



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN  
TOKSİSİTEDE BEYİN HASARI ÜZERİNE PAZININ KORUYUCU  
ETKİLERİ**

**Esra Şule ÇİMEN**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Sevim TUNALI**


**Kimya Anabilim Dalı**

**Biyokimya Programı**

**İSTANBUL-2018**

Bu çalışma 18.12.2018 Tarihinde aŖağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı,  
Biyokimya Tezli Yüksek Lisans Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ



Doç. Dr. Sevim TUNALI  
İstanbul Üniversitesi-CerrahpaŖa  
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. AyŖe CAN  
İstanbul Üniversitesi  
Eczacılık Fakültesi



Prof. Dr. Özlem SAÇAN  
İstanbul Üniversitesi-CerrahpaŖa  
Mühendislik Fakültesi



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

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 21662 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve deneyimlerini paylaşarak her konuda bana yol gösteren Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Refiye YANARDAĞ'a teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesi konusunda yardım ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Sevim TUNALI'ya en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Bu süreçte iyi niyetini, hoşgörüsünü ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve önerilerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Özlem SAÇAN'a teşekkür ederim.

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

Hayatımın her döneminde beni destekleyen, verdikleri emek ve yaptıkları fedakârlıklardan dolayı borçlarını asla ödeyemeyeceğim, beni bugünlere getiren sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

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

Aralık 2018

Esra Şule ÇİMEN

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ .....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ÖZET .....	xi
SUMMARY .....	xii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR.....</b>	<b>3</b>
2.1.    BEYİN YAPISI VE FONKSİYONLARI.....	3
2.1.1.    Beyin Kabuğunun Tabakaları ve Hücre Tipleri .....	5
2.2.    EPİLEPSİ .....	7
2.2.1.    Epilepsinin Tanımı .....	7
2.2.2.    Epilepsinin Tarihçesi .....	7
2.2.3.    Epilepsinin Epidemiyolojisi .....	8
2.2.4.    Epilepsinin Etiyolojisi .....	8
2.2.5.    Epilepsinin Sınıflandırılması .....	10
2.2.6.    Epilepsinin Patofizyolojisi.....	11
2.2.7.    Epilepsinin Tedavisi .....	11
2.3.    VALPROİK ASİT .....	12
2.3.1.    Valproik Asidin Yan Etkileri.....	14
2.4.    SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR .....	16
2.4.1.    Serbest Radikaller.....	16
2.4.2.    Oksidatif Stres .....	17
2.4.3.    Antioksidanlar .....	17
2.4.3.1.    Enzimatik Antioksidanlar .....	18
2.4.3.2.    Enzimatik Olmayan Antioksidanlar .....	19
2.5.    PAZI ( <i>BETA VULGARIS</i> L. VAR. <i>CİCLA</i> ).....	21
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM.....</b>	<b>23</b>
3.1.    DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR.....	23

3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	24
3.3. DENEYDE KULLANILAN SULU PAZI EKSTRESİNİN HAZIRLANMASI.....	25
3.4. DENEY HAYVANLARI .....	26
3.5. BEYİN HASARI OLUŞTURULMASI.....	26
3.6. BEYİN DOKUSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI .....	26
3.7. BEYİN DOKUSU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI.....	27
3.8. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTAR TAYİNİ.....	27
3.9. BEYİN DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ.....	28
3.10. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	30
3.11. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	32
3.12. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	33
3.13. BEYİN DOKUSUNDA İLERİ OKSİDE PROTEİN ÜRÜNLERİ TAYİNİ .....	35
3.14. BEYİN DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTAR TAYİNİ.....	36
3.15. BEYİN DOKUSUNDA SİALİK ASİT TAYİNİ .....	37
3.16. BEYİN DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ.....	39
3.17. BEYİN DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ .....	41
3.18. BEYİN DOKUSUNDA ASETİLKOLİN ESTERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ .....	42
3.19. BEYİN DOKUSUNDA PROTEİN MİKTAR TAYİNİ.....	43
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>46</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>51</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>60</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>73</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 2.1:</b> Beyin yapısı (Bakırcı, 2012).....	3
<b>Şekil 2.2:</b> Serebral korteks merkezleri (Anon, 2017).....	4
<b>Şekil 2.3:</b> Neokorteksin altı tabakasının hücresel birleşimi (Purves ve diğ., 2001).....	5
<b>Şekil 2.4:</b> Farklı epilepsi nedenlerinin yaşa göre gelişen yaklaşık frekansı (Dekker, 2002).....	9
<b>Şekil 2.5:</b> Valproik asit.....	12
<b>Şekil 2.6:</b> VPA metabolizmasının ürünleri (Sztajnkrzyer, 2003). ....	13
<b>Şekil 2.7:</b> Glutatyon .....	20
<b>Şekil 2.8:</b> Melatonin.....	20
<b>Şekil 2.9:</b> Pazı .....	21

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 2.1:</b> Reaktif oksijen ve azot türleri (Karabulut ve Gülay, 2016).....	16
<b>Tablo 4.1:</b> Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin GSH ve LPO değerleri.....	46
<b>Tablo 4.2:</b> Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin GPx, GR ve GST aktivite değerleri. .....	47
<b>Tablo 4.3:</b> Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin AOPP, PC ve sialik asit değerleri. ....	48
<b>Tablo 4.4:</b> Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin SOD, PON ve AChE değerleri. ....	50

## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

### Simgeler Açıklama

<b>dk</b>	: Dakika
<b>μL</b>	: Mikrolitre
<b>μM</b>	: Mikromolar
<b>mg</b>	: Miligram
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>nm</b>	: Nanometre
<b>mm</b>	: Milimetre

### Kısaltmalar Açıklama

<b>AChE</b>	: Asetilkolin Esteraz
<b>AOPP</b>	: İleri Okside Protein Ürünleri
<b>DNA</b>	: Deoksi Ribonükleik Asit
<b>DNPH</b>	: 2,4-Dinitrofenil Hidrazin
<b>DTNB</b>	: 5,5'-Ditiyo-Bis-2-Nitro Benzoik Asit
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik Asit
<b>EEG</b>	: Elektroansefalografi
<b>FAD</b>	: Flavın Adenin Dinükleotit
<b>GABA</b>	: Gama Amino Bütirik Asit
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GPx</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>GST</b>	: Glutasyon Transferaz
<b>HDL</b>	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
<b>LPO</b>	: Lipid Peroksidasyonu
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>NAD</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
<b>NADH</b>	: İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

<b>PC</b>	: Protein Karbonil
<b>PON</b>	: Paraoksonaz
<b>ROS</b>	: Reaktif Oksijen Türleri
<b>RNS</b>	: Reaktif Nitrojen Türleri
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>TBA</b>	: Tiyobarbitürik Asit
<b>TCA</b>	: Triklorasetik Asit
<b>TRİS</b>	: Hidroksimetil Aminometan
<b>VPA</b>	: Valproik Asit



## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### SIÇANLARDA VALPROİK ASİT İLE OLUŞTURULAN TOKSİSİTEDE BEYİN HASARI ÜZERİNE PAZININ KORUYUCU ETKİLERİ

Esra Şule ÇİMEN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Sevim TUNALI

Valproik asit (VPA) anksiyete bozuklukları, bipolar bozukluklar, migren ve epileptik hastalıkların tedavisinde etkin ve yaygın kullanılan bir ilaçtır. Birçok çalışmada valproik asidin uzun süreli kullanımına bağlı olarak pankreatit, karaciğer toksisitesi, deri döküntüsü ve tremor gibi yan etkilerin ortaya çıktığı bildirilmektedir. Pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) dünyanın birçok bölgesinde yetiştirilen yapraklı bir sebzedir. Birçok çalışmada pazının antioksidan, antidiabetik, antikolinesteraz, antitümör ve karaciğer koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada sıçanlarda VPA ile oluşturulan toksisitede beyin hasarı üzerine pazının koruyucu etkileri incelenmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre pazının VPA ile oluşturulan beyin hasarına karşı koruyucu ve antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur.

Aralık 2018, 84 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** Valproik asit, pazı, beyin.

## **SUMMARY**

### **M.Sc. THESIS**

#### **PROTECTIVE EFFECTS OF CHARD ON BRAIN DAMAGE IN VALPROIC ACID INDUCED TOXICITY IN RATS**

**Esra Şule ÇİMEN**

**Istanbul University-Cerrahpasa**

**Institute of Graduate Studies**

**Department of Chemistry**

**Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Sevim TUNALI**

Valproic acid (VPA) is widely a potent and used drug in the treatments of anxiety disorders, bipolar disorders, migrene and epileptic diseases. In several studies, it is reported that depending on long-term usage of VPA there occur side effects such as pancreatitis, liver toxicity, skin rash and tremor. Chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla) is a leafy vegetable cultivated in many parts of the world. In many studies, it has been reported that chard has antioxidant, antidiabetic, anticholinesterase, antitumor and liver protective effects. In this study, there was investigated the protective effects of chard on brain damage in valproic acid induced toxicity in rats. According to the results obtained in our study, it has been found the chard has a protective and antioxidant effect on brain damage induced by VPA.

December 2018, 84 pages.

**Keywords:** Valproic acid, chard, brain.

## 1. GİRİŞ

Valproik asit (VPA) (2-propilvalerik asit, 2-propilpentanoik asit), kısa dallı karboksilik bir asit olup antiepileptik aktivite gösteren bir ilaçtır (Chateauvieux ve diğ., 2010). VPA; genelleşmiş nöbetlerde, epilepsili hastaların tedavisinde, duygudurum bozukluğu, şizofektif düzensizlikler ile nöropatik ağrının kontrol altında tutulmasında, migrenin önlenmesinde ve sonlandırılmasında kullanılmaktadır (Silva ve diğ., 1997; Johannessen, 2003). VPA kullanımı bazı durumlarda ölümcül ciddi komplikasyonlar içeren kanamalara, kemik iliği baskısına, hepatotoksite ve hiperanemik beyine neden olabilir (Spiller ve diğ., 2000). Bazı çalışmalarda akut hematolojik etkileri ile myelodisplazi (kan hücrelerinin gelişmesinde veya işlevinde anormallik) ve akut lösemi benzeri sendroma yol açabildiği görülmüştür (Williams ve diğ., 2008).

Epilepsi, beyinde epileptik nöbet oluşturmaya sürekli bir yatkınlıkla karakterize olan, bu durumun nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçlarından oluşan bir rahatsızlıktır (Fisher ve diğ, 2005). Nöbet, beyindeki nöronların aşırı aktivitesi sonucu oluşan nörolojik işlevin ani değişimidir (Blume ve diğ., 2001). Tekrarlayan nöbetlerle karakterize edilen epilepsi; uzun süreli tedavi ihtiyacı olan ve sık görülen kronik nörolojik hastalıklardan biridir. Serbest radikaller, insan vücudunda temel metabolik süreçler yoluyla ya da radyasyonlar, kimyasal maddeler ve çevresel koşullar gibi dış etmenler ile oluşmaktadır. Hücre hasarına ve homeostatik parçalanmaya neden olan serbest radikaller; başlıca lipid, nükleik asit ve protein makromoleküllerini hedef alırlar (Lobo ve diğ., 2010).

Serbest radikallerin oluşturduğu zararlı etkileri inhibe eden kararlı moleküllere antioksidan denir. Antioksidanlar, hücreler hasar görmeden serbest radikallerle etkileşim kurarak reaksiyon zincirini sonlandırabilen koruyucu mekanizmalara sahiptirler (Halliwell, 1995).

Pazı (*Beta vulgaris* L. var. cicla) tüm dünyada yaygın bir biçimde tüketilmekte olan bir sebzedir. Bitkinin yıl boyunca yetiştirilebilmesi ve maliyetinin ucuz olması sayesinde bu bitkinin yaprakları ve köklerinin yiyecek olarak da tercih edilmesini sağlamaktadır (Gao ve diğ., 2009). Pazı A, B, C vitaminleri, kalsiyum, demir ve fosfor açısından zengin bir bitkidir.

Halk arasında karaciğer ve böbrek hastalıklarının tedavisinde, immun ve hematopoetik sistemlerin düzenlenmesinde kullanılmaktadır (Kanner ve diğ., 2001). Ayrıca pazının antidiyabetik, antioksidan ve antiasetilkolin esteraz özelliklerinin olduğu literatürde belirtilmiştir (Sacan ve Yanardag, 2010).

Bu çalışmada, sıçanlarda valproik asit ile oluşturulan toksisitede beyin hasarı üzerine, pazının koruyucu etkilerinin olup olmadığı biyokimyasal yöntemler ile araştırılmıştır.

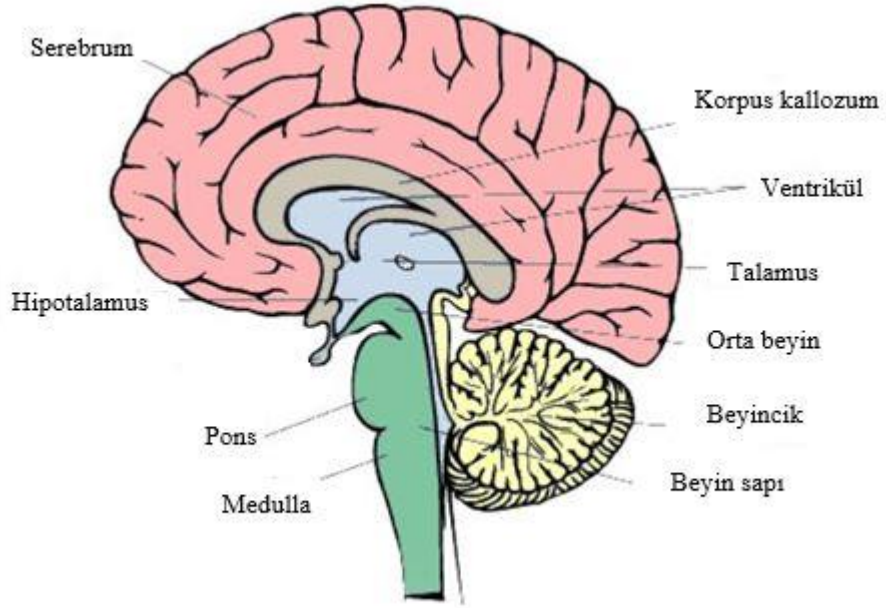


## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. BEYİN YAPISI VE FONKSİYONLARI

Ortalama insan beyni yetişkinlerde yaklaşık 1500 g ağırlığında ve vücut ağırlığının yaklaşık % 2'si kadar olup büyük oranda su (% 78), yağ (% 10) ve proteinden (% 8) oluşan yumuşak bir yapıya sahiptir (Jensen, 1998; Noback ve diğ., 2005).

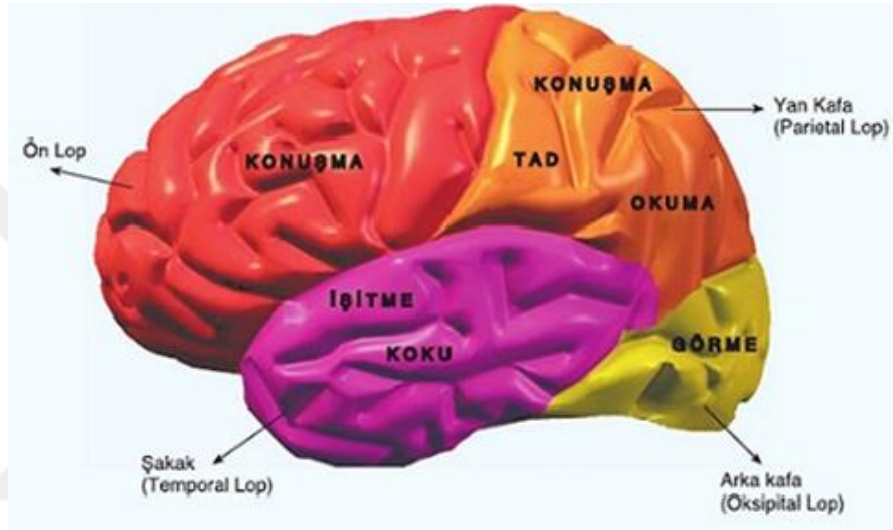
Beyin; serebrum (telensefalon ve diensefalon), beyin sapı (mezensefalon=orta beyin, metensefalon=pons, myelensefalon=medulla) ve beyincik (serebellum) olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır (Noback ve diğ., 2005) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Beyin yapısı (Bakırcı, 2012).

Beynin dış görünüm olarak en belirgin özelliği kıvrımlara sahip olmasıdır. Bu kıvrımlar serebral korteksin bir parçasıdır (Jensen, 1998). Serebrum sağ serebral hemisfer ve sol serebral hemisfer olmak üzere iki kısımdan oluşur. Birbirlerine korpus kallozum olarak bilinen yaklaşık 250 milyon sinir lifinden oluşan bir yapıyla bağlanır. Bu yapı iki hemisfer arasında bilgi alışverişini sağlar (Jensen, 1998).

Bir serebral hemisfer frontal, parietal, temporal ve oksipital loblar olarak dört bölgeden oluşur. Frontal lob; alın bölgesinde yer almaktadır ve düşünme, yaratıcılık, problem çözme, karar verme eylemlerinden sorumludur. Parietal lob; üst-arka kısımdadır, yüksek duyuşal ve dil işlevlerini kapsar. Temporal lob; kulakların üstünde ve çevresinde bulunur, işitme duyuları, hafıza, anlama ve konuşmanın duyuşal merkezidir. Oksipital lob; orta-arka kısımda yer almakta olup görmeden sorumludur (Jensen, 1998) (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2:** Serebral korteks merkezleri (Anon, 2017).

Beynin ortasında bulunan hipokampus, talamus, hipotalamus ve amigdalayı içeren bölge beyin hacminin % 20'sini temsil eden limbik sistemdir. Bu bölge duygular, uyku, dikkat, vücut sistemi, hormonlar, cinsellik, koku ve beyin kimyasallarının çoğunun üretiminden sorumludur. Amigdala, duyuşal tepkilerin oluşumu ve hatırlanmasında rol oynayan önemli fonksiyonlara sahip beyin bir parçasıdır (Jensen, 1998).

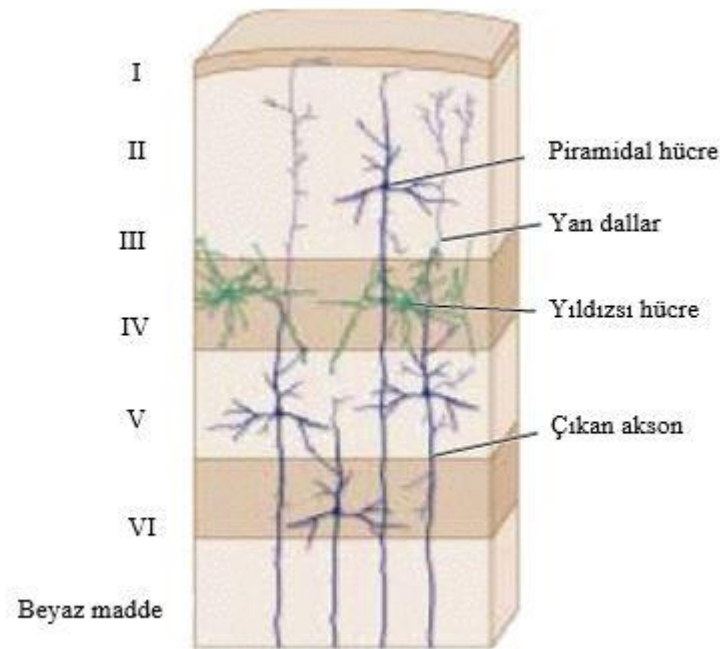
Beyin sapı; bilinç, uyku - uyanma döngüsü, solunum ve kardiyovasküler kontrol gibi birçok olayda önem taşıyan bir bölgedir. Medulla, serebral hemisferler ve omurilik arasında bilgi aktarımı yapar (Jensen, 1998; Noback ve diğ., 2005). Orta beyin, ponsun üst kısmında bulunur. Motor hareketi, özellikle de göz hareketleri, işitsel ve görsel olaylarda önemli işlevlere sahiptir (Sisu, 2017). Pons, medullanın üzerinde ve orta beyin altında bulunan, duyuşal bilgiler için önemli olan bir geçiş bölgesidir (Jensen, 1998). Beyincik; kas hareketlerinin koordinasyonunu ve motor fonksiyonun düzenlenmesini sağlar. Kas kasılmalarını hassas bir şekilde düzenleyerek

yanıtlanmasını senkronize eder. Bu şekilde denge, duruş ve kas tonusunda önemli bir rol oynar. Refleksif öğrenme ve şartlı yanıt olaylarında görev alır (Jensen, 1998; Noback ve diğ., 2005).

### 2.1.1. Beyin Kabuğunun Tabakaları ve Hücre Tipleri

Beyinde, nöronların yoğun ve yaygın halde bulunduğu yüzeysel bölge serebral kortektir. Bir nöron, hücre gövdesi ve buradan çıkan uzantılardan oluşur. Bu uzantılardan akson olarak adlandırılan kısım bir nöronun diğer bir nörona bilgi iletirken, dendrit olarak adlandırılan kısım ise bir nöronun aksonu tarafından iletilen bilgiyi alır (Morris ve Fillenz; 2003; Kiray, 2010).

Beş temel nöronal hücre tipi çok sayıda kortikal nöronu temsil eder. Bu hücre tipleri piramidal hücreler, yıldızsı (granüler) hücreler, Martinotti hücreleri, horizontal hücreler ve işsi hücreler olup dendritik organizasyona, akson dallanmasına ve hücre gövdesinin şekline göre karakterize edilmiştir (Şekil 2.3). Serebral korteks % 90 oranında altı katmanlı (I-VI) neokorteksten oluşur (Noback ve diğ., 2005).



