

**YENİ NESİL ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARDAN PERAMPANELİN İN VİTRO
HEPATOTOKSİSİTESİNİN KARBAMAZEPİNE KİYASLA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Gölnar FARMANLI

Eskişehir 2019

**YENİ NESİL ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARDAN PERAMPANELİN İN VİTRO
HEPATOTOKSİSİTESİNİN KARBAMAZEPİNE KİYASLA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

G lnar FARMANLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. Özlem ATLI EKLI GLU**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ağustos 2019**

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

G lnar FARMANLI'nın "Yeni Nesil Antiepileptik İlaçlardan Perampanelin İn Vitro Hepatotoksisitesinin Karbamazepine Kıyasla Değerlendirilmesi" başlıklı tezi 09.08/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-  retim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
�ye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Özlem ATLI EKLI��LU	:
	Anadolu �niversitesi	
�ye	: Doç. Dr. Bülent ERGUN	:
	Anadolu �niversitesi	
�ye	: Dr. ��r. Üyesi Volkan KILIÇ	:
	Eskişehir Teknik Üniversitesi	

Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN

Enstitü Müdürü

ÖZET

YENİ NESİL ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARDAN PERAMPANELİN İN VİTRO HEPATOTOKSİSİTESİNİN KARBAMAZEPİNE KİYASLA DEĞERLENDİRİLMESİ

Gülnar FARMANLI

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağustos 2019

Danışman: Doç. Dr. Özlem ATLI EKLIOĞLU

Karaciğer, antiepileptikler dahil ilaçların birçoğunu metabolize etmekten sorumlu olduğundan, ilaca bağlı hasarın ana hedefi bu organ olmaktadır. Karaciğerde metabolize edilen ve yaygın olarak kullanılan karbamazepin hepatotoksisite potansiyeli olmasına rağmen sıklıkla reçete edilen bir ilaçtır. Perampanel ise yaygın hepatik biyotransformasyona uğrayan 2012 yılında onay almış yeni bir antiepileptiktir. Hepatotoksisite geliştirme riski açısından önemli bir sınıfa giren perampanel ile ilgili henüz kullanımına bağlı olarak gelişen hepatotoksisite hakkında çok az veri bulunmaktadır. Bu sebeple tez kapsamında, perampanelin hepatotoksisite potansiyeli bilinen karbamazepine kıyasla *in vitro* ortamda HepG2 hücre hattı kullanarak hepatotoksisitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kullanılan HepG2 hücre hattı üzerinde sitotoksisiteleri hepatotoksisiteleri, MTT sitotoksisite testi ile inhibitör konsantrasyonları hesaplanarak ardından apoptoz/nekroz tayini, günümüzde karaciğer hasarı için bir biyobelirteç olan çeşitli biyokimyasal analizler (ALT, AST, üre) ve ROT tayini ile hepatotoksisiteleri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, tez kapsamında incelenen perampanelin de karbamazepin gibi HepG2 hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği, hepatik biyogöstergelerde artışa sebep olduğu ve oksidatif stresi indüklediği gözlemlenmiştir.

Anahtar Sözcüklerler: Epilepsi, Antiepileptik İlaçlar, Karaciğer, Hepatotoksisite, HepG2

ABSTRACT

EVALUATION of IN VITRO HEPATOTOXICITY of NEW GENERATION ANTIEPILEPTIC DRUGS PERAMPANEL COMPARED to CARBAMAZEPINE

G lnar FARMANLI

Department of Pharmaceutical Toxicology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, August 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ozlem ATLI EKLIOGLU

Since the liver is responsible for metabolizing many of the drugs, including antiepileptics, the main target of drug-induced damage is this organ. Carbamazepine which is widely used in the liver and metabolized, is a prescribed drug, despite its potential for hepatotoxicity. On the other hand, perampanel is a new antiepileptic that has been approved in 2012 and underwent extensive hepatic biotransformation. There is very little data on perampanel, which is an important class in terms of risk of developing hepatotoxicity, yet related to its use. Therefore, it was aimed to determine the hepatotoxicity of perampanel using HepG2 cell line in vitro compared to carbamazepine which has hepatotoxicity potential. HepG2 cytotoxicity on the HepG2 cell line used, hepatotoxicity was calculated by MTT cytotoxicity test inhibitor concentrations, followed by determination of apoptosis / necrosis, various biochemical analyzes (ALT, AST, urea) and ROT determination which are currently a biomarker for liver damage. According to the results, it was observed that perampanel, which was studied in the thesis, showed cytotoxic effect in the HepG2 cell line like carbamazepine, caused an increase in hepatic biomarkers and induced oxidative stress.

Keywords: Epilepsy, Antiepileptic Drugs, Liver, Hepatotoxicity, HepG2

TEŞEKKÜR

Öncelikle tamamlamış olduğum Yüksek Lisans tezimle ilgili tüm süreçte bana yol gösteren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, üzerimde emeği büyük olan Danışmanım Doç. Dr. Özlem ATLI EKLIÖĞLU'na; deneylerim sırasında tüm bilgilerini sunan, kendilerinden çok şey öğrendiğim Hocam Arş. Gör. Merve BAYSAL'a ve Hocam Arş. Gör. A. Burak KARADUMAN'a; anabilimdalı başkanımız çok değerli büyüğüm, Hocam Doç. Dr. Bülent ERĞÜN'a; Hocam Doç. Dr. Sinem ILGIN'a; bu süreçte yardımını, desteğini ve sabrını hiç esirgemeyen Fakhri SATTAROV'a; tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu uzun ve zorlu yolda da yorulmadan her zaman her konuda beni destekleyen, tüm başarılarımı borçlu olduğum değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

09/08/2019

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Gülner Fermanlı

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1. Epilepsi ile İlgili Genel Bilgiler	3
2.2. Epilepsi Tedavisi ve Antiepileptik İlaçlar	5
2.3. Antiepileptik İlaçların Sınıflandırılması	7
2.3.1. Birinci jenerasyon antiepileptik ilaçlar	7
2.3.1.1. Asetazolamid	7
2.3.1.2. Bromidler	8
2.3.1.3. Mefenitoin	8
2.3.1.4. Trimetadion	9
2.3.1.5. Etosüksimid	9
2.3.1.6. Primidon	9
2.3.1.7. Fenobarbital	10

	<u>Sayfa</u>
2.3.2. İkinci jenerasyon antiepileptik ilaçlar	11
2.3.2.1. Karbamazepin	11
2.3.2.2. Valproik asit	11
2.3.2.3. Klonazepam	12
2.3.3. Üçüncü jenerasyon antiepileptik ilaçlar	13
2.3.3.1. Felbamat	13
2.3.3.2. Gabapentin	13
2.3.3.3. Lamotrijin	14
2.3.3.4. Levetirasetam	14
2.3.3.5. Okskarbazepin	15
2.3.3.6. Topiramat	15
2.3.3.7. Zonisamid	15
2.3.3.8. Lakozamid	16
2.3.3.9. Vigabatrin	17
2.3.3.10. Eslikarbazepin asetat	17
2.3.4. Antiepileptiklerle İndüklenen Hepatotoksisite	18
2.4. Hepatotoksisite ile İlgili Genel Bilgiler	19
2.4.1. İlaçlarla indüklenen hepatotoksisite	21
2.4.2. İlaça bağlı karaciğer hasarının mekanizmaları	22
2.4.2.1. Hücre içi iyon dengesinin bozulması	23
2.4.2.2. Safra kanalı hasarı	24
2.4.2.3. Apoptozis	24
2.4.2.4. İmmün mekanizma	24
2.4.2.5. Mitokondriyal disfonksiyon	24
2.4.3. İlaçların neden olduğu karaciğer hasarını etkileyen risk faktörleri..	25
2.5. Hepatotoksisitenin Biyogöstergeleri	27

	<u>Sayfa</u>
2.5.1. Alanin aminotransferaz	29
2.5.2. Aspartat aminotransferaz	30
2.5.3. Alkalen fosfataz	31
2.5.4. Üre	31
2.5.5. Gama-glutamil transpeptidaz	32
2.5.6. Total Bilirubin	32
2.6. Oksidatif Stress ve Biyogöstergeler	32
2.6.1. Hepatotoksisite gelişiminde oksidatif stresin önemi	35
2.7. Hepatotoksisitenin <i>İn vitro</i> Değerlendirilmesi	36
2.8. Tez Kapsamında Kullanılan Antiepileptik İlaçlar ve Hepatotoksisite Riskleri	39
2.8.1. Karbamazepin	39
2.8.1.1. Endikasyonları	39
2.8.1.2. Etki mekanizması	39
2.8.1.3. Absorpsiyonu	40
2.8.1.4. Dağılım	40
2.8.1.5. Metabolizması	41
2.8.1.6. Eliminasyonu	41
2.8.1.7. Advers etkileri	42
2.8.1.8. Hepatotoksisitesi	42
2.8.2. Perampanel	43
2.8.2.1. Endikasyonları	43
2.8.2.2. Etki mekanizması	43
2.8.2.3. Absorpsiyonu	44
2.8.2.4. Dağılımı	44
2.8.2.5. Metabolizma	44

	<u>Sayfa</u>
2.8.2.6. <i>Eliminasyonu</i>	45
2.8.2.7. <i>Advers etkileri</i>	45
2.8.2.8. <i>Hepatotoksitesi</i>	45
3. GEREÇLER	46
3.1. Kullanılan Maddeler	46
3.2. Kullanılan Cihazlar	46
4. YÖNTEMLER	48
4.1. Hücrelerin Çoğaltılması	48
4.2. Hücrelere MTT Sitotoksite Testinin Uygulanması	48
4.3. Apoptoz ölçümü (Flow (Akış) Sitometrik Yöntem)	50
4.4. Biyokimyasal Analiz	51
4.5. Reaktif Oksijen Türlerinin Belirlenmesi	51
4.6. İstatistiksel Analiz	52
5. BULGULAR VE TARTIŞMA	53
5.1. MTT Yöntemi ile Bileşiklerin Sitotoksik Etki Sonuçları	54
5.2. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etki sonuçları	55
5.3. Biyokimyasal parametrelerin seviyelerinin belirlenmesi	58
5.4. ROT miktarının belirlenmesi.....	59
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	62
KAYNAKÇA	63
ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 5.1. Perampanel ve karbamazepin için farklı konsantrasyonlarda canlı/nekrotik/apoptotik hücre yüzdesi.....	57
Çizelge 5. 2. Biyokimyasal analiz sonuçları.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 5.1. Karbamazepin'e ait % hücre inhibisyon değerleri	54
Şekil 5.2. Perampanel'e ait % hücre inhibisyon değerleri.....	54
Şekil 5.3. HepG2 hücre hattı için karbamazepin'in akış sitometrik analiz diyagram ...	56
Şekil 5.4. HepG2 hücre hattı için perampanel'in akış sitometrik analiz diyagramı	56
Şekil 5.5. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan karbamazepin ve perampanelin uygulanan hücrelerde reaktif oksijen türlerinin seviyeleri	60

KISALTMALAR DİZİNİ

AEİ	: Antiepileptik İlaç
ALP	: Alkalın Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AMPA	: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4 izoksazol-propiyonik Asit
ARG	: Arginaz
ARG-1	: Arginaz-1
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATCC	: Amerikan tıp kültür koleksiyonu
ATP	: Adenozin Trifosfat
BT	: Bilgisayar Tomografi
BUN	: Kan Üre Azotu
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	: Katalaz
CoA	: Coenzim A (Koenzim A)
CYP	: Cytochrome P450 (Sitokrom P450)
DMEM	: Dulbecco's Minimum Essential Medium
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EEG	: Elektroensefolografi
EMEM	: Eagle's Minimum Essential Medium
FBS	: Fetal Bovin Serum
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FITC	: Floresan izotiyosiyanat
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GLDH	: Glutamat dehidrojenaz
GGT	: Gama-Glutamil Transpeptidaz
GSH	: Glutatyon
HDAC	: Histon Deasetilaz

HIV	: İnsan immün yetmezlik virüsü
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni genleri
IC ₅₀	: İnhibisyon konsantrasyonu
ILAE	: Uluslararası Epilepsi Birliği
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
MDA	: Malondialdehit
MDH	: Malat Dehidrojenaz
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
MTT	: 3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
NAPQI	: N-asetil-p-benzokinonimin
NMDA	: N-metil-D-aspartat
PBR	: Periferik Benzodiazepin Reseptörü
PBS	: Fosfat Tamponu
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
PI	: Propidium iyodür
PP	: Pridoksal-5-fosfat
PPAR	: Peroksizom Proliferatör-aktif Reseptör
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SDH	: Sorbitol Dehidrojenaz
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPECT	: Tek foton emisyon tomografisi
TB	: Total Bilirubin
TBARS	: Tiyoobarbitürik asit reaktif maddeler
t-BOOH	: tert-Butil hidroperokside
UDP	: Üridin difosfat
UGT	: Üridin Difosfat Glukuronosil Transferaz
ÜNS	: Normal üst sınır
VEM	: Video-EEG Görüntüleme

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi; kortikal nöronlardaki anormal ve aşırı elektriksel deşarj sonucu ortaya çıkan, ani, tekrarlayıcı, kontrolsüz bir şekilde ortaya çıkan istem dışı titremelere neden olan epilepsi nöbetleri ile karakterize bir durumdur (Akdağ vd., 2016; Meyer vd., 2009). “Epilepsi sendromu” sadece nöbet oluşumu ile değil, benzer nöbet tipleri, başlangıç yaşı, EEG bulguları, tetikleyici faktörler, genetik, ve antiepileptik ilaçlara (AEİ'lere) cevap ile birlikte sürekli olarak ortaya çıkan bir grup klinik özelliği ifade etmektedir. Bu rahatsızlığın bireylerde ortaya çıkmasının beyin işlev bozukluğunu yansıtan birçok nedeni vardır (Stafstrom ve Carmant, 2015).

Nöbetin tipi, epilepsi sendromu, hastanın olası tutum ve davranışları, yaşam koşulları, psikososyal durumu göz önünde bulundurularak epilepsi tedavisini planlanmalıdır. Herhangi bir yan etkiye yol açmadan, nöbetleri tamamen ortadan kaldırmak ve ya sıklığı mümkün oldukça azaltmak, uzun dönemli tedaviyle ilişkili yan etkileri minimalde tutmak ve hastanın normal psikososyal ve iş uyumunu koruması ya da yeniden sağlamasına yardım etmek epilepsi tedavisinde temel hedeflerdir (Toklu, 2015). Tedavide kullanılan AEİ'ler hastanın cinsiyeti, yaşı, nöbet tipi, başka aldığı ilaçlar ve varsa hastalıkları, yaşam tarzı ve tercihleri gibi faktörler dikkate alınarak seçilmelidir (Akpınar vd., 2015).

Sık kullanılan AEİ'lerden biri olan karbamazepin, fokal (kompleks parsiyel) ve jeneralize tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde etkili olduğu bilinmektedir (Vickery vd., 2017). Perampanel ise, 12 yaş ve üstü hastalarda kısmi başlangıçlı, birincil jeneralize tonik-klonik nöbetlerin ek tedavisi için kullanılan yeni nesil bir antiepileptiktir (Faulkner, 2014).

Uzmanlar tarafından yapılan, ilaçlar ile indüklenen karaciğer hasarının önlenmesi ve kontrolüne ilişkin klinik ve temel araştırmaları sonucunda, yaygın olarak kullanılan bazı antiepileptik ajanların idiyosenkratik kaynaklı karaciğer hasarına yol açtığı öğrenilmiştir. Bu ajanların hepatotoksisitenin arkasındaki patofizyolojik mekanizmalar hakkında çok sınırlı bilgi bulunmaktadır (Pandit vd., 2012; Björnsson, 2008). Hepatotoksisitenin *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda belirlenmesi hem farmakoloji uzmanları hem de kimyacılar için güvenli ilaç tasarımı konusunda bilgilendirmek için araçlar sağlayabilecek ve ilaç geliştirme hızını hızlandırabilecektir (Antoine vd., 2009).

Bu doğrultuda, tez kapsamında hakkında hepatik advers etki potansiyeli ile ilgili kısıtlı veri bulunan perampanelin hepatotoksisite potansiyeli bilinen karbamazepine

kıyasla *in vitro* ortamda HepG2 hücre hattı kullanarak hepatotoksitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hepatotoksitenin belirlenebilmesi amacıyla MTT yöntemi ile inhibisyon konsantrasyonu 50 (inhibitory concentration- IC50) hesaplanacak, bu değerlerden hareketle hücre dizilerinde apoptotik/nekrotik hücre ölüm mekanizmalarının belirlenmesi, hepatik hasarın biyogöstergeleri olarak alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve üre düzeylerindeki değişikliklerin ölçülmesi amaçlanmıştır. Bunun dışında hepatotoksitede oksidatif stresin rolünün aydınlatılmasına yönelik hücre dizilerinde reaktif oksijen türlerinin (ROT) seviyeleri de belirlenecektir. Buradan elde edilecek sonuçlar ile hem bu önemli ilaç grubunun hepatotoksiste izlemi gerçekleştirilecek hem de prelinik dönemde tespiti oldukça zor olan fakat sonuçları yıkıcı olabilen ilaca bağlı hepatotoksiste için de diğer ilaçlar açısından yeni bir izlem metodu ortaya konmuş olacaktır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Epilepsi ile İlgili Genel Bilgiler

Epilepsi; tüm yaş, ırk, sosyal sınıf ve ülkelerde görülebilen kortikal nöronlardaki anormal ve aşırı elektriksel deşarj sonucu ortaya çıkan, ani, tekrarlayıcı, tanımlanabilen bir olayla tetiklenmemiş epilepsi nöbetleri ile karakterize bir durumdur (Akdağ vd., 2016; Görgülü ve Fesci, 2011). Epilepsinin çocukluk ve ergenlik çağında en sık görülen, erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en çok rastlanan nörolojik hastalık olduğu belirtilmektedir. (Bell ve Sander, 2001). Epilepsi dünya çapında yaklaşık 40 milyon insanda görülebilen yaygın ciddi beyin hastalığıdır. Hastaların %70 ila 80'inde epileptik nöbetler, uygun bir ilaç tedavisiyle tamamen önlene bilirse de, bazı hastalarda bazı hastalarda nöbetler mevcut ilaçlar tarafından tam olarak kontrol edilememektedir (Perucca, 1998).

Epilepsi, bilinç kaybı ve konvülsiyonlarla karakterize, sık görülen kronik bir hastalık olup çeşitli psikiyatrik bozukluklara yola açarak hastaların hem yaşam kalitesini, hem sosyal ve ailesel işlevselliği bozmaktadır (İzci, 2016). Epilepsinin ana semptomu olan ve kendiliğinden oluşan, tetiklenmeyen ve tekrarlayan nöbetler merkezi sinir sistemindeki nöron gruplarının ritmik ve senkron deşarjlarına bağlı geçici davranış değişiklikleri olmaktadır (Ak Sonat, 2009). Nöbetler, bilinç, davranış veya motor aktivitedeki herhangi bir paroksizmal rahatsızlığı işaret etmektedirler (Tucker, 2002).

Uluslararası Epilepsi birliği (ILAE) tarafından epilepsi ve epileptik nöbetler ile ilgili 2010 yılında modern terminolojiye uygun yeni sınıflandırılmalar önerilmiştir. Bu sınıflandırılmaya göre nöbetler genelleştirilmiş (jeneralize), fokal (kısmi) ve epileptik spazmlar olarak 3 kategoride sınıflandırılmıştır. Jeneralize nöbetler bilateral dağılımlı nöronal ağlarda başlayarak tüm beyni etkilemekte ve her zaman bilinç kaybı ile seyretmektedir. Beynin yalnızca belli bir kısmının etkilendiği ve bilinç kaybının her zaman eşlik etmediği epileptik nöbetler ise parsiyel (kısmi) nöbetlerdir (Çakıl vd., 2013; Stafstrom ve Carmant, 2018). ILAE tarafından 2017 yılında güncellenen yeni sınıflandırmada ise fokal başlangıçlı, jeneralize başlangıçlı ve başlangıç yeri bilinmeyen nöbetler olarak gösterilmiştir (Pack, 2019). Fokal nöbetlerin ILAE 1981 sınıflamasına esasen basit parsiyel, kompleks parsiyel ve sekonder jeneralize nöbetler olarak alt sınıfları mevcuttur. Jeneralize nöbetler ise absanslar, miyoklonik nöbetler, atonik, tonik, klonik ve jeneralize tonik klonik nöbetler olarak alt gruplara ayrılmaktadır (Gül ve

Çokar, 2015). Tonik nöbetler sürekli, klonik nöbetler ise ani ve kesintili kas kasılmaları olarak ortaya çıkmaktadır (Ak Sonat, 2009). Başlangıç yerine göre epilepsi sendromu genellikle çocukluk ve genç erişkinlik döneminde başlayan ve nedeni bilinmeyen (idiyopatik) ve nedeni bilinen (semptomatik) olarak iki kategoride sınıflandırılmaktadır. İdiyopatik epilepsi sendromunda genetik yatkınlık söz konusudur ve esas belirtiler nöbetler olmaktadır. Semptomatik epilepsi beyinde bilinen veya olası bir hastalığa bağlı olarak kalıtsal metabolik hastalıklar, endokrin bozukluklar, kafa travması, beyinde yer kaplayan lezyonlar, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları (menenjit, ensefalit), çeşitli metabolik anormallikler (hipoglisemi, hipokalsemi, hiponatremi), çeşitli toksinler, alkol yoksunluğu, AEİ'nin kesilmesi ya da doz aşımı gibi nedenlerden dolayı ortaya çıkmaktadır (Çakıl vd., 2013; Akdağ ve ark., 2016).

Epilepside ilk basamak tanının doğru teşhis edilmesi ve ilaç tedavisine gerek olup olmadığının belirlenmesidir. Tanıyı desteklemek ve kesinleştirmek için EEG, görüntüleme teknikleri - BT (bilgisayar tomografi), MR (manyetik rezonans), SPECT, video-EEG (video-elektroensefalogram) monitörizasyonu vs. gibi yöntemler kullanılmaktadır. Non-invaziv ve ucuz bir yöntem olan elektroensefalogram (EEG) insanda kafatasının üzerinden, saçlı deriden kaydedilen beyin dalgalarıdır (Çakıl vd., 2013). Elektroensefalografi (EEG), epileptojenik korteksi tanımlamak için en spesifik yöntem olup, epilepsi sendromunda karakteristik bulguları ortaya koymaktadır (Noachtar ve Remi, 2009). Kesinleşmiş epilepsi tanısı olan hastalarda hastalığı sınıflandırma, fokal veya lateralize epileptik odak olduğunu tanımlama ve tedavi yöntemini seçme gibi durumlarda EEG yöntemi kullanılmaktadır. Fakat bazı durumlarda non-epileptik nöbet ve epilepsi ayırımında EEG ve diğer anamnez, klinik muayene gibi yöntemlerle bir karara varılamayabilmektedir (Çakıl vd., 2013). Bu durumda epilepsi hastalarında epileptojenik bölgeyi beyinde tahmin etmek ve nöbet tipinin doğrulanması için kullanılan en önemli araç olan video-EEG görüntüleme (VEM) yöntemi kullanılmaktadır. Acil durumlarda bilgisayar tomografi (BT) de yararlı olmaktadır. Fakat bu yöntemle hastaların sadece %30-unda fokal lezyon tespit edilebilmektedir. Fokal epilepsilerin araştırılmasında kullanılan manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemi epilepsi etiyolojisinin belirlenmesini ve mümkün olduğu durumlarda ön-cerrahi değerlendirmeyi sağlamaktadır (Guerreiro, 2016). Radyologlar, nörologlar ve beyin cerrahları epilepsi ile ilgili anormallikleri tespit etmek için MR görüntülemenin BT'den çok daha duyarlı olduğu düşünmektedirler (Broen vd., 1996).

Fokal epilepsiler için cerrahi müdahaleyi kolaylaştırmak amacıyla iktal odaklanmanın belirlenmesine ve doğrulanmasına yardımcı olmak için pozitron emisyon tomografisi (PET) ve tek foton emisyonlu BT (SPECT) gibi fonksiyonel görüntüleme çalışmaları kullanılmaktadır (Guerreiro, 2016).

Epilepsili hastalarda ölüm oranı genel popülasyondan iki-üç kat daha fazla olup, epilepsi süresi ve tipi, nöbet sıklığı, cinsiyet ve yaş gibi risk faktörleri ile ilişkilidir (Ding ve Hauser, 2011).

2.2. Epilepsi Tedavisi ve Antiepileptik İlaçlar

Epilepsi tanısı alan bir kişide AEİ tedavisine başlamadan önce epilepsi tanısının doğru konması ve ilaçla tedaviye gerek olup olmadığına karar vermek, nöbet tipi, epilepsi sendromu, nöbetlerin beklenen doğal seyri ve rekürrens riskinin belirlenebilmesi gerekmektedir. Epilepsi tedavisinde nöbetleri ortadan kaldırmak ve ya sıklığı mümkün oldukça azaltmak, uzun dönemli tedaviyle ilişkili yan etkileri minimalde tutmak ve hastanın normal psikososyal ve iş uyumunu koruması ya da yeniden sağlamasına yardım etmek temel hedeflerdir (Toklu, 2015). Bu, hedef terapötik dozlarda uygun şekilde seçilen tek bir AEİ kullanan hastaların yaklaşık % 50-70'inde başarılı olmaktadır (Panayiotopoulos, 2005).

AEİ'lerle tedavi hastada ilk nöbetten sonra nörolojik bozukluk olması, EEG'de patolojik bulgular saptanması, MRG'de yapısal lezyon olması, hastada ikinci nöbet riskinin var olması gibi durumlarda düşünülmektedir (Toklu, 2015). Epilepsi hastalarının %60-70'inde etkili olan AEİ'ler esas olarak merkezi sinir sistemine zarar vermeden ve solunumu deprese etmeden epileptik nöbetlerin baskılanması için kullanılmaktadır. AEİ'lerin sinapslardaki iletimi engellemek suretiyle yüksek frekanslı düzensiz deşarjların yayılmasını bloke ederek nöbet oluşumunu engelledikleri düşünülmektedir (Ak Sonat, 2009).

Antiepileptiklerle tedavi kişiye özgü olmalı ve hastanın cinsiyeti, yaşı, nöbet tipi, başka aldığı ilaçlar ve varsa hastalıkları, yaşam tarzı ve tercihleri gibi faktörler de göz önünde bulundurulmalıdır (Akpınar vd., 2015). Doğurganlık çağındaki kadınlar, hamile kadınlar, yaşlı hastalar tedavi edilirken bazı durumlar dikkate alınmalıdır. Çocuk doğurma çağındaki kadınlarda hormonal kontraseptif ilaçların ilaç etkileşimi düşünülmeli, hamile kadınlarda AEİ'lerin fetüs üzerine potansiyel yan etkileri ile nöbetlerin anne ve fetüs üzerinde neden olabileceği riskler göz önünde

bulundurulmalıdır. Yaşlılarda tedavi için AEİ seçerken yaşlılık veya diğer hastalıklar nedeni ile kullanılan ilaçların etkisiyle oluşabilen önemli farmakokinetik değişiklikler hesaplanmalıdır (Toklu, 2015). Epilepsi tedavisinde ilk olarak tekli ilaç kullanımına başvurulmaktadır. Eğer ilk iki monoterapi denemesinde olumlu sonuç alınmazsa ilaç kombinasyonları kullanılmaktadır. Genel olarak olguların %65-70'inde doğru seçilmiş ilk ilaçla nöbet kontrolü sağlanmaktadır (Saltık, 2014).

Mümkünse çoklu ilaç alımından (politerapi) kaçınılmalıdır, ancak tek ilaç tedavisine cevap vermeyen hastaların yaklaşık % 30-50'sinde bu durum kaçınılmazdır (Panayiotopoulos, 2005).

Politerapi sırasında birbiri ile geçimsiz ilaçların kullanılmamasına dikkat edilmeli, sinerjik etkili olduğu bilinen AEİ'ler tercih edilmelidir. Eğer ilk AEİ ile döküntü veya idiyosenkratik reaksiyon veya advers etkiler ortaya çıkarsa nöbet kontrolü sağlanamamakta ve alternatif monoterapi denenmektedir. İlaç etkileşimi olmaması, hastanın daha iyi uyum göstermesi, yan etki olasılığının düşük olması, yaşam kalitesinin daha yüksek olması ve maliyetin daha ucuz olması gibi sebeplerden monoterapi politerapiye göre daha avantajlıdır. Etkinlik ve tolerabilite açısından monoterapiye üstünlük sağlarsa politerapi verilebilir. İkinci ilaç başladıktan sonra, birinci ilaç yavaşça kesilmelidir. Bunun dışında tedaviye en düşük etkili dozla başlanmalı ve kullanılan ilacın miktarı vücut ağırlığına göre hedeflenen idame dozuna ve etkin plazma seviyesine ulaşana kadar yavaşça arttırılmalıdır (Saltık, 2014).

