapar. Serumda karaciğer enzim düzeylerinde yükselmeler olabilir. Transaminazlarda önemli artışlara neden olur. Önemli bir enzim olan laktat dehidrogenaz'da daha sık ve doza bağlı olarak artış meydana gelebilmektedir. Valproik asit karaciğer metabolizmasında üre sentezini inhibe eder ve hiperamonyemiye neden olur ve bunun sonucunda ensefalopatiye yol açabilmektedir. Tekrar karaciğerde koenzim A'yı bağlayarak yağ asitlerinin oksidasyonunu inhibe etmekte ve bunun sonucu ise ketoasidoza yol açabilmektedir. Pankreatit nadiren görülebilmekle birlikte fetal seyirlidir. Zarar veren teratojenite oranı %4-6 arasında seyrederek (Dreifuss ve Langer, 1988). Yeni doğanda nöral tüp defektine yol açabilir. Mitokondriyal disfonksiyonuna neden olan VPA üç farklı yapıda gözlenebilir.

- 1) Yağ asidi beta-oksidasyonunun inhibisyonu
- 2) Solunum zinciri enzimlerinin inhibisyonu
- 3) Mitokondriyal DNA'ya doğrudan etki ile sağlamaktadır.

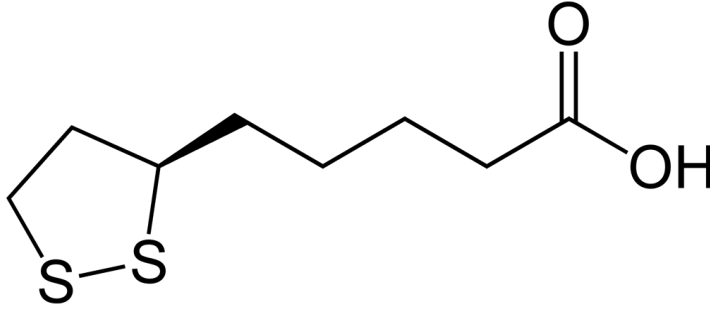
Farklı bazı ilaç grupları hem beta-oksidasyonu hem solunum zinciri enzimlerinin görevlerini inhibe edebilirler. Metabolize olamayan serbest yağ asitleri, laktat ve reaktif oksijen radikalleri birikimine yol açabilmektedir. Biriken bu radikaller mitokondriyal DNA'yı zedelemektedir. Valproik asit'te farklı tipteki ilaçlardan olan tetrasiklin yada aspirin ilaçları zedelenmeye yol açan ilaçlar grubunda yer almaktadır (Jaeschke ve ark., 2002; Pessayre ve ark., 2001). Yaşanan bu üç olay sonrasında hücrede enerji sıkıntısı olmaktadır. Mikrovesiküler steatohepatitis ve sitolitik hepatitis gerçekleşebilmekte, anaerobik metabolizma ile laktik asidoz ve trigliserid birikimi olabilmektedir (hücre içi mikrovesiküler yağ birikimi) (Pessayre ve ark., 2001; Jonsson ve ark., 2000). Nanokolik steatohepatitis (hücre dışında büyük veiküllerle enflamasyonunda eşlik ettiği yağ birikimi) ilerleyici olarak makrovakuoler yada mikrovesiküler steatohepatitis sonrası gelişir. Hücre ölümü, Mallory cisimciği oluşumunu, polimorfonükleer hücre infiltrasyonunu, fibrozis ve sirozla sonuçlanabilmektedir. Karaciğerin farklı hücrelerinde ilaç hasarının hedefi durumuna gelebilmektedir. Örneğin kuppfer hücreleri sitokinleri aktive edip hasarın artmasına neden olabilmektedir. "Stellates hücreleri" olarak adlandırılan yağ depo hücreleri veya makrofajlar fibrozis, granülomlar oluşturarak hasara neden olabilir. Kemoterapötik ajanlar sinozoidal endotelial hücrelere zarar verip venooklusiv hastalık oluşumuna neden olabilmektedir (Lee, 2003; Jonsson ve ark., 2000; Deleve ve ark., 2002).

Valproik asit özellikle karaciğerde glukuronidasyon yolu ile metabolize olur ve aktif metabolitine dönüşür. Bu metabolitleri, karaciğerde üre metabolizmasında yer alan karbamil fosfat sentetaz ve ornitin karbamil transferaz enzimlerini engellemektedir. Bu nedenle karaciğerde üre sentezi aksar ve toksik bir madde olan amonyak, kanda yükselir. Karaciğerde olan engelleme toksisiteyi artıran bir faktördür. Ayrıca VPA'nın böbreklerde mitokondri membranından glutamin geçişini artırdığı ve kanda amonyak birikmesine katkı bulunduğu bildirilmiştir (Lheureux ve ark., 2005; Kimmel ve ark., 2005). Aynı zamanda VPA, alfa-ketoglutarat seviyesini düşürerek karaciğerde ve böbrekte sentezlenen oksidatif stresi azaltan karnitin maddesinin biyosentezini engeller. Karnitin, yağ asitlerinin ve VPA'nın beta oksidasyonunda rol alan bir kofaktördür. Karnitin biyosentezinde azalma, VPA'nın beta oksidasyonla mitokondride yıkılmasını azaltmakta ve bazı toksik maddelerin oluşma riskini arttırmaktadır (Verotti ve ark., 2002). Bu oluşumlar VPA kullanımının tedavi edici özelliğinin yanında teratojenite riskini arttırmaktadır.

#### **4.4. Alfa LİPOİK ASİT**

Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona girerek hücre hasarını önlerler. Bu özellikleriyle hücrelerin anormalleşme ve tümör oluşturma riskini azaltırlar. Alfa lipoik asit (ALA) farklı yiyeceklerde bulunabilen ve vücutta sentezlenebilen antioksidan çeşididir. Mitokondrisi çok bulunan hayvan veya bitki dokularında oldukça fazla miktarda bulunabilir. Bitkilerden en fazla ALA içeriği bulunduranlar sıra ile; ıspanak, brokoli ve domates gruplarıdır. Hayvan dokularının içinde ise en fazla ALA bulunduran doku doku böbrek, kalp ve karaciğerdir (Karaca,2007).

Lipoik asit vücudumuzda doğal olarak bulunmasına karşın 1930 yılına kadar varlığı bilinmemektedir. 1937 yılında patates ekstresinde tesbit edilmiştir (Snell ve ark., 1937). 1950 yılında Reed ve arkadaşları ilk kez karaciğerden ALA'ı saflaştırmışlardır (Karaca, 2007). Ardı sıra takip edilen yıllarda moleküler yapısı açığa kavuşturulmuş ve 1,2 ditiyolen-3 pantotenik asit olarak isimlendirilmiştir (Karaca, 2007)



**Şekil 2:** Alfa Lipoik Asit (ALA)'in yapısal gösterimi.

[https://en.wikipedia.org/wiki/Lipoic\\_acid#/media/File:Lipoic-acid-2D-skeletal.png](https://en.wikipedia.org/wiki/Lipoic_acid#/media/File:Lipoic-acid-2D-skeletal.png)

(Alış Tarihi: 09.08.2016)

Lipoik asit, suda ve hem de yağda çözünebilir bir antioksidandır. Serbest radikalleri uzaklaştırır ve farklı antioksidanlarında yenileyebilir bir güce sahiptir. Ağır metalleri bünyesine bağlayıp atılmalarını da kolaylaştırır. Mitokondri enzimlerinin kofaktörüdür. İnsanlarda ALA enerji oluşumunu içine alan farklı 2-oksoasit dehidrogenazların bir parçasıdır. Sekiz karbonlu olup ditiyolen halka yapısında iki sülfür atomu içerir. Lipoik asidin okside ve redükte olmak üzere iki formu vardır. Redükte formuna DHLA denilir. Dihidro lipoik asit diğer formuna göre daha aktiftir. Lipoik asit'in DHLA'e indirgenmesi antioksidan aktivite için önemlidir. Lipoik asit ve DHLA süperoksit radikalleriyle, hidroksil radikalleri, peroksil radikalleri ile singlet oksijenleri gibi reaktif oksijenle reaktif olmaktadır. E vitamini ve C vitaminini rejenere eder (Karaca, 2007).

Lipoik asit oral olarak verildiğinde %93 den fazlası barsakdan emilir. Karaciğer bunu metabolize etmektedir. Emilimini takiben ditiyolen halkası indirgenerek DHLA formu oluşur. Sonra S-metilasyona uğrayabilir. Lipoik asit ve DHLA her ikisinde beta oksidasyonana uğrar. Lipoik asit idrarla atılır (Herbert and Guest, 1975; Busby ve ark., 1999).

Lipoik asit açıl bir taşıyıcısıdır, iki elektron transfer etmekle ilgili görevi vardır. Alfa-ketoglutarat dehidrogenaz enzimiyle, pirüvat dehidrogenaz olarak bilinmekte olan iki multienzim kompleksi içinde bulunmaktadır (Öztürk, 2015). Lipoik asit pirüvatın oksidatif dekarboksilasyonunda koenzimi olarak fonksiyon görmektedir. Pirüvat ilk önce karboksil gruplarını kaybeder ve hidroksietil türevi şeklinde enzime bağlı tiyamin pirofosfata bağlanabilir. Sonrasında ise elektronlar ve asetil grubu dihidrolipoil transasetilaz enzimine bağlı olan LA'e transfer edilmekte ve 6-asetil DHLA

oluşmaktadır. Sonra LA üzerinde bulunan asetil grubunu koenzim A'ya aktarmakta ve redükte DHLA oluşmaktadır. Lipoik asit'in okside olan bir şekle dönmesi dihidrolipoil dehidrogenaz tarafından oluşturulmaktadır. Lipoik asit karboksil grubu olan dihidrolipoil dehidrogenaz enzimidaki lizin amino asidinin  $\epsilon$ -amino grubuna amid bağıyla bağlanmaktadır. Buradaki bağlanma ATP bağımlı sentetazca başarılmakta, koparılmasıysa bir hidrolaz enzimi tarafından yapılmaktadır (Karaca, 2007). Diyabet, iskemi-reperfüzyon dejenerasyonu, katarakt oluşumu, HIV aktivasyonunu, sinir dejenerasyonu ve radyasyon hasarı gibi sorunlarda oksidatif stres modellerinde LA verilmesinin yararlı olabileceği saptanmıştır. Ayrıca LA miyoglobin, prolaktin, tiyoredoksin ve NF kapa B transkripsiyon faktör gibi proteinlerinde indirgeyici düzenleyicisi olarak görev alabilmektedir (Packer ve ark., 1995). Lipoik asit antioksidan moleküller arasında tektir, bunun nedeni hem redükte hem de okside şekilleriyle koruyucu etkilere sahiptir. Bununla beraber DHLA antioksidan görevleri yerine getirmede daha etkin rol oynar.

Antioksidanların aktivitesi rölatif olarak genelleştirilmiş bir kavramdır, oksidatif substrat veya oksidatif stresin tipine bağlı olmaktadır. Packer (1995) ve arkadaşlarına göre ise; bir maddenin antioksidan potansiyelini değerlendirmeye alırken aşağıdaki kriterler göz önüne alınmalıdır (Packer ve ark., 1995, Han ve ark., 1997):

- 1- Serbest radikalleri uzaklaştırmadaki spesifikliğı
- 2- Diğer antioksidanlarla etkileşimleri
- 3- Metal şelasyon aktivitesi
- 4- Gen ekspresyonundaki etkisi
- 5- Biyoyararlanımı
- 6- Lokalizasyonu
- 7- Oksidatif hasarı tamir edebilmesi.

Eğer istenen normal bir antioksidansa bu kriterlerin hepsini yerine getirebilmelidir. Lipoik asit/ Dihidro lipoik asit redoks çifti ideale yaklaşmaktadır, evrensel antioksidan sayılabilir (Han ve ark., 1997). Lipoik asit ve de onun redükte formunu oluşturan DHLA dokularda serbest halde bulunmaktadır. Dihidro lipoik asit çok güçlü bir redükten olmakta ve böylelikle okside olan antioksidanları tekrar rejenere edebilir. Antioksidanlar, radikalleri uzaklaştırdıkları zaman kendileri radikal hale gelirler. Dihidro lipoik asit direkt ve indirekt olarak askorbat, glutatyon, koenzim Q10 ve E vitamin'nini rejenere edebilir (Karaca, 2007). Dihidro lipoik asit tüm antioksidanların hepsini redükte edebilmektedir özellikle; lipoamid redüktaz, glutatyon redüktaz ve

tiyoredoksin redüktaz enzimlerini rejenere edebilmektedir. Bunun sonucu olarakta; lipoik asitle DHLA antioksidan ağda merkezi görevler üstlenmiş olmaktadır. Lipoik asit ayrıca su veya yağda çözünebilme özelliğine sahip olduğundan lipid/su fazları arasındaki okside antioksidanların indirgenmesini olanak sağlamaktadır. Ayrıca LA tedavisi *in vivo* ve *in vitro* GSH seviyelerini artırır (Podda ve ark., 1994; Ou ve ark., 1995).

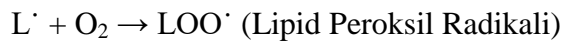
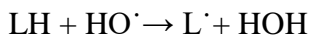
Lipoik asitle onun metaboliti DHLA metal şelasyonunu oluşturarak, serbest radikallerini tutarlar ve endojen antioksidanlarının da onarıp oksidatif hasarı önlemektedirler. Lipoik asit demir iyonlarını bağlar, DHLA ise daha çok kadmiyum iyonlarını kendisine bağlamaktadır. Lipoik asit metabolitinin prooksidan etkisine karşı antioksidan olarak davranmaktadır (Biewenga ve ark., 1997).

## 4.5. İNCELENEN PARAMETRELER

### 4.5.1. Lipid Peroksidasyonu

Çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) (-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH=CH-) hidrojen açısından zengin metilen gruplarını (CH<sub>2</sub>) içermektedir. Çoklu doymamış yağ asitleri'nin ROS saldırısına uğratılmasıyla ardı sıra bir seri reaksiyonlar meydana gelir ve peroksil radikallerini oluşturur. Oluşan zincirlemede reaksiyonlar lipid peroksil (LOO<sup>•</sup>) radikallerinin ayrımıyla karbon zinciri uzunlukları farklı çeşitli aldehit gruplarını meydana getirir. Sonucunda oluşan tepkimelerden sonra son ürün, ROS'dan daha çok kararlıdır (Poon, 2004).