Şekil 2.3: Neokorteksin altı tabakasının hücresel birleşimi (Purves ve diğ., 2001).

Tabakaların en dışında moleküler tabaka (I) bulunur. Diğer tabakalara göre nispeten daha az sayıda hücre bulunur ve bu nedenle kalınlığında değişkenlik gösterir. Bu tabaka sinaptiktir ve

çoğunlukla aksonal, dendritik ve glial işleyişin bütününden oluşur. Tekli hücre gövdesine sahip üçgen şeklindeki piramidal hücrelerin apikal dendritleri kortikal yüzeye uzanır. Yetişkinlerde bulunmayan ya da az sayıda bulunan, yüzeysel kortikal tabakanın küçük bir nöronu olan horizontal hücrelerin aksonu da bu tabakada paralel olarak yönelmiş halde bulunabilir (Purves ve diğ., 2001; Noback ve diğ., 2005; Garey, 2006).

Dış granüler tabaka (II); küçük taneli piramidal hücrelerin yoğun birikimiyle oluşur. Az miktarda ise yıldız (granül) hücreleri de bulunur. Bu nedenle granüler tabaka olarak adlandırılır. Buradaki nöronlar diğer katmanlarla bağlantı oluştururlar (Purves ve diğ., 2001; Noback ve diğ., 2005).

Küçük-orta boyutta piramidal hücrelerden oluşan dış piramidal tabaka (III) dış granüler tabaka ile birlikte, aynı hemisferin diğer bölgeleriyle ya da korpus kallozum aracılığıyla karşı hemisferle bağlantı oluşumunu sağlarlar (Purves ve diğ., 2001; Noback ve diğ., 2005).

İç granüler tabaka (IV); daha çok ince ve yoğun yıldız (granül) hücrelerinden oluşur. Kısa dallı dendritler ve etrafındaki diğer kortikal nöronlarla dallanan kısa aksonlara sahip çok kutuplu ara nöronlardır. Bu hücrelerin aksonları kortekste sonlanır. Birincil duyu kortekslerinde talamustan giriş alırlar. Lokal devre (Golgi tip II) nöronları olan yıldız hücreleri, eksitator ve inhibitör olarak işlev görürler. (Purves ve diğ., 2001; Noback ve diğ., 2005). Eksitator nöron olanlar, glutamaterjiktir. Glutamat serebral korteksin en önemli uyarıcı nörotransmitteri olarak kabul edilir. İnhibitör nöron olanlar ise GABAerjiktir. Gama amino butirik asit (GABA) büyük inhibitör nörotransmitterdir.

İç piramidal tabaka (V); en büyük piramidal hücrelerin bulunduğu tabakadır. Bu hücreler motor kortikal alanlarda daha çok yer almaktadır. Bu nöronların en büyüğü Betz hücreleri olarak adlandırılır. Bu hücreler apikal dendritle I. tabakaya uzanırlar ve burada yanlara doğru geniş bir yayılım gösterirler. Aksonlar ise kortekse kadar uzanarak diğer beyin bölgeleriyle bağlantı kurarlar (Purves ve diğ., 2001; Noback ve diğ., 2005).

İğsi hücre tabakası (VI); farklı şekil ve boyutlara sahip iç kısımlarda iğ şeklinde hücrelerden oluşur. Diğer tabakalara oranla daha az sayıda hücreye sahiptir. Yıldız piramidal nöronlar hem yıldız hem de piramidal hücrelerin özelliklerini taşıyan büyük hücreler olup tabaka VI'nın ayırıcı özelliklerini oluşturur. Dendritler dallanarak hücreyi terk ederler ya da dallanmadan I.

tabakaya kadar uzanabilirler. İğsi hücre tabakasının aksonları korteksi terk eden piramidal nöronları içerir (Purves ve diğ.; 2001; Noback ve diğ., 2005; Garey, 2006).

I. ve III. tabakalar arası supragranüler tabaka, V. ve VI. tabakalar arası infragranüler tabaka olarak adlandırılmaktadır (Garey, 2006).

Martinotti hücreleri, tüm tabakalarda bulunan kısa dallı dendritlere sahip çok kutuplu ara nöronlardır. Bu hücrelerin korteks yüzeyine doğru yükselen ve diğer kortikal nöronlarla sinapslar oluşturan dallanmış aksonları vardır (Noback ve diğ., 2005). Golgi Tip-II ve horizontal hücreleri de Martinotti hücrelerine benzer şekilde kortikal tabakaların her birinde bulunan kısa aksonlu hücrelerdendir (Despopoulos ve Sibernagl, 2003).

## 2.2. EPİLEPSİ

### 2.2.1. Epilepsinin Tanımı

Epilepsi kelimesi Yunanca kökenli olup, 'epi' üstünde, üstünden, 'lipsis' tutmak, tutup sarsmak anlamına gelen kelimelerden türemiştir. Epilepsinin kelime anlamı kavramak, yakalamak ve ele geçirmektir (Aktin, 1965).

Epilepsi, beynin normal aktivitesini sağlayan nöronların geçici, anormal ve hipersenkron deşarjı olarak tanımlanmaktadır. Artmış nöronal uyarılabilirlik sonucunda beynin gri maddesinde ani, düzensiz ve yoğun elektrik deşarjı sonucu görsel, işitsel, kokusal tat ve karmaşık algısal bozulmalar ortaya çıkar. Ayrıca nöronların aşırı aktivitesine bağlı olarak motor ve otonomik fonksiyonu etkileyen, bilinç kaybının eşlik ettiği geçici ve tekrar eden bozukluklar da meydana gelir (Adams ve diğ., 2001; Fisher ve diğ., 2005).

### 2.2.2. Epilepsinin Tarihçesi

Epilepsiden ilk kez M.Ö. 2000'de Mezopotamya literatüründe bahsedilmektedir. Epilepsinin oluşumuna ve tedavisine dair birçok kişi tarafından çeşitli tanımlamaları yapılmıştır. Tıbbın yeterince gelişmemiş olduğu bu dönemde epilepsinin kaynağı doğa üstü güçler, kötü ruhlar ya da tanrılar tarafından verilen bir ceza yöntemi olabileceği düşünülüyordu. M.Ö. 460 yılında Hipokrat; epilepsinin beyindeki bir sorunla ilgili olduğunu, diğer hastalıklar gibi ilaçlarla ve diyetle tedavi edilebileceğini ileri sürmüştür (Page ve diğ., 1967; Ali ve diğ., 2016). Epilepsinin

ilk bilimsel tanımı 19. yüzyılın sonlarında; beynin gri cevherinde meydana gelen akut, aşırı ve düzensiz deşarjlar olarak nörolog Huglings Jackson tarafından yapılmıştır (Janz, 1987).

Nöbetlerin kontrol edilmesine yönelik sakinleştirici olarak barbitüratların kullanımının ardından, 1912'de fenobarbiton ve 1938'de de fenitoin geliştirilmiş ve bu tür ilaçlar epilepsi tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra primidon, etosüksimit, karbamapezin ve valproik asit gibi anti epileptik ilaçların üretimi yapılmıştır. 1929'da psikiyatrist Hans Berger'in geliştirdiği elektroensaflografi (EEG) yöntemi ile, beynin anormal elektriksel boşalımının incelenmesine olanak sağlanmış ve hastalığın tanısının konulmasında ve farklı nöbet tiplerinde, farklı beyin dalgası modellerinin var olduğu gösterilerek uygun tedavi yöntemleri açıklanmıştır (Baulac, 2010; Brodie, 2010; Sidiropoulou ve diğ., 2010).

20. yüzyıldan itibaren, nörogörüntüleme yöntemlerinin ve etkili ilaçların geliştirilmesi ile genlerin çeşitli epilepsi formları arasındaki bağlantının, hastalığın mekanizmasının ve moleküler biyolojisinin daha detaylı anlaşılmasını sağlamıştır (Jordan, 1992).

### 2.2.3. Epilepsinin Epidemiyolojisi

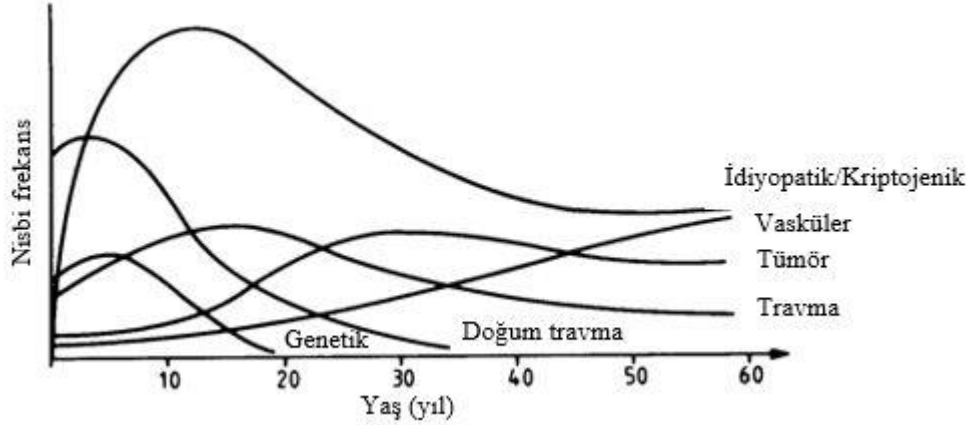
Epilepsi insidansı (tekrar oranı), prevalansı (yaygınlık) ve mortalitesi (ölüm oranı) farklı ekonomilere sahip ülkeler arasında değişim göstermektedir. Farklılıklar nöbetlerde azalma, erken ölüm, ve sosyo-ekonomik faktörler ile açıklanabilmektedir. Epilepsi insidansının erkeklerde kadınlara göre, yaşlılık döneminde ise yeni doğan dönemine göre çok daha yüksek olduğunu bildiren birçok çalışma mevcuttur (Hauser ve diğ., 1993; Beqhi ve Hesdorffer, 2014).

### 2.2.4. Epilepsinin Etiyolojisi

Epileptik sendromlar etiyolojik olarak üç grupta sınıflandırılmaktadır (Shorvon, 2011).

1. **İdiyopatik epilepsiler:** Genetik kökenli olduğu varsayılan, karakteristik EEG görüntüsüne sahip epilepsilerdir.
2. **Semptomatik epilepsiler:** Serebral patolojik değişimler sonucu ortaya çıkan epilepsilerdir.
3. **Kriptojenik epilepsiler:** Nedeni belirlenemeyen semptomatik oldukları varsayılan epilepsilerdir.

Epilepsi her yaşta meydana gelebilen bir hastalıktır. Şekil 2.4’de epilepsiye neden olan bazı etkenlerin yaşla ilişkisini gösteren bir grafik verilmiştir (Dekker, 2002).



Şekil 2.4: Farklı epilepsi nedenlerinin yaşa göre gelişen yaklaşık frekansı (Dekker, 2002).

Epilepsinin nedenleri şu şekilde özetlenebilir (Dekker, 2002).

**Doğuştan kaynaklanan bozukluklar:** Rahimde oksijen yetersizliği, beynin malformasyonları (şekil bozuklukları), tuberoz skleroz (beyinde ve birçok organda iyi huylu tümörlerin varlığıyla karakterize hastalık), nörofibromatozis (sinir sisteminin veya vücudun herhangi bir yerinde tümör gelişmesine neden olan hastalık).

**Metabolik bozukluklar:** Hipoglisemi, hipokalsemi, elektrolit denge bozukluğu, hiperbilirubinemi, pridoksin eksikliği, fenilketonüri.

**Enfeksiyonlar:** Menenjit, ateşli hastalıklar, AIDS, serebral sıtma, ensefalit, tetanoz, kuduz ve boğmaca.

**Travma:** Doğumda ve daha sonra oluşabilen kafa travmaları ve hipotermi.

**Toksik durumlar:** Alkol, alkolü bırakma, karbonmonoksit ve kurşun zehirlenmesi, yüksek dozda ilaç kullanımı.

**Dolaşım bozuklukları:** Vasküler anomaliler, orak hücre krizi ve felç.

## 2.2.5. Epilepsinin Sınıflandırılması

Epilepsinin sınıflandırılması tedavinin temelini oluşturmaktadır. Nöbet tipinin sınıflandırılması, hastanın nöbet türünün sınıflandırıldığı yaşa, kullanılan tanı testlerinin kapsamına ve doğruluğuna bağlıdır. Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği'nin epileptik sınıflandırması; lokal, jeneralize ve sınıflandırılmayan nöbetler olarak üçe ayrılmaktadır (Dekker, 2002; Das ve diğ., 2012).

### 1. Parsiyel (Lokal ya da Fokal)

#### A. Basit parsiyel nöbetler (Bilinç kaybı oluşmayan)

1. Motor semptomlu (hareketlerle ilgili belirtiler).
2. Somatosensoryel (dokunma duygusu ile ilgili) veya özel duyuşsal semptomlu.
3. Otonomik (istemsiz vücut işlevleriyle ilgili) semptomlu.
4. Psişik (ruhsal) semptomlu.

#### B. Kompleks parsiyel nöbetler (Bilinç kaybı)

1. Basit parsiyel nöbetlerin başlamasıyla bilinç kaybına ilerleme.
2. Başlangıçtan itibaren bilinç kaybı.

#### C. Sekonder jeneralize parsiyel nöbetler

1. Basit parsiyel nöbetlerin ve kompleks parsiyel nöbetlerin jeneralize (yaygın) nöbetler (tonik-klonik) oluşturması.
2. Basit parsiyel nöbetlerin kompleks parsiyel nöbetlere dönüşümünün ardından jeneralize nöbetler oluşması.

### 2. Jeneralize Nöbetler (Konvulsif ya da Konvulsif Olmayan)

#### A. Absans nöbetler: Birkaç saniye süren kısa süreli bilinç kaybı.

- Tipik absans nöbetler.
- Atipik absans nöbetler.

#### B. Miyoklonik nöbetler: Ani, kısa şok benzeri kas kasılmalarıyla karakterize olan nöbetler.

#### C. Klonik nöbetler: Tekrarlayan kasılmalarla karakterize olan nöbetler.

#### D. Tonik nöbetler: Bilinç kaybı, ani, sürekli kas kasılmalarıyla karakterize olan nöbetler.

#### E. Tonik-klonik nöbetler: Bilinç kaybı, tüm kasların spazmlı olmasından dolayı solunum durması, genel sertlik oluşumu (tonik faz), tonik fazın klonik faza geçişi.

**F. Atonik nöbetler:** Kas tonusunun ani kaybı.

### 3. Sınıflandırılmayan nöbetler

Bu kategori, yeterli bilgi olmamasından dolayı mevcut kategorilere dahil edilemeyen nöbetleri kapsamaktadır.

#### 2.2.6. Epilepsinin Patofizyolojisi

Nöbet, beyindeki sinir hücrelerinin eksitasyonundaki (uyarılma) artış ve inhibisyonundaki azalma ile normal dengenin bozulması durumunda oluşmaktadır. Eksitasyon / inhibisyon dengesindeki değişim genetik, patolojik ve fizyolojik faktörlerle meydana gelmektedir. Sinir hücresi membranının sodyum ve kalsiyum iyonlarına geçirgenliğinin artması eksitasyon ile, potasyum iyonlarına geçirgenliğinin artması ise inhibisyon ile ilişkilidir. İnhibitör nörotransmitter olan GABA ve uyarıcı nörotransmitter olan glutamat nöronal eksitabilite dengesindeki değişimlere neden olan etkenler arasında yer almaktadır (Stafstrom ve Carmant, 2015).

#### 2.2.7. Epilepsinin Tedavisi

Epilepsi tedavisinin temeli, hastanın normal beyin fonksiyonlarını etkilemeden nöbetlerden uzak tutulmasına dayanır. Tanının doğru bir şekilde konması, uygun anti epileptik ilaçların seçimi ve kullanımı ile epilepsi hastalığını kontrol altına almak mümkündür. Epileptik sendrom, nöbet tipi, etiyoloji, nöbetin başladığı yaş, cinsiyet tedavide kullanılacak olan anti epileptik ilacın belirlenmesinde önemli faktörlerdir (Dekker, 2002; Das ve diğ., 2012).

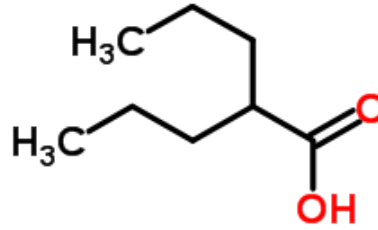
İlaç tedavisine bir ilaçla ve düşük miktarda dozla başlanır. Nöbet kontrolü sağlanana kadar doz miktarı kademeli olarak artırılır. Tedavinin amacı, tam nöbet kontrolünü sağlayan en düşük bakım dozunu elde etmektir. Tedavinin başlangıcında yan etki olarak ortaya çıkan zehirlenme, doz miktarının hızlı ya da aşırı verildiğini göstermektedir. Yorgunluk, aşırı uyku ihtiyacı, baş dönmesi veya yürüme güçlüğü diğer yan etkiler arasında sayılabilir. Tedaviye başlanan ilk ilaçla bahsedilen yan etkiler meydana gelirse ya da verilen dozla nöbet kontrolü sağlanamadıysa aynı yöntemle başka bir anti epileptik ilaç tedavisine başlanır. Eğer kullanılan ilk ilaç bir dereceye kadar etkinliğe sahipse, mevcut tedaviye ikinci bir ilaç eklenir. Eklenen ikinci ilaç nöbet kontrolünü sağlıyorsa ilk ilacın dozu kademeli olarak azaltılarak tedaviye devam edilir. İlaç, günlük olarak uzun yıllar, bazen yaşam boyu, bazen daha az verilmektedir. İdiyopatik

epilepside en az iki yıl, semptomatik epilepside ise en az üç yıl ilaçla nöbetsiz bir sürenin ardından dozaj kademeli olarak azaltılabilir, nöbetler nüksetmediyse durdurulabilir. Tedaviye başlamadan önce epilepsinin şiddetli olduğu veya bilinen bir beyin lezyonunun olduğu durumlarda nöbetlerin tekrarlama olasılığı daha yüksek olduğundan, tedaviye uzun süre devam etmek daha iyidir (Dekker, 2002; Ben-Menachem, 2014).

Epilepsi tipinin bilinmesi başlangıçta zor olduğundan tedavi genellikle nöbet tipine göre seçilen anti-epileptik ilaçla başlanmaktadır. En yaygın nöbetler jeneralize tonik-klonik nöbetlerdir. Bu nöbetler için temel olarak kullanılan fenobarbiton, fenitoin, karbamazepin ve valproik asit anti-epileptik ilaçları neredeyse eşit derecede etkilidir. Bunlardan fenitoin ya da karbamazepin sekonder jeneralize tonik-klonik nöbetler için, fenobarbiton ya da valproik asit primer jeneralize tonik-klonik nöbetler için tercih edilen ilaçlardır (Dekker, 2002).

### 2.3. VALPROİK ASİT

Valproik asit (VPA) (2-propilvalerik asit, 2-propilpentanoik asit) bir valerik asit türevidir. 144 molekül ağırlığına sahip olan VPA sekiz karbonlu dallanmış bir doymuş yağ asididir (Chateauvieux ve diğ., 2010; Muñiz, 2017).



Şekil 2.5: Valproik asit.

VPA organik bir çözücü olarak ilk kez 1881 yılında Amerikalı kimyacı Burton tarafından sentezlenmiştir. Anti-epileptik özelliği 1962 yılında Meunier tarafından rastlantı sonucu bulunmuştur (Bowden, 2003). 1978'de ilk defa tanımlanan VPA, hem parsiyel hem de jeneralize nöbet bozukluklarının tedavilerinde anti-epileptik ilaç olarak kullanılmıştır. 1966'da ise ilk defa Lambert VPA'yı duygudurum bozukluğu olan hastaların tedavilerinde iyileştirici ajan olarak kullanmıştır (Pinkston ve Walker, 1997; Davis ve Ryan, 2000).

VPA'nın 1995'te bipolar bozukluklarla ilişkili olan manik rahatsızlıkların tedavilerinde kullanılması onaylanmıştır (Davis ve Ryan, 2000). Son zamanlarda VPA, nöropatik ağrının kontrolünde, migren baş ağrısının önlenmesinde ve sonlandırılmasında kullanılmaktadır (Mathew ve diğ., 2000; Hardy ve diğ., 2001).

VPA, merkezi sinir sisteminin inhibitör nörotransmitteri olan GABA'ya benzer bir yapıdadır ve bu nedenle beyindeki işlevini GABA konsantrasyonundaki bölgesel değişikliklere bağlı olarak göstermektedir. VPA beyinde GABA'nın yıkımında rol alan GABA-transaminaz enzimini inhibe eder ve GABA sentezini sağlar ve glutamik asit dekarboksilaz enziminin etkinliğini artırır (Löscher, 2002; Sztajnkrucer, 2003). VPA'nın sodyum kanallarını inhibe etmesi yanısıra, kalsiyum akımına da etki eder. Bu etki mekanizmaları ile VPA, anti-epileptik etkinliğini göstermektedir. Ayrıca potasyum kanallarını aktive etmesiyle de sinir hücresinde hiperpolarizasyon oluşturduğu görülmüştür (Havalı, 2010).

Vücut içerisine terapötik dozda alınan VPA gastrointestinal sistemde hızlı bir şekilde absorbe edilmektedir. Oral yolla alınan VPA'nın biyoyararlanımı en üst seviyededir. Plazmadaki maksimum konsantrasyonuna yaklaşık olarak 2 saat sonra ulaşmaktadır. VPA, başta albumin olmak üzere plazma proteinlerine % 90 oranında bağlanmakta ve beyin omurilik sıvısına % 60 oranında geçmektedir. Uygun dozda alındığında plazma yarılanma ömrü 7-10 saat, aşırı dozda kullanıldığında ise 30 saate kadar çıkabilmektedir. Karaciğerde ise glukuronidasyon, mitokondriyal  $\beta$  oksidasyonu ve sitosolik  $\omega$  ve  $\omega_1$  oksidasyonu yollarıyla metabolize edilmektedir (Sztajnkrucer, 2003; Demirel, 2013).