Tek başına ve kombine şekilde yüksek dozlarda kullanılan AEİ'lerle tedaviden sonuç alınamaması gibi durumlarda dirençli epilepsi söz konusu olmaktadır. Bu durumda cerrahi tedaviye de başvurula bilinmektedir (Akdağ vd., 2016). Bunun dışında tekrarlayan nöbetlerin beyinde ilerleyen serebral dejenerasyona ve daha ciddi klinik engellere neden olması ve ya AEİ'lerin uzun süreli kullanımı sırasında toksik etkiler görülebilmesi de cerrahi tedavi gerektiren sebepler olmaktadır (National Institutes of Health Consensus Conference, 1990).

Klinik nöbetlerin oluşumundan sorumlu kortikal alan olan epileptojenik alan (çıkarılması ile nöbetlerin tamamen durduğu minimal kortikal alan), nöbet başlangıç alanının (klinik olarak nöbetleri başlatan kortikal alan) tamamen çıkarılması ya da tamamen bağlantılarının kesilmesi epilepsi cerrahisindeki en önemli hedeflerdir. Cerrahi müdahale sırasında kritik (eloquent) kortekse zarar verilmemelidir. Cerrahi müdahale ile meziyal temporal lob epilepsisi, iyi sınırlanmış neokortikal lezyonlar, hemisferik

lezyonlar, büyük destrüktif/atrofik lezyonlar gibi bir takım sorunları tedavi etmek mümkündür (Erdoğan, 2014).

2.3. Antiepileptik İlaçların Sınıflandırılması

AEİ'ler, birinci, ikinci ve üçüncü jenerasyon olarak 3 grupta sınıflanmaktadır. İlk nesil 1857'den 1958'e kadar pazara giren potasyum bromid, fenobarbital, fenitoin, pirimidon, trimetadion, asetazolamid, mefenitoin, etosüksimid gibi çeşitli ilaçlar içermektedir. İkinci nesil AEİ'lere karbamazepin, valproat ve 1960 ile 1975 arasında tanıtılan bazı benzodiazepinler (örneğin: klonozepam) dahil olmaktadır. Son olarak klinik olarak terapötik seçenekleri genişleten üçüncü nesil AEİ'lere ise pregabalin, vigabatrin, lamotrigin, zonisamid, topiramat, okskarbazepin, felbamat, gabapentin, tiagabin, levetirasetam, rufinamid, lakosamid, eslikarbazepin gibi ilaçlar dahil olmaktadır (Löscher ve Schmidt, 2011).

2.3.1. Birinci jenerasyon antiepileptik ilaçlar

2.3.1.1. Asetazolamid

Asetazolamid (N-5-(sülfonil)-1,3,4-tiadiazol-2-il-asetamid) ilk olarak 1952 yılında laboratuvarında bir antikonvülsan olarak tanımlanmasının ardından 1956'da nöbet önleme aktivitesinin olduğu kanıtlanmıştır. Asetazolamid konjestif kalp yetmezliğine bağlı ödem, ilaca bağlı ödem, kronik basit glokom, sekonder glokom tedavisinde, petit mal ve lokalize olmayan nöbetlerin, refrakter fokal ve jeneralize epilepsilerin yardımcı tedavisinde kullanılmaktadır. Genel olarak tüm nöbet tiplerinin yardımcı tedavisinde ve çoğu durumda, 250-750 mg/gün dozlarında kullanılmıştır. Asetazolamid, diğer antikonvülsanlara göre daha düşük toksisite potansiyeline sahip olup, belirgin doz titrasyonuna ihtiyaç duyulmadan aralıklı olarak nöbet kontrolü için verilebilmektedir. Ketojenik diyet veya topiramat ve zonisamid gibi karbonik asidraz inhibitörleri ile birlikte kullanıldığında, metabolik asidoz ve böbrek taşları riskini arttırabilmektedir (Hovinga, 2010). Bunun dışında geçici, hipokalemi, hafif poliüri, huzursuzluk, parestezi, anoreksi, baş ağrısı, bulantı, ishal ve uyuşukluk asetazolamidin sık görülen advers etkileridir (Chapman ve Wheles, 2010).

2.3.1.2. Bromidler

Bromidler özellikle de potasyum bromid, bilimsel klinik etkinlik raporlarının ardından kullanılan ilk "modern" antikonvülsan olarak kabul edilmiştir. Bromitler, 1912 yılında fenobarbital ortaya çıkana kadar, 50 yıldan uzun süredir bilimsel olarak onaylanmış olan antikonvülsan ajan olarak kalmıştır. Bromitlerin epilepsi tedavisinde yıllar içinde, büyük ölçüde kayda değer toksisitesinin görülmesinin ardından kullanımı azalsa da çok ciddi bebeklik veya çocukluk dönemi başlangıçlı epileptik ensefalopati formlarının tedavisinde faydalı olmaktadır (Nikanorova vd., 2011). Her ne kadar belirgin nefrotoksosite ve ototoksosite ile akut zehirlenme vakaları bildirilmiş olsa da, kronik toksisi de görülebilmektedir. Kronik zehirlenme, güçsüzlük, yorgunluk, baş ağrısı, sinirlilik, psikoz, huzursuzluk ve bazen koma gibi advers etkiler de söz konusudur (Uthman, 2011).

2.3.1.3. Mefenitoin

Mefenitoin (metoin: 3-metil-5-etil-5-fenildantoin), 218,25 moleküler ağırlığa ve 137-138°C erime noktasına sahip olan beyaz kristal maddedir. Mefenitoin en yaygın jeneralize konvülsif nöbetlerin, jeneralize olan ve jeneralize olmayan parsiyel nöbetlerin tedavisinde etkili olmaktadır. Hızla ve oldukça tamamen emilim gücüne sahip olan mefenitoinin önerilen başlangıç günlük dozlar çocuklarda 150 mg, yetişkinlerde ise 300 mg arasında değişmektedir (Kutt ve Harden, 1999). Mefenitoin merkezi sinir sisteminde ataksi, konfüzyon, baş dönmesi, uyuşukluk, heyecan, yorgunluk, ateş, baş ağrısı, periferik nöropati, sedasyon, kekemelik, titreme gibi yan etkilere yol açabilmektedir. Bunların dışında Gingival hiperplazi, nistagmus, ishal, bulantı, agranülositoz, lökopeni, trombositopeni deride döküntü, Stevens-Johnson sendromu, toksik epidermal nekroliz, lenfadenopati, sistemik lupus eritematozus gibi birçok advers etkileri de bulunmaktadır. Mefenitoinin potansiyel olarak tehlikeli etkileri nedeniyle, yalnızca diğer ilaçlar etkisiz olduğunda kullanılması önerilmektedir. İlacın aniden kesilmesi status epileptikusa neden olabileceğinden dikkat edilmesi gerekmektedir (Jones ve Bartlett Learning, 2015).

2.3.1.4. Trimetadion

Trimetadion bir oksazolidin türevi olup, refrakter devamsızlık nöbetlerinin tedavisinde etkili olmaktadır. Trimetadion oral yolla verildiğinde hızlı bir şekilde emilerek plazma proteinlerine bağlanması yavaşlanmaktadır. Trimetadion, aktif bir antikonvülsan olan dimethadiona indirgenir ve dimethadiona dönüşüm oranı hızlıdır, ancak eliminasyon hızı yavaştır. Trimetadion kullanımı sırasında hematolojik advers etkiler (nötropeni, pansitopeni), hemeralopia (gün körlüğü), fotofobi, diplopi, dermatolojik advers etkiler, santral sinir sistemi advers etkileri uyuşukluk, tolerans, nefrotoksik sendrom (albuminüri) ve fetal trimethadion sendromu gibi teratojenik etkiler görülmektedir (Ebadi, 1998).

2.3.1.5. Etosüksimid

Etosüksimid absans nöbetlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Klinik ve deneysel nöbetler üzerindeki son derece seçici etkisi ile bilinen etosüksimid epilepsi hastalarının %50'sinde absans nöbetlerini kontrol eder ve bu nöbet sıklığını % 40 ila %45 oranında azaltmaktadır (Sherwin, 2002). Süksinimitler arasında, etosüksimid, yoksunluk nöbetlerine karşı en yüksek etkinliğe ve en az toksisiteye sahip antiepileptiktir. Bu etkinlik ve güvenlik kombinasyonundan dolayı, etosüksimid, 1958'de piyasaya sürülmesinden bu yana absans nöbetleri için birinci basamak tedavi olarak kabul edilmiştir. Etosüksimidin tedavi edici özelliklerinin yanı sıra anksiyete, depresyon, görsel ve işitsel halüsyonlar, aralıklı bilinç bozukluğu gibi advers etkileri de görülmektedir. Uzun süreli tedaviden kaynaklanan etosüksimidin olumsuz etkileri kümülatif dozla ilgili olmaktadır. Birkaç yıl etosüksimid tedavisi sonrasında ciddi bradikinezi ve parkinson sendromu da görülebilmektedir (Glauser ve Morita, 2006). Uyuşukluk, baş dönmesi, bulantı ve kusma gibi sık görülen etkilerin yanı sıra kan disrazileri, sistemik lupus eritematoz gibi ciddi yan etkiler de söz konusudur. Dikkat edilmesi gereken bir diğer durum ise, hastanın önceden var olan böbrek veya karaciğer hastalığının belirlenmesidir (Venable ve Jenkins, 2009).

2.3.1.6. Primidon

Primidon kimyasal olarak 5-etil dihidro-5 fenil-4,6 formülüne sahip olup erişkin hastalarda kısmi ve sekonder jeneralize tonik-klonik nöbetlerde feniton ve

karbamazepin kadar etkili olduğu bilinmektedir. Primidonla uzun süreli tedaviler sırasında pirimidon tek başına değil, aktif metaboliti fenobarbital ile birlikte etki eder. Primidon, aşırı düşük çözünürlüğünden dolayı parenteral olarak değil, 250 ve 50 mg-lık tabletler ve şurup (50mg/mL) olarak verilmektedir. Tablet oral yolla alındıktan sonra çocuklarda ilk dozdan 4-6 saat, yetişkinlerde ise yaklaşık 3 saat sonra serum seviyelerinde tespit edilebilmektedir. Primidonla birlikte bazı ilaçların, örneğin asetazolamidin kullanımı, primidonun emilimini azaltabilir. Primidonla tedavi sırasında nörotoksik yan etkilerin sıklığında artış görülebilmektedir. Fenobarbitala alerjisi olan hastalara primidon verilmemelidir. Bazı hastalarda, düşük dozlarda primidon kullanımından sonra uyku hali, ataksi, baş dönmesi, bulantı ve kusma gibi advers etkilere rastlanmaktadır (Wheless vd., 2009).

2.3.1.7. Fenobarbital

Fenobarbital (5-fenil-5-etilbarbitürik asit) bir antikonvülsan ilaç olup, her yaştaki hastalarda jeneralize tonik-klonik ve parsiyel nöbetleri tedavi etmek için kullanılmaktadır (Pacifci,2016; Patsalos ve Bourgeois, 2014). Etki mekanizması: γ -aminobütirik asit (GABA) inhibisyonunun artırılması, klorür iyonifonunun açıklığını uzatarak postsinaptik GABA-A reseptör aracılı klorür akımlarını artırılması, kalsiyum bağımlı etki potansiyellerinin konsantrasyona bağlı azalması ile gerçekleşmektedir. Oral yolla tablet kullanımından ve parenteral yolla çözeltisinin intramüsküler uygulamasından sonra fenobarbitalın biyoyararlanımı %90'ın üzerindedir. Fenobarbitala tedavinin amacı nöbetlerin hafifletilmesi yönündedir. Fenobarbital yenidoğanlarda ilk seçenek ilacı olsa da, status epileptikusun intravenöz tedavisi için benzodiazepin ve fenitoinden sonra üçüncü seçenek bir ilaçtır (Patsalos ve Bourgeois, 2014).Fenobarbital büyük ölçüde karaciğerde hepatik sitokromlar CYP2C9, CYP2C19 ve CYP2E1 tarafından metabolize edilmektedir. Ciddi advers etkileri az olan, düşük toksisiteye sahip bir ilaçtır. En sık görülen advers etkisi morbiliform döküntüdür ki, bunu da ilacın kullanımı devam ederken bile tedavi edilebilmektedir (Pacifci,2016). Fenobarbitalın toksik dozu advers etkileri önemli ölçüde değişir; genel olarak 1 g dozda ciddi advers etkiler üretir ve 2-10 g dozda ise genellikle ölümle sonuçlanabilmektedir. Nistagmus, ataksi, uyku hali, uyuşukluk, akciğer ödemi ve solunum yetmezliği fenobarbitalın olası advers etkileridir. Hemodiyalizle fenobarbitalı kandan uzaklaştırmak mümkündür ve bu nedenle aşırı doz fenobarbital alındığı durumlarda

yararlı bir işlem olarak kullanılmaktadır. Fenobarbitalın bağımlılık yapıcı etkisi de vardır ve uzun süreli kullanımında psikolojik ve fiziksel bağımlılık oluşabilmektedir (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

2.3.2. İkinci jenerasyon antiepileptik ilaçlar

2.3.2.1. Karbamazepin

Karbamazepin hem dünya genelinde en eski AEİ'lerden biridir (Gierbolini vd., 2016). Voltaja duyarlı sodyum kanallarını bloke ederek ve hiperaktif sinir membranlarını stabilize ederek tekrarlanan nöronal boşalmayı engellemektedir (Satar vd., 2016). Fokal epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında yer almaktadır (Berghuis vd., 2017). Karbamazepin kısmi nöbetler, jeneralize tonik-klonik, karışık nöbet düzenleri, akut mani, karışık mani, glossofaringeal nevralsi, bipolar depresyon, psikoz olduğu durumlarda reçete edilmektedir. Karaciğerde metabolize olarak renal yolla atılmaktadır. Aktif metaboliti karbamazepin-10,11 epoksittir (Stahl, 2006). Epilepsi hastalarında karbamazepin ile tedavinin güvenli ve etkili olmasının yanı sıra, yaklaşık % 30 ila 40 arasında hastaların tedaviye iyi yanıt vermediği de bilinmektedir. Örneğin, terapötik dozlarda karbamazepin kullanımı, merkezi sinir sistemi ve gastrointestinal sistemi etkilemekte ve sedasyon, ataksi, baş dönmesi, bulantı, kusma, kabızlık ve diyare gibi yan etkiler söz konusu olmaktadır. Karbamazepin ile uzun süreli tedavinin, plazma lipidlerini değiştirebildiği, seks hormonlarının konsantrasyonunu değiştirdiği, hiponatremiye neden olduğu, iştahı arttırdığı ve kilo alımına sebep olduğu, beyaz kan sayısını azalttığı, hücreleri ve birkaç alerjik reaksiyonu indüklediği de belirlenmiştir (Ambrosio vd., 2002).

2.3.2.2. Valproik asit

Valproik asit molar kütlesi 144,211 g/mol olan ve $C_8H_{16}O_2$ formülüne sahip renksiz sıvı halinde yağ asitidir. Formülasyonlarının çoğu tuzlar (magnezyum valproat, sodyum valproat) olduğundan, valproik asit genellikle valproat olarak adlandırılmaktadır. Kompleks parsiyel nöbetlerde, basit ve karışık absans nöbetlerinde monoterapi ve ya ek tedavi olarak, yokluk nöbetlerini içeren çoklu nöbet tiplerinde ise sadece ek olarak kullanılmaktadır. İdiyopatik jeneralize epilepsilerde valproik asitle

tedavinin amacı sadece tam nöbet kontrolü değil, aynı zamanda EEG'nin normalleştirilmesi yönündedir (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

Valproik asit farklı psikiyatrik ve nörolojik durumlarda, epilepsi, nöropatik ağrı, tremor ve migren profilaksisinde, bipolar affektif bozukluklarda, şizoaftif bozukluklarda, şizofrenide de yaygın olarak kullanılan bir AEİ'dir (Apa vd., 2018; Dumanlı Özcan vd., 2016). Bu ilaç voltaja duyarlı sodyum kanalları üzerinden gama aminobütirik asidin (GABA) etkilerini arttırarak etki etmektedir. Bunun dışında valproik asidin sinyal transdüksiyon sistemi ara kademeleri üzerinde düzenleyici etkileri de bulunmaktadır. Voltaj kapılı sodyum kanallarından iyonların geçişini yavaşlatarak abartılı nöronal iletiyi hafiflettiği, sodyumun nöronlara geçişini azaltarak glutamat salınımını azalttığı ve eksitator nöronların inhibe olmasını sağladığı bilinmektedir. GABA'nın salıverilmesini arttırarak, geri alımını azaltarak veya yıkımını yavaşlatarak inhibitör etkiyi arttırmaktadır (Apa vd., 2018). Tedavi edici özelliğinin yanı sıra bulantı, diyare, kusma, pankreatit, metabolik etkiler arasında lökopeni, anemi, trombositopeni, kanama, hipofibrinojenemi, yüksek anyon açıklı metabolik asidoz, hiperosmolarite, hipernatremi, hipokalsemi, hipoglisemi, methemoglobinemi, rabdomiyoliz, akut böbrek yetmezliği, solunum yetmezliği, hipotermi, hipotansiyon, taşikardi gibi advers etkileri de mevcuttur (Arslanköylü vd., 2017). Bunların yanı sıra beyin atropisi, nötropeni, kemik iliği baskılanması gibi hayatı tehdit edici tehlikeli advers etkileri de var olmaktadır. Karaciğer yetmezliği ile nadir görülen hepatotoksisite (özellikle 2 yaşın altındaki çocuklarda) bazen ciddi ve ölümcül olabilen yan etkisidir (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

2.3.2.3. Klonazepam

Klonazepam miyoklonik kasılmalar ve tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde kullanılan bir benzodiazepin türevi antiepileptiktir. Klonazepam kullanan hastaların yaklaşık %50-sinde ilacın geri çekilmesi sonucunda nöbetlerde şiddetlenme görülmektedir Diğer benzodiazepinler gibi, yalnızca öğrenme güçlüğü çeken insanlara son çare olarak reçete edilmelidir. Klonazepam, yoksunluk nöbetleri ile meydana gelen ani dalga deşarjını bastırır ve motor nöbetlerinde nöronal deşarjın sıklığını, süresini ve yayılımını azaltır. Terapötik dozu 20 ila 80 mg/mL'dir (Venable ve Jenkins, 2009) Klonazepam karaciğerde ilk olarak CYP3A4 ile 7-amino-klonazepam'a metabolize edilir. Sonra 7-amino-klonazepam sırasıyla 7-asetamido-klonazepam oluşturmak üzere

asetilasyonla, N-asetil-transferaz yoluyla metabolize edilir. Klonazepamın eliminasyonuna geldikde, sağlıklı yetişkinlerde yarılama ömür değerleri 17-56 saat, enzim indükleyici AEİ kullanan erişkin hastalarda 12-46 saattir (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

Klonazepam diğer benzodiazepinlerinkine benzer bir farmakolojik profile sahip olup, anksiyolitik, yatıştırıcı ve serotoninerjik özellikleri var olmaktadır. Klonazepam, merkezi serotonin sentezini uyararak GABA iletimini kolaylaştırır. Klonazepamın yüksek bağlanma afinitesi olup, nöbetler dışında çeşitli klinik durumlarda da etkinliğe sahiptir (Ganança vd., 2002). Klonazepam, tükürük salgısında artışa neden olabileceğinden tükürük artışının solunum zorluğuna neden olduğu hastalarda dikkatle kullanılmalıdır (Venable ve Jenkins, 2009). Sedasyon, yorgunluk, depresyon, uyuşukluk, ataksi, konuşma, baş dönmesi, sinirlilik, aşırı uyarılma, ağız kuruluğu advers etkileridir. Kronik kullanımda yoksunluk sendromu, solunum depresyonu, özellikle aşırı dozda santral sinir sistemi depresanları ile birlikte alındığında, nadiren karaciğer fonksiyon bozukluğu, böbrek fonksiyon bozukluğu, kan bozuklukları gibi hayatı tehdit eden etkileri de vardır (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

2.3.3. Üçüncü jenerasyon antiepileptik ilaçlar

2.3.3.1. Felbamat

Felbamat (2-fenil-1, 3-propandiol dikarbamat), $C_{11}H_{14}N_{12}O_{14}$ formülüne sahip, erime noktası 151-152°C olan ve suda nispeten çözünmeyen beyaz kristal bir tozdur. Lennox-Gastaut sendromunda (ek tedavi) kısmi ve sekonder jeneralize nöbetlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Sodyum kanallarının blokajı, $GABA_A$ aracılı inhibisyonun güçlendirilmesi ve N-metil-D-aspartat (NMDA) aracılı tepkilerin antagonizması ile etki etmektedir. Karaciğer toksisitesi ve aplastik anemi felbamatın ciddi advers etkileridir (Leppik ve White, 2009).

2.3.3.2. Gabapentin

Gabapentin 171,24 moleküler ağırlığa sahip, suda serbestçe çözünen amorf bir kristalin maddedir. Başlangıçta bir spazmolitik ajan olması amaçlanmasına rağmen, epilepsiyi tedavi etmek için geliştirilmiştir. İlk olarak gabapentin, 1993 yılı sonunda, 12 yaşın üzerindeki hastalarda sekonder jeneralize olan veya olmayan parsiyel nöbetlerin

tedavisi için yardımcı madde olarak 1993 yılının sonunda ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmasının ardından 2002 yılında, Amerika Birleşik Devletlerinde postherpetik nevraljinin tedavisi için de onaylanmıştır (Mclean ve Gidal, 2010,). Gabapentinin, sedasyon ve yorgunluk, baş dönmesi, kilo alımı, ataksi, baş ağrısı, titreme, mide bulantısı ve diplopi gibi advers etkileri görülmektedir (Somerville ve Michell, 2009).

2.3.3.3. Lamotrijin

Lamotrijin (3,5-diamino-6- (2,3-diklorofenil) -1,2,4-trizin formülüne sahip 256,09g/mol moleküler ağırlıklı antiepileptiktir. Hücresel etki mekanizması hem voltaj hem de kullanıma bağlı nöronal sodyum kanallarının blokajı ile olan lamotrijin kısmi nöbetler, primer jeneralize tonik-klonik nöbetler ve genel Lennox-Gastaut sendromu nöbetlerinin tedavisinde kullanılmaktadır (Gilliam ve Gidal,2011). Baş dönmesi, ataksi, uyku hali, baş ağrısı, diplopi, bulanık görme, hafif bulantı ve eklem veya sırt ağrısı lamotrijinin sık görülen advers etkilerindendir (Sadock ve Sadock,1933).

2.3.3.4. Levetirasetam

Levetirasetam ((S)-alfa-etil-2-okso-1-pirolidin asetamid) $C_8H_{14}N_2O_2$ formülüne ve 170,21 moleküler ağırlığa sahip beyaz kristal tozudur (Patsalos ve Bourgeois, 2014).Levetirasetam önce 1999'da ABD ve 2000'de Avrupa'da onaylanmasının ardından 2006'da Kanada'da erişkin epilepsi hastalarında kısmi başlangıçlı nöbetlerin tedavisinde ek tedavi olarak kullanılmıştır. O zamandan beri, fokal nöbetlerde monoterapi olarak, kısmi ve genelleştirilmiş nöbet tiplerindeyse ek tedavi olarak kullanılan, genel olarak, tüm yaş gruplarına uygun bir AEİ olarak kendini kanıtlamıştır. Levetirasetamın ana mekanizması büyük olasılıkla kalsiyum ve elektrolitlerin elektriksel uyarılabilirliğini belirlediği sinir kanallarını etkilemesi ve inhibitör nörotransmitter GABA'nın baskılanmasını gerçekleştirmesi olduğuna dair kanıtlar var olmaktadır. Levetirasetam vücut tarafından hızla emilir, karaciğer metabolizması yoktur ve böbreklerden atılmaktadır. Levetirasetam kullanımı sırasında yorgunluk, baş dönmesi, göz titremesi (nistagmus), bazı durumlarda, alerjik reaksiyonlar ve döküntüler gibi yan etkileri de görülebilmektedir (Pohlmann-Eden ve Steinhoff, 2014).

2.3.3.5. Okskarbazepin

Okskarbazepin 10,11-dihidro-10-okso-karbamazepin formülüne ve 252,28 molekül ağırlığına sahip, suda çok düşük bir çözünürlüğü olan bir lipofilik bileşiktir. Kimyasal ve yapısal olarak karbamazepine benzemesine rağmen biyotransformasyonları tamamen farklıdır. Okskarbazepin ilk olarak 1900 yılında Danimarka'da tanıtılmasının ardından dünya çapında 31 ülkede monoterapide ve kısmi nöbetler, sekonder jeneralize nöbetler ve birincil jeneralize tonik klonik nöbetler için ek tedavi olarak kullanılmaktadır. Okskarbazepin, aktif bir monohidroksi türevine (10-hidroksi-karbamazepin) indirgenerek hızla metabolize olur ve bu metabolitin de ilacın antiepileptik etkisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (Schachter, 1999). Okskarbazepinin advers etki profili karbamazepine benzer olup, uyku hali veya sedasyon, baş ağrısı, baş dönmesi, ataksi, kusma, bulantı, yorgunluk, ve diplopi en sık görülen advers etkileri olmaktadır (Garnett vd., 2006).

2.3.3.6. Topiramat

Topiramat, 2 yaş ve üstü hastalarda kısmi başlangıçlı primer jeneralize tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde monoterapide kullanılan antiepileptiktir. Monoterapi dışında, 2 ila 16 yaşları arasındaki yetişkinler ve pediatrik hastalarda kısmi başlangıçlı nöbetler veya primer jeneralize tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde; 2 yaş ve üzeri hastalarda Lennox-Gastaut sendromu ile ilişkili nöbetlerin tedavisinde ek tedavi olarak da kullanılmaktadır. Topiramat migren hastalığının tedavisinde de (http-1). Topiramat sodyum ve kalsiyum kanalını bloke edici aktiviteye sahip, GABA aktivitesini kuvvetlendiren ve glutamat salınımını inhibe eden geniş spektrumlu bir AEİ'dir. (Snozek vd., 2012). Topiramatin sürekli kullanımı sırasında tolerans gelişebilir. Merkezi sinir sistemi veya karbonik anhidraz inhibisyonu ile ilişkili olarak bazı advers etkiler görülebilmektedir. Yorgunluk, uyku hali, baş dönmesi, ataksi, konfüzyon, dışında diplopi, bulanık görme ve akut kapalı açılı glokom gibi görsel rahatsızlıklar topiramatin olası advers etkileridir (Kanous ve Gidal, 2004).

2.3.3.7. Zonisamid

Zonisamid (1,2-benzisoksazol-3-metansülfonamid), erişkin epilepsi hastalarında kısmi nöbetlerin tedavisinde ek tedavi olarak kullanılmaktadır. Etki mekanizması kesin

olarak bilinmese de, sodyum kanallarını bloke ederek geçici iç akımları (T-tipi Ca^{2+} akımları) azaltması, böylece nöronal membranları stabilize ederek nöronal hipersenkronizasyonu bastırdığı düşünülmektedir. Zonisamid, kimyasal olarak bir sülfonamid olarak sınıflandırıldığı için bu ilaçlara alerjisi olan hastalara verilmemelidir (Phelps vd., 2006). Zonisamidle tedavi kapsül şeklinde ve günde 50 ila 100 mg'lık bir dozda başlatılmalıdır. İki hafta sonra, doz 200 mg'a yükseltilebilir. Daha sonra günde 300 ila 400 mg'a çıkarılabilir. Zonisamidin emilimi iyi olup yiyeceklerle birlikte alınmasının biyolojik olarak kullanılabilirliği üzerinde hiçbir etkisi yoktur. Zonisamid, eritrositlere yoğun bir şekilde bağlanmaktadır. Zonisamidin eliminasyon yarı ömrü, plazmada 63, ve eritrositlerde ise yaklaşık 105 saattir. Zonisamidin yan etki profili, topiramatininkine çok benzer olup, uyku hali, halsizlik, ataksi, anoreksi, kilo kaybı, konsantrasyon zorluğu, hafıza ile ilgili zorluk, bulantı, kusma ve zihinsel yavaşlama gibi etkileri sık görülmektedir. Depresyon ve psikoz, psikomotor yavaşlama, konsantrasyon zorluğu, konuşma veya dil problemleri, özellikle kelime bulma zorlukları zonisamidin merkezi sinir sistemi ile ilgili advers etkileridir (Phelps vd., 2006).