Lipid peroksidasyonun süreci genelde ardı sıra bir zincir tepkimesi ile başlatılır. Yağ molekülünün peroksidasyonu; inisiyasyon, degradasyon ve terminasyon tepkimelerini içermektedir. İnisiyasyon evresinde: HO<sup>•</sup>radikali, bir lipid substratından (LH) bir hidrojen atomunu koparıp, lipid radikalini (L<sup>•</sup>) oluşturmaktadır. Degradasyon evresinde ise: Zincirleme tepkimelere giren lipid radikaline O<sub>2</sub> eklenmektedir LOO<sup>•</sup> ile lipid peroksit meydana gelir. Terminasyon evresinde: Antioksidantlarla zincir tepkimeleri son bulmakta ve stabil son ürün oluşmaktadır (Porter ve ark., 1995).



Malondialdehit, LPO'in son ürünü olarak meydana gelir ve oksidatif hasarda mühim olan bir indikatördür (Düzgüner, 2005). Lipid peroksidasyonu süresince zincirleme tepkimelerinde sonucu olarak lipid alkolsil radikaller (LO<sup>•</sup>), MDA gibi aldehidler, alkanlar, lipidepoksidler ve alkolleri oluşur. Oluşan ürünlerin çoğu toksiktir (Sole ve ark.,1990). Hasarı oluşturan ROS'un hücre içinde etkisinin araştırılmasında biyobelirteç olarak LPO ürünü oluşturulan MDA oluşma miktarı ölçüt alınmaktadır. MDA tiyobarbitürik asit tepkimesi ile ölçülebilir indikatördür (Valavanidis ve ark., 2006). Malondialdehit ölçümünde, MDA oksijenli ortamlarda şartlarda pH 3,4 de tiyobarbitürik asitle 95 °C'de inkübasyon yapılması sonucu pembe renkli bir kompleks oluştururlar. Oluşan kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik ölçümüyle MDA miktarı saptanmış olur (Sushil, 1986)

Antioksidan kapasitesindeki azalma veya farklı nedenlerle fazla miktarlarla oluşan serbest radikallere bağlı durumda hücrelerde LPO sonucu meydana gelen malondialdehit çoğunlukla LPO'nun belirlenmesinde indikatör olarak kullanılabilir (de Zwart ve ark., 1999). Hücre içinde ROS'un doymamış yağ asitleriyle tepkimesi sonucunda meydana gelen lipid hidroperoksitlerinin yıkımıyla aldehitler (başlıca MDA), pentan, konjüge dienler vb. bir grup son ürünler meydana gelir (Slater, 1984). Açığa çıkan MDA biyolojik olarak aktif bir molekül olup hücrede DNA, proteinler ve membran bileşenleri ile çapraz bağ oluşturarak buralarda yapısal olan hem de görevlerde bozulmalara neden olmaktadır (de Zwart ve ark., 1999). Oksidatif hasarın şiddetini ise, lipid peroksidasyon sonucu meydana gelen son ürünlerin (MDA gibi) ve antioksidan enzim aktivitesinin kan ve dokulardaki seviyelerinin ölçümüyle belirlenmektedir (Halliwell B, Chirico S., 1993).

#### **4.5.2. Glutatyon**

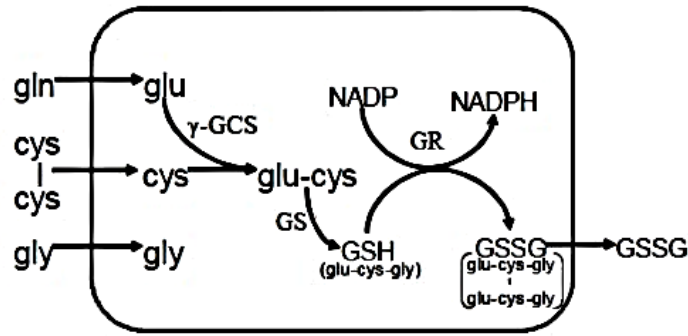
Glutatyon, glutamik asit, sistein ile glisinden oluşan tripeptit olup antioksidan ve indirgeyici bir ajandır. Organizmada temel olarak; peroksidaz aracılı peroksitlerin katabolize edilmesi, hücresel tiyol ve redoks potansiyelinin düzenlenmesi, bir nörotransmitter veya immünofarmakolojik tiyol görevi üstlenerek endokrin ve immün sistem arasındaki interaksiyonu sağlaması, redoksa duyarlı transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu artırarak strese cevabın aktivasyonu gibi görevler üstlenir (Dröge ve ark., 1994; Hayes ve McLellan, 1999; Haddad ve ark., 2000).

Tripeptid yapısında GSH hücrede en çok bol bulunabilen düşük molekül ağırlığına sahip antioksidan sistemin elemanlarıdır. Sisteinin sülfidril grubu redüksiyon ve konjugasyon reaksiyonlarında GSH'ın önemli bileşenini oluşturmaktadır (Forman ve

ark., 2009). Çoğu hücre içerisinde GSH derişimi 1-2 mM olduğu halde karaciğer hücrelerinde üretim çok olduğu için derişimi 1-10 mM arasında değişkenlik göstermektedir. Hücresel GSH derişimini düzenleyen birçok enzim bulunmaktadır (Cnubben ve ark., 2001).

$\gamma$ -Glutamil transpeptidaz enzimi ise  $\gamma$ -peptid bağını kırar ve hücre de GSH'ın meydana gelmesi için lazım olan  $\gamma$ -glutamil rezidülerini transfer etmektedir. İntraselüler GSH metabolizmasında glutamin (gln), sistin (cys-cys) ve glisin (gly) hücrenin içerisine alınmaktadır. Hücre içinde gln ve cys-cys glutamik asit (glu) ve sisteine (cys) dönüştürölmektedir.  $\gamma$ -glutamilsisteinil sentetaz enzimi ile L- $\gamma$ - glutamil-L-sistein oluşturulur. Glutatyon sentetaz enziminin sayesinde L- $\gamma$ -glutamil-L-sistein yapısına glisin amino asiti ATP 'nın var olmasıyla bağlanarak GSH'ı meydana getirir (van de Poll, 2004) (Şekil 3).

Ökaryotik olan hücrede GSH depolanması üç yerde yapılmaktadır: % 90'ı sitoplazma'da, %10'a yakın bölgesi mitokondride ve %1'den az kısmı ise endoplazmik retikulum da bulunmaktadır (Shelley, 2009). Hücredeki tiyol redoks döngüsünün devamlılığının sağlanması için GSH önemlidir ve GSH; endojen ve eksojen radikallerin detoksifikasyonu, sisteinin taşınmasıyla depolanması, protein ve DNA sentezi, hücre döngüsü regölasyonu ve hücre farklılaşması vb. reaksiyonlarda yer alır (Poon, 2004). Ayrıca sitosolik GSH, redoks döngüsünde ROS'a substratı gibi davranır ve direkt olarak bağlanarak inaktive eder (Knapen, 2000).



**Şekil 3:** GSH biyosentezi ve GSH redoks döngüsü (van de Poll, 2004).

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi aracılığında hidrojen peroksit'in ( $H_2O_2$ ) suya ve oksijene dönüşümünde koenzim olarak yapmaktadır. GSH düzeylerindeki azalma hücrelerde serbest radikal hasarına karşı hassasiyetini artırmaktadır (Wu ve ark., 2004). Doku GSH düzeyi yalnızca senteze katılan enzimler tarafından



düzenlenmemektedir, tiol içeren amino asitlerin yeterince olması da bu durumda oldukça önemlidir. *In vivo* sentezlenebilen ve ince barsaktanda kısmen emilebilen GSH, endojen ve ekzojen bir antioksidan olarak anılmaktadır. Glutasyonun oksidasyonu ile GSH-radikali (GS-) oluşur. GS diğer bir GS ile birleşir ve okside GSH (GSSG) meydana gelir, bu da NADPH bağımlı GSH-redüktazla GSH'ya indirgenir. Glutasyon, GSHtransferaz ve peroksidazlar için substrat olup ksenobiyotik ve reaktif oksijen türevlerinin detoksifikasyonuna katılabilmektedir. Ayrıca, antioksidan etkili C ve E vitaminleri üzerinde orta düzeyde koruyucu bir etkiye sahiptir (Atmaca, 2003; Parcell, 2002; Fang ve ark., 2002).

### 4.5.3. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz 1968 senelerinde oksijenli solunum yapabilen canlılarda saptanmıştır. Bu enzimin; süperoksit anyon radikalinin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizlemektedir. Hidrojen peroksit sonrasında glutasyon peroksidaz ve katalaz enzimi sayesinde etkisiz hale getirilmektedir. Hücre bölünmelerindeki süperoksit düzeylerini kontrol etmede önemlidir (Fridovich, 1983).

Dört çeşit SOD tanımlanmıştır.

1. Mangan içeren dismutaz (Mn SOD): Homotetramer yapıdadır. Mitokondrideki solunum zinciri ve oksijen radikalinin major kaynağıdır. Mn-SOD süperoksit radikalini uzaklaştıran primer antioksidan enzimdir. Fe-SOD ile homologtur.
2. Bakır ve çinko içeren dismutaz (Cu/Zn SOD): 32 kDa ağırlığında dimerik yapıdadır. Sitoplazmada bulunur. Hücrede en çok bulunan izomerdir (Andersen ve ark., 1997).
3. Ekstrasellüler dismutaz (EC-SOD): İntertisyel alanda ve plazma, lenf ve sinovial sıvılarda bulunan tetramerik yapıda bakır ve çinko içeren bir enzimdir.
4. Nikel içeren dismutaz (Ni-SOD): *Streptomyces sp* ve *Streptomyces coelicolor'* un sitozolik fraksiyonundan saflaştırılmıştır. Amino asit kompozisyonu diğer SOD' lardan farklıdır. Siyanid ile inhibe olmaktadır (Mates ve Sanchez-Jimenez, 1999).

Bu enzimin fizyolojik görevi; oksijeni metabolize edebilen hücreleri süperoksit radikallerinin zararlarına karşı koruyabilmektedir. Bunun sonucu ise LPO inhibe eder. Süperoksit dismutaz aktivitesinde, yüksek oksijen kullanımıyla oluşan dokularda çoktur ve doku  $O_2$  'nin yükselişiyle artmaktadır. Normal metabolizmada hücrelerce yüksek oranlarda süperoksit oluşumu olmasına rağmen bu enzimin sayesinde hücre içindeki

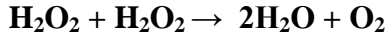
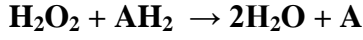
süperoksit seviyesi düşük tutulur. Süperoksit dismutaz'ın hücre dışı aktivitesi oldukça düşüktür. Süperoksit dismutazın, süperoksit anyonuna etkisi ise şu şekilde gözlenmektedir. Süperoksit anyonu,  $\text{Cu}^{2+}$  ve bir arginin rezidüsünün guanido grubuna bağlanıp, bu bağlanma ile süperoksitten bir elektron  $\text{Cu}^{2+}$  ye transfer olur ve sonucunda  $\text{Cu}^{1+}$  ve moleküler oksijen oluşur. İkinci bir süperoksit anyonu olan  $\text{Cu}^{2+}$  dan bir elektron, bağlanma ortağından ise iki proton alarak hidrojen peroksiti meydana getirirken, enzim tekrardan  $\text{Cu}^{2+}$  formuna dönmüş olmaktadır.

Süperoksit dismutazın, fagosite olmuş bakterilerin hücre içerisinde etkisiz şekle getirilmesinde etkili olmaktadır. Bunun için SOD, granülosit fonksiyonu için oldukça önem arz eder. Lenfositlerde de granülositlerden oldukça fazla miktarda SOD bulunmaktadır. SOD enziminin yüksek katalitik aktivitesi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmemektedir. Fakat farklı birçok patolojik durumda süperoksit yapımının artmasıyla, süperoksite spesifik olan reaksiyonlar görülür. Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı buldukları proteinlerden salınımına neden olur, kofaktörlerin oksidasyon seviyelerinide bozar, metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali'nin oluşum reaksiyonlarını hızlandırmaktadır. Diğer radikallere göre oldukça az bir reaktif olsa da, süperoksit, indirgenmiş nükleotidleri, bazı amino asitleri ve antioksidan bileşikleri (glutasyon, askorbik asit, tokoferol) oksitler. Süperoksit, hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlü ve çözünürlüğüde daha fazla olmaktadır. Zar fosfolipidlerinin bulunması nedeniyle hücre zarındaki yüzeyler asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca proton alarak hidroperoksit radikalini ( $\text{HOO}\cdot$ ) oluşturmaktadır. Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında LPO'yu başlatabilir ve tokoferol vb. gibi antioksidanlarıda oksitleyebilmektedir (Andersen ve ark., 1997).

#### **4.5.4. Katalaz**

Katalaz (KAT) dört tane hem grubunu yapısında bulunduran bir hemoproteindir. Her alt birim ayrıcada bir molekül NADPH içermektedir. Bu molekül enzimin kararlılığını etkilemektedir. Katalaz enzimi sitokrom sistemini içere tüm aerop solunum yapabilen hücrelerin yapısında mevcuttur. Katalaz esasında peroksizomlarda bulunmak şartıyla endoplazmik retikulum ve sitozolde oldukça yoğundur. Aktivitesi; karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yoğundur. Fonksiyonu ise; hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayabilmektir. Peroksidaz aktivitesi yapabilmesine ek; katalaz bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici bir substrat olarak, diğerine ise oksidan yada elektron alıcısı olarakta kullanabilmektedir (Akkuş, 1995). Katalaz enziminin indirgeyici aktivitesinin hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitleri vb.

küçük olan moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmemektedir. Katalaz düşük hızlarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluştuğu durumlarda veya ortamda yüksek miktarda elektron alıcısı bulunduğunda peroksidatif tepkime ile, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik tepkimeyle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suya dönüştürerek ortamdan uzaklaştırmaktadır (.Jenkins ve Tengi, 1981).