Şekil 2.6: VPA metabolizmasının ürünleri (Sztajnkrucer, 2003).

VPA kısa zincirli yağ asidi olmasına rağmen uzun zincirli yağ asidi taşıma sistemi yolunda bir kofaktör olarak kullanılan L-karnitin ile mitokondriye geçer. Burada valproil-CoA'yı oluşturmak için koenzim-A'ya (CoASH) bağlanır ve daha sonra valproil-karnitin esteri oluşturmak için L-karnitin ile esterleşir (Sztajnkrzyca, 2003).

VPA'nın başlıca  $\beta$ -oksidasyon ürünleri 2-propil-2-pentenoik asit (2-en-VPA), 3-hidroksi-propilpentanoik asit (3-OH-VPA) ve 3-okso-2-propilpentanoik asittir (3-keto-VPA).  $\omega$ -oksidasyon ürünleri; 5-hidroksi-2-propilpentanoik asit (5-OH-VPA), 2-poliglutarik asit (PGA) ve 2-propil-4-pentenoik asittir (4-en-VPA);  $\omega_1$ -oksidasyon ürünleri ise 4-hidroksi-2-propilpentanoik asit (4-OH-VPA), 4-okso-2-propilpentanoik asit (4-keto-VPA) ve 2-propil-3-pentenoik asittir (3-en-VPA) (Sztajnkrzyca, 2003).

Metabolitlerin bir kısmı antiepileptik etki gösterirken, bir kısmı ise VPA'nın toksik etkisini oluşturmaktadır, % 30-40'ı ise metabolize olmadan atılmaktadır (Arpat, 2006). Metabolize edilen VPA, glukuronid ile konjugasyon oluşturarak suda çözünen metabolitler şeklinde idrar ile dışarıya atılmaktadır (Kesim, 2009).

### 2.3.1. Valproik Asidin Yan Etkileri

VPA yüksek dozda alındığında; titreme, uyuşukluk, öğrenme gücü, bellekte zayıflama ile hiperaktivite, yorgunluk ve depresyona neden olmaktadır (Kurt, 2012). Diğer antiepileptik ilaçlar ile birlikte kullanımında ise sedasyona (derin uyku hali) neden olduğu görülmüştür (Swaiman ve Ashwal, 1999).

VPA alınan doza bağlı olarak gastrointestinal sistemde; mide bulantısı, anoreksi, iştahsızlık, karın ağrısı ve diyare gibi bozukluklara neden olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Herranz ve diğ., 1988; Wyllie, 2006).

VPA uygulanan epileptik hastaların tedavileri esnasında kilo artışı sık görülen bir yan etkidir. Bu durum yetişkinlerde % 26, çocuklarda % 15 civarında gözlemlenmiştir. Kadınlarda VPA'nın sebep olduğu kilo artışı ise daha sık görülen bir durumdur (Herranz ve diğ., 1988; Bowden, 2003).

VPA'nın kemik iliği baskılamasına neden olarak aplastik anemiye, kemik iliğinde sitopenilere (kan hücrelerinin eksikliği), trombositopeniye ve kanama-pıhtılaşma testlerinde bozulmalara neden olduğu bildirilmiştir (Acharya, 2000; Kurt, 2012).

VPA ile yapılan kronik tedavilerde hepatotoksisitenin çeşitli formları meydana gelmektedir. VPA ile kronik olarak tedavi edilen hastaların % 44'ünde asemptomatik karaciğer transaminazlarında yükseklik tespit edildiği literatürde bildirilmiştir (Cotariu ve Zaidman, 1988; Pinkston ve Walker, 1997). Transaminazlarda meydana gelen bu artışın hepatotoksisiteye neden olduğu gösterilmiştir (Jeavons, 1984).

VPA'nın kronik tedavisi veya akut olarak aşırı dozda alınması hiperamonemi ile de ilişkilendirilmiştir. Propiyonik asidin in vitro olarak üre döngüsü enzimi olan karbamoil fosfat sentaz I'i (CPS I) inhibe ettiği gösterilmiştir (Coulter ve Allen, 1980). VPA'yı kronik olarak alan hastaların % 35'i ile % 45'inde hiperamonemi görülmüştür ve plazma amonyak düzeyi bu hastalarda 80 mg/dL'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. VPA'nın neden olduğu hiperamoneminin ağırlıklı olarak hepatik olduğu, bozulan üre döngüsü sonucunda azot fazlalığını metabolize edememesinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Sztajnkrzyer, 2003).

VPA'nın nörotransmitterler üzerine olan yan etkisi, oluşturduğu ensefalopatinin ana mekanizması olarak kabul edilmektedir (Kwan ve Brodie, 2001). Bu etkinin VPA'nın glutamin sentazı inhibe ederek glutamin sentezini düşürmesi ve hiperamonemi oluşturmasıyla meydana gelebileceği düşünülmektedir (Duarte ve diğ., 1993).

Başka bir olası mekanizma ise, astrositlerde [beyin ve omurilikte bulunan destek (glia) hücreleri] artan hücre içi glutamat ve amonyum konsantrasyonlarının neden olduğu doğrudan nöronal toksisitedir. Bu durumun potansiyel nöronal hasara ve serebral ödemlere yol açabileceği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Verrotti ve diğ., 2002; Ricard ve diğ., 2005).

VPA ve yumurtalık kisti arasında bir ilişki olduğunu ilk kez 1993 yılında Isojarvi tarafından bildirilmiştir. VPA ile tedavi ettiği 28 epilepsili kadın hasta üzerinde yaptığı çalışmada, bu hastaların yaklaşık olarak yarısında adet görmeme, adet gecikmesi veya uzamış adet döngüsü meydana geldiğini bildirmiştir (Isojarvi ve diğ., 1993). Ayrıca VPA'nın yumurtalıklarda androjen hormonunun sentezini uyardığı çok sayıdaki mekanizmanın bir sonucu olarak meydana geldiği bildirilmiştir. İnsan yumurtalık hücre kültürlerini kullanan bir çalışmada, VPA'nın steroidogenik genlerin transkripsiyonunu artırarak yumurtalık ve androjen sentezini uyardığı, ayrıca VPA'nın, testosteronun östradiole dönüşümünü azaltarak ve bu reaksiyonu katalizleyen aromataz enzimini inhibe edici etkiye neden olduğu öne sürülmüştür (Tauboll ve diğ., 2003; Nelson-DeGrave ve diğ., 2004).

VPA'nın akut pankreatit ile ilişkisi ilk olarak 1979 yılında rapor edilmiştir (Batalden ve diğ., 1979; Camfield ve diğ., 1979). VPA ile tedavi edilen çocukların yaklaşık olarak % 13'ünde akut pankreatit vakalarına rastlanmıştır (Houben ve diğ., 2005). VPA'nın neden olduğu akut pankreatitin mekanizmasının "idyosenkratik" olduğu ileri sürülmüş (Asconape ve diğ., 1993) ve açığa çıkan serbest radikallerin pankreas hücre zarında direkt bir toksik etki yaratarak süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimlerini etkilediği bildirilmiştir (Pippenger ve diğ., 1991).

## 2.4. SERBEST RADİKALLER VE ANTİOKSİDANLAR

### 2.4.1. Serbest Radikaller

Bir veya daha fazla ortaklanmamış elektronu bağımsız olarak orbitallerinde bulduran atom veya moleküller serbest radikaller olarak adlandırılmaktadır. Kararsız ve oldukça reaktif olan serbest radikaller, fizyolojik ya da patolojik reaksiyonlar sırasında başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine girip, onları oldukça reaktif hale getirirler. Bu şekilde radikal olmayan yapılar, radikale dönüşürlürlere (Durmuş ve Ünsaldı, 2005; Bilge, 2010; Lobo ve diğ., 2010).

**Tablo 2.1:** Reaktif oksijen ve azot türleri (Karabulut ve Gülay, 2016).

Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	$O_2^-$	Hidrojen peroksit	$H_2O_2$
Hidroksil	$OH^$	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	$ROO^$	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	$RO^$	Singlet oksijen	$^1O_2$
Hidroperoksil	$HO_2^$	Ozon	$O_3$
Lipid peroksil	$LOO^$		
Nitrik oksit	$NO^$	Nitrik asit	$HNO_2$
Nitrojen dioksit	$NO_2^$	Nitrosil katyonu	$NO^+$
		Nitrosil anyonu	$NO^-$
		Dinitrojen tetroksid	$N_2O_4$
		Dinitrojen trioksit	$N_2O_3$
		Peroksinitrit	$ONOO^$
		Peroksinitrik asit	$ONOOH$
		Nitronyum katyonu	$NO_2^+$
		Nitril klorid	$NO_2Cl$
		Alkil peroksinitrit	$ROONO$

Biyolojik sistemlerde önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır. Oksijenin yanı sıra, azot kaynaklı radikaller de oluşabilir. Oksijen kaynaklı olanlara reaktif oksijen türleri (ROS) ve azot kaynaklı olanlara ise reaktif nitrojen türleri (RNS) denir. ROS ve RNS radikal ve radikal olmayan oksijen ve azot bileşiklerini içerirler (Tablo 2.1). Serbest radikaller organik ya da

inorganik molekül olabilirler ve pozitif yüklü, negatif yüklü ya da nötr halde bulunabilirler (Durmuş ve Ünsaldı, 2005; Bilge, 2010; Karabulut ve Gülay, 2016).

Serbest radikallerin oluşumu endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlıdır. Mitokondride elektron transport sistemi, lipid peroksidasyonu, ksantin oksidaz, inflamasyon, fagositoz, egzersiz ve iskemi endojen kaynaklardır. Ekzojen kaynaklar ise sigara kullanımı, radyasyon, ilaçlar, pestisitler, endüstriyel çözücüler ve ozon olarak sıralanabilir. Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan reaksiyonların sonucunda hücrelerde serbest radikal oluşumu sürekli olarak meydana gelmektedir. Enzimatik reaksiyonlar, solunum zincirinde, fagositozda, prostaglandin sentezinde ve sitokrom P450 sisteminde yer alırlar. Oksijen ve türlerinin organik bileşiklerle oluşturduğu reaksiyonlar ise enzimatik olmayan reaksiyonlardır (Bilge, 2010; Lobo ve diğ., 2010).

#### **2.4.2. Oksidatif Stres**

Serbest radikaller protein, DNA, karbohidrat, lipid, enzimler ve diğer molekül grupları ile reaksiyona girerek hücre metabolizmasını etkiler. Ekstraselüler matrikste hiyaluronik asit ve kollajen yapısına etki ederek dokularda hasara sebep olurlar. Membran yapısında bulunan fosfolipidlerdeki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile hücelere zarar verirler. Bu etkiler düşük düzeyde olduğunda antioksidan maddelerle etkisiz hale getirilirler. Serbest radikal üretimi vücudun bu koruyucu etkilerini aştığında dokuda yıkım başlar (Durmuş ve Ünsaldı, 2005). Serbest radikal üretimi ve antioksidan savunma sistemi arasında oluşan bu dengesizlik sonucunda oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stresle hasar gören dokular; ksantin oksidaz, siklooksijenaz gibi radikal üreten enzimlerin artışı, demir ve bakır iyonlarının salınması ya da oksidatif fosforilasyonun elektron taşıma zincirlerinin bozulması durumlarında aşırı ROS üretirler. ROS; diyabet, yaşa bağlı göz hastalığı ve Parkinson hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda meydana gelmektedir (Lobo ve diğ., 2010).

#### **2.4.3. Antioksidanlar**

Radikallerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek otooksidasyon ve peroksidasyonun ilerlemesini engelleyen maddelere antioksidan denir. Hücre ve dokular, radikal ürünlerin ve reaksiyonların biyomoleküller ve hücrenel yapılara zararının önlenmesine yönelik bir sisteme sahiptir (Dünder ve Aslan, 1999).

Antioksidan savunma etkilerini şu şekilde gösterir (Dünder ve Aslan, 1999):

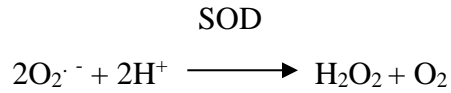
- Radikal metabolit üretiminin önlenmesi
- Üretilmiş radikallerin temizlenmesi
- Oluşan hücre hasarının onarılması
- Sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması
- Endojen antioksidan kapasitenin artırılması

Enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar, radikallerin etkisini gidermek için hücre içinde, hücre dışında ve membranda bulunurlar (Lobo ve diğ., 2010).

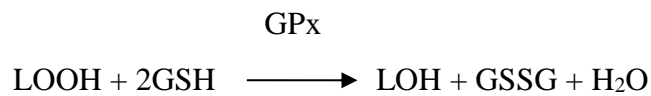
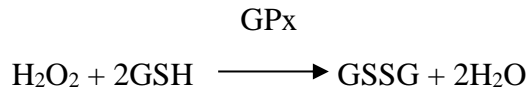
#### **2.4.3.1. Enzimatik Antioksidanlar**

Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) ve sitokrom oksidaz enzimleri enzimatik antioksidanlardır.

SOD; süperoksit anyonun oksijen ve hidrojen peroksit oluşumunu katalize eden bir selüler metaloenzimdir. SOD aktivitesi, bakır, çinko ve mangan elementleriyle ilişkilidir (Dünder ve Aslan, 1999; Lobo ve diğ., 2010).

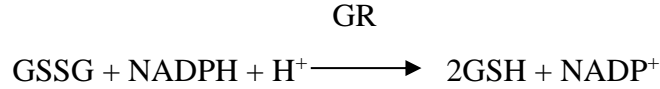


GPx; hidroperoksitlerin düşük konsantrasyonlarının giderilmesinden sorumlu dört selenyum kofaktörü içeren selüler bir enzimdir. Özellikle eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidan enzimdir (Dünder ve Aslan, 1999; Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009; Lobo ve diğ., 2010).

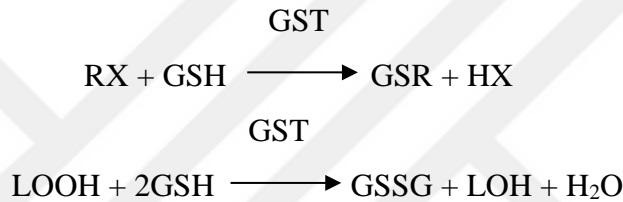


GR; GPx ile hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutatyonu (GSSG) tekrar indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüşümünü katalizler. Koenzimi nikotinamid adenin

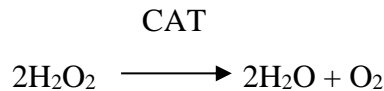
dinükleotid fosfat (NADPH) olup prostetik grubu flavin adenin dinükleotit (FAD)' tir (Shan ve diğ., 1990; Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009).



GST; indirgenmiş glutatyonun endojen ve eksojen kaynaklı çeşitli bileşiklerle konjugasyonunu katalizler ve lipid peroksitlere karşı selenyumdan bağımsız GPx aktivitesi göstererek antioksidan savunma mekanizması oluşturur (Valko ve diğ., 2006; Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009).



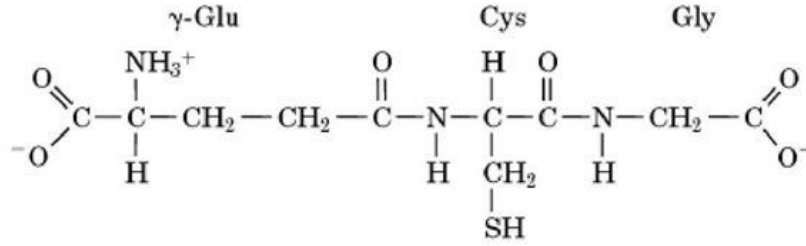
CAT; hidrojen peroksidin ve hidroksil (OH<sup>·</sup>) radikallerinin oluşumunu önlemek için bunları suya ve oksijene parçalar (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009). Katalaz, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e spesifiktir ve diğer organik peroksitlere etki etmez (Durmuş ve Ünsaldı, 2005).



#### 2.4.3.2. *Enzimatik Olmayan Antioksidanlar*

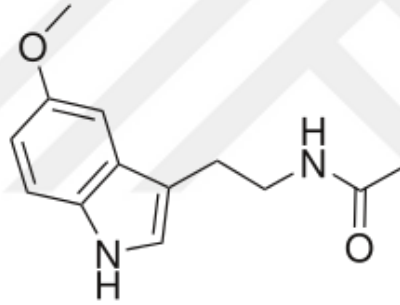
GSH, melatonin, C vitamini (askorbik asit), ürik asit, sistein, E vitamini (tokoferol), β karoten, bilirubin, ubikinon (koenzim Q), flavonoid, seruloplazmin, ferritin, transferrin ve albumindir.

GSH karaciğerde glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen ve yüksek konsantrasyonlarda bulunan bir tripeptit olup en önemli hücrenel antioksidanlardan biridir (Anderson ve Meister, 1989; Lobo ve diğ., 2010). Glutatyon, sistein kısmındaki tiyol grubunun bir indirgeyici ajan olmasından ve tersinir reaksiyon özelliği göstermesinden dolayı antioksidan özelliğe sahiptir (Lobo ve diğ., 2010).



Şekil 2.7: Glutatyon

Melatonin kimyasal olarak N-asetil-5-metoksitriptamin olarak bilinen bir hormondur. Lipofilik özellik göstermesinden dolayı kolayca hücre zarlarını aşarak geniş bir dağılım gösteren melatonin, hidroksil ve süperoksit radikallerini tutarak güçlü antioksidan etki gösterir (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009; Lobo ve diğ., 2010).



Şekil 2.8: Melatonin

C vitamini insanlarda sentezlenemediğinden dışardan alınması gereken, suda çözünebilir, tokoferöl indirgeyen ve hidroksil radikal toplayıcısı rolü olan bir vitamindir. Dihidroaskorbata dönüşerek serbest radikalleri indirir. Vücutta kollajen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir (Dündar ve Aslan, 1999; Durmuş ve Ünsaldı, 2005; Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009; Lobo ve diğ., 2010).

E vitamini yağda çözünen bir vitamindir. Membranlar dışındaki ortamlarda oldukça zayıf bir antioksidan iken, membran lipid tabakaları arasında oldukça etkili olup çözünerek peroksidasyon zincirini kırar. Membranda bulunan doymamış yağ asitlerini koruyarak hücrenin yaşamının devam etmesini sağlar (Dündar ve Aslan, 1999; Durmuş ve Ünsaldı, 2005).

A vitamininin ön maddesi olan beta karoten retina gibi bazı dokuların membranlarında yüksek miktarda birikebilir. Serbest radikal türleriyle reaksiyona girer. Singlet oksijen oluşumunu baskılar. E vitamini ile sinerjik etki gösterir. Malondialdehid (MDA) oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedir (Dündar ve Aslan, 1999; Durmuş ve Ünsaldı, 2005).

Ubikinonlar vücut tarafından sentezlendiği gibi besinlerle de alınabilen vitamin benzeri antioksidanlardır. Mitokondriyal enerji metabolizmasında görev alırlar. B<sub>3</sub> vitamini ile DNA onarımında rol almaktadırlar (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009).

Ürik asit plazmanın antioksidan özelliğinin neredeyse yarısını oluşturmaktadır. çoğunlukla metal bağlayıcı olarak çalışırken birçok radikali de toplama özelliğine sahiptir (Aydemir ve Karadağ Sarı, 2009; Lobo ve diğ., 2010).

## 2.5. PAZI (*BETA VULGARIS* L. VAR. *CİCLA*)

Pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*), ispanakgiller (Chenopodiaceae) familyasından olup tüm dünyada yaygın bir şekilde tüketilen bir sebzedir. Pazı, Akdeniz ülkelerinden dünyaya yayılmıştır. M.Ö. IV. yy.'da filozof Aristo'nun pazı ile ilgili yazılarının olduğu, Roma'luların pazıyı tıbbi bitki olarak kullandıkları bilinmektedir. Pazı Türkiye'de de Ege, Marmara ve Akdeniz bölgelerinde yetiştirilmektedir (Eşiyok ve Bozokalfa, 2007). Bitkinin yıl boyunca yetiştirilebilmesi ve maliyetinin ucuz olması sayesinde bu bitkinin yaprakları ve köklerinin yiyecek olarak da tercih edilmesini sağlamaktadır (Gao ve diğ., 2009).



Şekil 2.9: Pazı

Pazının yaprakları uzun, kuvvetli bir sapla gövdeye bağlıdır. Yaprak sapı boyuna çizgili ve etli yapıdadır, kökler ise dallıdır. Pazı, yaprakları ve sapsarı ile birlikte 40-70 cm kadar boylanır. Yapraklar düz ya da kabarcıklı yapıda olup oldukça geniştir (Vural, 2012).

Pazı A, B, C vitaminleri, kalsiyum, demir ve fosfor açısından zengin bir bitkidir. Ayrıca yapısında palmitik asit, sitrik asit, oleik asit (Omega-9), linoleik asit (Omega-6) gibi yağ asitleri ile fosfolipidleri, glikolipidleri, polisakkaridleri, saponini, pektini ve flavonoidleri bulundurmaktadır (Bolkent ve diğ., 2000).

Halk arasında karaciğer ve böbrek hastalıklarının tedavisinde, immun ve hematopoetik sistemlerin düzenlenmesinde (Kanner ve diğ., 2001) kullanılan pazı aynı zamanda organ ve doku iltihabı, ülser, hemoroid tedavisinde (Parekh ve Chanda, 2008; Rodríguez, 2011; Youssef, 2013), yumuşatıcı özellikleri ve magnezyum içeriği sayesinde, deri hastalıkları ve yanıklarında (Menale ve diğ., 2006), görme bozuklukları, kanser, migren, osteoporoz ve kalp hastalıkları tedavilerinde kullanılmaktadır (Sener ve diğ., 2002; Rao ve diğ., 2010; Ceuterick ve diğ., 2011). Ayrıca pazının antidiyabetik, antioksidan ve antiasetilkolin esteraz özelliklerinin olduğu literatürde belirtilmiştir (Sacan ve Yanardag, 2010).