2.3.3.8. Lakozamid

Lakozamid 2-asetamido N-benzil-3 metoksipropionamidin R-enantiyomeri olup, potansiyel antikonvülsan özelliklere sahip olacak şekilde özel olarak tasarlanmış bir fonksiyonelleştirilmiş amino asit sınıfına aittir. Lakozamid yetişkinlerde kısmi kompleks nöbetlerin tedavisinde ek tedavi olarak kullanılan yeni nesil AEİ'dir. Aslında spesifik bir antiepileptik olarak sentezlenen lakozamidin sonradan diyabetik nöropati ile ilişkili ağrını azaltılması dahil olmak üzere bir çok ilave farmakolojik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Lakozamidin iki ana etki mekanizması bilinmektedir. İlk mekanizması hızlı inaktivasyona müdahale etmeden seçici olarak voltaj kapılı sodyum kanallarının yavaş inaktivasyonunu arttırmaktır. İkinci etki mekanizması ise kollapsin cevap mediatör protein 2'yi inhibe ederek, kronik epilepside oluşabilecek nöronal büyümeyi inhibe etmektir (Sheth ve Abram, 2011). Lakozamitin biyoyararlanımı yüksektir; hızla emilir ve emilim oranı ve derecesi yiyeceklerden etkilenmemektedir (Chung, 2010). İlaç-ilaç etkileşimleri için düşük bir potansiyele sahiptir. Bu güne dek yapılan klinik çalışmalarda kontrolsüz kısmi başlangıçlı nöbetleri olan hastalarda genellikle iyi tolere edilerek nöbet sıklığının azaltılmasında yardımcı tedavi olarak etkinliği faydalı bir farmakolojik tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir (Ben-

Menachem, 2015). Lakozamidin akut nöbetlerin tedavisinde faydalı olduğu bilinse de, status epileptikustaki çalışmalar halen devam etmektedir. Baş dönmesi Lakozamid kullanımında en sık görülen advers etkidir. Bulantı ve kusma gibi mide-bağırsak rahatsızlıkları da görülmektedir (Sheth ve Abram, 2011).

2.3.3.9. Vigabatrin

Vigabatrin 4-amino-5-heksemoik asit içeren bir anti-epileptik ilaç olan Vigabatrin, serebral inhibitör nörotransmitter GABA'nın ana katabolik enzimi olan gama-aminobütirik asit aminotransferazın geri dönüşü olmayan bir inhibitörüdür (Rasmussen vd., 2015; Sander vd., 1991). Vigabatrin, oral uygulamadan sonra hızlı bir şekilde emilmekte ve 1-2 saat içinde en yüksek konsantrasyonlara ulaşmaktadır. Biyoyararlanımı yaklaşık %80'dir ve gıda alımı biyoyararlanımını etkilemez. Vigabatrin böbrek atılımı ile elimine edilir ve ilk dozun %70'i idrarda elimine edilmektedir. Serumdaki vigabatrinin eliminasyon yarı ömrü 6-8 saattir (Nikanorova vd., 2011). Vigabatrin, kullanımı sırasında sedasyon ve yorgunluk gibi advers etkiler görülebilmektedir. Daha önce psikoz öyküsü olmayan, ilacı alan hastaların %5'inde vigabatrine bağlı ajitasyon, sinirlilik, depresyon veya psikoz görülmüştür (Kanou ve Gidal, 2004).

2.3.3.10. Eslikarbazepin asetat

Eslikarbazepin asetat, (S)-10-asetoksi-10,11-dihidro-5H-dibenz[b,f]azepin-5-karboksamid, 296,32 molekül ağırlığına ve ampirik bir $C_{17}H_{16}N_2O_3$ formülüne sahip, beyaz-beyaz kristal tozdur (Patsalos, 2014). Eslikarbazepin asetat karaciğerde farmakolojik olarak aktif metaboliti olan eslikarbazepine hızla metabolize edilir. Renal yolla elimine olur ve eliminasyon yarı ömrü 12-20 saattir (Panayiotopoulos, 2010). Eslikarbazepin kısmi başlangıçlı (fokal) nöbetler için ek tedavi ve monoterapi olarak onaylanan yeni antiepileptiktir. İlacın etki mekanizması voltaj kapılı sodyum kanallarının yavaşça inaktive edilmesini arttırmak ve daha sonra hızlı halka nöronların aktivitesini azaltmak şeklindedir. Zayıf bir enzim indükleyicisi olup sitokrom P450 2C19'u inhibe etmektedir (Galiana vd., 2017). En sık görülen advers etkiler doza bağımlı gelişen hafif-orta şiddette baş dönmesi, baş ağrısı, diplopi, uyku hali gibi etkilere (Elger vd., 2009).

2.3.4. Antiepileptiklerle İndüklenen Hepatotoksisite

Epilepsili hastanın uzun dönem tedavisinde AEİ'lerin toksisitesi sınırlayıcı bir faktör olabileceğinden doktor, bu ajanların olası akut, kendine özgü advers etkilerinin farkında olmalıdır. AEİ'lerin advers etkileri merkezi sinir sisteminin yanı sıra endokrin, gastrointestinal ve immün sistemde de görülmektedir. Genellikle aşırı doz kaynaklı AEİ'lerin akut toksisitesi sonucu daha az sıklıkla alerjik veya kendine özgü bir reaksiyona sekonder durumlar görülmektedir. Merkezi sinir sistemindeki akut toksisite belirtileri genellikle ilaç dozu ağırlık ya da ilaç dozu-plazma konsantrasyon ilişkileri temelinde tahmin edilebilmektedir (Bruni, 2002).

Diğer ilaç grupları gibi antiepileptiklerin de birçok advers etkileri olduğu bilinmektedir. Yaygın olarak kullanılan bazı antikonvülsan ajanların (valproat, fenitoin, karbamazepin) idiyosenkratik kaynaklı karaciğer hasarına yol açtığı bildirilmiştir (http-2). Tarihte 1970'lerde ve 1980'lerde Danimarkalı yetkililere bildirilen geniş bir ilaç kaynaklı hepatotoksisite vaka serisinde, raporların %8,3'ü AEİ'dir. 20 yıl boyunca Yeni Zelanda'da da ilaca bağlı hepatotoksisite %6,8 sıklıkla bu ilaçlarla ilişkilendirilmiştir (Björnsson, 2008).

AEİ'ler akut karaciğer yetmezliğine neden olarak ölüm veya karaciğer transplantasyonuna yol açan çok ciddi ilaçlar sırasında olabilmektedirler. AEİ'nin neden olduğu hepatotoksisitenin arkasındaki mekanizmalar net olarak bilinmemektedir. Hepatotoksisitenin arkasındaki patofizyolojik mekanizmalar hakkında çok sınırlı bilgi bulunmaktadır. Epilepsi ilaçlarının reaktif metabolitleri, bazı durumlarda, doğrudan sitotoksisite ve karaciğer hücre nekrozuna yol açarken, bazı durumlarda ise immünoalerjik mekanizmaları indükleyen neoantijen oluşumuna yol açabilmektedir. (Pandit vd., 2012; Björnsson, 2008). Şiddetli karaciğer hastalığı olan kişilerde bu durum AEİ'lerin serum proteinlerine bağlanma kapasitesini etkileyerek toksisite riskini arttırmaktadır. Bu nedenle, bu hassas popülasyonda en uygun AEİ'nin seçilmesi son derece önemlidir (Vidaurre vd., 2017). AEİ'abağlı oluşan hepatotoksisiteyi önlemek için bazı durumlarda ilacın dozunu azaltmak yeterli olurken, bazı durumlarda ise düşük dozlarda bile ilaç kullanımını devam ettirmek güvenli olmamaktadır (Ahmed ve Siddigi, 2005). Fenitoin, karbamazepin veya valproat gibi klasik AEİ'ler çoğunlukla hepatik metabolizma yoluyla elimine edildiğinden bu ilaçların kullanımı karaciğer yetmezliği olan hastalarda problemlere neden olabilmektedir (Asconape, 2014).

Karaciğer enzimlerden AST, ALT veya safra akış kolestatizinde alkalın fosfataz (ALP) ve gama-glutamıl transferaz (GGT) tıkanıklığı hepatoselüler hasarın belirleyici olarak kabul edilmektedir. Karbamazepin, fenobarbital ve fenitoin gibi antiepileptikler güçlü enzim indükleyici, topiramat ise enzim indükleyici özellikleri zayıf bir antiepileptiktir. Birkaç haftadan bir aya kadar bu enzim indükleyicilerinden biriyle tedavi sonucunda, ALT, AST, ALP ve GGT' düzeylerinde yükselme görülebilmektedir. Spesifik olmayan bir karaciğer hastalığı belirteci olan GGT düzeylerinde, antiepileptiklerle tedavi sırasında yine sık sık yükselme görülebilmektedir. Valproik asit hariç, diğer antiepileptikler genelde yüksek amonyak seviyelerine yol açmamaktadır. Valproik asit tedavisi sırasında serum amonyağında iki ila üç kat yükselme ortaya çıkabilir ve bu genellikle önemsizdir. Bu yükselme muhtemelen, azalan mitokondriyal asetil CoA sentezinden kaynaklanır, bu da karbamoil fosfat sentetazın aktivatörü olan N-asetilglutamatta bir azalmaya yol açmaktadır (Ahmed ve Siddigi, 2005). Kısmi ve tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde kullanılan ve güçlü bir antikonvülsan ajan olan karbamazepin, karaciğerde granüloma oluşumuna, kolestatik ve hepatoselüler hasara yol açabilmektedir (Pandit vd., 2012; Morales-Diaz vd., 1999). Valproik asit ise hastaların %20'sinde herhangi bir karaciğer enziminin yükselmesine sebep olabilmekte ve karaciğer transaminazların yükselmesine yol açarak karaciğer fonksiyonunu bozmaktadır (Pandit vd., 2012; Longin vd., 2002).

2.4. Hepatotoksisite ile İlgili Genel Bilgiler

Karaciğer vücudumuzda çok önemli fonksiyonları yerine getiren, diğer organ ve sistemlerin normal fizyolojisini sürdürebilmesi için gerekli temel organdır. İnsan karaciğeri oksidasyon, konjugasyon, izomerizasyon, hidrasyon ve başka yollarla karbohidrat, protein ve yağların metabolizmasını kontrol ederek sindirim ve dolaşım sistemi üzerinde etki etmektedir. Çeşitli farmasötik ilaçlar, besin takviyeleri ve birçok kimyasal maddeler karaciğerde akut ve ya kronik olmakla siroz, hepatit, kolestatik sarılık, karaciğer kanseri gibi ciddi hastalıklara yol açabilmektedirler. Karaciğer hasarları – hepatotoksisite, hepatotoksisteye yol açan kimyasallara ise hepatotoksinler adı verilmektedir (Pandit vd., 2012; Thompson vd., 2017).

Şiddetli karın ağrısı, bulantı veya kusma, zayıflık, yorgunluk, yüksek bilirubin düzeyine bağlı olarak cildin, gözlerin ve mukoza zarlarının sararmasına neden olan sarılık (ikterus) görünümü, döküntüler, kaşıntı, ayakların ve bacakların şişmesi, açık

renkli dışkı ve koyu renkli idrar, kısa sürede anormal ve hızlı kilo alımı gibi semptomlar var ise hepatotoksisite söz konusu olmaktadır. Hepatotoksisite sırasında gelişen olası karaciğer hasarları arasında bölgesel nekroz, hepatit, kolestaz, steatoz, granülom, vasküler lezyonlar, neoplazma ve veno-oklüziv gibi hastalıklar yer almaktadır (Singh vd., 2011).

Bölgesel nekroz karaciğer lobülünün bir bölgesi ile sınırlı olup çok yüksek düzeyde ALT düzeyi ve akut karaciğer yetmezliğine yol açan karaciğer fonksiyon bozukluğu olarak kendini göstermektedir (Singh vd., 2011).

Bölgesel nekroza parasetamol ve karbon tetraklorid gibi eksojen maddeler neden olmaktadır (Boyd ve Bereczky, 1966; Mochizuki vd., 2009). Bunun dışında amatoksinler, RNA sentezinin inhibisyonuna bağlı protein sentezinin kesilmesine ve bunun sonucu olarak karaciğerin nekrozuna neden olmaktadır (Vetter, 1998).

Hepatit ise inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ile ilişkili bir hepatoselüler nekroz olup, viral, fokal ve kronik olmak üzere üç kategoride karakterize edilmektedir (Singh vd., 2011). Halotan immün aracılı hepatotoksisitenin bir örneği olup hem hayvan hem de insan çalışmalarında, hepatite neden olduğu bildirilmiştir (Murray vd., 2008). İzoniazid, asetaminofen, bromfenak, nevirapin, ritonavir, troglitazon ve fenitoin gibi maddeler akut hepatite neden olan ajanlar sırasında yer almaktadır (Kaplowitz, 2004; Saukkonen vd., 2006).

Kronik hepatit klinik, serolojik ve histolojik açıdan otoimmün hepatite benzer olup, dantrolen, diklofenak, metildopa, minosiklin ve nitrofurantoin gibi ajanlardan kaynaklanmaktadır (Singh vd., 2011; Kaplowitz, 2004).

Kolestaz etiyolojisi ile ilişkili olarak anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, sulindak, klorpromazin, eritromisin ve amoksisilin gibi maddeler kolestaza neden olmaktadır. Kolestaz tip karaciğer hasarı sarılık, kaşıntı ve safra akışı bozukluklarına yol açmaktadır (Singh vd., 2011; Kaplowitz, 2004).

Steatoz veya karaciğer yağlanması, obezite, insülin direnci ve muhtemelen trigliserit metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. İlaç kaynaklı steatoz vakalarının çoğu geri dönüşümlüdür (Saukkonen vd., 2006). Steatoz tip karaciğer hasarı trigliserid birikimi olarak ortaya çıkarak mikroveziküler ve makroveziküler karaciğer yağlanmasına neden olmaktadır. Mikroveziküler steatoza aspirin, ketoprofen, tetrasiklin, nükleozid ters transkriptaz inhibitörleri ve valproik asit yol açabilirken,

makroveziküler steatoza asetaminofen ve metotreksat gibi maddeler yol açmaktadır (Singh vd., 2011).

Hepatik granülomları, periportal veya portal alanlarda bulunan granülomlar ile ilişkili olup sistemik vaskülit ve hipersensitivitenin özelliklerini göstermektedir. Allopurinol, sülfonamidler, pirazinamid, fenitoin, izoniazid, penisilin ve kinidin gibi ilaçlar granülom tip karaciğer hasarına yol açmaktadırlar (Singh vd., 2011; Chang ve Schiano, 2007).

Kemoterapötik ilaçlar anabolik steroidler vasküler endotele zarar vererek vasküler lezyonlara neden olabilmektedirler. Vinil klorid, anabolik steroidler, arsenik ve torotrast gibi toksinlere uzun süre maruz kalınması sonucunda hepatoselüler karsinom, anjiyosarkom ve karaciğer adenomları gibi neoplazmalar gelişebilmektedir. Karaciğer damarının tıkanması karaciğere giden kan akışını engellemesi sonucu veno-oklüziv karaciğer hasarına neden olmaktadır. Pirolizidin alkaloidleri, busulfan ve siklofosfamid veno-oklüziv hasara yol açan ajanlardır (Singh vd., 2011).

2.4.1. İlaçlarla indüklenen hepatotoksisite

Olumsuz ilaç reaksiyonları karaciğer hasarının önemli nedenlerinden biri olmaktadır. ABD'de akut karaciğer yetmezliğinin en sık nedenleri ilaç kaynaklı hepatotoksisitedir. Karaciğer, ilaçların birçoğunu metabolize etmekten sorumlu olduğundan, ilaca bağlı hasarın ana hedefi bu organ olmaktadır. Anestezikler, antikanser ilaçlar, antibiyotikler, anti tüberküloz ajanlar, antiretroviraller ve kardiyak ilaçlar dahil olmak üzere birçok farmakolojik ajan karaciğer hasarını indükleyebilmektedir (David ve Hamilton, 2010). Bazı ilaçlar terapötik dozlarda kullanıldığında bile hepatotoksisiteye yol açabilmektedir. İlaça bağlı karaciğer hasarı yalnızca ilacın ana bileşiğinden değil; doğrudan ya da dolaylı olarak reaktif metabolitlerin oluşumu yoluyla da ortaya çıkmaktadır (Singh vd., 2011; Jaeschke vd., 2012).

İlaçlar hepatositlerde biyotransformasyon ile daha hidrofilik hale gelerek idrar veya safrayla atılmaktadır. Karaciğerde ilaçların uğradığı kimyasal değişiklikler iki büyük gruba ayrılmaktadır. Birinci grup faz I reaksiyonları yani oksidatif, redüktif ve hidrolitik reaksiyonları, ikincisi ise enzimatik sentezle ilaçlara genellikle polar yapıların bağlandığı faz II reaksiyonları; glukronat ve ya sülfat ile konjugasyon ve asetilasyon, metilasyon reaksiyonlarıdır. Endoplazmik retikulumda Faz I reaksiyonları ile metabolize olan ilaçlar aynı yerde ya da aynı hücrenin sitozol kısmında büyük ölçüde

P450 izoform (CYPlar) enzimleri ile art arda konjuge edilmektedir. P450 enzim sistemi; dışarıdan alınan ilaçlar, kimyasal maddeler, ensektisidler, petrol ürünleri gibi maddeleri metabolize eden sistemdir. Faz I reaksiyonları sonucunda oluşan metabolitler genellikle Faz II reaksiyonlarının substratları olmaktadır. Faz II reaksiyonları sayesinde ilaç molekülleri inaktif hale gelerek idrar veya safra ile atılabilen, suda çözünür metabolitler haline dönüştürülmektedirler (Özdemir ve Karakurt, 2016; Yüksel, 2001). Hepatotoksisiteyi sınırlamak için, Faz I ürünlerinin üretim oranı, karaciğerin bunları etkisiz hale getirme kapasitesini aşmamalıdır. Faz II konjugasyon reaksiyonlarından sorumlu bileşiklerin tükenmesi veya eksikliği, toksik metabolitlerin birikmesine neden olabilmektedir (David ve Hamilton, 2010).

2.4.2. İlaça bağlı karaciğer hasarının mekanizmaları

İlaç kaynaklı karaciğer hasarı ilaçların piyasadan çekilme nedenlerin biri olmaktadır (Holt ve Ju, 2006). Bu geri çekilmeler, ilaca ihtiyaç duyan hastalar için büyük ekonomik kayıp olduğu gibi ilaç üreticisi için de önemli maddi kayıplara yol açmaktadır (Aulbach ve Amuzie, 2017). Pazarlama için onaylandıktan sonra keşfedilen hepatotoksisite sebebiyle, trovafloksasin ve tolkapon dahil olmak üzere birçok ilacın kullanımını sınırlanmıştır (http-3).

Bazı ilaçlar hakkında karaciğerde hasara neden olduğu konusunda birçok vaka raporları mevcuttur. Bu vaka raporları klorpromazin, halotan, izoniazid ve amoksisilin-klavulanat gibi birçok ilacın hepatotoksisiteye neden olduğu hakkında bilgi sağlamıştır. Bazı ilaçlar ise yıllarca pazarlanmasına rağmen, hakkında sadece bir tek vaka raporu veya çok az karaciğer hasarı raporu yayınlanmıştır (Björnsson, 2016).

Hepatotoksisite mekanizmalarını incelemek için genelde, asetaminofen kullanılmaktadır. Asetaminofen terapötik dozlarda güvenli olan, fakat aşırı dozda, sentrilobüler hepatik nekroz oluşturarak akut karaciğer yetmezliğine yol açabilen popüler bir analjeziktir. (Holt ve Ju, 2006). Asetaminofenin yaklaşık %90'ı karaciğerde glukuronid (%40–67), sülfat (%20–46) veya sistein (%3) ile konjuge edilerek aktif ve zararlı olmayan metabolitlere dönüştürülmektedir. %10'luk kısım ise, sitokrom P450 enzim sisteminin CYP2E1, CYP1A2, CYP3A4 ve CYP2A6 alt grupları tarafından oksitlenerek yüksek miktarda toksik olan n-asetil-p-benzokinonimine (NAPQI) metabolize edilmektedir (Bertolini vd., 2006). Bu metabolit asetaminofenin doz aşımı

zamanı glutasyonu tüketir ve hücre proteinlerine kovalent bağlanmayı başlatır. Bunun sonucunda kalsiyum homeostazi, mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres gelişerek hücre hasar ve ölüme yol açabilir. Birçok ilaca bağlı hepatotoksisite örneğinde, hepatosit hasarının, diğer hücrelerin aktivasyonunu tetiklediği ve bu durumun, bir iltihabi reaksiyonu veya adaptif bir immün yanıtı başlattığı bilinmektedir (Holt ve Ju, 2006).

Karaciğerde ilaca bağlı toksik etkiye yol açan mekanizmalar genel olarak: Tip A intrinsik ve Tip B idiyosenkratik mekanizmalar olarak gruplandırılmaktadır. İntrinsik mekanizma doza bağımlı olarak gelişmektedir. Önceden tahmin edilebilmekte ve genellikle aşırı dozlarda ortaya çıkmaktadır. Direkt olarak hücre ve organellerde hasara neden olabilmektedir. Metabolik yollarla ve ya immün mekanizma üzerinde in direkt etki etmektedir. İdiyosenkratik mekanizma ise doza bağlı olmaksızın, önceden var olan karaciğer hastalıkları, yaş, cinsiyet, genetik ve çevresel faktörlerden kaynaklı ortaya çıkmaktadır. Sık görülmekte ve neredeyse tüm ilaç sınıfları idiyosenkratik tip hepatotoksisiteye yol açabilmektedir (Arıcı, 2008; David ve Hamilton, 2010). İdiyosenkrazi, klinik özelliklerin varlığına bağlı olarak alerjik veya alerjik olmayabilir. Alerjik hepatotoksisite immün aracılıklı olup ateş, döküntü ve adaptif bağışıklık sistemi ile ilgili diğer semptomlar gösteren klinik özellikleri vardır (Kaplowitz, 2004).

İlaç kaynaklı karaciğer hasarının ana kategorileri genellikle hepatoselüler, kolestatik ve ya karma (hepatokolestatik hasar) olarak sınıflandırılmaktadır. Akut hepatit (hepatoselüler hasar) serum aminotransferaz düzeyinin artması sonucu gelişebilmektedir (Ersoy, 2012; Göktaş vd., 2014). Bir hepatoselüler hasar artışı kolestatik hasara yol açmaktadır. Hepatokolestatik hasar ise hepatoselüler ve kolestatik hasarların klinik özelliklerini kendinde taşımaktadır (Holt ve Ju, 2006).

İlaç kaynaklı karaciğer hasarında öne sürülen 5 temel mekanizma söz konusudur (Arıcı, 2008).

2.4.2.1. Hücre içi iyon dengesinin bozulması

Faz I reaksiyonlarında görev alan sitokrom P450 enzimleri aracılığıyla ilaçların kovalent bağ ile intraselüler proteinlere bağlanması sonucu hücre içi kalsiyum dengesi bozulur. Bu durum hücrede şişme, zarda parçalanma ve hücre yıkımına yol açmaktadır (Arıcı, 2008).

2.4.2.2. *Safra kanalı hasarı*

Safra kanalikül membranındaki taşıyıcı (transport) proteinleri etkileyen ilaçlar safra akışını bozabilir. Safra tuzlarına bağlanan veya onların transportunu engelleyen ilaçlar safra sekresyonundan sorumlu bölgedeki aktin liflerinin yıkımına neden olarak safra sekresyonuna engel olup kolestaza neden olmaktadır (Arıcı, 2008).

2.4.2.3. *Apoptozis*

Safra asitlerinin hücre içindeki birikimi sonucu apoptozis gelişebilmektedir. İmmün sistem sitokinleri hücre zedelenmesi durumunda uyarılarak aktifleşir ve hücre içi kaspazları tetikleyerek apoptozisi tetiklemektedir (Arıcı, 2008).

2.4.2.4. *İmmün mekanizma*

Karaciğer hem doğuştan gelen, hem de adaptif bağışıklık sistemi bileşenlerini içermektedir. İlaçlar küçük moleküller olduğu için genelde immün cevap oluşturmazlar. Ancak biyotransformasyon sonucu p450 enzim reaksiyonları sırasında oluşan biyoaktif ilaç metabolitleri hücre proteinlerine bağlanarak antijen sunan hücreler üzerinde doku uyumu kompleksinin moleküllerine maruz kalmaktadır. Bunun sonucunda “adduct” denilen antijen gibi algılanan bileşikler oluştururlar. Bu bileşiklerin hepatosit yüzeyine taşınması ile antikör oluşumu ve humoral immunité uyarılmaktadır. Bu etkileşim hepatosite yönelik bağışıklık yanıtını tetiklemektedir (David ve Hamilton, 2010; Arıcı, 2008).

2.4.2.5. *Mitokondriyal disfonksiyon*

İlaca bağlı mitokondriyal disfonksiyona katkıda bulunan doğrudan mitokondriyal DNA’yı etkileyen, yağ asitlerinin beta oksidasyonunun inhibisyonu, solunum zinciri enzimlerinin inhibisyonu gibi çeşitli mekanizmalar vardır. Serbest yağ asitleri metabolize olamaz ve bunun sonucunda laktat ve reaktif oksijen türlerinin seviyeleri artar. Bu radikaller mitokondriyal DNA’yı zedeler (David ve Hamilton, 2010; Arıcı, 2008).

Bazı ilaçlar karaciğerdeki mitokondriyal fonksiyonu ciddi şekilde değiştirerek, hipoglisemi ve ensefalopati ile ilişkili, potansiyel olarak şiddetli bir lezyon olan mikroveziküler steatozu indükleyebilir. Bunun yanı sıra bazı hastalarda mitokondriyal

disfonksiyon yoluyla ilaca bağı laktik asidoz ve rabdomiyoliz gibi karaciğer hasarı da gelişmektedir. İlaç kaynaklı mitokondriyal disfonksiyonun neden olduğu karaciğer hasarı klinik çalışmaların erken dönemini veya pazarlama sonrası ilaç alımını tetikleyebildiğinden, klinik öncesi güvenlik çalışmaları sırasında saptanmalıdır. Yeni geliştirilen ilaçların mitokondriyal yağ asidi oksidasyonu (FAO) ve oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) sürecini etkileyip etkilemediğini, hepatik mitokondriyal DNA'yı (mtDNA) tüketip sızmadığını veya mitokondriyal geçirgenliği tetikleyebildiğini belirlemek için birkaç *in vitro* ve *in vivo* inceleme yapılmaktadır (Labbe vd., 2008).

2.4.3. İlaçların neden olduğu karaciğer hasarını etkileyen risk faktörleri

Karaciğer hasarının oluşmasına ilacın kimyasal özellikleri, çevresel faktörler (örneğin, eş zamanlı ilaç veya alkol kullanımı), yaş, cinsiyet, diğer hastalıklar (örn, HIV veya diyabet) ve genetik faktörler (ilacın karaciğerde metabolizma, detoksifikasyon ve taşınmasını kontrol eden genler) gibi risk faktörleri de etki etmektedir (Kaplowitz, 2004). Yeni doğanlar, bebekler, ergenler ve yetişkinler arasında ilaç toksisitesine yatkınlık farmakokinetik süreçlerin yaşa bağı lı olgunlaşmasından kaynaklı farklılık gösterebilmektedir. Örneğin karaciğerde biyokimyasal olayları gerçekleştiren ve aynı zamanda çoğu ilacı metabolize eden CYP 450 izoenzimleri doğum sırasında bebeklerde yetişkin insan değerlerinin sadece %50'sidir, fakat ilk aylarda bu değerler hızla değişmektedir (Ferraolo vd., 2010). Genellikle çocukların ilaca bağı lı hepatotoksiste için daha düşük risk altında olmalarına rağmen, viral tedavide kullanılan valproat ve aspirinin çocuklarda hepatotoksiste geliştirme riskini artırdığı bilinmektedir (Fisher vd., 2015).