#### 4.5.5. Doku Faktörü

Bir transmembran proteini olan doku faktörü (DF), FVII ve FVIIa için hücrel bir reseptör ve kofaktördür. Elde edildiği kaynağa göre değişik oranlarda protein, fosfolipid ve karbonhidrat içerir. Molekül ağırlığı türler arasında değişmekle beraber 53-425 kDa arasında değişmektedir. DF, 263 amino asitten oluşur. Transmembran bölge, ekstraselüler bölge ve bir sitoplazmik kuyruk olmak üzere üç bölgeden oluşur. Ekstraselüler bölge hemostatik aktivite için önemlidir ve hidrofildir. Transmembran bölge, molekülün stabilizasyonu ve proteolitik aktivitesi için önemlidir. Sitoplazmik bölgenin görevi ise tam olarak aydınlatılamamıştır. 219 amino asit ekstraselüler bölgede, 23 amino asit transmembranal bölgede ve 21 amino asit de intraselüler bölgede bulunur. Posttranslasyonel modifikasyonla proteine karbonhidrat eklenir. Prokoagulan proteinlerden sadece DF integral membran proteindir (Alturfan, 2006; Mackman, 2004).

Doku faktörü'nün lipid kısmı, kolesterol, serebrosidler, gangliosidler ve fosfolipidlerden oluşur. Fosfolipid içeriğini fosfotidiletanolamin, fosfotidilserin, fosfotidilkolin, sfingomyelin, fosfotidilinositol, lizofosfotidil etanolamin oluşturur. Protein kısmı, doku faktörü aktivitesine sahiptir ancak lipid bileşeninin eklenmesiyle doku faktörünün aktivitesi 950 kez artar. DF'de bulunan fosfolipidin negatif yükünün koagulan aktivite için kritik bir yol oynadığı kabul edilmiştir. DF'nin kofaktör fonksiyonunun tam olarak oluşması için yapısındaki proteinler ile fosfolipidlerin bir arada olması gereklidir (Alturfan, 2006; Mackman, 2004; Rauch ve Nemerson, 2000).

Arter duvarındaki DF, kan pıhtılaşmasını ve trombus oluşumunu başlatan başlıca hücrel elemandır. Damar hasarını takiben doku faktörü kan dolaşımına katılır. DF FVIIa ile bir kompleks oluşturur ve FX (Faktör 10) 'un FXa'ya aktivasyonunu sağlar. DF-FVIIa kompleksi koagülasyon proteaz kaskadını aktifleştirir bu da fibrin

oluşumuna ve trombositlerin aktivasyonuna neden olur. Damarsal DF'ye maruz kalma ekstrensek koagulasyon kaskadı olarak bilinen sistemin başlamasını sağlar (Alturfan, 2006; Roberts ve ark., 2000; Yarat, 2003).

Doku faktörü değişik dokularda farklı oranlarda bulunur. DF beyin, akciğer ve plasentada yüksek düzeyde, kalp, böbrek, barsak, uterus ve testislerde orta düzeyde bulunurken dalak, timus, iskelet kası ve karaciğerde ise az miktarda bulunur. Beyin, akciğer, kalp, plasenta ve uterusu DF'nin fazla olması bu hayati organlara bir damar hasarı sonucundaki kanamayı azaltacak ilave bir hemostatik koruma sağlar. Ekstrensek yolda DF: FVIIa kompleksi yüksek oranda DF içeren dokularda kanamayı önler. İskelet kası ve eklemler gibi az miktarda DF içeren dokularda ise kanama intrinsek yoldaki FVIIIa:FIXa kompleksi vasıtasıyla önlenir (Alturfan, 2006; Mackman, 2004).



## 5. GEREÇ VE YÖNTEMLER

### 5.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Vortex	JANKE & KUNKEL, IKA LABOR TECHNIK
Santrifüj	HERAEUS-SEPATECH, LABOFUGE 200
Etüv	NÜVE FN 500, Memmert Modell 400
Distile su cihazı	SCHOTT GERATE
Derin dondurucu	ARÇELİK, -25, AEG NoFrost Deepfreeze
PH Metre	ORION pH/ISE meter model 710A
Magnetik Karıştırıcı	JANKE&KUNKEL IKA Labortechnik
Hassas terazi	SARTORIUS
Elektronik kaba terazi	SCALTEC SPB62
Otomatik pipetler	GILSON
Spektrofotometre	SHIMADZU UV-120-02
Mekanik Karıştırıcı	JANKE&KUNKEL IKA Labortechnik RW20
Su banyosu (37 <sup>0</sup> C)	OEHRINGER-MANNHEIM PRECITHERM-PFV
Su banyosu (100 <sup>0</sup> C)	HEIZBAD, KERMANLAR, 34680

## 5.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmamızda kullandığımız maddeler analitik saflıktadır. Kullanılan kimyasal maddeler aşağıda belirtilenler; Sigma, Merck, Mp-Biomedisis, Fluka firmalarından elde edilmiştir.

## 5.3. Deneysel Hayvanları ile Oluşturulan Gruplar ve İzlenen Protokol

Sprague-Dawley türe ait 6 aylık toplam 28 adet dişi sıçan her grupta 7 hayvan olmak üzere rastgele dört gruba ayrıldı.

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

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

Valproik asit (VPA) Grubu : 15 gün boyunca sadece lipoik asit (0.5 g/kg/gün) verilen grup.

VPA+Lipoik asit Grubu : Aynı doz ve aynı süre ile VPA+lipoik asit verilen grup.

Lipoik asit gavaj yolu ile VPA intraperitoneal olarak verildi. Grup I de aynı hacimde zeytin yağı gavaj yağı ile verildi. Valproik asit, lipoik asit verilmesinden 1 saat sonra verildi. Sıçanlar için VPA yarılanma ömrü: 1-2 saattir. Deneyin 16. Gününde, bir gece öncesinde aç bırakılmış tüm sıçanlar sakrifiye edilerek karaciğer dokusu alındı. Karaciğer dokusu çıkartılarak serum fizyolojik ile yıkandı. Zar ve damarlarından temizlenerek buz içerisinde küçük parçalara ayrıldı. Bu küçük parçalar daha sonra cerrahi makasla kesilmek suretiyle kıyma haline getirildi ve tartıldı. Dokular ağırlıkları kadar serum fizyolojik ilavesi ile homojenize edilerek %10 luk doku homojenatları hazırlandı. Hazırlanan doku homojenatları tüplere konarak derin dondurucuda -20 santigrat'ta kullanılacağı tarihe kadar saklandı. Derin dondurucuda saklama sürelerinin aynı olmasına dikkat edildi. Karaciğer homojenatlarında total protein, GSH, MDA, SOD, KAT ve DF aktivitesi tayin edildi.

#### 5.4. Deneý Hayvanlarının Beslenmesi

Deneý hayvanları, beslenme ve su (musluk suyu) ihtiyaçlarının günlük olarak sağlandığı kontrollü laboratuvar Őartlarında muhafaza edildi.

Beslenmeleri için içeriği aşağıda belirtilen pellet tipi sıçan yemi kullanıldı.

**Tablo 1:** Deneý hayvanlarının yem içeriėi

Yemin İçeriği	Miktarı (%g/g)	Alt Sınır (%g/g)	st Sınır (%g/g)
Ağırlık	100.00	100.00	100.00
Kuru Madde	88.21	86.00	90.00
Ham Protein	20.00	20.00	20.00
Ham Selüloz	5.96	0.00	7.00
Ham Kül	5.40	0.00	8.00
Ham Yağ	2.85	0.00	6.00
Kalsiyum	0.97	0.80	1.00
Total Fosfor	0.50	0.00	0.50
Ortalama Fosfor	0.19	0.00	0.44
Lizin	1.03	0.00	1.20
Metiyonin	0.33	0.00	1.00
Metiyonin+Sistein	0.65	0.00	1.00
Sodyum	0.14	0.14	0.14
Linoleik asid	1.13	0.00	2.00

Sağladığı metabolik enerji: 2600 kalori/ kg

## 5.5. İncelenen Parametrelere ait Tayin Yöntemleri

### 5.5.1. Total protein tayini (Lowry ve ark., 1951)

**Prensip:** Bu metotta önce proteinler alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona sokulur. Daha sonra fosfomolibdik-fosfotungstik asit reaktifi (folin reaktifi) ile indirgenir. Oluşan mavi rengin şiddeti spektrofotometrik olarak değerlendirilir. Oluşan mavi rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile orantılıdır.

#### **Gerekli Çözeltiler:**

**A çözeltisi:** Sodyum karbonat çözeltisi (%2 g, 0.1 N NaOH'teki); 2 g sodyum karbonat hazırlanan 0.1 N NaOH çözeltisinde çözülür ve hacmi 100ml'ye 0.1 N NaOH çözeltisi ile tamamlanır.

**Bakır sülfat çözeltisi (%1 g):** 1 g bakır sülfat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Sodyum potasyum tartarat çözeltisi (%2 g):** 2 g sodyum potasyum tartarat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**B çözeltisi:** %1 g'lık bakır sülfat çözeltisi ile %2 g'lık sodyum potasyum tartarat çözeltisi eşit hacimde (1/1) karıştırılarak kullanılır (taze hazırlanır).

**C çözeltisi:** 50 mL A çözeltisi ve 1 mL B çözeltisi karıştırılarak kullanılır (taze hazırlanır).

**Folin çözeltisi:** 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat $\times 2H_2O$ , 50 mL %85 g'lık fosforik asit, 100 mL derişik HCl ve 700 mL distile su bir balona konularak 10 saat geri soğutucu altında kaynatılır. Soğutulur. Üzerine 150 g  $Li_2SO_4$  ilave edilip, geri soğutucu altında 15 dk daha kaynatılır. Soğuduktan sonra, 5-6 damla brom katılır. (Çözelti bozursa renk siyahlaşır, bu durumda çözelti tekrar hazırlanır, bozuk değilse renk sarı yeşil olur). Çözelti distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır ve kullanılır. Koyu renkli şişede saklanır, uzun süre dayanır.

**Serum fizyolojik (%0.9 g NaCl):** 0.9 g NaCl (Sodyum klorür) biraz suda çözülür ve hacmi 100 mL'ye tamamlanır.

**Protein stok standart çözeltisi (%100 mg'lık albumin çözeltisi):** 100 mg albumin biraz serum fizyolojikte çözüldükten sonra hacmi 100 mL'ye serum fizyolojik ile tamamlanır.

**Protein çalışma standart çözeltileri:** Stok çözeltilerden uygun hacimler alınarak %5, 15, 25 mg albumin ihtiva edecek şekilde serum fizyolojik ile seyreltilerek hazırlanır (Deneyin yapılışına bakınız).



**Deneyin Yapılışı:** 5 deney tüpü alınarak numune (N), standart 1 (St1), standart 2 (St2), standart 3 (St3) ve kör (K) olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	St1 %5mg Albumin	St2 %10mg Albumin	St3 %15mg Albumin	Kör (K)
Albumin (%100mg)	–	25µL	50µL	75µL	–
Doku süpernatantı	10µL	–	–	–	–
Serum Fizyolojik	490µL	475µL	450µL	425µL	0.5 mL
Toplam Hacim	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL
Vortekste karıştırılır.					
C çözültüsü	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Vortekste iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.					
Folin Ayracı	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL

Vortekste iyice karıştırılır, oda sıcaklığında 30 dk bekletilir. 30 dk sonunda 500 nm’de köre karşı absorbanlar kaydedilir. Standart grafiği çizilir. Doku için protein miktarı "mg Protein/g nemli doku" cinsinden hesaplanır.

### 5.5.2. Lipid peroksidasyonu tayini (Ledwozyw ve ark., 1986)

**Prensip:** LPO ürünü olan malondialdehit (MDA) ile tiyobarbitürik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembemsi rengin absorbanı spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

#### **Gerekli Çözeltiler:**

**TBA çözeltisi (0.047 M):** 500 mg TBA ile 6 mL 1 M'lık NaOH ile karıştırılır. Üzerine 69 mL distile su ilave edilir.

**Sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi (1 M):** 4 g NaOH tartılır, biraz distile su da çözülür, hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Triklorasetik asit (TCA) çözeltisi (1.22 M, 0.6 M HCl (Hidroklorik asit)'deki):** 20 mL TCA (%100 g TCA) ile 5 mL HCl (%37 g'lık d=1.19 g/dl'lik HCl) karıştırılır ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**n-bütanol:** Direkt olarak orijinal şişesinden kullanılır.

**Deneyin Yapılışı:** 2 tane deney tüpü alınarak numune ve kör olmak üzere işaretlenir ve aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Doku süpernatantı	0.25 mL	–
Distile Su	–	0.25 mL
TCA	1.25 mL	1.25 mL
Vortekste karıştırılır ve 15 dk bekletilir		
TBA	0.75 mL	0.75 mL
Vorteks ile karıştırılır ve 30 dk kaynar su banyosunda inkübe edilir		
n-bütanol	2 mL	2 mL

İlave edilir. Vortekslenir ve 10 dk 4000 rpm'de santrifüj edilir. Bütanol fazı alınarak 532 nm'de köre karşı absorbanlar kaydedilir. MDA için saptanmış ekstinksiyon katsayısı ( $1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) kullanılarak doku için "nmol MDA/ g doku cinsinden sonuçlar hesaplanır.

### 5.5.3. Glutatyon tayini (Beutler, 1975)

**Prensip:** Ellman ayracı, 5-5' ditiyobis 1-2 nitro benzoik asit (DTNB) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan renkli ürün spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

#### Gerekli Çözeltiler:

**Sodyum sitrat çözeltisi (% 1 g):** 1 gr sodyum sitrat tartılır, biraz distile suda çözülerek hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Ellman ayracı (%40 mg DTNB):** 40 mg DTNB (5-5' ditiyobis 1-2 nitrobenzoik asit) tartılır, biraz sodyum sitrat çözeltisinde (% 1 g) çözülür. Hacmi % 1 g'lık sodyum sitrat çözeltisi ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Proteinsizleştirme çözeltisi:** 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g etilen diamin tetra asetik asit sodyum tuzu (EDTA-Na), 30 g sodyum klorür ayrı ayrı biraz distile suda çözülür. Hepsi birleştirilir ve hacmi 100 ml'ye distile su ile tamamlanır.