Bu çalışmamızda pazı bitkisinin valproik asit ile oluşturulan beyin dokusu hasarı üzerine etkileri incelenmiştir.

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

#### 3.1. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR

Buzdolabı	: Arçelik
Derin Dondurucular	: New-Brunswick Scientific -76 °C, Beko -20 °C
Distile Su Cihazı	: Brand MonoDest 3000
Etüv	: Memmert
Homojenizatör	: Cam Homojenizatör
pH Metre:	: Beckman pH Meter H5 HANNA
Santrifüj Cihazı:	: Denley BS400
Soğutmalı Santrifüj	: Sigma 3K30
Sonikatör	: Bandelin Sonorex
Spektrofotometre	: Shimadzu UV-Vis 1240, Shimadzu UV-Visible 1700
Su Banyoları	: Clifton, Memmert
Teraziler	: Radwag AS220/C/2 Terazı, Radwag XA60/220/X Terazı, Gec Avery Terazı
Vorteks	: Fisons
Evaporatör	: Bibby Rotar Vakum Evaporatör

### 3.2. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

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

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

GPx aktivitesi tayininde, tampon çözelti için dipotasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ ; Merck A116773847), potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$ ; Merck 105101) kullanıldı. Etilendiamintetraasetik asit (EDTA  $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$ ; Merck 2604134), sodyum azid ( $NaN_3$ ; Sigma 71289), indirgenmiş glutatyon (GSH; Fluka 49750), indirgenmiş NADPH tuzu (Sigma N1630), glutatyon redüktaz (GR; Sigma G3664) ve  $H_2O_2$  (Merck 1080600) kullanıldı.

GR aktivitesi tayininde, tampon çözelti için Tris-HCl ( $C_4H_{11}NO_3HCl$ ; Merck 108387), etilendiamintetraasetik asit (EDTA  $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$ ; Merck 2604134), indirgenmiş NADPH tuzu (Sigma N1630) ve okside glutatyon (GSSG; Sigma G45776) kullanıldı.

GST aktivitesi tayininde, tampon çözelti için sekonder dipotasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ ; Merck A116773847), potasyum dihidrojen fosfat ( $KH_2PO_4$ ; Merck 105101), indirgenmiş glutatyon (GSH; Fluka 49750) ve 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB; Fluka 24440) kimyasal maddeler kullanıldı.

İleri okside protein ürünleri (AOPP) tayininde, tampon çözelti için dipotasyum hidrojen fosfat ( $K_2HPO_4$ ; Merck A116773847), potasyum iyodür (KI; Mallinckrodt TF1577), ve asetik asit ( $CH_3COOH$ ; Merck 100063) kullanıldı.

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

Sialik asit, sialik asit standartı (Fluka 01400), sodyum klorür (NaCl; Merck 106404), sülfürik asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; Merck 100713), sodyum meta periyodat (Carlo Erba 482234), sodyum meta arsenit (Fluka 71287) ve 2-tiyobarbitürik asit (TBA; Merck 108180) kullanıldı.

SOD aktivitesi tayininde, tampon çözelti için sekonder sodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; Merck 106586), potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; Merck 105101), etilendiamintetraasetik asit (EDTA C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub>.2H<sub>2</sub>O; Merck 2604134), riboflavin (Sigma 47861) ve o-dianisidin hidroklorür (Fluka 33430) kullanıldı.

Paraoksonaz (PON) aktivite tayininde, paraoksan etil (Riedel de Häen 36186), tris (hidroksimetil aminometan; Merck 108387), hidroklorik asit (HCl; Merck 100314), kalsiyum klorür (CaCl<sub>2</sub>; Merck 2386) ve sodyum klorür (NaCl; Merck 6400) kullanıldı.

Asetilkolin estera (AChE) aktivitesi tayininde, fosfat tamponu için sekonder sodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; Merck 106586), potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; Merck 105101) kullanıldı. 5,5'-ditiyo-bis-2-nitro benzoik asit (DTNB; Fluka 43760), etopropazin (Sigma E5406), asetilkolintiyoiyodür (sigma A5751) kullanıldı.

Total protein tayininde, sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; Riedel de Häen 13418), sodyum hidroksit (NaOH; Merck 6462), dipotasyum tartarat (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>K<sub>2</sub>O<sub>6</sub>.0,5.H<sub>2</sub>O; Merck 5160), bakır sülfat (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; Panreac), sodyum tungstat (Merck 106673), sodyum molibdat (Merck 6521), fosfat asidi (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; Merck 4967293), hidroklorik asit (HCl; Merck 100314), lityum fosfat (LiSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; Merck 5695), brom (Merck 1945) ve sodyum klorür (NaCl; Merck 6400) kullanıldı.

### 3.3. DENEYDE KULLANILAN SULU PAZI EKSTRESİNİN HAZIRLANMASI

Pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*), İstanbul semt pazarından temin edildi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Neriman Özhatay tarafından türünün teşhisi yapıldı. Bitki materyali destile su ile yıkanarak oda sıcaklığında gölgede kurutuldu. Kurutulan pazı yapraklarından bir balona 100 g konuldu ve üzerine 100 mL destile su ilave edildi. Karışım geri soğutucu altında 8 saat reflüks edildi. Elde edilen karışım soğuduktan sonra süzgeç kağıdından geçirilerek süzüldü. Süzüntü önceden tartılmış cam balona alındı. Balon rota evaporatöre yerleştirilerek karışımın suyu kontrollü sıcaklıkta (40-50 °C) düşük basınç altında

uzaklaştırıldı. Geriye kalan ekstre önceden tartılan krozeeye konularak 37 °C'deki etüvde içindeki su tamamen uzaklaşmıcaya kadar bekletildi. Elde edilen ekstre tartıldıktan sonra -20 °C'de muhafaza edildi. Pazı ekstresi destile suda çözüldü ve 7 gün boyunca her gün 100 mg / kg olacak şekilde sıçanlara verildi.

### **3.4. DENEY HAYVANLARI**

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.11.2014 tarihli ve 76. 2014. mar proje kodlu izni ile yapılmıştır. Çalışmada 34 adet; 5-6 aylık Sprague Dawley ırkı dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı:

1. Grup: Kontrol Grubu Sıçanlar (n=5)
2. Grup: Pazı Ekstresi Verilen Sıçanlar (n=8)
3. Grup: Valproik Asit Verilen Sıçanlar (n=8)
4. Grup: Valproik Asit ve Pazı Ekstresi Verilen Sıçanlar (n=13)

### **3.5. BEYİN HASARI OLUŞTURULMASI**

Çalışmamızda beyin hasarı oluşturmak üzere valproik asit kullanıldı, pazı ise sıçanlara VPA uygulamasından 1 saat önce koruyucu madde olarak verildi. 1. Grup (kontrol grubu) sıçanlara serum fizyolojik 7 gün süre ile intraperitoneal olarak verildi. 2. grup sıçanlara; 7 gün süreyle pazı ekstresi (100 mg/kg/gün) gavaj yolu ile verildi. 3. grup sıçanlara 7 gün süreyle valproik asit (500 mg/kg/gün) intraperitoneal olarak verildi. 4. grup sıçanlara ise aynı doz ve günde sırasıyla pazı ekstresi ve valproik asit verildi.

### **3.6. BEYİN DOKUSU ÖRNEKLERİNİN ALINMASI**

Deneyin 8. gününde, bir gece öncesinde aç bırakılan sıçanlar eter anestezisi altında kesildi ve sıçanlardan beyin dokusu örnekleri alındı. Beyin dokusu örnekleri deney gününde kullanılmak üzere -76 °C'de saklandı.

### **3.7. BEYİN DOKUSU HOMOJENİZATLARININ HAZIRLANMASI**

Beyin dokusu örnekleri tartılarak cam homojenizatörde % 0.9'luk serum fizyolojik ile homojenize edilerek % 10'luk (w/v) beyin dokusu homojenizatları hazırlandı. Homojenizat 10.000 rpm'de +4 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen beyin dokusu homojenizatları eppendorf tüplerine konularak -76 °C'de deney gününde kullanılmak üzere saklandı.

Beyin dokusundan elde edilen homojenizatlar; GSH, LPO, AOPP, PC, sialik asit, total protein seviyeleri ile GP<sub>x</sub>, SOD, GR, GST, AChE ve PON enzim aktiviteleri tayinlerini belirlemek için kullanıldı.

### **3.8. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON MİKTAR TAYİNİ**

Beyin dokusunda GSH miktarı, Ellman metoduna göre tayin edildi (Beutler, 1975). Ellman ayıracağı 5,5'-ditiyo-bis-2-nitro benzoik asit (DTNB) ile sülfhidril gruplarının reaksiyonu ile oluşan ürünün absorbansı 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

#### **Çözeltiler**

##### **Çöktürme Çözeltisi**

1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTANA<sub>2</sub> veya EDTAK<sub>2</sub> ve 30 g NaCl, distile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı. Çözelti +4 °C'de 3 hafta dayanıklıdır.

##### **Sodyum Sitrata Çözeltisi (% 1)**

1 g sodyum sitrat tartıldı. Az miktarda distile suda çözülerek hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı. Belirtme reaktifi hazırlanırken bu çözelti kullanıldı.

##### **Belirtme Reaktifi (Ellman Ayıracağı) (% 40 mg DTNB)**

20 mg DTNB hazırlanan % 1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü ve hacmi 50 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti +4 °C'de 13 hafta dayanıklıdır.

##### **Sekonder Sodyum Fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) Çözeltisi (0.3 M)**

10.65 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> distile suda çözülerek hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

### Glutasyon Standart Çözeltisi

100 mg GSH distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Glutasyon standart eğrisi çizilmek üzere % 2, 4, 6, 8, 10 mg glutasyon içeren standart çözeltiler hazırlandı.

### Deneyin Yapılışı

0.5 mL beyin dokusu homojenizatı ve 0.75 mL çöktürme çözeltisi karıştırıldı. Bu karışım 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar alındı ve çökelti atıldı.

Çözeltiler tabloda belirtilen miktarlarda alınarak numune, kör ve standart tüpleri hazırlandı.

Çözeltiler	Numune	Standart	Kör
Süpernatant	0.5 mL	---	---
Distile Su	---	---	0.5 mL
Çalışma Standart Çözeltisi	---	0.5 mL	---
Sekonder Sodyum Fosfat	2 mL	2 mL	2 mL
Belirtme Reaktifi (DTNB)	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL

Tüpler vortekste karıştırıldı ve 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi. 412 nm'de köre karşı okunan absorbans değerleri kaydedildi. Aşağıdaki formüle göre glutasyon miktar tayini hesaplandı.

$$\text{Doku glutasyonu (GSH)} = N_{\text{abs}} / \text{Std}_{\text{abs}} \times A \times 2.5 / 307.3 \times 10^6 / P$$

$N_{\text{abs}}$ : Numunenin absorbans değeri

$\text{Std}_{\text{abs}}$ : Standardın absorbans değeri

A: % mg standart konsantrasyonu

P: % mg doku protein miktarı

### 3.9. BEYİN DOKUSUNDA LİPİD PEROKSİDASYONU TAYİNİ

Beyin dokusunda LPO miktarı Ledwozyw metoduna göre spektrofotometrik yöntemle tayin edildi (Ledwozyw ve diğ., 1986). LPO ürünleri olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA)

arasındaki reaksiyonuna bağlı oluşan rengin absorbansı spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okundu.

### **Kullanılan Çözeltiler**

#### **HCl Çözeltisi (0.6 M)**

250 mL HCl çözeltisi için, bir miktar distile su bulunan balon jojenin içerisine 12.2 mL derişik HCl ilave edildi. Bu çözelti triklorasetik asit çözeltisi hazırlanmasında kullanıldı.

#### **Triklorasetik Asit (TCA) Çözeltisi (1.22 M)**

49.83 g TCA tartılarak 0.6 M HCl'de çözüldü ve hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

#### **NaOH Çözeltisi (1 M)**

1 g NaOH distile suda çözüldü ve hacmi 25 mL'ye tamamlandı.

#### **TBA Çözeltisi (0.047 M)**

500 mg TBA 6 mL 1 M NaOH ve 69 mL distile suda çözüldü.

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

0.1 mL 1,1,3,3-tetra etoksi propana distile su eklenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

#### **n-Butanol**

Direkt orijinal şişesinden kullanıldı.

#### **Deneyin Yapılışı**

Numune, standart ve kör tüpleri tablodaki gibi hazırlandı.

Çözeltiler	Numune	Standart	Kör
Doku Homojenizatı	0.5 mL	---	---
Triklorasetik Asit Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL

Tüpler vortekste karıştırılıp 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

Standart Çözeltisi	---	0.5 mL	---
Distile Su	---	---	0.5 mL
Tiyobarbitürik Asit Çözeltisi	0.75 mL	0.75 mL	0.75 mL

Numune, standart ve kör tüpleri yukarıdaki gibi hazırlandı ve çözeltiler vorteksle iyice karıştırıldı. Tüplerin ağızlarına bilye kapatılarak kaynar su banyosunda 30 dakika bekletildi. Tüpler soğutuldu ve 2 mL n-butanol eklendi. Tüpler belirli sürede alt üst edildikten sonra 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edildi. Butanol fazı alınarak 532 nm'de absorbans köre karşı okundu. Beyin dokusundaki LPO miktarı aşağıdaki formül ile yardımıyla hesaplandı.

$$\text{LPO miktarı (nmol MDA/mg protein)} = (N_{\text{abs}}/St_{\text{abs}}) \times 4.4/P \times 100$$

4.4: Standart çözeltisi (nmol/mL TEP)

P: % mg cinsinden doku protein miktarı

$N_{\text{abs}}$ : Numunenin absorbans değeri

$Std_{\text{abs}}$ : Standardın absorbans değeri

### 3.10. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Beyin dokusundaki GPx aktivitesi, Wendel (2003) metoduna göre tayin edildi. GPx, GSH'ın  $H_2O_2$  varlığında okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini sağlar. Oluşan GSSG, NADPH'nın NADP'ye yükseltgenmesi sonucu GSH'ya dönüşür. Bu yükseltgeme ile oluşan absorbans azalışı spektrofotometrik olarak ölçüldü.

#### Kullanılan Çözeltiler

##### Potasyum Fosfat Tamponu (0.25 M)

4.35 g  $K_2HPO_4$  distile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı. 3.4 g  $KH_2PO_4$  distile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı. pH 7.0 tamponunu hazırlamak için 6 hacim

$K_2HPO_4$  ve 4 hacim  $KH_2PO_4$  karıştırıldı. pH 7.0 olarak hazırlanan bu tampon çözeltiye 0.093 g EDTA (2.5 mM) ve 0.0162 g  $NaN_3$  (2.5 mM) ilave edildi.

### GSH Çözeltisi (10 mM)

0.003 g GSH distile su ile çözülerek 1 mL'ye tamamlandı. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

### NADPH Çözeltisi (2,5 mM)

0.002 g NADPH distile su ile çözülerek 1 mL'ye tamamlandı. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

### Glutatyon Redüktaz Çözeltisi (6 U/mL)

0.89  $\mu$ L glutatyon redüktaz 1mL fosfat tamponu (0.25 M, pH 7.0) ile seyreltilir. Deneyden hemen önce hazırlanır.

### $H_2O_2$ Çözeltisi (12 mM)

10  $\mu$ L % 35'lik  $H_2O_2$  distile su ile 10 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

### Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Kör	Numune
Fosfat Tamponu	600 $\mu$ L	400 $\mu$ L
Doku Homojenizatu	---	200 $\mu$ L
GSH Çözeltisi	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
NADPH Çözeltisi	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
Glutatyon Redüktaz Çözeltisi	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
$H_2O_2$ Çözeltisi	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L

Kör ve numunelere  $H_2O_2$  ilave edilip karıştırıldıktan hemen sonra 366 nm'de 5 dakika boyunca dakikada bir, absorbans değerlerindeki azalma kaydedildi. Bu deney için hesaplanmış ekstinksiyon katsayısı 6.22 mM'dır. GPx aktivitesi (U/mg protein dk.) cinsinden hesaplandı.

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

$\Delta\text{OD}$ : Absorbans farkı

$V_T$ : Toplam çözelti hacmi

$V_Ö$ : Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

### **3.11. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON REDÜKTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ**

Yöntemin esası, okside glutatyonun GR ile indirgenmesi sırasında yükseltgenen NADPH oranının hesaplanmasına dayanır (Beutler, 1971).

#### **Kullanılan Çözeltiler**

##### **HCl Çözeltisi (50 mM)**

2.5 mL 1 M HCl çözeltisi distile su ile 50 mL'ye seyreltili.

##### **Tris Çözeltisi (50 mM)**

0.61 g Tris distile suda çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

##### **Tris-HCl Tamponu (50 mM, pH 8.0)**

50 mM Tris çözeltisinden 29 mL alındı ve üzerine 50 mL 50 mM HCl çözeltisinden ilave edildi. pH 8.0'e ayarlandıktan sonra distile su ile hacim 100 mL'ye tamamlandı.

##### **EDTA (1 mM)'lı Fosfat Tamponu**

0.037 g EDTA- $Na_2 \cdot 2H_2O$  Tris-HCl tamponu ile çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

##### **NADPH Çözeltisi (2 mM)**

1.6 mg NADPH 1 mL Tris-HCl tamponu ile çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

**GSSG Çözeltisi (20 mM)**

12.4 mg GSSG 1 mL Tris-HCl tamponu ile çözöldü. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

**Deneyin Yapılışı**

Numune ve kör tüpleri tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Deney Tamponu	870 µL	900 µL
NADPH Çözeltisi	50 µL	50 µL
GSSG Çözeltisi	50 µL	50 µL
Doku Homojenizatı	30 µL	---

Örnek absorbands değeriindeki azalma köre karşı, 5 dakika boyunca 340 nm’de ölçöldü ve dakikadaki absorbands değişimi saptandı.

Her bir örnek için GR aktivitesi, bu deneyde NADPH için belirlenmiş absorbsiyon katsayısı 6.22 olarak kullanıldı ve yapılan seyreltmeler göz önüne alınarak, ünite/g protein olarak hesaplandı.

$$\text{GR aktivitesi (U/g protein)} = [(\Delta\text{OD}/\text{dk}) / 6.22 \times (V_T/V_ö) \times f] / \text{g protein}$$

$\Delta\text{OD}$ : Absorbans farkı

$V_T$ : Toplam çözelti hacmi

$V_ö$ : Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

**3.12. BEYİN DOKUSUNDA GLUTATYON-S-TRANSFERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ**

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

## Kullanılan Çözeltiler

### Potasyum Fosfat Tamponu (0.2 M, pH 6.5)

3.4836 g  $K_2HPO_4$  distile suda çözüldü ve hacim 100 mL'ye tamamlandı. 2.7218 g  $KH_2PO_4$  distile suda çözüldü ve son hacim 100 mL'ye distile su ile tamamlandı. pH 6.5 tamponu için 3 hacim  $K_2HPO_4$  ve 7 hacim  $KH_2PO_4$  çözeltisinden alınarak karıştırıldı.

### GSH Çözeltisi (60 mM)

18.4 mg GSH 1 mL distile suda çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

### 1-Kloro-2,4-Dinitrobenzen (CDNB) Çözeltisi (60 mM)

12.2 mg CDNB 1 mL mutlak alkolde çözüldü. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

## Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Homojenizat	0.5 mL	---
200 mM Potasyum Fosfat Tamponu pH 6.5	1.5 mL	1.5 mL
60 mM GSH Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
60 mM CDNB Çözeltisi	0.05 mL	0.05 mL
Distile su	0.9 mL	1.4 mL

Hazırlanan örneklerin absorbans değerlerindeki artış köre karşı 3 dakika boyunca okundu.

GST aktivitesi (U/mg protein) cinsinden hesaplanır.

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

$\Delta\text{OD}$ : Absorbans farkı

f: Seyreltme faktörü

### 3.13. BEYİN DOKUSUNDA İLERİ OKSİDE PROTEİN ÜRÜNLERİ TAYİNİ

Beyin dokusu AOPP düzeyleri Witko - Sarsat ve diğ. (1996)' nin kullandıkları yöntemle göre belirlendi.

#### Kullanılan Çözeltiler

##### Potasyum Fosfat Tamponu (20 mM, pH 7.4)

0.7 g  $K_2HPO_4$  distile suda çözüldü ve hacmi 200 mL'ye tamamlandı. 0.54 g  $KH_2PO_4$  distile suda çözüldü ve hacmi 200 mL'ye tamamlandı. pH 7.4 tamponunu hazırlamak için 8 hacim  $K_2HPO_4$  ve 2 hacim  $KH_2PO_4$  karıştırıldı.

##### Potasyum İyodür (KI) Çözeltisi (1.16 M)

0.19 g KI distile suda çözülerek hacmi 1 ml'ye tamamlandı.

##### Asetik asit

Derişik asetik asit çözeltisi kullanıldı.

#### Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Çözeltiler	Örnek	Kör
Potasyum Fosfat Tamponu	1600 $\mu$ L	2000 $\mu$ L
Doku Homojenizati	400 $\mu$ L	---
Potasyum İyodür	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L

Çalkalanır, spektrofotometrede küvetin içinde 2 dakika bekletilir.