40 yaşından büyük kişiler, ilaç atılımı ve aynı anda birden fazla ilaç alımından dolayı normal olarak karaciğer hasarına daha duyarlı olmaktadır Yaş gibi cinsiyet de ilaca bağı lı karaciğer toksisitesine olan duyarlılığı etkileyebilmektedir. Kadınların, otoimmün aracılı ilaca bağı lı karaciğer hepatotoksitesine ve izoniazid, halotan ve eritromisin gibi ilaçların, erkeklerin ise azatiyoprin ve amoksisilin-klavunatin neden olduğu karaciğer hasarına karşı daha hassas olduğu bildirilmiştir. CYP450'deki mutasyonlar veya faz II enzim genleri, mitokondriyal DNA ve antioksidan genler gibi genetik faktörlerin, ilaca bağı lı karaciğer hasarına, özellikle de idiosinkratik ilaç reaksiyonlarına önemli ölçüde katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Shehu vd., 2017).

İdiyosinkratik hepatotoksisite patogenezini öğrenmeye yönelik bir çalışmada ilaç metabolizmasında rol oynayan genler incelenmiştir. Sitokrom P450, N-asetiltransferaz2, UDP-glukuronosiltransferazlar ve glutatyon S-transferazlar gibi ilaç metabolize edici enzimlerdeki polimorfizmlerin, spesifik ilaçlara bağlı olarak ilaca bağlı hepatotoksisitenin ilişkili olduğu bulunmuştur (Fisher vd., 2015). Bunun dışında merkezi sinir sistemi üzerinde etki eden ilaçlar ve antimikrobiyal maddeler çocuklarda ilaca bağlı karaciğer hasarının daha yaygın nedenlerinden biri olmaktadır (Chalasani vd., 2014). Aynı zamanda idiyosinkratik hepatotoksistede biyolojik cinsiyet de rol oynamaktadır. Bazı araştırmalar, kadınlarda ilaca bağlı karaciğer hasarı için genel risk artışı olmamasına rağmen, erkeklerin akut/fulminan karaciğer yetmezliğine daha yatkın olduklarını göstermektedir (Fisher vd., 2015).

İlaca bağlı karaciğer hasarının kadınlarda gelişme riskinin daha yüksek olduğuna dair hiç bir kanıt olmasa da, minosiklin, metildopa, diklofenak, nitrofurantoin ve nevirapin gibi bazı ilaçların kadınlarda yüksek bir karaciğer hasarı riski olduğu saptanmıştır. Kadınlarda minosiklin, metildopa, diklofenak ve nitrofurantoinin neden olduğu karaciğer hasarı otoimmün hepatiti andıran kronik hepatittir. Nevirapine bağlı hepatotoksisite, özellikle de CD4 + hücre sayımı daha yüksek olan kadınlarda daha yaygın olmaktadır. Hamile kadınlarda reçeteli ilaçların kullanımının sınırlı olmasından dolayı, ilaca bağlı karaciğer hasarına nadiren rastlanılmaktadır. İlaca bağlı karaciğer hasarına olan duyarlılığı tetrasiklin dışındaki herhangi bir ajanın hamileliğin kendi başına artırdığını gösteren kanıt yoktur. Gebe kadınlarda yüksek doz intravenöz tetrasiklin karaciğer hasarına neden olduğu bilinmektedir, ancak günümüzde intravenöz tetrasiklin nadiren kullanılmaktadır. Hayvan deneyleri, diyabetin, asetaminofen, metotreksat ve anti-tüberküloz ilaçları gibi bazı bileşiklerin neden olduğu karaciğer hasarına olan duyarlılığı artırdığını göstermesine rağmen, şeker hastalığı olan insanlarda tüm nedenlere bağlı hepatotoksiste riskini artırdığını gösteren hiçbir kanıt yoktur (Chalasani vd., 2014).

Değişken özellikli binlerce farklı kimyasal bileşene bağlı hepatotoksiste genetik ve nongenetik faktörlerle birlikte farklı bir dizi karaciğer hasarı oluşturmaktadır. İnsan lökosit antijeni (HLA) genleri, antijen tanıma ve bağışıklık fonksiyonunda yer alan, idiyosinkratik kaynaklı karaciğer hasarında rol oynadığı düşünülen majör doku komplekslerinin bileşenlerini kodlamaktadır. Çalışmalar, HLA genotiplerinin ilaç kaynaklı karaciğer hasarı geliştirme riskini değiştirdiğine dair güçlü kanıtlar elde

edilemese da spesifik ilaçlara yanıt olarak spesifik HLA genotipleri ve hasar modelleri arasında birçok ilişki olduğu ortaya çıkmaya başlamıştır (Fisher vd., 2015). "Hapten hipotezi", bir bireyin ilaç kaynaklı karaciğer hasarına olan duyarlılığı, bir ilacın veya metabolitlerinin bir hücrenel veya dolaşımdaki proteine kovalent bağlanması sonucunda meydana gelen kompleksin spesifik bir HLA molekülünün peptit-bağlanma yolu ile etkileşimi ile belirlendiğini belirtir. Alternatif olarak, "farmakolojik etkileşim (pi) kavramı", immün aracılı karaciğer hasarına yol açan bir ilaç veya ilaç metabolitinin, T hcreti aktivasyonunu tetiklemek için doğrudan HLA molekülüne veya T hcreti reseptörüne bağlanabileceğini ortaya koymaktadır (Kullak-Ublick vd., 2017).

2.5. Hepatotoksisitenin Biyogöstergeleri

İlaçla indüklenen idiyosinkratik karaciğer hasarının insidansının düşük olmasının yanı sıra, güvenilir bir diagnostik biyobelirteç ve *in vitro* toksikoloji test sistemlerinin olmaması ilaca bağlı hepatotoksisite mekanizmalarının tanımlanmasını zorlaştırmaktadır (Tujios ve Fontana,2011).

Hepatotoksisitenin klinik teşhisi önceden var olan karaciğer hastalığı, hastalar tarafından çoklu ilaç kullanımı, güvenilir tarama yöntemleri ve tanı standartlarının olmaması gibi faktörler nedeniyle sorun olmaya devam etmektedir (Holt ve Ju, 2006). Günümüzde ilaca bağlı hepatotoksisitenin değerlendirilmesi amacıyla serumdaki total bilirubin konsantrasyonu (TB), serumda ALP (alkalen fosfataz), ALT ve AST seviyeleri, tanıda kullanılan klasik biyogöstergeler kullanılmaktadır (Göktaş vd., 2014; Holt ve Ju, 2006).

Serum karaciğer enzimlerinin seviyesini ölçen testler “karaciğer fonksiyon testleri” olarak da adlandırılmaktadır. Ancak karaciğer fonksiyonundan ziyade hepatosit bütünlüğünü veya kolestazı yansıtmaktadırlar. Günümüzde, geleneksel (klasik) ve yeni olarak adlandırılan iki geniş karaciğer hasarı biyogöstergesi sınıfı vardır. Geleneksel biyogöstergeler çoğu kez standart bir ilaç geliştirme programının bir parçası olan klinik kimya belirteçleridir. Hepatoselüler ve hepatobiliyer hasarları değerlendirmek için en az dört serum parametresinin kullanılması gerekmektedir. ALT, AST, sorbitol dehidrojenaz (SDH), glutamat dehidrojenaz (GLDH) gibi parametreler hepatoselüler hasarı belirlerken ALP, GGT, TB, total safra asitleri gibi parametrelerse hepatobiliyer hasarları belirlemektedir. Bu serum parametreleri arasında ALT, AST, ALP ve TB insanlarda karaciğer hasarını tanımlamak için sık kullanılmaktadırlar (Giannini vd.,

2005; Aulbach ve Amuzie, 2017). Kolestatik tip karaciğer hasarlarının belirlenmesinde konjuge bilirubin, GGT ve ALP düzeylerindeki yükseklikleri de değerlendirmek gerekmektedir (Akarca vd., 2007; Göktaş vd., 2014).

Karaciğer enzimleri olan ALT ve AST hepatositlerden sentezlenmektedir. ALT karaciğere spesifik enzim olup beyin, pankreas ve kan hücrelerinde de bulunarak mitokondride üretilmektedir. Aminotransferazlar hepatit gibi karaciğer hastalıklarının ve karaciğer hücre hasarının tanısında faydalı olan hassas bir gösterge olmaktadır (Şentürk vd., 2004; Ersoy, 2012). Karaciğer hücre dokusunda hasar geliştiğinde her iki enzim kana artan miktarda salınmaktadır. Karaciğer hücre hasarı derecesi ile aminotransferaz seviyeleri arasında zayıf bir korelasyon mevcut olmaktadır (Pratt ve Kaplan, 2000). Karaciğerde ALT, yalnızca hücresel sitoplazmada lokalize olurken, AST hem sitoplazmada hem de mitokondride yerleşim göstermektedir. Karaciğerdeki akut ve ya kronik hasarlar bu enzimlerin serum düzeylerinde yükselmeye yol açmaktadır. Her iki enzim de piridoksal-5'-fosfata (B6 vitamini) ihtiyaç duymaktadır. Piridoksal-5'-fosfat eksikliğinin ALT aktivitesi üzerindeki etkisi AST'den daha fazladır. Alkolizm ve hemodiyaliz hastalarında B6 vitamini eksikliği görüldüğünden gerçekte olmaları gerektiğinden daha düşük saptanabilmektedirler. Aminotransferaz seviyesi normalin üst sınırının 10 mislinden fazla olduğunda daima akut bir karaciğer hasarının olduğunu göstermektedir. Hiçbir hastalık olmadan transaminazların immunoglobulinlerle kompleks yaptığı durumlarda da enzim yüksek olabilmektedir. Bu durumda AST veya ALT 'den biri çok yüksekken diğeri normal bulunmaktadır. Hemoliz, çeşitli organ nekrozları ve iskemileri karaciğer dışı transaminaz yüksekliği yapan nedenler arasında yer almaktadırlar. Bu sebepler göz önünde bulundurularak ilaç ve bitkisel ilaç öyküsü ve karaciğere ait hastalıklar sırasıyla gözden geçirilmelidir (Akarca vd., 2007; Giannini vd., 2005). Belirtilen enzim düzeylerinde bir artış olması yalnızca ilaca bağlı olmaksızın, viral hepatit, yağlı karaciğer hastalığı ve karaciğer kanseri gibi birçok hastalık sürecinde de ortaya çıkabilmektedir. Bu da bu biyobelirteçler ilaca bağlı karaciğer hasarını belirlemekte yetersiz olduğunu göstermektedir (Ozer vd., 2008).

Bu tanısal biyobelirteçler, ilaçla indüklenen karaciğer hasarı ve karaciğer anormallliği için iyi endikasyonlar sağlasalar da karaciğer transplantasyonuna gerek kalmadan lezyonun şiddeti veya çözünürlük olasılığına dair bilgi vermezler (Gao vd., 2017). Keratin-18, sitokrom C, glutamat dehidrojenaz (GLDH), yüksek mobiliteli B1 protein grubu, malat dehidrojenaz (MDH), pürin nükleozid fosforilaz ve sorbitol

dehidrojenaz (SDH) gibi moleküler proteinler günümüzde ilaçların neden olduğu karaciğer hasarı için geliştirilmeye çalışılan biyogöstergeler arasında yer almaktadırlar (Göktaş vd., 2014). Hepatotoksisiteni gösteren biyogöstergelerin tanımlanması, geçerliliği ve yeterliliği, köprüleme çalışmalarına yardımcı olarak, hem farmakoloji uzmanları hem de kimyacılar için güvenli ilaç tasarımı konusunda bilgilendirmek için olanaklar sağlayabilir ve ilaç geliştirme hızını hızlandırabilir (Antoine vd., 2009).

2.5.1. Alanin aminotransferaz

Hepatositin sitozolunda lokalize olan ALT kromozom 8'in uzun kolunda bulunan bir gen tarafından kodlanan 496 amino asitten oluşmaktadır. Yarı ömrü 46-48 saat arasında olmaktadır. ALT enzimi amino gruplarının L-alaninden α -ketoglutaratik asit transferini katalize ederek karaciğerde L-glutamat ve pirüvik asite dönüşmektedir. Bu reaksiyon trikarboksilik asit döngüsünün ciddi bir işlemi olmaktadır (Liu vd., 2014).

Günlük ALT seviyesi %10 ila %30 arasında değişmektedir. Bunu yanı sıra öğleden sonra ALT düzeyi sabahın erken saatlerine göre %45 daha yüksek olabilmektedir. Serum ALT aktivitesi karaciğer hastalığının güvenilir bir belirteci olarak kabul edilmiştir. Karaciğerdeki ALT seviyesi serumdaki düzeyinin yaklaşık 3000 katı olduğundan hepatoselüler hasar veya ölüm durumunda, hasarlı yağ hücrelerinin salınımı serumda ölçülen ALT aktivitesini arttırmaktadır (Kim vd., 2008).

Yaş ve cinsiyet gibi faktörler ALT seviyelerini etkileyebilmektedir. ALT düzeylerinde cinsiyete dayalı farklılıkların, erkekler ve kadınlar arasındaki hormonal farklılıklara bağlı olduğu düşünülmektedir. Yapılan araştırmalarda aşırı fiziksel eforun, ALT'de kısa süreli, geri dönüşümlü bir yükselmeye neden olabileceği bildirilmiştir. Viral hepatit enfeksiyonu, aşırı alkol alımı, bağımsız karaciğer yağlanması, otoimmün hepatit, bazı ilaçlar ALT yükselmelerine neden olabilecek klinik faktörlerdir. ALT yükselmesine karşı kahve alımı koruyucu bir faktör olabilmektedir. Ek olarak, metabolik hastalıklar, çölyak hastalığı, kas yaralanması ve az da olsa hemokromatoz gibi bazı karaciğer dışı hastalıklar da kronik ALT yüksekliğine neden olabilecek faktörler arasında yer almaktadır (Liu vd., 2014).

Serum ALT ölçümü, klinik laboratuvarında kullanılan, kolayca temin edilebilen, bir biyokimyasal analiz olup, sadece karaciğer hastalığını değil aynı zamanda genel sağlık durumunu izlemek için de ölçülmektedir (Liu vd., 2014). Hepatoselüler hasara neden olan hastalık durumlarında artan serum ALT seviyelerinin ölçümü karaciğer hastalığı

sürecini etkili bir şekilde tanımlayabilir. ALT seviyelerinin belirlenmesi zamanı, ALT miktarı normal aralığın üst sınırının 5 katından daha yüksek seviyelerdeyse ciddi, aktif bir karaciğer hastalığı sürecine işaret etmektedir. ALT seviyeleri normal seviyenin 15 katından daha yüksek olduğu zaman, şiddetli akut karaciğer hücresi hasarı olduğunu gösterir. Araştırmalar sonucu edinilen biyokimyasal, klinik ve epidemiyolojik bilgiler, ALT'nin asemptomatik karaciğer hastalığının erken teşhisi ve diğer erken ölüm nedenleri için bir tarama testi olarak faydalı olabileceğini göstermektedir ALT taraması yapılması için ilk olarak önemli sağlık sorununun olması ve bu sorunun doğal tarihçesi iyi anlaşılmalıdır. Tespit edilebilir erken bir evrenin olması hastalığını tespit etmek amacıyla yapılan ALT ile tarama için geniş fırsatlar sağlamaktadır. Basit bir kan testi olan ALT, mamografi, kolon kanseri tarama yöntemleri ve serum kolesterol ölçümü gibi diğer birçok test gibi kabul edilebilen bir testtir (Kim vd., 2008).

2.5.2. Aspartat aminotransferaz

AST (veya serum glutamik oksaloasetat transaminaz) protein üretmeye yardımcı olan bir başka karaciğer enzimidir (Singh vd., 2011). Aynı zamanda aspartat ve alfa-ketoglutaratın oksaloasetat ve glutata dönüşümünü katalize eden bir transaminaz enzimidir (Washington ve Hoosier, 2012). Bunun için kofaktör olarak piridoksal-5-fosfat (PP) gerekmektedir (Hoffmann ve Solter, 2008).

Hepatositlerin hem mitokondri hem de sitozolunda mevcut olan sitozolik ve mitokondriyal formları gerçek izoenzimleri olup, immünolojik olarak farklı olmaktadır. İnsan karaciğerindeki AST seviyelerinin yaklaşık % 80'i mitokondriyal izoenzimden, dolaşımdaki AST seviyesinin çoğu ise sitozolik izoenzimden kaynaklanmaktadır (Thapa ve Walia, 2006). AST-nin serum seviyelerindeki değişiklikler karaciğer hasarının tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Teranishi vd., 1978). Karaciğerdeki AST seviyesi serumdaki düzeyinden yaklaşık 7000 kat daha fazla, yarı ömrü ise 17 ± 5 saat olmaktadır (Sonsuz, 2007).

AST, amino grubunun aspartat ve glutamat arasında geri dönüşümlü transferini katalize etmektedir. Hepatositlerin hasar görmesi durumunda AST hücre dışı bölmeye sızarak serum AST düzeyinde yükselmeye neden olur (Aulbach ve Amuzie, 2017). Ek olarak morarma, travma, nekroz, enfeksiyon karaciğer veya kas neoplazisi sonrasında da AST konsantrasyonlarında yükselme görülebilmektedir. AST, NADH (nikotinamid adenin dinükleotit) oksidasyon yöntemi kullanılarak ölçülmektedir (Washington ve

Hoosier, 2012). AST, beyin, miyokard hücreleri ve iskelet kası hücreleri gibi diğer dokularda da bulunması nedeniyle ALT'ye göre karaciğer hasarı için daha az spesifik bir biyobelirteç olarak kabul edilir. Ekstrahepatik ve hepatik yaralanma arasındaki farkı ayırt etmek için bazı durumlarda AST / ALT oranı kullanılmaktadır. AST / ALT oranının 2:1 olması hepatik hasarın göstergesidir (Gwaltney-Brant, 2016).

2.5.3. Alkalen fosfataz

Fosfat grubunu çeşitli proteinlerden ve nükleotitlerden uzaklaştıran bir hidrolaz olan ALP kolestatik karaciğer hasarının biyogöstergesi olarak kullanılmaktadır (Aulbach ve Amuzie, 2017). Kolestatik hasarda ALP'deki artış AST ve ALT'deki artıştan çok daha fazla olduğu için kolestatik hasarı en iyi ALP düzeyi belirlemektedir (Savaş, 2014).

2.5.4. Üre

Başlıca olarak karaciğerde hepatositler içerisinde metabolize edilen amino asitlerden ve düşük seviyelerde diğer dokularda bulunan üre siklusu enzimleri tarafından üretilmektedir. Kan üre azotu (BUN) klinisyenler tarafından genelde böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra üre miktarı bazı ilaçlara (örneğin parasetamol) bağlı hepatotoksisitenin de biyogöstergesi olabilmektedir. Parasetamol doz aşımı sonrası hastaların çoğunda düşük serum üre konsantrasyonlarına rastlanması hepatotoksisite için yüksek oranda risk faktörü olması ile açıklanmaktadır (Wang vd., 2014; Waring vd., 2017). Akut hepatit A'da kan üre azotu seviyesinin 36 mg/L-in üzerinde olması, mortalitenin bir göstergesidir (vd., 2014).

Üre siklusu enzimleri olan karbamoilfosfat sentaz, ornitin transkarbamilaz, argininosüksinat sentaz, argininosüksinat liyaz, arginaz (ARG) ve N-asetilglutamat sentaz karaciğer homojenatlarından çok saf formda izole edilebilir ve kantitatif olarak ölçülebilmektedirler. Karaciğerdeki bu ölçümler mevcut enzim miktarının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Brown vd., 1967). Üre siklusu enzimi olan arginaz 1 (Arg-1) argininin üre ve ornitin parçalanmasını katalize eden karaciğere özgü bir hidrolazdır. Yapılan bazı araştırmalarda ARG-1'in erken başlangıçlı bir karaciğer hasarı belirtici olduğu bildirilmiştir (Aulbach ve Amuzie, 2017).

Sıçanlarda tiyoasetamid kaynaklı akut ve kronik histopatolojik karaciğer hasarında argininaz 1, serum AST ve ALT enzim aktivitelerinin ölçülmesi sonucunda test edilen enzimler arasında serum seviyelerinde en erken ve en büyük artışı argininaz 1 göstermiştir. Yapılan bir diğer çalışmada karaciğer naklinden sonra karaciğer fonksiyon testleri değerlendirilmiş ve arginaz I seviyesinin hızla azaldığı bildirilmiştir (Ozer vd., 2008).

2.5.5. Gama-glutamil transpeptidaz

GGT, karaciğer hasarı ile aktivitesi artabilecek nispeten spesifik olmayan bir enzim olsa da, ALP yükselmelerinin biliyer hasarla ilişkili olduğunu doğrulamak için ALP ile birlikte kullanılmaktadır (Gwaltney-Brant, 2016). GGT, büyük ölçüde, safra kanalı epitel hücrelerinde sentezlenmekte olsa da hepatositleri etkileyen patolojilerde de sıklıkla yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Hepatit C, ilaçlara bağlı kolestaz ve alkolik karaciğer hastalığında ALT ve AST ile birlikte GGT düzeylerinde de önemli bir yükseklik görülmektedir. GGT normal sınırdaki olduğu halde ALP yüksekliği söz konusu ise bu yükseklik kemik kökenli olabilmektedir (Şentürk vd., 2004).

2.5.6. Total Bilirubin

TB, ekstrahepatik kaynaklardan ve konjuge hepatik bilirubinden elde edilen konjuge olmayan bilirubinin toplamı olmaktadır (Gwaltney-Brant, 2016). Aynı zamanda, yaşlanan kırmızı kan hücrelerinin sarımsı yeşil bir parçalanma ürünüdür (Aulbach ve Amuzie, 2017). Hem total hem de konjuge bilirubin düzeylerindeki artış, genel karaciğer fonksiyonunun ölçümlerinin, serum enzim seviyelerindeki yükselmeler ise karaciğer toksisitesinin göstergesi olmaktadır (Singh vd., 2011). Bilirubin seviyelerindeki yükselmeler genellikle kolestazın göstergesi olsa da, eritrosit yıkımı, metabolize edici enzimlerin ilaçla inhibe edilmesi ve karaciğer metabolizma enzimlerinin inhibisyonu gibi durumlarda da görülebilmektedir (Aulbach ve Amuzie, 2017).

2.6. Oksidatif Stress ve Biyogöstergeleri

Yaşam için önemli bir unsur olan oksijen hücre işlevi için gerekli faktördür. Solunum zincirinde meydana gelen bir dizi biyokimyasal reaksiyonda önemli bir rol

oynamaktadır. Hücreler enerji üretmek için oksijen kullandıklarında, mitokondride gerekli olan enerjiyi sağlayan ATP (adenozin trifosfat) üretilmesinin sonucunda reaktif azot ve ROT gibi serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Bu yan ürünler normal hücre metabolizması kaynaklı olabileceği gibi, sigara dumanı, ilaç ve radyasyon gibi çeşitli etkenlerden dolayı da üretilebilmektedir. ROT, vücudun metabolik reaksiyonları sırasında doğal olarak küçük miktarlarda üretilen ve yağlar, proteinler veya DNA gibi karmaşık hücrel moleküller ile reaksiyona girebilen ve bunlara zarar verebilen küçük, yüksek oranda reaktif, oksijen içeren moleküllerdir. Karaciğerde sitokrom P450 molekülleri tarafından katalize edilen biyokimyasal reaksiyonlarda moleküler oksijen kullanılması sonucunda da az miktarda ROT üretilmektedir (Pham-Huy, 2008; Wu ve Cederbaum, 2003).

Süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit radikali (H_2O_2), hidroksil radikali ($HO^\cdot$), nitrik oksit radikali (NO), hipokloröz asit radikali ($HOCl$), singlet oksijen radikali (O_2), alkil radikali (R), peroksil radikali ($ROO^\cdot$), organik peroksit radikali ($RCOO^\cdot$), (perhidroksil) radikali ($HO_2^\cdot$) ve alkoksil radikali ($RO^\cdot$) başlıca reaktif oksijen türleridir (Altın vd., 2017). Aşırı miktarda üretilen serbest radikallerin vücutta birikmeleri sonucunda hücre zarı, lipid, protein, lipoprotein ve DNA gibi yapıları değiştire bilen oksidatif stres ortaya çıkmaktadır (Pham-Huy, 2008).

Oksidatif stres terimi biyolojide ilk kez 1991'de Sies tarafından tanıtılan terimdir (Kelly, 2003). Fizyolojik şartlarda insan vücudunda oluşan ROT ile antioksidan savunması bir denge halindedir. Yoğun ROT üretimi ya da vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (Mercan, 2004; Köken vd., 2004). Reaktif oksijen türlerinin seviyelerinin artması sonucunda ortaya çıkan oksidatif stres, lipidlerin ve diğer makromoleküllerin oksidatif tahribatına yol açarak hücrenin nekroz ve ölümüne, bunun sonucunda da doku hasarı ve kronik hastalıklara sebep olmaktadır (Wu ve Cederbaum, 2003; Sezer ve Keskin, 2014).

İlaçların etkinliğinin değerlendirilmesi ve çeşitli patolojik durumların araştırılması açısından gerekli olan oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılabilecek biyobelirteçler doğru bir şekilde belirlenmelidir. Oksidatif hasara karşı tam olarak korunamayan vücut bileşenlerinin serbest radikallerden zarar görmesi sonucunda ortaya çıkan oksidatif ürünler genellikle belirteç olarak kullanılmaktadırlar (Yoshikawa ve Naito, 2002). Serbest radikallerin etkileri ile makromoleküllerin oksidatif stresi

sonucunda oluşan malondialdehit (MDA) , protein karbonil (PCO), 8-hidroksiguanin (8-OHG) gibi maddelerin dokularda ve vücut sıvılarında çeşitli biyokimyasal yöntemlerle ölçülmesi oksidatif hasarın göstergeleri olabilmektedir (Özcan vd., 2015).

Oksidatif stresin göstergeleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktiviteleri, glutatyon (GSH), nitrik oksit (NO) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri yer almaktadır (Kurutaş vd., 2009).

SOD oksijen radikallerine karşı savunmada önemli rol oynamakla birlikte, nitrik oksit inaktivasyonu ve peroksinitrit oluşumunu inhibe ederek endotelial ve mitokondriyal disfonksiyonu önlemekte, solunum zincirinde üretilen oksijen radikallerini temizlemektedir (Kuyumcu ve Aycan, 2018).

MDA lipid peroksidasyonunun en önemli ürünlerinden biri olup, hücre membranındaki iyon değişimini etkileyerek iyon geçirgenliği ve enzim aktivitesindeki değişiklikler gibi yan etkilere neden olmaktadır. MDA, nitrojenlerle reaksiyona girebileceğinden kaynaklı olarak, mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olmaktadır. Kanseri, kronik obstrüktif hastalık, astım ve kardiyovasküler gibi birçok hastalıkta oksidatif stresin belirlemek için kullanılan biyogöstergelerdir (Kuyumcu ve Aycan, 2018).

En etkili enzimlerden biri olan CAT'ın aşırı ekspresyonu, hücreleri ve organizmaları (örneğin transgenik fareleri) oksidatif zorluğa daha az duyarlı hale getirmektedir (Gasparovic vd., 2010).

GSH hücrede tripeptid (glutamik asit) olarak sentezlenmektedir. Eritrositler hariç tüm hücrelerde görülür ve hücrelerde 2 formda: oksit ve indirgeyici olarak bulunmaktadır. GSH antioksidan savunma, elektrofilik ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, sinyal transdüksiyonu ile regüle edilmiş yanıtların düzenlenmesi, deoksiribonükleotid sentezi, immünolojik yanıtların düzenlenmesi, lökotrien ve prostaglandin metabolizması gibi çeşitli proseslerde yer almaktadır (Kuyumcu ve Aycan, 2018).

Lipid peroksidasyonu MDA'dan kaynaklanan oksidatif stres göstergesi olmaktadır (Kuyumcu ve Aycan, 2018). Reaktif oksijen türlerinin artması biyolojik membranlarda bulunan poliansatüre yağ asitlerinde oksidasyona yol açarak lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır. Lipid peroksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan lipid hidroperoksitleri ve aldehitler, TBARS (Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler) olarak adlandırılmaktadır (Özcan vd., 2015; Köken vd., 2004).

Hidroksil radikali ve diğer reaktif oksijen türleri hücre içi proteinler üzerinde geri-dönüşümlü veya geri-dönüşümsüz oksidatif modifikasyona ve buna bağlı olarak oksidatif hasara yol açmaktadır. Protein oksidasyonu zamanı protein yapılarının yan zincirleri üzerinde karbonil gruplar oluşmaktadır. (Özcan vd., 2015).

