

Valproik Asit'in Sıçanlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Epileptik Nöbet Sonrası Hipokampus ve Kortekste Meydana Gelen DNA Hasarı ve Apoptozis Üzerine EtkisiMahmut EKİCİ¹, Ahmet Şevki TAŞKIRAN^{2*}

ÖZET: Valproik asit (VPA) epilepsi tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir kimyasal ajandır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar VPA'in nöronlar üzerine bazı olumsuz etkilerinin olabileceğini göstermiştir fakat bu konu henüz netlik kazanmamıştır. Bu çalışmanın amacı VPA'in sıçanlarda pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan epileptik nöbet sonrası hipokampus ve kortekste meydana gelen DNA hasarı ve apoptozis üzerine etkisini ortaya koymaktır. Çalışmada 18 adet 230-250 gram ağırlığında erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar kontrol (serum fizyolojik 1 ml kg⁻¹+ serum fizyolojik 1 ml kg⁻¹; n=6), PTZ (serum fizyolojik 1 ml kg⁻¹ + PTZ; n=6) ve VPA (150 mg kg⁻¹ VPA + PTZ; n=6) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. PTZ grubu ve VPA grubuna belirtilen dozlarda uygulanmasından yarım saat sonra 45 mg kg⁻¹ pentilentetrazol intraperitoneal olarak uygulanarak nöbet oluşumu sağlanmıştır. Nöbet oluşumundan 24 saat sonra tüm sıçanların beyin dokuları çıkarılmış, korteks ve hipokampus bölgeleri alınmıştır. Korteks ve hipokampus dokularında enzim bağlı immüno sorbent (ELISA) yöntemi ile DNA hasar belirteci olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OhDG) ve apoptozis belirteci olan caspase-3 ölçülmüştür. One way ANOVA varyans analizi ile istatistiksel değerlendirme yapılmıştır. PTZ grubunda 8-OhDG seviyesi hem korteks hem de hipokampüste kontrol grubuna göre artmıştır ($p<0.05$). Bununla birlikte, VPA nöbet sonrası 8-OhDG seviyesini korteks ve hipokampüste PTZ grubuna kıyasla yükseltmiştir ($p<0.05$). Ayrıca, kortekste caspase-3 seviyesi PTZ grubunda kontrole göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.05$). Bunun yanı sıra, VPA kortekste PTZ grubuna kıyasla caspase-3 seviyesini anlamlı olarak yükseltmiştir ($p<0.05$). Sonuç olarak, VPA sıçanlarda nöbet sonrası meydana gelen DNA hasarı ve apoptozisi arttırmıştır.

Anahtar Kelimeler: Valproik Asit, Epilepsi, Pentilentetrazol, DNA Hasarı, Apoptozis

The Effect of Valproic Acid on DNA Damage and Apoptosis After Pentylene-tetrazole-induced Epileptic Seizure Generated in the Hippocampus and Cortex in Rats

ABSTRACT: The treatment of epilepsy. Recent studies have shown that VPA may have some negative effects on nerve cells, but this issue has not been clarified yet. The aim of this study was to investigate the effect of VPA on DNA damage and apoptosis after pentylene-tetrazole (PTZ) induced epileptic seizure generated in the hippocampus and cortex in rats. In the study, 18 males 230-250 grams of rats were used. Rats are divided into three groups as control (physiological serum 1 ml kg⁻¹ + physiological serum 1 ml kg⁻¹; n=6), PTZ (physiological serum 1 ml kg⁻¹ + PTZ; n=6) and VPA (150 mg kg⁻¹ VPA+PTZ; n=6). Seizure was induced by administering 45 mg kg⁻¹ pentylene-tetrazole intraperitoneally twenty minutes after the administration at the indicated doses to the PTZ group and VPA group. The brain tissues of all rats were removed, and cortex and hippocampus areas were separated 24 hours after seizure. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OhDG), which is a DNA damage marker, and caspase-3, which is a marker of apoptosis, were measured in the cortex and hippocampus tissues by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method. One-way ANOVA variance analysis was used for statistical evaluation. In the PTZ group, the 8-OhDG level increased in both cortex and hippocampus compared to the control group ($p<0.05$). Therefore, VPA enhanced the 8-OhDG level after seizure compared to the PTZ group in the cortex and hippocampus ($p<0.05$). In addition, the level of caspase-3 in the cortex significantly raised compared to the control in the PTZ group ($p<0.05$). Moreover, VPA significantly improved the level of caspase-3 in the cortex compared to the PTZ group ($p<0.05$). In conclusion, VPA increased DNA damage and apoptosis after seizures in rats.