Asetik Asit	200 $\mu$ L	200 $\mu$ L
-------------	-------------	-------------

Hemen karıştırılarak 340 nm'de absorbans ölçüldü.

$$\text{AOPP miktarı (mmol / g protein)} = [(\text{Abs} / 261) \times (V_K / V_{\text{Ö}}) \times f] / \text{g protein}$$

Abs: Absorbans değeri

$V_K$ : Küvetin hacmi

$V_0$ : Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

### 3.14. BEYİN DOKUSUNDA PROTEİN KARBONİL MİKTAR TAYİNİ

Doku protein karbonil miktarı, spektrofotometrik olarak 2,4-dinitrofenilhidrazinin karbonil gruplarıyla reaksiyona girerek 2,4-dinitrofenilhidrazonu oluşturmasına bağlı olarak belirlenir. 2,4-dinitrofenil hidrazin, metal katalizli oksidasyona uğramış olan proteinler için bir belirteçtir (Levine ve diğ., 1990).

#### Kullanılan Çözeltiler

##### **HCl Çözeltisi (2.5 M)**

101.6 mL derişik HCl'in hacmi destile su ile 500 mL'ye tamamlandı.

##### **2,4-Dinitrofenil Hidrazin (DNPH) Çözeltisi (10 mM)**

0.4954 g DNPH 2.5 M HCl'de çözüldü ve hacmi HCl ile 250 mL'ye tamamlandı.

##### **Triklorasetik asit (TCA) Çözeltisi (% 20)**

50 g TCA distile suda çözümlenerek hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

##### **Guanidin Hidroklorür Çözeltisi (6 M)**

57.318 g guanidin hidroklorür distile suda çözümlenerek hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

##### **Etanol-Etil asetat (1:1)**

100 mL etanol ile 100 mL etil asetat karıştırıldı.

#### **Deneyin Yapılışı**

Numune ve kör tüpleri tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Reaktifler	Numune	Kör
Homojenizat	0.5 mL	0.5 mL
DNPH çözeltisi	2 mL	---
HCl Çözeltisi	---	2 mL

Tüpler bir saat oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edildi. 15 dakikada bir vorteksle karıştırıldı.

TCA Çözeltisi	2.5 mL	2.5 mL
---------------	--------	--------

Tüpler 5 dakika buzun içinde bekletildi ve santrifüj edildi. Üst kısım atıldı, çökelti 3 kez 2 mL etanol, etil asetat (1:1) karışımı ile yıkandı. Son çökelti 1 mL guanidin hidroklorür ile muamele edildi ve 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Örneklerin 370 nm'de köre karşı absorbans değerleri okundu. Beyin dokusunda protein karbonil miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

Protein karbonil (nmol protein karbonil/mg protein) = Abs $\times$ 90.9/mg protein

Abs: Absorbans değeri

### 3.15. BEYİN DOKUSUNDA SIALİK ASİT TAYİNİ

Beyin dokusunda sialik asit miktarı Lorentz metoduna göre tayin edildi (Lorentz ve diğ., 1986). Periyodik asit oksidasyonu sonucu oluşan  $\beta$ -formil pürivik asit 2 mol TBA ile reaksiyona girerek, 546 nm'de maksimum absorbans veren renkli bir bileşik oluşturur. Bu ürün kararlı olmadığından sikloheksanon fazına çekilir.

#### Kullanılan Çözeltiler

##### Sialik Asit Standardı (1.617 mM)

0.005 g sialik asit distile suda çözülerek 10 mL'ye tamamlandı.

##### Sodyum Klorür (NaCl) Çözeltisi (155 mM)

0.905 g NaCl distile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlandı.

##### Sülfürik Asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) Çözeltisi (67 mM)

0.356 mL derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 100 mL'ye tamamlandı.

### Sodyum Meta Periyodat Çözeltisi (0.2 M)

4.277 g sodyum meta periyodat tuzu, 9 M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> çözeltisi ile çözülerek hacmi bu çözeltiyle 100 mL'ye tamamlandı.

### Sodyum Meta Arsenit Çözeltisi (1.54 M)

20 g sodyum meta arsenit 7.102 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tuzu ile 0.266 mL / 100 mL'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi ile çözülerek hacmi bu çözeltiyle 100 mL'ye tamamlandı.

### TBA Çözeltisi

0.533 g TBA, 7.102 g / 100 mL 'lik Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisi içinde çözülür.

### Deneyin Yapılışı

Numune, standart ve kör tüpleri tablodaki gibi hazırlandı.

Çözeltiler	Kör	Numune	Standart
Doku Homojenizatu	---	10 µL	---
Distile Su	10 µL	---	---
Standart	---	---	10 µL
NaCl	100 µL	100 µL	100 µL
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	300 µL	300 µL	300 µL

80 °C' de 60 dakika bekletilir ve oda sıcaklığında su ile soğutulur.

Sodyum Meta Periyodat	100 µL	100 µL	100 µL
-----------------------	--------	--------	--------

20 dakika oda sıcaklığında bekletilir.

Sodyum Meta Arsenit	400 µL	400 µL	400 µL
---------------------	--------	--------	--------

İyodun rengi gidinceye kadar karıştırılır.

TBA	1 mL	1 mL	1 mL
-----	------	------	------

15 dakika 90 °C' de kaynatılır ve oda sıcaklığında soğutulur.

Sikloheksanon	2 mL	2 mL	2 mL
---------------	------	------	------

Tüpler 10 dakika santrifüj edildikten sonra absorbansları 546 nm' de köre karşı okunur.

Sialik asit miktarı (mmol/mg protein) =  $[(N_{\text{abs}} \times 1.617) / \text{Std}_{\text{abs}}]$

$N_{\text{abs}}$ : Numunenin absorbans değeri

$\text{Std}_{\text{abs}}$ : Standardın absorbans değeri

### **3.16. BEYİN DOKUSUNDA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ**

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

#### **Kullanılan Çözeltiler**

##### **Sodyum-Potasyum Fosfat Deney Tamponu (50 mM, pH 7.8)**

1.419 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> distile suda çözüldü ve hacmi 200 mL'ye tamamlandı. 1.360 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> distile suda çözülerek hacmi 200 mL'ye tamamlandı. 9 hacim Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 1 hacim KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> karıştırılarak pH 7.8 olan tampon çözelti hazırlandı.

##### **Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) (0.1 mM)**

0.0074 g EDTA tartıldı ve pH 7.8 olan 50 mM 200 mL sodyum-potasyum fosfat tamponu içinde çözüldü.

##### **Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (10 mM, pH 7.5)**

0.142 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> distile suda çözüldü ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı. 0.136 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> distile suda çözüldü ve son hacim 100 mL'ye tamamlandı. 8 hacim Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 2 hacim KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.5 olan tampon çözeltiyi hazırlamak için karıştırıldı.

##### **Riboflavin Çözeltisi (0.2 mM)**

7.3 mg riboflavin, 10 mM pH 7.5 olan sodyum-potasyum fosfat tamponu ile çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

##### **o-Dianisidin Hidroklorür Çözeltisi**

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

### **Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (100 mM, pH 7.5)**

0.709 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> distile suda çözüldü ve son hacim 50 mL'ye tamamlandı. 0.680 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> distile suda çözüldü ve son hacim 50 mL'ye tamamlandı. 8 hacim Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 2 hacim KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.5 olan tampon çözeltiyi hazırlamak için karıştırıldı.

### **SOD (120 IU /mL) Stok Standardı**

Liyofilize SOD standardı 120 IU/mL olacak şekilde, 100 mM pH 7.5 olan sodyum-potasyum fosfat tamponu ile çözüldü. Daha sonra bu stok standarttan uygun hacimler alınarak 2, 4, 6, 8, 10 ünite olacak şekilde SOD standart çözeltileri hazırlandı. Aşağıdaki tabloda belirtilen şekilde, standartların absorbins değerleri 460 nm'de okundu. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbins değerleriyle standart grafik eğrisi çizildi.

### **Deneyin Yapılışı**

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

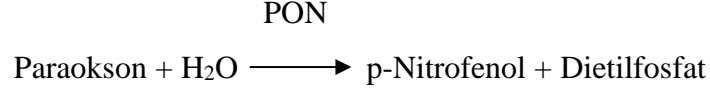
<b>Reaktifler</b>	<b>Kör</b>	<b>Standart</b>	<b>Numune</b>
<b>50 mM pH 7.8 Sodyum-Potasyum Fosfat Tampon Çözeltisi</b>	2.7 mL	2.6 mL	2.6 mL
<b>o-Dianisidin Çözeltisi</b>	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
<b>Standart</b>	---	0.1 mL	---
<b>Doku Homojenizatu</b>	---	---	0.1 mL
<b>Riboflavin Çözeltisi</b>	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL

Tüpler vortekte karıştırıldı. Tüplerdeki çözeltilerin ilk absorbins değerleri spektrofotometrede 460 nm'de okundu. Daha sonra bu çözeltiler floresans ışıkta 8 dakika bekletildi; çözeltilerin 460 nm'de köre karşı ikinci absorbins değerleri okundu.

Yapılan seyreltmeler dikkate alınarak doku homojenizatının SOD aktivitesi standart grafik yardımıyla (U/mg protein, dk) cinsinden hesaplanarak tayin edildi.

### 3.17. BEYİN DOKUSUNDA PARAOKSONAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

Yöntemin esas, substrat olarak kullanılan paraoksonun o,o-dietil-o- (p-nitrofenil) fosfat PON tarafından hidrolizi sonucu açığa çıkan p-nitrofenol miktarının ölçülmesidir (Furlong ve diğ., 1988).



#### Kullanılan Çözeltiler

##### HCl Çözeltisi (0.132 M)

3.3 mL 1 M HCl alınarak hacmi 25 mL distile su ile tamamlandı.

##### Tris-HCl Tamponu (0.132 M)

1.6 g Tris bir miktar distile suda çözüldükten sonra 0.132 M HCl ile pH 8.5'e ayarlandı ve hacmi 100 mL'ye distile su ile tamamlandı. 1.32 mM CaCl<sub>2</sub> ve 2.63 mM NaCl hazırlanan tampon çözelti içinde çözüldü.

##### Paraoksonaz Substratı (6 mM)

120 mM stok çözelti için 0.016512 g paraokson-etil 0.5 mL asetonda çözüldü. Bu stok çözelti 1/20 oranında Tris-HCl pH 8.5 tamponu ile seyreltilerek paraoksonaz substratı (6 mM) hazırlandı. Çözelti deneyden hemen önce hazırlandı.

#### Deneyin Yapılışı

Numune ve kör tüpleri tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Çözeltiler	Örnek	Kör
Tris-HCl	760 µL	800 µL
Süpernatant	40 µL	---
Paraoksonaz Substratı	200 µL	200 µL

Tüpler 37 °C'de 5 dakika bekletildi. Örneklerin 405 nm'de köre karşı absorbansı değeri ölçüldü. Her bir örnek için PON aktivitesi absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı.

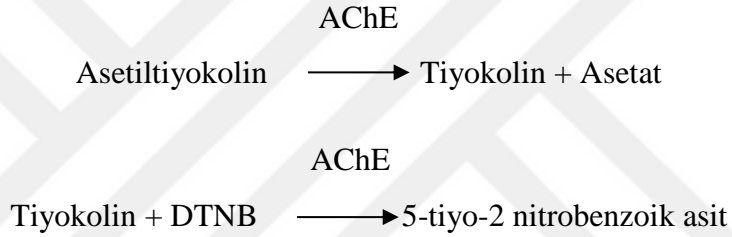
PON Aktivitesi (U/L) =  $A/dk \times 1.36.10^3$

PON Spesifik Aktivitesi (U/mg protein) = PON aktivitesi/ mg protein

A: Absorbans değeri

### 3.18. BEYİN DOKUSUNDA ASETİLKOLİN ESTERAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

AChE, asetiltiyokolinin tiyokolin ve asetata parçalanmasını katalizleyen bir enzimdir. AChE aktivitesi, tiyokolin ile DTNB arasındaki reaksiyon sonucunda oluşan 5-tiyo-2-nitrobenzoik asidin verdiği sarı rengin yoğunluğunun 412 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle belirlenmektedir (Ellman ve diğ., 1961).



#### Kullanılan Çözeltiler

##### Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (0.1 M, pH 8.0)

1.42 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  bir miktar destile suda çözülerek son hacmi 100 mL’ye distile su ile tamamlandı. 1.36 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  distile suda çözüldü ve son hacim 100 mL’ye distile su ile tamamlandı. pH 8.0 tamponu hazırlamak için 9.5 hacim  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve 0.5 hacim  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  karıştırıldı.

##### Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu (0.1 M, pH 7.0)

0.71 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  bir miktar destile suda çözülerek son hacmi 50 mL’ye distile su ile tamamlandı. 0.68 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  distile suda çözüldü ve son hacim 50 mL’ye distile su ile tamamlandı. pH 7.0 tamponu hazırlamak için 6 hacim  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve 4 hacim  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  karıştırıldı.

##### DTNB Çözeltisi (Ellman Reaktifi) (0.01M)

0.02 g DTNB 0.1 M pH 7.0 tamponunda çözülerek hacmi 5 mL’ye tamamlandı.

**Etopropazin ( $8.52 \times 10^{-3} \text{ M}$ )**

0.015 g etopropazin distile suda çözülerek hacmi 5 mL'ye tamamlandı.

**Asetilkolintiyoyodür (0.015 M)**

8.6 mg asetilkolintiyoyodür tartılarak hacmi 2 mL'ye tamamlandı.

**Deneyin Yapılışı**

Numune ve kör tüpleri tabloda belirtildiği gibi hazırlandı.

Çözeltiler	Örnek	Kör
<b>Sodyum-Potasyum Fosfat Tamponu</b>	2550 $\mu\text{L}$	2700 $\mu\text{L}$
<b>Doku Homojenizatı</b>	200 $\mu\text{L}$	200 $\mu\text{L}$
<b>DTNB</b>	100 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$
<b>Etopropazin</b>	50 $\mu\text{L}$	---

Çalkalanır, 30  $^{\circ}\text{C}$ ' de 5 dakika inkübe edilir.

<b>Asetilkolintiyoyodür</b>	100 $\mu\text{L}$	---
-----------------------------	-------------------	-----

Örnek ve kör tüplerinin 412 nm'de 0. ve 5. dakikalardaki absorbanları ölçüldü. Aşağıdaki formül ile AChE aktivitesi hesaplandı.

$$\text{AChE spesifik aktivite (U/mg protein)} = [(\Delta\text{OD/dk}) \times (V_T/V_Ö) \times 13.6 \times f] / \text{mg protein}$$

$\Delta\text{OD}$ : Absorbans farkı

$V_T$ : Toplam çözelti hacmi

$V_Ö$ : Örnek hacmi

f: Seyreltme faktörü

**3.19. BEYİN DOKUSUNDA PROTEİN MİKTAR TAYİNİ**

Yöntem, alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona sokulan proteinlerin Folin ayırıcı ile indirgenmesi sonucu oluşan mavi rengin şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır (Lowry ve diğ., 1951).

## Kullanılan Çözeltiler

### A Reaktifi (% 2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)

2 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> tartılarak 0.1 N NaOH çözeltisi ile çözüldü ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

### B Reaktifi (% 0.5 CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O)

0.05 g CuSO<sub>4</sub>. 5H<sub>2</sub>O tartılarak % 1 dipotasyum tartarat çözeltisi ile çözüldü ve hacmi 10 mL'ye tamamlandı. Bu çözelti her gün taze olarak hazırlandı.

### C Reaktifi

Alkali sodyum karbonat çözeltisinin 50 mL'sine 1 mL bakır sülfat çözeltisi eklenerek hazırlandı. Bu çözelti yarım saat içinde bozulduğu için her kullanışta tekrar hazırlandı.

### E Reaktifi (Folin Reaktifi)

1500 mL'lik Florence balonuna 100 g sodyum tungstat, 25 g sodyum molibdat, 700 mL distile su, 50 mL % 85'lik fosfat asidi ve 100 mL derişik HCl konularak geri soğutucu altında 10 saat kaynatıldı. Üzerine 150 g LiSO<sub>4</sub>, 50 mL distile su ve birkaç damla brom ilave edildi. Bromun fazlasını uzaklaştırmak için 15 dakika daha kaynatıldı, soğutuldu ve distile su ile son hacim 1 L'ye tamamlandı. (Bu stok Folin reaktifidir, deneylerde kullanılırken 1:2 oranında distile su ile seyreltilerek kullanıldı).

Beyin dokusunda spektrofotometrik olarak total protein miktarını tayin etmek için % 100 mg albumin içeren stok çözelti hazırlandı. Serum fizyolojik ile seyreltmeler yapılarak % 2, 4, 6, 8, 10 mg albumin içeren çalışma standardı çözeltileri hazırlandı.

## Deneyin Yapılışı

Kör, numune ve standart tüpleri tabloda belirtildiğı gibi hazırlandı.

Çözeltiler	Kör	Numune	Standart
Standart Çözeltisi	---	---	0.5 mL
Süpernatant	---	0.5 mL	---
Serum Fizyolojik	0.5 mL	---	---
C Reaktifi	2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL

Tüpler vortekste karıştırıldı ve oda sıcaklığında 10 dakika beklendi.

<b>E Reaktifi</b>	0.25 mL	0.25 mL	0.25 mL
-------------------	---------	---------	---------

Tüpler vortekste karıştırıldı. 30 dakikanın sonunda spektrofotometrede 500 nm dalga boyunda köre karşı absorbanları okundu. Standart eğri yardımıyla numunenin % mg protein cinsinden miktarı hesaplandı.

## 4. BULGULAR

Çalışmada, VPA ile oluşturulan beyin hasarına pazının etkilerini belirlemek amacıyla sıçanların beyin doku örneklerinde biyokimyasal parametreler incelendi ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4’de verildi.

Beyin dokusundaki GSH ve LPO değerleri Tablo 4.1’ de verildi.

**Tablo 4.1:** Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin GSH ve LPO değerleri.

Grup	GSH (nmol GSH/mg protein)*	LPO (nmol MDA/mg protein)*
<b>Kontrol</b>	20.91 ± 4.02	3.30 ± 0.65
<b>Kontrol + pazı</b>	30.23 ± 5.93	3.30 ± 1.06
<b>VPA</b>	33.62 ± 7.58 <sup>a</sup>	4.90 ± 0.61 <sup>c</sup>
<b>VPA + pazı</b>	27.25 ± 4.15 <sup>b</sup>	2.98 ± 0.89 <sup>d</sup>
<b>P<sub>ANOVA</sub></b>	0.021	0.007

\*Ortalama ±SD

<sup>a</sup> $p < 0.05$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup> $p < 0.05$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>c</sup> $p < 0.01$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>d</sup> $p < 0.01$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun GSH değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında Kontrol + pazı grubunun GSH değerlerinin arttığı, VPA verilen grubun GSH değerleri ile kontrol grubu değerleri karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun GSH değerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4.1). Elde edilen sonuçlardan kontrol, kontrol + pazı, VPA ve VPA + pazı gruplarının GSH değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.021$ ).

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun LPO değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun LPO değerlerinin anlamsız olduğu, VPA verilen grubun LPO değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi

( $p < 0.01$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun LPO değerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p < 0.01$ ) (Tablo 4.1). Dört grubun beyin dokusunun LPO değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.007$ ).

Beyin dokusundaki GPx, GR ve GST aktivite değerleri Tablo 4.2' de verildi.

**Tablo 4.2:** Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin GPx, GR ve GST aktivite değerleri.

Grup	GPx (U/mg protein)*	GR (U/g protein)*	GST (U/mg protein)*
Kontrol	8.70 ± 0.70	15.72 ± 2.05	0.157 ± 0.02
Kontrol + pazı	8.47 ± 1.23	12.51 ± 1.28	0.145 ± 0.03
VPA	10.22 ± 1.16 <sup>a</sup>	22.55 ± 4.17 <sup>a</sup>	0.197 ± 0.02 <sup>a</sup>
VPA + pazı	8.36 ± 1.33 <sup>b</sup>	13.70 ± 1.28 <sup>c</sup>	0.178 ± 0.02
$P_{ANOVA}$	0.027	0.0001	0.009

\*Ortalama ±SD

<sup>a</sup> $p < 0.05$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup> $p < 0.05$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>c</sup> $p < 0.0001$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun GPx aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun GPx aktivite değerlerinin azaldığı, VPA verilen grubun GPx aktivite değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun GPx aktivite değerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4.2). Dört grubun beyin dokusunun GPx aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.027$ ).

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun GR aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun GR aktivite değerlerinin azaldığı, VPA verilen grubun GR aktivite değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle

karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun GR aktivite değerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p<0.0001$ ) (Tablo 4.2). Dört grubun beyin dokusunun GR aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ).

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun GST aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun GST aktivite değerlerinin azaldığı, VPA verilen grubun GST aktivite değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun GST aktivite değerlerinin anlamsız olarak azaldığı görüldü (Tablo 4.2). Dört grubun beyin dokusunun GST aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.009$ ).

Beyin dokusundaki AOPP, PC ve sialik asit değerleri Tablo 4. 3' de verildi.

**Tablo 4.3:** Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin AOPP, PC ve sialik asit değerleri.

Grup	AOPP (mmol/g protein)*	PC (nmol karbonil/mg protein)*	Sialik Asit (mmol/mg protein)*
<b>Kontrol</b>	0.82 ± 0.26	4.36 ± 1.02	0.013 ± 0.002
<b>Kontrol + pazı</b>	0.79 ± 0.05	4.60 ± 0.84	0.016 ± 0.002
<b>VPA</b>	1.78 ± 0.13 <sup>a</sup>	5.91 ± 0.82 <sup>c</sup>	0.020 ± 0.002 <sup>a</sup>
<b>VPA + pazı</b>	0.59 ± 0.07 <sup>b</sup>	4.08 ± 0.79 <sup>d</sup>	0.537 ± 0.438 <sup>e</sup>
<b>P<sub>ANOVA</sub></b>	0.0001	0.004	0.002

\*Ortalama ±SD

<sup>a</sup> $p<0.0001$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup> $p<0.0001$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>c</sup> $p<0.05$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>d</sup> $p<0.001$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>e</sup> $p<0.01$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun AOPP değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun AOPP değerlerinin azaldığı, VPA verilen grubun AOPP değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi

( $p<0.0001$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun AOPP değerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p<0.0001$ ) (Tablo 4.3). Dört grubun beyin dokusunun AOPP değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ).