2.6.1. Hepatotoksisite gelişiminde oksidatif stresin önemi

Karaciğer antioksidan savunmalarının çoğu aslında parankimal hücrelerle sınırlı olmasına rağmen, karaciğer enzimik olan ve olmayan antioksidanlar açısından iyi donanımlı bir organdır (Parola ve Robino, 2001). Reaktif oksijen türlerinin hem insan hepatosit apoptozunu hem de nekrozu hipoksi ve hipoksi-reoksijenasyon (H-R) süresince düzenlediği bilinmektedir (Bhogal vd., 2012). Karaciğer oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı savunmasız bir organdır (Yew vd., 2018).

Oksidatif stres patolojik mekanizmaya bağlı olarak karaciğer hasarının başlaması ve ilerlemesine neden olmaktadır. Alkol, ilaçlar, çevresel kirleticiler gibi birçok risk faktörü, karaciğerde oksidatif strese neden olabilmektedir. Karaciğerde bulunan parankimal hücreler, oksidatif strese bağlı yaralanmaya maruz kalan birincil hücreler olmaktadır (Li vd., 2015). Parankimal hücrelerdeki mitokondri, mikrozomlar ve peroksizomlar, esas olarak karaciğer yağ asidi oksidasyon gen ekspresyonuna bağlı olan, nükleer reseptörlerin peroksizom proliferatör-aktive reseptör (PPAR) ailesinden olan ve başlıca olarak karaciğerde yer alan PPAR α üzerinde düzenleyici ROT üretebilir (Li vd., 2015; Aydoğan vd., 2013).

Bunun dışında, Kupffer hücreleri, hepatik stellat hücreleri ve endotelial hücreler de potansiyel olarak oksidatif strese bağlı moleküllere daha fazla maruz kalan duyarlı hücrelerdir. Oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonu tarafından hepatik stellat hücrelerinin proliferasyonu ve kollajen sentezi tetiklenmektedir. Reaktif oksijen ve azot türlerinin üretimi ilaca bağlı karaciğer hasarının göstergeleri olmaktadır. Analjezik ve kanser ilaçları dahil olmakla bir çok ilaç karaciğerde antioksidanların tükenmesi ve lipid peroksidasyonun artmasına sebep olarak oksidatif strese yol açmaktadır. Örneğin, bağırsak hastalıklarında iltihabı tedavi etmek için kullanılan bir ilaç olan sülfasalazinin hepatik oksidatif hasarı indüklediği belirlenmiştir. Oral olarak uygulanan sülfasazin SOD'U azaltırken, CAT aktivitesini artırır. Diğer bir örnek ise kansere bağlı hiperkalsemiyi tedavi etmek için kullanılan zoledronik asit karaciğerde oksidatif stresi indükleyebilir. Karaciğerde MDA ve nitrik oksit seviyelerinin önemli

derecede yükselmesi ve antioksidan seviyesini azaltabildiğini gösteren GSH düzeylerinin azalması zoledronik aside bağlı oksidatif stresin biyogöstergesi olmaktadır (Li vd., 2015).

2.7. Hepatotoksisitenin *In vitro* Değerlendirilmesi

Her yıl geliştirilmekte olan ilaç numunelerinin sayısı artmaktadır. Güvenlik açısından bu ilaçlar piyasaya çıkmadan önce prelinik çalışmalarda çok sayıda laboratuvar hayvanları kullanılarak test edilmektedir. Klinik araştırmalar sırasında ve ya piyasaya girişte pek çok ilaç geri çekilebilmektedir. Araştırmacılar, yıllardır ilaca bağlı karaciğer toksisitesini belirlemek amacıyla kullanılan hayvan testleri için güvenilir alternatifler aramışlar ve bu süreçte primer hepatositler, ölümsüzleştirilmiş hücre hatları ve hepatoselüler karsinoma hücre hatları gibi birkaç *in vitro* model kullanmışlardır. (Van den Hof vd., 2014).

Hücre hatları, ilaçların test edilmesi, moleküler mekanizmaların tanımlanması, çevresel etkilerin anlaşılması amaçlı birçok çalışmalarda uzun zamandır kullanılmaktadır. Bir hücre dizisinin en önemli özelliği, kaynaklandıkları organizmayla olan genotip ve karyotip benzerlikleridir. Hücre kültürlerinin kullanılacağı bir araştırma projesine başlamadan önce kullanılan hücre hattının karyotipini doğrulamak gerekmektedir (Yılmaz vd., 2018).

İlaç metabolizması ve hepatotoksisite çalışmaları için kültürlenmiş birincil insan hepatositleri altın standart olmaktadır. Hepatotoksisitenin değerlendirilmesi açısından fenotipik dengesizlikler, hücre hasarı için karaciğer dokusunun kıt ve düzensiz mevcudiyeti, farklı donörlerden elde edilen hepatositlerde hepatik fonksiyonların yüksek değişkenliği gibi birçok sorunu aşmak için birkaç hepatik hücresel model geliştirilmiştir. Hepatosit karsinomdan türeyen hücre hatlarının kolay kullanımları, sabit fenotipi ve uzun ömürlü olması gibi faktörler göz önüne alındığında büyük avantajlar sağladığı görülmektedir. (Donato vd., 2013).

İnsanda *in vivo* durumları iyi tanımlanmak açısından *in vitro* toksisite testleri için birincil insan hepatositlerinin kullanılması gerektiği düşünülmektedir. Ancak birincil insan hepatositleri elde etmesi zor olduğu için, yani taze insan karaciğeri örneklerinin kıt kullanılabilirliği, karmaşık izolasyon prosedürleri, sınırlı yaşam süresi, bireyler arası değişkenlik ve maliyet, bu tür *in vitro* sistemlerin taranmasında kullanılması için ciddi kısıtlamalar oluşturmaktadır. Bunun dışında insan hepatositleri bireysel farklılıklar

göstere bildiğinden kimyasalların taranması sonuçları da farklılık gösterecektir (Van den Hof vd., 2014; Gerets vd., 2012).

İlaç toksikolojisini değerlendirmek için kök hücre kaynaklı hepatositler değerli bir model olarak önerilmiştir. Kök hücre kaynaklı hepatositler insan kaynaklı indüklenmiş pluripotent kök hücre kaynaklı (QIA7) ve embriyonik kök hücre kaynaklı (WA01) hepatositlere ayrılmaktadırlar. Kök hücre kaynaklı hepatositlerin mevcudiyeti ve tekrarlı bilirliği, toksikoloji ve farmasötik üretimde *in vitro* toksisite test modelleri için yararlı kaynaklardır. Ölümsüzleştirilmiş hücre hatları HepG2 de dahil olmak, kimyasal risk değerlendirmesi için son zamanlarda değiştirilmiş modeller olarak kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra kök hücre kaynaklı hepatositler *in vitro* toksik test modellerinde uygulandığında, kök hücrelerden kendiliğinden türetilen hücresel heterojenliğin kimyasalların toksisitesini nasıl yansıttığını gösteren çok az kanıt bulunmaktadır. Kök hücrelerden üretilen hepatosit kültürleri, hepatotoksisite analizlerinde kullanılmak üzere alternatif olarak kabul edilecek birincil hepatositlere benzer özelliklere sahip yüksek bir hücre yüzdesi sergilemelidir (Kang vd., 2016).

Ölümsüzleştirilmiş karaciğer kaynaklı hücre hatları fenotipik sabitliyi ve sınırsız kullanılabilirlikleri nedeniyle ilaç metabolizmasını incelemek amacıyla alternatif olarak önerilmiştir. İnsan hepatoselüler karsinoma hücre hattı HepG2 hücreleri ilk alternatif olmaktadır. Bu hücreler normal karaciğer hücrelerinin genotipik özelliklerinin çoğunu gösterebilmektedir (Gerets vd., 2012). Geçmişte, HepG2 hücrelerinin, birincil insan hepatositlerine çok az benzerlik gösterdiği düşünülmüştür. Ancak, son zamanlarda, HepG2 hücrelerinin fenotipinin kültür koşullarına bağlı olduğu ortaya çıkmıştır (Ghallab, 2014).

İlaç metabolizmasında ve hepatotoksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılan insan ve kemirgen hepatoma hücre hatları ve özellikleri aşağıda gösterilmiştir.

Hep G2 - CYP1A1 indüksiyonu, CYP1A1 aracılı biyoaktivasyon, biyoaktivitesi mümkün olmayan bileşiklerin toksisite riskinin değerlendirilmesi amaçlı ve yaygın olarak vaccinia virüsü veya adenoviral vektör ile cDNA CYP ifadesi için konakçı hücreler olarak kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

Mz-Hep-1 - CYP1A1'in AhR aracılı indüksiyonu için kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

Hep3B - CYP1A1 indüksiyonu ve metabolizmanın aracılık ettiği hepatotoksisite çalışmaları için kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

Fa2N4 – Çeşitli CYP enzimlerinin (CYP1A2, CYP2C9 ve CYP3A) indüksiyonunun yüksek verimli değerlendirmesi amaçlı kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

HuH7 - CYP3A4 bağımlı metabolizma çalışmaları için (konfluent kültürler) ve biyolojik olarak aktif olmayan bileşiklerin hepatotoksisite çalışmaları için kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

BC2 (4 hafta kültürleri) – nadir olarak kullanılmaktadır (Donato ve ark., 2013).

HepaRG (farklılaşmış) - ilaç metabolizması çalışmaları, CYP enzimlerinin (başlıca olarak CYP1A2 ve CYP3A4) indüksiyon çalışmaları, biyolojik olarak aktif olmayan bileşiklerin hepatotoksisite çalışmaları, uzun süreli (4 hafta) hepatotoksisite çalışmaları için kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

H4IIE (sıçan) - CYP1A indüksiyon çalışmaları, metabolizmaya bağımlı olmayan toksisite çalışmaları, yaygın olarak adenoviral vektörler ile cDNA CYP ekspresyonu için konakçı hücreler olarak kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

Fao (sıçan) - CYP1A indüksiyon çalışmaları ve metabolizmaya bağımlı olmayan toksisite çalışmaları için kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

Hepa 1c1c7 (fare) - CYP1A indüksiyon çalışmaları ve metabolizma aracılı olmayan hepatotoksisite çalışmaları için kullanılmaktadır (Donato vd., 2013).

Karaciğer hücre hatları toksik maddelerin tespiti ve hücresel toksisite mekanizmalarının değerlendirilmesinde toksikolojik ve farmakolojik testler için en iyi seçim olmaktadır. Toksisitenin anlaşılmasında birçok hepatik *in vitro* model kullanılmaktadır. HepG2, Hep3B, HBG ve HepaRG gibi hücre hatları karaciğer toksisitesinin *in vitro* değerlendirmesinde kullanılan, genellikle ölümsüzleştirilmiş karaciğer kaynaklı hücre hatlarıdır. Bir toksik maddenin sitotoksitesinin analizi için gerekli spesifik test seçimi, *in vitro* hücre kültürü modelleri, kimyasalların fizikokimyasal özellikleri, kültür platformları, sitotoksisite mekanizması ve tespit yöntemleri gibi çeşitli faktörlerle ilişkilidir (Jain vd., 2018).

İlaç niteliği taşıyan veya toksisitesi araştırılan maddelerin değerlendirilmesi amacıyla hücre kültüründe gerçekleştirilen ölçüm yöntemleri *in vitro* sitotoksisite testleri adlanmaktadır. Hücre kültürü, çok hücreli organizmalara ait hücrelerin, uygun ortamda özel olarak tasarlanmış kaplarda, ısı, nem, besin gibi kontrollü ortam şartlarında yaşatılmasıdır (Tokur ve Aksoy, 2017). Hücre parametrelerinde göre hücresel hasar tespiti için uygulanan sitotoksisite testleri aşağıda belirtilmiştir:

1. Hücre sayısı: Tripan mavisi, metilen mavisi boyama deneyi, ALP tahlili, resazurin, sülförhodamin B deneyi
2. Hücre canlılığı: Laktat dehidrojenaz (LDH) deneyi, Alamar mavisi, floresan diasetat, Calcein-AM
3. Membran geçirgenliği: 3-(4, 5-Dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazolyum bromür, LDH, anneksin, granzim bazlı, kaspaz bazlı deney
4. Hücresel adenosin trifosfat (ATP): ATP bazlı lüminesans deneyi
5. Glikoz: Floresan glikoz analogu
6. Hücre içi kalsiyum: Fluo-322, Fluo-422
7. Lizozomal aktivite: Nötr Kırmızısı deneyi, katepsin D aktivite deneyi, granzim bazlı deney
8. Nükleer yapı: Propidium boya, etidyum homodimer, BrdU, DAPI, TUNEL deneyi
9. Toplam hücresel protein: SRB tahlili (Jain vd., 2018).

2.8. Tez Kapsamında Kullanılan Antiepileptik İlaçlar ve Hepatotoksisite Riskleri

2.8.1. Karbamazepin

2.8.1.1. Endikasyonları

Karbamazepin, focal (kompleks parsiyel) ve jeneralize tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde kullanılan bir AEİ'dir (Vickery vd., 2017). Antiepileptik etkisinin yanı sıra nevrалjilerin, özellikle de trigeminal ve glossofarangeal sinirlerden kaynaklanan nevrалjilerin tedavisinde de etkili olduğu bilinmektedir (Forbes vd., 1992). Etiket dışı kullanımları arasında şizofreni ve şizoaffektif bozukluğunun, huzursuz bacak sendromunun tedavisinde, lityum ile benzer etkinliğe sahip olduğundan akut manik atakların tedavisinde, demans hastalarında ajitasyon ve saldırganlığın azaltılması amacıyla da kullanılmaktadır. En belirgin etiket dışı kullanım durumları nöropatik ağrı ve fibromiyalji tedavisi olmaktadır (Maan ve Saadabadi, 2018).

2.8.1.2. Etki mekanizması

Karbamazepin, nöronal hücre zarlarında bulunan voltaja bağlı sodyum kanallarını bloke ederek antiepileptik etkisini göstermektedir (Dean, 2018). Bunun dışında L tipi kalsiyum kanallarının inhibe edilmesi yolu ile etki ettiği düşünülmektedir (Panayiotopoulos, 2005) Yapılan bir çalışmada karbamazepinin terapötik

konsantrasyonlarının varlığında voltaja bağlı K^+ akımlarını arttırdığı saptanmıştır (Zona vd., 1990). Yapılan birçok araştırmalar sonucunda karbamazepinin serotonerjik sistemde hücre dışı serotonin konsantrasyonunun arttırılması, dopaminerjik sistemde dopaminerjik iletimin arttırılması, glutamerjik sistemde glutamat salınımının inhibisyonu, cAMP-de (siklik adenosin monofosfat) bazal ve uyarılmış cAMP seviyesinin düşmesi yolu ile ve periferik tip benzodiazepin PBR reseptörlerinde PBR'lerle etkileşime girerek etki ettiği bildirilmiştir (Ambrosio vd., 2002). Karbamazepin uygulaması sonucunda astrosit ve sıçanların adenosin A_1 reseptörlerinin yukarı regülasyonunu indüklediği ve Van Calcar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada karbamazepinin yüksek afiniteli A_{2a} adenosin reseptörlerinin antagonisti değil agonisti olduğu belirlenmiştir (Ambrosio vd., 2002; Calcar vd., 1991).

2.8.1.3. Absorpsiyonu

Karbamazepinin oral yolla kullanıldığında, yüksek biyoyararlanım ile absorbe olmaktadır. Plazma proteinle % 75 oranda bağlanmakta ve farklı denekler arasında çok az değişiklik göstermektedir. Tek oral dozda Tegretol (karbamazepinin ticari adı) alımından 24 saat sonra emilim yavaşlamaktadır. Bazı hastalarda yavaş emilim avantajlı görünmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda ilacın şurup formülasyonunun absorpsiyonu daha hızlı olduğu bildirilmiştir (Bertilsson ve Tomson, 1986). Karbamazepinin formülasyonlarında oral biyoyararlanım eşdeğer olsa da, formülasyonların absorpsiyon oranları farklılık gösterebilmektedir. İnsan kullanımı için intravenöz karbamazepin formu mevcut olmadığından, mutlak biyoyararlanım tam olarak bilinmemektedir. Gıda ile eşzamanlı kullanımı, oranı etkilese emilim derecesini etkilememektedir. FDA, rutubetin karbamazepin tabletlerin potansiyelini üçte bir veya daha fazla azaltabileceğini ve bu nedenle, tabletler serin ve kuru bir yerde muhafaza edilmesi gerektiğini bildirmiştir (Garnett vd., 2012).

2.8.1.4. Dağılım

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, karbamazepinin, karaciğer, böbrek ve beyin gibi yüksek kan akışlı organlarda daha yüksek konsantrasyonlar elde ederek, çeşitli organlara ve dokulara herhangi bir şekilde hızla dağıldığı bildirilmiştir. Beyin omurilik sıvısı, beyin, duodenal sıvılar, safra ve tükürükte de tespit edilmiştir. Beyin

omurilik sıvısında karbamazepinin metaboliti olan 10,11-epoksit metabolitine rastlanılmıştır. İlaç, plasentayı hızla geçerek karaciğerde, böbreklerde ve yüksek konsantrasyonda fetal dokuda birikir. Anne sütündeki karbamazepin konsantrasyonu, annenin plazmasındaki konsantrasyonun yaklaşık %25-60'ı kadardır. Dağılım hacmi yaşa göre farklılık göstermektedir (Garnett vd., 2012).

2.8.1.5. Metabolizması

Etkili bir AEİ olan karbamazepin, karaciğerde güçlü bir mikrozomal enzim indükleyicisi olup, hepatik P450 3A ailesi olan mikrozomal enzimler tarafından metabolize edilmektedir. Metabolizması zamanı önce 10,11-epoksit türevine dönüşmektedir. Bu reaksiyon temel olarak CYP3A4 tarafından katalize edilir, ancak CYP2C8'in de bir rol oynadığı bildirilmiş ve CYP3A5'in de dahil edilmesi önerilmiştir. Bu türevin antikonvülzif etkinlik gösterdiği ve nörotoksik olduğu ileri sürülmüştür. Hepatik metabolizma karbamazepinin vücuttan atılmasının ana yolu olmaktadır. (Maheswari vd., 2014; Panayiotopoulos, 2005). Ek olarak, CYP1A2 aracılığıyla dört olası fenolik ürün, 1-, 2-, 3- ve 4-hidroksikarbamazepin oluşmasına neden olan aromatik hidroksilasyon yolu da karbamazepin metabolizmasının bir yoludur. Karbamazepinin konjugasyon reaksiyonları glukuronidasyon ve sülfatlama içermekte ve metabolitleri genellikle üçüncü en önemli biyotransformasyon yolu olarak kabul edilmektedir. Glukuronidasyon reaksiyonları üridin difosfat glukuronosil transferazlar(UGT'ler) ile katalize edilmektedir. Bu reaksiyonlardan sorumlu spesifik UGT izoformu henüz belirlenememiştir (Luer ve Penzak, 2016).

2.8.1.6. Eliminasyonu

Karbamazepinin klirensi yaşa bağlı olup, çocuklarda daha yüksek, yaşlı hastalarda ise daha düşük klirensler bildirilmiştir. Karbamazepin, gebeliğin üçüncü trimesterinde daha hızlı bir şekilde atılmaktadır. Önemli karaciğer hastalığı olan hastalarda karbamazepin klirensinde azalma görülebilir. Böbrek hastalığı ve diyaliz ise karbamazepinin klirensini değiştirmemektedir. Metabolizmanın ardından ana ilaç ve oluşan metabolitleri idrar ve safra yoluyla elimine edilmektedir (Luer ve Penzak, 2016).

2.8.1.7. Advers etkileri

Karbamazepinin yan etki profilinde bilişsel işlev, dikkat veya davranışlarda önemli etkisi olmadığı ve nadiren hayatı tehdit eden durumları yer almaktadır. Diğer AEİ'lerde olduğu gibi Karbamazepinin de yan etkilerinin çoğu merkezi sinir sistemi ile ilişkilidir. Bulantı, baş ağrısı, baş dönmesi, koordinasyon bozukluğu, yorgunluk ve diplopi en sık görülen yan etkileridir. Nistagmus, tremor ve ataksi gibi yan etkiler geri dönüşümlü olup, genellikle doza bağlı olarak gelişmektedir. Karbamazepinin konjestif kalp yetmezliği, hasta sinüs sendromu, hipertansiyon ve bradikardi veya dahil kardiyovasküler anormallikler gibi yan etkileri nadir de olsa görülebilmektedir. Karbamazepin kaynaklı akut interstisyel nefrit nedeniyle akut böbrek yetmezliği vakaları bildirilmiştir (Holmes, 2002).

2.8.1.8. Hepatotoksitesi

Karbamazepin ile ilişkili hepatotoksite ateş ve anormal karaciğer fonksiyon testleri ile ortaya çıkan granümatöz hepatit şeklinde aşırı duyarlı bir reaksiyon şeklinde ve ya akut hepatit ve hepatoselüler nekroz ile döküntü, ateş, hepatit ve lenfadenopati, safra yolu iltihabını simüle ederek doğrudan ilaç toksisitesinden kaynaklanmaktadır (Ahmed ve Siddigi, 2005). Karbamazepin ile ilişkili hepatoselüler tipte olan karaciğer hasarının ölüme veya karaciğer transplantasyonuna yol açtığı bildirilen vaka raporlarında, karaciğer biyopsisi yapılan tüm hastalarda hepatik nekroz mevcut olduğu bildirilmiştir. Karbamazepine bağlı kolestatik tip karaciğer hasarları çoğunlukla iyi huylu olsa da, kötü sonuçlar doğurduğu da bilinmektedir. Son zamanlarda önemli bir prognostik faktör olarak kabul edilen diğer bir faktör, tedavinin süresidir (Björnsson, 2008).

Karbamazepinin hepatotoksik reaksiyonları genellikle tedavinin başlamasından 3-4 hafta sonra meydana gelmektedir. Belirtiler genellikle ilaç kesildikten sonra düzelmektedir. Bazı durumlardaysa ölümcül hepatotoksite ilaç kesilmesinden sonra bile ortaya çıkabilmektedir (Ahmed ve Siddigi, 2005). Ortalama 30 hafta karbamazepin ile tedavi gören hastalarda ciddi karaciğer hasarı geliştiği ve uzun vadeli karbamazepin kullanımının bir risk faktörü olabileceği bildirilmiştir (Iida vd., 2015). Karbamazepin kullanımına ilişkin granümatöz hepatit, hepatik nekroz ve immünoalerjik hepatit gibi yan etkiler bildirilmiştir (Björnsson, 2008).

2.8.2. Perampanel

2.8.2.1. Endikasyonları

Perampanel, 12 yaş ve üstü hastalarda kısmi başlangıçlı, birincil jeneralize tonik-klonik nöbetlerin ek tedavisi için kullanılmak üzere 27 Temmuz 2012 tarihinden itibaren Avrupa Komisyonu'ndan ve 22 Ekim 2012 tarihinde ise FDA tarafından pazarlama onayı almış antiepileptiktir (Faulkner, 2014; Majid vd., 2016). Perampanel'in kısmi başlangıçlı nöbet tipi hariç başka herhangi bir nöbet tipi için etkinliği hakkında bilgi yoktur. Epilepsi dışındaki endikasyonlarından post-hipoksik miyoklonusda kullanımı bildirilmiştir. Perampanel ile kronik tedaviye başlandığında, son nöbetin ardından en az 2 yıl kullanılmaya devam etmek gerekir. İlaç etkisizse veya kısmen etkiliyse, hastanın nöbet tipi, epilepsi sendromu için uygun olan başka bir AEİ ile değiştirilir veya birlikte kullanılır (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

2.8.2.2. Etki mekanizması

Perampanel, oral olarak aktif, yarışmasız bir α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol-propiyonik asit (AMPA) reseptör antagonisti olup, hücre içi kalsiyumdaki AMPA kaynaklı artışları inhibe ederek nöronal uyarıya bilirliliği azalmaktadır. AMPA reseptörü nöbetlerin oluşması ve yayılmasında rol oynadığı için, perampanel antiepileptik özelliklere sahip olduğunu gösterebilir (Patsalos ve Bourgeois, 2014). Bir iyonotropik glutamat reseptörü sınıfı olan AMPA reseptörleri, epileptik aktivitenin oluşması ve yayılmasında önemli bir rol oynamaktadırlar. Glutamat, nöronal proseslerde epileptik aktivitenin üretilmesinde ve yayılmasında rol oynayan uyarıcı amino asitlerden türevidir. Nörotransmisyonunda yer alan glutamat reseptörleri, iyonotropik ve metabotropik olarak sınıflandırılmaktadırlar. İyonotropik reseptörler, glutamat ile bağlandığında sodyum, potasyum ve kalsiyum akısına izin veren N-metil-D-aspartik asit (NMDA), kainik asit ve AMPA gibi spesifik agonistler olarak sınıflandırılır. AMPA reseptörleri santral sinir sistemindeki uyarıcı sinapslarda lokalize olmakta ve burada hızlı uyarıcı postsinaptik nötransmisyonun başlıca aracıları olarak görev yapmaktadırlar. (French vd., 2012; Tsai vd., 2018). *In vitro* çalışmalar, Perampanelin AMPA reseptöründe seçici, rekabetçi olmayan bir antagonist olduğunu göstermektedir (Patsalos, 2015). Sinir sisteminde, glutamatın büyük bir uyarıcı nörotransmitter olduğu bilinmesine rağmen insanlarda Perampanelin kesin antiepileptik

mekanizması bilinmemektedir. Çalışmalar, AMPA reseptörü antagonizminin, nöbet oluşumunu ve yayılmasını inhibe etmenin yanı sıra aşırı uyarılma ve antikonvülsan etkilere neden olabileceğini ve AMPA reseptörü antagonistleri nöronal ölümü önleyebileceğini göstermektedir (Greenwood ve Valdes, 2016). Perampanel sinapslarda farklı fizyolojik rollere sahip farklı bir iyonotropik glutamat reseptörü sınıfı olan ve nöbet oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülen NMDA reseptörlerini inhibe etmez (French vd., 2012). Her ne kadar NMDA reseptörü blokajı bazı AEİ'lerin (örneğin felbamat) etkilerine katkıda bulunabilse de seçici NMDA reseptörü antagonistlerinin epilepsi tedavisinde faydalı olmaları muhtemel değildir (French vd., 2012; Rogawski, 2011).

2.8.2.3. Absorpsiyonu

Perampanelin ortalama mutlak oral biyoyararlanımı 100% olup, gastrointestinal kanaldan hızla emilmektedir (Patsalos, 2015). Yiyeceklerin birlikte alınması oranı 2 saat kadar azalrsa da, emilim derecesini düşürmemektedir (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

2.8.2.4. Dağılımı

Perampanelin plazma protein bağlanma oranı yüksek olup yaklaşık % 95-96 teşkil etmektedir. Esas olarak albümin ve α 1-asit glikoprotein ile ve daha az oranda γ globulin ile bağlanmaktadır. Hafif ve orta şiddetli karaciğer yetmezliği, perampanelin plazma proteinine bağlanma derecesini azaltmaktadır. Perampanelin kan/plazma oranı 0,55-0,59 –dir (http-4).

2.8.2.5. Metabolizma

Perampanel, esas olarak karaciğerde CYP3A4 ve CYP3A5 tarafından metabolize edilmektedir. Sıçanlarda ve maymunlarda, değişmeyen perampanel plazmadaki ana bileşen olmasına rağmen, dolaşımda az miktarda metabolit gözlemlenmektedir. İnsanlarda ise, dolaşımdaki metabolitlerin miktarı değişmemiş Perampanele göre düşük olmaktadır. Bazı metabolitler AMPA reseptörlerini inhibe etse de, metabolitlerin Perampanelin terapötik aktivitesine katkısının önemsiz olduğu varsayılmaktadır (Rektor, 2013).