**Disodyum fosfat çözeltisi (0.3 M):** 4.26 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  veya (5.34 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) biraz distile suda çözülür ve hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Deneyin Yapılışı:** Bir deney tüpüne 0.2 mL doku süpernatantı konur. Vorteks ile karıştırılır. Üzerine 0.3 mL proteinsizleştirme çözeltisinden ilave edilir. Vorteksle karıştırılır. 5 dk oda sıcaklığında bekletilir. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Çökelti atılır. Süpernatant alınır. İki tane deney tüpü alınır. Numune ve kör olarak işaretlenerek aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Distile su	-	0.2 mL
Süpernatant	0.2 mL	-
$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	0.8 mL	0.8 mL
Ellman ayracı	0.1 mL	0.1 mL

Tüpler vortekste karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dk bekletilir. Köre karşı 412 nm'de absorbanlar kaydedilir. Sonuçlar seyreltme faktörü ve oluşan sarı renkli ürünün 412 nm'de ekstinsiyon katsayısı ( $13600/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) kullanılarak doku için "mg GSH/g doku cinsinden hesaplanır.

#### 5.5.4. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini (Mylorie ve ark., 1986)

**Prensip:** Süper oksit dismutaz aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidin fotooksidasyon hızını arttırma yeteneği olarak ölçülür. Riboflavin floresans ışığı etkisiyle oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD'ın etkisiyle hidrojen peroksit dönüşür.  $H_2O_2$  ise o-dianisidin ile reaksiyona girerek renkli ürün oluşturur. SOD aktivitesi ne kadar çok ise renkli ürün oluşumu da o kadar fazla olur. Oluşan renkli ürünün absorbansı 460 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

#### **Gerekli Çözeltiler:**

**Fosfat tamponu (50 mM, pH=7.8):** 0.136 g  $KH_2PO_4$  ve 0.697 g  $K_2HPO_4$  tartılıp ayrı ayrı biraz distile suda çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır (hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7.8'e ayarlanır) ( $2^\circ C$  de saklanır).

**Fosfat tamponu + 0.1 mM'luk Na-EDTA:** 0.0037 g Na-EDTA tartılır biraz 50 mM'luk fosfat tamponunda çözülür ve hacmi 50 mM'luk fosfat tamponu ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Potasyum fosfat tamponu (10 mM , pH= 7.5):** 0.041 g  $KH_2PO_4$  ve 0.122 g  $K_2HPO_4$  tartılıp ayrı ayrı biraz distile su içinde çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır (hacim 100 mL'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7.5'e ayarlanır) ( $2^\circ C$  de saklanır).

**Riboflavin (0.2 mM):** 7.5 mg riboflavin 100 mL potasyum fosfat tamponunda (100 mM'luk , pH=7.5) çözülür.

**o-dianisin (6 mM):** 19 mg o-dianisin 10 mL distile suda çözülür.

**SOD (120 IU/ml) stok standardı (Sigma S-2515-3000 U):** Liyofilize SOD standardı 120 IU/ml olacak şekilde soğuk distile su ile çözülür. Daha sonra bu stok standarttan uygun hacimler alınarak deney ortamında 3,6,9,12 ünite SOD olması sağlanır.

**Deneyin Yapılışı:** Doku süpernatantı alınır, gerekirse serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır. Numune, standart ve kör olmak üzere 3 deney tüpü alınır. Aşağıdaki gibi çalışılır.

		Standartlar				
	Numune	3 U	6 U	9 U	12U	Kör
Fosfat tamponu	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL	2.6 mL
o-dianisidin	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Distile su	-	0.075 mL	0.005 mL	0.025 mL	-	0.1 mL
Stok standart (120 U/ml)	-	0.025 mL	0.005 mL	0.075 mL	0.1 mL	-
Doku süpernatantı	0.1 mL	-	-	-	-	-
Her tüpe 30 sn ara ile 0.2 mL riboflavin konur, karıştırılır.460 nm'de absorbansı okunur						
Sonra tüpler oda sıcaklığında 20 W floresans lamba bulunan kutu içinde 8 dk inkübe edilir. 460 nm'de absorbansı okunur.						

NOT: Lamba 20 dk önceden açılır ve ısınması sağlanır. Standart grafiği yardımıyla yapılan seyreltmeler de göz önüne alınarak SOD aktivitesi doku süpernatantı için "U/g doku" cinsinden hesaplanır.

### 5.5.5. Katalaz aktivitesi tayini (Aebi, 1974)

**Prensip:** Katalaz enzimi;  $H_2O_2$ 'nin ,  $H_2O$ ' ya dönüşüm reaksiyonunu katalizler. Bu dönüşüm 240 nm'de absorbanın azalması ile takip edilebilir. 1 dk'da absorbanstaki azalma katalaz aktivitesi ile ilgilidir.

#### **Gerekli Çözeltiler:**

**Fosfat tamponu (50 mM, pH= 7.0):** a) 6.81 g  $KH_2PO_4$  ve b) 8.90 g  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  tartılıp ayrı ayrı biraz distile suda çözüldükten sonra hacimleri ayrı ayrı distile su ile 1000 mL'ye tamamlanır. Kullanılacağı zaman a'dan 1 hacim b'den 1.5 hacim alınarak karıştırılır (pH=7.0 olmalı) ( $2^\circ C$  de saklanır) (fosfat tamponu bakteriyal kontaminasyon olmadığı sürece stabildir, kullanılabilir).

**$H_2O_2$  çözeltisi (30 mM) +Fosfat tamponu:** Yoğunluğu  $d=1.11$  g/mL olan %30 g'lık  $H_2O_2$  çözeltisinden 0.31 mL alınır ve 50 mM'lık fosfat tamponu (pH=7.0) ile 100 mL'ye seyreltilir (taze hazırlanır).

**Doku homojenatı:** Doku serum fizyolojik ile homojenize edilir. Gerekirse doku, serum fizyolojik ile seyreltilebilir. Ön denemelerle dokunun ne kadar seyreltileceği önceden tespit edilmelidir.

**Deneyin Yapılışı:** Doku süpernatantı alınır ve gerekirse serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır. Dilüsyon olduktan sonra 5-10 dk içinde mutlaka çalışılmalıdır. Numune ve kör olarak işaretlenmiş 2 ayrı deney tüpü alınır. Aşağıdaki gibi çalışılır.

	Numune	Kör
Fosfat tamponu	-	0.2 mL
Doku süpernatantı	0.4 mL	0.4 mL
$H_2O_2$ çözeltisi + fosfat tamponu	0.2 mL	-

İlave edilir, karıştırılır. 1 dk sonra 240 nm'de absorbanları okunarak kaydedilir. Sonuçlar bu deney için ekstinksiyon katsayısı  $0.0004$  ( $0.00394$ )  $mM^{-1}/mm^{-1}$ 'dir. Katalaz aktivitesi doku için "kU/g Doku" cinsinden hesaplanır.

### 5.5.6. Doku faktörü aktivitesi tayini (Ingram ve Hills, 1976)

**Prensip:** Doku faktörü aktivitesi sağlıklı kişilerden alınan plazma kullanılarak Quick metoduna göre tesbit edilir. Doku faktörü (Tromboplastin) kaynağı olarak doku homojenatı kullanılır.  $\text{CaCl}_2$  (Kalsiyum klorür) ilavesinden sonra fibrin oluşumu için geçen süre tayin edilir. Aktivite süre ile ters orantılı olarak değişir (Ingram ve Hills, 1976).

#### Gerekli Çözeltiler

**Sodyum sitrat çözeltisi (%3.8 g):** 3.8 g sodyum sitrat biraz distile suda çözülür ve hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Plazma:** Sağlıklı kişiden sitratlı kan (9 mL kan + 1 mL % 3.8 g'lık sitrat) alınarak plazması kullanılır.

**Stok kalsiyum klorür çözeltisi (0.2 M):** 2.22 g  $\text{CaCl}_2$  biraz distile suda çözülerek hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

**Seyreltik kalsiyum klorür çözeltisi (0.02 M):** 1 mL stok kalsiyum klorür çözeltisi üzerine 9 mL distile su konur ve karıştırılır.  $37^\circ\text{C}$ 'de tutulur. (Taze hazırlanır.)

Deneyin Yapılışı:  $37^\circ\text{C}$ 'lik su banyosunda yapıldı.

	Küçük deney tüpü içine
Doku tromboplastin homojenatı	0.1 mL
2 dakika inkübe edilir.	
Plazma	0.1 mL ilave edilir ve karıştırılır.
30 saniye inkübe edilir.	
0.02 M $\text{CaCl}_2$	0.1 mL ilave edilir ve karıştırılır.
Pıhtı oluşum zamanı kronometre ile tayin edilir.	

### 5.6 İstatiksel Değerlendirme

Çalışmanın biyoistatistiksel analizinde Graphpad Prism 6.0 (Graphpad Yazılım, San Diego, Ca, ABD) programı kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak tanımlanmıştır. Çoklu grupları karşılaştırmada ANOVA varyans analizi, gruplararası ikili karşılaştırmalar için de Tukey testi kullanılmıştır.

$P < 0,05$ 'ten küçük değerler anlamlı kabul edilmiştir.

## 6. BULGULAR

Çalışmamızda kullandığımız Sprague-Dawley türü 6 aylık toplam 28 adet dişi sıçan rastgele 7 tanesi kontrol grubu, 7 tanesi LA verilen kontrol grubu, 7 tanesi VPA uygulanan grup ve 7 tanesi de LA verilen VPA grubu olarak dört gruba ayrıldı. Deney başlangıcında tüm gruplarda yer alan sıçanların kiloları arasında istatistiki açıdan anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.1$ ).

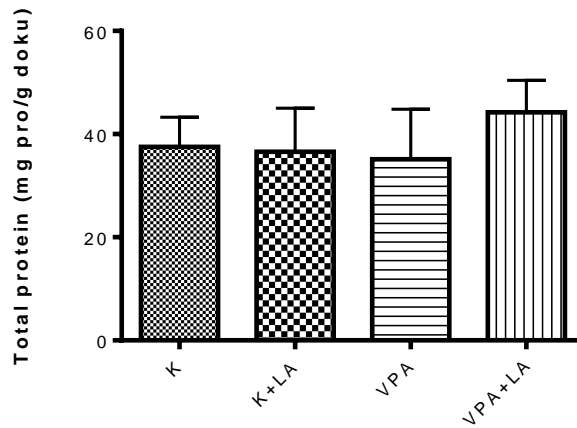
### 6.1. Total Protein Sonuçları

Karaciğer dokusunda total protein değerleri arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,1$ ) (Tablo 2, Şekil 4).

**Tablo 2-** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait total protein değerleri ve karşılaştırılması

	<b>K</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>K+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>P<sub>(Anova)</sub></b>
<b>Total Protein</b> <b>(mgP/ gD)</b>	37,54 ± 5,71	36,59±8,46	35,15±9,66	44,23± 6.20	0,7260

K: Kontrol, LA: Lipoik asit, VPA: Valproik asit, P: Protein, D:Doku, Ort: Ortalama, SD: Standart sapma



**Şekil 4-** Karaciğer dokusu total proteinin değerlerinin grafiksel gösterimi



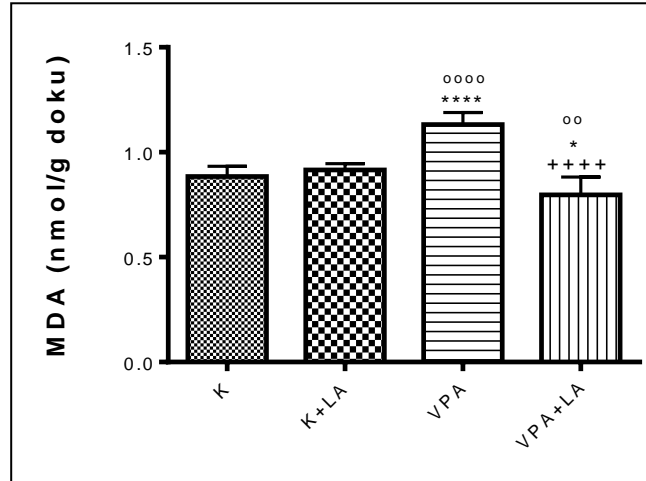
## 6.2. Lipid Peroksidasyon Sonuçları

Karaciğer MDA değerleri VPA uygulanan grup da K ve K+LA gruplarına göre anlamlı olarak arttı ( $p<0,0001$ ). LA verilmesi MDA değerlerini VPA+LA grubunda VPA, K+LA ve K gruplarına göre anlamlı olarak azalttı (sırası ile  $p<0,0001$ ,  $p<0,01$ ,  $p<0,05$ ) (Tablo 3, Şekil 5)

**Tablo 3-** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait MDA değerleri ve karşılaştırılması

	<b>K</b> (n=7) Ort ± SD	<b>K+LA</b> (n=7) Ort ± SD	<b>VPA</b> (n=7) Ort ± SD	<b>VPA+LA</b> (n=7) Ort ± SD	<b>P<sub>(Anova)</sub></b>
<b>MDA</b> (nmol/ gD)	0,88±0,05	0,92± 0,03	1,13± 0,06 ****, <sup>0000</sup>	0,80 ± 0,08 *, <sup>++++, 00</sup>	0,0001

K: Kontrol, LA: Lipoik asit, VPA: Valproik asit, P: Protein, D:Doku, Ort: Ortalama, SD: Standart sapma, MDA: Malondialdehit, \*\*\*\* $p<0.0001$ , \* $p<0,05$ : kontrol grubuna göre anlamlı, +++ $p<0.0001$ : VPA grubuna göre anlamlı, <sup>00</sup> $p<0.01$ , <sup>0000</sup> $p<0.0001$ : K+LA grubuna göre anlamlı



**Şekil 5-** Karaciğer dokusu MDA değerlerinin grafiksel gösterimi

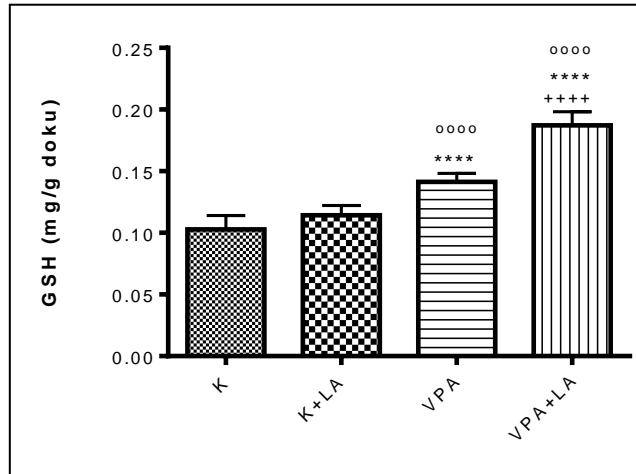
### 6.3. Glutasyon Sonuçları

Karaciğer GSH değerleri VPA uygulanan grupta K ve K+LA gruplarına göre anlamlı olarak arttı ( $p<0,0001$ ). LA verilmesi VPA+LA grubunda GSH değerlerini tüm gruplara göre anlamlı olarak arttırdı ( $p<0,0001$ ) (Tablo 4, Şekil 6).