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun PC değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında Kontrol + pazı grubunun PC değerlerinin arttığı, VPA verilen grubun PC değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun PC değerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p<0.001$ ) (Tablo 4.3). Dört grubun beyin dokusunun PC değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.004$ ).

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun sialik asit değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun sialik asit değerlerinin arttığı, VPA verilen grubun sialik asit değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p<0.0001$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun sialik asit değerlerinin anlamlı olarak arttığı görüldü ( $p<0.01$ ) (Tablo 4.3). Dört grubun beyin dokusunun sialik asit değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.002$ ).

Beyin dokusundaki SOD, PON ve AchE aktivite değerleri Tablo 4. 4' de verildi.

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun SOD aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun SOD aktivite değerlerinin azaldığı, VPA verilen grubun SOD aktivite değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ( $p<0.05$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun SOD aktivite değerlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü ( $p<0.001$ ) (Tablo 4.4). Dört grubun beyin dokusunun SOD aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.002$ ).

**Tablo 4.4:** Deney ve kontrol grubu sıçanların beyin SOD, PON ve AChE değerleri.

Grup	SOD (U/mg protein)*	PON (U/mg protein)*	AChE (U/mg protein)*
Kontrol	3.09 ± 0.06	4.19 ± 1.35	3.92 ± 1.59
Kontrol + pazı	2.40 ± 0.56	3.21 ± 1.48	0.47 ± 0.37
VPA	3.62 ± 0.33 <sup>a</sup>	2.88 ± 0.55 <sup>a</sup>	1.11 ± 0.84 <sup>d</sup>
VPA + pazı	2.56 ± 0.42 <sup>b</sup>	5.18 ± 0.77 <sup>c</sup>	2.55 ± 1.07 <sup>e</sup>
P <sub>ANOVA</sub>	0.002	0.0001	0.0001

\*Ortalama ±SD

<sup>a</sup> $p < 0.05$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.<sup>b</sup> $p < 0.001$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.<sup>c</sup> $p < 0.0001$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.<sup>d</sup> $p < 0.005$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.<sup>e</sup> $p < 0.01$  VPA grubu ile karşılaştırıldığında.

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun PON aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun PON aktivite değerlerinin azaldığı, VPA verilen grubun PON aktivite değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun PON aktivite değerlerinin anlamlı olarak arttığı görüldü ( $p < 0.0001$ ) (Tablo 4.4). Dört grubun beyin dokusunun PON aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ).

Kontrol grubu ile pazı ekstresi verilen grubun AChE aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında kontrol + pazı grubunun AChE aktivite değerlerinin azaldığı, VPA verilen grubun AChE aktivite değerleri ile kontrol grubu karşılaştırıldığında VPA grubu değerlerinin anlamlı olarak azaldığı gözlemlendi ( $p < 0.005$ ). VPA ile VPA + pazı grubu birbiriyle karşılaştırıldığında VPA + pazı grubunun AChE aktivite değerlerinin anlamlı olarak arttığı görüldü ( $p < 0.01$ ) (Tablo 4.4). Dört grubun beyin dokusunun AChE aktivite değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ( $P_{ANOVA} = 0.0001$ ).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

VPA duygudurum bozukluğu, şizoefektif düzensizlikler, nöropatik ağrı ve migren gibi tıbbi hastalıkların tedavisinde kullanılan antiepileptik aktiviteli bir ilaçtır (Silva ve diğ., 1997; Johannessen, 2003). Uzun süreli ve aşırı doz kullanımında, VPA yüksek bir toksisiteye sahiptir. Bu durum da vücutta birçok yan etkinin meydana gelmesine neden olmaktadır (Chateauvieux ve diğ., 2010; Lahneche ve diğ., 2017).

Psikiyatrik hastalıklarda VPA kullanımının 1995 yılında Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmasının ardından toksisite vakalarının daha sık ortaya çıktığı gözlenmiştir. Amerikan Zehir Kontrol Merkezleri Birliđi'nde (AAPCC) kaydedilmiş olan VPA toksisitesi vakalarının 1995 ile 2000 yılları arasında % 129, 1990 ve 2000 yılları arasında % 707 artış meydana geldiği bildirilmiştir (Litovitz ve diğ., 1991; Litovitz ve diğ., 1996).

VPA metabolizması oldukça karmaşıktır. VPA vücutta çok adımlı işlemlerle hepatositler tarafından kapsamlı bir şekilde metabolize edilmektedir. VPA vücutta ilk olarak glukuronik asit ile konjuge edilir, sonra mitokondride  $\beta$ -oksidasyon ya da mikrozomal  $\omega$ -oksidasyonu ile oksidasyona uğrar (Dupuis ve diğ., 1990). Bu işlemlerin sonunda dokuz farklı metabolit meydana gelmektedir. Bunlardan en temel olanları ve vücutta en yüksek toksisiteye neden olanlar 2-en-VPA, 4-en-VPA ve propiyonik asit türevleridir. 2-en-VPA uzun bir yarı ömre sahiptir ve serebral ödemler ile uzun süreli komaya, 4-en-VPA ise amino transferaz enzim aktivitesinin yükselmesine ve hepatotoksisiteye neden olur. Propiyonik asit türevleri üç farklı mekanizma ile hiperamonemiye neden olmaktadır. Bunlardan ilki üre döngüsünün ilk basamağında amonyağın ayrılması için gerekli olan hepatik mitokondriyal enzim karbamil fosfat sentazı inhibe etmesi, ikincisi böbrek glutamin üretimini inhibe etmesi, üçüncüsü ise uzun zincirli yağ asitlerinin metabolize edilmek üzere taşınması için gerekli olan mitokondriyal kofaktör karnitin ile etkileşmesidir. Bütün bu mekanizmalarda meydana gelen bozulma ve artan amonyak seviyeleri ensefalopatiye neden olmaktadır (Tennison ve diğ., 1988).

Sıçanlarda VPA ile doğum öncesi yapılan çalışmalarda VPA'nın çoğunlukla Purkinje hücreleri üzerinde etkili olan beyincik tabakalarının tamamında dejeneratif değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. Bu durum da VPA'nın nöronal gelişim üzerinde toksik etkilerinin olduğunu göstermektedir (Ingram ve diğ., 2000; Sandhya ve diğ., 2012).

Meydana gelen bu nöronal dejenerasyon Purkinje hücre mitokondrilerinde oksidatif fosforilasyonun inhibisyonuna, anormal protein üretimine veya bozulmuş morfolojik hücre bütünlüğü gibi hücre içi biyokimyasal bozukluklara yol açtığı bildirilmiştir (Sobaniec-Lotowska, 2001). Ayrıca VPA'nın fetüs beyincğinde oluşturduğu toksisitenin oksidatif strese ve serbest radikallerin artmasına neden olduğu saptanmıştır (Danielsson ve diğ., 2007; Banji ve diğ., 2011).

VPA epilepsi tedavilerinde antiepileptik ilaç olarak en yaygın kullanım alanına sahip ajanlardan birisidir (Shona ve diğ., 2018). Epilepsi, beyin metabolik hızında dengesizlik oluşturan, kontrol edilemeyen uyarılabilirliğe yol açan nöbetlerle karakterize olup her yaşta görülebilen nörolojik bir hastalıktır. Epilepsi dünya çapında yaklaşık 70 milyon insanı etkilemektedir. Çocukluk ve ergenlik dönemlerinde çoğunlukla genetik olarak meydana gelmektedir, erişkinlerde ise daha çok metabolik bozukluklar, enfeksiyon, alkol ve yüksek dozda ilaç kullanımı gibi nedenlerle ortaya çıkabilmektedir (Dekker, 2002; Husain ve Tran, 2014; Lorigados ve diğ., 2016; Rajput ve diğ., 2017).

Epilepsinin ilerlemesi serbest radikallerin gelişimine bağlıdır. Artan serbest radikal seviyeleri antioksidan seviyelerinde azalmaya neden olmaktadır ve buna bağlı olarak nöronal hasar meydana gelmektedir. Devi ve diğ. (2008) VPA'nın glutamat birikimine yol açan glutamin sentazı inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda VPA glutamat dekarboksilazı da inhibe ederek vücutta konvülsiyon oluşumuna neden olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Epilepsi hastalarının yaklaşık % 60 ve 80'inde nöbetlerin kontrol altına alınmasında antiepileptik ilaçlar kullanılmaktadır (Lorigados ve diğ., 2016). Epileptik sendrom, nöbet tipi, etiyoloji, nöbetin başladığı yaş ve cinsiyet tedavide kullanılacak olan antiepileptik ilacın belirlenmesinde önemli faktörlerdir (Dekker, 2002). Fenobarbital, fenitoin, karbamazepin, etosüksimit, diazepam, oksikarbazepin, felbamat, gabapentin gibi birçok antiepileptik ilaç da epilepsi tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca son zamanlarda vigabatin, levetirasetam, topiramet, lamotrijin, rufinamid, stiripentol, zonisamid, lakosamid gibi bazı antiepileptik ilaçlar da geliştirilmiştir (Dekker, 2002; Goldenberg, 2010; Aneja ve Sharna, 2013; Mula, 2016).

Epilepsi tedavisi genellikle nöbet tipine göre seçilen antiepileptik ilaçla başlanır. Fenitoin ya da karbamazepin antiepileptik ilaçları sekonder jeneralize tonik-klonik nöbetler için, fenobarbiton

ya da VPA antiepileptik ilaçları ise primer jeneralize tonik-klonik nöbetler için tercih edilir (Dekker, 2002).

Antiepileptik ilaçlar yüksek dozda kullanıldıklarında reaktif oksijen türlerinin üretimine ve antioksidan sistemin tetiklenmesine yol açarak nöbetler esnasında hücre kaybıyla oluşan beyin hasarını arttırıcı yönde etki oluştururlar (Lorigados ve diğ., 2016). VPA kullanımı bazı durumlarda ölümcül ciddi komplikasyonlar içeren kanamalara, kemik iliği baskısına, hepatotoksisite ve hiperanemik beyine de neden olabilir. Çeşitli çalışmalar bu tür yan etkilerin oksidatif stres kaynaklı olduğunu göstermektedir (Spiller ve diğ., 2000; Levy, 2002).

Bitkiler uzun yıllar geleneksel tıpta çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmışlardır. Tıbbi bitkilerin çoğu fitokimyasallar bakımından mükemmel kaynaklardır (Hamdiken ve Kechrid, 2017). Flavonoidler çoğu bitkide bulunan ve insanlar tarafından sentezlenemeyen veya üretilemeyen proaktif polifenolik bileşiklerdir (McCullough ve diğ., 2012). Çeşitli biyolojik aktiviteleri kontrol etmede etkili olmaları yanı sıra antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, hipertansiyon düşürme ve antikolesterol özellikleri de vardır (Liu ve diğ., 2014). Flavonoidler, vasküler sistem üzerinde, serebral kan akımında değişikliklerle sonuçlanan ve nöronal morfolojide anjiyogenez (damarlardan tomurcuklanma yolu ile yeni damarların oluşması, gelişmesi), nörogenez (nöronların üretimi) ve dönüşümleri hızlandırabilecek kadar pozitif etki gösterirler (Vauzour ve diğ., 2008). Fenolik asitler ve polifenoller, flavonoidler gibi antioksidan bileşikler olup peroksit, lipid hidroksil hidroperoksit gibi serbest radikalleri süpürücü etkileri vardır ve dejeneratif hastalıklara yol açan oksidatif mekanizmayı etkisiz hale getirmektedirler (Subramanian ve diğ., 2011). Ayrıca kuarsetin, rutin, naringin, kateşin, kafeik asit, gallik asit ve klorogenik asit gibi fenolik bileşikler çok önemli birer tıbbi bitki bileşenidirler (Samatha ve diğ., 2012). Prosiyanidin ve tanenlerin antioksidan etkiye sahip olduğu ve bu etkinin beyindeki nöronal hasardan sorumlu serbest radikallerin seviyelerini düşürerek oksidatif stresi azaltmaya katkıda bulunduğu Ling ve diğ. (2005) tarafından yapılan çalışmada belirtilmiştir.

Pazı (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) dünyanın birçok bölgesinde yetişen vitamin, mineral ve fitokimyasallar bakımından zengin bir bitkidir. Pazı, yapısında palmitik asit, sitrik asit, oleik asit (omega-9), linoleik asit (omega-6) gibi yağ asitleri ile fosfolipidleri, glikolipidleri, polisakkaridleri, saponini, pektini ve flavonoidleri bulundurmaktadır (Bolkent ve diğ., 2000; Hamdiken ve Kechrid, 2017). Pazı, yapısındaki fenolik asitler, polifenoller ve flavonoidler gibi

bileşikler sayesinde antioksidan, antidiabetik, antikolinesteraz, antitümör özellikler gösterdiği ve karaciğer ile böbrek hastalıklarında tedavi edici etkilerinin olduğu birçok çalışmada belirtilmiştir (Nathan, 1997; Kanner ve diğ., 2001; Sacan ve Yanardag, 2010; Oztay ve diğ., 2015). Akdeniz diyetinde tüketilen diğer sebzelerle karşılaştırıldığında pazı yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Trifunovic ve diğ., 2015).

Frenk kimyon tohumu (*Carum carvi L.*), portakal (*Citrus sinensis*), safran (*Crocus sativus*), şerbetçiotu çalısı (*Dodonaea viscosa (Linn)*) gibi bitkiler ile *Kalanchoe pinnata Lam.*, *Abies webbiana Lindl.*, *Laggera aurita (Linn. F)* gibi tropikal kökenli bitkilerin deneysel epilepsi modellerine karşı güçlü antikonvülsan etkiye sahip oldukları çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Karim ve diğ., 2015; Khazdair ve diğ. 2015; Parkash ve diğ., 2015; Citraro ve diğ., 2016; Malami ve diğ. 2016; Mora- Perez ve Hernandez-Medel Mdel, 2016; Showraki ve diğ., 2016).

Çalışmamızda, sıçanlarda VPA ile oluşturulan toksisitede beyin hasarı üzerine pazının koruyucu etkileri incelenmiştir. Literatürde daha önce VPA ile oluşturulan beyin hasarına karşı pazının koruyucu etkilerini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda beyin dokusu homojenizatlarında; GSH, LPO, AOPP, PC, sialik asit seviyeleri ile GP<sub>x</sub>, SOD, GR, GST, AChE ve PON enzim aktiviteleri tayini yapılmıştır.

GSH, glutamat, sistein ve glisinden sentezlenen bir tripeptiddir ve birçok hücrede yüksek konsantrasyonda bulunan bir antioksidandır (August ve diğ., 1997). GSH redüksiyon ve konjugasyon reaksiyonlarında sisteinin yapısında bulunan sülfhidril grubu (-SH) aracılığıyla rol oynar. Bu reaksiyonlar peroksidazların ve birçok ksenobiyotik bileşiklerin metabolizmadan bertaraf edilmesinde rol oynar. Ayrıca GSH hücre döngüsünün düzenlenmesine yardımcı olur (Meister, 1992).

Morsy ve diğ. (2013) tarafından nano alüminyum ile oluşturulan beyin dokusu toksisite çalışmalarında beyindeki GSH miktarının arttığı gözlenmiştir. Epilepsi hastalarında VPA ile ilaç tedavisinin antioksidan sistem üzerindeki etkilerini incelemek için yapılan bir başka araştırmada ise serum GSH düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı saptanmıştır (Işık ve diğ., 2015). Sıçanların serebral korteksinde yapılan bir çalışmada ise manganez ile oluşturulan toksisiteye bağlı olarak GSH miktarlarında azalma olduğu belirtilmiştir (Chtourou ve diğ. 2010). Benzer şekilde sıçanlarda ince partikül (PM<sub>2.5</sub>) kirliliğine bağlı olarak kadmiyum klorür ile oluşturulan beyin dokusu toksisite çalışmalarında GSH miktarlarında yine azalma olduğu

saptanmıştır (Elkhadragy ve diğ., 2018; Zhang ve diğ., 2018). Çalışmamızda VPA verdiğimiz sıçanların beyin dokusu GSH miktarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, VPA + pazı grubu sıçanlarda ise GSH miktarında anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir.

LPO, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif bir yıkımı olup, reaktif oksijen ve nitrojen türlerin varlığında meydana gelmektedir. Yüksek seviyelerde doymamış yağ asidi içeren hücre membranında çeşitli etkileri olan LPO, membran akışkanlığını azaltır, membrana bağlı enzimleri inaktive eder ve toksik parçalanma ürünlerinin oluşmasına neden olmaktadır (Acworth, 2003). Memelilerde lipid peroksidasyon ürünlerinin toksisitesi genellikle nörotoksisite, hepatotoksisite ve nefrotoksisiteyi kapsamaktadır (Boveris ve Navarro, 2008).

Literatürde sıçanların kadmiyum klorür (Elkhadragy ve diğ., 2018), nano alüminyum (Morsy ve diğ., 2013) ve klorpirifos (Adedara ve diğ., 2018) ile oluşturulan toksisitede, sıçan beyin dokusu LPO düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla artış olduğu belirtilmiştir. VPA kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarında (Ahangar ve diğ., 2017; Heidari ve diğ., 2018), ince bağırsak toksisitesinde (Oktay ve diğ., 2015), beyincik ve serebral korteks oksidatif stres nörotoksisitesinde (Chaudhary ve Parvez, 2012) lipid peroksidasyon düzeylerinde artış meydana geldiği yapılan çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Çalışmamızda VPA uygulanan sıçanların beyin dokusu LPO düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı, VPA + pazı grubu sıçanlarda LPO düzeylerinde ise anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

GPx, yapısında selenyum bulunduran, lipid ve hidrojen peroksitleri uzaklaştırarak hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan bir enzimdir. GPx enzimi lipid ve hidrojen peroksitlerin indirgenmesini sağlar. Bu indirgenme sırasında GSH hidrojen verici olarak kullanılır ve okside olur (Espinoza ve diğ., 2008).

GPx aktivitesi ile ilgili farklı sonuçlara sahip birçok çalışma yapılmıştır. Sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulan epilepsi modelinde beyin dokusu GPx aktivite değerlerinin arttığı gözlenmiştir (Bayrak, 2015). Lens dokusunda VPA ile oluşturulan toksisitede (Tunalı, 2014) ve VPA tedavisi alan epilepsi hastalarının plazma GPx aktivitelerinde artış olduğu bildirilmiştir (Kürekcı ve diğ., 1995). Bir başka çalışmada ise VPA verilen epilepsili çocuklarda GPx aktivitelerinde değişim meydana gelmediği bildirilmiştir (Verrotti ve diğ., 2002; Zhang ve diğ., 2011). Sıçanlarda oluşturulan VPA kaynaklı karaciğer hasarında ve VPA tedavisi alan epilepsili çocukların eritrositlerinde GPx aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı

belirtilmiştir (Yüksel ve diğ. 2000; Lahneche ve diğ. 2017). Sıçanlarda klorpirifos ile oluşturulan toksisitede orta beyin, serebrum ve beyincik dokusunda (Adedara ve diğ., 2018), kadmiyum klorür ile sıçan beyin dokusunda oluşturulan toksisitede (Elkhadragy ve diğ., 2018), nano alüminyum ile toksisite oluşturulan sıçan beyin dokusunda (Morsy ve diğ., 2013) ve ince partikül (PM2.5) kirliliğinin sıçan beyinde oksidatif strese neden olduğunu bildiren araştırmalarda (Zhang ve diğ., 2018) GPx aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir.

Çalışmamızda VPA verilen sıçanların beyin dokusunda GPx aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, VPA + pazı grubunda bu değerlerin anlamlı olarak azaldığı görülmüştür.

GR, NADPH kullanarak okside glutatyonun indirgenmiş glutatyona dönüşümünü sağlayan bir enzimdir. GST, çeşitli toksinlere ve oksidatif hasara karşı antioksidan etki gösteren, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda rol alan bir enzimdir (Acworth, 2003; Roncalli ve diğ., 2015).

Çalışmamızda VPA grubu sıçanların beyin dokusu GR ve GST aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdiği, VPA + pazı uygulanan sıçanların beyin dokusu GR ve GST aktivite değerlerinde ise azalma olduğu saptanmıştır. Pentilentetrazol ile oluşturulan epilepsi modelinde sıçanların beyin dokusunda GR aktivite değerlerinin arttığı bildirilmiştir (Bayrak, 2015). Asetamiprid ile toksisite oluşturulan bir araştırmada beyin dokusu GST düzeylerinin arttığı ileri sürülmüştür (Gasmi ve diğ., 2017). Literatürde sıçanlarda kadmiyum klorür ile oluşturulan toksisitede beyin dokusu GR aktivite değerlerinin (Elkhadragy ve diğ., 2018), klorpirifos ile toksisite oluşturulan sıçanların orta beyin, serebrum ve beyincik dokusunda (Adedara ve diğ., 2018) GST enzim aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda VPA verilen sıçanların beyin dokusu GR ve GST aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, pazı ekstresinin verilmesi ile bu aktivite değerlerinde azalma olduğu saptanmıştır.