2.8.2.6. Eliminasyonu

Yetişkin sağlıklı gönüllülerde perampanelin plazma yarı ömrü, tek uygulamasından sonra 51-129 saat (ortalama 105), çoklu doz uygulamasından sonra ise 66-90 saattir. Enzim oluşturan yardımcı ilaçların varlığında, perampanel için yarı ömür değerleri 25 saattir. Uygulanan dozun yaklaşık% 2'si idrarda değişmemiş perampanel olarak renal yolla atılır (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

2.8.2.7. Advers etkileri

Perampanel kullanan hastalarda en sık görülen olumsuz ilaç reaksiyonları baş dönmesi, uyku hali, yorgunluk, sinirlilik, bulantı olarak bildirilmektedir. Hastaların rahatsız eden olumsuz reaksiyonlar genel olarak bilişsel ve psikiyatrik yan etkiler olmaktadır. Yüksek dozlarda perampanel alan hastalarda depresyon ve saldırganlık görüldüğü bildirilmiştir (Rugg-Gunn, 2014). Advers etki riski, tedavinin ilk birkaç ayında daha fazla ortaya çıkmaktadır. Daha yavaş titrasyon bazı olumsuz etkilerin görülme sıklığını ve şiddetini azaltabilmektedir (Patsalos ve Bourgeois, 2014).

2.8.2.8. Hepatotoksitesi

Bir araştırmada perampanel karaciğer toksisitesi araştırılmıştır. Bu araştırmada ile perampanel ile tedavi edilen 1038 hasta (2 mg, n = 180; 4 mg, n = 172; 8 mg, n = 431; 12 mg, n = 255) ve plasebo ile tedavi edilen 442 hastada ALP, ALT, AST, GGT ve TB değerleri tedavinin başlangıcında ve sonunda normal düzeylerde olmuştur. Hepatobiliyer parametrelere bağlı olumsuz durumlar, toplam perampanel tedavisi gören hastaların %0,4'ünde (n = 4) meydana geldi. Plasebo ile tedavi edilen hastalarda olumsuz durumlar gözlemlenmedi (n = 0). Sonuç olarak perampanelin karaciğer toksisitesi için düşük potansiyele sahip olduğu ve karaciğer fonksiyon testlerinde klinik olarak önemli bir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Laurenza vd., 2015).

Perampanelin yaygın hepatik biyotransformasyonuna rağmen karaciğer ile olası bir ilişkisi saptanmamıştır (Vidaurre vd., 2017). Halen karaciğer hastalığı bulunanlarda ve karaciğer yetmezliği olanlarda kullanımı ile ilişkili verilerin olmadığı da bir gerçektir (http-5).

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

Karbamazepin	: Sigma-Aldrich
Perampanel	: Sigma-Aldrich
Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM)	: Wisent Bio Products
Trypsin-EDTA çözeltisi	: Wisent Bio Products
Penisilin-streptomisin çözeltisi	: Wisent Bio Products
Dimetil sülfoksit (DMSO)	: Carlo Erba
Fosfat tamponu çözeltisi	: Biomatik
3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT)	: Sigma-Aldrich
FITC Annexin V Apoptoz Kiti	: BD Biosciences
2',7'-Diklorofluoresin diasetat	: Santo Cruz Biotechnology
tert-Bütül hidroperoksit, %70	: ACROS Organics
Trikloro asetik asit	: Sigma-Aldrich
Etanol	: Merck

3.2. Kullanılan Cihazlar

Biyogüvenlik kabini	: Heal Force HF Safe 1800
Buzdolabı	: Arçelik 2470 NEX
Buz makinası	: Kale Kd 030
Derin dondurucu (-20°C)	: Arçelik 2470 NEX
Derin dondurucu (-80°C)	: Arçelik 2470 NEX
ELISA plak okuyucusu	: Biotek Eon
Akış sitometre cihazı	: BD Biosciences FACS Aria III
Enjektör filtresi (0,2 µm por büyüklüğü)	: Aisimo

Kilitli kapaklı mini santrifüj tüpleri (2 mL)	: Nest
Hassas terazi	: Ohaus Pioneer PA64
Hücre kültür kabı (25 ve 75 cm ²)	: Nest
Hücre plağı (6, 24 ve 96 kuyucuklu)	: Nest
Ters mikroskopi	: Leica DMi1
İnkübatör (CO ₂ dönüşümlü)	: Thermo Fisher Scientific Hera Cell 240
Kriyo tüp	: Nest
Otoklav	: Hirayama HG-80
Otomatik pipet (10, 20, 100, 200 ve 1000 µL)	: Eppendorf
Polipropilen tüp (15 ve 50 mL)	: Nest
Soğutmalı santrifüj	: Eppendorf Centrifuge 5810 R
Steril polipropilen santrifüj tüpü (15 ve 50 mL)	: Nest
Steril serolojik pipet (5, 10, 25 ve 50 mL)	: LP
Termostatlı su banyosu	: Wise Clean Wisc WUC-D06H
Vorteks	: Bio-Rad BR-2000
Hücre Sayım Cihazı	: Bio-Rad TC20
Pipet ucu (10, 20, 100, 200, 300 ve 1000 µL)	: Nest

4. YÖNTEMLER

Tezde araştırılması planlanan AEİ'lerin hepatotoksitesinin araştırılmasında insan hepatoselüler karsinoma hücre hattı HepG2 (ATCC® HB-8065™) hücreleri kullanılmıştır. Besiyeri olarak %10 fetal bovin serum (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin (100 IU/mL-100 mg/mL) antibiyotik çözeltisi ilave edilmiş Dulbecco's Minimum Essential Medium (DMEM) kullanılmıştır (Al-Sayed ve Esmat, 2016).

4.1. Hücrelerin Çoğaltılması

Deneylerde kullanılan HepG2 hücrelerinin çoğaltılması ve deneye hazırlanması için 2-3 günde bir rutin olarak pasajlama işlemi yapılmıştır. İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesini sağlamak için nazıkçe çalkalanarak ortamdaki besiyeri uzaklaştırılmıştır. Hücre kültür şişesine 5 mL fosfat tamponu ilavesi ile hücreleri yıkama işlemi gerçekleştirilmiş ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırılmıştır. Kültür şişesine tripsin EDTA çözeltisi (1X) ilave edildikten sonra inkübatörde yaklaşık 5 dakika bekletilmiştir (% 5 CO₂, % 95 nem ve 37 °C). Süre sonunda inkübatörden alınan kültür şişelerinin üzerine besiyeri ilave edilerek hücreler süspanse edilmiş ve 1:2, 1:3 bölünerek yeni kültür şişelerine aktarılmıştır. Kültür şişeleri inkübatöre konularak inkübasyona bırakılmıştır.

4.2. Hücrelere MTT Sitotoksite Testinin Uygulanması

MTT (3-[4,5-dimetil tiyazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolium bromür) canlı hücrelerdeki metabolik aktivitenin ölçülmesinde kullanılmaktadır. Tetrazolium tuzları, metabolizma ve solunum zinciri intakt hücrelerde mitokondriyal süksinat dehidrogenaz enzimi ile formazana dönüşmektedir. Mitokondriyal süksinat dehidrogenaz sarı renkli tetrazolyum tuzunu elektron kenetli reaktif varlığında çözünür turuncu renkli formazana dönüştürmektedir(Altıntop vd., 2018; Mosmann, 1983; Riss vd., 2016)

İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi içindeki besiyeri uzaklaştırıldı.

Kültür flasklarında yetiştirilen hücreler tripsin-EDTA çözeltisi (1X) (75 cm²' lik flasklara 3-5 mL, 25 cm²'lik flasklara 1-3 mL) ile muamele edilmiştir.

5 dakika inkübatörde bekletilen hücrelere mikroskopta bakılarak yüzeyden ayrılıp ayrılmadıkları kontrol edilmiştir. Nazıkçe vurularak hücrelerin yüzeyden ayrılması

sağlanmasıdan sonra hücrelerin üzerine tripsin-EDTA çözeltisinin iki katı hacimde besiyeri ilave edilmiştir.

Pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alınmış, +4°C’de 1200 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır.

Hücre pelleti üzerine uygun hacimde besiyeri eklenerek pipet yardımıyla nazikçe hücre süspansiyonu oluşumu sağlanmıştır.

10 µL hücre süspansiyonu içindeki hücre sayısı, 10 µL Trypan mavisi solüsyonu ile boyanarak cihaz yardımıyla otomatik hücre sayımı gerçekleştirilmiştir.

HepG2 hücreleri 96 kuyucuklu plaklara 1×10^4 hücre/100 µL olacak şekilde hesaplama yapılarak kuyucuklara eklenerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda hücre kültür plakalarının üst kısmı ters çevrilerek uzaklaştırıldı.

Hücreler fosfat tamponu ile yıkandı ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırılarak karbamazepin ve perampanel’in 1 – 0,000316 mM aralığında olacak şekilde hazırlanmış farklı konsantrasyonu 8 tekrarla, hücre kültür plakasının her bir kuyucuklarına ilave edilmiş ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kuyucuklardaki çözeltiler hücre kültür plakası ters çevrilerek uzaklaştırılmıştır.

Fosfat tamponu çözeltisi (PBS) ile hazırlanmış 100 µL MTT çözeltisi (0,5 mg/mL) kuyucuklara eklenerek 3 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3 saatlik inkübasyon süresinin ardından kuyucuklardaki MTT çözeltisi uzaklaştırılmıştır.

Karbamazepin için etanol, perampanel için dimetilsülfoksit (DMSO) (100 µL/kuyucuk) kullanarak kuyucuklarda oluşan formazan tuzları çözülmüştür.

Daha sonra hücre kültür plakasının optik dansitesi (OD) 540 nm’de okunmuştur.

Karbamazepin ve perampanelin non-lineer regresyon analizi ile inhibitör konsantrasyon 50 değeri hesaplandı ve sitotoksik özellikleri yorumlanmıştır. (Altıntop vd., 2018).

MTT sitotoksikite testi karbamazepin ve perampanel için 3 kez tekrarlandı.

Karbamazepin ve perampanelin’in stok çözeltileri besiyerinde hazırlandı.

4.3. Apoptoz ölçümü (Flow (Akış) Sitometrik Yöntem)

Hücre apoptoz uyarısı alırsa hücre zarının sitoplazmik yüzeyindeki lipid sırasında bulunan fosfatidilserin hücre zarının dış lipid tabakasına geçmektedir. Bu yer değiştirme apoptozun erken döneminde gerçekleşmektedir (Shehu vd., 2017; Güleş ve Eren, 2008). Anneksin V fosfatidilserine bağlanabilen bir protein olduğu için, bu protein floresan bir madde ile (FITC) işaretlenerek apoptotik hücre görünür hale getirilmektedir. Bu bağlanma oranı da akış sitometri cihazı ile ölçülebilmektedir. Nekrotik hücrelerde de anneksin bağlanması görülebileceği için ayrıca vital bir boya olan propidiyum iyodür (PI) boyaması da yapılmaktadır. Canlı hücrelerin zarları sağlam olduğu için PI boyası ile boyanmamaktadır. Canlı hücreler FITC(-)/PI(-), erken apoptotik hücreler FITC(+)/PI(-) ve geç apoptotik veya nekrotik hücreler FITC(+)/PI(+) olarak ayırt edilmektedir (Banfalvi, 2016; Güleş ve Eren, 2008).

Yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanan hücre süspansiyonu içindeki hücre sayısı belirlendikten sonra HepG2 hücreleri 6 kuyucuklu plaklara 1×10^6 /kuyucuk olacak şekilde ekilerek 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda besiyeri uzaklaştırılarak MTT sitotoksosite sonuçlarına göre karbamazepin ve perampanel'in 0,3-0,2-0,1 mM olacak şekilde hazırlanmış 3 farklı konsantrasyonu 2 tekrarlı olacak şekilde hücre kültür plakasının her bir kuyucuğuna uygulandı ve 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Süre sonunda besiyeri toplanarak hücreler fosfat tamponu (PBS) ile yıkanmış ve kuyucuklara tripsin EDTA çözeltisi (1X) eklenerek 5 dakika inkübatörde bekletilmiştir. Hücre kültür plakasının her bir kuyucuğuna besiyeri ilave edildi ve pipetleme ile hücre süspansiyonu hazırlanmıştır.

Her bir kuyucuktaki hücre süspansiyonu uygun santrifüj tüpüne aktararak 1200 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir.

Süpernatant ortamdan uzaklaştırılmış ve hücre pelletine 100 µL "Binding buffer" ilave edilmiştir.

Daha sonra tüpe 5 µL Anneksin-5, FITC ve 10 µL PI ilave edilerek 15 dakika karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübe edildi.

Süre sonunda tüpe 400 µL "Binding buffer" ilave edilerek hücreler tekrar süspanse edilmiştir.

Deney prosedürleri tamamlandıktan sonra 60 dakika içerisinde Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi, Hücre Kültürü Laboratuvarında bulunan Akış Sitometri cihazında analiz gerçekleştirilmiştir.

Akış sitometri testi karbamazepin ve perampanel için 3 kez tekrarlanmıştır.

4.4. Biyokimyasal Analiz

Yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanan hücre süspansiyonu içindeki hücre sayısı belirlendikten sonra HepG2 hücreleri 25 cm²'lik hücre kültür şişesine 5x10⁵ hücre olacak şekilde ekilip 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda besiyeri uzaklaştırılmıştır. Ardından MTT sitotoksosite sonuçlarına göre karbamazepin ve perampanelin 0,316-0,1-0,0316 mM olacak şekilde hazırlanmış 3 farklı konsantrasyonu farklı hücre kültür şişelerine uygulanmış ve 72 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Süre sonunda hücre kültür şişesindeki besiyerleri toplanmış ve +4 °C, 1200 g, 5 dakika sentrifüj edilmiştir.

Süpernatantta ELİSA kit prosedürüne uygun olarak AST, ALT, üre ve TB seviyeleri belirlenmiştir.

4.5. Reaktif Oksijen Türlerinin Belirlenmesi

Yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanan hücre süspansiyonu içindeki hücre sayısı belirlendikten sonra HepG2 hücreleri her bir kuyucukta 5x10⁴ hücre olacak şekilde 96'lık hücre kültür plakasına ekilip 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda besiyeri uzaklaştırılmıştır.

Ardından MTT sitotoksosite sonuçlarına göre karbamazepin ve perampanel'in 0,316-0,1-0,0316 mM olacak şekilde hazırlanmış 3 farklı konsantrasyonu ortama ilave edilmiş ve 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

Süre sonunda hücre kültür plakasının her bir kuyucuğuna besiyerinde hazırlanmış 20 µM DCFH-DA çözeltisi her kuyucuğa ilave edilerek 30 dk inkübasyon bırakılmıştır.

Süre sonunda besiyeri ortamdan uzaklaştırılarak hücreler soğuk fosfat tamponu ile yıkanmıştır.

Yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra hücre kültür plakasının 485 nm eksitasyon ve 530 nm emisyon dalga boylarında floresans ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Deneylerde pozitif kontrol olarak 0,5 mM t-BOOH çözeltisi kullanılmıştır.

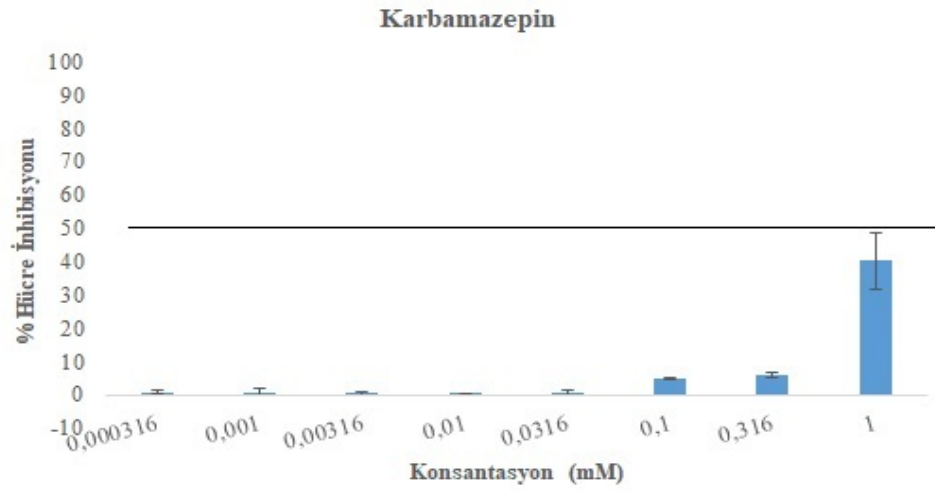
4.6. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. İstatistiksel değerlendirmeler GraphPad Prism 5 programında tek yönlü varyans analizi ve ardından Tukey çok yönlü karşılaştırma testi ile gerçekleştirilmiştir. $P < 0,05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

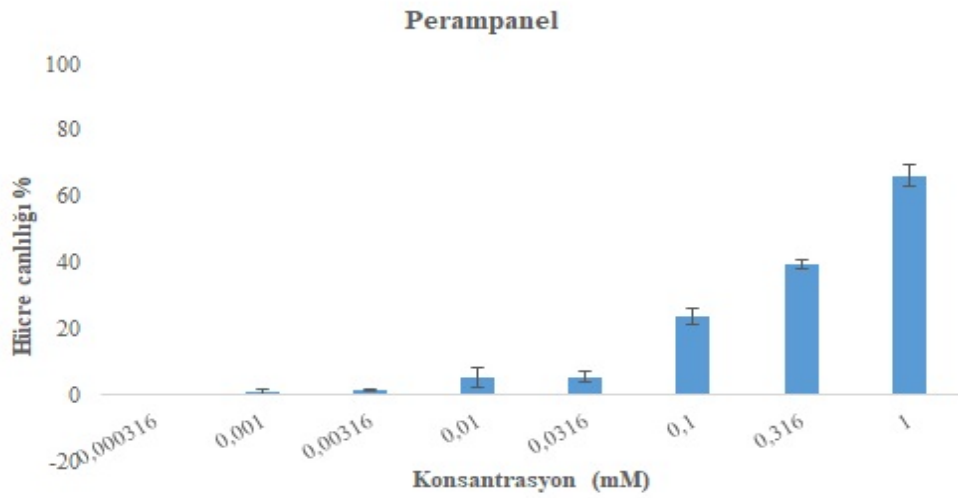
Yaygın olarak kullanılan bazı antikonvülsan ajanların (valproat, fenitoin, karbamazepin) idiyosenkratik kaynaklı karaciğer hasarına yol açtığı bildirilmiştir (http-2) İlaç kaynaklı hepatotoksisite vaka raporlarının büyük bir kısmını AEİ'ler oluşturmaktadır. Kısmi ve tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde kullanılan ve güçlü bir antikonvülsan ajan olan karbamazepin, karaciğerde granüloma oluşumuna, kolestatik ve hepatoselüler hasara yol açabilme potansiyeli bilinmektedir (Pandit vd., 2012; Morales-Diaz vd., 1999). Bunun yanısıra perampanel 2012 tarihinde ise FDA tarafından pazarlama onayı almış AMPA antagonisti antiepileptiktir (Faulkner, 2014; Majid vd., 2016). Hepatik biyotransformasyona uğramasına rağmen hepatotoksisitesinin incelendiği çalışma verilerinin azlığı dikkat çekmektedir (Vidaurre vd., 2017). Bu sepele bu tez çalışmasında HepG2 hücreleri kullanılarak perampanelin karbamazepine kıyasla hepatotoksik etki potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır. Primer hepatositlerle karşılaştırıldığında HepG2 hücrelerini biyotransformasyonun faz I ve II reaksiyonlarında rol oynayan spesifik sitokrom (CYP) P450 enzim düzeylerinin düşük olduğu bilinmesine rağmen, bu hücre dizisi hala birçok toksikoloji çalışmasında kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra HepG2 hücrelerinin UDP-glukuronosil - transferazlar hariç bir dizi faz II enzimine sahip olduğu bilinmektedir (Van den Hof vd., 2014; Summeren vd., 2011). Bazı araştırmacılar HepG2 hücreleri kullanılarak ROT oluşumu, glutasyon tükenmesi ve membran bütünlüğünü ölçmenin mümkün olduğunu ve bunun da sitotoksisiteyi hassas bir şekilde taramak için kullanılabileceğini göstermiştir. ROT oluşumu ve glutasyon tükenmesi, ilaca bağlı hepatotoksisitenin iki önemli mekanizması olup, hücresel organellerde etkili olmaktadır (Van den Hof vd., 2014). Brien ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada HepG2 hücrelerinin hepatotoksisite değerlendirilmesinde %80- duyarlılık ve %90 spesifite saptamıştır (O'Brien vd., 2006). İlaça bağlı karaciğer hasarını erken aşamada belirlemek için de HepG2 hücrelerinin in vitro transkriptomik analizinin de başarılı olacağı tahmin edilmektedir (Van den Hof vd., 2014). Hepatotoksik etkinin belirlenmesi için MTT ile sitotoksisite tayini, apoptoz/nekroz ve canlı hücre üzerinde etkilerinin incelenmesi, ROT seviyelerinin belirlenmesi ve hepatotoksisitenin önemli biyolojik belirteçlerinden olan ALT, AST, üre ve TB seviyelerinin tespiti gerçekleştirilmiştir.

5.1. MTT Yöntemi ile Bileşiklerin Sitotoksik Etki Sonuçları



Şekil 5.1. Karbamazepin'e ait % hücre inhibisyon değerleri

Karbamazepine maruz bırakılan HepG2 hücrelerinde hücre canlılığı 0,00316 mM için %4,83; 0,001 mM için %5,78; 0,000316 mM için %40,16 oranında azalmıştır.



Şekil 5.2. Perampanel'e ait % hücre inhibisyon değerleri

Perampanele maruz bırakılan HepG2 hücrelerinde hücre canlılığı 0,0316 mM için %5,33; 0,01 mM için %5,56; 0,00316 mM için %23,7; 0,001 mM için %39,6; 0,00316 mM için %66,34 oranında azalmıştır.

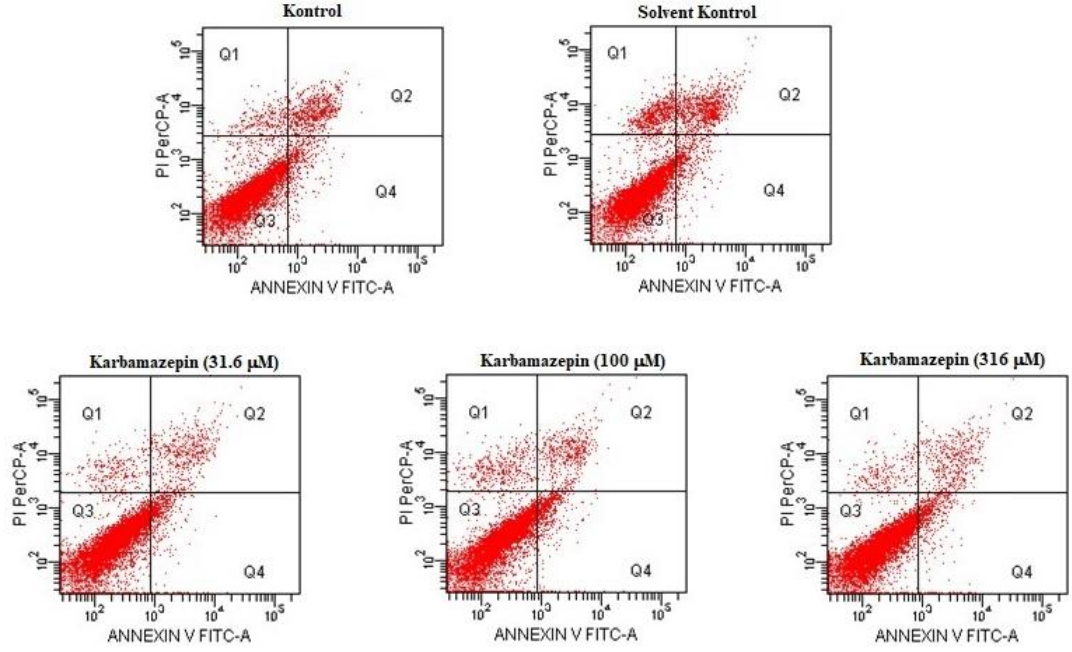
Toksik maddelere maruz kaldıktan sonra sitotoksiteyi belirlemek için hücre canlılığı deneyi olan MTT testi sıklıkla kullanılmaktadır (Fotakis ve Timbrell, 2005). Canlı hücrelerin metabolik aktivitesini ölçen ve günümüzde en çok kullanılan yöntemlerden bir tanesi olan kolorimetrik 3-(4,5-dimetil-2-tiyazolil)-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) mikropalak testi 1983 yılında Mosmann tarafından geliştirilmiştir. MTT bir tetrazolyum tuzudur (Mosmann, 1983). MTT, canlı hücrelerin mitokondrisinde mitokondriyal süksinat dehidrojenazın etkisiyle mor renkli formazana indirgenmektedir (Jain ve ark., 2018). Ölü hücrelerin MTT'yi formazana dönüştüreme kabiliyeti olmadığı için renk oluşumu sadece canlı kalan hücreleri işaret etmektedir (Riss vd., 2016).

Karbamazepin hücre canlılığı üzerinde test edilen konsantrasyonlarında %50 hücre canlılığını inhibe etme potansiyeline araştırılan en yüksek dozda ulaşmazken perampanel için hesaplanan IC_{50} değeri $0,5 \pm 0,09$ 'dur. Yapılan bir çalışmada da glioblastoma hücre hattında perampanelin hücre farklılaşmasını ve proliferasyonunu önlediği belirlenmiştir (Lange vd., 2019). Sonuçlardan hareketle, perampanelin sitotoksik etkisinin HepG2 hücreleri üzerinden karbamazepine göre fazla olduğu söylenebilir.

5.2. Anneksin V/PI yöntemi ile bileşiklerin apoptotik etki sonuçları

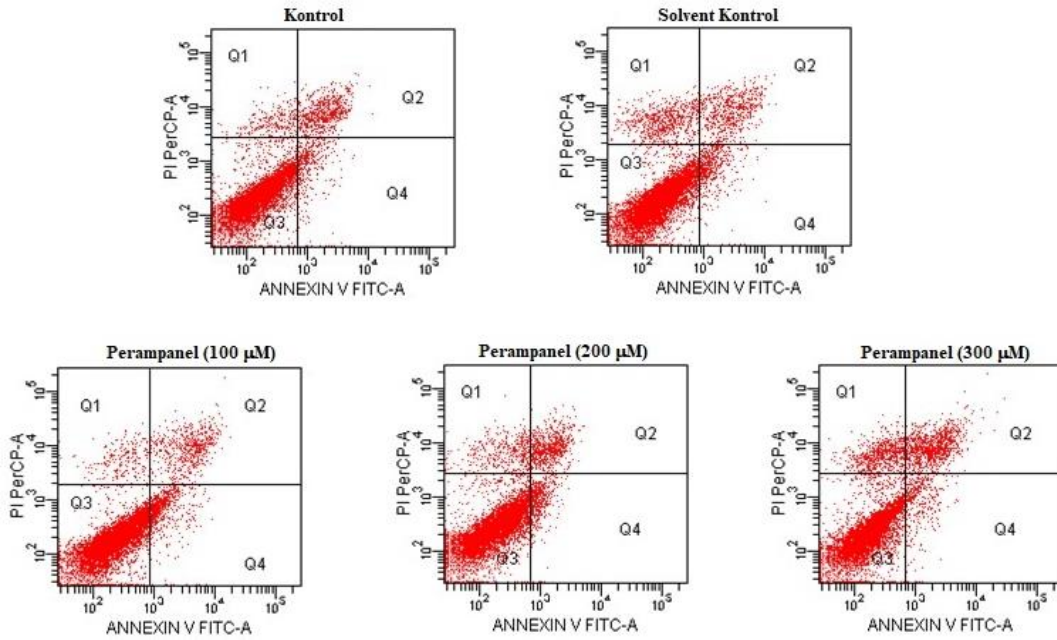
Akış sitometrisi çalışmaları, karbamazepin ve perampanel için stimüle edilmiş hücresel ölüm yolağının apoptoz olduğu belirlenmiştir.

Karbamazepin ve perampanel'in akış sitometrik analiz diyagramları, sırasıyla Şekil 5.3 ve Şekil 5.4'te sunulmuştur. Analiz edilen 3 farklı konsantrasyon için, canlı/apoptotik/nekrotik hücre yüzdeleri Çizelge 5.1'de sunulmuştur.



Şekil 5.3. HepG2 hücre hattı için karbamazepin'in akış sitometrik analiz diyagramı

Üst sol kadrant nekrotik (Q1; Anneksin V-negatif/PI-pozitif); üst sağ kadrant geç apoptotik hücreler (Q2; Anneksin V-pozitif/PI-pozitif); alt sol kadrant canlı hücreler (Q3; Anneksin V-negatif/PI-negatif) ve alt sağ kadrant apoptotik hücreler (Q4; Anneksin V-pozitif/PI-negatif).