**Tablo 4-** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait GSH değerleri ve karşılaştırılması

	<b>K</b> (n=7) Ort $\pm$ SD	<b>K+LA</b> (n=7) Ort $\pm$ SD	<b>VPA</b> (n=7) Ort $\pm$ SD	<b>VPA+LA</b> (n=7) Ort $\pm$ SD	<b>P<sub>(Anova)</sub></b>
<b>GSH</b> (mg/ gD)	0,10 $\pm$ 0,10	0,11 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01 ****, 0000	0,19 $\pm$ 0,01 ****, ++++ 0000	0,0001

K: Kontrol, LA: Lipoik asit, VPA: Valproik asit, P: Protein, D:Doku, Ort: Ortalama, SD: Standart sapma, GSH: Glutasyon, \*\*\*\* $p<0.0001$ : kontrol grubuna göre anlamlı, ++++ $p<0.0001$ : VPA grubuna göre anlamlı, 0000 $p<0.0001$ : K+LA grubuna göre anlamlı



**Şekil 6-** Karaciğer dokusu GSH değerlerinin grafiksel gösterimi

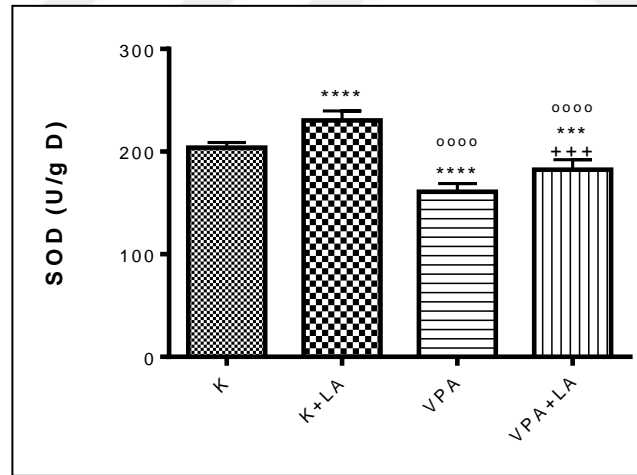
#### 6.4. Süperoksit Dismutaz Sonuçları

Karaciğer SOD değerleri VPA uygulanan grup da K ve K+LA gruplarına göre anlamlı olarak azaldı ( $p<0,0001$ ). LA verilmesi SOD değerlerini VPA+LA grubunda VPA grubuna göre anlamlı olarak arttırdı ( $p<0,001$ ). Ayrıca LA verilmesi K+LA grubunda SOD değerini K grubuna göre de anlamlı olarak arttırdı ( $p<0.0001$ ) (Tablo 5, Şekil 7).

**Tablo 5-** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait SOD değerleri ve karşılaştırılması

	<b>K</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>K+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>P<sub>(Anova)</sub></b>
<b>SOD</b> <b>(U/ gD)</b>	203,90±5,10	230,30 ±9,29 ****	160,80 ± 7,94 ****, <sup>0000</sup>	182,40 ± 9,58 ***, <sup>++++, 0000</sup>	0,0001

K: Kontrol, LA: Lipoik asit, VPA: Valproik asit, P: Protein, D:Doku, Ort: Ortalama, SD: Standart sapma, U: Ünite, SOD: Süperoksit dismutaz, \*\*\*\* $p<0.0001$ , \*\*\* $p<0,001$ : kontrol grubuna göre anlamlı, <sup>++++</sup> $p<0.0001$ : VPA grubuna göre anlamlı, <sup>0000</sup> $p<0.0001$  K+LA grubuna göre anlamlı



**Şekil 7-** Karaciğer dokusu SOD değerlerinin grafiksel gösterimi

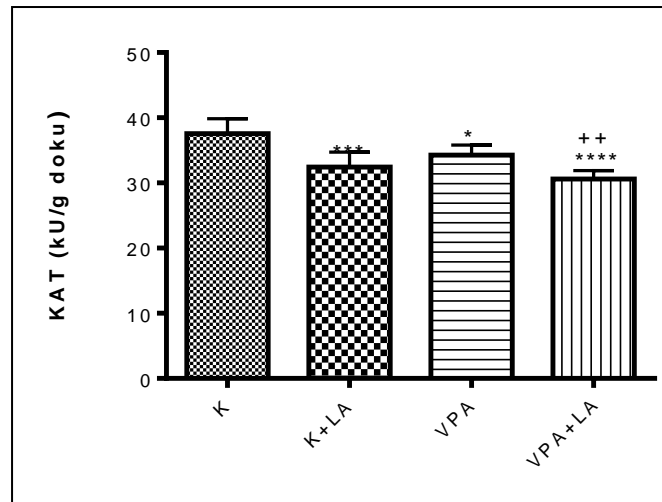
## 6.5. Katalaz Sonuçları

Karaciğer KAT değerleri VPA uygulanan grup da K grubuna göre anlamlı olarak azaldı ( $p<0,05$ ). LA verilmesi KAT değerlerini VPA+LA grubunda VPA ve K gruplarına göre anlamlı olarak azalttı (sırası ile  $p<0,01$ ,  $p<0,0001$ ). Ayrıca LA verilmesi K+LA grubunda KAT değerini K grubuna göre de anlamlı olarak azalttı ( $p<0,001$ ) (Tablo 6, Şekil 8).

**Tablo 6-** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait KAT değerleri ve karşılaştırılması

	<b>K</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>K+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>P<sub>(Anova)</sub></b>
<b>KAT</b> <b>(kU/ gD)</b>	37,58± 2,28	32,45 ± 2,26 ***	34,27 ± 1,56 *	30,59 ± 1,30 ****, ++	0,0001

K: Kontrol, LA: Lipoik asit, VPA: Valproik asit, P: Protein, D:Doku, Ort: Ortalama, SD: Standart sapma, kU: Kilo Ünite, KAT: Katalaz, \*\*\*\* $p<0.0001$ , \*\*\* $p<0,001$ , \* $p<0.05$ : kontrol grubuna göre anlamlı, ++ $p<0.01$ : VPA grubuna göre anlamlı



**Şekil 8-** Karaciğer dokusu KAT değerlerinin grafiksel gösterimi

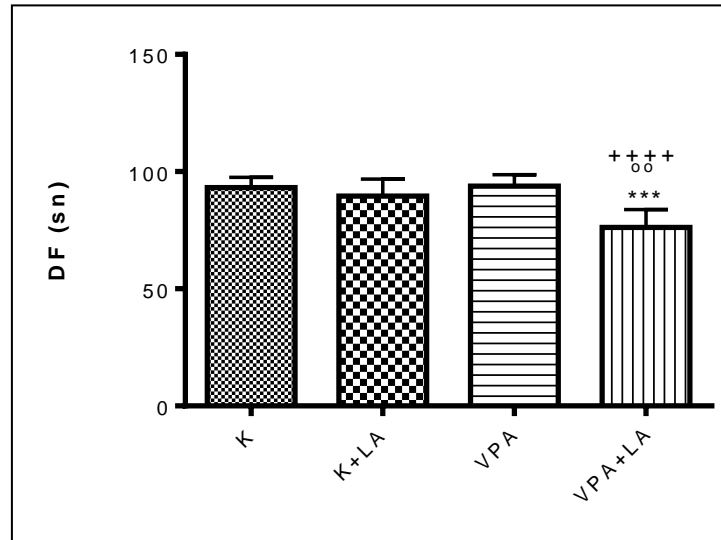
## 6.5. Doku Faktörü Sonuçları

Karaciğer DF değerleri VPA uygulanan grupta K grubuna göre anlamlı olarak değiştirmede ( $p>0.1$ ). LA verilmesi DF aktivitesini VPA+LA grubunda VPA, K+LA ve K gruplarına göre anlamlı olarak arttırdı (sırası ile  $p<0,0001$ ,  $p<0,001$ ,  $p<0.01$ ). Sürenin kısalması aktivitenin arttığı anlamına gelmektedir (Tablo 7, Şekil 9).

**Tablo 7-** Tüm gruplarda karaciğer dokusuna ait DF değerleri ve karşılaştırılması

	<b>K</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>K+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>VPA+LA</b> (n=7) <b>Ort ± SD</b>	<b>P<sub>(Anova)</sub></b>
<b>DF</b> <b>(sn)</b>	93,14± 4,38	89,57 ± 7,25	93,86 ± 4,85	76,14 ± 7,65 ***, +++, <sup>oo</sup>	0,0001

K: Kontrol, LA: Lipoik asit, VPA: Valproik asit, P: Protein, D:Doku, Ort: Ortalama, SD: Standart sapma, sn: Saniye, DF: Doku faktörü, \*\*\* $p<0,001$ : kontrol grubuna göre anlamlı, +++ $p<0.01$ : VPA grubuna göre anlamlı, <sup>oo</sup> $p<0,01$  K+LA grubuna göre anlamlı



**Şekil 9-** Karaciğer dokusu DF değerlerinin grafiksel gösterimi

## 7. TARTIŞMA

Antiepileptik tedavi senelerce devam edebilen hatta hastaların çoğunda yaşam boyu devam eden bir uygulama olabilmektedir. Epileptik ilaçların etkin dozlarda veya beraber kullanımları önem oluşturan yan etkileri ortaya çıkabilmektedir. Çoğu kronik yan etkiler yıllarca tanınmamakla birlikte bazı olası toksisite durumlarında net bir yaklaşım ortaya konmamıştır. Antiepileptiklerin kullanımı sırasında akut dönemde beliren yan etkiler daha çok hipersensivite tepkimeleri ile ya da dozla ilişkili iken, kronik yan etkiler ise çeşitli şekillerde ortaya çıkabilmektedir, saptanması da oldukça güçleşebilmektedir (Uysal, 2008). Karbamezapin, fenitoin ve VPA parsiyel epilepsi ve sekonder jeneralize epilepsi tedavisinde ilk seçilecek ajanlardır. Yeni antikonvülzanlar parsiyel epilepsilerde kullanılmakla birlikte bu ilaçlarda deneyimler sınırlıdır. Valproik asit tüm primer jeneralize epilepsilerde etkili bir ajandır. Çok sayıda deneysel hayvan modellerinde ; *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda valproik asidin geniş spektrumlu antiepileptik etkinliği kanıtlanmıştır (Herranz ve ark., 1988).

Karaciğerimiz birçok toksin, kimyasal etken ile ilaçlarla sürekli olarak karşılaşan ve bunları detoksifiye eden bir organımızdır. Karaciğer; sindirim sistemi ile dolaşım sistemi arasındaki yerleşimi ve ortaya koyduğu görevleri nedeniyle pek çok nedenle hasarlanabilen bir organdır. Bu süreçte etkin bir rejenerasyonla veya onarımla cevaplanılmazsa normal karaciğer yapısı ve görevlerinde oluşan toksisite nedeniyle harabiyet meydana gelebilmektedir (Cnubben ve ark., 2001). Oluşan normal şartlarda iç ve dış kaynaklı farklı stres faktörleri hücrel dengeyi sürekli olarak değiştirmektedir. Bu oluşumlara karşı korunmadaysa antioksidanlar önemli rol almaktadır (Yüce ve Aksakal, 2007).

Odabaşoğlu'nun yaptığı araştırmalarda antioksidan'ın antioksidan dı olarak anılan LA tedavisinin böbrek ve karaciğer fonksiyonlarını normalleştirdiğini oluşan hasarları onardığı ifade edilmektedir (Odabaşoğlu, 2001).

Çalışmamızda epilepsi hastalarının uzun süre kullanımını gerektiren antiepileptik ilaç olan VPA in karaciğerde oluşturabileceği teratöjenite ve hepatoksisitenin doğal bir antioksidan olan LA ile düzelip düzelmeyeceği, karaciğer yapı ve fonksiyonların normale gelip gelmeyeceği araştırıldı. Valproik asit'in terapötik serum konsantrasyonu 50-100 µg/ mL arasındadır. Bu değerlerin üzerinde zehirlenme bulguları ortaya çıkmaktadır. Terapotik konsantrasyonlarda %90' ı proteine bağlanır. Fakat serum konsantrasyonu arttıkça bağlanma yuzdesi azalır (Yardan, 2008). Serum

konsantrasyonu 100 µg/mL üzerinde olduğunda nöbet sıklığında artma, beyin ödemeine bağlı konfüzyon, letarji, koma, kemik iliğinin baskılanmasına bağlı pansitopeni, pankreatit, hepatotoksisite, elektrolit bozuklukları, metabolik asidoz ve hiperamonyemi görülebilir (Temrel ve ark., 2013; Sztajnkrzyca, 2002; Temel ve ark., 2013). Spiller ve ark. (2000)'nin yaptığı çalışmada kan VPA düzeyi 850 µg/mL olan tüm hastalarda koma tablosunun geliştiğini bildirmişlerdir.

Vücudumuzda oluşan oksidatif stresi önlemeye yarayan, çeşitli birçok enzim ve endojen maddeler bulunmaktadır. Ancak bazen oksidanlar belli bir seviyenin üstüne çıkar veya antioksidanlar yetersiz kalıp, denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı olan enzimleri bozarak teratöjenik etkiler oluşturabilirler. Zararlı etkilerin tümüne oksidatif stres denilmektedir. Bu nedenle vücuda dışardan koruyucu, engelleyici, iyileştirici özelliklere sahip olan antioksidan alınması önemlidir (Valko ve ark 2007).

