

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**EPİLEPSİ TANISI OLAN OLGULARDA OKSİDATİF STRES
DÜZEYİ VE SERUM PROLİDAZ AKTİVİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Nurettin KARACAN

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa ÇALIK

ŞANLIURFA

2016

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**EPİLEPSİ TANISI OLAN OLGULARDA OKSİDATİF STRES
DÜZEYİ VE SERUM PROLİDAZ AKTİVİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Nurettin KARACAN

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa ÇALIK

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından
06.03.2015 tarih ve 15015 protokol numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2016

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların planlanması ve yürütölmesi esnasında destek ve yardımlarını gördüğüm değerli tez hocam Doç. Dr. Mustafa ÇALIK 'a teŐekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Faköltesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetiŐmemde büyük emeiği geçen, her konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok Şey kazandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. C. Dost ZEYREK, Prof. Dr. Alpay ÇAKMAK, Doç. Dr. Ali ATAŐ, Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN, Doç. Dr. Bülent KOCA, Doç. Dr. Kabil SHERMATOV ve Yrd. Doç. Dr. Mahmut DEMİR'e sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

Tez alıŐmalarımdaki yardım ve desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı BaŐkanı Prof. Dr. Nurten AKSOY, Nöroloji Anabilim Dalı ArŐ. Gör. Dr. Sedat YAŐİN, Biyolog Abdullah TAŐKIN ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Biyokimya A.D. alıŐanlarına gönülden teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalıŐmalarımda ve tezimde yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalıŐmaktan mutluluk duyduğum, sıkıntılı ve güzel günleri paylaŐtım değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemŐirelerine ve personeline ayrıca teşekkür ederim.

Eğitim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama sevgili eŐim Dr. Zeliha KARACAN ve oğluma teŐekkürlerimi sunarım.

Dr. Nurettin KARACAN

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
GRAFİKLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	X
SUMMARY	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Epilepsi	3
2.1.1. Genel Bakış ve Tanımlamalar	3
2.2. Epidemiyoloji	3
2.3. Epilepsi Etiyolojisi	4
2.4. Epilepside Fizyopatoloji	5
2.5. Epilepside Sınıflandırma	6
2.5.1. Fokal Nöbetler	9
2.5.1.1. Basit Fokal Nöbetler	9
2.5.1.2. Kompleks Fokal Nöbetler	10
2.5.1.3. Sekonder Jeneralize Nöbetlere Dönüşen Fokal Nöbetler	11
2.5.2. Jeneralize Nöbetler	11
2.5.3. Bazı Epileptik Sendromlar	13
2.5.3.1. Temporal Lob Nöbetleri	13
2.5.3.2. Frontal Lob Nöbetleri	13
2.5.3.3. Pariyetal Lob Nöbetleri	14
2.5.3.4. Oksipital Lob Nöbetleri	14
2.5.3.5. Juvenil Myoklonik Nöbetler	14
2.6. Epilepside Tedavi	14
2.7. Prolidaz	22
2.7.1. Prolidazın Tanımı	22

2.7.2. Prolidazın Yapısı	23
2.7.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen lokalizasyonu	24
2.7.4. Prolidazın izoenzimleri	24
2.7.5. Prolidazın inhibitörleri ve Aktivatörleri	26
2.7.6. Prolin	27
2.7.7. Prolinin Yapısal Özellikleri	27
2.7.8. Prolinin Biyolojik Önemi	28
2.7.9. Kollajen	29
2.7.10. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi	30
2.8. Oksidatif Stres Parametreleri	32
2.8.1. Serbest Oksijen Radikalleri	32
2.8.1.1. Superoksit Radikali	33
2.8.1.2. Hidrojen Peroksit	33
2.8.1.3. Hidroksil Radikali	34
2.1.8.4. Singlet Oksijen	34
2.8.2. Serbest Oksijen Radikallerinin hücreye Zararlı Etkileri	34
2.8.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Lipitlere Etkileri	35
2.8.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Proteinlere Etkileri	36
2.8.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Karbonhidratlara Etkileri	37
2.8.6. Antioksidan Savunma Mekanizmaları	37
2.8.6.1. Enzim Olan Antioksidanlar	38
2.8.6.1.1 Süperoksit Dismutaz	38
2.8.6.1.2. Katalaz	38
2.8.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz	39
2.8.6.1.4. Glutasyon-S-Transferaz	40
2.8.6.1.5. Glutasyon Redüktaz	40
2.8.6.1.6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	40
2.8.6.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	40
2.8.6.2.1. Glutasyon	40
2.8.6.2.2. Vitamin C	41
2.8.6.2.3. Vitamin E	42
2.8.6.2.4. β Karoten	42
2.8.6.2.5. Seruloplazmin	42

2.8.7. Total Antioksidan Seviye (TAS)	42
2.8.8. Total Oksidan Durum (TOS)	43
2.8.9. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	43
2.9. Epilepsi ve Oksidatif Stres İlişkisi	44
3. MATERYAL ve METOD	47
3.1. Çalışma Grubu	47
3.2. Kan Örnekleri	47
3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler	48
3.4. Serum Prolidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi	48
3.4.1. Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayraçlar	48
3.4.2. İşlem	49
3.4.3. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması	50
3.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)	50
3.6. Total Oksidan Seviye (TOS)	50
3.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)	51
3.8. İstatistiksel Analiz	51
4. BULGULAR	52
5. TARTIŞMA	63
KAYNAKLAR	58
7.EKLER	74

TABLO LİSTESİ**SAYFA NO**

Tablo-1: Nöbetlerin Sınıflandırılması	7
Tablo-2: Elektroklinik sendromlar ve diğer epilepsiler	8
Tablo-3: İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları	26
Tablo -4: Gruplara göre yaş, cinsiyet ve BMI dağılımı	52
Tablo-5: Monoterapi ve politerapi alan epilepsili hastaları ile kontrol grubunun BMI düzeylerinin karşılaştırılması.	53
Tablo-6: Epilepsi süresi, olgularında politerapi alan olguların ortalama antiepileptik ilaç sayısı ve ilaç kullanım	54
Tablo-7: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri	54
Tablo-8: Epilepsi hastalarının nöbet tiplerine göre dağılımı.	55
Tablo-9: Hasta ve kontrol grubunda serum prolidaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması	57
Tablo-10: Hasta grupları ve kontrol grubunun parolidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması	59
Tablo-11: Hasta ve kontrol gruplarında serum TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin karşılaştırılması	60
Tablo 12: Hasta ve kontrol gruplarında serum TAS, TOS, OSİ düzeyleri karşılaştırılması	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA NO

Şekil 1: Prolin ve Diğer Bir Amino Asidin Yapısal Görünümü	26
Şekil 2: Prolin krebs ve üre döngüleriyle metabolik bağlantısı	29
Şekil 3: Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları	35



GRAFİKLER DİZİNİ

SAYFA NO

Grafik 1: Epilepsi hastalarında beyin MRI görüntüleme bulguları	55
Grafik 2: Hasta grubunda antiepileptik tedaviye cevap durumuna göre hastaların dağılımı	56
Grafik 3: Hasta ve kontrol grupların da serum prolidaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması.	57
Grafik 4: Hasta ve kontrol grubunda serum TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin karşılaştırılması.	60



KISALTMALAR VE SİMGELER

ACTH	:Adrenokortikotropik hormon
CBZ	: Karbamazepin
CLB	:Clobazam
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
CLN	:Klonazepam
EEG	: Elektroensefalografi
ILAE	: Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği
FT	:Fenitoin
GBP	: Gabapentin
FB	: Fenobarbital
FLB	:Felbamat
ETH	:Etosuksimid
PG	:Pregabalin
PEM	: Protein Enerji Malnütrisyonu
OXZ	: Okskarbazepin
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
MİN	: Minimum
MED	:Median
MAKS	:Maksimum
Z skoru	:Standart Sapma Skoru
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
Kg	: Kilogram
m²	: metrekare
LVT	:Levetirasetam
LTG	:Lamotrijin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GC	: Guanilat Siklaz
GSH	: Glutasyon
NOS	: Nitrik Asit Sentaz
OSI	: Oksidatif stres indeksi

NO	: Nitrit Oksit
PLGSH-Px	: Fosfolipid hidroperoksid glutasyon peroksidaz
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif oksijen radikali
SOD	: Super oksit dismutaz
TAS	: Total antioksidan kapasite
TOS	: Total oksidant seviye e
SD	: Standart sapma
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
TGB	: Tiagabine
TPM	:Topiramet
VGB	: Vigabatrin
VPA	:Valproik Asid
BOS	:Beyin Omurilik Sıvısı
TLE	:Temporal Lob Epilepsi
NO	:Nitrik Oksit
mg/dl	: miligram/desilitre
gr/dl	: gram/desilitre
mm	: milimetre
Ark	: Arkadaşları
TOS	: Total oksidant seviye

ÖZET

Epilepsi Tanısı Olan Olgularda Oksidatif Stres Düzeyi ve Serum Prolidaz Aktivitesinin Değerlendirilmesi

Dr. Nurettin KARACAN

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Amaç: Bu çalışma ile epilepsili çocuklarda oksidatif stres düzeyinin serum prolidaz aktivitesiyle birlikte değerlendirilmesi ve aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya bir veya daha fazla anti-epileptik alan epilepsi tanılı 61 olgu ve 32 sağlıklı çocuk alındı. Daha sonra hasta grubu 27'si monoterapi, 34'ü politerapi olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Gruplardan alınan venöz kan örneklerinden çalışma sonunda serum Prolidaz aktivitesi, TAS ve TOS düzeyleri ölçüldü. OSİ; TOS/TAS'a oranlanarak bulundu. İstatistiksel analizler SPSS 11,5 istatistik programı ile değerlendirildi. $p<0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Hasta grup ile kontrol grubu arasında serum prolidaz aktivitesi, TAS, TOS, ve OSİ değerleri arasında istatistiksel olarak fark bulunurken; politerapi ve monoterapi alan hastalar arasında anlamlı fark bulunmadı. Ayrıca politerapi alan hasta grubu ile kontrol grubu serum prolidaz aktivitesi, TAS, TOS ve OSİ düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulundu ($p<0,05$). Aynı şekilde monoterapi alan hasta grubu ile kontrol grubu serum prolidaz aktivitesi, TAS, TOS, ve OSİ düzeyleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark vardı ($p<0,05$).

Sonuç: Sonuç olarak bizim çalışmamızda, oksidatif stres düzeyi ve kollajen yıkımında aktif rolü olan prolidaz enzim aktivitesi politerapi ve monoterapi alan epilepsi hastalarında yüksek bulundu. Artmış oksidatif stres düzeyine bağlı olarak kollajen turnoverinin bozulduğunu ve muhtemelen kollajen yıkımının artmış olduğunu göstermektedir Bu nedenle, uzun süreli antiepileptik ilaç kullanılan epilepsi hastaları, artmış oksidatif stres ve çeşitli kardiyovasküler komplikasyonların gelişimi açısından takip edilmelidir.

Anahtar Kelimeler:Çocuk, Epilepsi, Oksidatif stres , Prolidaz



SUMMARY

Diagnosis in Patients with Epilepsy Assessment of Oxidative Stress and Serum Prolidase Activity

Nurettin KARACAN, MD

Specialty Thesis, Department of Pediatrics

Objective: Evaluation with prolidase activity of oxidative stress levels in epileptic children with this study, we aimed to investigate the relationship between them.

Methods: The study of one or more antiepileptic epilepsy were assessed 61 patients and 32 healthy children. Then 27 monotherapy patients were divided into 2 groups including 34 polytherapy. At the end of the venous blood samples from study group Prolidase serum activity, TAC and TOS levels were measured. Venous blood samples were obtained from subjects and plasma prolidase activity, total antioxidant capacity (TAC), total oxidative status (TOS) and oxidative stress index (OSI) were measured at the end of the study. Independent samples t-test, chi-square test were used for statistical analysis. Statistical analysis was made and $p < 0,05$ was accepted significant.

Results: Between the patient group and the control group prolidase activity, TAC, TOS, and OSI found statistically significant difference between the value; polytherapy and monotherapy there was no significant difference between patients. In addition, a control group of patients receiving polytherapy with prolidase activity group, TAC, TOS and OSI levels were compared statistically significant difference between them ($p < 0,05$). Likewise, the control group

prolidase activity with patients receiving monotherapy group, TAS, TOS and OSI levels were compared statistically significant difference between them ($p<0,05$).

Conclusion: As a result, in our study, oxidative stress level and active role in collagen destruction prolidase enzyme activity was higher in polytherapy and monotherapy epilepsy. Depending on the level of oxidative stress that increased collagen turnover is broken and probably indicate that increased collagen degradation. Therefore, long-term antiepileptic drug is used in epilepsy patients, increased oxidative stress and a variety of cardiovascular patients should be monitored for the development of complications.

KeyWords: Children, Epilepsy, oxidative stress, Prolidase

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi çocukluk çağında sık görülen santral sinir sistemine ait bir hastalıktır. Dünyada onbeş yaş altında 10,5 milyon çocuğun epilepsi hastası olduğu tahmin edilmektedir. Geniş tabanlı nüfus çalışmalarında, çocukluk çağında başlayan epilepsilerde yıllık insidans yüz binde 61 ile 124 arasında değişmektedir.

Epileptik nöbetlerde uygun dozlarda kullanılan antiepileptik ilaçlar, çoğunlukla nöbetlerin önlenmesinde yeterlidir. Antiepileptik ilaç tedavisinde amaç beyin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemeden hastanın nöbetsiz olmasının sağlanmasıdır. Hastanın tedavisine epileptik sendroma veya öykü ya da video kayıtları ile saptanan nöbet tipine uygun ve en etkili olduğu bilinen bir ilaç ile başlanır. Bu tercihi yaparken yaş ve cinsiyet de göz önüne alınarak en az yan etkisi olan, kullanımı kolay ilaçlar seçilmelidir.

Antiepileptik ilaçların kullanımında farklı yan etkiler görülebilmektedir. Erken yan etkilerinin yanı sıra, uzun süreli kullanımlarda davranışsal, endokrinolojik, hematolojik, hafıza ve konuşma ile ilgili ilave yan etkilerde görülebilmektedir. Epileptik hastalarda kardiyovasküler hastalıklardan ölümler topluma göre sık olmakla birlikte bu durumun nedeni halen tam olarak bilinmemektedir.

Oksidatif stres, oksidan hasarın antioksidan savunma mekanizmalarının kapasitesini aştığı durumlarda ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stresin birçok akut ve kronik nörolojik hastalığın patogeneğinde anahtar rol oynadığı bilinmekle birlikte, epilepsideki rolü halen tam olarak anlaşılamamıştır (1). Bazı deneysel ve klinik çalışmalarda antiepileptik tedavinin oksidatif stres düzeyini artırdığı ve potansiyel yan etkilerinin yanında özellikle vasküler endotelle ilişkili ilave yan etkilerinin de olduğu bildirilmiştir (2,3).

Prolidaz manganez bağımlı bir ekzopeptid' dir. Kollajen metabolizmasında, remodeling ve hücre büyümesinde önemli bir rolü vardır (4,5). Kollajen yapısındaki amino asitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol

oynamaktadır (6). Bizim bilgilerimize göre, günümüzde antiepileptik tedavi alan çocuklarda oksidatif stres düzeylerini değerlendiren çalışmalar bulunmasına rağmen, serum prolidaz aktivitesi bu hastalarda daha önce hiç değerlendirilmemiştir.

Bu alışmamızda, medikal tedavi alan epilepsi hastaları ve sağlıklı kontrollerde serum prolidaz aktivitesi ile oksidatif stres düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

2.1.1. Genel Bakış ve Tanımlamalar

Epilepsi kelime anlamı olarak Yunanca tutmak, yakalamak anlamına gelen ‘epilembanein’ kelimesinden türemiştir. Epilepsi, farklı sebeplerden kaynaklanan beyinde nöronların anormal elektriksel aktivitesi ile ortaya çıkan epizodik serebral disfonksiyondur (7). Epilepsinin ilk bilimsel tanımını 1874’de Jackson yapmıştır. Epilepsiyi “beynin özellikle gri cevherinin akut ve lokal deşarjları” olarak tanımlamıştır.

Epileptolojide, XX. yüzyıl başlarında H. Berger’in elektroensefalografiyi (EEG) bulup 1929 yılında klinik uygulamaya koymasıyla büyük bir atılım yapılmıştır. Meritt ve Putnam tarafından 1937 yılında fenitoinin bulunması ve yine aynı yıllarda W. Penfield ile H. Jasper’in invazif nörofizyoloji çalışmalarıyla hızlı bir gelişme çizgisi yakalanmıştır (8).

Son yüzyılda epilepsi kavramı, pek çok klinisyenin gözlemlerinin birikimi, nörofizyoloji, görüntüleme ve genetik ilerlemelerin de katkısıyla oluşturulmuştur.

2.2. Epidemiyoloji

Epilepsi ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar hastalığın cinsiyet ayrımı, etnik fark ve yaş sınırı tanımadığını göstermiştir. Epilepsi insidans ve prevalans değerleri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir (9). Endüstrileşmiş ülkelerde epilepsi insidansı yaklaşık olarak 20-70/100.000 arasında değişmekteyken, gelişmekte olan ülkelerde bu oran 64-122/100.000 kadar yüksek olabilmektedir. Epilepsi prevalansının gelişmiş ülkeler için yaklaşık olarak 6/1000 olduğu, WHO (World Health Organization, Dünya Sağlık Örgütü) protokolü ile yapılan çalışmalarda ise gelişmekte olan ülkelerde bu oranın yaklaşık 18.5/1000 olduğu hesap edilmiştir (9).

Aktif epilepsi, son beş yıl içinde nöbet geçiren veya antikonvülzan ilaç alan kişiler için kullanılmaktadır. Bu oran gelişmiş ülkelerde 4-10/10000 iken, gelişmekte olan ülkelerde

57/10000'ye ulaşmıştır. Çalışmalar herhangi bir popülasyondaki insanların yaklaşık %1,5 ile %5'inin herhangi bir zamanda nöbet geçirebileceğini öngörmektedir (10).

Fokal, jeneralize ve sınıflandırılmayan epilepsiler olmak üzere üç ana kategoride incelendiğinde fokal epilepsilerin daha sık olduğu ve yaşın nöbetlerin dağılımında önemli bir değişken olduğu görülmüştür. Rochester Minnesota'da yapılan çalışmada, hayatın ilk yıllarında yaşa özel epilepsi insidansı yüksek iken çocukluk çağında bu oranın azaldığı tespit edilmiştir. Yetişkinlik döneminde ise insidans düşük ve sabit düzeylerde kalırken, 55 yaş sonrası epilepsi insidansında ciddi bir artış tespit edilmiştir. İlk dekada jeneralize epilepsiler daha sık iken insidans yaşla birlikte azalmaktadır. Fokal epilepsiler ise ileri yaşlara kadar sabit bir insidansa sahipken 65 yaşından sonra dramatik bir artış sergilemektedir (9).

2.3. Epilepsi Etiyolojisi

Epilepsiler etyolojik bakımdan idiyopatik, semptomatik ve kriptojenik olarak sınıflandırılır. İdiyopatik epilepsilerde altta yatan herhangi bir beyin lezyonu yoktur ve kompleks genetik bozukluk, nadiren de tek gen bozuklukları sonucunda ortaya çıkmaktadır. Semptomatik epilepsilerde ise altta yatan bir beyin lezyonu mevcuttur. Kriptojenik tipte ise hastanın semptomatik olduğu bilinmekte fakat mevcut tanısal yöntemler ile altta yatan bozukluk gösterilememektedir (7).

Endüstrileşmiş ülkelerdeki çalışmaların çoğunda spesifik etyoloji olguların sadece %60-70'inde tanımlanmaktadır. Ancak gelişmekte olan ülkelerde risk faktörleri daha yüksek oranlarda olmasına karşın, semptomatik epilepsi oranları %40 veya daha az olarak bildirilmektedir. Ülkelerin gelişmişlik düzeylerine göre etyolojik farklılıklar, özellikle SSS enfeksiyonları ve serebrovasküler olaylarda gözlenmektedir. Avrupa'da gerçekleştirilen saha insidans çalışma sonuçlarına göz atıldığında etyolojilerin serebrovasküler olaylar, travma ve neoplazilerde yoğunlaştığı görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde ise doğum hasarı, kafa travması, çocuklukta geçirilen serebral enfeksiyonlara bağlı olarak görülebilir (9). Vakaların çoğu sporadik olup ailesel özellik nadiren gözlenmektedir. Aynı tek gen mutasyonları farklı

epilepsi tiplerine neden olurken, aynı epilepsi türleri de farklı mutasyonlar sonucu ortaya çıkabilmektedir. Bu farklılıklar fenotipik özellikleri belirleyen modifiye edici genler, polimorfizmler ve çevresel etmenler neticesinde oluşabilmektedir (11).

2.4. Epilepside Fizyopatoloji

Epilepsi anormal nöronal deşarjlarla kendini gösteren paroksizmal bir hastalıktır. Epilepsiye yol açan çok sayıda neden olmakla birlikte, temel bozukluk nöron ağının anormal senkronize deşarjıdır (12).

Nörotransmitterler nöronlar arasında iletiyi sağlayan kimyasal maddelerdir. Presinaptik uçtan salgılanırlar ve postsinaptik uçta inhibisyon ya da eksitasyona yol açabilirler. Eksitasyona yol açtıklarında postsinaptik zarın sodyuma (Na) geçirgenliğini artırırlar ve bunun sonucunda hücre içi voltaj farkı oluşarak impulsun diğer nörona iletimini sağlarlar. Nöronlarda eksitasyon, membranın Na ve Ca'a, inhibisyon ise klor (Cl) ve potasyuma (K) geçirgenliğin artmasına bağlıdır (13). Glutamat, aspartat ve asetilkolin eksitator nörotransmitterlerdir. Glutamat glutaminden ve glukozdan sentezlenmektedir. Bazı nörotransmitterler ise Cl iyonlarına geçirgenliği arttırarak hücre içindeki negatif istirahat potansiyelini yükseltir ve bunun sonucunda nöronun uyarılmasını engellerler. Glisin, gama aminobutirik asit (GABA), dopamin, noradrenalin ve taurin inhibitör nörotransmitterlerdir (13).

Deneysel epilepsi modellerinde epileptik nöronun en belirleyici özelliği membran depolarizasyonudur. İnteriktal deşarj sırasında somaya yakın olan hücre membranında yüksek voltajlı ve uzun süreli depolarizasyon olur, bu da kendini diken aktivitesi patlamaları şeklinde gösterir. Uzun süreli depolarizasyon somadan uzağa doğru nöronun aksonu boyunca iletilen bir seri aksiyon potansiyelinin oluşmasına yol açar.