Şekil 5.4. HepG2 hücre hattı için perampanel'in akış sitometrik analiz diyagramı

Üst sol kadrant nekrotik (Q1; Anneksin V-negatif/PI-pozitif); üst sağ kadrant geç apoptotik hücreler (Q2; Anneksin V-pozitif/PI-pozitif); alt sol kadrant canlı hücreler (Q3; Anneksin V-negatif/PI-negatif) ve alt sağ kadrant apoptotik hücreler (Q4; Anneksin V-pozitif/PI-negatif).

Çizelge 5.1. *Perampanel ve karbamazepin için farklı konsantrasyonlarda canlı/nekrotik/apoptotik hücre yüzdesi*

Madde	μM	Q1	Q2	Q3	Q4
Perampanel	100	2,3	5,9	85,4	6,4
	200	4,0	6,6	84,4	5,1
	300	6,6	10,0	78,9	4,5
Karbamazepin	31,6	2,6	4,8	87,6	5,0
	100	4,1	4,6	86,6	4,6
	316	3,2	4,3	84,7	7,8

İlaca bağlı karaciğer toksisitesinin göstergelerinden biri olan hücre ölümü tipleri apoptoz ve nekrozun belirlenmesinde anneksin V yöntemi ile akış sitometrisi yaygın olarak kullanılmaktadır (Shehu vd., 2017; Güleş ve Eren, 2008). Anneksin V membranların dış yüzeylerinde plazma membranlarının iç tarafından tutularak açığa çıkan fosfatidilserine bağlanarak floresan bir madde (örn. FITC) ile boyanarak apoptotik hücreleri görünür hale getirir. Ardından flow sitometri (akış sitometrisi) ile ölçülerek apoptozis sırasında ortaya çıkan hücre yüzeyindeki değişiklikleri belirlemek mümkündür (Güleş ve Eren, 2008; Nakata vd., 1999). Apoptotik ve nekrotik hücreler arasında ayırım yapmak amacıyla ek boyama olarak propidyum iyodür eklenmektedir (Banfalvi, 2016; Güleş ve Eren, 2008).

Çalışmamızda kullanılan ajanların apoptozu nekroza daha fazla indüklediği gösterilmiş olup, HepG2 hücre hattında karbamazepinin histon deasetilaz (HDAC) üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada karbamazepin ve ana aktif metaboliti olan karbamazepin-10,11-epoksitin etkili HDAC inhibitörü olduğu belirlenmiştir. Karbamazepinin hücre ölümünü tetiklemesinin HDAC inhibitörü olabilme etkisine bağlandığı görülmüştür (Beutler vd., 2005). HDAC inhibisyonu ise hücre farklılaşmasını, hücre ölümünü arttırmaktadır. Karbamazepinin aynı zamanda çeşitli mekanizmalarla da apoptozu indüklediği bilinmektedir (Zhang ve Zhong, 2014). Perampanelin ise kalsiyum inflüksunun normal bir şekilde devam etmesini sağlayarak hücre canlılığına katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Babu ve Gupta, 2018). Bu sebeple perampanelin nekroza ziyade apoptozu indüklemesi de şaşırtıcı görülmemektedir.

5.3. Biyokimyasal parametrelerin seviyelerinin belirlenmesi

Biyokimyasal karaciğer testleri semptomatik ve asemptomatik karaciğer hastalığı olan hastaları değerlendirmek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır (Hasan ve Owyed, 2003). Serum ALT ve AST seviyelerinin ölçümü karaciğer hasarlarını etkili bir şekilde tanımlayabilmektedir (Kim vd., 2008; Teranishi vd., 1978). Üre ve TB miktarı ölçümleri genelde böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla kullanılsa da, bazı ilaçlara bağlı gelişen hepatotoksisitenin de biyogöstergesi olabilmektedir (Wang vd., 2014; Waring vd., 2007). Biyokimyasal analiz sonuçları Çizelge 5.2’ de gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. Biyokimyasal analiz sonuçları

Biyokimyasal Parametreler	Büyüme Kontrol	Solvent kontrol	K316	K100	K31.6	P300	P200	P100
Üre	3,29± 0,09	3,31± 0,09	4,137± 0,05 (*)	3,507± 0,09(*)	3,81± 0,09 (*)	3,807± 0,099	3,8± 0,09 (*)	2,52± 0,08(*)
TB	0,012 ± 0,001	0,011± 0,007	0,01± 0,001	0,01± 0,005	0,02± 0,010 (*)	0,02± 0,010 (*)	0,01± 0,002	0,03± 0,009 (*)
AST	9,1± 0,26	9,09± 0,072	16,3± 1,47 (*)	11,167± 1,259	6,1± 0,854	20,3± 1,47(*)	17,2± 1,31(*)	6,03± 1,00
ALT	5,9± 0,78	6,51± 0,79	8,17± 1,04 (*)	5,17± 0,96	3,13± 0,96(*)	11,267± 1,17(*)	8±1(*)	2,03± 0,96(*)

(*) Kontrollden farklı ($p \leq 0.05$)

Hepatik enzim indüksiyonu karbamazepin ile tedavide sık karşılaşılan bir etki olup, hastaların %5 ila %10'unda asemptomatik karaciğer enzimlerinin yükselmesi görülebilmektedir. Karbamazepine bağlı hepatotoksisite kolestazlı, aşırı duyarlılığa bağlı bir granüloamatöz hepatit ve kolestazsız akut hepatit ve hepatoselüler nekroz olmakla iki şekilde görülmektedir (Holmes, 2002). Karbamazepinin hepatotoksik potansiyeli ve hepatik enzimleri (ALT, AST, ALP, GGT) indükleyebildiği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Hussein vd., 2013; Hadzagic-Catibusic vd., 2017). Bu tez çalışmasında da karbamazepin ile en yüksek dozda ALT ve AST seviyelerinde anlamlı artışlar dikkat çekmektedir. Bunun dışında da hepatik sentezin göstergesi olan üre miktarında da düşük doz hariç anlamlı artışlar görülmektedir. Bu noktada da karbamazepinin ure siklusunu bozduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Sonuç olarak

tez çalışmasında, karbamazepinin beklenen hepatotoksitesi biyolojik belirteçler ile de gösterilmiştir.

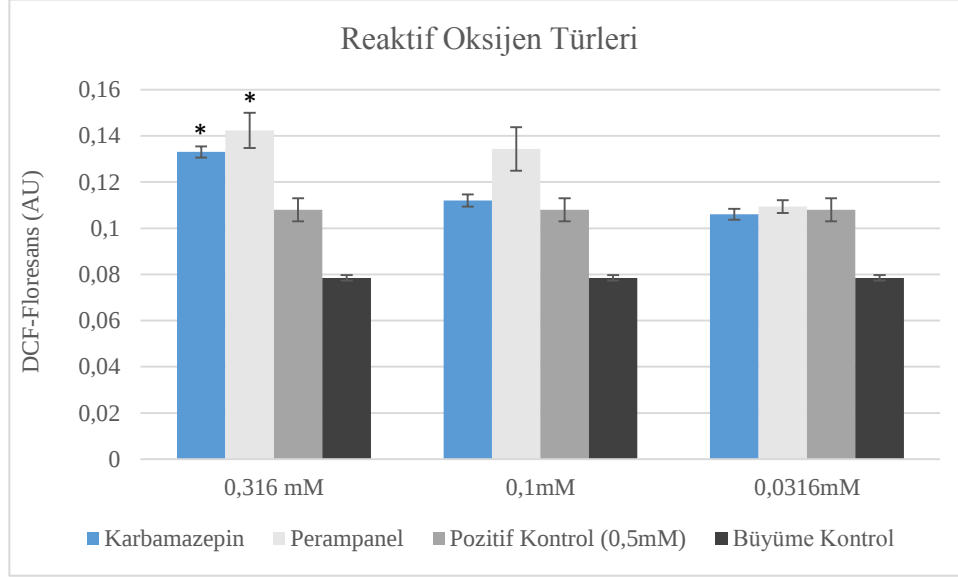
Perampanel ise düşük doz hariç ALT, AST, üre seviyelerini anlamlı olarak arttırırken, TB seviyelerinde de 0,3 ve 0,1 mM dozda anlamlı artışlara yol açmıştır. Yapılan bir çalışmada perampanelin bazı durumlarda karaciğer enzimlerini indükleyebileceği gösterilmiştir (Novy vd., 2014). Perampanelin farmakokinetiğinin hafif ila orta şiddette karaciğer yetmezliği olan değerlendirilmesi sonucunda kullanılan perampanel dozunun 8 mg'ı geçmemesi ve şiddetli karaciğer yetmezliği olan hastalarda kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir (http-6). Tedaviye dirençli status epileptikus olan hastalarda perampanelin advers etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada spesifik bir tedavi gerektirmeyen hafif dereceli kolestatik karaciğer hasarı gözlemlenmiştir. Bu hastalarda hepatik kan testlerindeki değişikliklerin incelenmesi sonucunda ALT $\geq 5 \times$ normalin üst sınırı (ÜNS), ALP $\geq 2 \times$ ÜNS veya ALT $\geq 3 \times$ ÜNS, bilirubin konsantrasyonu ise $>2 \times$ ÜNS olarak tanımlanmıştır (Beretta vd., 2017). Hakkında limitli veriye sahip perampanel karbamazepine kıyasla benzer hepatotoksite riskini biyolojik göstergelerde yaptığı anlamlı artışlar ile göstermiştir. Etkilediği biyolojik göstergeler bakımından hepatoselüler, hepatobiliyer ve aynı zamanda hepatik sentez kapasitesinde bozulmalara yol açması mümkün olabilir.

5.4. ROT miktarının belirlenmesi

İlaçların etkinliğinin değerlendirilmesi ve çeşitli patolojik durumların araştırılması açısından gerekli olan bir diğer durum oksidatif stres (Yoshikawa ve Naito, 2002). Oksidatif stress antioksidan savunmasının azalması ve yoğun ROT üretimine bağlı olarak biyomoleküllerde bazı modifikasyonların gelişmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır (Köken vd., 2004). ROT'u ve oksidatif stresi belirlemek için 2,7-dikloroflorosein (H₂DCF) boyası ile yapılan DCFDA yöntemi en yaygın olarak kullanılan yöntemdir (Jambunathan, 2010).

Karaciğer ROT tarafından saldırıya uğrayan önemli bir organdır. ROT mitokondriyal fonksiyonlarda değişikliklere neden olarak sitokin ekspresyonunu modüle eder, immün yanıtları değiştirir ve hepatosellüler yaralanma, apoptoz veya hücre ölümü ve karaciğer fibrozisi ile sonuçlanan sinyal kaskadlarını aktive eder. Birçok karaciğer hastalığı, yüksek ROT düzeylerine bağlı olarak oksidatif protein ve lipid modifikasyonunun büyüklüğünün, hastalığın ciddiyeti ile ilişkili olduğunu ve

hastalığın ilerlemesiyle bağlantılı olduğunu kanıtlayan önemli veriler bulunmaktadır (Sanchez-Valle vd., 2012).



Şekil 5.5. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan karbamazepin ve perampanelin uygulanan hücrelerde reaktif oksijen türlerinin seviyeleri

Karbamazepin uygulanan hücrelerde DCF floresans yoğunluğu 0,316mM t-BOOH için 0,133; 0,1mM için 0,112; 0,316mM için 0,106; Perampanel uygulanan hücrelerde ise hücrelerde DCF floresans yoğunluğu 0,316mM için 0,142; 0,1mM için 0,134; 0,316mM için 0,109 olarak ölçülmüştür.

Hem karbamazepin hem de perampanel pozitif kontrol t-BOOH a göre DCF düzeylerini dolayısıyla H₂O₂ oluşumunu arttırmıştır. Bazı çalışmalar sonucunda P450 enzimleri gibi hepatik ilaç metabolize eden enzimler tarafından oluşturulan reaktif metabolitlerin ve bunu takiben endojen proteinlerle ilave oluşumun, karbamazepimin neden olduğu karaciğer hasarının gelişiminde rolü olduğunu ortaya koymaktadır (Iida vd., 2015; Panayiotopoulos, 2005). İnsanlarda nadir fakat ciddi karaciğer hasarına neden olduğu bilinmekle birlikte karbamazepin metabolizmasının karaciğer hasarı gelişimindeki rolü tam olarak anlaşılmamıştır (Iida vd., 2015). Sıçan modeli ile yapılan bir çalışmada 2-hidroksi karbamazepin ve 3-hidroksi karbamazepin metabolitleri oluşumunun karaciğer hasarının gelişimine katkısı olduğu bildirilmiştir (Sasaki vd., 2016). Eghbal ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada karbamazepinin oksidatif stresi indüklediğini, ROT formasyonu ve lipid peroksidasyon ürünlerinin artmasını gösterdi. Hepatositlerin enerji üreten ve anahtar organelleri olarak mitokondri üzerindeki etkisi

değerlendirilmesi sonucunda karbamazepinin mitokondriyal membran potansiyelinin azalttığı sıçan hepatositlerinde karbamazepin toksisitesi konsantrasyona bağımlı olup, hepatositlerin 400 µM karbamazepin ile inkübasyonu, hücrelerin% 50'sinin 2 saatte ölmesine neden olduğu (LC50 = 400 µM) da bildirilmiştir (Eghbal vd., 2013). Karbamazepin ile indüklenen oksidatif stres bizim sonuçlarımızda da görülmektedir. Bu noktada perampanelin karbamazepine benzer şekilde oksidatif stresi indüklemiş olması dikkat çekicidir. Perampanel, %90 oranında hepatik metabolizmaya maruz kalmaktadır. Karaciğerde oksidasyon ve ardından glukuronidasyon ile yoğun şekilde metabolize olarak hiçbir farmakolojik olarak aktif olmayan 13 metabolit oluşturmaktadır. Metabolizmasında CYP3A5 dışında CYP3A4'ün de perampanelin metabolizmasında rol oynadığı düşünülmektedir (Besag ve Patsalos, 2016; Patsalos, 2015; Franco vd., 2013). Perampanelin sitokrom P450 hepatik enzimlerinin indükleyicisi olduğu da bilinmektedir. Bu da karbamazepin ve diğer bir kaç AEİ'ler gibi serum konsantrasyonlarında azalmalara neden olmaktadır (Faulkner ve Burke, 2013). Rekombinant insan CYP enzimleri ve insan karaciğer mikrozomları kullanılarak yapılan *in vitro* çalışmalarda perampanelin oksidatif metabolizmaya uğradığı ve oksidatif metabolizmaya CYP3A4 veya CYP3A5 izoenzimlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir (Plosker, 2012; Patsalos, 2015). Perampanel ile indüklenen oksidatif stresi tüm bu durumlar ile ilişkilendirmek mümkündür.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Karbamazepin fokal ve jeneralize tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde kullanılan birinci jenerasyon bir antiepileptiktir. Perampanel ise 12 yaş ve üstü hastalarda kısmi başlangıçlı, birincil jeneralize tonik-klonik nöbetlerin ek tedavisi için kullanılan üçüncü jenerasyon yeni bir AEİ'dir. Tez kapsamında çalışılan perampanelin hepatik metabolizmaya yaygın bir şekilde uğradığı düşünüldüğünde hakkında yapılmış yeterli sayıda hepatotoksisite çalışmasının olmaması çok dikkat çekicidir. Bu, noktadan hareketle hepatotoksisitesi bilinen ve yaygın kullanılan karbamazepine kıyasla perampanelin sitotoksik etkileri, hepatik hasarın biyogöstergeleri olan biyokimyasal parametreler ve ROT karaciğer toksisitesinin *in vitro* değerlendirmesinde kullanılan, insan hepatoselüler karsinoma hücre hattı HepG2 üzerinde incelenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda her iki ajanın HepG2 hücre hattında sitotoksik etki gösterdiği, hepatik biyobelirteçlerde artışa sebep olduğu ve oksidatif stresi indüklediği sonucuna varılmıştır. Tüm bu parametreler dikkate alındığında perampanelin de karbamazepin gibi hepatotoksiste riskine sahip olabileceği ve önemli derecede advers etki potansiyeli de oluşturabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Elde edilen sonuçlara esasen tez kapsamında incelenen ajanların hücre ölüm şekli olan nekrozdan ziyade, karaciğerde programlaştırılmış hücre ölümü olan apoptozu indükleyerek hücre ölümüne sebep olduğu gözlemlenmiştir. Bu da nekroza görece organizma için daha tercih edilir bir durumdur. Bu tez çalışması ile epilepsi tedavisinde sıklıkla kullanılan karbamazepin ve yeni ajan ve hakkında yetersiz veri bulunan perampanelin hem hepatotoksisite izlemi gerçekleştirilmiş hem de prelinik dönemde tespiti oldukça zor olan ilaca bağlı hepatotoksisite için de diğer ilaçlar açısından pratik bir izlem metodu ortaya konmuştur. Fakat, hepatotoksisite belirteçlerinin zenginleştirildiği yeni çalışmalara, karaciğer bozukluklarına sahip insanlardan veri toplanıldığı ve daha geniş ölçekli epidemiyolojik çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır. İlerleyen çalışmalarda, perampanelin hepatotoksik etki potansiyeli hem insan temelli çalışmalar hem de diğer modeller ile araştırılmalı klinisyenler de bu konuda hassas davranarak terapötik izlem süreçlerini ve beraberinde kullanılan ilaçlar ve özel durumlar ile ilgili hasta popülasyonlarını bilgilendirmeyi ihmal etmemelidirler.

KAYNAKÇA

- Ahmed, S.N., Siddigi, Z.A. (2005). Antiepileptic drugs and liver disease. *Seizure*, (15), 156-164.
- Ak Sonat, F. (2009). Antiepileptikler ve yeni bir antiepileptik olan topiramatin epilepsi tedavisindeki yeri ve önemi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (6), 987-992.
- Akarca, U.S. (2007). Karaciğer fonksiyon testi yüksekliğine tanısal yaklaşım. 9. *ulusal iç hastalıkları kongresi*, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, İzmir, 5-9 Eylül 2007, s.147-149.
- Akdağ, G., Algın, D.İ., Erdinç, O.O. (2016). Epilepsi. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 38 (1), 35-41.
- Akpınar, Ç. D., Ataklı, D., Velioğlu, S. (2015). İlk Nöbete Yaklaşım. Yeni S.N., Gürses, C. *Epilepsi Çalışma Grubu Tanı ve Tedavi Rehberi* içinde (s.9-26).
- Al-Sayed, E., Esmat, A. (2016). Hepatoprotective and antioxidant effect of ellagitannins and galloyl esters isolated from *Melaleuca styphelioides* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in HepG2 cells. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1727-1735.
- Altınar, A., Altınay, H., Bilal, T. (2018). Serbest radikaller ve stress ile ilişkisi. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, (7), 51-55.
- Ambrosio, A.F., Soares-da-Silva, P., Carvalho, C.M., Carvalho, A.P. (2002). Mechanisms of action of carbamazepine and its derivatives, oxcarbazepine, BIA 2-093, and BIA 2-024. *Neurochemical Research*, (7), 121–130.
- Anderson, M. E. (1998). Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chemico-Biological Interactions*, 1–14, 111–112.
- Antoine, D.J., Mercer, A.E., Williams, D. P., Park, B.K. (2009). Mechanism-based bioanalysis and biomarkers for hepatic chemical stress. *Xenobiotica*, 39 (8), 565–577.
- Apa, F., Ateşci, F.Ç., Varma, G.S. (2018). Valproik asit kullanımına bağlı gelişen hiperamonyemik ensefalopati: Olgu Sunumu. *Klinik Psikiyatri*, (21), 102-106.
- Arıcı, S. (2008). Toksik hepatit. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 1 (2), 113-119.

- Arslanköylü, A.E., Alakaya, M., Akyılmaz, E., Çelik, Y., Delibaş A. (2017). Hemodiyalize yanıt veren ağır valproik asit zehirlenmesi. *Çocuk Acil ve Yoğun Bakım Dergisi* (4), 77-79.
- Aschenbrenner, D.S. (2009). Central Nervous System Drugs. Aschenbrenner, D.S., Venable, S.J. *Drug Therapy in Nursing* içinde (s.344-346).
- Asconape, J.J. (2014). Use of antiepileptic drugs in hepatic and renal disease. Biller, J., Ferro, J.M., *Handbook of Clinical Neurology*, 119 (3), 418-432.
- Aulbach, A.D., Amuzie, C.J. (2017). Biomarkers in nonclinical drug development. Faqi, A.S. *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development* içinde (s. 447-471).
- Aydoğan, H.Y., Kurt, Ö., Kurnaz, Ö., Teker, B.A., Küçük hüseyin, Ö. (2013). Koroner kalp hastalığında peroksizom proliferatör-aktif reseptör (PPAR) izoformları. *Türk Biyokimya Dergisi*, 38 (4), 372–384.
- Babu, G.N., Gupta, M. (2017). Therapeutics in Neurodegenerative Disorders: Emerging Compounds of Interest. *Emerging Trends in Chemical Sciences*, 37–56.
- Banfalvi G. (2016). Methods to detect apoptotic cell death. *Apoptosis*, 22(2):306-323.
- Bell, G. S., Sander, J. W. (2001). The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure*, 10, 306–316.
- Ben-Menachem, E. (2015). Epileptik Yetişkinlerde Parsiyel Başlangıçlı Nöbet Tedavisinde Ek Lakosamit Tedavisi: Bir Derleme. *Epilepsi*, 21(1), 1-5.
- Berghuis, B., van der Palen, J., de Haan, G., Lindhout, D., Koeleman, B.P.C., Sander, J.W., EpiPGX Consortium. (2017). Carbamazepine- and oxcarbazepine-induced hyponatremia in people with epilepsy. *Epilepsia*, 58(7), 1227–1233.
- Bertilsson, L., Tomson, T. (1986). Clinical Pharmacokinetics and Pharmacological Effects of Carbamazepine and Carbamazepine-10,11-Epoxy. *Clinical Pharmacokinetics*, 11, 177-198.
- Bertolini, A., Ferrari, A., Ottani, A., Guerzoni, S., Tacchi, R., Leone, S. (2006). Paracetamol: new vistas of an old drug. *CNS Drug Reviews*, 12(3-4), 250-75.
- Besag, F.M.C., Patsalos, P. N. (2016). Clinical efficacy of perampanel for partial-onset and primary generalized tonic–clonic seizures. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 12, 1215–1220.
- Beutler, A.S., Li, S., Nicol, R., Walsh, M.J. (2005). Carbamazepine is an inhibitor of histone deacetylases. *Life Sciences*, 76(26), 3107-3115.

- Bhogal, R. H., Weston, C. J., Curbishley, S. M., Adams, D. H., Afford, S. C. (2012). A cyto-protective mechanism which prevents primary human hepatocyte apoptosis during oxidative stress. *Autophagy*, 8(4), 545–558.
- Björnsson E. (2008). Hepatotoxicity associated with antiepileptic drugs. *Acta Neurologica Scandinavica*, 118, 281–290.
- Björnsson E.S. (2016). Hepatotoxicity by Drugs: The Most Common Implicated Agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 224.
- Boyd, E. M., Bereczky, G. M. (1966). Liver necrosis from paracetamol. *British Journal of Pharmacology*, 26, 606-614.
- Bronen, R.A., Fulbright, R.K., Spencer, D.D., Spencer, S.S., Kim, J.H., Lange, R.C., Sutilla, C. (1996). Refractory epilepsy: comparison of MR imaging, CT, and histopathologic findings in 117 patients. *Radiology*, 201, 97-105.
- Brown, H., Brown, M. E., Michelson, P., McDermott, W.V. (1967). Urea-Cycle Enzymes in Liver Disease. *Journal of the American Medical Association*, 199(1), 35-36.
- Bruni, J. (2002). Adverse effects. Levy, R.H., Mattson, R.H., Meldrum, B.S., Perucca, E. *Antiepileptic drugs içinde* (s.605-610).
- Chalasani, N.P., Paul H., Hayash P.H., Bonkovsky, H.L, Victor J., Navarro, V.J., Lee W.M, Fontana R.J. (2014). ACG Clinical Guideline: The Diagnosis and Management of Idiosyncratic Drug-Induced Liver Injury. *American Journal of Gastroenterology*, 109, 950–966.
- Chang, C. Y., Schiano, T. D. (2007). Review article: drug hepatotoxicity. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 25, 1135–1151.
- Chapman, K., Wheles, J.W. (2010). Special Treatments in Epilepsy. Rho, J., Sankar, R., Stafstrom C.S. *Epilepsy: Mechanisms, Models, and Translational Perspectives içinde* (s. 381-406).
- Çakıl, D., İnanır, S., Baykan, H., Aygün, H., Kozan, R. (2013). Epilepsi ayırıcı tanısında psikojenik non-epileptik nöbetler. *Göztepe Tıp Dergisi*, 28(1), 41-47.
- David, S., Hamilton, J.P. (2010). Drug-induced Liver Injury. *United States Gastroenterology Hepatology Review*, 6, 73–80.
- Dean, L. Carbamazepine Therapy and HLA Genotype. Pratt, V., McLeod, H., Rubinstein, W. (2018). *Medical Genetics Summaries [Internet]*. National Center for Biotechnology Information (US).

- Dinçer, G.Ç., Kul, O. (2016). Patolojik apoptozis ve tanı yöntemleri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, (1),86-108.
- Ding, D., Hauser, W. A. (2011). The natural history of seizures. Wyllie, E., Cascino, G.D., Gidal, B.E., Goodkin, H.W. *Wyllie's Treatment of epilepsy principles and practice* içinde (s.11-19).
- Donato, M.T., Jover, R., Gómez-Lechón M. J. (2013). Hepatic Cell Lines for Drug Hepatotoxicity Testing: Limitations and Strategies to Upgrade their Metabolic Competence by Gene Engineering *Current Drug Metabolism*, (14), 949-968.
- Ebadi, M. (1998). Trimethadione. *CRC Desk Reference of Clinical Pharmacology* içinde (s. 583-583).
- Eghbal, M. A., Taziki, S., Sattari, M.R., (2013). Protective Role of Melatonin and Taurine Against Carbamazepine-induced Toxicity in Freshly Isolated Rat Hepatocytes. *International Journal of Morphology*, 31(3), 1081-1089.
- Elger, C., Halasz, P., Maia, J., Almeida, L., Soares-da-Silva, P., on behalf of the BIA-2093-301 Investigators Study Group. (2009). Efficacy and safety of eslicarbazepine acetate as adjunctive treatment in adults with refractory partial-onset seizures: A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase III study. *Epilepsia*, 50(3), 454–463.
- Erdoğan, F.F. (2014). Yeni Antiepileptik İlaçlar. *Epilepsi*, 20(1), 56-58.
- Ersoy, O. (2012). Karaciğer Enzim Yüksekliğinin Değerlendirilmesi. *Ankara Medical Journal*, 12(3), 129-135.
- Faulkner, M. A. (2014). Perampanel: A new agent for adjunctive treatment of partial seizures. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 71, 191-198.
- Faulkner, M.A., Burke, R.A. (2013). Safety profile of two novel antiepileptic agents approved for the treatment of refractory partial seizures: ezogabine (retigabine) and perampanel. *Expert Opinion on Drug Safety*, 12(6).
- Ferrajolo, C., Capuano, A., Verhamme, K.M., Schuemie, M., Rossi, F., Stricker, B.H., Sturkenboom, MC. (2010). Drug-induced hepatic injury in children: a case/non-case study of suspected adverse drug reactions in Vigibase. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 70(5), 721-8.
- Fisher, K., Vuppalandhi, R., Saxena, R. (2015). Drug-Induced Liver Injury. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 139, 876–887.