Hücre membranında bol miktarda bulunan kolesterol ve doymamış yağ asitlerinin ROS ile reaksiyonu sonucunda lipid peroksidleri oluşarak hücrenel komponentler üzerinde toksik etki gösterir (Kavas, 1994). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA oksidatif hasarda önemli bir indikatördür (Düzgüner, 2005, Tong ve ark., 2005). Membran komponentlerine çapraz bağlanabilme ve DNA bazları ile de reaksiyona girebilmesi nedeniyle membran esnekliği, transportu gibi özellikleri değiştirebilir. Bu özellikleri ile MDA genotoksik ve karsinogeniktir (Mukai ve Goldstein, 1976). Glutatyon başta karaciğer olmak üzere pek çok dokuda yüksek düzeylerde bulunan ve bir tripeptit yapılı antioksidandır (Anderson ve Meister, 1989). Valproik asid ve metabolitlerinin sıçanlara verilmesiyle ilgili yapılan bir çalışmada karaciğerde toksisite olduğu oksidan parametrelerin arttığı ve antioksidan parametrelerin azaldığı tesbit edilmiştir;

Hacıhasanoğlu (2011) yaptığı çalışmada VPA ile karaciğerde toksisite oluşturmuş, karaciğerde VPA verilen grupta kontrol grubuna göre GSH'nun anlamlı olarak azaldığını ve LPO'nun anlamlı olarak arttığı saptanmıştır (Hacıhasanoğlu, 2011). Sökmen ve ark. 500mg/kg/gün dozunda 15 gün boyunca VPA verilen sıçanların karaciğerinde kontrol grubuna oranla LPO'nun arttığını ve GSH'nun azaldığını göstermişlerdir (Sökmen ve ark., 2012). Abdel-Dayem ve arkadaşları da 500mg/kg/gün dozunda 14 gün boyunca VPA verilen sıçanların karaciğerinde kontrol grubuna oranla

LPO'nun arttığını ve GSH'nun azaldığını ifade etmişlerdir (Abdel-Dayem ve ark., 2014). Çalışmamızda biz de 500 mg/kg/gün dozunda 16 gün boyunca VPA verdiğimiz sıçanlarda bu çalışmalara uyumlu olarak kontrol grubuna göre karaciğerde anlamlı olarak LPO'nun artışı ancak farklı olarak GSH miktarında azalma yerine anlamlı olarak artış olduğu tespit edildi. Hacıhasanoğlu ve ark. yaptığı çalışmadan farklı olarak total protein değerlerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Çalışmamızda VPA uygulanan grupta kontrol grubuna göre karaciğer SOD ve KAT aktivitelerinde ise anlamlı bir azalma saptandı. DF deki artış ise anlamlı çıkmadı.

Valproik asit yüzünden zehirlenmelerde klinikte optimal tedavi yönteminde net açıkça bilinmemektedir. Bu şekildeki zehirlenmelerde halen destek tedavisi ilk kullanılan seçenektendir. Bircok zehirlenmelerde olduğu gibi merkezi sinir sistemi depresyonu gelişen hastalarda hava yolu korunması önemlidir. Sıvı elektrolit, asit baz bozukluklarını ve pıhtılaşma bozukluklarıyla birlikte izlenmelidir, gerekirse bu tedavi edilmesi şarttır. Nöbetlerin geliştiği olgularda benzodiazepinler ve propofol kullanılabilir. Oral yoldan VPA alımını takiben birinci saatte yapılan gastrik lavaj ve tekrarlayan aktif kömür uygulanması ilacın emilimini azaltarak kan VPA düzeyinide azaltabilecek özelliğindedir (Sztajnkrzyca, 2002; Perrott ve ark., 2010).

Valproik asit veya diğer maddelerin karaciğere verdiği hasarı gidermek için çeşitli deneysel çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda edaravon (Hacıhasanoğlu, 2011), U vitamini (Sökmen ve ark, 2012), taurin (Doğru-Abbasoğlu S., 2014, Hagar ark., 2006), resveratrol (Keser ve ark. 2006) ve omega-3 yağ asidi ( Abdel-Dayem ve ark., 2014) kullanılmıştır.

Literatürde VPA ile oluşturulan karaciğer hasarına LA etkilerini araştıran çalışmaya rastlamadık. İlaç etkileşimlerini inceleyen VPA ve LA ile ilgili ve mitokondriyal beta oksidasyonu düzeyinde olduğunu belirten bir çalışma mevcuttur (Phua ve ark. 2008). Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanlara antioksidan etkileri olduğu bildirilen LA'nın karaciğer üzerine etkileri incelenmiştir.

Ispanak, brokoli ve domates gibi bitkilerin yanı sıra akciğer, böbrek, karaciğer ve kalp gibi hayvansal dokular da LA en önemli kaynaklarıdır. Oral olarak alınan lipoik asit ince bağırsaklardan hızla emilerek karaciğere gelir. Hücre içinde DHLA indirgenir. Alınan LA'nın yaklaşık %80'i idrarla atılır. Diyet takviyesi olarak kullanılan ticari formlarında 50-600 mg arasında alfa lipoik asit bulunmaktadır.



Lipoik asidin etkilerini incelemek için genel olarak 100-800 mg arasındaki dozlar kullanılmıştır (Yürük ve Ayaz, 2014). İnsanlarda yapılan bir çalışmada günlük 600-2400 mg dozun güvenilir olduğu bildirilmiştir. (Reljanovic ve ark., 1999). Çok yüksek dozlarda alımının alerjik deri reaksiyonları ve hipoglisemiye neden olabileceği rapor edilmiştir (Packer ve ark., 2001).

Lipoik asit'in hücre içi ROS'ların pek çoğunun radikalik etkisini süpürerek oksidatif stresle savaştığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Bilska ve Wlodex, 2005). ROS'ların radikal etkilerini ortadan kaldırması bir tarafa C vitamini, E vitamini ve glutatyon GSH'ın diğer hücrel antioksidanların rejenere edilerek yeniden kullanılabilir forma getirilmesinide LA'nın sağladığı belirtilmiştir.

Kang ve ark. farelerde oluşturduğu karaciğer hasarında antioksidan olarak kivi ekstraktı kullanmışlar ve siroz grubunda azalan GSH redüktaz aktivitesinin antioksidan kullanıldığında kontrol grubuna yaklaştığını belirlemişlerdir (Kang ve ark., 2012).

Hagen ve ark. diyetle  $\alpha$ -LA uygulamasının sıçanların karaciğerinde yaşlanmaya bağlı olarak artan MDA düzeylerinde azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir (Hagen ve ark., 1999). Serebrovasküler bölgeye streptozotosin enjekte edilmiş sıçanlarda diyetle verilen  $\alpha$ -LA'in, merkezi sinir sistemindeki oksidatif hasarı ve MDA düzeylerini azalttığı bulunmuştur (Sharma ve ark., 2003).

Kadmiyum ile toksik etki oluşturulan bir araştırmada GSH ve  $\alpha$ -LA uygulamasının böbrek dokusunda LPO oluşumunu önlediği vurgulanmıştır (Veljkovic ve ark., 2012). Lipopolisakkaritle akut akciğer hasarını oluşturmadan hemen öncesinde yada sonrasında  $\alpha$ -LA kullanımı, hasarın neden olduğu inflamatuvar cevap belirteçlerinde ve histolojik değişimde azalmayı sağladığı gösterilmiştir (Lin ve ark., 2013).

Suh ve ark. yaşlanmaya bağlı olarak beyin ve miyokardiyal doku GSH ve redoks durumunda görülen azalmanın  $\alpha$ -LA uygulaması ile önlenbildiğini tespit etmişlerdir (Suh ve ark., 2004).

*In vivo* araştırmalarda LA tiyol/disülfit reaksiyonlarını modüle ettiği, glutatyon sentezini arttırdığı, glutatyon sentaz ve  $\gamma$ -glutamilsistein sentetaz enzimlerinin indüklenmesine neden olduğu gösterilmiştir (Packer ve Cadenas, 2011).

Lee ve ark. ile yapılan bir araştırmada, gerbil beyin homojenatlarında *invitro* H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve FAS uygulanmasıyla lipid peroksidasyon sağlanmış ve  $\alpha$ -LA'in doza bağımlı olarak lipid peroksidasyonunu azalttığı bulunmuştur. Aynı çalışmada H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ferröz

iyonların oksidasyon yapıcı etkilerinden dolayı biyolojik hasara yol açtıkları bildirilmiştir (Lee ve ark., 2003).

Arsenik toksisitesi geliştirilmiş sıçanlarda  $\alpha$ -LA uygulamasının karaciğer ve böbrekte MDA 'nın oluşumu azaldığı gösterilmiştir (Kokilavani ve ark., 2005). Doksorubisin ile miyokard toksisitesi geliştirilmiş ratlarda  $\alpha$ -LA uygulamasının kalp dokusundaki MDA oluşumunu azalttığı bulunmuştur. Doksorubisin metabolitlerinin  $Fe^{2+}$ 'i ferritinden ayırdığı ve ferröz iyonların elektron transferi ile  $H_2O_2$  ve  $OH\bullet$  oluşturarak LPO'na yol açtığı bildirilmiştir.  $\alpha$ -LA metal şelasyonu yapma ve  $OH\bullet$  radikali gibi serbest radikalleri temizleme yeteneğine sahip güçlü bir antioksidant olduğu ileri sürülmektedir (Al-Majed ve ark., 2002).

Lipoik asit'le ilgili verilen bazı çalışmalarda sıçan karaciğer dokusu MDA düzeyinde azalma, GSH düzeyinde ise artma bulunmuştur (Yapar, 2006).

Çalışmamızda LA verilen VPA grubunda GSH düzeylerinde, SOD ve DF aktivitelerinde anlamlı artışa, MDA ve KAT değerlerinde ise anlamlı azalmaya neden olmuştur.

Transmembran proteini olan DF, membran kompozisyonu, ısı, pH değişimleri ve oksidatif strese etkilenmektedir (Yarat, 2003). Çalışmamızda VPA verilmesi ile oksidatif stresin artması DF aktivitesinde anlamlı değişime neden olmadı. Valproik asid verilen gruba LA verilmesi ile karaciğer DF aktivitesi anlamlı derecede arttırdı. Karaciğerde kanamaya meyili azalmaktadır.

Superoksid dismutaz enzimi, süperoksit anyonunu hidrojen peroksit'le moleküler oksijen'e dönüşümü katalizlemektedir. Hidrojen peroksit sonrasında glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimiyle etkisiz şekle gelmektedir. Hücre bölünmelerindeki süperoksit seviyelerini kontrol etmek için önemlidir (Fridovich, 1983). VPA kullanımının yararlı bir antioksidan olan SOD ve KAT aktivitesinde miktarında düşüşe neden olurken LA verilmesi ise SOD aktitesini arttırdı, KAT aktivitesini azalttı. LA verilen konsantrasyonu v uygulanan süre VPA'nın azalttığı KAT aktivitesini yükseltmeye yetmemiştir.

## 8.SONUÇ

Valproik asit uygulanan grupta kontrol grubuna göre karaciğer MDA ve GSH düzeyleri anlamlı olarak artmış, SOD ve KAT aktiviteleri anlamlı olarak azalmıştır. Doku faktöründe anlamlı değişme olmamıştır. Sıçanlara LA verilmesi, VPA grubunda GSH düzeylerinde, SOD ve DF aktivitelerinde anlamlı artışa, MDA ve KAT değerlerinde ise anlamlı azalmaya neden olmuştur.

Sonuç olarak, VPA'nın oluşturduğu karaciğer hasarında LA'nın koruyucu etkisinin tesbiti epilepsi tedavisinde LA'nın bir alternatif yaklaşım olabileceğini ve tedaviye katkı sağlayabileceği görülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Aarli JA. Epilepsy and the immun system. Arch Neurol. 2000; 57(12): 1689-1692.
- Abdel-Dayem MA, Elmarakby AA, Abdel-Aziz AA, Pye C, Said SA, El-Mowafy AM. Valproate-induced liver injury: modulation by the omega-3 fatty acid DHA proposes a novel anticonvulsant regimen. Drugs RD. 2014;14(2):85-94.
- Aebi H. Catalase *in vitro*. In: Bergmeyer HU, John Wiley& Sons, eds. Methods of Enzymatic Analysis. 2nd. vol.2. FL, USA; 1974, p:121-126.
- Akkuş İ, Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, 1. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya; 1995: 17 ;60-61.
- Alturfan EI. Hiperlipidemik ve diyabetik hayvan modellerinde ‘arachis hypogae’ ve doymamış yağ asidi içeriğinin trombojenik aktivite ve lipid profili üzerine etkisinin incelenmesi. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2006, İstanbul (Danışman: Prof.Dr.A. Yarat).
- Andersen HR, Nielsen JB, Nielsen F, Grandjean P. Antioxidative enzyme activities in human erithrocytes. Clin Chem. 1997; 43 (4): 562-568.
- Anderson ME, Meister A. Glutathione Monoesters, Anal Biochem. 1989;183: 16-20.
- Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayıroğlu F. Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. Sağlık Bil Derg 1995; 2: 137-142.
- Atmaca G. Sarımsağın ve tiol içeren bazı bileşiklerin antioksidatif etkileri, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2003;20(1-3):54-60.
- Bayar B.Z. Karbamazepin Ve Valproik Asit Kullanan Epilepsi Hastalarında Tiroid Hormonlarının Değerlendirilmesi. Bakırköy Ord. Prof. Dr. Mazhar Osman Uzman Ruh Sağlığı Ve Sinir Hastalıkları Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 1.Nöroloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, 2007, İstanbul (Danışman: Doç. Dr. Baki Arpacı).
- Beutler E. Glutathione in red cell metabolism. In: Beutler E(ed). A Manuel of Biochemical Methods, 2nd ed, Grune and Stratton NY, 1975: 112-114.
- Biewenga G, Haenen G, Bas A. The pharmacology of the antioxidant lipoic acid. Gen Pharmacol.1997;29(3):315-331.
- Bilska A, Włodek L. Lipoic acid - the drug of the future. Pharmacol Rep. 2005;57(5):570-577.
- Bora İ, Taşkapıoğlu Ö. Epilepsi tedavisinde yeni yönelimler, Epilepsi. 2003;9(2): 91-102.
- Brodie MJ, Perucca E, Ryvlin P, Ben-Menachem E, Meencke HJ. Comparison of levetiracetam and controlled-release carbamazepine in newly diagnosed epilepsy. Neurology. 2007;68(6):402-408.