Bu büyük depolarizasyon, paroksizmal depolarizasyon değişimi (PDD) olarak adlandırılır. Epileptik bir alan, anormal bir şekilde senkronize deşarj yapan çok sayıda anormal nörondan oluşur. PDD bir grup nörondaki intrinsek membran anormallikleri veya bir grup

nörona gelen aşırı miktarda eksitatör uyarı sonucu oluşur. Epileptik odakta PDD'den sonra hiperpolarizasyon giderek azalır. Nöbet sırasında epileptik nöronlarda uzun süreli depolarizasyon oluşur. İnteriktal dönemden iktal döneme kadar olan dönemde meydana gelen olaylar yeterince anlaşılammakla birlikte birçok olası mekanizma mevcuttur.

Bunlar nöronal membranlarda veya eksitatör ya da inhibitör nörotransmitterde bozuklukları içerir. Sinaptik inhibisyonda azalma, sinaptik eksitasyonda artış, K veya Ca ya da ekstrasellüler iyon konsantrasyonundaki değişiklikler uzun süreli depolarizasyonu tetikler. Bu akım değişiklikleri nöbetlerin oluşmasından sorumludur (12).

Nöbeti durduran mekanizmalar yeterince anlaşılammıştır. Nöbetlerin sona ermesi nöron veya nöronal ağda inhibitör döngülerin aktivasyonu ile hücre dışı K'daki azalma gibi ekstrasellüler ortam değişiklikleri ile veya hücre içi Ca'un eliminasyonu ile olabilir. Deneysel hayvan modellerinde antikonvülzan etki gösteren norepinefrin ve adenozin gibi endojen ajanların da eksitasyonu azalttıkları ve nöbetlerin sonlanmasında etkili oldukları kanıtlanmıştır (12).

2.5.Epilepside Sınıflandırma

Nöbetin değerlendirilmesinde ilk basamak nöbetin fokal başlangıçlı mı yoksa jeneralize tipte mi olduğunu belirlemektir. Fokal nöbetler motor veya duysal semptomlarla karakterize olabilir ve başın veya gözlerin bir tarafa doğru çevrilmesi veya yüzde veya ekstremitelerde başlayan tek taraflı klonik hareketler veya spesifik olarak bir bölgeye lokalize duysal bozukluk şeklinde görülebilmektedir. Motor nöbetler fokal veya jeneralize ve tonik-klonik, tonik, klonik, myoklonik ve atonik tipte olabilmektedir. Tonik nöbetler artmış tonus, atonik nöbetler ise gevşeklik ve nöbet sırasında hareketin olmaması ile kendini göstermektedir. Klonik nöbetler ritmik kas kasılması ve gevşemesi, myoklonik nöbetler ise kasın şok benzeri kasılması ile karakterizedir (14).

ILAE, epilepsi ve nöbet sınıflandırılmasında düzeltme yapmıştır (Tablo-1). Artık 'parsiyel' yerine 'fokal' terimi kullanılmaktadır. 1989 yılındaki uluslararası epilepsi sınıflandırmasında epileptik sendromlar 'idiopatik', 'semptomatik' ve 'kriptojenik' olarak kategorize edilirdi. Yeni genetik ve nörobilimsel bilgiler sonucunda bu terimler yanlışlık ve tutarsızlıkları nedeniyle artık kullanılmamaktadır. Bu komisyon epilepsileri elektroklinik sendrom olarak tanımlamaktadır (15) (Tablo-2).

Tablo-1: Nöbetlerin sınıflandırılması, ILAE (Commission 2010) (Berg ve ark 2010).

<p><u>I. Jenaralize nöbetler</u></p> <ol style="list-style-type: none">1. Tonik-klonik2. Absans<ol style="list-style-type: none">2.1. Tipik2.2. Atipik2.3. Özel belirtisi olan absans2.4. Miyoklonik absans2.5. Göz kapağı miyoklonisi3. Miyoklonik<ol style="list-style-type: none">3.1. Miyoklonik3.2. Miyoklonik atonik3.3. Miyoklonik tonik4. Klonik5. Tonik6. Atonik
<p><u>II. Fokal nöbetler</u></p>
<p><u>III. Bilinmeyen</u></p> <ol style="list-style-type: none">1. Epileptik spazm

Tablo-2: Elektroklinik sendromlar ve diğer epilepsiler.

<p><u>1. Yenidoğan dönemi</u></p> <p>1.1. Selim ailesel yenidoğan epilepsisi</p> <p>1.2. Ohtahara sendromu</p>
<p><u>2. Süt çocuğu</u></p> <p>2.1. West sendromu</p> <p>2.2. Süt çocuğundaki miyoklonik epilepsi</p> <p>2.3. Selim süt çocuğu epilepsisi</p> <p>2.4. Selim ailesel süt çocuğu epilepsisi</p> <p>2.5. Dravet sendromu</p>
<p><u>3. Çocukluk dönemi</u></p> <p>3.1. Febril plus nöbet</p> <p>3.2. Panayiotopoulos sendromu</p> <p>3.3. Miyoklonik atonik nöbetle giden epilepsi</p> <p>3.4. Sentrotemporal spike görülen selim epilepsi</p> <p>3.5. Otozomal dominant gece frontal lob epilepsisi</p> <p>3.6. Miyoklonik absans ile giden epilepsi</p> <p>3.7. Lennox-Gestaut sendromu</p> <p>3.8. Uyku sırasında spike ve dalgalarla giden epileptik ensefalopati</p> <p>3.9. Landau-Kleffner sendromu</p> <p>3.10. Çocukluk çağı absans epilepsisi</p>
<p><u>4. Adölesan-yetişkin</u></p> <p>4.1. Juvenil absans epilepsi</p> <p>4.2. Juvenil miyoklonik epilepsi</p> <p>4.3. Progresif miyoklonik epilepsiler</p>
<p><u>5. Distintive (özel) grup</u></p> <p>5.1. Hipokampal skleroz ile birlikte olan mesial temporal lob epilepsisi</p> <p>5.2. Rasmussen sendromu</p> <p>5.3. Hipotalamik hemartom ile giden gelastik nöbetler</p>
<p><u>6. Yapısal ve metabolik sebeplerden kaynaklanan epilepsiler</u></p> <p>6.1. Kortikal gelişim malformasyonları,</p>

6.2 Nörokutanöz sendrom, 6.3. Tümör, anjiom 6.4. Enfeksiyon, 6.5. Travma, perinatal sebepler, inme vb.
<u>7. Sebebi bilinmeyen epilepsiler</u>
<u>8. Epileptik nöbetle giden ancak epilepsi çeşidi olarak tanı konmayan durumlar</u>
8.1. Selim yenidoğan nöbetleri 8.2. Febril nöbetler

2.5.1. Fokal Nöbetler

Fokal nöbetler, beynin bir bölgesindeki nöronların deşarjı sonucu ortaya çıkan, klinik ve EEG bulgusu bu anatomik lokalizasyon ile ilişkili olan nöbetlerdir. Lokalizasyona bağı epilepsilerin semptomatik grubunda epileptojenik lezyon serebral hemisferin bir bölgesinden kaynaklanırken, idiyopatik grupta her iki hemisferin benzer bölgeleri tutulmuş olabilir.

Fokal nöbetler, bilinç kaybı olmadığı zaman basit, bilinç kaybı olduğu zaman kompleks olarak tanımlanmaktadır. Basit fokal nöbetler, bazen kompleks fokal nöbetlerin içine girebilmekte ve bunların her ikisi de sekonder jeneralize nöbete dönüşebilmektedir. Basit ve kompleks fokal nöbetlerin kaynaklandığı anatomik bölgeye göre klinik ve EEG bulguları değişkenlik göstermektedir (16).

2.5.1.1. Basit Fokal Nöbetler

Tüm epilepsi hastalarının %60'ında fokal, %10-21'inde ise basit fokal nöbetler vardır. Hastalarda bilinç kaybı olmadan lokalize motor ve duyusal semptomlar vardır.

1. Motor Semptomlarla Birlikte Olan Basit Fokal Nöbetler: Kortekste motor kortikal alanda temsil edilen bölgeye bağı olarak nöbet semptomları ortaya çıkar. Fokal motor nöbet başladığı yerde kalabilir veya komşu motor kortekse yayılarak diğer vücut alanlarını etkileyerek Jaksonian nöbetlere neden olabilir. Basit motor

nöbetler, karşı hemisferin presantral veya postsantral girusundan veya suplementar motor alandan başlayan deşarjların yayılması ile oluşur. Basit motor nöbetler klonik, tonik, versif veya fonatuar olabilir. Bazen nöbet geçirilen bölgede, nöbet sonrası geçici paralizi oluşabilir. Todd Paralizi olarak adlandırılan bu tablo, 48 saate kadar uzayabilen, nöbetin izlendiği vücut bölgesinde görülen fonksiyonel motor defisittir.

2. Somatosensoriyel veya Özel Duyusal Semptomlu Nöbetler: Uyuşma, karıncalanma, körlük, vızıltı, ışık çakmaları, iğnelenme, hoş gitmeyen kokular, baş dönmesi ve batma hissi şeklinde tanımlanır. Sıklıkla derin duyu ve uzaysal algılama bozukluklarına da rastlanır.

3. Otonomik Belirti ve Bulgularla Seyreden Nöbetler: Bu tip nöbetlerde, solukluk, terleme, yüzde kızarma, piloereksiyon, pupiller dilatasyon, epigastrik duyular, karın ağrısı, kusma, geğirme, çarpıntı, göğüs ağrısı ve inkontinans görülür. Deşarjlar sıklıkla temporal ve frontal lobların limbik bölgelerinden kaynaklanır. Otonomik bulgu ve belirtiler tek başına basit fokal nöbet oluşturabildiği gibi, kompleksfokal veya sekonder jeneralize nöbetlerin ilk komponenti de olabilir.

4. Psişik Belirtilerle Seyreden Nöbetler: Sıklıkla kompleksfokal nöbetler olarak izlenirler. Disfazik (konuşmanın durması veya afazik konuşma bozuklukları), dimnezik (zamanın algılanmasında değişkenlik, rüya hali), kognitif (algılama bozuklukları), affektif (aşırı zevk, korku, sebepsiz öfke patlamaları), illuzyonlar (algılamada objeler deforme görülür, uzaklıkta değişimler, bedenin yanlış algılanması) şeklinde ortaya çıkabilir. Psişik nöbetler sıklıkla diğer nöbet tiplerinin gelişimi sırasında da izlenebilir.

2.5.1.2. Kompleks Fokal Nöbetler

Bilinç kaybı veya bilinç değişikliği ile seyreden bütün fokal nöbetleri içerir. Çocukluk yaş grubundaki nöbet tiplerinin %20-40'ını oluştururlar. Bilateral limbik, unilateral temporal yapılara yayılan neokorteks lezyonları, orbital ve meziyal frontal, limbik korteks, inferior

okspital korteks alanlarından kaynaklanırlar. Nöbetler iki tipte görülür. Birinci tipte 0.5-5 dakika süreli basit otomatik davranışlar, uzun süren auradan sonra donuk bakış, hareketsizlik ve bunu takip eden otomatizmalardan oluşurken, ikinci tipte ise genellikle bir dakikadan kısa süren duraksama ve otomatizmanın olmadığı, yarı amaçlı motor aktiviteler şeklinde görülür.

Otomatizma: Nöbet sırasında veya sonrasında, bilincin bozulduğu sırada görülen ve sıklıkla amnezinin eşlik ettiği istem dışı motor hareketlerdir. Semptomatolojik açıdan en sık görülen tipi oroalimenter (dudak emme, çiğneme, yalanma, yutkunma) otomatizmalardır. Gestural (elbise ile oynama, giyinme, soyunma), ambulatuvar (aniden ayağa kalkarak yürüme veya konuşma), verbal (sürekli bazı kelimelerin söylenmesi) şeklinde olabilir. Otomatizmalar kompleksfokal nöbetlere özgü olmayıp jeneralize nöbetlerde de görülebilir.

2.5.1.3. Sekonder Jeneralize Nöbetlere Dönüşen Fokal Nöbetler

Tonik-klonik nöbetlerde başlangıçta belli kasların tonusunda artış (tonik faz) ve bunu izleyen dönemde ekstremitelerde bilateral simetrik kasılmalar (klonik faz) oluşur. En sık semptomatik fokal epilepsilerin bir parçası olarak görülür. Nöbetler kaynaklandığı odağa uygun düşen bir fokal nöbet fenomeni bulgu ve belirtileri ile başlar. Sırasıyla tonik ve ardından klonik faz gelişir. Kan basıncı artışı, sfinkter tonusunda artma, kızarıklık, siyanoz, pilo ereksiyon, terleme, salivasyon ve bronş sekresyonunda artış şeklinde otonomik fenomenler preiktal fazda başlayıp, klonik faz sonunda aniden sonlanır ve toplam süresi 5-10 dakika olan nöbetlerdir (16).

2.5.2 Jeneralize Nöbetler

Jeneralize epilepsiler klinik belirtileri ile her iki hemisferin eş zamanlı olarak etkilendiği ve EEG bulgularının eş zamanlı bilateral olduğu nöbetlerdir. Tüm nöbetlerin % 24'ünü oluşturur.

İdiopatik ve semptomatik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. İdiopatik jeneralize epilepsilerde genetik yatkınlıktan başka bir etyolojik neden bulunamazken, semptomatik

jeneralize epilepsilerde nöbetler bilinen bir patolojiye sekonder olarak ortaya çıkar ve EEG bulguları daha düzensiz, klinik belirtileri de daha atipiktir. Nöbetler çoğu zaman spontan olarak, bazen de hiperventilasyon ve fotik stimülasyonla aktive olmaktadır.

a) Absans nöbetler: Nöbetlerin özelliği devam eden aktivitenin kesilmesi, hastanın etrafını farketmeyerek, sorulara cevap vermeyerek sabit bakmasıdır. Nöbet ani başlayıp ani bittiği için aura veya postiktal konfüzyon yaşanmaz. Bir gün içinde çok sayıda nöbet görülebilir. Nöbet sırasında EEG’de bilateral 3 cys/sn’lik “burst”ler şeklinde diken dalga deşarjları kaydedilir. Nöbetler sadece bilincin etkilendiği basit bir nöbet olabileceği gibi, bazen klonik, atonik, tonik, myoklonik komponentlerle beraber otomatizmalar ve otonomik bulgular eşlik edebilir.

Absanslar tipik veya atipik olabilirler. Tipik absanslar 10-20 saniye kadar sürer, bilinç kaybı tamdır, nöbetler aniden başlar ve biter. Gün içinde çok sayıda nöbet izlenebilir. Hiperventilasyon nöbetleri provoke eder ve fotosensitivite vardır. Atipik absanslar, tipik olanlardan daha uzun sürer, postural tonus değişiklikleri daha sıktır, bilinç kaybı tam olmaz, başlangıç ve bitişi daha az belirgindir, otomatizmalar belirgin, otonomik fenomen sıktır. Genellikle semptomatik epilepsilerde görülür ve nörolojik anormallik eşlik eder.

b) Myoklonik nöbetler: İstemsiz, hızlı, ani başlayan aritmik hareketlerdir. Ekstansiyon veya fleksiyon tarzında, simetrik veya asimetrik olabilir, tüm vücudu veya vücut parçalarını etkileyebilir ve en sık boyun, kol ve omuzda görülür.

c) Jeneralize tonik-klonik nöbetler: Jeneralize tonik-klonik nöbetler en çok bilinen ve en ağır nöbet şeklidir. Ani ortaya çıkan bilinç kaybı ile yaygın tonik kasılma ve takiben tonik-klonik hareketler ile karakterizedir. En sık prodromal belirtiler kişilik değişikliği, uyku bozukluğu, sinirlilik ve huzursuzluktur.

d) Tonik nöbetler: Nadir olarak görülen nöbetlerdir. Çocukluk çağında daha sık olmak üzere her yaşta görülebilir. Yaygın olarak kas tonusunun arttığı ve klonik hareketlerin izlenmediği ve postiktal konfüzyon olan nöbetler olarak tarif edilir.

e) Klonik nöbetler: Jeneralize nöbetlerde tonik dönem olmadan tekrarlayan klonik hareketler olabilir. Bu tür nöbetlerin postiktal dönemleri kısadır.

f) Atonik nöbetler: Özellikle erken çocukluk döneminde görülür. Kısa süren bilinç kaybı ve kas tonusunda azalma ile karakterize olup, hastanın aniden yere düşmesine neden olur. Ani düşmeler özellikle yüz ve kafa yaralanmalarına neden olur (16).

2.5.3. Bazı Epileptik Sendromlar

2.5.3.1. Temporal Lob Nöbetleri

Daha çok çocukluk ve genç erişkinlik çağında başlayan basit parsiyel, kompleks parsiyel veya sekonder jeneralize nöbetlerden oluşabilir. Otonomik ya da psikişik semptomlarla veya ikisi birlikte, koku alma ve işitsel illüzyon veya halüsinasyon gibi belli duyuusal fenomenler gözlenirse de en yaygın duyu giderek artan epigastrik rahatsızlık hissidir. En sık görülen formu meziyal temporal nöbetlerdir. EEG'de anterior temporal bölgede belirgin unilateral veya bilateral diken aktivitesi gözlenir. Hastaların çoğunda aile öyküsü ve febril konvulziyon öyküsü mevcuttur (17).

2.5.3.2. Frontal Lob Nöbetleri

Frontal lob epilepsileri basit parsiyel, kompleks parsiyel veya sekonder jeneralize nöbetler ya da tüm bunların kombinasyonları olarak görülür. Frontal lob epilepsileri; kısa süreli olup, kompleks parsiyel nöbetten sonra postiktal konfüzyonun olmaması veya minimal olması, hızla sekonder jeneralize forma dönebilme, tonik ve postural belirgin motor bulgular, başlangıçta kompleks gestural otomatizmalar, nöbet sırasında sıklıkla düşme ve sık status epileptikus atakları gibi özellikler sergiler (17).

2.5.3.3. Pariyetal Lob Nöbetleri

Genellikle basit parsiyel ve sekonder jeneralize nöbetlerle karakterizedir. Nöbetlerin çoğu basit parsiyel olarak kalır ve duyuşsal olaylar gözlenir. Nöbetler en çok anterior pariyetal tiptedir ve postsantral girusu tutar, komşu yapıların da ilerleyici olarak tutulmasıyla Jaksonian nöbete ilerler (17).

2.5.3.4. Oksipital Lob Nöbetleri

Karakteristik özelliği pozitif ve negatif görsel fenomenlerdir. Parlak ve renkli ışıklar olarak tanımlanan halüsinasyonlar pozitif fenomenler, amaroş, skotomlar ve hemianopsi ise negatif fenomenlerdir. Tonik ve klonik göz deviasyonu, baş deviasyonu, göz kırpması ve nistagmoid göz hareketleri ortaya çıkabilir (17).

2.5.3.5. Juvenil Myoklonik Nöbetler

Tipik başlangıç yaşı 12-18 (8-30 yaş arası) olan myoklonik ve tonik-klonik nöbetler sendromudur. Karakteristik belirtisi uykudan uyandıktan kısa süre sonra omuz ve kollarda oluşan ani, hafif-orta şiddette sıçramalardır. Bilinç kaybı gözlenmez. Hastaların yaklaşık yarısında aile öyküsü pozitifdir ve zeka normal sınırlardadır. Nörolojik inceleme ve görüntüleme çalışmaları normaldir (17).

2.6.Epilepside Tedavi

Epilepsi uzun süreli tedavi gerektiren bir durumdur. Epilepsi tedavi seçenekleri medikal tedavi, cerrahi tedavi ve ketojenik diyet tedavisidir.

Antiepileptikler, artmış nöronal eksitabilitenin kontrolü amacıyla kullanılan ilaçlardır. İlaç tedavisinde hedef, vücuda zarar vermeden nöbet gelişimini engellemektir.

Antiepileptik ilaç tedavisine geçirilen kaçınıcı konvulziyondan sonra başlanması gerektiği ile ilgili farklı görüşler olsa da, genel kanı ilk konvulziyondan sonra ilaç tedavisinin başlanılmaması yönündedir. İlk geçirilen konvulziyondan sonra ikinci konvulziyonun geçirilme olasılığı ile ilgili yapılmış çalışmaların meta analizinde, Berg ve Shinnar bu ihtimali ortalama

%40 olarak bulmuşlardır. Birinci konvulziyondan sonraki konvulziyonun %75 ihtimalle ilk altı ay içinde, büyük çoğunluğunun ise ilk birkaç hafta içinde oluştuğu bildirilmiştir. Semptomatik etyolojinin olması, parsiyel nöbet olması, EEG'de interiktal diken deşarjların varlığı, mental ve motor retardasyon ikinci konvulziyon için risk faktörleri olarak saptanmıştır (18).

Tekrarlayan nöbetler, hastaların bireysel ve toplumsal yaşamlarında ağır kesintilere yol açar ve kontrole alınmamış epilepsisi olan çocukların ve gençlerin hem fizik güvenlikleri hem de tümüyle yaşam kaliteleri kesinlikle tehlikeyle karşı karşıyadır. Epilepsili hasta gruplarında ölüm, özellikle de ani ölüm insidansı, genel nüfusta görülenden daha yüksektir (19). Primer epilepsilerin nedeni tam anlaşılmadığından, tedavi nedeni ortadan kaldırmak değil, nöbetleri önlemeye yöneliktir. Antiepileptik ilaçlar hücresele seviyede 3 farklı mekanizma ile etki gösterirler (19).

1-Voltaj bağımlı iyon kanalları üzerinden (Na, K, Cl, Ca).

2-Gama aminobutirik asid (GABA) aracılı inhibitör nörotransmitterleri arttırarak.

3-Eksitator (özellikle glutamat) uyarıları azaltarak.

İlaç seçiminde; nöbet türü, hastanın yaşı, başka bir sistemik hastalığın var olup olmadığı, ilacın kullanım şekli, sosyo-ekonomik koşullar ve ilacın yan etkileri göz önüne alınmalıdır. İdeal bir antikonvulzan; birçok nöbet türünde etkili olmalı, emilimi ve dağılımı hızlı olmalı, eleminasyon yarılanma zamanı uzun olmalı, etkilerine karşı tolerans gelişmemeli, diğer antiepileptiklerle ilaç etkileşimine girmemeli, günde 1 ya da 2 dozda kullanılabilir, yan etkisi ve teratojenik etkileri olmamalı, anne sütüne geçmemeli ve fiyatı ucuz olmalıdır (19).