- Forbes, G.M., Jeffrey, G.P., Shilkin, K.B., Reed, W.D. (1992). Carbamazepine Hepatotoxicity: Another Cause of the Vanishing Bile Duct Syndrome. *Gastroenterology*, 102, 1385-1388.
- Fotakis, G., Timbrell, J.A. (2005). In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicology Letters*, 160, 171-177.
- French, J.A., Krauss, G.L., Biton, V., Squillacote, D., Yang, H., Laurenza, A., Kumar, D., Rogawski, M.A. (2012). Adjunctive perampanel for refractory partial-onset seizures: Randomized phase III study 304. *Neurology*, 79(6), 589-96.
- Galiana, G.L., Gauthier, A.C., Mattson, R.H. (2017). Eslicarbazepine Acetate: A New Improvement on a Classic Drug Family for the Treatment of Partial-Onset Seizures. *Drugs in RD*, 329-339.
- Ganança, M.M., Caovilla, H.H., Ganança, F.F., Ganança, S.F., Munhoz, M.C.L., Garcia da Silva, M.L., Serafini, L. (2002). Clonazepam in the Pharmacological Treatment of Vertigo and Tinnitus. *International Tinnitus Journal*, 8 (1), 50-53.
- Gao, Y., Cao, Z., Yang, X., Abdelmegeed, M.A., Sun, J., Chen, S., Beger, R.D., Davis, K., Salminen, W.F., Song, B.J., Mendrick, D.L., Yu, L.R. (2017). Proteomic analysis of acetaminophen-induced hepatotoxicity and identification of heme oxygenase 1 as a potential plasma biomarker of liver injury. *Proteomics Clinical Applications*, 11(1-2).
- Garnett, W.R., Anderson, G.D., Collins, R.J. (2006). Antiepileptic drugs. Burton, M.E., Shaw, L.M., Schentagh, J.J., Evans, W.E.. *Applied Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring* içinde (s. 502-503).
- Garnett, W.R., Bainbridge, J.L., Egeberg, M.D., Johnson, S.L. (2012). Carbamazepine. Murphy, J.E. *Clinical Pharmacokinetics* içinde (s. 169-178).
- Gasparovic, A.C., Lovakovic, T., Zarkovic, N. (2010). Oxidative Stress and Antioxidants: Biological Response Modifiers of Oxidative Homeostasis in Cancer. *Periodicum Biologorum*, 112 (4), 433–439.
- Gerets, H. H. J., Tilmant, K., Gerin, B., Chanteux, H., Depelchin, B. O., Dhalluin, S., Atienzar F. A. (2012). Characterization of primary human hepatocytes, HepG2 cells, and HepaRG cells at the mRNA level and CYP activity in response to

- inducers and their predictivity for the detection of human hepatotoxins. *Cell Biology Toxicology*, 28, 69-87.
- Ghallab, A. (2014). The rediscovery of HepG2 cells for prediction of drug induced liver injury (DILI). *EXCLI Journal*, 13, 1286-1288.
- Giannini, E.G., Testa, R., Savarino, V. (2005). Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Canadian medical association journal*, 172(3), 367-379.
- Gidal, B.E., Ferry, J., Majid, O., Hussein, Z. (2013). Concentration–effect relationships with perampanel in patients with pharmacoresistant partial-onset seizures. *Epilepsia*, 54(8), 1490–1497.
- Gierbolini, J., Giarratano, M., Benbadis S.R. (2016). Carbamazepine-related antiepileptic drugs for the treatment of epilepsy - a comparative review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 17(7), 885-888.
- Gilliam, F.G., Gidal, B.E. (2011). Lamotrigine. Wyllie, E., Cascino, G.D., Gidal, B.E., Goodkin, H.P. *Wyllie's Treatment of Epilepsy: Principles and Practice* içinde (s. 704-710).
- Glauser, T.A., Morita, D.A. (2006). Ethosuximide. Wyllie, E., Gupta, A., Lachhwani, D.K. *The Treatment of Epilepsy: Principles and Practice* içinde (s. 817-828).
- Glauser, T.A., Morita, D.A. (2006). Ethosuximide. Wyllie, E., Gupta, A., Lachhwani, D.K. *The Treatment of Epilepsy: Principles & Practice* içinde (s. 817-828).
- Göktaş, H.G., Bacanlı, M., Başaran, N. (2014). İlaçların Neden Olduğu Karaciğer Hasarı ve Hasarın Belirlenmesinde Kullanılan Biyogöstergeler. *Türkiye Klinikleri Turkish Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 3(1), 17-26.
- Görgülü, Ü., Fesci, H. (2011). Epilepsi ile yaşam: Epilepsinin psikososyal etkileri. *Göztepe Tıp Dergisi*, 26(1), 27-32.
- Greenwood, J., Valdes, J. (2016). Perampanel (Fycompa): A Review of Clinical Efficacy and Safety in Epilepsy. *Pharmacy and Therapeutics*, 41(11), 683-698.
- Guerreiro, C.A.M. (2016). Epilepsy: Is there hope? *Indian Journal of Medical Research*, 144, 657-660.
- Gül, G., Çokar, Ö. (2015). Epilepsi Tanısı almış Hastada Tedavi Yaklaşımı. . Yeni S.N., Gürses, C. *Epilepsi Çalışma Grubu Tanı ve Tedavi Rehberi* içinde (s. 28-33).
- Güleş, Ö., Eren, Ü. (2008). Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, (2), 73-78.

- Gwaltney-Brant, S. M. (2016). Nutraceuticals in Hepatic Diseases. *Nutraceuticals*, 87–99.
- Hadzagic-Catibusic, F., Hasanbegovic, E., Melunovic, M., Zubcevic S., Uzicanin, S. (2017). Effects of Carbamazepine and Valproate on Serum Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase and Gamma - Glutamyltransferase in Children. *Medical Archives*, 71(4), 239-242.
- Hasan, F.A.M., Owyed, S. (2003). Interpretation of liver chemistry tests. *Bull Kuwait Institute Medical Specialization*, 2, 27-31
- Hoffmann, W. E., Solter, P. F. (2008). Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 351–378.
- Holmes, G.L. (2002). Carbamazepine adverse effects. Levy, R.H., Mattson, R.H., Meldrum, B.S., Perucca, E. *Antiepileptic drugs* içinde (s.285-294).
- Holt, M.P., Ju, C. (2006). Mechanisms of Drug-Induced Liver Injury. *The AAPS Journal*, 8 (1), E48-E54.
- Hovinga, C.A. (2010). Acetazolamide. Panayiotopoulos, C.P., Benbadis, S.R., Beran, R.G., Berg, A.T., Engel, J., Galanopoulou, A.S., Kaplan, P.W., Koutroumanidis, M., Moshe, S.L., Nordli, D.R., Serratosa, J.M., Sisodiya, S.M., Tatum, W.O., Valeta, T., A. Wilner. *Atlas of Epilepsies* içinde (s.1707-1712).
- Hussein, R.R.S., Soliman, R.H., Abdelhaleem A., A.M., Tawfeik, M.H., Abdelrahim, M.E.A. (2013). Effects of Antiepileptic Drugs on liver enzymes. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2 (1), 14-19.
- Iida, A., Sasaki, E., Yano, A., Tsuneyama, K., Fukami, T., Nakajima, M., Yokoi, T. (2015). Carbamazepine-Induced Liver Injury Requires CYP3A-Mediated Metabolism and Glutathione Depletion in Rats. *Drug Metabolism and Disposition*, 43, 958–968.
- İzci, F. (2016). Epilepsi Hastalarında Aleksitimi, Mizaç ve Karakter Özellikleri. *Psikiyatri Güncel Yaklaşımlar-Current Approaches in Psychiatry*, 8(1), 64-75.
- Jaeschke, H., McGill, M.R., Ramachandran, A. (2012). Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: Lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metabolism Reviews*, 44(1), 88-106.
- Jain, A.K., Singh, D., Dubey, K., Maurya, R., Mittal, S., Pandey, A.K. (2018). Models and Methods for In Vitro Toxicity. *In Vitro Toxicology*, 45-65.

- Jambunathan, N. (2010) Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants. *Methods in Molecular Biology*, 639, 292-298.
- Jones Bartlett Learning. (2015). *2015 Nurse's Drug Handbook* içinde (724-725).
- Kang, S.J., Lee, H.M., Park, Y.I., Yi, H., Lee, H., So, B., Song, J.Y., Kang, H.G. (2016). Chemically induced hepatotoxicity in human stem cell-induced hepatocytes compared with primary hepatocytes and HepG2. *Cell Biology Toxicology*, 32, 403–417.
- Kanous, N.L., Gidal, B.E. (2004). Antiepileptic Drugs. Mozayani, A., Raymon, L. *Handbook of Drug Interactions: A Clinical and Forensic Guide* içinde (s. 89-122).
- Kaplowitz, N. (2004). Drug-Induced Liver Injury. *Clinical Infectious Diseases*, 38(2), 44–48.
- Kelly, F.K. (2003). Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occupational and Environmental Medicine*, 60, 612–616.
- Kim, W., Flamm, S.L., Di Bisceglie, A.M., Bodenheimer, H.C. (2008). Serum activity of alanine aminotransferase (ALT) as an indicator of health and disease. *Hepatology*, 47(4), 1363-1370.
- Köken, T., Kahraman, A., Serteser, M., Gökçe, Ç. (2004). Hemodiyaliz ve Oksidatif Stres. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 5, 9-13.
- Kullak-Ublick, G.A., Andrade, R.J., Merz, M., End, P., Benesic, A., Gerbes, A.L., Aithal, G.P. (2017). Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut*, 66, 1154–1164.
- Kurutaş, E.G., Şahan, A., Altun, T. (2009). Oxidative stress biomarkers in liver and gill tissues of spotted barb (*Capoeta barroisi* Lortet, 1894) living in the river Ceyhan, Adana, Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 33, 275-282.
- Kutt. H., Harden, C.L. (1999). Phenytoin and congeners. Eadie, M.J., Vajda, F.. *Antiepileptic Drugs: Pharmacology and Therapeutics*, içinde (s.247-249).
- Kuyumcu, F., Aycan, A. (2018). Evaluation of Oxidative Stress Levels and Antioxidant Enzyme Activities in Burst Fractures. *Medical Science Monitor*, 24, 225-234.
- Labbe, G., Pessayre, D., Fromenty, B. (2008). Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction: mechanisms and detection during preclinical safety studies. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 22, 335–353.

- Lange, F., Weßlau, W., Porath, K., Hörnschemeyer, J., Bergner, C., Krause, B.J., Mullins, C.S., Linnebacher, M., Köhling, R., Kirschstein, T. (2019). AMPA receptor antagonist perampanel affects glioblastoma cell growth and glutamate release *in vitro*. *PLOS ONE*, 14(2), 1-17.
- Laurenza, A., Yang, H., Williams, B., Zhou, S., Ferry, J. (2015). Absence of Liver Toxicity in Perampanel-Treated Subjects: Pooled results from partial seizure phase III perampanel clinical studies. *Epilepsy Research*, 113, 76-85.
- Leppik, I.E., White, J.R. (2009). Felbamate. Shorvon, S., Perucca, E., Engel, J. *The Treatment of Epilepsy* içinde(s.511-518).
- Li, S., Tan, H.Y., Wang, N., Zhang, Z.J., Lao, L., Wong, C.W., Feng, Y. (2015). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 26087–26124.
- Liu, Z., Que, S., Xu, J., Peng, T. (2014). Alanine Aminotransferase-Old Biomarker and New Concept: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(9), 925-935.
- Longin, E., Teich, M., Koelfen, W., König, S. (2002). Topiramate Enhances the Risk of Valproate-associated Side Effects in Three Children. *Epilepsia*, 43(4), 541-454.
- Löscher, W., Schmidt, D. (2011). Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: Ways out of the current dilemma. *Epilepsia*, 52(4), 657–678.
- Luer, M.S., Penzak, S.R. (2016). Pharmacokinetic properties. Jann M. W., Penzak, S.R., Cohen, L.J. *Applied clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of psychopharmacological agents* içinde (s.3-28).
- Maan, J.S., Saadabadi, A. (2018). Carbamazepine. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL).
- Maheshwari, E., Ganesan Raja Lakshmi Saraswathi, G.R.L., Santhranii, T. (2014). Hepatoprotective and antioxidant activity of N-acetyl cysteine in carbamazepine-administered rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 46(2), 211–215.
- Majid, O., Laurenza, A., Ferry, J., Hussein, Z. (2016). Impact of perampanel on pharmacokinetics of concomitant antiepileptics in patients with partial-onset seizures: pooled analysis of clinical trials. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 82(2), 422–430.

- Mclean, M.J., Gidal, B.E. (2010). Gabapentin and Pregabalin. Wyllie, E., Cascino, G.D., Gidal, B.E., Goodkin, H.W. *Wyllie's Treatment of epilepsy principles and practice* içinde (s.690-703).
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (1-2), 91-96.
- Meyer, A., Dua, T., Ma, J., Saxena, S., Birbeck, G. (2010). Global disparities in the epilepsy treatment gap: a systematic review. *Bull World Health Organ*, 88, 260–266.
- Mochizuki, M., Shimizu, S., Urasoko, Y., Umeshita, K., Kamata, T., Kitazawa, T., Nakamura, D., Nishihata, Y., Ohishi, T., Edamoto, H. (2009). Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in pregnant and lactating rats. *The Journal of Toxicological Sciences*, 34(2),175-81.
- Morales-Diaz, M.M.D., Pinilla-Roa, E., Ruiz, I. (1999).Suspected Carbamazepine-Induced Hepatotoxicity. *Pharmacotherapy*, 19(2), 252–255.
- Mosmann, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63.
- Murray, K.F., Hadzic, N., Wirth, S., Bassett, M., Kelly, D. (2008). Drug-related hepatotoxicity and acute liver failure. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 47(4), 395-405.
- National Institutes of Health Consensus Conference. Surgery for epilepsy. (1990). *Journal of the American Medical Association*, 264, 729-33.
- Nikanorova, M., Genton, P., Johannessen, S. I., Landmark C.J. Bromides. (2011). *Orphan drugs in epilepsy*.
- Nikanorova, M., Genton, P., Johannessen, S. I., Landmark C.J. Vigabatrine. (2011). *Orphan drugs in epilepsy*.
- Noachtar, S., Remi, J. (2009). The role of EEG in epilepsy: A critical review. *Journal epilepsy and behavior*, 15(1), 22-33.
- Novy, J., Rothuizen, L.E., Buclin, T., Rossetti, A.O. (2014). Perampanel: A Significant Liver Enzyme Inducer in Some Patients? *European Neurology*, 72, 213–216.
- O'Brien, P. J., Irwin, W., Diaz, D.,Howard-Cofield, E., Krejsa, C. M., Slaughter, R., Gao, B., Kaludercic, N., Angeline, A., Bernardi, P., Brain, P., Hougham, C.

- (2006). High concordance of drug-induced human hepatotoxicity with in vitro cytotoxicity measured in a novel cell-based model using high content screening. *Archives Toxicology*, 80, 580–604.
- Ozer J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., Schomaker, S. (2008). The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 245(3), 194-205.
- Özcan, A., T., D., Özcan, E., Çanakçı, E., Karaca, F., Şahin, A., E., Şen, P. (2016). Akut Valproik Asit İntoksikasyonunun Tedavisinde L-karnitin Kullanımı. *Anestezi Dergisi*, 24 (2), 123 – 125.
- Özcan, O., Erdal, H., , G., Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3), 331-336.
- Özdemir, Z., Karakurt, A. (2016). İlaç Metabolizması ve Farmasötik Kimyada Önemi. *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5 (2), 35-46.
- Pacifici, G.M. (2016). Clinical Pharmacology of Phenobarbital in Neonates: Effects, Metabolism and Pharmacokinetics. *Current Pediatric Reviews*, 12, 48-54.
- Pack, A.M. (2019). Epilepsy Overview and Revised Classification of Seizures and Epilepsies. *Epilepsy*, 25(2), 306–321.
- Panayiotopoulos, C.P. (2005). Carbamazepine. *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management*. Bladon Medical Publishing, Oxfordshire (UK).
- Panayiotopoulos, C.P. (2005). Principles of Therapy in Epilepsies. *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management*. Bladon Medical Publishing, Oxfordshire (UK).
- Panayiotopoulos, C.P. (2010). Principles of Therapy in Epilepsies. Eslicarbazepine acetate. *A Clinical Guide to Epileptic Syndromes and their Treatment* içinde (s.574-575).
- Pandit, A., Sachdeva, T., Bafna, P. (2012). Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2 (5), 233-243.
- Parola, M., Robino, G. (2001). Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis. *Journal of Hepatology*, 35, 297-306.
- Patsalos, P.N. (2015). The clinical pharmacology profile of the new antiepileptic drug perampanel: A novel noncompetitive AMPA receptor antagonist. *Epilepsia*, 56(1), 12–27.

- Patsalos, P.N., Bourgeois, B.F.D. (2014). Eslicarbazepine acetate. *The Epilepsy Prescriber's Guide to Antiepileptic Drugs* içinde (s.57-65).
- Patsalos, P.N., Bourgeois, B.F.D. (2014). Perampanel. *The Epilepsy Prescriber's Guide to Antiepileptic Drugs* içinde (s.180-187).
- Patsalos, P.N., Bourgeois, B.F.D. (2014). Valproate. *The Epilepsy Prescriber's Guide to Antiepileptic Drugs* içinde (s.290-303).
- Perucca, E. (1998). Pharmacoresistance in Epilepsy. *CNS Drugs*, 10(3), 171–179.
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4 (2), 89-96.
- Phelps, S.J., Wheless, J.W., Alldredge, B.K. (2006). Helms, R.A., Quan, D.J., Herfindal, E.T., Gourley, D.R. *Seizure Disorders. Textbook of Therapeutics: Drug and Disease Management* içinde (s. 1608-1645).
- Pirmohamed, M., Kitteringham, N.R., Breckenridge, A.M., Park, B.K. (1992). Detection of an autoantibody directed against human liver microsomal protein in a patient with carbamazepine hypersensitivity. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 33(2), 183-6.
- Plosker, G.L. (2012). Perampanel: As Adjunctive Therapy in Patients with Partial-Onset Seizures. *CNS Drugs*, 26, 1085–1096.
- Pohlmann-Eden, B., Steinhoff, B.J. (2014). Levetiracetam. *Understanding Antiepileptic Drugs: Guiding You Through the Maze of Options* içinde (s.55-60).
- Pratt, D.S., Kaplan, M.M. (2000). Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *New England Journal of Medicine*, 342(17), 1266-1271.
- Rasmussen, A.D., Richmond, E., Wegener, K.M., Downes, N., Mullins, P. (2015). Vigabatrin-induced CNS changes in juvenile rats: Induction, progression and recovery of myelin-related changes. *NeuroToxicology*, 46, 137-144.
- Rektor, I. (2013). Perampanel, a novel, non-competitive, selective AMPA receptor antagonist as adjunctive therapy for treatment-resistant partial-onset seizures. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 14(2). 225-235.
- Riss, T.L., Moravec, R.A., Niles, A.L., Duellman, S., Benink, H.A., Worzella, T.J., Minor, L. (2016). Cell Viability Assays. Sittampalam, G.S., Coussens, N.P. *Assay Guidance Manual* içinde (s. 357-387).
- Rogawski, M.A. (2011). Revisiting AMPA Receptors as an Antiepileptic Drug Target. *Epilepsy Currents*, 11(2), 56–63.

- Rugg-Gunn, F. (2014). Adverse effects and safety profile of perampanel: A review of pooled data. *Epilepsia*, 55(1), 13–15.
- Sadock, B.J., Sadock, V.A. (1933). Biological Terapies, Precautions and adverse reactions. *Kaplan and Sadock's Concise Textbook of Clinical Psychiatry* içinde (s.514).
- Saltık, S. (2014). Çocukluk Epilepsilerinde Tıbbi Tedavi. *Epilepsi*, 20(1), 50-55.
- Sanchez-Valle, V., Chavez-Tapia, N.C., Uribe, M., Mendez-Sanchez, (2012). N. Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: A review. *Current Medicinal Chemistry*, 19, 4850–4860.
- Sander, J. W. A. S., Hart, Y. M., Trimble, M. R., Shorvon, S. D.(1991). Vigabatrin and psychosis. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 54, 435-439.
- Sasaki, E., Iida, A., Oda, S., Tsuneyama, K., Fukamia, T., Nakajima, M., Yokoi, T. (2016). Pathogenetic analyses of carbamazepine-induced liver injury in F344 rats focused on immune - and inflammation-related factors. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 68(1), 27-38.
- Satar, M., Ortaköylü, K., Batun, İ., Yıldızdaş, H.Y., Özlü, F., Demir, H., Topaloğlu, A.K. (2016). Gebelikte annenin karbamazepin ve valproik asit kullanımına bağlı hipomagnesemi ve çekilme sendromu. *Türk Pediatri Arşivi*, 51, 114-6.
- Saukkonen, J.J., Cohn, D.L., Jasmer, R.M., Schenker, S., Jereb, J.A., Nolan, C.M., Peloquin, C.A., Gordin, F.M., Nunes, D., Strader, D.B., Bernardo, J., Venkataramanan, R., Sterling, T.R. (2006). An Official ATS Statement: Hepatotoxicity of antituberculosis therapy. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 174, 935-952.
- Savaş, N. (2014). Karaciğer Fonksiyon Testi Bozukluğuna Yaklaşım. *The Journal of Turkish family physician*, 5(3), 1-7.
- Schachter, S.C. (1999). Oxcarbazepine. Eadie, M.J., Vajda, F. *Antiepileptic Drugs: Pharmacology and Therapeutics* içinde (s.319-328).
- Sezer, K., Keskin, M. (2014). Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezisindeki Rolü. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 28 (1), 49 – 56.
- Shehu, A.I., Ma, X., Venkataramanan, R. (2017). Mechanisms of Drug Induced Hepatotoxicity. *Clinical Liver Disease*, 21, 35–54.

- Sherwin, A.L. (2002). Clinical efficacy and use in epilepsy. Levy, R.H., Mattson, R.H., Meldrum, B.S., Perucca, E. *Antiepileptic drugs* içinde (s.652-657).
- Singh, A., Bhat, T.K., Sharma, O.P. (2011). Clinical Biochemistry of Hepatotoxicity. *Clinical Toxicology*, 4.
- Snozek, C.L.H., McMillin, G.A., Moyer, T. (2012). Therapeutic Drugs and Their Management: Topiramate. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D. E. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics* içinde (s.1077).
- Somerville, E.R., Michell, A.W. (2009). Gabapentin. Shorvon, S., Perucca, E., Engel, J. *The Treatment of Epilepsy* içinde (s.519-526).
- Sonsuz, A. (2007). Karaciğer Fonksiyon Bozukluklarına Klinik Yaklaşım. *Akciğer Kanserine Güncel Yaklaşım: Sempozyum Dizisi*, No58, 69-78.
- Stafstrom, C.E., Carmant, L. (2015). Seizures and Epilepsy: An Overview for Neuroscientists. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1-19.
- Stahl, S.M. (2006). Carbamazepine. *Essential Psychopharmacology: the Prescriber's Guide: Antipsychotics and mood stabilizers* içinde (s. 13-15).
- Summeren, A.V., Renes, J., Bouwman, F.G., Noben, J., Delft, J.H.M., Kleinjans, J.C.S., Mariman, E.C.M. (2011). Proteomics Investigations of Drug-Induced Hepatotoxicity in HepG2 Cells. *Toxicological Sciences*, 120(1), 2011, 109–122.
- Şentürk, H., Canbakan, B., Hatemi, İ. (2004). Karaciğer Enzim Yüksekliklerine Klinik Yaklaşım. *Gastroenterolojide Klinik Yaklaşım Sempozyum Dizisi*, No:38, s. 9-13.
- Teranishi, H., Kagamiyama, H., Teranishi, K., Wada, H., Yamano, T. (1978). Cytosolic and Mitochondrial Isoenzymes of Glutamic-Oxalacetic Transaminase from Human Heart. *The Journal of Biological chemistry*, 253(24), 8842-8847.
- Thapa, B.R., Walia, A. Liver Function Tests and their Interpretation. *Indian Journal of Pediatrics*, 74 (7), 663-671.
- Thompson, C.B. (1995). Apoptosis in the Pathogenesis and Treatment of Disease. *Science*, 267, 1456-1462.
- Thompson, M., Jaiswal, Y., Wang, I., Williams, L. (2017). Hepatotoxicity: Treatment, causes and applications of medicinal plants as therapeutic agents. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(3), 186-193.
- Toklu, Z. (2015). Epilepside Tedavi Stratejileri. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 16, 147-150.
- Tokur, O., Aksoy, A. (2017). In Vitro Sitotoksikite Testleri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6 (1), 112-118.

- Tsai, J.J., Wu T., Leung, H., Desudchit, T., Tiamkao, S., Lim, K.-S., Dash, A. (2018). Perampanel, an AMPA receptor antagonist: From clinical research to practice in clinical settings. *Acta Neurologica Scandinavica*, 137, 378–391.
- Tucker, G.M. (2002). Oral anticonvulsants used in the chronic management of seizure disorders. *Pharmacy and Therapeutics*, 27, 96-102.
- Tujios, S., Fontana, R.J. (2011). Mechanisms of drug-induced liver injury: from bedside to bench. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 8, 202–211
- Uthman, B.M. (2011). Less Commonly Used Antiepileptic Drugs. Wyllie, E., Cascino, G.D., Gidal, B.E., Goodkin, H.W. *Wyllie's Treatment of epilepsy principles and practice* içinde (s. 779-789).
- Van Calker, D., Steber, R., Klotz, K., Greil, W. (1991). Carbamazepine distinguishes between adenosine receptors that mediate different second messenger responses. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology Section*, 206, 285-290.
- Van den Hof, W.F. P. M., Coonen, M.L.J., Herwijnen, M., Brauers, K., Wodzig, W. K. W. H., Delft, J. H. M., Kleinjans, J.C.S. (2014). Classification of Hepatotoxicants Using HepG2 Cells: A Proof of Principle Study. *Chemical Research in Toxicology*, 27, 433–442.
- Venable, S. J., Jenkins, P. (2009). Drugs treating parkinson disease and other movement disorders. Aschenbrenner, D.S., Venable, S.J., *Drug Therapy in Nursing* içinde (s.344-347).
- Vetter, J. (1998). Toxins of Amanita Phalloides. *Toxicon*, 36 (1), 13-24.
- Vickery, P.B., Tillery, E.E., DeFalco, A.P. (2017). Intravenous Carbamazepine for Adults With Seizures. *Annals of Pharmacotherapy*, 1 –5.
- Vidaurre, J., Gedela, S., Yarosz, S. (2017). Antiepileptic Drugs and Liver Disease. *Pediatric Neurology*, 77, 23–36.
- Wang, H., Ran, J., Jiang, T. (2014). Urea. *Urea Transporters*, 7–29.
- Wang, J., Joseph, J.A. (1999). Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(5/6), 612–616.
- Waring, W.S., Stephen, A.F.L., Robinson, O.D.G., Dow, M.A., Pettie J.M. (2008). Serum urea concentration and the risk of hepatotoxicity after paracetamol overdose. *Quarterly Journal of Medicine*, 101, 359–363.

- Washington, I.M., Hoosier, G.V. (2012), Clinical Biochemistry and Hematology *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster and Other Rodents*, 57-116.
- Wu, D., Cederbaum, A.I. (2003). Alcohol, Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Research and Health*, 27(4), 277-284.
- Yew, W.W., Chang, K.C., Chana, D.P. (2018). Oxidative Stress and First-Line Antituberculosis Drug-Induced Hepatotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother*, 62(8), 1-10.
- Yılmaz, M.B., Tunç, E., Ilgaz, N.S., Öksüz, H., Öztecik, E., Özpak, L., Öcal, I., Pazarbaşı, A., Demirhan, O. (2018). Cancerous cell lines alter their genomic organization and karyotype with increased passage number: a cytogenetic study. *Çukurova Tıp Dergisi*, 43(4), 923-930.
- Yoshikawa, T., Naito, Y. (2002). What Is Oxidative Stress? *Japan Medical Association Journal*, 45(7), 271–276.
- Yüksel, N. (2001). Sitokrom P450 Enzim Sistemi ve İlaç Etkileşimleri. *Klinik Psikiyatri*, 1, 5-16.
- Zhang, J., Zhong, Q. (2014). Histone deacetylase inhibitors and cell death. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(20), 3885–3901.
- Zona, C., Tancredi, V., Palma, E., Piripone, G. C., Avoli, M. (1990). Potassium currents in rat cortical neurons in culture are enhanced by the antiepileptic drug carbamazepine. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 68, 545-547.
- http-1:https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/020844s0411bl.pdf (Erişim tarihi: 14.07.2019)
- http-2: <https://livertox.nih.gov/> (Erişim tarihi: 16.05.2019).
- http-3: <https://www.fda.gov/media/116737/download> (Erişim tarihi: 22.07.2019).
- http-4: <https://www.fda.gov/media/84995/download> (Erisim tarihi: 11.07.2019).
- http-5:https://www.ema.europa.eu/en/documents/variation-report/fycompa-h-c-2434-ii-0016-epar-assessment-report-variation_en.pdf (Erişim tarihi: 27.07.2019).
- http-6:https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/fycompa-epar-product-information_en.pdf (Erişim tarihi: 27.07.2019).