AOPP, plazma proteinlerinin hipokloröz asit (HOCl) gibi klorlu oksidanlarla reaksiyonu ile oksidatif stres sonucu oluşan ditirozin içeren çapraz-bağlı protein ürünleridir (Cao ve diğ., 2014). Chtourou ve diğ. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada manganez ile oluşturulan toksisiteye bağlı olarak sıçanların serebral korteksinde AOPP düzeylerinin anlamlı olarak

arttığı ileri sürülmüştür. Literatürde kronik böbrek hastalığı olan çocuklarda oksidatif strese bağlı tükürük AOPP düzeylerinde artma olduğu (Maciejczyk ve diğ., 2018), tükürük bezi tümörlü hastalarının ise oksidatif stres kaynaklı serum AOPP düzeylerinde artış olduğu bildirilmiştir (Sowa ve diğ., 2018).

Çalışmamızda VPA verilen grupların beyin dokusundaki AOPP miktarı kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. VPA + pazı grubunda ise AOPP miktarında azalma olduğu gözlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, VPA'nın oksidatif strese neden olduğu, pazının ise bu etkiyi azalttığı saptanmıştır.

PC düzeyleri, protein oksidasyonunun bir göstergesi olup oksidatif stresle ilişkili bozuklukların önemli bir özelliği olarak kabul edilmektedir. Doku ve organlarda okside olmuş proteinlerin fonksiyonlarında kayba yol açan proteolitik parçalanmaya yatkınlık ve agregasyon meydana gelmektedir (Fedorova ve diğ., 2014; Lazarus ve diğ., 2015).

Diazinona bağlı olarak oluşturulan toksisitede sıçanların beyin dokusunda PC düzeylerinin arttığı Vahidirad ve diğ. (2017) tarafından yapılan çalışmada belirtilmiştir. VPA kaynaklı oksidatif stres olduğu ve buna bağlı olarak PC düzeylerinde artış olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Chaudhary ve diğ., 2015; Ahangar ve diğ., 2017). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre VPA uygulanan grupta beyin dokusu PC düzeyleri artmış olup, VPA + pazı grubunda ise PC düzeylerinin azaldığı bulunmuştur.

Sialik asit (N-asetil nöraminik asit), glikoproteinlerin ve glikolipidlerin kompleks N- ve O-glikanlarının bileşenleri olan dokuz karbonlu bir şekerdir (Büttner ve diğ., 2002). Yapısındaki karboksil grubundan dolayı hücre yüzeyine negatif yük kazandırır. Bulunduğu konum nedeniyle hücreleri ve makromolekülleri enzimatik ve immünolojik ataklardan koruyarak doğal bağışıklığa katkıda bulunurlar (Timoszyk ve Latanowicz, 2013).

Çalışmamızda VPA verilen sıçanların beyin dokusunda artmış olan sialik asit düzeyinin, pazı uygulanmasıyla daha fazla artış gösterdiği saptanmıştır.

SOD, biyolojik sistemlerde süperoksit radikallerinin toksisitesini inhibe eden önemli bir savunma sistemidir. Bu antioksidan enzim, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ve suya dönüşümünü katalize eder.

Pentilentetrazol ile oluşturulan epilepsi modelinde sıçan beyin dokusu SOD aktivite değerlerinde artış olduğu saptanmıştır (Bayrak, 2015). VPA verilen epilepsi hastası çocuklarda antioksidan sistem üzerindeki etkilerin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda ise eritrosit SOD aktivite değerlerinde artış olduğu gözlenmiştir (Yüksel ve diğ., 2001; Yiş ve diğ., 2009). Literatürde sıçan beyininde yapılan araştırmalarda ince partikül (PM2.5) kirliliğine bağlı oksidatif stresin neden olduğu toksisitede (Zhang ve diğ., 2018), kadmiyum klorür (Elkhadragy ve diğ., 2018), klorpirifos (Adedara ve diğ., 2018) ve nano alüminyum ile oluşturulan toksisitede (Morsy ve diğ., 2013) SOD aktivite değerlerinde kontrol grubuna kıyasla bir azalma olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda, VPA grubu sıçanların beyin dokusu SOD aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, VPA + pazı grubu değerlerinin ise anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir.

PON, PON1, PON2 ve PON3 genleri tarafından kodlanan üç formda bulunan bir protein grubudur (Kowalska ve diğ., 2015). PON, karaciğer, böbrek, beyin ve akciğer dokularında bulunur. PON1 ve PON3 esas olarak karaciğerde sentezlenir ve çoğunlukla plazmada yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkilidir. PON1, diyabet ve ateroskleroz gibi çeşitli hastalıklarda rol oynar. Düşük PON1 aktivitesi, majör kardiyovasküler olay riskini artırır (Shunmoogam ve diğ., 2018). PON2 bir laktonazdır ve antioksidan ve antiinflamatuvar özellik gösterir. Düşük PON2 seviyesi oksidatif strese bağlı toksisiteye karşı duyarlılığı artırır (Costa ve diğ., 2014).

Yapılan bir çalışmada rotenon uygulanmasıyla sıçanların beyin dokusunda oluşturulan toksisitede PON1 aktivite değerleri ile (Abdel-Salam ve diğ., 2017), başka bir çalışmada nörotoksosite oluşturulan sıçanların beyin dokusunda PON1 ve PON3 aktivite değerlerinin (Almutairi ve diğ., 2017) azaldığı ileri sürülmüştür.

Bu çalışmada VPA uygulamasıyla beyin dokusu PON aktivitesinde azalma olduğu, VPA ile tedavi edilen sıçanlarda beyin dokusu PON aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir.

AChE, kolin asetiltransferaz enzimi tarafından sentezlenen asetilkolin nörotransmitterinin hidrolizini katalize ederek sinir uyarımını sonlandıran bir enzimdir (Fournier ve diğ. 1992). AChE beyin gelişimi, öğrenme, hafıza ve nöronal hasar ile ilişkili olup, merkezi sinir sistemi tarafından gerçekleştirilen fonksiyonlarda önemli rol oynar (Teodorak ve diğ., 2015).

Antiepileptik ilaç tedavisi alan epilepsi hastalarında yapılan bir çalışmada AChE aktivite değerlerinde azalma olduğu saptanmıştır (Işık ve diğ., 2015). Sıçanlarda VPA ile beyincikte ve serebral kortekste oluşturulan nörotoksisitenin incelendiği bir başka çalışmada AChE aktivite değerlerinin azaldığı görülmüştür (Chaudhary ve Parvez, 2012). Adedara ve diğ. (2018) klorpirifos ile toksisite oluşturdukları bir çalışmada da orta beyin, serebrum ve beyincik dokularında AChE aktivite değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda VPA verilen sıçanların beyin dokusu AChE aktivite değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. VPA + pazı grubunun AChE aktivite değerlerinin ise anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Elde edilen değerlerin literatür ile uyumlu olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak flavonoid, saponin, pektin, vitamin ve mineral açısından zengin bir içeriğe sahip olan pazının antioksidan özellik göstererek VPA'nın beyin dokusunda oluşturduğu oksidatif hasara karşı iyileştirici etkilerinin olduğu öne sürülebilir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Salam, O.M.E., Youness, E.R., Ahmed, N.A., El-Toumy, S.A., Souleman, A.M.A., Shaffie, N., Abouelfadl, D.M., 2017, Bougainvillea spectabilis flowers extract protects against the rotenone-induced toxicity, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10, 478-490.
- Acharya, S, Bussel, JB., 2000, Hematologic toxicity of sodium valproate, *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 22, 62-65.
- Acworth, I., 2003, *The handbook of redox biochemistry*, Esa, USA.
- Adams, R.D., Victor, M., Ropper, A.H., 2001, *Epilepsy and disorder of consciousness*, Adams and Victor's principles of neurology, In: Adams, R.D., Victor, M., Ropper, A.H. (ed.), Chapter 4, International Edition, NewYork, 329.
- Adedara, I.A., Owoeye, O., Awogbindin, I.O., Ajayi, B.O., Rocha, J.B.T., Farombi, E.O., 2018, Diphenyl diselenide abrogates brain oxidative injury and neurobehavioural deficits associated with pesticide chlorpyrifos exposure in rats, *Chemico-Biological Interactions*, 296, 105-116.
- Aebi, H., 1984, Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Ahangar, N., Naderi, M., Noroozi A., Ghasemi, M., 2017, Zinc deficiency and oxidative stress involved in valproic acid induced hepatotoxicity: protection by zinc and selenium supplementation, *Biological Trace Element Research*, 179, 102-109.
- Aktin, E., 1965, Epilepsinin tarihçesi, *Nöropsikiyatri Arşivi*, 6, 57-65.
- Ali, R., Connolly, I.D., Feroze, A.H., Awad, A.J., Choudhri, O.A., Garnt, G.A., 2016, Epilepsy: A disruptive force in history, *World Neurosurgery*, 90, 685-690.
- Almutairi, M.M., Alanazi, W.A., Alshammari, M.A., Alotaibi, M.R., Alhoshani, A.R., Al-Rejaie, S.S., Hafez, M.M., Al-Shabanah, O.A., 2017, Neuro-protective effect of rutin against cisplatin-induced neurotoxic rat model, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 472.
- Aneja, S., Sharma, S., 2013, Newer anti-epileptic drugs, *Indian Pediatrics*, 50, 1033-1040.
- Anderson, M.E., Meister, A., 1989, Glutathione monoesters, *Analytical Biochemistry*, 183, 16-20.
- Anon., 2017, *Sinir sistemi ve duyu organları*, <http://webders.net/sinir-sistemi-ve-duyu-organlari-ders-20-363p2.html>, [Ziyaret Tarihi: 25 Aralık 2017].
- Arpat, Ö.A., 2006, *Valproik asit ve karbamazepin monoterapisi alan erkek hastalarda serum seks hormon düzeylerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırılması*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydar Paşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Nöroloji Kliniği.

- Asconape, J.J., Penry, J.K., Dreifuss, F.E., Riela, A., Mirza, W., 1993, Valproate-associated pancreatitis, *Epilepsia*, 34, 177-83.
- August, J.T., Murad, F., Anders, M.W., Coyle, J.T., Packer, L., 1997, *Antioxidants in disease mechanisms and therapy*, Academic Press, California.
- Aydemir, B., Karadağ Sarı, E., 2009, Antioksidanlar ve büyüme faktörleri ile ilişkisi, *Kocatepe Veterinary Journal*, 2, 56-60.
- Bakırcı, Ç.M., 2012, *Sinirbilim ve Beyin - 11: İnsan'ı "İnsan" Yapan Yegane Yapı - Serebrum ve Genel Özellikleri*, <http://evrimagaci.org/article/tr/sinirbilim-ve-beyin-11-insani-insan-yapan-yegane-yapi-serebrum-ve-genel-ozellikleri>, [Ziyaret Tarihi: 16 Eylül 2017].
- Banji, D., Banji, O.J.F., Abbagoni, S., Hayath, Md.S., Kambam, S., Chiluka, V.L., 2011, Amelioration of behavioral aberrations and oxidative markers by green tea extract in valproate induced autism in animals, *Brain Research*, 1410, 141-151.
- Baulac, S., Baulac, M., 2010, Advances on the genetics of Mendelian idiopathic epilepsies, *Clinics in Laboratory Medicine*, 30, 911-929.
- Batalden, P.B., Van Dyne B.J., Cloyd, J., 1979, Pancreatitis associated with valproic acid therapy, *Pediatrics*, 64, 520-522.
- Bayrak, G., 2015, *Sıçanlarda pentilentetrazol ile oluşturulan epilepsiye U vitamininin etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi.
- Ben-Menachem, E., 2014, Medical management of refractory epilepsy-practical treatment with novel antiepileptic drugs, *Epilepsia*, 55, 3-8.
- Beutler, E., 1971, *Red cell metabolism, a manual of biochemical methods*, 12<sup>nd</sup> ed., Academic Press., London.
- Beutler, E., 1975, *Glutathione in red cell metabolism a manual of biochemical methods*, 2<sup>nd</sup> ed., Grune and Stratton, New York.
- Beqhi, E., Hesdorffer, D., 2014, Prevalence of epilepsy-an unknown quantity, *Epilepsia*, 55, 963-967.
- Bilge, M., 2010, *Hemodiyaliz hastalarında serbest radikallerin organizmaya ve antioksidan savunma sistemleri*, Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi.
- Blume, W.T., Lüders, H.O., Mizrahi, E., Tassinari, C., Van Emde Boas, W., Engel, J. Jr., 2001, Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: Report of the ILAE task force on classification and terminology, *Epilepsia*, 42, 1212-1218.
- Bolkent, S., Yanardag, R., Tabakoglu, A., Ozsoy-Sacan, O., 2000, Effects of chard (*Beta vulgaris L. var. cicla*) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats: a morphological and biochemical study, *Journal of Ethnopharmacology*, 73, 251-259.

- Boveris, A., Navarro, A., 2008, Brain mitochondrial dysfunction in aging, *IUBMB Life*, 60, 308-14.
- Bowden, C.L., 2003, Valproate, *Bipolar Disorders*, 5, 189–202.
- Brodie, M.J., 2010, Antiepileptic drug therapy the story so far, *Seizure*, 19, 650-5.
- Büttner, B., Kannicht, C., Schmidt, C., Löster, K., 2002, Biochemical engineering of cell surface sialic acids stimulates, *The Journal of Neuroscience*, 22, 8869–8875.
- Camfield, P.R., Bagnell, P., Camfield, C.S., Tibbles, J.A., 1979, Pancreatitis due to valproic acid, *Lancet*, 1, 1198-1199.
- Cao, W., Hou, F.F., Nie, J., 2014, AOPPs and the progression of kidney disease, *Kidney International Supplements*, 4, 102-106.
- Ceuterick, M., Vandebroek, I., Pieroni, 2011, Resilience of Andean urban ethnobotanies: A comparison of medicinal plant use among Bolivian and Peruvian migrants in the United Kingdom and in their countries of origin, *Journal of Ethnopharmacology*, 136, 27-54.
- Chateauvieux, S., Morceau, F., Dicato, M., ve Diederich, M., 2010, Molecular and therapeutic potential and toxicity of valproic acid, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, 479364.
- Chaudhary, S., Parvez, S., 2012, An in vitro approach to assess the neurotoxicity of valproic acid-induced oxidative stress in cerebellum and cerebral cortex of young rats, *Neuroscience*, 225, 258-268.
- Chaudhary, S., Ganjoo, P., Raiusddin, S., Parvez, S., 2015, Nephroprotective activities of quercetin with potential relevance to oxidative stress induced by valproic acid, *Protoplasma*, 252, 209-217.
- Chtourou, Y., Fetoui, H., Sefi, M., Trabelsi, K., Barkallah, M., Boudawara, T., Kallel, H., Zeghal, N., 2010, Silymarin, a natural antioxidant, protects cerebral cortex against manganese-induced neurotoxicity in adult rats, *Biometals*, 23, 985-996.
- Citraro, R., Navarra, M., Leo, A., Donato Di Paola, E., Santangelo, E., Lippiello, P., Aiello, R., Russo, E., De Sarro, G., 2016, The anticonvulsant activity of a flavonoid-rich extract from orange juice involves both NMDA and GABA benzodiazepine receptor complexes, *Molecules*, 21, 1261.
- Costa, L.G., de Laat, R., Dao, K., Pellacani, C., 2014, Paraoxonase-2 (PON2) in brain and its potential role in neuroprotection, *Neurotoxicology*, 43, 3-9.
- Cotariu, D., Zaidman, J.L., 1988, Valproic acid and the liver, *Clinical Chemistry*, 34, 890-897.
- Coulter, D.L., Allen, R.J., 1980, Secondary hyperammonemia: a possible mechanism for valproate encephalopathy, *Lancet*, 1, 1310-1311.

- Danielsson, B.R., Danielsson, C., Nilsson, M.F., 2007, Embryonic cardiac arrhythmia and generation of reactive oxygen species: common teratogenic mechanism for IKr blocking drugs, *Reproductive Toxicology*, 24, 42-56.
- Das, N., Dhanawat, M., Shrivastava, S.K., 2012, An overview on antiepileptic drugs, *Drug Discoveries and Therapeutics*, 6, 178-193.
- Davis, L.L., Ryan, W., Adinoff, B., Petty, F., 2000, Comprehensive review of the psychiatric uses of valproate, *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 20, 1S-17S.
- Dekker, P.A., 2002, *Epilepsy: A manual for medical and clinical officers in Africa*, World Health Organization, Geneva.
- Demirel, B., 2013, *Fenobarbital ve valproik asitin gelişmekte olan rat (wistar albino) beyini hipokampusunda oluşturduğu hasar üzerine curcuminin etkilerinin stereolojik olarak incelenmesi*, Doktora Tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi.
- Despopoulos, A., Sibernagl, S., 2003, *Color atlas of physiology*, 5<sup>nd</sup> ed., Thieme, Stuttgart.
- Devi, P.U., Manocha, A., Vohora, D., 2008, Seizures, antiepileptics, antioxidants and oxidative stress: an insight for researchers, *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 9, 3169-3177.
- Duarte, J., Macias, S., Coria, F., Fernandez, E., Claveria, L.E., 1993, Valproate-induced coma: case report and literature review, *The Annals of Pharmacotherapy*, 27, 582-583.
- Dupuis, R.E., Lichtman, S.N., Pollack, G.M., 1990, Acute valproic acid overdose. Clinical course and pharmacokinetic disposition of valproic acid overdose. Clinical course and pharmacokinetic disposition of valproic acid and metabolites, *Drug Safety*, 5, 65-71.
- Durmuş, A.S., Ünsaldı, E., 2005, Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi, *Doğu Anadolu Araştırmaları Dergisi*, 3, 20-27.
- Dündar, Y., Aslan, R., 1999, Hücre moleküler statüsünün anlaşılması ve fizyolojik önem açısından radikaller - antioksidanlar, *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi*, 2, 134-142.
- Elkhadragy, M.F., Kassab, R.B., Metwally, D.M., Almeer, R., Abdel-Gaber, R., Al-Olayan, E.M., Essawy, E.A., Amin, H.K., Abdel Moneim, A.E., 2018, Protective effects of *Fragaria ananassa* methanolic extract in a rat model of cadmium chloride-induced neurotoxicity, *Bioscience Reports*, 38, BSR20180861.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., Featherstone, R.M., 1961, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholin eesterase activity, *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95.
- Espinoza, S.E., Guo, H., Fedarko, N., DeZern, A.i, 2008, Glutathione peroxidase enzyme activity in aging, *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 63, 505-509.

- Eşiyok, D., Bozokalfa, M.K., 2007, *Pazı yetiştiriciliği (Beta vulgaris subsp. cicla. ) ve besin içeriği*, <http://www.dunyagida.com.tr/haber/pazi-yetistiriciligi-beta-vulgaris-subsp-cicla-ve-besin-icerigi/2392>, [Ziyaret Tarihi: 26 Eylül 2018].
- Fedorova, M., Bollineni, R. C., Hoffmann, R., 2014, Protein carbonylation as a major hallmark of oxidative damage: update of analytical strategies, *Mass Spectrometry Reviews*, 33, 79-97.
- Fisher, R.S., Boas, W.V.E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., Engel, J., 2005, Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the international league against epilepsy (ILAE) and the international bureau for epilepsy (IBE), *Epilepsia*, 46, 470-472.
- Fournier, D., Bride, J. M., Hoffmann, F., Karch, F., 1992, Acetylcholinesterase. Two types of modifications confer resistance to insecticide, *Journal of Biological Chemistry*, 267, 14270-14274.
- Furlong, C.E., Richter, R.J., Seidel, S.J. Motulsky, A.G., 1988, Role of genetic polymorphism of human plasma paraoxonase/arylesterase in hydrolysis of the insecticide metabolites chlorpyrifos oxon and paraoxon, *American Journal of Human Genetics*, 43, 230-238.
- Gao, Z.J, Han, X.H., Xiao, X.G., 2009, Purification and characterization of polyphenol oxidase from red Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies cicla) leave, *Food Chemistry*, 117, 342-348.
- Garey, L.J., 2006, *Brodmann's localisation in the cerebral cortex*, Springer Science+Business Media, New York.
- Gasmi, S., Kebieche, M., Rouabhi, R., Touahria, C., Lahouel, A., Lakroun Z., Henine S., Soulimani, R., 2017, Alteration of membrane integrity and respiratory function of brain mitochondria in the rats chronically exposed to a low dose of acetamiprid, *Environmental Science And Pollution Research International*, 24, 22258-22264.
- Goldenberg, M. M., 2010, Overview of drugs used for epilepsy and seizures etiology, diagnosis, and treatment, *Pharmacy and Therapeutics*, 35, 392-415.
- Habig, W.H., Jacoby, W.B., 1981, Assay of differentiation on glutathione-S-transferase, *Methods in Enzymology*, 77, 398-405.
- Halliwell, B., 1995, How to characterize an antioxidant: an update, *Biochemical Society Symposium*, 61, 73-101.
- Hamdiken, M., Kechrid, Z, 2017, Chard (*Beta vulgaris* var. cicla) extract modulates zinc status, glucose level and antioxydant values in diabetic rats fed zinc deficiency diet, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9, 297-304.
- Hardy, J.R., Rees, E.A.J., Gwilliam, B., Ling, J., Broadley, K., A'Hern, R., 2001, A phase II study to establish the efficacy and toxicity of sodium valproate in patients with cancer-related neuropathic pain, *Journal of Pain and Symptom Management*, 21, 204-209.