İlk keşfedilen antiepileptik fenobarbitaldir. Bunu takiben fenitoin, karbamazepin (CBZ), etosüksimid, valproik asit (VPA) ve benzodiazepinler bulunmuştur. Bu ilaçlar uzun yıllardır ilk basamak olarak ve en sık kullanılan antiepileptiklerdir. Son 10 yılda vigabatrin, topiramet, gabapentin, felbemat, lamotrijin (LTG), tiagabin, zonisamid, pregabalin,

okskarbazepin (OXC) ve levetirasetam (LEV) gibi yeni antiepileptikler bulunmuştur (19).

Fenitoin: Nöronların voltaj bağımlı Na kanallarının tekrarlayıcı uyarılmalarını bloke ederek etkisini gösterir. Membran stabilizasyonunu sağlar. Plazma proteinlerine %75-95 oranında bağlanır. Karaciğerde metabolize olur. Yarılanma ömrü; 8-40 saat arasındadır. Günlük uygulama dozu; 200-400 mg'dır. Terapotik kan düzeyi; 10-20 mcg/ml'dir. İlaç etkileşimleri yaygındır. En sık yan etkileri; ciltte döküntü, hırşutizm, gingival hiperplazi, polinöropati, lökopeni ve teratojenitedir. Doza bağımlı olarak; nistagmus, somnolans, yorgunluk, dizartri, ataksi ve ensefalopati görülebilir.

Primidon: Etkisini; hızlı nöronal inhibisyon, presinaptik GABA reseptör aktivasyonu, inhibitör postsinaptik GABA reseptörleri üzerinden gösterir. Plazma proteinlerine %20 oranında bağlanır. Karaciğerde metabolize olur.

Yarılanma ömrü; 10-25 saat arasındadır. Günlük uygulama dozu; 750-1000 mg'dır. Terapotik kan düzeyi; 3-8 mcg/ml'dir. Oral kontraseptif ve oral antikoagülan ilaçlarla etkileşimi vardır. En sık yan etkileri; konsantrasyon eksikliği, cilt döküntüsü, cinsel disfonksiyon ve teratojenitedir. Doza bağımlı olarak; somnolans, ataksi, görme bulanıklığı ve baş dönmesi görülebilir.

Okskarbazepin: CBZ'nin keto-analoğu olan okskarbazepin etkisini; nöronların voltaj bağımlı Na ve Ca kanallarının tekrarlayıcı uyarılmalarını bloke ederek gösterir. Membran stabilizasyonunu sağlar. Plazma proteinlerine %60 oranında bağlanır. Karaciğerde metabolize olur. Yarılanma ömrü; 8-10 saat arasındadır. Günlük uygulama dozu; 900-3600 mg'dır. Terapotik kan düzeyi belirlenmemiştir. İlaç etkileşimleri ve yan etkileri CBZ'den daha azdır. Ciltte döküntü, hiponatremi görülebilir. Teratojenite riski bilinmemektedir. Doza bağımlı olarak; baş dönmesi, diplopi, ataksi, baş ağrısı ve yorgunluk görülebilir.

Vigabatrin: GABA'nın yapısal analoğu olup etkisini GABA transaminaz enzimini irreversibl olarak inhibe ederek gösterir. Plazma proteinlerine bağlanmaz. Böbrekten metabolize

olmadan atılır. Yarılanma ömrü 5-8 saat arasındadır. Günlük uygulama dozu 2000-4000 mg'dır. Terapotik kan düzeyi belirlenmemiştir. İlaç etkileşimleri minimal düzeydedir. Psikoz, görme alanı defektleri ve renal toksisitesi gibi önemli yan etkileri vardır. Teratojenite riski bilinmemektedir. Doza bağımlı olarak baş dönmesi, baş ağrısı, yorgunluk, davranış değişiklikleri, ajitasyon ve depresyon görülebilir.

Lamotrijin: Etkisini nöronların voltaj bağımlı Na kanallarının tekrarlayıcı uyarılmalarını bloke ederek gösterir. Glutamat ve aspartatın patolojik salınımını inhibe ettiği ileri sürülmüştür. Plazma proteinlerine %55 oranında bağlanır. Karaciğerde metabolize olur. Yarılanma ömrü 6-30 saat arasındadır. Günlük uygulama dozu 200-300 mg'dır. Terapotik kan düzeyi belirlenmemiştir. CBZ gibi enzim indükleyen ilaçlar lamotrijinin kan düzeyini düşürür, VPA ise artırır. Önemli yan etkisi ciltte görülen döküntülerdir. Teratojenite riski bilinmemektedir. Doza bağımlı olarak diplopi, somnolans, insomnia, ataksi, baş ağrısı görülebilir.

Topiramet: Voltaj bağımlı Na kanallarının tekrarlayıcı uyarılmalarını bloke eder, GABA geçişini arttırarak inhibitör etkisini arttırır, glutamat salınımını azaltır. Plazma proteinlerine çok az oranda (%10-15) bağlanır. Az oranda karaciğerde metabolize olur, büyük oranda (%70) böbrekten metabolize olmadan atılır. Yarılanma ömrü; 12-24 saat arasındadır. Günlük uygulama dozu 200-400 mg'dır. Terapotik kan düzeyi belirlenmemiştir. İlaç etkileşimleri minimal düzeydedir. Yan etkileri minimaldir. Kilo kaybı, nefrolitiazis, psikiyatrik semptomlar görülebilir. Teratojenite riski bilinmemektedir. Doza bağımlı olarak baş ağrısı, baş dönmesi, kognitif etkilenme, parestezi, yorgunluk, tremor, ataksi görülebilir.

Levetirasetam: Çoklu etkiye sahip olduğu ileri sürülmekle beraber etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Antiepileptojenik ve nöroprotektif etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Voltaj bağımlı Ca ve K kanallarının tekrarlayıcı uyarılmalarını bloke eder, GABA geçişini arttırarak inhibitör etkisini arttırır, glutamat salınımını azaltır. Plazma proteinlerine bağlanmaz. Böbrekten metabolize olmadan atılır. Yarılanma ömrü 6-8 saat arasındadır. Günlük uygulama

dozu 1000-3000 mg'dır. Terapotik kan düzeyi belirlenmemiştir. İlaç etkileşimleri minimal düzeydedir. Yan etkileri minimaldir; baş dönmesi, yorgunluk, uyku hali, görme bulanıklığı, davranış değişiklikleri, sinirlilik görülebilir. Teratojenite riski bilinmemektedir.

Gabapentin: GABA'nın yapısal analogu olup etkisini GABA sentezini arttırma yoluyla GABA seviyesini yükselterek gösterir. Plazma proteinlerine çok az oranda (%5-10) bağlanır. Böbrekten metabolize olmadan atılır. Yarılanma ömrü 5-8 saat arasındadır. Günlük uygulama dozu 2000-4000 mg'dır. Terapotik kan düzeyi belirlenmemiştir. İlaç etkileşimleri minimal düzeydedir. Kilo alımı ve diplopi gibi yan etkileri olabilir. Teratojenite riski bilinmemektedir. Doza bağımlı olarak baş dönmesi, bulantı, yorgunluk, sersemlik, ataksi, myoklonus görülebilir.

Karbamazepin:1962'de klinik pratiğe girmiş bir ilaçtır. Parsiyel, tonik-klonik ve tonik nöbetlerde ilk sırada seçilecek ilaçlardandır. Tonik-klonik nöbetlerde ve parsiyel nöbetlerde etkisi fenitoin ve fenobarbitale eşdeğer veya daha üstündür, ayrıca yan etkileri de daha azdır. Yetişkinde günlük doz 400-1800 mg arasında değişir, ancak bazen 2400 mg'a kadar dozlara gereksinim olabilir. Sedatif yan etkileri minimize etmek için doz titrasyonu önerilir. Karbamazepin (CBZ) monoterapisinin fenitoinle kombinasyonundan daha iyi olduğu kabul edilmektedir. Oral yolla uygulandıktan sonra yavaş emilir. Lipofilik olduğundan SSS'e çabuk ulaşır. Karaciğerde ilaçların metabolize edilmesini sağlayan sistemlerin aktivitesini artırdığından kronik kullanma sonucu yarılanma ömrü azalır.

Etkili bir ilk basamak tedavidir. Etki mekanizmasının, voltaj duyarlı Na kanallarının blokajı aracılığıyla olduğu düşünülmektedir. Bu, nöronal membranların stabilizasyonu ve nöronların repetitif olarak ateşlenmesinin inhibisyonuyla sonuçlanmaktadır. Proteinlere %75 oranında bağlanır. Karaciğerde sitokrom P 450 sistemi aracılığıyla büyük ölçüde metabolize edilir ve yarılanma ömrü 12-17 saattir. CBZ kendi metabolizmasını indükler ve bu otoindüksiyon tedavinin ilk 20-30 gününde ortaya çıkar. CBZ ayrıca diğer

antiepileptiklerin metabolizma oranını arttırabilir. Benzodiazepinlerin, felbamat, lamotrijin, valproat ve etosuksimidin düzeyini azaltır. CBZ ayrıca oral kontraseptif, siklosporin, teofilin ve warfarin düzeylerini azaltır. Fenobarbital, fenitoin, felbamat, primidon ve etosuksimid gibi antiepileptik ilaçlar CBZ düzeyini düşürür. Eritromisin, simetidin, propoksifen, izoniazid ve verapamil CBZ düzeyini arttırır. Erişkinlerde CBZ günde iki kez 200 mg olarak başlanır, haftalık intervallerle günde 200 mg olarak arttırılıp tipik tedavi dozu olan 800-1200 mg/gün dozuna ulaşıldığında, üç bölünmüş dozda olacak şekilde devam edilebilir. Uzun salınımlı formları günde iki kez şeklinde verilebilir.

CBZ'nin doz ilişkili yan etkileri vertigo, ataksi, diplopi ve sersemliktir. Sinir sistemi ile ilişkili diğer yan etkileri ise baş ağrısı, parestezi, okulomotor bozukluklar, konfüzyon, psikoz ve tik, epileptik olmayan miyoklonus ve distonik reaksiyonlar gibi anormal istemsiz hareketlerdir. CBZ kullanan hastaların yaklaşık %4'ünde eritematöz ve pruritik raş, toksik epidermal nekroliz, eritema multiforme ve Stevens-Johnson sendromu gibi dermatolojik reaksiyonlar gelişmektedir. Aplastik anemi ve agranulositoz gibi ciddi kan diskrazileri görülebilir. Nadir olarak trombositopeni, lökopeni, hepatit, sarılık ve kolanjit görülebilir. Dermatit, eozinofili, lenfadenopati ve splenomegaliyle karakterize ciddi hipersensitivite reaksiyonu bildirilmiştir. CBZ tedavisine bağlı olarak, antidiüretik hormon benzeri etkiyle hiponatremi görülebilir ve bu durum mental durum değişiklikleri ve nöbetlere yol açabilir. Ayrıca vitamin D'nin metabolizma oranını arttırarak risk altındaki popülasyonda osteomalazi oluşumunu kolaylaştırır. Atrioventriküler blok ve aritmi gibi kardiyak etkileri olabilir. Bazı vakalarda kilo artışı görülmektedir. Bazı vakalarda ilaçla indüklenmiş porfiri ve sistemik lupus eritematozusla ilişki saptanmıştır.

Valproik Asit: Kimyaca sodyum dipropilasetattır. Kimyasal yapısı bakımından SSS'nin ana inhibitör nörotransmitteri olan GABA'ya benzemekte, yüksek dozda verildiğinde deney hayvanlarında beyinde GABA transaminaz enzimini inhibe ederek GABA yıkımını

azaltmakta, nöronal glial alınımını da inhibe etmekte ve GABA'nın postsinaptik etkinliğini arttırmaktadır. İnsanda tedavi dozlarında beyinde GABA düzeyi üzerindeki etkisinin oluşması şüphelidir.

Eksitator nörotransmitter olan aspartat miktarını azaltması ve inhibitör nörotransmitter olan glisin miktarını arttırması da diğer etki mekanizmalarıdır. Nöron membranındaki K kanallarını açarak hiperpolarizasyon yaptığı da gösterilmiştir. Voltaj bağımlı Na kanallarını bloke ederek Ca bağımlı K kanallarını aktifleştirmektedir. Valproik asitin biyoyararlanımı %80'den fazla olup, ağızdan alınan bir dozdan sonra iyi emilmektedir. Kandaki doruk seviyeler iki saat içinde gözlenmektedir. Uygun dozlarda kullanıldığında plazma yarılanma ömrü yedi-on saat olup, yüksek dozlarda kullanıldığında ise 30 saate kadar çıkabilmektedir. Gastrointestinal sistemden hızla absorbe edilmekte ve plazma proteinlerine %90-95 oranında bağlanmaktadır. West Sendromu, Lennox-Gastaut Sendromu, absans epilepsi, kompleks parsiyel epilepsi, myoklonik epilepsi, komplike febril konvulziyon, myoklonik astatik epilepsi ve jeneralize tonik klonik epilepsilerin tedavisinde kullanılmaktadır. Bazı hastalarda 25-30 mg/kg/gün dozları yeterli olabilirken, dirençli vakalarda 60 mg/kg/gün veya daha fazla dozlara gereksinim duyulabilmektedir. En sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, karın ağrısı ve diyare gibi gastrointestinal bulgulardır.

Trombositopeni ve trombosit agregasyonunu inhibe ettiğinden kanama zamanını uzatabilmekte, hiperfaji ve seyrek olarak da saç dökülmesi yapabilmektedir.

Hepatotoksik etkisi olup nadir de olsa fatal hepatit yapabilmekte ve bu yan etki doza bağlı olmadan kişiye özel olarak da gelişebilmekte, nadiren de Reye sendromubenzeri klinik tablo oluşturabilmektedir. En büyük risk iki yaşın altında ve birden çok ilaç alan hastalardadır. Başlangıçta aspartat aminotransferaz (AST) değerleri yükselmemiş olabilmekle birlikte sonradan anormal olabilmektedir.

İlaça başlarken karaciğer fonksiyonunun dikkatli takip edilmesi önerilir; eğer ilaç kesilirse bazı olgularda hepatotoksisite reversibl olabilmektedir. Karaciğerde koenzim A'yı bağlayarak yağ asitlerinin beta oksidasyonunu inhibe eder; buna bağlı olarak ketoasidoz oluşturabilir, ayrıca serum karnitin düzeyini de düşürebilir. Bu etkinin VPA ensefalopatisine katkısı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca karaciğerde üre sentezini inhibe ederek, yatkınlığı olan kimselerde hiperamonyemi ve buna bağlı olarak ensefalopati yapabilmektedir. Teratojenik bir ilaç olup nöral tüp defekti gelişimi riskini arttırmaktadır. VPA'in etkili ve popüler bir antiepileptik ilaç olduğu ve kullanılması sırasında yalnızca çok az sayıda hastada ciddi toksik etkiler olduğu bilinmektedir. VPA'in yağ asidi metabolizmasıyla yarıştığı bazı deneysel çalışmalarla desteklenmiştir. Kullanımı oldukça yaygın olan valproik asidin nöroendokrin sistem üzerine etkileri gösterilmiştir. Vainionpaa ve arkadaşları, çalışmalarında 20 yaşından önce valproik asit kullanan hastalarda hiperandrojenizm, polikistik over sendromu ve insülin büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 düşüklüğü geliştiğini göstermişlerdir.

Ayrıca hiperinsülinizm, obezite, leptin yüksekliği diğer yan etkilerdir. Bunun yanında obezite ile birlikte HDL kolesterol düzeyini düşürerek kardiyovasküler hastalık riskini de arttırmaktadır.

Diğer Antiepileptik İlaçlar:

Benzodiazepinler birçok nöbet tipinin tedavisinde etkilidirler, ancak yan etkileri ve antiepileptik etkilerine karşı tolerans gelişmesi nedeni ile kronik kullanımları sınırlıdır. Etkilerini GABA üzerinden gösterirler ve nöronal inhibisyonu güçlendirirler. En sık görülen yan etkileri sedasyon, sersemlik ve kognitif bozulmadır.

Etosuksimid absans nöbetlerin tedavisinde etkilidir. Kalsiyum T kanallarının düzenlenmesi yoluyla etkisini gösterir. Yan etkileri arasında gastrointestinal rahatsızlıklar, uyuşukluk, ataksi, diplopi ve baş ağrısı vardır.

Fenobarbital genellikle neonatal nöbetlerin kontrol altına alınmasında kullanılır. Her yaşta hem jeneralize hem de parsiyel nöbetlerin tedavisinde etkilidir. GABA üzerinden inhibitör nöro transmisyonu potansiyalize ederek etki gösterir. Ayrıca glutamatın etkilerini azaltarak eksitator nöro transmisyonu azaltır. Yan etkileri sersemlik, konuşma bozukluğu, nistagmus, solunum depresyonu, koma ve hipotansiyondur.

Pregabalin, sekonder jeneralize olsun veya olmasın parsiyel nöbetlerin tedavisinde endikedir. Voltaj bağımlı Ca kanallarına bağlanır, depolarizasyona yanıt olarak Ca'un hücre içine girişini azaltır ve bu yolla glutamatın salınımını inhibe eder. Önemli yan etkileri somnolans, ataksi, kilo alımı, bulanık görme, diplopi ve tremordur.

Tiagabin, parsiyel ve sekonder jeneralize nöbetlerde endikedir. Büyük oranda GABA' yı sinaptik aralıktan nöronlara ve glial hücrelere taşıyan GABA transporter-1'i inhibe ederek serebral GABA konsantrasyonlarını artırmak yoluyla etki gösterir. Kelime bulma güçlüğü, ensefalopati, non-konvulzif status epileptikus ve depresyon önemli yan etkileridir.

Zonisamid, tüm refrakter parsiyel ve jeneralize epilepsilerde, Lennox- Gastaut Sendromunda, West Sendromunda ve progresif miyoklonik epilepside endikedir. Voltaj bağımlı Na kanallarını bloke eder, voltaj bağımlı T tipi Ca kanallarını inaktive eder, GABA reseptörüne dopaminerjik ve serotoninerjik nörotransmisyonu kolaylaştırır. Böbrek taşı oluşumu, azalmış konsantrasyon ve irritabilite gibi yan etkileri vardır.

Bunlardan başka Asetazolamid, Adrenokortikotropik hormon, Felbamat, Pirasetam, Rufinamid gibi bileşikler de çeşitli nöbet tiplerinde kullanılmaktadır (20,21).

2.7. Prolidaz

2.7.1 Prolidazın Tanımı

Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait, Mn^{+2} ile aktive olan bir metalloenzimdir (69,70). Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini kataliz ederler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağını da içeren bazlardır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya

hidroksiprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler.

Prolidaz, domuz intestinal mukoza artıklarında aminopeptidaz ve karboksipeptidaz aktivitelerinin araştırılması sırasında keşfedilmiştir. Prolidaz, bir alt grup olarak saflaştırılmış, domuz böbreği ve domuz, sığır ince bağırsağından elde edilmiştir. 1937 yılında Bergmann ve Fruton glisil-prolin'in önceden bilinen peptidazlardan farklı, intestinal mukozal bir enzim tarafından hidroliz edildiğini saptamışlardır. O tarihten itibaren prolidaz adı verilen bu enzimin pek çok memeli dokusunda varlığı gösterilmiştir. Enzim yaklaşık 70 yıl önce bulunmasına rağmen önemi 35 yıl önce eksikliği ile ilgili çalışmaları yapıldığında anlaşılmıştır (22-24).

2.7.2. Prolidazın Yapısı

Prolidaz enzimi birçok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım gösterir. Doğal, sitoplazmik, homodimerik bir metallo enzimdir. Mn^{+2} prolidaz enzimi aktivitesini 5-10 kat arttırmaktadır. Mn^{+2} 'a ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gerekir (25). Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterirler (26). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın saptanan sekonder yapısında α -heliks (%33), β -tabakalı (%41) ve 30 potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit bir şekilde dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır. Enzimin primer sırası bilinen proteinlere benzemez fakat bazı sıraları (% 29'dan fazlası) F1-ATP az'ın α ve β subünitelerinin sırasına benzerlik göstermektedir (25,27).

Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Bu da sisteinin enzimin aktivitesi için gerekli olduğunu gösterir. Doğal enzim için optimum pH:7,6-7,8'dir ve izoelektirik nokta pH:4,4-4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir (25). Enzimin karakteristiği araştırıldığında Dietilaminitil (DEAE), selüloz dizi kromatografisinde prolidazın iki pik verdiği görülür. Bai Hu 1992 yılında yapmış olduğu çalışmada prolidazda her monomer için iki aktif bölgenin olduğunu saptamış ve

enzimin duruma bağılı olarak bu iki aktif bölgenin substrat spesifikliğı ve Mn²⁺ ile preinkübasyon ortamındaki aktivasyon bakımından da farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (26).

2.7.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu

Prolidaz geni sembolü PEPD'dir ve insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda lokalizedir (19p 13,2 bölgesi). İnsan cDNA 'sı 1482 baz çiftinin okunmasıyla oluşur bu da 493 amino aside karşılık gelmektedir (27).

Enzimin komplementer DNA klonları insan karaciğeri ve plesental cDNA bankalarında izole edilmiştir. Prolidazın nükleotit sırası saptanmıştır. Enzim amino asit olarak X-Ala-Ala-Ala sırası ile başlamaktadır (28). Prolidaz geni (PEPD) polimorfik allelleri içerir, bu aktiviteyi engellemez ve nadir alleller prolidaz eksikliğine neden olmaktadır (25). Amino asit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu, enzimin eksikliğinin sebep olduğu kalıtsal hastalığın temelinin anlaşılması bakımından önemlidir.

Prolidazın genomik sırası oldukça geniştir. En az 130 KB ve 15 ekson içermektedir. Ekson intron bağlantılarındaki tüm konformasyonlar GT/AG kuralına uymaktadır. Kodlama sırası genomik sıranın %2'sinden oluşur (25).

2.7.4. Prolidazın İzoenzimleri

Dietilaminoetil selüloz dizi kromatografisi (DEAE) ile deri fibroblast kültürüleri ve normal insan eritrositlerinden ayrıştırılan prolidazın 2 formunun olduğu görülmüştür (29).