- Busby RW, Schelvis JPM, Yu DS, Babcock GT, Marletta MA. Lipoic acid biosynthesis: Lip A is an iron- sulfur protein. *J Am Chem Soc.* 1999;121: 4706-4707.
- Busse E, Zimmer G, Schopohl B, Kornhuber B. Influence of alfa lipoic acid on intracellular glutathione In vitro an In vivo, *Arzneim-Forsch/Drug Res.* 1992;42: 829-831.
- Callenbach PMC, Jol-Van Der Zijde CM, Geerts AT, Arts WFM, Van Donselaar CA, Peters ABC, Stroink, Brouwer OF, Val Tol AMJ. Immunoglobulins in children with epilepsy: The dutch study of epilepsy in childhood. *Clin Exp Immunol.* 2003; 132(1): 144–151.
- Cnubben NH, Rietjens IM, Wortelboer H, van Zanden J, van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2001;10(4): 141-152.
- Cremer DR, Rabeler R, Roberts A, Lynch B. Safety evaluation of alfa lipoik acid (Ala). *Regul Toxicol Pharmacol.* 2006; 46(1) : 29-41.
- de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, Vermeulen NP. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med.* 1999; 26: 202-226.
- Deleve LD, Shulman HM, Mc Donald GB. Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease). *Semin Liver Dis.* 2002; 22: 27-42.
- Doğdu S. Epilepsi Hastalığı Ve Tedavi Yöntemleri. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı Bitirme Ödevi, 2013, Kayseri (Danışman Doç. Dr. Nalan İmamoğlu).
- Doğru-Abbasoğlu S, Başaran-Küçükgergin C, Bingül I, Tekkeşin MS, Olgaç V, Uysal M. Effects of carnosine, taurine, and betaine pretreatments on diethylnitrosamine-induced oxidative stress and tissue injury in rat liver. *Toxicol Ind Health.* 2014;31:748-832.
- Dreifuss FE, Langer DH. Side effects of valproate. *Am J Med.* 1988;84;(1A):34-41.
- Dröge K, Schulze-Osthoff S, Mihm D, Galter H, Schenk HP, Eck S. Roth, Gmünder H. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *FASEB BJ.* 1994; 8: 1131–1138.
- Düzgüner V. Deneysel Olarak Diyabet Olusturulan Tavşanlarda Çinkonun Lipit Peroksidasyonu Ve Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi. Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2005, Hatay (Danışman Doç. Dr. Şule Kaya).
- Ethemoğlu Ö. Selektif Amigdalohipokampektomi Operasyonu Geçiren Mesial Temporal Lob Epilepsili Hastaların Klinik-Patolojik Özellikleri İle Hipokampal Sklerozda P-Glikoprotein Ekspresyonu İlişkisi. Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 3. Nöroloji Kliniği, Uzmanlık Tezi, 2006, İstanbul (Danışman: Doç.Dr. Dursun Kırbaş).

- Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals antioxidants and nutrition. *Nutrition*. 2002; 18: 872-879.
- Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles measurement and biosynthesis. *Mol Aspects Med*. 2009; 30(1-2):1-12.
- Fridovich I. Superoxide radical: An endogenous toxicant, *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. 1983; 23: 239-257.
- Garzon P, Gonzalez-Cornejo S, Roman-Maldonado S, Navarro-Ruiz A. Valproic acid and phenytoin effects on serum proteins and immunoglobulins of epileptic patients. *Gen Pharmacol*. 1985; 16: 411-413.
- Gram I, Drachmann Bentsen K. Valproate: An updated review, *Acta Neurol Scand*. 1985; 72: 129-139.
- Grant RHE, Barot M. The use of sodium valproate (Epilim) in severely handicapped patient with epilepsy. Clinical and pharmacological aspects of sodium valproate (epilim) in treatment of epilepsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1975;1:14-22.
- Gugler R, von Unruh GE. Clinical pharmacokinetics of valproic acid. *Clin Pharmacokinet*. 1980;5(1):67-83.
- Hacıhasanoğlu N. Siçanlarda valproik asid ile oluşturulan karaciğer hasarına edaravon'un etkileri, İstanbul Üniversitesi Fen Bil. Enst, Yüksek Lisans Tezi, 2011. İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Refiye Yanardağ).
- Haddad JJ, Olver RE, Land SC. Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF-1alpha and NF-kappa B redox sensitivity, Evidence for inhibition by glutathione oxidation in alveolar epithelial cells. *J Biol Chem*. 2000; 275 (28): 21130–21139.
- Hagar HH, El Etter E, Arafa M. Taurine attenuates hypertension and renal dysfunction induced by cyclosporine A in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33(3):189-96.
- Hagen TM, Ingersoll RT, Lykkesfeldt J, Liu J, Wehr CM, Vinarsky V, Bartholomew JC, Ames AB. (R)- $\alpha$ -lipoic acid-supplemented old rats have improved mitochondrial function, decreased oxidative damage and increased metabolic rate. *FASEB J*. 1999;13(2): 411-418.
- Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*. 1993;57(5):715S-725S.
- Han D, Handelman G, Marcocci L, Sen CK, Roy S, Kobuchi H, Tritschler HJ, Flohe L, Packer L. Lipoic acid increases de novo synthesis of cellular glutathione by improving cysteine utilization. *Biofactors*. 1997; 6: 321-338.
- Haroldson JA, Kramer LE, Wolff DL, Lake KD. Elevated free fractions of valproic acid in a heart transplant patient with hypoalbuminemia. *Ann Pharmacother*. 2000; 34: 183-187.
- Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res*. 1999; 31(4): 273–300.

- Hemingway C, Leary M, Riordan G, Schlegal B, Walker K. The effect of carbamazepine and sodium valproate on the blood and serum value children from a third world environment. *J Child Neurol.* 1999; 14: 751-753.
- Herbert AA, Guest JR. Lipoic acid content of escherichia coli and other microorganisms. *Arch Microbiol.* 1975; 106:259-266.
- Herranz JL, Armijo JA, Arteaga R. Clinical side effects of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine and valproate during monotherapy in children, *Epilepsia.* 1988; 29: 794-804.
- Herzog AG, Schacter SC. Valproate and the polycystic ovarian syndrome. Final thoughts, *Epilepsia.* 2001;42: 311-315.
- Ingram GIC, Hills M. Reference method for the one stage prothrombin time test on human blood, *Thromb-Haemostas.* 1976; 36: 237-238.
- İncecik F, Songün Ö, Melek İ, Duman T. Epilepsi hastalarında valproik asid kullanımının serum proteinleri ve immunglobulinleri üzerine etkisi. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal).* 2007;29(3): 210-214.
- Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci.* 2002; 65: 166-176.
- Jenkins RR, Tengji J. Catalase activity in skeletal muscle of varying fiber types, *Experientia.* 1981; 37: 67-68.
- Jonsson JR, Edwards- Smith CJ, Catania SC. Expression of cytokines and factors modulating apoptosis by human sinusoidal leucocytes, *J Hepatol.* 2000; 32: 392-398.
- Joubert PH, Aucamp AK, Potgieter GM, Verster F. Epilepsy and IgA deficiency the effect of sodium valproate, *S Afr Med J.* 1977; 52: 642-644.
- Kagan VE, Shvedova A, Serbinova E, Khan S, Swanson C, Powell R, Packer L. Dihidrolipoic acid- a universal antioksidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, Ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem Pharmacol.* 1992; 44: 1637-1649.
- Kang W, Yang H, Hong HJ, Han CH, Lee YJ: Anti-oxidant activities of kiwi fruit extract on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice, *Korean J Vet Res,* 2012;52: 270-280.
- Karaca EG. Dietilnitrozamin Verilen Ratlarda Alfa Lipoik Asidinin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 2007, Afyonkarahisar (Prof. Dr. Nalan Baysu Sözbilir).
- Kavas GÖ. Reaktif oksijen metabolitlerine fizyopatolojik yaklaşım. *Ankara Tıp Mecmuası (The Journal Of The Faculty Of Medicine)* 1994; 47 : 579-592.
- Keser A, Atalayin C, Armagan G, Konyalioglu S, Kemaloglu H, Tezel H, Ergucu Z, Dagci T, Onal B. The protective effect of resveratrol against dentin bonding agents-induced cytotoxicity. *Dent Mater J.* 2015;34(6):766-773.

- Kesim Ö. Monoterapi ile tedavi edilen epilepsi hastalarında troid fonksiyonularının incelenmesi, Uzmanlık Tezi, Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği, 2009, İstanbul (Danışman Dr. Nihal Işık).
- Kimmel RJ, Irwin SA, Meyer JM. Valproic acid-associated hyperammonemic Encephalopathy: A case report from the psychiatric setting, *Int Clin Psychopharmacol.* 2005;20: 57-58.
- Knapen MFCM. The glutathione / glutathione-related enzyme system in reproduction. *ECOG.* 2000; 91: 127-129.
- Kokilavani V, Devi MA, Sivarajan K, Panneerselvam C. Combined efficacies of DL-alpha-lipoic acid and meso 2,3 dimercaptosuccinic acid against arsenic induced toxicity in antioxidant systems of rats. *Toxicol Lett.* 2005;160(1): 1-7.
- Kusunoki M, Yamamura T, Ichii S, Fujita S, Nakai T, Utsunomiya J. The effects of sodium valproate on plasma somatostatin and insulin in humans, *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 67: 1060-1063.
- Ledwozyw A, Michalak D, Stepien A, Kadziolka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta.* 1986; 155:275-283.
- Lee SR, Im KJ, Suh SI, Jung JG. Protective effect of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate and other antioxidants on lipid peroxidation in gebril brain homogenates. *Phytother Res.* 2003;17(3): 206-209.
- Lee WM, M.D. Drug-induced hepatotoxicity, *N Engl J Med,* 2003; 349: 474-485.
- Lenti C, Masserini C, Peruzzi C, Guareschi Cazzullo A. Effects of carbamazepine and valproate on immunological assessment in young epileptic patients. *Ital J Neurol Sci.* 1991; 12: 87-91.
- Levin TI, Berdon WE, Seigle RR, Nash MA. Valproic acid associated pancreatitis and hepatic toxicity in children with end stage renal disease. *Pediatr Radiol.* 1997; 27: 192-193.
- Lheureux PE, Penaloza A, Zahir S, Gris M. Science Review: carnitine in the treatment of valproic acid-induced toxicity-what is the evidence. *Crit Care.* 2005;9: 431-440.
- Lin YC, Lai YS, Chou TC. The protective effect of alpha-lipoic acid in lipopolysaccharide-induced acute lung injury is mediated by heme oxygenase-1. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013; 12,pages.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193: 265-275.
- Löscher W, Ebert U, Lehmann H, Rosenthal C, Nikkhah G. Seizure suppression in kindling epilepsy by grafts of fetal GABA ergic neurons in rat substantia nigra. *J Neurosci Res.* 1998; 51(2): 196-209.
- Mackman N. Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(6):1015-1022.



- Mates JM, Sanchez-Jimenez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes. *Front Biosci.* 1999; 4: 339–345.
- Mukai FH, Goldstein BD. Mutagenicity of malondialdehyde: a decomposition product of polyunsaturated fatty acids. *Science.* 1976; 191: 868-869.
- Mylorie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1986; 82: 512-520.
- Odabaşoğlu F. Alfa-lipoik asit. *Pharmaşark.* 2001;4:12-15.
- Ou P, Tritschler HJ, Wolff SP. Thiocctic (lipoic) acid : a therapeutic metal-chelating antioxidant. *Biochem Pharmacol.* 1995; 50(1): 123-126.
- Öztürk Ö, Akkaya A, Argüz G, Özmen Ö, Kavruk O, Kaplan Ş. Yüksek oranda fruktoz içeren mısır şurubunun solunum sistemine etkisi. *Med J SDU / SDÜ Tıp Fak Derg.* 2015;22(1):1-7.
- Packer L, Cadenas E. Lipoic acid: energy metabolism and redox regulation of transcription and cell signaling. *J Clin Biochem Nutr.* 2011; 48.1: 26-32.
- Packer L, Kraemer K, Rimbach G. Molecular aspects of lipoic acid in the prevention of diabetes complications. *Nutrition,* 2001; 17(10): 888-895.
- Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alfa-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Bio Med;* 1995; 19.(2): 227-250.
- Parcell S. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev.* 2002; 7: 22- 44.
- Patsalos PN, Fröscher W, Pisani F, van Rijn CM. The importance of drug interactions in epilepsy therapy. *Epilepsia.* 2002; 43: 365-385.
- Perrott J, Murphy NG, Zed PJ. L-Carnitine for acute valproic acid overdose: a systematic review of published cases. *Ann Pharmacother.* 2010; 44(7-8):1287-1293.
- Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis, *Semin Liver Dis.* 2001; 21: 57-69.
- Phua LC, New LS, Goh CW, Neo AH, Browne ER, Chan EC. Investigation of the drug-drug interaction between alpha-lipoic acid and valproate via mitochondrial beta-oxidation. *Pharm Res.* 2008; 25(11):2639-2649.
- Podda M, Tritschler HJ, Ulrich H, Packer L, A-lipoic acid supplementation prevents symptoms of vitamin E deficiency, *Biochem Biophys Res Commun.* 1994; 204: 98-104.
- Poon HF, Calabrese, Scapagnini G, Butterfield DA. Free radicals and brain aging. *Clin Geriatr Med.* 2004; 20: 329-359.
- Porter NA, Caldwell SE, Mills KA. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids.* 1995; 30: 277-290.