- Houben, M.L., Wilting, I., Stroink, H., Van Dijken, P.J., 2005, Pancreatitis, complicated by a pancreatic pseudocyst associated with the use of valproic acid, *European Journal of Paediatric Neurology*, 9, 77-80.
- Hauser, W.A., Anneqers, J.F., Kurland, L.T., 1993, Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984, *Epilepsia*, 34, 453-468.
- Havali, C., 2010, *Antiepileptik olarak valproik asit veya karbamazepin kullanan hastalarda nefrotoksisitenin belirlenmesi*, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi.
- Heidari, R., Jafari, F., Khodaei, F., 2018, Mechanism of valproic acid-induced Fanconi syndrome involves mitochondrial dysfunction and oxidative stress in rat kidney, *Nephrology*, 23, 351-361.
- Herranz, J.L., Armijo, J.A., Arteaga, R., 1988, Clinical side effects of phenobarbital, primidone, phenytoin, carbamazepine and valproate during monotherapy in children, *Epilepsia*, 29, 794-804.
- Husain A.M., Tran, T.T., 2014, *Epilepsy manual*, 1<sup>st</sup> ed., Epilepsy Centers of Excellence, San Francisco.
- Ingram, J.L., Peckham, S.M., Tisdale, B., Rodier, P.M., 2000, Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism, *Neurotoxicology and Teratology*, 22, 319-324.
- Isojarvi, J.I., Laatikainen, T.J., Pakarinen, A.J., Juntunen, K.T., Myllyla, V.V., 1993, Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy, *The New England Journal of Medicine*, 329, 1383-1388.
- Işık, M., Demir, Y., Kırıcı, M., Demir, R., 2015, Changes in the anti-oxidant system in adult epilepsy patients receiving anti-epileptic drugs, *Archives of Physiology and Biochemistry*, 121, 97-102.
- Janz, D., 1987, *When should antiepileptic drug treatment be terminated?*, In: Wolf, P., Dam, M., Janz, D., And dreifuss feds: advances in epileptology: the x<sup>th</sup> epilepsy international symposium, Raven Press, New York, 365-372.
- Jeavons, P.M., 1984, Non-dose related side effects of valproate, *Epilepsia*, 25, 50-55.
- Jensen, E., 1998, *Teaching with the brain in mind*, Association for Supervision and Curriculum Development, Virginia, ISBN: 0-87120-772-9.
- Johannessen, C.U., Johannessen, S.J., 2003, Valproate; past, present and future, *CNS Drug Reviews*, 9, 199-216.
- Jordan K., 1992, Nonconvulsive seizures (NCS) and nonconvulsive status epilepticus (NCSE) detected by continuous EEG monitoring in the neuro ICU, *Neurology*, 42, 180.
- Kanner, J., Harel, S., Granit, R., 2001, Betalains a new class of dietary cationized antioxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5178-5185.

- Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016, Serbest radikaller, *MAKÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4, 50-59.
- Karim, N., Irshad, S., Khan, I., Mohammad, A., Anis, I., Shah, M.R., Khan, I., Chebib, M., 2015, GABA(a) receptor modulation and neuropharmacological activities of viscocine isolated from *Dodonaea viscosa* (Linn), *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 136, 64-72.
- Kesim, Ö., 2009, *Monoterapi ile tedavi edilen epilepsi hastalarında troid fonksiyonlarının incelenmesi*, Uzmanlık Tezi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği.
- Khazdair, M.R., Boskabady, M.H., Hosseini, M., Rezaee, R., Tsatsakis, A.M., 2015, The effects of *Crocus sativus* (saffron) and its constituents on nervous system: a review, *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5, 376-391.
- Kiray, M., 2010, *Elektromanyetik alana maruz kalan sıçan beyin dokusunda oksidatif stres üzerine karnitinin immunohistokimyasal ve yapısal etkileri*, Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi.
- Kowalska, K., Socha, E., Milnerowicz, H., 2015, The role of paraoxonase in cardiovascular diseases, *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 45, 226-233.
- Kurt, A.N., 2012, *Valproik asit veya karbamazepin kullanan epilepsili çocuk hastalarda oksidatif stres ve karnitin düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması*, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi.
- Kürekçi, A.E., Alpay, F., Tanindi, S., Gökçay, E., 1995, Plasma trace element, plasma glutathione peroxidase, and superoxide dismutase levels in epileptic children receiving antiepileptic drug therapy, *Epilepsia*, 36, 600-604.
- Kwan, P., Brodie, M.J., 2001, Neuropsychological effects of epilepsy and antiepileptic drugs, *Lancet*, 357, 216-222.
- Lahneche, A.M., Boucheham, R., Boubekri, N., Bensaci, S., 2017, Sodium valproate-induced hepatic dysfunction in albino rats and protective role of n-butanol extract of *Centaurea sphaerocephala* L., *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9, 1135-1343.
- Lazarus, R.C., Buonora, J.E., Jacobowitz, D.M., Mueller, G.P., 2015, Protein carbonylation after traumatic brain injury: cell specificity, regional susceptibility, and gender differences, *Free Radical Biology and Medicine*, 78, 89-100.
- Ledwozyw, A., Michalak, J., Stepień, A., Kadziolka, A., 1986, The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis, *Clinica Chimica Acta*, 155, 275-283.
- Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N., Amıcı, A., Climent, I., Lenz, A.G., Ahn, B.W., Shaltiel, S., Stantman, E.R., 1990, Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins, *Methods in Enzymology*, 186, 464-478.

- Levy, R.I.L., 2002, *Antiepileptic drugs*, 5<sup>nd</sup> ed., Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Ling, Z.Q., Xie, B.J., Yang, E.L., 2005, Isolation, characterization and determination of antioxidative activity of oligomeric procyanidins from the seedpod of *Nelumbo nucifera* Gaertn, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2441-2445.
- Litovitz, T.L., Bailey, K.M., Schmitz, B.F., Holm, K.C., Klein-Schwartz, W., 1991, 1990 Annual report of the american association of poison control centers national data collection system, *The American Journal of Emergency Medicine*, 9, 461-509.
- Litovitz, T.L., Felberg, L., White, S., Klein-Schwartz, W., 1996, 1995 Annual report of the american association of poison control centers toxic exposure surveillance system, *The American Journal of Emergency Medicine*, 14, 487-537.
- Liu, X., Zhu, L., Tan, J., Zhou, X., Xiao, L., Yang, X., Wang, B., 2014, Glucosidase inhibitory activity and antioxidant activity of flavonoid compound and tetriterpenoid compound from *Agrimonia Pilosa* Ledeb, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 1-12.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., 2010, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacognosy Reviews*, 4, 118-126.
- Lorentz, K., Weiss T., Kraas, E., 1986, Sialic acid in human serum and cerebrospinal fluid. Comparison of methods and reference values, *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 24, 189-98.
- Lorigados, L., Morales, L.M., Orozco-Suarez, S., Gallardo, J. M., 2016, Oxidative stress in pharmaco-resistant epilepsy, *Biotechnología Aplicada*, 33, 2101-2107.
- Lowry, O.H., Rosebrough, H.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951, Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Löscher W., 2002, Basic pharmacology of valproate: A review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy, *CNS Drugs*; 16, 669-694.
- Maciejczyk, M., Szulimowska, J., Skutnik, A., 2018, Salivary biomarkers of oxidative stress in children with chronic kidney disease, *Journal of Clinical Medicine*, 7, 209.
- Malami, S., Kyari, H., Danjuma, N.M., Ya'u, J., Hussaini, I.M., 2016, Anticonvulsant properties of methanol leaf extract of *Laggera Aurita* Linn. F. (Asteraceae) in laboratory animals, *Journal of Ethnopharmacology*, 191, 301-306.
- Mathew, N.T., Kailasam, J., Meadors, L., Chernyshev, O., Gentry, P., 2000, Intravenous valproate sodium (depacon) aborts migraine rapidly: a preliminary report, *Headache*, 40, 720-723.
- McCullough, M.L., Peterson, J., Patel, R., Jacques, P.F., Shah, R., Dwyer, J.T., 2012, Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality in a prospective cohort of US adults, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95, 454-464.

- Menale, B., Amato, G., Di Priso, C., Muoio, R., 2006, Traditional uses of plants in North-Western Molise (Central Italy), *Delpinoa*, 48, 29-36.
- Mora-Perez, A., Hernandez-Medel Mdel, D., 2016, Anticonvulsant activity of methanolic extract from *Kalanchoe pinnata* lam. Stems and roots in mice: a comparison to diazepam, *Neurologia*, 31, 161-168.
- Morris, R., Fillenz, M., 2003, *Sinir bilimi*, 1<sup>nd</sup> ed., İngiliz Sinir Bilimleri Derneği, Liverpool.
- Morsy, G.M., Abou El-Ala, K.S., Ali, A.A., 2013, Studies on fate and toxicity of nanoalumina in male albino rats: Oxidative stress in the brain, liver and kidney, *Toxicology and Industrial Health*, 32, 200-14.
- Mula, M., 2016, Third generation antiepileptic drug monotherapies in adults with epilepsy, *Expert Review of Neurotherapeutics.*, 16, 1087-1092.
- Mylorie, A.A., Collins, H., Umbles, C. Kyle, J., 1986, Erythrocyte SOD activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 512-520.
- Nathan, C., 1997, Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make?, *The Journal of Clinical Investigation*, 100, 2417-2423.
- Nelson-DeGrave, V.L., Wickenheisser, J.K., Cockrell, J.E., Wood, J.R., Legro, R.S., Strauss, J.F., McAllister, J.M., 2004, Valproate potentiates androgen biosynthesis in human ovarian theca cells, *Endocrinology*, 145, 799-808.
- Noback, C.R., Strominger, N.L., Demarest R.J., Ruggiero, D.A., 2005, *The human nervous system structure and function*, 6<sup>nd</sup> ed., Humana Press, New York.
- Oktay, S., Alev, B., Tunali S., 2015, Edaravone ameliorates the adverse effects of valproic acid toxicity in small intestine, *Human and Experimental Toxicology*, 34, 654-661.
- Oztay, F., Sacan, O., Kayalar, O., Bolkent, S., Ipci, Y., Kabasakal, L., Sener, G., Yanardag, R., 2015, Chard (*Beta vulgaris* var. cicla) extract improved hyperglycemia-induced oxidative stress and surfactant-associated protein alterations in rat lungs, *Pharmaceutical Biology*, 53, 1639-1646.
- Page, T.E., Capps, E., Rause, W.H.D., Post, L.A., Warmington, A.H., 1967, *Hippocrates, The sacred disease*, Harvard University Press, Cambridge.
- Parekh, J., Chanda, S.V., 2008, Antibacterial activity of aqueous and alcoholic extracts of 34 Indian medicinal plants against some Staphylococcus species, *Turkish Journal of Biology*, 32, 63-71.
- Parkash, O., Kumar, D., Kumar, S., 2015, Screening of methanol extract and ethyl acetate fraction of *Abies webbiana* Lindl. for neuropharmacological activities, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 77, 536-541.

- Pinkston, R., Walker, L.A., 1997, Multiorgan system failure caused by valproic acid toxicity, *American Journal of Emergency Medicine*, 15, 504-506.
- Pippenger, C.E., Xianzhong, M., Rothner, A.D., 1991, *Free radical scavenging enzyme activity profiles in risk assessment of idiosyncratic drug reactions: probable mechanism of valproate induced pancreatitis and hepatotoxicity*, Idiosyncratic Reactions to Valproate: Clinical Risk Patterns and Mechanism of Toxicity, In: Levy, R.H, Penry, J.K., (ed.), Raven Press, New York, 75-88.
- Purves, D., Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Katz, L.C., LaMantia, A.S., McNamara, J.O., Williams, S.M., 2004, *Neuroscience*, 3<sup>rd</sup> ed., Sinauer Associates, Massachusetts.
- Rao, M.U., Sreenivasulu, M., Chengaiah, B., Reddy, K.J., Chetty, C.M., 2010, Herbal medicines for diabetes mellitus: a review, *International Journal of Pharmtech Research*, 2, 1883-1892.
- Rajput, M.A., Khan, R.A., Assad, T., 2017, Anti-epileptic activity of Nelumbo nucifera fruit, *Metabolic Brain Disease*, 32, 1883-1887.
- Ricard, C., Martin, K., Tournier, M., Begaud, B., Verdoux, H., 2005, A case of Parkinsonian syndrome, cognitive impairment and hyperammonemia induced by divalproate sodium prescribed for bipolar disorder, *Encephale*, 31, 98-101.
- Rodríguez, M.P., 2011, Manejo de plantas medicinales en el nororiente amazónico peruano, *Revista ECIPerú*, 8, 150-158.
- Roncalli, V., Cieslak, M.C., Passamaneck, Y., Christie, A.E., Lenz, P.H., 2015, Glutathione S-transferase (GST) gene diversity in the crustacean calanus finmarchicus contributors to cellular detoxification, *PLoS One*, 10, e0123322.
- Sacan, O., Yanardag, R., 2010, Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla), *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1275-1280.
- Samatha, T., Shyamsundarachary, R., Srinivas, P., Swamy, R., 2012, Quantification of total phenolic and total flavonoids contents in extracts of *Oroxylum indicum* L. Kurz, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5, 177-179.
- Sandhya, T., Sowjanya, J., Veeresh, B., 2012, Bacopa monniera (L.) Wettst ameliorates behavioral alterations and oxidative markers in sodium valproate induced autism in rats, *Neurochemical Research*, 37, 1121-1131.
- Sener, G., Sacan, O., Yanardag, R., Ayanoglu-Dulger, G., 2002, Effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. cicla) extract on oxidative injury in the aorta and heart of streptozotocin-diabetic rats, *Journal of Medicinal Food*, 5, 37-42.
- Shan, X.Q., Aw, T.Y., Jones, D.P., 1990, Glutathione-dependent protection against oxidative injury, *Pharmacology and Therapeutics*, 47, 61-71.

- Shona, S.I., Rizk, A.A., El Sadik, A.O., Emam, H.Y., Ali E.N., 2018, Effect of valproic acid administration during pregnancy on postnatal development of cerebellar cortex and the possible protective role of folic acid, *Folia Morphologica*, 77, 201-209.
- Shorvon, S.D., 2011, The etiologic classification of epilepsy, *Epilepsia*, 52, 1052-7.
- Showraki, A., Emamghoreishi, M., Oftadegan, S., 2016, Anticonvulsant effect of the aqueous extract and essential oil of *Carum Carvi* L. seeds in a pentylenetetrazol model of seizure in mice, *Iranian Journal of Medical Sciences*, 41, 200-208.
- Shunmoogam, N., Naidoo, P., Chilton, R., 2018, Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance, *Vascular Health and Risk Management*, 14, 137-143.
- Sidiropoulou, K., Diamantis, A., Magiorkinis, E., 2010, Hallmarks in 18<sup>th</sup>- and 19<sup>th</sup>-century epilepsy research, *Epilepsy and Behavior*, 18, 151-61.
- Silva, M.F.B., Ruiter, J.P.N., IIIst, I., Jakobe, C., Duran, M., Tavares de Almedia, I., Wanders, R.J.A., 1997, Valproate inhibits the mitochondrial pyruvate driven oxidative phosphorylation in vitro, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 20, 397-400.
- Sisu, A.M., 2017, *Human anatomy reviews and medical advances*, Mesencephalon; Midbrain, In: Kurkcuoğlu, A., Chapter 8, IntechOpen, ISBN: 978-953-51-3612-5.
- Sobaniec-Lotowska, M.E., 2001, Ultrastructure of Purkinje cell perikarya and their dendritic processes in the rat cerebellar cortex in experimental encephalopathy induced by chronic application of valproate, *International Journal of Experimental Pathology*, 82, 337-348.
- Sowa, P., Misiolek, M., Pasinski, B., 2018, Oxidative stress markers patients with parotid gland tumors: a pilot study, *BioMed Research International*, 2018, 4340871.
- Spiller, H.A., Krenzelok, E.P., Klein-Schwartz, W., Winter, M.L., Weber, J.A., Sollee, D.R., Bangh, S.A., 2000, Griffith J.R. Multicenter case series of valproic acid ingestion: serum concentrations and toxicity, *Journal of Toxicology. Clinical Toxicology*, 38, 755-760.
- Stafstrom, C.E., Carmant, L., 2015, Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5, a022426.
- Subramanian, H., Gupta, K., Guo, Q., Price, R., Ali, H., 2011, Mas-related gene X2 (MrgX2) is a novel G protein-coupled receptor for the antimicrobial peptide LL-37 in human mast cells: resistance to receptor phosphorylation, desensitization, and internalization, *The Journal of Biological Chemistry*, 286, 44739-44749.
- Swaiman, K.F., Ashwal, S., 1999, *Pediatric neurology principles and practice*, St. Louis, 3<sup>rd</sup> ed., Missouri, Mosby.
- Sztajnkrzyca, M.D., 2003, Valproic acid toxicity: overview and management, *Journal of Toxicology Clinical Toxicology*, 40, 789-801.

- Tauboll, E., Gregoraszczyk, E.L., Kołodziej, A., Kajta, M., Ropstad, E., 2003, Valproate inhibits the conversion of testosterone to estradiol and acts as an apoptotic agent in growing porcine ovarian follicular cells, *Epilepsia*, 44, 1014-1021.
- Tennison, M.B., Miles, M.V., Pollack, G.M., Thorn, M.D., Dupuis, R.E., 1988, Valproate metabolites and hepatotoxicity in an epileptic population, *Epilepsia*, 29, 543-547.
- Teodorak, B.P., Ferreira, G.K., Scaini, G., Wessler, L.B., Heylmann, A.S., Deroza, P., Valvassori, S.S., Zugno, A.I., Quevedo, J., Streck, E.L., 2015, Acute administration of fenproporex increased acetylcholinesterase activity in brain of young rats, *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87, 1389-1395.
- Timoszyk, A., Latanowicz, L., 2013, Interactions of sialic acid with phosphatidylcholine liposomes studied by 2D NMR spectroscopy, *Acta Biochimica Polonica*, 60, 539-546.
- Trifunovic, S., Topalovic, A., Knezevic, M., Vajs, V., 2015, Free radicals and antioxidants: antioxidative and other properties of swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. cicla), *Agriculture and Forestry*, 61, 73-92.
- Tunalı, S., 2014, The effects of vitamin B6 on lens antioxidant system in valproic acid-administered rats, *Human and Experimental Toxicology*, 33, 623-8.
- Vahidirad, M., Arab-Nozari, M., Mohammadi, H., Zamani, E., Shaki, F., 2017, Protective effect of captopril against diazinon induced nephrotoxicity and neurotoxicity via inhibition of ROS-NO pathway, *Drug and Chemical Toxicology*, 41, 287-293.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Vauzour, D., Vafeiadou, K., Mateos, A.R., Rendeiro, C., Spencer, J.P.E., 2008, The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects, *Genes and Nutrition*, 3, 115-126.
- Verrotti, A., Basciani, F., Trotta, D., Pomilio, M.P., 2002, Serum copper, zinc, selenium, glutathione peroxidase and superoxide dismutase levels in epileptic children before and after 1 year of sodium valproate and carbamazepine therapy, *Epilepsy Research*, 48, 71-75.
- Verrotti, A., Trotta, D., Morgese, G., Chiarelli, F., 2002, Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy, *Metabolic Brain Disease*, 17, 367-373.
- Vural, H., 2012, *Pazı Yetiştiriciliği ve Tarımı*, <https://www.turktob.org.tr/tr/pazi-yetistiriciligi-ve-tarimi/4962>, [Ziyaret Tarihi: 26 Eylül 2018].
- Yiş, U., Seçkin, E., Kurul S.H., Kuralay, F., Dirik, E., 2009, Effects of epilepsy and valproic acid on oxidant status in children with idiopathic epilepsy, *Epilepsy Research*, 84, 232-237.

- Youssef, R. S. A., 2013, Medicinal and non-medicinal uses of some plants found in the middle region of Saudi Arabia, *Journal of Medicinal Plant Research*, 7, 2501-2513.
- Yüksel, A., Cengiz, M., Seven, M., Ulutin, T., 2000, Erythrocyte glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and serum lipid peroxidation in epileptic children with valproate and carbamazepine monotherapy, *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 11, 73-81.
- Yüksel, A., Cengiz, M., Seven, M., Ulutin, T., 2001, Changes in the antioxidant system in epileptic children receiving antiepileptic drugs: two-year prospective studies, *Journal of Child Neurology*, 16, 603-606.
- Witko - Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., 1996, Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia, *Kidney International*, 49, 1304-1313.
- Williams, D.C., Jr., Massey, G.V., Russell, E.C., Riley, R.S., Ben-Ezra J., 2008, Translocation-positive acute myeloid leukemia associated with valproic acid therapy, *Pediatric Blood and Cancer*, 50, 641-3.
- Wendel, A., 1981, Glutathione peroxidase, *Methods in Enzymology*, 77, 325-333.
- Wyllie, E., 2006, *The Treatment of epilepsy: Principles and practice*, 4<sup>th</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins.
- Zhang, Q., Li, Q., Ma, J., Zhao, Y., 2018, PM2.5 impairs neurobehavior by oxidative stress and myelin sheaths injury of brain in the rat, *Environmental Pollution*, 242, 994-1001.
- Zhang, Y.J., Zhang, M., Wang, X. C., Yu, Y. H., 2011, Effects of sodium valproate on neutrophils' oxidative metabolism and oxidant status in children with idiopathic epilepsy, *Chinese Journal of Pediatrics*, 49, 776-781.

## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Esra Şule ÇİMEN
Doğum Yeri	Sivas
Doğum Tarihi	10.05.1989
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05557240374
E-Posta Adresi	esrasule@gmail.com



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Sakarya Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	18.06.2013

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

Makale ve Bildiriler	
<b>Kongreler</b>	
<p>Çimen, E.Ş., Tunalı, S., Yanardağ, R., 2016, Pazı (<i>Beta vulgaris</i> L. var. <i>cicla</i>)'nın valproik asit ile oluşturulan beyin hasarında lipid peroksidasyon ve protein karbonil düzeylerine etkileri, <i>TBD Biyokimya Günleri</i>, 2-5 Kasım 2016 Sivas, 41 (S3), P-33.</p>	
<p>Çimen, E.S., Tunalı, S., Yanardag, R., 2018, Protective role of chard against valproic acid induced brain injury in rats, <i>International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences</i>, 26-27 April 2018 Ankara, Turkey, p. 1437.</p>	