Bunlar prolidaz I ve prolidaz II olarak isimlendirilmiştir. Bu iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösterirler (30). Bu iki izoenzimi ilk izole eden Butterworth ve Priestman olmuştur (1985). Sonra Myara ve arkadaşları 1987 ve 1989 yılında (31,32), Ohhashi ve arkadaşları ise 1990 yılında izoenzimleri izole etmeyi başarmışlardır. İzoenzimlerin molekül ağılıkları saptanmış ve prolidaz I'in molekül ağırlığının 112 kDa olduğu ve birbirini tamamlayan eşit molekül ağırlığında 2 subüniteden oluştuğu (56 kDa) bulunmuştur (30).

Prolidaz II'nin ise molekül ağırlığının 185 kDa olduğu ve birbirine eş iki subüniteden (95 kDa) oluştuğu gözlenmiştir (33,34). Prolidaz I tüm insan dokularında bulunur. Yapılan çalışmalarda prolidaz I'in tüm iminodipeptitlerle reaksiyona girmesine rağmen gly-prodi peptidini tercih ettiği bulunmuştur. Cosson ve arkadaşları 1992'de prolidaz II'nin gly-prodi peptidine karşı düşük bir aktivite gösterdiğini ve bu izoenzimin plazmada bulunmadığını kaydederek preinkübasyonun uzaması ile aktivitenin önemli ölçüde düştüğünü göstermişlerdir. Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine met-pro'ya karşı gösterdiği saptanmıştır (30). Prolidaz I'i in vitro tespit etmek için optimum şartlar; 1Mm MnCl₂ konsantrasyonunda 24 saat 37°C'de preinkübasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Mn⁺² konsantrasyonunun yükseltilecek zamanın azaltılabileceğini ya da yüksek preinkübasyon ısısı, düşük MnCl₂ konsantrasyonu ve düşük preinkübasyon zamanı kullanılabileceği kaydedilmiştir (35). Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır (30). Araştırmacılar karaciğer kaynaklı prolidaz II'nin karaciğerde inhibe edildiğini saptamışlardır. Bu inhibisyona ise plazma proteinlerinin sebep olduğunu belirtmişlerdir. Haptoglobulin, α₂ makroglobulin ve α₁ antitripsinin prolidaz II'nin aktivitesinde etkili olmadığı, fakat saf albuminin altı saatlik inkübasyondan sonra aktiviteyi ortadan kaldırdığı görülmüştür. Albuminin bu inhibitör etkisine dayanarak insan plazmasında prolidaz II'nin aktivitesinin olmadığı açıklanmıştır (30,35).

Tablo 3: İnsan prolidaz I ve prolidaz II izoenzimlerinin doku dağılımları.

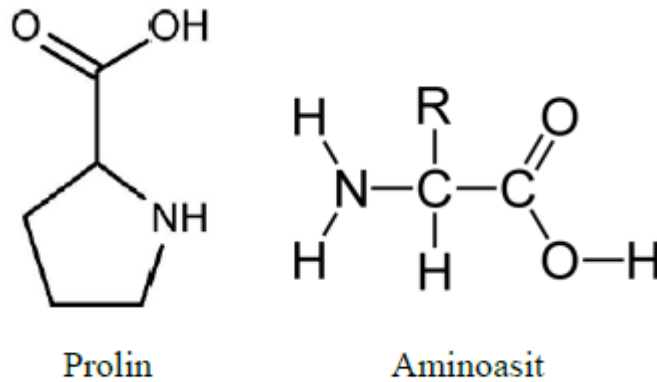
	Prolidaz I (%)	Prolidaz II (%)
Karaciğer	53	47
Böbrek	62	38
İleum	53	47
Jejenum	53	47
Duodenum	42	58
Pankreas	22	78
Mide	42	58
Dalak	52	48
Beyin	36	64
Beyincik	44	56
Kalp	37	63
İskelet kası	34	66
Eritrositler	51	49

2.7.5 Prolidaz İnhibitörleri ve Aktivatörleri

Yapılan çalışmalarda enzimin aktivasyonu için gerekli olan Mn^{+2} iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalar domuz böbrek prolidazı üzerinde 1957 yılında yapılmıştır. Fe^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Ag^{+1} , Hg^{+2} , Pb^{+2} ve Pt^{+4} iyonlarının prolidazı inhibe ettiği bulunmuştur. Ortalama 0,001-0,0004 M aralığındaki konsantrasyonlarda glutatyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutatyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmacılar iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (23).

2.7.6 Prolin

Prolin ve hidroksprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde iminoasit ismiyle adlandırılır. Amino asitlerin iminoasitler sınıfında yer alan esansiyel olmayan glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. Bu amino asit diğer amino asitlerden yan zinciri radikal grubunun hem amino grubu hem de α -karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıya yol açması yönünden farklıdır. Bu anlamda nitrojen atomunun kimyasal modifikasyonu prolin amino asidinin genel polaritesini ve basitliğini etkilemektedir. Dahası bu amino asitin siklik yapısı polipeptid omurganın yapısal yönlerine temel sınırlamalar getirmektedir. Prolin ve diğer bir amino asidin yapısal görünümü şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1: Prolin ve diğer bir amino asidin yapısal görünümü.

2.7.7. Prolinin Yapısal Özellikleri

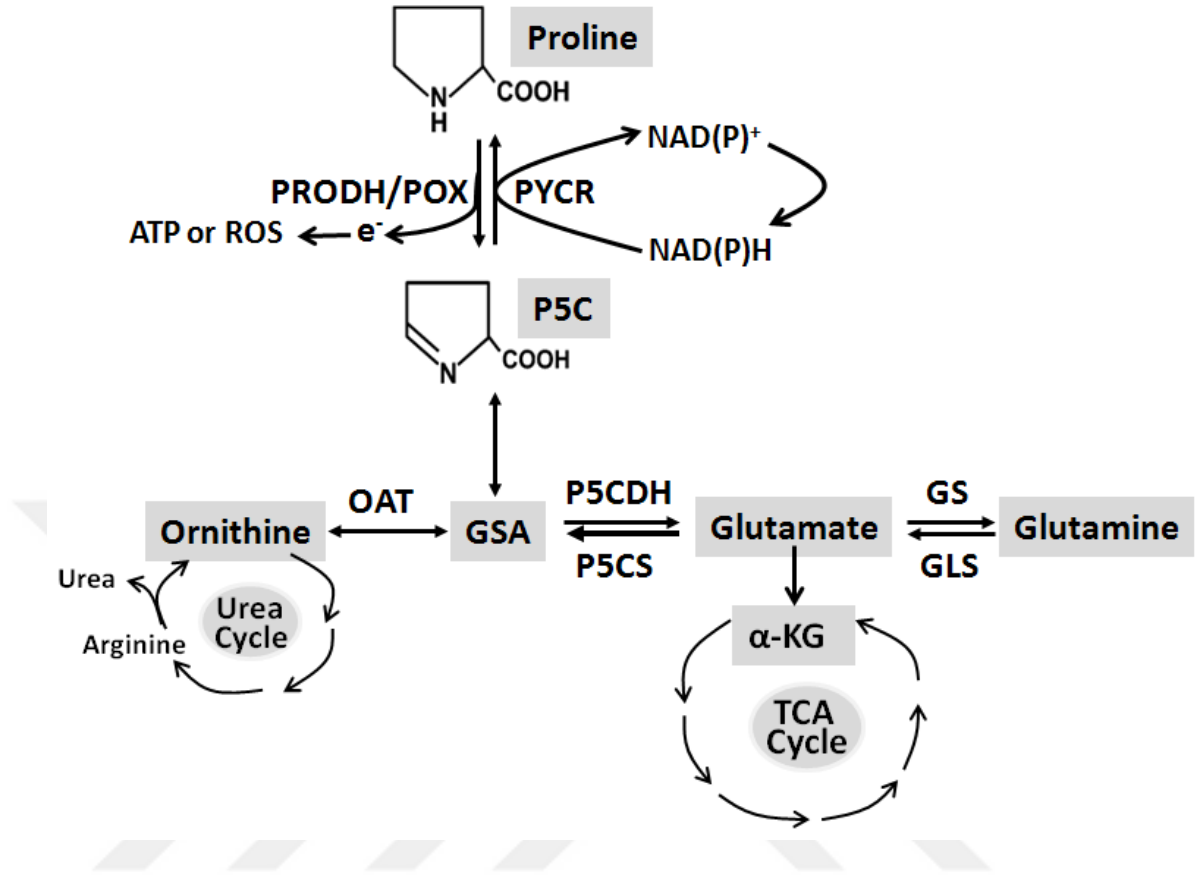
Benzersiz yapısal özellikten dolayı prolin bir peptid sekansına girdiği zaman önemli konformasyonel özellikler gözlenir. Bunun siklik yapısı α -karbon ve nitrojenin bir peptid bağındaki rotasyon açısını sınırlamaktadır ki normal olarak bitişik amino asitlerin reel grupları arasındaki sterik engelleme veya elektrostatik repulsiyona bağlıdır. Prolin potansiyel bir mükerrer

yapı kırıcı olan ve peptid zincirlerinin yönünü değiştirme eğilimine sahip peptidzincir içine sabit bir eğim takdim eder. Bu durum proteinlerin sferik veya globüler şeklinden dolayı etkileyici bir faktördür. Proteinlerin yüzeyinde ters bir dönüş veya saç tokası eğimi şeklinde olan bu önemli yapısal olayın proteinler içindeki en önemli sonucu prolin oluşmasıdır. Prolin siklik yapısının ikinci bir sonucu hiçbir fonksiyonel grup içermemesidir ki bu durumda hidrojen bağına veya peptid bir bağın rezonans stabilizasyonuna katılmayı engeller. Bu nedenle prolin α heliks veya β tabakalı sekonder yapılarıyla uyumlu olmayan tek amino asittir. Ancak prolin multiple prolin amino asidinin bir protein içinde birikimli oluştuğu zaman sol elli bir helikal yapı ortaya koyar. Bu çok yaygın bir durum olmasına rağmen bovin pankreas tripsin inhibitöründe 5-7 amino asitleri için rapor edilmiştir. Prolin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde bağlı olan ikinci bir helikal formasyon da kemik, tendon ve destekleyici membran dokularının ana bileşeni olan kollajendir (36).

2.7.8. Prolinin Biyolojik Önemi

Kollojen yapısında yer alan en önemli amino asitler prolin ve hidroksprolindir. Hidroksprolin hidrojen yapım ve yıkım reaksiyonlarında açığa çıkar. Prolinin oynamış olduğu bir anahtar fizyolojik rol, biyolojik olarak aktif peptidlerin enzimatik degradasyona karşı korunmalarını sağlamaktır. Bu durum peptid veya protein prekürsörlerinin post translasyonel modifikasyonlarının regülasyonunda açıkça bellidir. Polipeptid zincirlerin içinde yerleşik olan prolin amino asitler polipeptid zincirin hassasiyetini proteolizle sınırlayan yapısal unsurlar olarak hareket ederler ve zincirlerin enzimatik süreci öncesinde modifikasyon bölümünde mevcuttur. Bu durum peptidlerin post translasyonel modifikasyonunda görev alan ekzopeptidazların özelliği ile ilişkili araştırmalarda gösterilmiştir ve pek çok biyolojik olarak aktif peptidlerin amino ucuna yakın yerlerde ortaya çıkan prolin gözlemiyle desteklenmektedir (37,38). Prolin ayrıca krebs ve üre döngüleriyle metabolik olarak bağlantılıdır. Prolin-5-karboksilik asit prolin metabolizmasında iki döngüyü birbirine bağlayan bir pozisyonadadır. Prolinin karbon zincirinden krebs döngüsüne

geçiş i tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-okso-glutarik asit metabolizması ile olur (39)(Şekil-2).



Şekil 2: Prolin krebs ve üre döngüleriyle metabolik bağlantısı

2.7.9 Kollajen

Kollajen; yapısında her beş amino asitten biri prolin veya hidroksiprolin bulunan önemli bir destek proteinimizdir. Kemik, diş, tendon, deri, damarlar gibi birçok dokuda yer almaktadır. Kollajenin primer yapısı polipeptid zincirindeki her üç pozisyondan birinde en küçük amino asit olan glisin bulunması açısından değişiktir. Glisin heliks yapıdaki kollajenin üç zincirinin bir araya geldiği kısıtlı alana sığabilir. Glisin kalıntıları, Gly-X-Y olarak tekrarlayan X'in genellikle prolin olduğu ve Y'nin sıklıkla hidroksiprolin veya hidroksilizin olduğu düzenin parçasıdır. Vücudumuzda önemli birçok dokunun yapısında yer alan kollajenin döngüsünde prolidaz spesifik bir enzim olduğu için önemi büyüktür. Kollajenin yıkımında ve prolinin kollojen yapımı

döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır.

2.7.10.Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımında Önemi

Kollajenler, hayvansal bağ dokunun temel bileşeni olup vücutta en fazla bulunan proteinlerdir. Bağ doku iskeletinin yapısını oluşturan kollajen, enflamasyon ve yara iyileşmesinde temel rol oynar. Kollajenin aminoasit kompozisyonu %33 glisin, %20-25 prolin ve hidroksprolin, %5-11 lizin ve hidroksilizinden oluşur. Farklı genler tarafından kodlanan en az 15 tip kollajen vardır. Tip I, II, III, V ve XI fibriller kollajen olarak isimlendirilir. Kollajenler birçok dokuda fibroblastlar tarafından sentezlenirler.

Ribozomlarda preprokollojen olarak başlayan sentez sitozolde prokollajen şeklinde devam eder ve hücre dışı alanda tropokollajen ve kollajen oluşumu ile sonlanır. Kollajen molekülleri alfa zincirleri adı verilen, birbiri etrafında üçlü heliks halinde sarılarak ip benzeri yapı oluşturan üç polipeptitten meydana gelir. Polipeptit yapılarının her üç pozisyondan birinde en küçük aminoasit olan glisin bulunur. Glisin heliksin üç zincirinin bir araya geldiği kısıtlı alana sığmaktadır. Kollajen diğer birçok proteinde bulunmayan hidroksprolin ve hidroksilizin içerir. Hidroksprolin kollojenin üçlü heliks yapısının dayanıklılığını sağlamada önemlidir. Kollojenin yarı ömrü 50-300 gündür. Bu ömür; gelişme, büyüme, doku yapımı ve yara iyileşmesi gibi durumlarda uzar. Kollojenlerin yıkımı genellikle nötral pH'da aktif olan pek çok matriks metallo proteinazlarının (kollajenazlar) sinerjistik aktivitesinin bir sonucudur. Bununla birlikte jelatinaz, stromelizinler, polimorf elastaz ve katepsin gibi nonspesifik proteinazlar da bu yıkıma katılırlar. Kollajenazlar; fibroblast, kondrosit, osteoblast ve endotelial hücrelerden latent proenzim formunda salınırlar ve plazminle aktivasyonu takiben çapraz bağlı kollajeni parçalayarak dipeptitlere ayırırlar. Bu dipeptitler de prolidaz, prolinaz ve diğer dipeptidazlar tarafından serbest aminoasitlere parçalanırlar. Prolidaz, C-terminalinde aminoasidi prolin veya hidroksprolin olan dipeptitlerin hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni proteinsentezinde kullanılırken hidroksprolin idrarla atılmaktadır (36,40). Kollajen yapısındaki aminoasitlerin

yaklaşık %25' ini prolin ve hidroksprolin oluşturduğundan, prolidaz kollajen yıkımında önemli rol oynamaktadır (6). Prolidaz, hücre içi protein yıkımının son basamağında, özellikle yüksek miktarda prolin içeren prekollajenin yıkımı aşamasında rol oynamaktadır (30,41).

Enzim için substrat kaynağı kollajen olup iminopeptidler kollajenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır. Prolidaz, beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden iminoasitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar (41). Prolidaz, C-ucunda prolin veya hidroksprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir (26). Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda hidroksprolin üre ile dışarı atılır. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda çok düşüktür. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İminopeptidüri, aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda da tanımlanır. Fakat İminopeptidüri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir. Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokularda anormalliklerle karakterize bir sendromla sonuçlanır. Bu nadir görülen genetik prolidaz eksikliği otozomal resesif olarak geçmektedir. Prolidaz geni başka bir kalıtsal rahatsızlık olan miyotonik distrofi ile ilgili olması açısından önemlidir. Prolidaz enzimi uzun zamandan beri bilinmesine rağmen önemi, son yıllarda eksikliği ile ilgili çalışmalarla iyice anlaşılmıştır (42,43). Bu yüzden bu konuda az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmaların çoğu da eritrosit prolidazı ile ilgili olup serum prolidazı hakkında çok şey bilinmemektedir. Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik, tekrarlayan enfeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (41,44). Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin derifibroblast kültüründe ve kan hücrelerinde azaldığı da gösterilmiştir (45).

Fetal büyüme sırasında kollojen turnoverinin yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Dismatür bebeklerde prolidaz aktivitesi (amniyotik sıvıda) anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu nedenle prolidaz aktivitesinin fetal matürasyonun derecesini gösterdiği düşünülmektedir.

Amniyon sıvısında ölçülen prolidaz aktivitesinin fetal matürasyonun ve gelişme geriliğinin bir indikatörü olarak kullanılabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca kollajen metabolizmasında bozuklukla seyreden silikozis hastalığının tedavisinde de prolidaz enziminin kullanılması hedeflenmektedir. Böylece hızla kollajen yıkımı ile seyreden silikozis hastalarında prolidaz enzim aktivitesinin artırılması tedavide faydalı bir yaklaşım olarak düşünülmektedir (46).

2.8. Oksidatif Stres Parametreleri

Serbest radikaller; radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkması veya ilavesi sonucu elektron çiftinin dengesinin bozulmasıyla oluşan, dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron taşıyan, organik ve inorganik moleküller ile reaksiyona girebilme yeteneğine sahip, yüksek oranda reaktif kısa ömürlü bileşiklerdir (47,48). Normal metabolizma sırasında ya da patolojik intraselüler ve ekstraselüler olaylarla ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri oksidatif stres olarak isimlendirilir. Bu radikaller ortamdaki uzaklaştırılmadığı takdirde, enzim ve proteinleri inaktive ederek veya serbest radikalın kendisi primer olarak hücre hasarına veya ölümüne sebep olabilir (48). Sonuçta serbest radikaller erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın gelişiminde suçlanmaktadır (49-51).

2.8.1 Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijen birçok metabolik aktivite için gereklidir. Aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle hayati öneme sahip oksijen, yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde gerçekleşen enzim inhibisyonları ve oluşan oksijen radikalleri ile toksik etki yapabilir (52,53). Oksijen radikalleri, biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisidir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilir (54). Vücutta üretilen radikaller her zaman zararlı olarak görülmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur.

En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır (55);

1. Superoksit Radikali (O_2^-)
2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
3. Hidroksil Radikali ($HO\cdot$)
4. Singlet Oksijen ($O_2^{\uparrow\downarrow}$)

2.8.1.1. Superoksit Radikali

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan O_2^- radikali oluşmaktadır. H_2O_2 kaynağı olup, canlılarda olduğu ilk gösterilen serbest radikal türevidir. Hücre dışı ortamda endotel hücreler, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlar sonrası ortaya çıkan zayıf bir oksidan olan O_2^- 'nin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir (55).

Ancak superoksit radikalleri oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda superoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatabilir (49,54-56).

2.8.1.2. Hidrojen Peroksit

O_2^- 'ye bir elektron eklenirse veya oksijenin direkt olarak indirgenmesiyle hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasından dolayı radikal olmamakla birlikte reaktif oksijen kategorisine sokulur (54,55). Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahiptir. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilir. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (48,55,56).

2.8.1.3. Hidroksil Radikali

En tehlikeli reaktif oksijen radikalidir. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilir

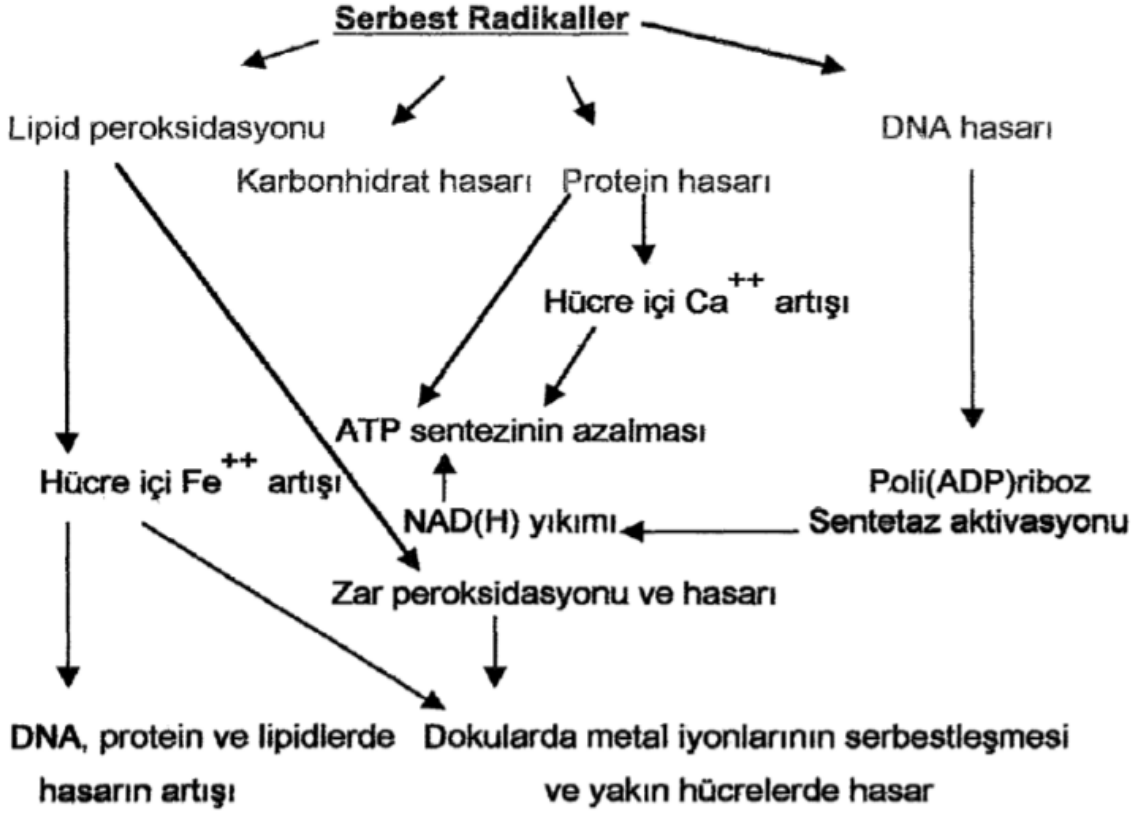
ve normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılır (48,54,55). H_2O_2 'nin U.V. ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle hücum ederek hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın purin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir (53). Özellikle araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, "lipit peroksidasyonu" olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (54,55).