- Rauch U, Nemerson Y. Circulating tissue factor and thrombosis. *Curr Opin Hematol.* 2000;7(5):273-7.
- Reljanovic M, Reichel G, Rett K, Lobisch M, Schuette K, Möller W, Tritschler HJ, Mehnert H. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): a two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial (ALADIN II). *Alpha lipoic acid in diabetic neuropathy. Free Radic Res.* 1999; 31.3: 171-179.
- Rettie EA, Boberg M, Rettenmier AW, Baillie TA. Cytochrome P450 catalyzed desaturation of valproic acid in vitro. *J Biol Chem.* 1998; 263 : 13733-13738.
- Rimmer ME, Richens A. An update on sodium valproate, *Pharmacother.* 1985; 5(3) : 171-184.
- Roberts HR, Monroe DM, Hoffman M. Molecular biology and biochemistry of the coagulation factors and pathways of hemostasis. In: Beutler E, Coller B, Lichtman MA. Eds: *William's Hematology.* 6th Edition. Mcgraw-Hill Publishing, New York. 2000; pp. 1218-1308.
- Rugino TA, Janvier YM, Baunach JM, Bilat CA. Hypoalbuminemia with valproic acid administration. *Pediatr Neurol.* 2003; 29: 440-444.
- Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol.* 2003 ;16: 165-170.
- Sander JW. The use of antiepileptic drugs-principles and practice . *Epilepsia.* 2004 ;45 (6): 28-34.
- Seğmen H. İdyopatik Jeneralize Epilepsilerde Genetiğin Yeri Ve Scn1a Geninde D188v Mutasyonu. Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği, 2005, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. Osman Tanık).
- Sharma M, Gupta YK. Effect of alpha lipoic acid on intracerebroventricular streptozotocin model of cognitive impairment in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2003;13.4:241-247.
- Shelley LK, Balfry SK, Ross PS, Kennedy CJ. Immunotoxicological effects of a sub-chronic exposure to selected current-use pesticides in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Aquat Toxicol.* 2009; 92: 95–103.
- Sherlock S, Dooley JS, Sheila, Dame. Anatomy and function, disease of liver and biliary system. In: Dooley JS, Lok AS, Burroghs AK, Heathote EJ, eds. *Sherlock's diseases of the liver ant biliary system.* 12th ed. Blackwell Publishing Ltd. Published 2011: 1-18.
- Shih TT, Flynn KL, Morrell MJ. Menarche in women with epilepsy. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 1999; 53(1): 542-548.
- Silva MF, Aires CC, Luis PB, Ruiten JP, Ijst L, Duran M, Wanders RJ, Tavares De Almeida I. Valproic acid metabolism and its effects on mitochondrial fatty acid oxidation: a review. *J Inherit Metab Dis,* 2008; 31 : 205-216.
- Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.* 1984; 222: 1-15.

- Snell EE, Strong FM, Peterson WH. Growth factors for bacteria: fractionation and properties of an accessory factor for lactic acid bacteria. *Biochem J.*1937;31: 1789-1799.
- Sole J, Huguet J, Arola L, Romeu A. In Vivo effects of nickel and cadmium in rats on lipid peroxidation and ceruloplasmin activity. *Bullutein Environmant contamin Toxicol.* 1990; 44: 686–69.
- Sökmen BB, Tunali S, Yanardağ R. Effects of vitamin U (S-methyl methionine sulphonium chloride) on valproic acid induced liver injury in rats, 2012; 50(10): 3562-3566.
- Spiller HA, Krenzelok EP, Klein-Schwartz W, Winter ML, Weber JA, Sollee DR, Bangh SA. Griffith Jr. Multicenter case series of valproic acid ingestion: serum concentrations and Toxicity. *J Toxicol Clin Toxicol,* 2000; 38 : 755-760.
- Suh JH, Wang H, Liu RM, Liu J, Hagen TM. (R)-Alpha-lipoic acid reverses the age-related loss in GSH redox status in post-mitotic tissues: evidence for increased cysteine requirement for GSH synthesis. *Arch Biochem Biophys.* 2004; 423(1):126-35.
- Sushil KJ. Membrane lipid peroxidation in erythrocytes of the newborn. Published by Elsevier B.V. 1986;161(3):301-306.
- Sztajnkrzyer MD. Valproic acid toxicity: overview and management. *J Toxicol Clin Toxicol.* 2002;40(6):789-801.
- Temrel TA, İzdeş S, Celik GK, Altıntaş D, Kavaklı HŞ, Ahmedali A. Successful treatment of valproic acid intoxication with hemodialysis and L-carnitine. *JAEMCR.* 2013; 4: 10-2.
- Tong Y, Zhang X, Tian F, Yi Y, Xu Q, Li L, Tong L, Lin L ve Ding J, Philinopside A. A Novel marine-derived compound possessing dual anti-angiogenic and anti-tumor effects. *Int J Cancer.* 2005; 114: 843–853.
- Toprak Ç. Çocuk Nöroloji Hastalarının Sosyodemografik Özellikleri. Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, 2010, Diyarbakır (Danışman: Prof. Dr. Ahmet Yaramış).
- Uysal P. İlk Kez Afebril Konvülsiyon Geçiren Çocuklarda Etiyolojik Ve Prognostik Faktörler. Bakırköy Kadın Doğum Ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, Uzmanlık Tezi, 2008, İstanbul (Danışman: S. Erdal Adal)
- Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, Scoullou M. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2006; 64(2):178–189.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39(1):44-84.

- van de Poll MC, Soeters PB, Deutz NE, Fearon KC, Dejong CH. Renal metabolism of amino acids: its role in interorgan amino acid exchange. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(2):185-197.
- Veljkovic AR, Nikolic RS, Kocic GM, Pavlovic DD, Cvetkovic TP. Protective effects of glutathione and lipoic acid against cadmium-induced oxidative stress in rat's kidney. *J Nutr Biochem Ren Fail.* 2012; 34 (10): 1281-1287.
- Verotti A, Trotta D, Morgese G, Chiarelli F. Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy. *Metab Brain Dis.* 2002; 17: 367- 373.
- Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004; 134: 489-492.
- Yamatogi Y. Principles of antiepileptic drug treatment of epilepsy. *Epilepsy Curr.* 2004; 58(3): 39-44.
- Yapar BS. Alfa Lipoik Asidin Rat Karaciğer Homojenatlarında İndüklenmiş Lipid Peroksidasyonuna Etkisi Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2006, Edirne (Danışman: Yrd.Doç. Dr. SevgiEskiocak).
- Yarat A. Tromboplastik aktivite (Doku Faktörü Aktivitesi) 4.Ulusal Tromboz, Hemostaz ve Anjioloji Kongresi 26-28 Eylül, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, 2003: S.97-105.
- Yardan T, Baydın A, Genç S, Acar E, Aygün D, Erenler AK. Ciddi Valproik Asit Zehirlenmesinde Hemodiyaliz Uygulanması: Olgu Sunumu. *Türkiye Acil Tıp Dergisi - Turk J Emerg Med.* 2008;8(3):139-142.
- Yüce A, Aksakal M. Ratların karaciğer ve testis dokusundaki antioksidan aktivite üzerine nar suyunun etkisi. *FÜ Sağ Bil Derg.* 2007; 21: 253-256.
- Yürük AA, Ayaz A. Alfa lipoik asidin sağlık üzerine etkileri. *H.Ü. Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi.* 2014;1:11-23.
- Zahn CA, Morrell MJ , Collins SD , Labiner DM, Yerby MS. Management issues for women with epilepsy. *Neurology.* 1998 ; 51: 949-956.

# Etik Kurul Onayı:



## MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

### PROJE ONAY FORMU

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	<b>PROTOKOL KODU</b>	76.2015.mar	<b>ÇALIŞMA: BİLİMSEL</b>		
	<b>PROJE ADI</b>	Lipoik asidin, valproik asit ile oluşturulan toksisitede, karaciğerde bazı antiosidan ve oksidan parametreler üzerine etkisinin incelenmesi.			
	<b>SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI</b>	Prof. Dr. Ayşen YARAT			
	<b>ARAŞTIRMA MERKEZİ</b>	DEHAMER			
	<b>DESTEKLEYİCİ</b>				
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<b>TARİH: 09.10.2015</b> Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>					
<b>ÇALIŞMA ESASI</b>	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
<b>ÜYELER</b>					
<b>Ünvanı/ Adı/ Soyadı</b>	<b>Uzmanlık Dalı</b>	<b>Kurumu/ Ek Üyeliği</b>	<b>Onaylanan Proje ile İlişkisi</b>	<b>Toplantıya Katılım</b>	<b>İmza</b>
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. İnci ALİCAN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul (Yürütücü Sekreter)	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet.Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Dilek KÖKTÜRK	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	

## 11. ÖZGEÇMİŞ

Adı	SEDA	Soyadı	GÜLER
Doğum Yeri	İSTANBUL	Doğum Tarihi	31/05/1989
Uyruğu	T.C.	Tel	05347291639
E-mail	se_da@live.com	Ev tel	02125948153

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi	2016
Lisans	Kastamonu Üniversitesi	2012
Ön Lisans	Anadolu Üniversitesi	2015
Lise	Plevne Anadolu Lisesi	2006

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
English	İyi	Orta	iyi

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	89	88	81

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Temel ve ileri ofis programları	Çok iyi

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.



# INTERNATIONAL BAU DRUG DESIGN CONGRESS

BAHCESEHIR  
UNIVERSITY  
SCHOOL OF  
MEDICINE  
ISTANBUL  
TURKEY

OCTOBER 13-15 2016

Sayın Seda Güler,

13 -15 Ekim 2016 tarihleri arasında Bahçeşehir Üniversitesi' n de düzenlenecek olan **4. Uluslararası BAU İlaç Geliştirme Kongresi** ne gösterdiğiniz ilgi için teşekkür ederiz.

Kongremize göndermiş olduğunuz "**The Effects of Lipoic Acid on Rat Liver in Valproic Acid Toxicity**" başlıklı bildiri özetiniz bilimsel komite tarafından değerlendirilmiş ve **Poster** olarak kabul edilmiştir.

Kongremiz sizin katılımınızla daha da güçlenecek ve bilimsel hedefine ulaşacaktır.

Başarılarınızın devamını dileriz.

**Doç. Dr. Serdar DURDAĞI**  
Kongre Başkanı



# 4<sup>th</sup> INTERNATIONAL BAU DRUG DESIGN CONGRESS

*SEDA GÜLER*

Participated in "4<sup>th</sup> International BAU Drug Design Congress"  
held in Bahçeşehir University School of Medicine, İstanbul in  
**October 13 - 15, 2016.**

Prof. Dr. Türker KILIÇ  
Dean BAU School of Medicine

Assoc. Prof. Dr. Serdar DURDAGI  
Chairman of the Congress



PP – 103 The Effects of Lipoic Acid on Rat Liver in Valproic Acid Toxicity

<sup>a</sup>Seda Guler, <sup>b</sup>Ismet Burcu Turkyilmaz, <sup>a</sup>Burcin Alev Tuzuner, <sup>a</sup>Hazal Ipekci, <sup>a</sup>Unsal Veli Ustundag, <sup>a</sup>Tugba Tunali-Akbay, <sup>a</sup>Ebru Emekli-Alturfan, <sup>b</sup>Refiye Yanardag, <sup>a</sup>Aysen Yarat

*Department of <sup>a</sup>Basic Medical Sciences, Biochemistry, Faculty of Dentistry, Marmara University, Maltepe, Istanbul;*

*<sup>b</sup>Department of Chemistry, Faculty of Engineering, Istanbul University, Avcilar, Istanbul; Turkey*

*E-mail: [se\\_da@live.com](mailto:se_da@live.com); [ayarat@marmara.edu.tr](mailto:ayarat@marmara.edu.tr)*

**Background:** Alpha Lipoic acid (LA) increases glutathione levels through its high reactivity to free radicals that facilitates vitamins C and E regeneration (1,2). Valproic acid (VPA) is an antiepileptic drug that has some adverse effects on tissues as it impairs the oxidant-antioxidant balance (2). The aim of this study was to investigate the putative protective role of LA on rat liver in VPA toxicity.

**Method:** Rats were randomly divided into four groups as follows: Olive oil given control group (1ml, gavage); LA given group (50 mg/kg/day, gavage); VPA given group (500mg/kg/day, ip) and VPA+LA given group (in same doses). LA was given 1 h prior VPA administration. 16 days after VPA injection, rats were decapitated and liver samples were taken and homogenized. For biochemical analysis, glutathione (GSH) (4), malondialdehyde (MDA) (5) levels, superoxide dismutase (SOD) (6), catalase (CAT) (7) and tissue factor (TF) (8) activities were determined in 10% (w/v) liver homogenates.

**Results:** Liver MDA, GSH levels increased and SOD, CAT activities decreased significantly in the VPA group when compared with control group. The increase in TF activity was not significant. In the VPA group, LA administration caused significant increases in GSH levels, SOD and TF activities; significant decreases in MDA levels and CAT activities.

**Conclusion:** Based on these results we suggest that LA might prevent VPA induced oxidative stress in liver.

*Key words:* Liver, valproic acid, alpha lipoic acid, antioxidant-oxidant parameters

References:

1. Quartacci MF, Sgherri C, Lipoic acid: a unique antioxidant in the detoxification of activated oxygen species. *Plant Physiol Biochem.* ;2002, 40: 463-470.
2. Karaca EG., Lipoik asit: Evrensel antioksidan., AKÜ-Fen Bilimleri Dergisi, 2007, 8(1).
3. Ogungbenro K, Aarons L. A physiologically based pharmacokinetic model for valproic acid in adults and children. *Eur J Pharm Sci.*; 2014; 63, 45–52.
4. Beutler E. Glutathione in red cell metabolism. in: *A manual of Biochemical Methods*. 2nd ed., Grune and Stratton, NY., 1975; pp.112-114.
5. Ledwozyw A, Michalak J, Stępień A, Kądziołka A. The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta* ;1986; 155(3): 275-283.
6. Mylorie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicol App Pharmacol.*; 1986; 82(3): 512-520.
7. Aebi H. Catalase in vitro. In: *Methods of Enzymatic Analysis*, 2nd Edition, vol.2, Bergmeyer HU (Ed), FL. 1974, pp.121-126.
8. Ingram GIC, Hills M. Reference method for the one stage prothrombin time test on human blood. *Thromb Haemost.*; 1976; 36: 237-238.