2.8.1.4. Singlet Oksijen

Oksijenin uyarılmış şekline "singlet oksijen" denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturur ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipit peroksidasyonunu başlatabilir. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilir (54).

2.8.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller hücresel lipit, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilir. Oksijen endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından superoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan superoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen peroksite dönüştürülür. Cu^{+2}/Fe^{+2} ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşur. Burada ayrıca superoksit anyonları, Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunurlar (52) (Şekil 3).



Şekil 3: Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları.

2.8.3. Serbest Oksijen Radikallerin Lipitlere Etkileri

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipit peroksidasyonuna neden olabilir. Hücre zarlarında bulunan poliansature yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (54). Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (56). Hidroksil radikali, fosfolipaz A2'yi stimule ederek araşidonik asit salınımına yol açar. Araşidonikasitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipit peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Başlangıçta serbest radikaller, bir lipit karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşur. Bu lipit radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksil radikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon

zincirini başlatır. Üretilen peroksil radikali elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipit radikal ve lipit hidroperoksitleri oluşturur (48). Bunun yanında superoksit lipit peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir. Membran Fosfolipitlerinin peroksidasyonu permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır.

Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal Ca^{+2} girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Peroksil radikali, poliansature yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehitlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehitler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehitler arasında en iyi bilinenleri malonildialdehit (MDA) ve 4 hidroksi alkenal'dir (58). Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikasyonu değildir, ancak lipit peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon gösterir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olur. Bunun sonucunda da deformasyon iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir (54,59).

2.8.4. Serbest Oksijen Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sulfhidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedir (60).

2.8.5. Serbest Oksijen Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (54). Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen

lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2^- buradaki mukopolisakkarit olan hyaluronik asidi parçalamaktadır (54).

2.8.6. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Yükseltgenabilir bir substratla (protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler) karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu belirgin biçimde geciktiren/önleyen maddeye antioksidan denir (61). İkinci bir tanıma göre diyetel antioksidan normal fizyolojik fonksiyonların varlığında reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin yan etkilerini belirgin biçimde azaltan ve yiyeceklerde var olan maddeler olarak tanımlanır (62). Ancak bu tanım yeniden gözden geçirilmiş ve genişletilerek membran stabilitesini devam ettirme özelliğinin de antioksidanların fonksiyonlarından biri olduğu belirtilmiştir (63).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini aşağıdaki yollarla gösterebilirler:

- 1-Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
- 2-Reaktif oksijen türleri oluşumunu minimumda tutarak,
- 3-Hasarlı hedef molekülleri onararak,
- 4-Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan metal iyonlarını bağlayarak,
- 5-Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek (64).

Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon-S- transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albümin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma

sistemini oluşturmaktadırlar (65,66). Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (67).

2.8.6.1. Enzim Olan Antioksidanlar

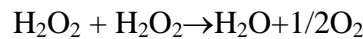
2.8.6.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler ancak Mn-SOD pH 7'nin üzerinde aktivitesini kaybederken Cu-Zn-SOD'un aktivitesi pH 5.5-10 aralığında değişmez.

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen peroksit'e çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuvar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (55).

2.8.6.1.2. Katalaz

Katalaz enzimi hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizler. Enzim hücre içinde peroksizomlarda yerleşmiştir ve bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalaz'ın etkisi de SOD'a benzerdir.

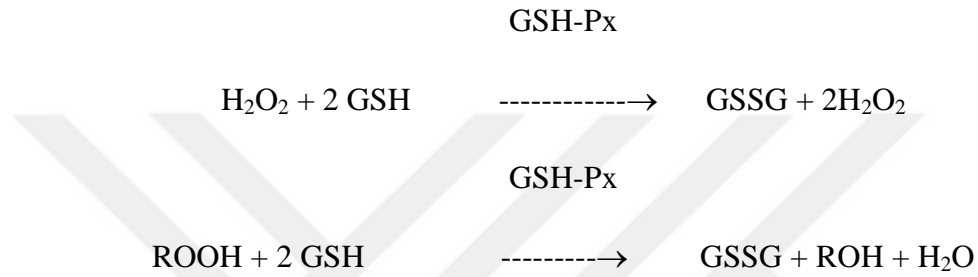


Bu reaksiyon H_2O_2 konsantrasyonları yükseldiğinde önem kazanırken düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar H_2O_2 'lerin daha az reaktif olan alkollere ve suya

parçalanmasını katalizler. Kanda, böbrek ve karaciğerde ayrıca mukoz membranlarda bulunur. Granulomatoz hücreleri solunumsal patlamaya karşı korur (63).

2.8.6.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan bir enzimdir ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Sitozol ve mitokondrielerde SOD tarafından oluşturulan H_2O_2 ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük H_2O_2 konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır.



Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (55). GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, H_2O_2 'in artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı GSH-Px ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (68).

2.8.6.1.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST)

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



Antioksidan aktivitesine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadır (55).

2.8.6.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR)

H₂O₂ indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. Glutatyon peroksidazın fonksiyonunun devamlılığı için okside glutatyon tekrar indirgenmelidir. Reaksiyon GSH redüktaz tarafından katalizlenir. Enzim NADPH bağımlı bir flavoproteindir (55).



2.8.6.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizler. Bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.

2.8.6.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

2.8.6.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen ve hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. GSH sentezinde kullanılan sisteinin kaynağı N-asetil sisteindir. Glutaminin glutaminaz ile hidrolizi ve α-ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynaklarıdır. GSH'dan kaynaklanan glutatyon radikali (GS⁻) bir prooksidandır. Ancak iki GS⁻ birleşerek okside glutatyonu (GSSG) oluştururlar bu da GSH redüktaz tarafından GSH'ya indirgenir. Doğrudan veya dolaylı yollarla reaktif oksijen türlerini temizler. Hücresel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan tiyol proteinleriyle etkileşime girer (69).

2.8.6.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)

C vitamini pek çok biyolojik fonksiyon için gerekli suda çözünebilen bir mikro-nutrienttir. Birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapar. Bunlar, kollajenin post-translasyonel hidrosilasyonu, karnitin biyosentezi, dopaminin norepinefrine dönmesi, peptid amidasyonu ve tirozin metabolizmasında görev alan enzimlerdir. Anti-skorbutik fonksiyonu yanında C vitamini potent bir indirgeyici ajan ve biyolojik sistemlerde serbest radikal toplayıcısıdır (70). Biyolojik sıvılarda en çok bulunan ve suda çözünen bir antioksidandır. Süperoksit, hidroperoksit radikalleri ve singlet oksijen ile peroksinitrit, nitrojen dioksit ve nitroksit radikallerini toplayabilme özelliğine sahiptir. Paradoksik olarak C vitamini in vitro koşullarda bir pro-oksidan gibi davranabilir.

C vitamininin demir ve bakır ile birlikteliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif modifikasyonunu indüklemek için kullanılmaktadır (61). C vitamini oksidatif strese ferrik demiri ferroz demire indirgeyerek ve sonrasında H_2O_2 'in hidroksil radikaline dönüşümünü sağlayarak neden olabilir. Ancak genel olarak bu C vitamini aracılı Fenton reaksiyonları insanda ferritin ve transferin gibi metal bağlayıcı proteinlerin etkin demir sekestrasyonu sayesinde kontrol edilir. Pro-oksidan etkinin in vivo koşullarda gerçekleşip gerçekleşmediği net değildir (61,71). İnsan plazmasının in vitro inkübasyonu yöntemiyle yapılan çalışmalar C vitamininin aktive redoks geçiş metalleri ve H_2O_2 eklenmesi durumunda bile lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir (72). Plazma askorbik asit havuzunda sigara kullanımıyla ilgili ilişkili düşüş ilk olarak 1930'larda tanımlanmıştır (61).

Sonraki çalışmalarda, sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma/serum/lökosit C vitamini konsantrasyonlarını yaklaşık %40 oranında daha düşük olarak rapor etmiştir. Son çalışmalarda sigara içen erkek ve kadınlarda plazma, lökositler ve idrarda gözlenen düşük askorbik asit konsantrasyonlarının nötrofillerin aktivite ve sayılarında artışla ilişkili olduğu bunun da C vitamininin artmış kullanımı, düşük alımı veya azalmış biyoyararlılığıyla açıklanabileceği söylenmiştir (70).

2.8.6.2.3. Vitamin E (Tokoferol)

Alfa tokoferol yağda çözünen lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Çok güçlü bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur, oluşan radikalleri temizler, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit E vitaminin etkisini artırır. E vitamini ve GSH-Px serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini, sentezlerini engeller iken GSH-Px, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (74).

2.8.6.2.4. β Karoten

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü bir oksijen temizleyicisidir. Serbest radikalleri direkt olarak yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (75).

2.8.6.2.5. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

2.8.7.Total Antioksidan Seviye (TAS)

Total antioksidan kapasiteyi gösterir. Normal koşullarda organizma, endojen ve ekzojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücutta oluşan oksidan durumların tamponize edilmesinde kan çok önemli bir rol oynamaktadır. Kan, antioksidanların tüm vücuda dağıtılmasını sağlar (77). TAS'a en büyük katkı plazmada bulunan antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi proteinler yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit insan

plazmasındaki total antioksidan kapasitenin % 85'inden fazlasını oluşturur. Bu fark kanda bilirubin, indirgenmiş glutation (GSH), flavanoidler, alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidan maddelerin miktarının albümin, ürik asit ve askorbik asit miktarından az olmasından kaynaklanmaktadır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir antioksidan etki oluşmaktadır. Bu sinerjik etkiye örnek olarak; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolü yeniden aktifleştirmesi verilebilir. Total antioksidan seviyesinin ölçümü, antioksidanların tek tek seviyelerinin ölçümünden daha değerli bilgiler verir. Bu yüzden kanın antioksidan düzeyi durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (76,78,79).

2.8.8. Total Oksidan Durum (TOS)

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidatif-antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif stres veya total oksidan status, seviye (TOS) olarak ifade edilir. Bu fenomen, aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri toksiktir ve hücrenin lipit, protein ve DNA gibi biyo moleküllerine zarar verir. Damar endoteli de bu durumdan kısmen etkilenmektedir.

2.8.9. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total peroksitlerin, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. OSİ'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir. $OSİ \text{ (Arbitrary Unit)} = \frac{TOS \text{ (}\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L)}}{TAS \text{ (mmol Trolox Equiv./L)}}$

2.9. Epilepsi ve Oksidatif Stres İlişkisi

Nöronal hasar tekrarlayan nöbetlerin bir sonucu olarak karşımıza çıkabilmektedir. Halen net veriler bulunmamakla birlikte nöronal ölümün hem tekrarlayan nöbetler sonucu ortaya çıktığı hem de nöronal ölümün tekrarlayan nöbetlere neden olduğu düşünülmektedir.

Nöbetlerin hücre ölümüne neden olduğu şeklindeki veriler özellikle status epileptikus sonrası aşırı derecede glutamat reseptörlerinin uyarılması sonucu ortaya çıkan hipokampal sklerozdur. Hipokampal sklerozun nöbetlere neden olduğunu düşündüren neden ise hasarlı bölgenin çıkartılmasından sonra nöbetlerin durmasıdır. Çocukluk çağında komplike febril nöbetler ve status epileptikus sonrasında muhtemel nöronal ölüme bağlı temporal lob nöbetleri ortaya çıkabilmektedir. Nöbetler aynı zamanda nörotrofik faktörleri kodlayan genleri aktive etmekte ve uzun dönemde hipereksitabiliteye yol açan yapısal değişikliklere neden olmaktadır (80). Tekrarlayan nöbetler epilepsi oluşumuna yol açacak moleküler olayları tetiklediğinden, nöronal ölüme ve nöbet tekrarına yol açan biyokimyasal anormalliklerin bilinmesi büyük önem taşımaktadır.

Oksidatif stres, oksidan hasarın antioksidan defans mekanizmalarının kapasitesini aştığı durumlarda ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stresin birçok akut ve kronik hastalığın patogeneğinde anahtar rol oynadığı bilinmektedir. Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri inme, spinal kord hasarı, Parkinson, Alzheimer, Huntington ve amiyotrofik lateral skleroz gibi birçok nörolojik hastalığın patolojisinde yer alsa da, bu ürünlerin epilepsideki rolü halen anlaşılammıştır (1). Çoklu doymamış yağ asit miktarının fazlalığı, yüksek aerobik enerji döngüsü, yüksek demir miktarı gibi nedenlerden ötürü beyin oksidatif hasara çok açık bir organdır.

Aynı zamanda beyinde onarıcı mekanizmalar diğer organlara göre daha azdır. Hücrenel süperoksitin ana üretim merkezi olan mitokondriler de beyinde diğer organlara göre daha fazla bulunmaktadır. Beyinde süperoksit ayrıca katekolaminlerin oto-oksidasyonu ve sitoplazmik ksantin oksidaz gibi enzimlerin reaksiyonları sonucunda da oluşabilmektedir (81). Süperoksit oluşumunu takiben hızla bu molekül hidrojen peroksit'e çevrilmekte ve oksidatif hasarın derecesi artmaktadır.

Nöronal hasara yol açan sitotoksik mekanizmalar hücre makromoleküllerine direkt saldırı şeklinde olmaktadır. Epileptik nöbetlerin nöronal ölüm etiyojisinde rol aldığını

düşündüren kanıtlar deneysel çalışmalardan gelmektedir. Deneysel nöbetler hücrel makromoleküllerin oksidasyonunu artırmakta, süperoksit dismutaz mimetikleri, melatonin ve vitamin C gibi antioksidanlar bu hasarı azaltmaktadır (82). Epileptik nöbetlere bağlı beyin hasarı serbest radikal oluşumunu azalttığı bilinen kalori kısıtlaması ile azalmaktadır (83).

Oksidatif hasarın değerlendirilmesinde oksidatif ürünlerin ölçümü bu moleküllerin ortamdaki hemen uzaklaştırılması ve belli vücut bölümlerinde yerleşmiş olmaları nedeni ile zordur. Mitokondriyal ve sitozolik akonitaz enziminin merkezinde bulunan demir-sülfür bağları bu enzimi özellikle süperoksit molekülünün hedefi haline getirmektedir (84). Ortamda fazla miktarda süperoksit radikali bulunduğunda akonitaz enzimi inaktif olmaktadır. Mitokondriyal süperoksit dismutaz bakımından homozigot olarak yoksun farelerde süperoksit radikali hasarına bağlı olarak mitokondriyal akonitaz enzimi aktivitesi çok düşük bulunmuştur (85). Yine başka bir hayvan çalışmasında kainik asit ile oluşturulmuş nöbetlerde hipokampusta yine mitokondriyal akonitaz aktivitesinde azalma saptanmıştır (86). Mitokondriyal akonitaz enziminde en fazla azalmanın olduğu bölgede nöronal ölüm diğer bölgelere göre artmış olarak bulunmuştur (87). Başka bir deneysel çalışmada ise aşırı derecede süperoksit dismutaz üreten farelerde kainik asit ile oluşturulan nöbetler sonucunda mitokondriyal akonitaz enziminde inaktivasyonun ve nöronal ölümün azaldığı saptanmıştır (88). Bütün bu bulgular süperoksit radikalinin nöbetlere bağlı nöronal ölümün patogenezinde yer aldığını düşündürmektedir. Nöbetler sonrasında lipid peroksidasyonun gerçekleştiğini gösteren veriler tiobarbitürik asit reaktif ürünlerinin ve F2-isoprostanların ölçümü ile elde edilmektedir (87). F2-isoprostanlar, yeni tanımlanmış prostoglandin F2 benzeri ürünler olup, in vivo olarak araşidonik asitin serbest radikaller ve non-siklooksijenazlar ile peroksidasyonu sonucu oluşmaktadır (88). Deneysel olarak oluşturulmuş nöbetlerde hipokampusun CA3 ve dentat girus bölgesinde F2-isoprostanların artmış olarak bulunması nöbetlere duyarlı bu bölgelerde oksidatif lipid hasarının meydana geldiğini düşündürmektedir (89).

3.MATERYAL ve METOD

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmamıza Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'nın 12.12.2014 tarihli 12 numaralı oturumu, B.30.2HRÜ.74059997.050.01.04/206 sayılı kararı ile etik kurul onayı alınmıştır. Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyon Başkanlığı 06.03.2015 tarih ve 15015 protokol numarası ile projemize destek kararı almıştır. Bu prospektif çalışmamızda hasta grubu, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Nöroloji Bilim Dalına başvuran ve ILAE sınıflamasına göre epilepsi tanısı almış olan bireylerden oluşmakta idi.

Kontrol grubu gelişim takibi için sağlık merkezlerine getirilen, öykü ve fizik muayene bulguları normal olan, epilepsisi ve bilinen kronik ve akut hastalığı olmayan, demografik özellikleri benzer 32 sağlıklı gönüllü katılımcıdan oluşturuldu.

Araştırmaya katılmayı kabul eden ailelere çocukların ve ailenin bazı sosyodemografik özelliklerini inceleyen anket uygulandı. Ankette aynı zamanda, çocuğun özgeçmişi, soygeçmişi, beslenme öyküsü, fizik muayenesi, laboratuvar ve diğer inceleme yöntemlerinin sonuçları da yer aldı. Hastalardan yakınmalarının ve akut enfeksiyon tablosunda olmadıkları ve herhangi bir ilaç kullanmadıkları dönemlerde kan alınarak çalışma yapıldı.

3.2. Kan Örnekleri

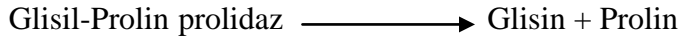
Çalışma grubuna dahil edilen hastalardan ve kontrol grubu için gönüllü katılımcılardan kan örnekleri alındı, bir saat içinde 3200 rpm de 10 dk santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Hemoliz olan serum örnekleri çalışmaya dahil edilmedi. Kan örnekleri katkısız tüplere alındı. Alınan venöz kanlar; serumları ayrıştırılarak Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında TAS, TOS, OSİ ve prolidaz enzim aktivitesi düzeyleri çalışılmak amacıyla -80°C'de depolanarak muhafaza edildi. Çalışma yapılacağı zaman tüm serum örnekleri oda ısısına getirildikten sonra biyokimya laboratuvarında çalışıldı.

3.3. Kullanılan Araç ve Gereçler

- 1- Santrifüj (Hettich® Universal 30 RF)
- 2- Spektroflorometre (Shimadzu® RF-1501 MODEL, Japon)
- 3- Derin dondurucu (New Brunswick Scientifi®, C54285 model)
- 4- Hassas terazi (Sartorius® marka 0,0001 g'a duyarlı)
- 5- Dijital pH metre (Hanna®, pH 211 model Japon)
- 6- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset®, USA)
- 7- Vorteks (DCA-VF®-2)
- 8- Visible spektrofotometre (Jasco® V-530 UV/Vİ3 Spektrofotometre)
- 9- Su banyosu (Nüve® BM 402)

3.4. Serum Prolidaz Aktivitesi Ölçüm Yöntemi (Modifiye (Optimize) Chinard Metodu)

Substrat olarak glisil-prolin kullanılarak enzim aracılığı ile oluşan prolinin asidik ortamda ısı etkisiyle ninhidrin ile renkli bir bileşik (pembe renk) oluşturma ilkesine dayanarak serum prolidaz düzeyi ölçülür. Rengin şiddeti prolin konsantrasyonuna bağlıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülür.



Deney 3 basamaktan oluşur:

1. Enzim aktivasyonu için; Numunenin Tris-HCl ve MnCl₂ ile preinkübasyonu
2. Örnek ile glisil-prolinin inkübasyonu
3. Serbestlesen prolinin spektrofotometrik olarak modifiye (optimize) chinard metodu ile ölçülmesi

3.4.1. Prolidaz Aktivitesi Ölçümünde Kullanılan Ayıraçlar

1. Ön inkübasyon çözeltisi: pH:7'de 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH, 50 mmol/L MnCl₂ çözdürüldü.

2. Substrat çözeltisi: Öninkübasyon çözeltisi içerisinde 144 mmol/L glisil-L prolin dipeptidi çözdürüldü. Ancak substrat çözeltisi için pH:7,8'lik Tris HCl tampon kullanıldı.

3. Tepkimeyi durdurma çözeltisi: 1mL glasiyal asetik asit kullanıldı.

4. Ninhidrin çözeltisi (modifiye (optimize) chinard çözeltisi): 0,5 mol/L'lik ortofosforik asit içerisinde 3 g/dL olacak şekilde ninhidrin manyetik karıştırıcı ve ısı yardımıyla 70°C'de eritildi.

5. Prolin standartı: 5mg L-prolin bir miktar deiyonize su içerisinde çözdürülüp son hacmi 100mL ye tamamlandı.

3.4.2. İşlem

a) Yöntemde, 100µL serum ile 100µL serum fizyolojik karıştırılıp bu karışımdan 25µL alınıp, 1 mmol/L GSH ve 50 mmol/L MnCl₂ pH 7'de 50 mmol/L Tris HCl tampondan oluşan ön inkübasyon solüsyonundan 75µL alınarak 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.

b) Karışımın üzerine 144 mmol/L Gly-pro içeren ön inkübasyon çözeltisinden (pH:7,8) 100µL eklenerek 37°C' de 5 dakika inkübe edildi.

c) Daha sonra inkübasyonsuz (sıfır zaman) tüpleri hazırlandı. İnkübasyonlu tüplere inkübasyonun sonunda 1mL glasiyal asetik asit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. İnkübe edilmemiş örnek bulunan sıfır zaman tüplerine de aynı hacimde glasiyal asetik asit ilave edilip reaksiyon durduruldu.

d) İnkübasyonlu ve inkübasyonsuz (sıfır zaman) tüplerin üzerine 300µL Tris-HCl tamponu (pH:7,8) ve 1mL Ninhidrin çözeltisi eklendi.

e) Yukarıdaki işlemler uygulandıktan sonra tüplerin ağzı kapatılarak 90°C'de su banyosunda 20 dakika bekletildi. Daha sonra buzlu su banyosunda soğutulup beklenmeden 515 nm'deki absorbanslar substratın katılmadığı örnek körüne karşı okutuldu (91,92). Ölçülen prolin derişimleri standart olarak kullanılan 5 mg/dL'lik L-prolin ile karşılaştırılarak hesaplandı. Prolidaz enzim aktivitesi birimi olarak, enzimin Gly-Prolin substratını parçalayarak prolin oluşturduğu

basamaktaki 1 dakikada oluşan $\mu\text{mol/L}$ cinsinden prolin olarak tanımlandı. Ninhidrin tepkimesindeki prolinin molar absorbans katsayısı 27,2'dir (90-93).

3.4.3. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması

$$\text{Prolidaz aktivite düzeyi} : \frac{(A-B) \times [S] \times \text{Faktör}}{S}$$

A: İnkübasyon tüpü absorbans değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorbans değeri (inkübasyonsuz)

[S] : Standart konsantrasyonu ($\mu\text{mol/L}$)

S: Standart absorbans değeri

Faktör: Dilüsyon değerleri/inkübasyon periyodu

$$\text{Prolidaz aktivite düzeyi: } \frac{(A-B) \times [S] \times \text{Faktör}}{S} : 1 \text{ lt de 1 dk da oluşan } \mu\text{mol prolin}$$

Serumda aktivite tanımı: 1 μmol substratı 1 dakikada değişikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim U/L olarak tanımlanmıştır.

3.5. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Örneklerin total antioksidan seviye (TAS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (94). Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi.

3.6. Total Oksidan Seviye (TOS)

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan

moleküllerin ferröz iyonu ferrik iyona katlanmış olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/ L olarak ifade edildi (95).

3.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Oksidatif Stresi değerlendirmede bir gösterge olan Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir (96).

Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, mmol trolox Equiv. / L. X 10}} \times 10^{-1}$$

3.8. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows Versiyon 11.5 (Statistical Package for the Social Sciences) bilgisayar programı kullanılarak yapıldı. Hasta grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması independent simples T test, politerapi ve monoterapi kullanan hastalar ile kontrol grubunun karşılaştırılması ise One-way Anova Post Hoc Tukey yöntemiyle gerçekleştirildi. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4.BULGULAR

Çalışmamızda hasta grubu 61 hasta, kontrol grubu ise 32 kişiden oluşmakta idi. Hasta grubunun yaş ortalaması $8,07\pm 5,01$ yıl, kontrol grubunun yaş ortalaması ise $7,74\pm 5,63$ yıl olarak bulundu. Çalışmamızda hasta grupta yer alan olguların 41'i (%67,3) erkek, 20'si (32,7) kız idi. Hasta grubu monoterapi alan 27 hasta (%44,2) ve politerapi alan 34 hastayı (%55,7) içermekteydi. Hasta grubunda politerapi alan 23 erkek (%67,6) ile 11kız (%32,4) olgu ve monoterapi alan 18 erkek (%66,6) ile 9 kız (%33,3) olgu vardı. Benzer şekilde kontrol grubunun da 18'i (%56,3) erkek, 14'ü (%43,7) kız idi. Gruplar yaş ve cinsiyet açısından benzerdi ($P>0.05$). Hasta grubunda monoterapi alanların yaş ortalaması $7,98\pm 5,31$ yıl politerapi alanların yaş ortalaması $8,17\pm 4,43$ yıl kontrol grubunun yaş ortalaması ise $7,74\pm 5,63$ yıl olarak bulundu (Tablo 4).

Tablo 4: Gruplara göre yaş, cinsiyet ve BMI dağılımı.

	Hasta Grubu (n=61)	Kontrol Grubu (n=32)	P
Yaş (Yıl)*	8,077 \pm 5,05	7,74 \pm 5,63	$P=0.947$
Cinsiyet**	E: 41, K: 20	E: 18, K: 14	$P=0.552$
BMI (kg/m²)	16,93 \pm 4,42	17,44 \pm 4,25	$P=0,887$

* student t testi ** X² testinin exact yönteminden elde edilen değer

Hasta grubunda ağırlık ortalaması $29,29\pm 19,53$ kg, boy ortalaması $122,50\pm 31,22$ cm idi. Kontrol grubunda ise ağırlık ortalaması $29,05\pm 19,92$ kg ve boy ortalaması ise $120,93\pm 35,26$ cm

olarak bulundu. Çalışmamızda epilepsi hastalarının BMI $16,93\pm4,42$ kg/m² kontrol grubunun BMI ise $17,44\pm4,25$ kg/m² idi. Hasta ve kontrol grubu arasında BMI bakımından anlamlı bir fark yoktu. Politerapi alan hastaların kilo ortalaması $28,73\pm17,94$ kg, boy ortalaması ise $123,92\pm28,24$ cm idi. Monoterapi alanların kilo ortalaması $30,03\pm21,37$ kg, boy ortalaması $122,74\pm33,98$ cm bulundu. BMI monoterapi alanlarda $16,94\pm4,77$ kg/m², politerapi alanlarda $16,92\pm4,08$ kg/m² ve kontrol grubunda ise $17,44\pm4,25$ kg/m² olarak bulundu. Monoterapi kullanan hasta grubu, politerapi kullanan hasta grubu ve kontrol grubu BMI bakımından karşılaştırıldıklarında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Tablo 5).

Tablo 5: Monoterapi ve politerapi alan epilepsili hastaları ile kontrol grubunun BMI düzeylerinin karşılaştırılması.

	Monoterapi Grubu^a (n=27)	Politerapi Grubu^b (n=34)	Kontrol^c Grubu (n=32)
BMI (kg/m²) *	16,94±4,74	16,92±4,08	17,44±4,25

(a) p=0,983 monoterapi alan epilepsi ve politerapi alan epilepsi grubu karşılaştırıldığında, (b) p=0,668 monoterapi alan epilepsi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, (c) p=0,624 politerapi alan epilepsi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında

Hasta grubunda 27 olgu (%44,2) monoterapi, 34 (%55,7) olgu politerapi almakta idi. Politerapi alan 15 olgu (%44,1) 2, 13 olgu (%38,2) 3 ve 6 olgu (%17,6) 4 adet antiepileptik kullanmakta idi. Hastalar ilaç kullanım süreleri açısından incelendiğinde ortalama süre $5.14\pm3,25$ yıl olarak bulundu (Tablo 6).

Tablo 6: Epilepsi olgularında politerapi alan olgularda ortalama antiepileptik ilaç sayısı ve ilaç kullanım süresi.

	(min-max) Ort±SD
Antiepileptik İlaç Sayısı (n)*	1.96 ± 1.02
İlaç Kullanım Süresi (yıl)*	5.14±3.25

* X² testi kullanılmıştır.

Tablo 7: Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.

	Hasta Grubu (n:61)	Kontrol Grubu (n:32)	P
Yaş (yıl)	8,07 ±5,05	7,74±5,6	0,947
Ağırlık (kg)	29,29±19,53	29,05±19,92	0,965
Cinsiyet (K/E)	41/20	18/14	0,941
Boy (cm)	122,50±31,22	120,93±35,26	0,936

Hasta grubunda 39 olgu (%63,9) jeneralize epilepsi, 14 hasta (%22,9) fokal epilepsi 8 hasta (%13,1) nedeni bilinmeyen epilepsi olarak tespit edildi. Jeneralize epilepsi kliniğine sahip olan olguların çoğunluğunu jeneralize tonik klonik epilepsinin oluşturduğu, bunu absans epilepsi, juvenil absans epilepsi ve juvenil miyoklonik epilepsili olguların izlediği gözlemlendi.

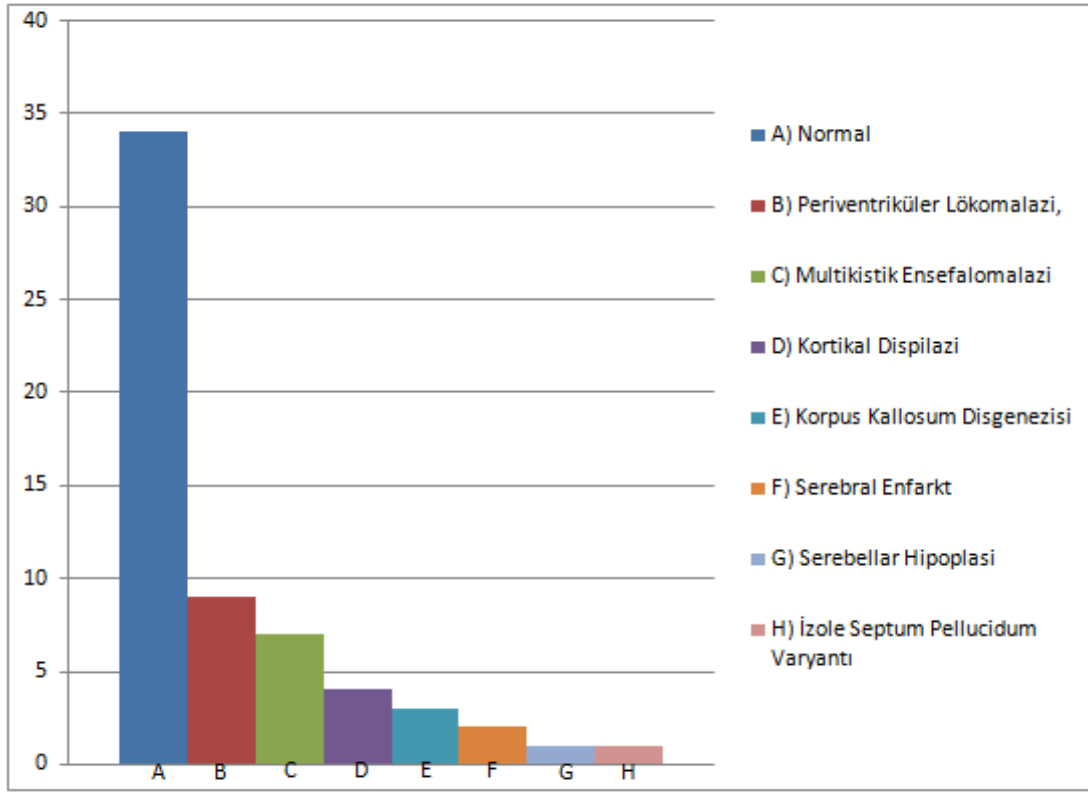
Fokal epilepsi kliniğine sahip olguların çoğunluğunu ise sentrotemporal dikenli benign çocukluk çağı epilepsili oluşturduğu, bunu temporal lob epilepsisi, frontal lob epilepsisi ve oksipital lob epilepsili olguların izlediği gözlemlendi. Ayrıca, çalışmada Lennox Gastaut sendromu, Doose sendromu ve West sendromu tanısı almış olan olgularda mevcuttu.

Tablo 8: Epilepsi hastalarının nöbet tiplerine göre dağılımı.

Epilepsi	Sayı (n=61)
<u>Jeneralize Epilepsi</u>	39
Jeneralize tonik klonik epilepsi	17
Çocukluk çağı absans epilepsi	11
Juvenil absans epilepsi	9
Juvenil miyoklonik epilepsi	2
<u>Fokal epilepsi</u>	14
Temporal lob epilepsi	6
Ekstra temporal lob epilepsi	4
Sentrotemporal dikenli benign çocukluk çağı epilepsisi	4
<u>Bilinmeyen</u>	8

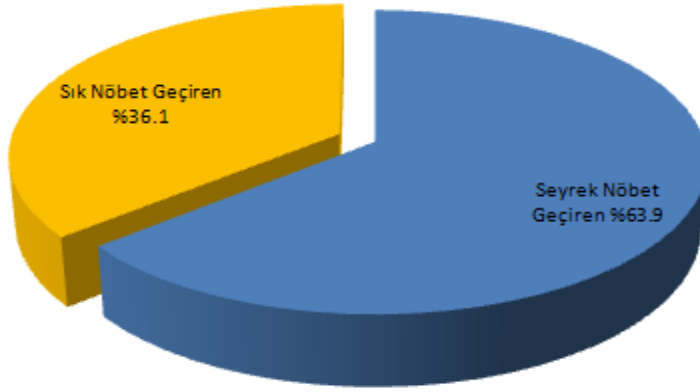
Hasta grubunda 34 olguda (%55,7) çekilen beyin MRI görüntülemesi normaldi. Anormal beyin MRI görüntülemesine sahip 27 olgunun 9'unda (%14,7) periventriküler lökomalazi, 7'sinde (%11,4) multikistik ensefalomalazi, 4'ünde (%6,5) kortikal dispilazi, 3'ünde (%4,9) korpus kallosum disgenезisi, 2'sinde (%3,2) serebral enfarkt, 1'inde (%1,6) serebellar hipoplazi ve 1'inde ise (%1,6) izole septum pellucidum varyantı mevcuttu (Grafik 1).

Grafik 1: Epilepsi hastalarında beyin MRI görüntüleme bulguları.



Hasta grubunda 38 hastanın (%62,2) interiktal EEG'si normal, 16 hastanın (%26,2) jeneralize tipte EEG patolojisi ve 7 hastanın (%11,4) fokal tipte EEG patolojisi vardı. Son bir yıl içinde, uygun dozda ve aralıkta en az 6 ay bir veya iki antiepileptik ilaç ile nöbetleri kontrol altına alınan 39 hasta (%63,9) medikal tedaviye cevaplı, buna rağmen en az iki antiepileptik ilacın uygun dozda ve aralıkta, en az 6 ay kullanılmasına rağmen ayda bir ya da daha fazla nöbet geçiren 22 hasta (%36,1) medikal tedaviye dirençli epilepsi olarak kabul edildi (Grafik 2).

Grafik 2: Hasta grubunda antiepileptik tedaviye cevap durumuna göre hastaların dağılımı.

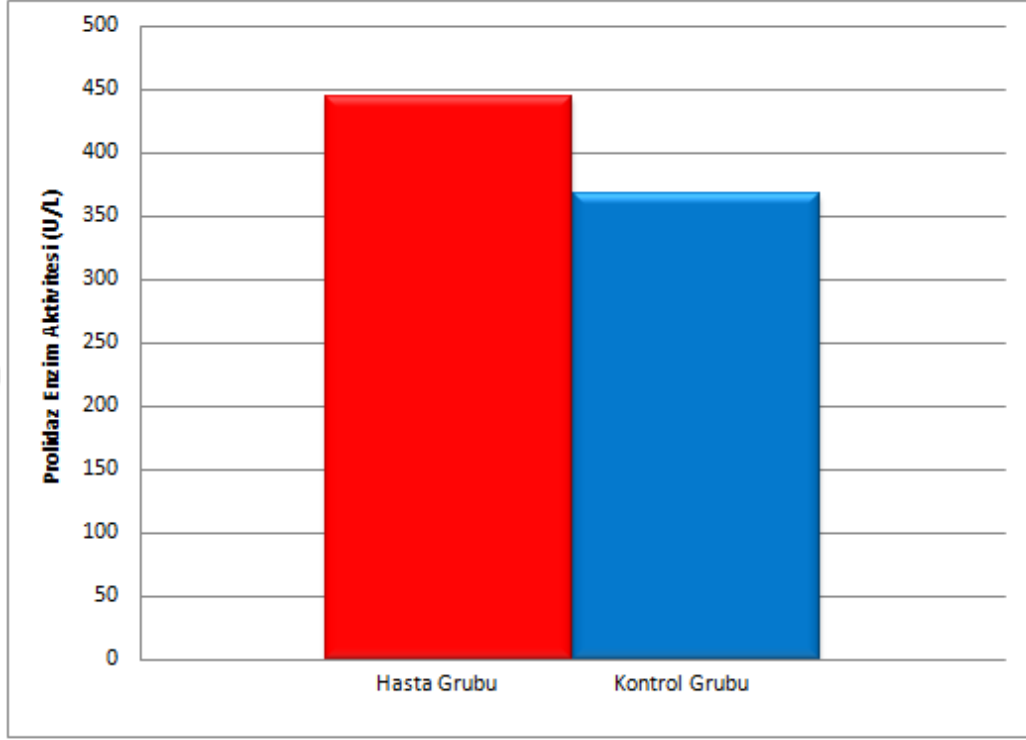


Çalışmamızda epilepsi hasta grubunda serum prolidaz enzim aktivitesi $444,70 \pm 22,23$ U/L, kontrol grubunda ise $366,44 \pm 17,43$ U/L idi. Hasta ve kontrol grubu arasında serum prolidaz enzim aktivitesi bakımından anlamlı bir farklılık bulundu ($P=0,003$) (Tablo 9) (Grafik 3).

Tablo 9: Hasta ve kontrol grubunda serum prolidaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması.

	Hasta Grubu (n:61)	Kontrol Grubu (n:32)	P
Serum Prolidaz Aktivitesi (U/L)	$444,70 \pm 22,23$	$366,44 \pm 17,43$	0,003

Grafik 3: Hasta ve kontrol grupların da serum prolidaz enzim aktivitesinin karşılaştırılması.



Monoterapi alan hasta grubunda serum prolidaz enzim aktivitesi $442,04 \pm 12,28$ U/L, politerapi alan hasta grubunda serum prolidaz enzim aktivitesi $451,72 \pm 22,07$ U/L ise idi. Monoterapi alan hasta grubu ile kontrol grubu serum prolidaz enzim aktivitesi bakımından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark bulundu ($P=0,009$). Politerapi alan grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında aralarında benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($P=0,000$). Bununla birlikte, monoterapi alan hasta grubu ile politerapi alan hasta grubu arasında arasında anlamlı bir fark yoktu ($P=0,758$) (Tablo 10).

Tablo 10: Hasta grupları ve kontrol grubunda serum parolidaz enzim aktivitelerinin karşılaştırılması.

	Monoterapi Grubu^x (n=27)	Politerapi Grubu^y (n=34)	Kontrol Grubu^z (n=32)
Serum Prolidaz Aktivitesi (U/L)	442,04±12,28	451,72±22,07	366,44±17,43

(x) p=0,758 monoterapi alan epilepsi ve politerapi alan epilepsi grubu karşılaştırıldığında,

(y) p=0,009 monoterapi alan epilepsi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında,

(z) p=0,000 politerapi alan epilepsi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında

Mevcut çalışmamızda serum TOS düzeyleri hasta grubunda $52,07 \pm 13,21$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L, kontrol grubunda ise $42,15 \pm 8,17$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L idi. Hasta ve kontrol grubu arasında serum TOS düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($P=0,001$). Monoterapi alan hasta grubunda serum TOS düzeyleri $49,93 \pm 12,28$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L, kontrol grubunda ise $42,15 \pm 8,17$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak bulundu. Monoterapi alanlarda TOS düzeyleri kontrol grubuna göre artmıştı ve bu durum istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmakta idi ($P=0,012$). Politerapi alan hastalarda da ise TOS düzeyleri $53,84 \pm 14,16$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L idi. Aynı şekilde, politerapi alan hastalarla kontrol grubu serum TOS düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı farklılık bulundu ($P=0,000$). Bununla birlikte, politerapi ve monoterapi alan hastalar serum TOS düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında ise aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($P=0,759$).

Serum TAS düzeyleri, hasta grubunda $1,13 \pm 0,33$ mmol trolox Equivalent/L ve kontrol grubunda ise $2,09 \pm 1,04$ mmol trolox Equivalent/L olarak bulundu. Hasta ve kontrol grubu

arasında serum TAS düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlendi ($P=0,032$).

Hasta grubunda monoterapi alanlarda serum TAS düzeyleri $1,19\pm 1,48$ mmol trolox Equivalent/L, kontrol grubunda ise $2,09\pm 1,04$ mmol trolox Equivalent/L idi. Serum TAS düzeyleri bakımından monoterapi alan grup ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık vardı ($P=0,027$). Politerapi alanlarda ortalama serum TAS düzeyleri $1,07\pm 1,12$ mmol trolox Equivalent/L olarak bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir görüldü ($P=0,037$). Politerapi ve monoterapi alan hastalar serum TAS düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($P=0,956$).

Çalışmamızda hasta grubunda serum OSİ düzeyleri $4,89\pm 2,03$ AU, kontrol grubunda $2,53\pm 1,17$ AU olarak bulundu. Hasta grubu ve kontrol grubu arasında serum OSİ düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı ($P=0,000$). Monoterapi ve politerapi alan hastaların serum OSİ düzeyleri sırası ile $4,53\pm 2,17$ AU ve $5,18\pm 1,75$ AU idi. Monoterapi alan hasta grubu ile politerapi alan hasta grubu serum OSİ düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($P=0,359$). Politerapi alan hasta grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($P=0,002$). Ayrıca, monoterapi alan hasta grubu ve kontrol grubu OSİ düzeyleri açısından karşılaştırıldığında da aralarında anlamlı bir ilişki bulundu ($P=0,003$) (Tablo 11) (Tablo 12) (Grafik 4).

Tablo 11: Hasta ve kontrol gruplarında serum TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin karşılaştırılması.

	Monoterapi Grubu (n:27)	Politerapi Grubu (n:34)	Kontrol Grubu (n:32)
Serum TAS Düzeyi ^{a b c*} (mmol trolox Eq./L)	1,19±1,48	1,07±1,12	2,09±1,04
Serum TOS Düzeyi ^{x y z**} (µmol H ₂ O ₂ Equivalent/L)	49,93±12,28	53,84±14,16	42,15±8,17
Serum OSİ Düzeyi ^{k l m ***} (Arbitrary Unit)	4,53±2,19	5,18±1,75	2,53±1,17

(a) p=0,956 monoterapi alan epilepsi ve politerapi alan epilepsi grubu serum TAS düzeyi karşılaştırıldığında,

(b) p=0,027 monoterapi alan epilepsi ve kontrol grubu serum TAS düzeyi karşılaştırıldığında,

(c) p=0,037 politerapi alan epilepsi ve kontrol grubu serum TAS düzeyi karşılaştırıldığında,

(x) p=0,759 monoterapi alan epilepsi ve politerapi alan epilepsi grubu serum TOS düzeyi karşılaştırıldığında,

(y) p=0,012 monoterapi alan epilepsi ve kontrol grubu serum TOS düzeyi karşılaştırıldığında,

(z) p=0,000 politerapi alan epilepsi ve kontrol grubu serum TOS düzeyi karşılaştırıldığında,

(k) p=0,359 monoterapi alan epilepsi ve politerapi alan epilepsi grubu serum OSİ düzeyi karşılaştırıldığında,

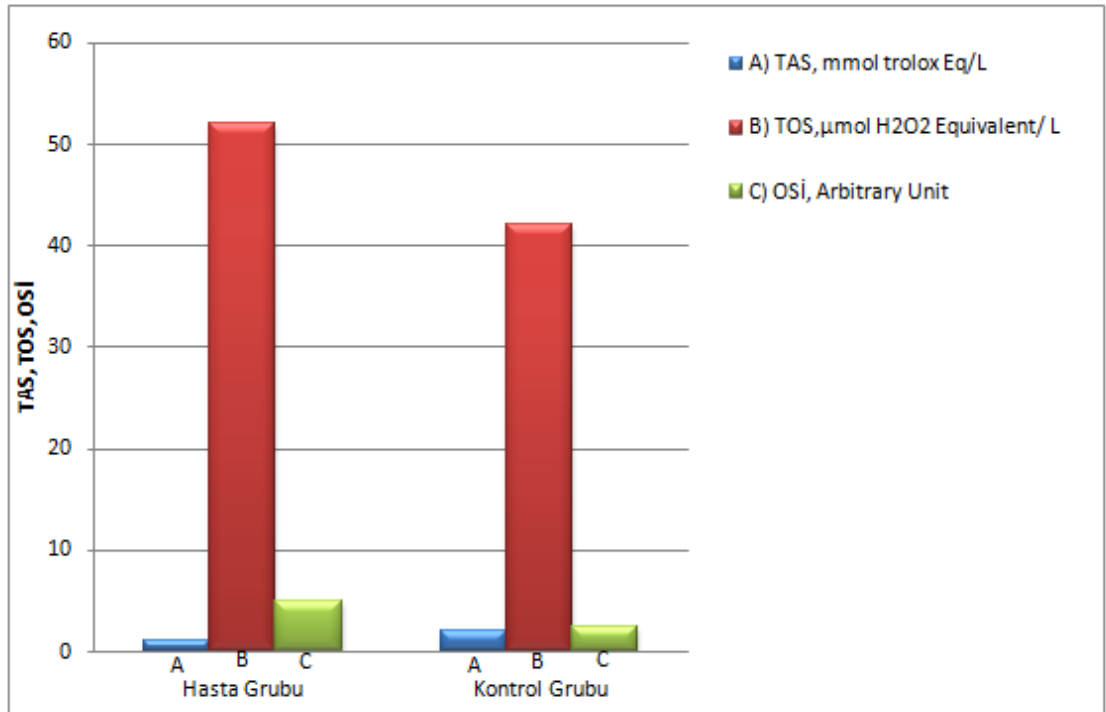
(l) p=0,003 monoterapi alan epilepsi ve kontrol grubu serum OSİ düzeyi karşılaştırıldığında,

(m) p=0,002 politerapi alan epilepsi ve kontrol grubu serum OSİ düzeyi karşılaştırıldığında,

Tablo 12: Hasta ve kontrol grubunda serum TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin karşılaştırılması.

	Hasta Grubu (n:61)	Kontrol Grubu (n:32)	P
Serum TAS Düzeyi (mmol trolox Eq./L)	1,13±0,33	2,09±1,04	0,032
Serum TOS Düzeyi (µmol H ₂ O ₂ Equivalent/L)	52,07±13,21	42,15±8,17	0,001
Serum OSİ Düzeyi (Arbitrary Unit)	4,89±2,03	2,53±1,17	0,000

Grafik 4: Hasta ve kontrol grubunda serum TAS, TOS ve OSİ düzeylerinin karşılaştırılması.



5. TARTIŞMA

Epilepsi çocukluk döneminde sık görülen nörolojik bir hastalıktır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada epilepsi prevalansının %1,2 olduğu bildirilmiştir (97). Epilepsili hastaların büyük çoğunluğunda nöbetler uygun medikal tedavi ile kontrol altına alınmaktadır. Bununla birlikte, epilepsi geçirmiş hastaların %20-30'unda antiepileptik ilaç tedavisine kısmen yanıt veren dirençli epilepsi söz konusudur.

Nöbetlerin durdurulamadığı ve kontrol altına alınamadığı durumlarda ders başarısında düşme, mental retardasyon, fiziksel yaralanmalar, nadiren ölüm, hasta ve ailesinde duygusal bozuklukları gibi çeşitli kısa ve uzun dönemde epilepsiye bağlı sorunlar görülebilmektedir.

Monoterapi, epilepsi tedavisinde altın standarttır. Bu nedenle, ilk kez epilepsi tanısı almış hastaların tedavisine monoterapi ile başlanır. Şayet yeterli doz ve sürede mevcut antiepileptik ilacın kullanılmasına rağmen tedaviye yanıt alınmaz ise ikinci antiepileptik ilaç tedaviye eklenir. Uzun süreli antiepileptik tedavi alan hastalarda MSS belirtileri ile kendini gösteren (nistagmus, baş dönmesi, diplopi gibi..), idyosenkrazik-allerjik (ciltte döküntü, kızarıklık kaşıntı) ve sistemik (gingiva hipertrofisi, hirsutizm, böbrek taşı, dar açılı glokom, anemi ve trombositopeni..) gibi farklı yan etkiler görülebilmektedir (98,99). Antiepileptik ilaçların uzun süreli kullanımının hastalarda düşük derecede sistemik inflamasyona neden olduğu ve oksidatif stresi artırdığı da günümüzde bilinmektedir (100,101). Ayrıca, epileptik hastalarda kardiyovasküler hastalıklardan ölümler topluma göre sık olmakla birlikte bu durumun nedeni halen tam olarak bilinmemektedir (102,103).

İnsan metabolizmasının, oksidan faktörleri nötralize etme kapasitesinin azaldığı durumlarda oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres, oksidan seviyenin artması ve/veya antioksidan kapasitenin azalması olarak da tanımlanabilir. Oksidan ve antioksidan seviyelerden herhangi birinin tespiti, oksidatif stres hakkında bilgi verebilsede oksidatif stres için her ikisinin de ölçümü daha doğru sonuçlar vermektedir (104). Serbest oksijen radikalleri organizmada birçok

normal biyokimyasal süreç boyunca ortaya çıkmaktadır. Bu süreç boyunca ortaya çıkan ürünler hücrelerin yaşamaya devam etmesi için gerekli enzimatik basamakları engellemekte ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Beyin dokusu oksidatif metabolizmanın fazla olması ve myelin kılıflarının yüksek miktarda lipid içermesi nedeni ile serbest radikal hasarına açıktır. Nöronal membranların serbest oksijen radikallerine aşırı derecede maruz kalması veya koruyucu mekanizmaların yetersiz kalması sonucunda doku hasarına neden olan lipid peroksidasyonu ortaya çıkmaktadır. Çeşitli çalışmalarda epileptojenik odakta lipid peroksidasyonun arttığı ve antioksidatif enzimlerin miktarının azaldığı gösterilmiştir (105). Aynı zamanda artmış lipid peroksidasyonu ve azalmış antioksidatif enzimler nöbetlerin tekrarlama olasılığını da arttırmaktadır. Oksidatif stresin birçok akut ve kronik nörolojik hastalığın patogeneğinde anahtar rol oynadığı bilinmekle birlikte, epilepsideki rolü halen anlaşılammıştır. Antiepileptiklerin ve epilepsinin antioksidan enzim düzeylerini azalttıkları ve lipid peroksidasyonunu arttırdıkları birçok çalışmada gösterilmiştir (106). Bununla birlikte, epilepsili hastalardaki oksidatif stres epileptik nöbete ilave olarak, antiepileptik ilaç kullanımına bağlı da gelişebilir. Reaktif oksijen ürünlerinin epileptik nöbetlerde etkili olduğu bilinmektedir. Epilepsi modeli oluşturulan deney hayvanlarında santral sinir sisteminde oksidatif stres geliştiği ve interiktal dönemde de bazal değerlerine geri döndüğü gösterilmiştir (107-108).

Çalık ve arkadaşlarının, dirençli epilepsili çocuklarda paraoksonaz- arilesteraz ve oksidatif stresi değerlendirdikleri çalışmalarında serum antioksidan kapasitede düşüklük saptamışlardır. Bu çalışma, oksidatif stres düzeyinde artış ve hastalığın kronik dönemde ateroskleroza eğilimli olduğu sonucunu göstermiştir (109).

Ben-Menachem ve arkadaşları (110) progresif myoklonik epilepsi gibi tedavisi güç ve direnç gelişme potansiyeli yüksek epilepsi hastalarının kan antioksidan enzim düzeylerini sağlıklı kontroller ile karşılaştırdıkları çalışmalarında, hasta grubunda anlamlı derecede antioksidan düzeylerde düşüklük tespit etmişlerdir. Sonrasında hastalara yüksek dozda NAC (N-Asetil Sistein)

tedavisi verilmiş, tedavi öncesi ve sonrası hasta grubu ile kontrol grubu birbiri ile karşılaştırılmış ve tedavi sonrasında eritrosit oksidatif stres parametrelerinin düştüğünü, nöbet skorlarının azaldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, NAC tedavisinin oksidatif stresin neden olduğu nöronal ölümü azaltmada ve nöbet kontrolünü sağlamada etkili olabileceği sonucuna varmışlardır.

Shahar ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada, dirençli ve dirençli olmayan epilepsili çocuklarda oksidatif stres parametreleri tükürük örneklerinde değerlendirilmiştir. Bu çalışmada da oksidatif stres düzeyi dirençli ve dirençli olmayan epilepsi hastalarında kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, dirençli ve dirençli olmayan epilepsi grupları arasında oksidatif stres düzeyi bakımından anlamlı bir fark saptanmamıştır (111).

Hassazadeh ve arkadaşlarının (112) epileptik nöbetlerin kontrolünde antioksidanların etkinliğini değerlendirmek üzere fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, farelerden 6 tanesine bir antioksidan ajan olan sesamol verilmiş, diğer 6 fare kontrol grup olarak seçilmiştir. Çalışmada her iki gruba pentylentetrazol (PTZ) verilerek jeneralize epileptik nöbet oluşumu sağlanmış ve sonrasında ratların davranışsal özellikleri kaydedilmiştir. Çalışma sonunda sesamol verilen grupta epileptik nöbetin daha geç sürede oluştuğu ve nöbet sonrası kognitif fonksiyonların diğer gruba oranla daha fazla korunduğunu tespit etmişlerdir. Librizzi ve arkadaşları da yaptıkları bir çalışmada (113), epileptik nöbetlerin oluşturduğu beyin inflamasyonunun glial hücrelerde başladığı, lökositlerden ve kan kaynaklı inflamatuvar moleküllerden bağımsız olarak, kan beyin bariyerinde hasara neden olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca beyin inflamasyonun tekrarlayan ve devam eden nöbetlere neden olabileceğini belirtmişlerdir

Shin ve arkadaşları yaptıkları farklı bir çalışmalarında (114) oksidatif stresin epileptik nöbetler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda artmış serbest radikal salınımı sonucu oluşan oksidatif stres, epileptik nöbetin başlangıcında ve ilerlemesinde altta yatan patogenezi ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada antioksidan tedavinin oksidatif stresi azaltarak epilepsi tedavisinde kullanılabileceği ve nöroprotektif etki sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

İnsan çalışmalarında da yeni tanı alan henüz ilaç kullanmayan epilepsili hastalarında oksidatif stres antiepileptik ilaç kullananlardan daha yüksek saptanmıştır (115). Bu durum ilaç kullanan epilepsili hastalarda antiepileptik ilaçların etkisi olmaksızın tek başına epilepsinin de oksidatif stresi artırdığını düşündürmektedir. Bu nedenle, epilepsili hastalarda antiepileptik ilaçların oksidatif stres üzerine etkisi değerlendirilirken nöbet sıklığı da göz önünde bulundurulmalıdır. Oksidatif stresin hastalığın ve antiepileptik ilaç tedavisinin süresi ile doğru orantılı olarak arttığı saptanmıştır (101).

Yıldız ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, antiepileptik ilaç kullanan epileptik çocuklarda serum lipoprotein oksidasyonu ile paraoksanaz aktivitesi ve arteriyel elastikiyet değerlendirilmiştir. Bu çalışmada hastalarda oksidatif stresin arttığını, monoterapi ve politerapi alan gruplar karşılaştırıldığında ise monoterapi alan grupta antioksidan kapasitenin azaldığı ve oksidan kapasitenin arttığını tespit etmişlerdir (116).

Mevcut çalışmamızın sonuçları, epilepsi hastalarında oksidatif stres artışını gösteren çalışma sonuçları ile uyumlu idi (106-116). Çalışmamızda epilepsi hastalarında serum TOS ve OSI düzeyleri, kontrol grubuna göre oldukça yüksek bulundu. Serum TOS ve OSI düzeylerinin hasta grubunda belirgin olarak yüksek çıkması, bu hastaların oksidatif strese maruz kaldıklarını göstermektedir. Politerapi ve monoterapi alan hasta gruplarının her ikisinde de serum TOS ve OSI düzeylerinin artmış olması, tüm hastalarda düşük dereceden yüksek dereceye kadar sistemik inflamasyonun bulunduğunu desteklemektedir. Aynı zamanda, tüm hastalarda serum TOS düzeyi artışına ilave olarak, serum TAS azalmasında birlikte bulunması serum OSI düzeylerinin artışına katkıda bulunan bir diğer faktör olarak dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, politerapi ve monoterapi alan epilepsi hastalarında serum OSI bakımından bir farklılık bulunmaması uzun süreli monoterapi alan hastaların da bu yönden risk altında olduğunu göstermiştir.

Son yıllarda oksidatif stres ve kollagen metabolizması üzerinde yoğunlaşan bazı çalışmalar, artmış oksidatif stresin bağ doku ve kıkırdak doku gibi tüm organlar ve vücudun tüm

sistemleri üzerine destek görevi gören çevre dokuda, yaşlanmanın hızlanması ve proteoglikanların ve kollagen gibi destek dokunun esas elamanlarının yıkıma uğraması gibi bir takım dejeneratif değişiklikler ortaya çıkardığını göstermiştir (117).

Prolidaz, beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynayan bir enzimdir. Prolidaz, C-ucunda prolin veya hidroksprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulduran bileşiklerin hızla hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir. Prolidaz, kollajen yapısındaki prolinin glisin ile yaptığı peptid bağını yıkan tek enzim olmasından dolayı prolidaz aktivitesinin kollajen turnover hızı ile direkt olarak ilişkili olması beklenir (42-44). Geniş doku dağılımı olması prolidaz enzim aktivitesindeki değişimlerin pekçok hastalığın gelişiminde ve sonucunda önem kazanabileceğini düşündürmektedir.

Prolidaz enzim aktivitesi ile ilgili çalışmalar son yıllarda artarak devam etmektedir. Yapılmış çalışmalara göre doku yıkımının arttığı durumlarda prolidaz enzim aktivitesinin arttığı söylenebilir (124-132). Prolidaz enzim aktivitesinin azalması ise kollajen turnoverini bozmasıyla bazı hastalıkların etyolojisinde rol oynayabilir (117-123). Bizim bilgilerimize göre, çocukluk çağı epilepsilerinde serum oksidatif stres düzeyi ile ilgili farklı çalışmalar olmasına rağmen, serum prolidaz enzim aktivitesi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Chamson ve arkadaşları prolidaz eksikliğinde en önemli değişikliğin kollajen yıkımının hızla artması olduğunu saptamışlardır. Chamson ve arkadaşları bu olayın gerçekte bağ dokusu hastalığının değil, kollajen biyosentezinin azalan prolin havuzu tarafından kısıtlanmasından kaynaklandığını düşünmektedirler (117).

Powel ve arkadaşları prolidaz enziminin genetik eksikliğini sonucunda mental gerilik, tekrarlayan infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığını bildirmişlerdir (118). Butterworth ve arkadaşları ise prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin deri fibroblast kültürlerinde ve kan hücrelerinde azaldığını göstermişlerdir (119).

Sezen ve arkadaşları (120), yaptıkları bir çalışmada iskemik kardiyomyopatisi olan hastalarda serum prolidaz aktivitesini düşük bulmuşlardır. Gencer ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer çalışmada ise kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda serum prolidaz aktivitesi düşük bulunmuştur (121). Aksoy ve arkadaşları da yaptıkları bir çalışmada diyabet hastalarında serum prolidaz aktivitesinin oldukça düşük olduğunu saptamışlardır. Bu sonucu diyabetin vasküler komplikasyonlarına bağlamışlardır (122).

Jung S. ve arkadaşlarının yaptıkları bir hayvan deneyi modelinde, farede gelişimsel kardiyak hipertrofi ile serum prolidaz aktivite azlığı arasında bir ilişki tespit etmişler ve azalmış prolidaz aktivitesinin, yetersiz doku yıkımı sebebi ile hipertrofik kardiyomyopatiye neden olabileceğini düşünmüşlerdir (123). Bu konuda yapılan farklı çalışmalarda serum prolidaz enzim aktivitesindeki yetersizliğin, kollojen turnoverini bozup, sağlam olmayan bir bağ dokusu yapımına neden olmuş olabileceği ve serum prolidaz aktivite azlığının bu hastalıkların etyolojisinde rol oynayabileceği söylenebilir (117-123).

İdiopatik dilate kardiyomyopati hastalarda, serum prolidaz enzim seviyeleri ve oksidatif stres parametreleri çalışılmış ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde klinik kötüleştikçe prolidaz aktivitesinde artış gözlenmiştir (124). Myara ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ise serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda arttığı bildirilmiştir. Karaciğer sirozunda prolidaz aktivite artışının metabolizmada artmış kollajen sentezinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir (125). Yıldız ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada da, koroner arter hastalığının şiddeti ile artmış serum prolidaz aktivitesi arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (126).

Altay ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kemiklerde doku yıkımı ile giden Legg Calve Perthes hastalarında serum prolidaz aktivitesi artmış olarak bulunmuştur (127). Vural ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada ise nöral tüp defekti olanlarda amniyotik sıvı prolidaz aktivitesini yüksek bulmuşlardır (128). Bu hastalarda artmış doku yıkımına bağlı olarak, prolidaz enzim aktivitesinin artabileceği ifade edilmiştir. Demirbağ ve arkadaşlarının yaptığı bir

çalışmada ise, sol ventrikül hipertrofisinden bağımsız olarak hipertansiyonun kollajen turnoverini arttırarak serum prolidaz aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (129).

Çakmak ve arkadaşları (130), talasemi majörlü hastalar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, sağlıklı kontrol grubuna göre hastaların serum prolidaz aktivitesinin arttığını bulmuşlardır. Prolidaz enziminin hasarlanmış dokudaki proteinlerin yıkımında önemli rolü vardır. Çakmak ve arkadaşları talasemi majör hastalarında demir birikimine bağlı olan doku hasarı sonucu prolidaz aktivitesinin artmış olmasının beklenebileceğini göstermişlerdir. Bronşiyal astımlı hastalarda yapılan bir diğer çalışmada ise prolidaz aktivitesinin artmış olduğu, bunun respiratuvar bronşiyollerdeki submukozal hücrelerde gelişen enflamasyon ve fibrozise bağlı olduğu tespit edilmiştir (131).

Gümüş ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada akciğer tüberkülozlu hastalarda serum prolidaz aktivitesini artmış olarak bulmuşlar ve prolidaz aktivitesindeki bu artışı tüberküloza sekonder gelişen doku yıkımına bağlamışlardır (132). Akciğer tüberkülozunda hasarlı olan dokudaki proteinlerin yıkımı için prolidaz enzim aktivitesinin artmış olması beklenebilir.

Bizim çalışmamızda, oksidatif stres düzeyi ve kollajen yıkımında aktif rolü olan prolidaz enzim aktivitesi politerapi ve monoterapi alan epilepsi hastalarında yüksek bulundu. Mevcut çalışmamızın bulguları, epilepsi hastalarında artmış oksidatif stres düzeyine bağlı olarak kollajen turnoverininin bozulduğunu ve muhtemelen kollajen yıkımının artmış olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, epilepsi hastalarında artmış bulunan serum prolidaz enzim aktivitesi, ateroskleroz ile ilişkili olabilecek bu patolojik sürecin biyokimyasal bir göstergesi olabilir.

Sonuç olarak, epilepsi hastaları uzun süreli antiepileptik ilaç kullanılması durumunda artmış oksidatif stres ve çeşitli kardiyovasküler komplikasyonların gelişimi açısından yakın takip edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Conway JM, Kriel RL, Birnbaum AK, et al. Antiepileptic Drug Therapy in Children: An Overview. In: Swaiman KF, Ashwal S, Pediatric Neurology Principles & Practise (3th ed). Philadelphia. Mosby Elsevier. 2006;1105-30.
2. Hamed SA, Hamed EA, Hamdy R, et al. Vascular risk factors and oxidative stress as independent predictors of asymptomatic atherosclerosis in adult patients with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2007;74:183-92.
3. Jakubus T, Michalska-Jakubus M, Lukawski K, et al. Atherosclerotic risk among children taking antiepileptic drugs. *Pharmacol Rep.* 2009;6:411-23.
4. Milyk W, Surazynski A, Grabowska J, et al. Prolidase Dependent Inhibition of Collagen Biosynthesis in Chinese Hamster Ovary Cells. *Journal of Biochemistry*, 2008;144:409–14.
5. Surazynski A, Liu Y, Milyk W, et al. Nitric Oxide Regulates Prolidase Activity by Serine/Threonine Phosphorylation. *Journal of Cellular Biochemistry.* 2005;96:1086–94.
6. Myara I, Myara A, Mangeot M, et al. Plasma prolidase activity: a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem.* 1984;30(2):211-5.
7. Engel J.Jr. ILAE Commission Report. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia.* 2001;42:796–803.
8. Eşkazan E. Tarihte epilepsi ve epileptolojinin kısa tarihçesi. İbrahim Bora (Eds). *Epilepsi.* İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri 2008;(1.Baskı):3-11.
9. Yeni SN. Epilepsi insidansı, prevalansı ve risk faktörleri. İbrahim Bora (Eds). *Epilepsi.* İstanbul. Nobel Tıp Kitapevleri 2008;(1.Baskı):65-73.
10. Trescher WH, Lesser RP. The epilepsies. Walter G, Bradley, Robert B. Daroff, Gerald M. Fenichel. *Neurology in Clinical Practice (5th Ed).* Butterworth & Heinemann. 2008; 1909-45.
11. Italian League Against Epilepsy Genetic Collaborative Group. Concordance of clinical forms of epilepsy in families with several affected members. *Epilepsia.*1993;34:819-26.
12. Komşuoğlu SŞ (çeviri). *Epilepsi: Tanımlar ve arka plan.* Thomas R. Browne, Gregory L.Holmes (Eds), Sezer Ş, Komşuoğlu (çeviri eds) *Epilepsi El Kitabı Güneş Tıp Kitapevleri.* 2007;(3.Baskı):1-21.
13. Kayaalp O. Antiepileptikler Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji Cilt II'de Feryal Matbaacılık Ankara. 1994;2027-52.

14. Aicardi J, Bax M, Gillberg C, Ogier H. Diseases of the Nervous System in Childhood, Mac Keith Press, London. 1998;638–63.
15. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. 2010;51(4):676-85.
16. International league against epilepsy commission on classification and terminology: Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1981;22:489-501.
17. Alemdar M (çeviri). Nöbet tipleri. Thomas R, Browne, Gregory L. Holmes (Eds), Sezer Ş, Komşuoğlu (çeviri eds). *Epilepsi El Kitabı Güneş tıp kitapçevleri* 2007;(3.Baskı):21-43.
18. Berg AT, Shinnar S. The risk of seizure recurrence following a first unprovoked seizure: a quantitative review. *Neurology*. 1991;41:965-72.
19. Rogawski M. A. Principles of antiepileptic drug action. In R. H. Levy, R. H. Mattson, B.S. Meldrum, & E. Perucca (Eds.) *Antiepileptic Drugs* (5th ed.) Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins. 2002;1-22.
20. Bilen Ş, Ak F, Antiepileptik ilaç tedavisi, *Türkiye Klinikleri Nöroloji* 2004;2:143-8.
21. Shorvon S. *Handbook of epilepsy treatment* (2th Ed). London Blackwell Publishing. 2005;114-99.
22. Davis NC, Smith EL. Purification and some properties of prolydase of swine kidney. *J Biol Chem*. 1957;244:261-275.
23. Boright A, Scriver CR. Prolydase Deficiency. *Biochemical Classification of Alleles*. *Am J Hum Genet*. 1989;44:731-40.
24. Alparslan S, Gültepe M. Serum Prolydase Activity, Its value as an indicator of collagen accumulation in chronic liver diseases. *Biyokimya Dergisi*. 1993;18:1-9.
25. Phang JM, Yeh GC, Scriver. Disorders of proline and hydroxyproline metabolism, in the *Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 7th ed. Mc Graw Hill, Montreal. 1995;1125-41.
26. Mock WL, Zhuang H. Chemical modification locates guanidinyl and carboxylate groups within the active site of prolydase. *Biochem biophys Res Com*. 1991;180:401-6.
27. Endo F, Tanoue A. Primary structure and gene localization of human prolydase. *J Biol Chem*. 1989;264:4476-81.
28. Endo F, Tanoue A. Structural organization of the gene for human prolydase and demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolydase deficiency. *J Biol Chem*. 1989;265:11306-11.

29. Dannenberg AL, Garrison RJ, Kannel WB. Incidence of hypertension in the Framingham Study. *Am J Public Health*. 1988;78:676-9.
30. Cosson C, Myara I. Only prolydase I activity is present in human plasma. *Int J Biochem*. 1992;24:427-32.
31. Myara I, Charpentier C, Lemonnier A. Optimal conditions for prolydase assay by localization of human prolydase. *J Biol Chem*. 1989;264:4476-81.
32. Myara I. Effect of long preincubation on the two forms of human erythrocyte prolydase. *Clin Chim Acta*. 1987;170:263-70.
33. Cheng TC, De Frank JJ, Rastogi VK. *Alteromonas prolydase* for organophosphorus G agent decontamination. *Chem Biol Interact*. 1999;119-120.
34. Bielawska A, Bielawski K, Chrzanowski K. Prolydase activated prodrug for cancer chemotherapy cytotoxic activity of proline analogue of chlorambucil in breast cancer. *Farmaco*. 2000;55:736-41.
35. Myara I, Cosson C, Moatti N, Lemonnier A. Human kidney prolydase purification, preincubation properties and immunological reactivity. *Int. J Biochem*. 1994;26:207-14.
36. Radzicka A, Wolfenden R. Analogues of intermediates in the action of pig kidney prolydase. *Biochemistry*. 1991;30:4160-64.
37. Persson B, Flinta C, Vonheijne G. A new method for predicting signal sequence cleavage sites. *Nucleic Acids Res*. 1986;14:4683-90.
38. Yareğir G. *Temel Biyokimya I. 3. Baskı. Çukurova Üniversitesi Tıp fakültesi Yayınları*. Adana. 1988:152-53.
39. Stanbury JB, Scriver CR. Disorder of proline and hydroxyproline metabolism. In the metabolic basis of inherited disease. 4th ed. 1978;336-361.
40. Milligan A, Brown G. Prolydase deficiency: a Case Report and Literature Review. *Brit J Dermatol*. 1989;121:405-9.
41. Atara J, Umemura S, Yamamoto Y, et al. Prolydase deficiency: Its dermatological manifestations and some additional biochemical studies. *Arch Dermatol*. 1979;115:62-7.
42. Endo F, Matsuda I: Human erythrocyte prolydase and prolydase deficiency. *Pediatr Res*. 1982; 16:227-31.
43. Kodama H, Ohhashi T. Characteristics and partial purification of prolydase and deficiency. Effect of glycyl proline on the degradation of newly synthesized collagen. *Clin physiol Biochem*. 1989;7:128-36.
44. Powell GF, Rasco MA, Maniscalco RM. A prolydase deficiency in man with iminopeptiduria. *Metabolism*. 1974;23:505-6.

45. Butterworth J, Priestman DA. Precense in human cells and tissues of two prolidases and their alteration in prolidase deficiency. *J Inherit Metod Dis.* 1985;8:193.
46. Gürdal F, Genç S, Yalçın Ö, et al. The presence of prolidase activity in amniotic fluid and its evaluation as a maturity test. *Biol Neonate.* 1995;67:34.
47. Staroverov VN, Davidson ER. Distribution of effectively unpaired electrons. *Chem Phys Lett.* 2000;330:161-8.
48. Baykal Y, Gök F, Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. *Sendrom.* 2002;14:94-100.
49. Minnet C. Çocukluk Çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, Şanlıurfa. 2006;50-69.
50. Bayir H, Kagan VE, Tyurina YY et al. Assesment of antioxidant reserves and oxidative stres in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children. *Pediatric Research.* 2002;51:571-8.
51. Cirak B, İnci S, Palaoğlu S et al. Lipit peroxidation in cerebral tumors. *Clinica Chimica Acta.* 2003;327;103-7.
52. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi.* 1997;4:92-5.
53. Jensen SJ, Oxidative stres and free radicals. *Journal of Molecular Structure.* 2003;666: 387-92.
54. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları. 1995;11: 42-5.
55. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2002;33:110-8.
56. Yamamoto Y. Role of active oxygen species ant antioxidants in photoaging. *Journal of Dermatological Science.* 2001;27:1-4.
57. Stadtman ER. Metal ion catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med.* 1998;9:315-25.
58. Yiğit A, Yurdakök M. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 1997;39:749-65.
59. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004;37:112-9.
60. McCord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993;26:351-7.
61. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res.* 1996;25:439-54.

62. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. A report of the panel on dietary antioxidants and related compounds, subcommittees on upper reference levels of nutrients and interpretation and uses of dietary reference intakes. Washington DC. National Academy Press. 2000;1-506.
63. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.* 1999;37:949-62.
64. Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. 1st ed. New York. Oxford University Press. 1994;123-4.
65. Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate.* 2001;79:180-6.
66. Buhimschi IA, Buhimshi CS, Pupkin M et al. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189:181-8.
67. Scandalios JG: The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences.* 2002;27:483-6.
68. Zhao J, Liu XJ, Ma JW et al. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev.* 2004; 77:89-98.
69. Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition.* 2002;18:872-9.
70. Rose RC, Bode AM. Biology of free-radical-scavengers- an evaluation of ascorbat. *FASEB J.* 1993;7:1135-42.
71. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 1999;13:1007-24.
72. Suh J, Zhu BZ, Frei B. Ascorbate does not act as apro-oxidant toward lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med.* 2003;34:1306-14.
73. Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact.* 2001;137:59-74.
74. Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan.* 2005;74:10-3.
75. Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 1989;119:109-11.
76. Yao JK, Reddy R, Mc Elhinny LG. Reduced status of plasma total antioxidant capacity in schizophrenia. *Schizophr Res.* 1998;31:1-8.

77. Ghiselli A, Serafini M, Natella F. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med.* 2000;29:1106-14.
78. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem.* 1998;44:1309-15.
79. Olney JW. "Inciting excitotoxic cytocide among central neurons", In: Schwarcz, R. and Ben-Ari, Y. Eds. *Adv Exp Med and Biol.* Plenum Press. New York. 1986;632-45.
80. Fridovich I. Quantitative aspects of the production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase" *J Biol Chem.* 1970;245:4053-7.
81. Rong Y, Doctrow SR, Tocco G, Baudry M. Euk-134, a synthetic superoxide dismutase and catalase mimetic, prevents oxidative stress and attenuates kainateinduced neuropathology *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1999;96:9897-902.
82. Bruce-Keller AJ, Umberger G, McFall R, et al. Food restriction reduces brain damage and improves behavioral outcome following excitotoxic and metabolic insults" *Ann Neurol.* 1999;45:8-15.
83. Gardner PR, Raineri I, Epstein LB, et al. Superoxide radical and iron modulate aconitase activity in mammalian cell. *J Biol Chem.* 1995;270:13399-405.
84. Melov S, Coskun P, Patel M, et al. Mitochondrial disease in superoxide dismutase 2 mutant mice". *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1999;96:845-51.
85. Liang LP, Ho YS, Patel M. Mitochondrial superoxide production in kainateinduced hippocampal damage" *Neuroscience.* 2000;101:563-70.
86. Bruce AJ, Baudry M. Oxygen free radicals in rat limbic structures after kainateinduced seizures. *Free Radic. Biol Med.* 1995;18:993-1002.
87. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, et al. A Series of prostaglandin F2-like compound are produced in vivo in humans by a noncyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1990;87:9383-7.
88. Lan J, Henshall DC, Simon RP, et al. Formation of base modification 8- hydroxyl-20-deoxyguanosine and DNA fragmentation following seizures induced by systemic kainic acid in the rat. *J Neurochem.* 2000;74:302-9.
89. Shigenaga MK, Park JW, Cundy KC, et al. In vivo DNA damage: measurement of 8-hydroxy-20deoxyguanosine in DNA and urine by highperformance liquid chromatography with electrochemical detection". *Meth Enzymol.* 1990;186:521-30.
90. Oono T, Arata J. Characteristics of prolidase and prolinase in prolidase-deficient patients with some preliminary studies of their role in skin. *J Dermatol.* 1988;15(3):212-9.

91. Özcan O, Mustafa G, Osman Mİ. Prolidazın mutlak aktivitesini değerlendirmede fotometrik enzim aktivitesi ölçüm metodunun optimizasyonu. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2007;32:12-16.
92. Wilce MC, Bond CS, Dixon NE, et al. Structure and mechanism of a proline-specific aminopeptidase from *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(7):3472-7.
93. Hamilton PB, Ortiz PJ. Proline and hydroxyproline: purification, reaction with ninhydrin, and some properties of their N-nitroso derivatives. *J Biol Chem*. 1950;184(2):607-15.
94. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 2004;37:277-85.
95. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005;38(12):1103-11.
96. Harma M, Harma M, Kocyigit A, et al. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res*. 2005;583(1):49-54.
97. Karaağaç N, Yeni SN, Şenocak M, et al. Prevalence of epilepsy in Silivri, arural area of Turkey. *Epilepsia* 1999;40:637-42.
98. Simon Shorvon. *The Principles of drug treatment, Chapter 2; Handbook of Epilepsy Treatment, Second Edit.* 2005;345-60.
99. Deckers CL, Genton P, Sills GJ, et al. Current limitations of antiepileptic drug therapy: A conference review. *Epilepsy Res*. 2003;53:1-17.
100. Sekine T, Endou H. Children's Toxicology from bench to bed- Drug induced renal injury. Drug transporters and toxic nephropathy in childhood. *The journal of toxicological sciences*. Vol. 34. Special issue 2. 2009.
101. Varoglu AO, Yildirim A, Aygul R, et al. Effects of valproate, carbamazepine and levetiracetam on the antioxidant and oxidant systems in epileptic patients and their clinical importance. *Clin Neuropharmacol*. 2010;33:155-157.
102. Hirsch CS, Martin DL. Unexpected death in young epileptics. *Neurology*. 1971;21:682-690.
103. Terrence CF, Wisotzkey HM, Perper JA. Unexpected, unexplained death in epileptic patients. *Neurology*. 1975;25:594-598.
104. Singh R, Pathak DN. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in FeCl₃ induced epileptogenic foci in the rat brain. *Epilepsia*. 1990;31:15-26
105. Guerrini R. Epilepsy in children. *Lancet*. 2006;367:499-524.

106. Patsoukis N, Zervoudakis G, Georgiou CD, et al. Panagopoulos NT. Thiol redox state and lipid and protein oxidation in the mouse striatum after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Epilepsia*. 2005;46:1205-11.
107. Porter RJ, Meldrum B. In: Katzung BG, editors. *Basic and Clinical Pharmacology*. 8 th ed. McGraw Hills Co. 2001;24:395-418.
108. Rojas A, Jiang J, Ganesh T, et al. Cyclooxygenase-2 in epilepsy. *Epilepsia* 2014;55:17–25.
109. Calik M, Oguz E, Sarikaya S, et al. An evaluation of serum paraoxonasetogether with arylesterase activities andoxidative stress in children with intractableepilepsy: A cross-sectional study. *Epilepsy Res*. 2014;108:1591-1596.
110. Ben-Menachem E, Kyllerman M, Marklund S. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase function in progressive myoclonus epilepsies *Epilepsy Res*. 2000;40:33-9.
111. Shahar E, Attias U, Savulescu D, et al. Oxidative stress, metalloproteinase and LDH in children with intractable and non-intractable epilepsy as reflected in salivary analysis. *Epilepsy Res*. 2014;108(1):117-24.
112. Hassanzadeh P, Arbabi E, Rostami F. The ameliorative effects of sesamol against seizures, cognitive impairment and oxidative stressin the experimental model of epilepsy. *Iran J Basic Med Sci*. 2014;17(2):100-7.
113. Librizzi L, Noe F, Vezzani A, et al. Seizure-induced brain-borne inflammation sustains seizure recurrence and blood–brain barrier damage. *Ann Neurol*. 2012;72:82–90.
114. Shin EJ, Jeong JH, Chung YH, et al. Role of oxidative stres in epileptic seizures. *Neurochem Int*. 2011;59(2):122-37
115. Aycicek A, Iscan A. The effects of carbamazepine, valproic acid and phenobarbital on the oxidative stres and antioxidative balance in epileptic children. *European Neurology*. 2007;57: 65-9.
116. Yıldız M, Simsek G, Uzun H, et al. Assessment of low-density lipoprotein oxidation, paraoxonase activity, and arterial distensibility in epileptic children who were treated with anti-epileptic drugs. *Cardiol Young*. 2010;20:547-554.
117. Chamson A, Voigtlander V. Collagen Biosynthesis Anomalies in Prolidase Deficiency. Effect of Glycl-L-Proline on the Degradation of Newly Synthesized Collagen. *Clin Physiol Biochem*. 1989;7:128-136.
118. Powell GF, Rasco MA, Maniscalco RM. A prolidase deficiency in man with iminopeptidurea. *Metabolism*. 1974;23:505-6.

119. Butterworth J, Priestman DA. Presence in human cells and tissues of two prolidases and their alteration in prolidase deficiency. *J Inherit Metab Dis.*1985;8:193.
120. Sezen Y, Bas M, Altıparmak H, et al. Serum prolidase activity in idiopathic and ischemic cardiomyopathy patients. *J Clin Lab Anal.* 2010;24(4):213-8.
121. Gencer M, Aksoy N, Dagli EC, et al. Prolidase activity dysregulation and its correlation with oxidative-antioxidative status in chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Lab Anal.* 2011;25(1):8-13.
122. Horoz M, Aslan M, Bolukbas FF, et al. Serum prolidase enzyme activity and its relation to histopathological findings in patients with non-alcoholic steato hepatitis. *J Clin Lab Anal.* 2010;24:207-11.
123. Jung S, Silvius D, Nolan KA, et al. Developmental cardiac hypertrophy in a mouse model of prolidase deficiency. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011;91(4):204-17.
124. Sezen Y, Bas M, Altıparmak H, et al. Serum prolidase activity in idiopathic and ischemic cardiomyopathy patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 2010;24: 213-18.
125. Myara I. Plasma prolidase activity. A possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin Chem.* 1984;30:211-15.
126. Yildiz A, Demirbag R, Yilmaz R, S, et al. The association of serum prolidase activity with the presence and severity of coronary artery disease. *Coron Artery Dis.* 2008; 19:319-25.
127. Altay MA, Erturk C, Aksoy N, et al. Serum prolidase activity and oxidative-antioxidative status in Legg-Calve-Perthes disease. *J Pediatr Orthop B.* 2011;20(4):222-6.
128. Vural M, Camuzcuoglu H, Toy H, et al. Amniotic fluid prolidase activity and oxidative status in neural tube defects. *Fetal Diagn Ther.* 2010;28(1):34-9.
129. Demirbag R, Yıldız A, Gur M, et al. Serum prolidase activity inpatients with hypertension and its relation with left ventricular hypertrophy. *Clinical Biochemistry.* 2007;40:1020-1025.
130. Cakmak A, Soker M, Koc A, et al. Prolidase activity and oxidative status in patients with thalassemia major. *J Clin Lab Anal.* 2010;24(1):6-11.
131. Kaleli S, Akaya A, Akdogan M, et al. The Effects of different treatments on prolidase and antioxidant enzyme activities in patients with bronchial asthma. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2006;22:35-9.
132. Gumus S, Yaman H, Ozcan O, et al. Serum prolidase activity in patients with pulmonary tuberculosis. *Scand J Clin Lab Invest.* 2011;71(6):467-72.

7. EKLER

HASTA BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

ÇALIŞMANIN BAŞLIĞI: Epilepsi tanısı olan olgularda oksidatif stres düzeyi ve serum prolidaz aktivitesinin değerlendirilmesi

HASTA ADI: _____

Çocuğumun ebeveyni(yasal sorumlusu) olarak bu çalışmada epilepsi tanısı alan olgularda oksidatif stres düzeyi ve serum prolidaz aktivitesinin değerlendirilmesinin amaçlandığının bilincindeyim.

Bu çalışmada çocuğumdan küçük bir enjektör ile 4 cc kadar venöz kan alınacak. Çocuğumda herhangi bir deney uygulanmayacak. Tetkikler kanda yapılacak. Çalışmanın tahmin edilen süresi 1 yıl, çalışmaya katılması beklenen hasta sayısı 61 hasta ve 32 kontroldür. Kan alınmasına bağlı korku, kan alıma yerinde morarma, kanamanın uzun sürebileceği bize anlatıldı.

Bu çalışmanın kapsamındaki bütün muayene, tetkik ve diğer tıbbi bakım için benden çocuğumdan hiç bir ücret talep edilmeyecektir. Çalışma ilaçlarıyla uygulanan tedavi ile çocuğumun hastalığı kontrol altına alınabilir. Ayrıca, bu çalışmadan çıkarılan sonuçlar başka insanların yararına kullanılabilir. Eğer bu çalışmaya çocuğumun katılmasını kabul etmezsem, çocuğumun kabul görmüş tedavileri alma hakkına sahip olduğunun bilincindeyim. Bu araştırma süresinde çocuğum gebelik planlamamakta ve çalışmaya katılmasında herhangi bir sakınca görmeyip katılmasını kabul ediyorum

Etik kurul onayından itibaren bir yıl içinde çalışmanın tamamlanması öngörülmektedir 61 hasta 32 kontrol grubu toplam 91 olgu katılacağını biliyorum.

Çalışmanın yürütülmesinden sorumlu doktor veya destekleyen kuruluş, çocuğumun almakta olduğu tıbbi bakımın kalitesini yükseltmek amacıyla veya çalışma programının gereklerini yerine getirmedeki ihmali nedeniyle, benim onayımı almadan beni ve çocuğumu çalışma kapsamından çıkarabilir.

Çalışmanın yürütülmesi, olası yan etkiler veya bir hasta (yasal) sahibi olarak haklarım konusunda kafamda sorular belirlediğinde aşağıda belirtilen kişilerle bağlantı kurmam yeterli olacaktır.

Dr. Nurettin KARACAN, Doç. Dr Mustafa ÇALIK, Telefon: 05417136392 / 05052841568

Çalışma süresince tutulan bütün kayıtlar ve dosya bilgileri gereğinde Dr. Nurettin KARACAN, Doç Dr Mustafa ÇALIK ve yöneticilerine ulaştırılacaktır. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler ilacın kullanımının onaylanması için veriye ihtiyaç duyan diğer ülke hükümetlerine ve ilgili birimlerine iletilebilir. Bu çalışmanın sonuçları toplantılar veya bilimsel yayınlarda sunulabilir, ancak bu durumda çocuğumun kimliği kesin olarak gizli tutulacaktır.

Bu çalışmaya katıldığı için çocuğum zarar görürse, ihtiyaç duyacağı tıbbi bakım, sorumlu doktor ve bu hastane tarafından yerine getirilecektir. Çocuğumun masrafları Dr. Nurettin KARACAN, Doç Dr Mustafa ÇALIK tarafından karşılanacaktır. Bu formu imzalayarak yasal haklarımın ve çocuğumun yasal haklarının hiçbirinden vazgeçmediğimin bilincindeyim.

Sorumlu doktora haber vermek kaydıyla, bu çalışmadan çocuğumu istediğim an çıkabileceğimin bilincindeyim. Bu çalışmaya çocuğumun katılmasını reddetmem ya da sonradan çekilmem halinde hiçbir sorumluluk altına girmediğimin ve bu durumun şimdi ya da gelecekte çocuğumun ihtiyacı olan tıbbi bakımı hiçbir şekilde etkilemeyeceğinin bilincindeyim.

Bu çalışma Fakülte Etik Kurulu tarafından incelenerek Helsinki Deklarasyonunda belirtilen maddelere göre ahlaki, vicdani ve tıbbi kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

Bu olur formunu imzalamadan önce yukarıdaki bilgileri kendi ana dilimde okudum veya bana okunmasını sağladım. Bu bilgilerin içeriği ve anlamı bana ve çocuğuma açıklandı. Benim ve çocuğumun aklına gelen bütün soruları sorma fırsatı tanındı ve sorularımıza tatmin kar cevaplar aldık. Bu çalışmaya çocuğum katılmadığında ya da katıldıktan sonra vazgeçtiğim takdirde çocuğum hiçbir yasal hakkından vazgeçmiş olmayacak. Çocuğumun bu çalışmada yer almasını gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu bildirimli olur sözleşmesinin imzalı bir nüshasını aldım

Hastanın Adı-İmzası

Tarih

(Veli veya vasisinin)

Sorumlu Doktorun Adı-İmzası

Tarih

Nurettin KARACAN

Tanığın Adı-İmzası

Tarih