Keywords: Valproic Acid, Epilepsy, Pentylene-tetrazole, DNA Damage, Apoptosis.

¹ Mahmut EKİCİ (Orcid ID: 0000-0001-7434-578X), Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

² Ahmet Şevki TAŞKIRAN (Orcid ID: 0000-0002-5810-8415), Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Ahmet Şevki Taşkiran, e-mail: ahmettaskiran@cumhuriyet.edu.tr

ETİK KURUL ONAYI / ETHICS COMMITTEE APPROVAL: Bu makale yer alan hayvan deneyi için "Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan" 16.01.2020 tarih ve 277 nolu kararla izin alınmıştır.

Geliş tarihi / Received: 01-05-2020

Kabul tarihi / Accepted: 07-06-2020

GİRİŞ

Nöbet veya epileptik nöbet, kortikal nöronların aşırı ve anormal deşarjı sonucu oluşan beyin fonksiyonlarının geçici olarak bozulmasıdır. Epilepsi, genellikle genetik yatkınlık veya altta yatan kronik patolojik bir durumdan kaynaklanan provoke edilmeksizin meydana gelen tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize bir merkezi sinir sistemi hastalığıdır (Taşkıran ve ark., 2018). Epilepsi, inme ve Alzheimer hastalığından sonra en sık görülen nörolojik bozukluktur ve dünya nüfusunun yaklaşık % 1'ini etkilemektedir (Shakirullah ve ark., 2014). Epilepsinin kaynak aldığı mekanizmalara yönelik olarak antiepileptik ilaçlar geliştirilmiştir. En temel özellikleri eksitasyonun ortaya çıkmasını önlemek ve uyarılma-baskılama dengesini normalde tutmaktır.

Apoptozis programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır (Ergul ve ark., 2019). Apoptozis hücrede meydana gelen yaşlanma, oksidatif strese bağlı hasarlanma gibi intrensek nedenler ve ayrıca hücre dışı uyarılarla indüklenen ekstrensek nedenler olmak üzere iki ana yol üzerinden meydana gelmektedir. Her iki yolunda ortak sonucu caspase-3'ün oluşması ve hücrenin ölüme gitmesidir. Nöbetlerin hücre içerisine kalsiyumu akışını artırıp, caspase-3'ü aktifleştirerek apoptozise neden olduğu bilinmektedir (Henshall ve ark., 2005). Bununla birlikte, oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir. DNA'da oluşan bu oksidatif hasar, mutagenesis ve karsinogenesis gibi durumların bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Guanin DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip bileşik olmasından dolayı serbest radikallerin etkilerine açıktır. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OhDG), guanin'in 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarını gösteren bir belirteçtir. Yapılan çalışmalar epileptik nöbet sonrası oksidatif strese bağlı olarak 8-OhDG seviyelerinin arttığını göstermektedir (Valavanidis ve ark., 2009).

Valproik asit (VPA), farklı nörolojik ve psikiyatrik durumlarda yaygın kullanılan antikonvülsan ve duyudurum düzenleyici bir ilaçtır. Nörolojide epilepsi, nöropatik ağrı, tremor ve migren profilaksisinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, akut mani tedavisi gibi bazı psikiyatrik hastalıklarda da kullanılmaktadır. Diğer antikonvülsan ilaçlarda olduğu gibi VPA'nın temel etki mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Fakat yaygın görüş VPA'nın temel inhibitör olan gama amino bütirik asidin (GABA) etkilerini arttırdığı yönündedir. Ayrıca sinyal transdüksiyon sistemi üzerine düzenleyici etkileri bulunmakta ve voltaj kapılı sodyum kanallarından iyonların geçişini azaltarak nöronal iletiyi yavaşlatmaktadır. VPA'nın sodyumun nöronlara geçişini azaltarak glutamat salınımını azalttığı ve eksitator nöronların inhibe olmasını sağladığı; GABA'nın salıverilmesini arttırarak, geri alımını azaltarak ve/veya yıkımını yavaşlatarak inhibitör etkiyi arttırdığı bilinmektedir (Chateauvieux ve ark., 2014; Nanau ve ark., 2013). Klinikte güvenle kullanılmasının yanı sıra son yıllarda yapılan çalışmalar VPA olumsuz etkilerinin olabileceğine dikkat çekmektedir (Nanau ve ark., 2013).

Bu çalışmanın amacı VPA'nın sıçanlarda pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan epileptik nöbet sonrası hipokampus ve kortekste meydana gelen DNA hasarı ve apoptozis üzerine etkisini araştırmaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

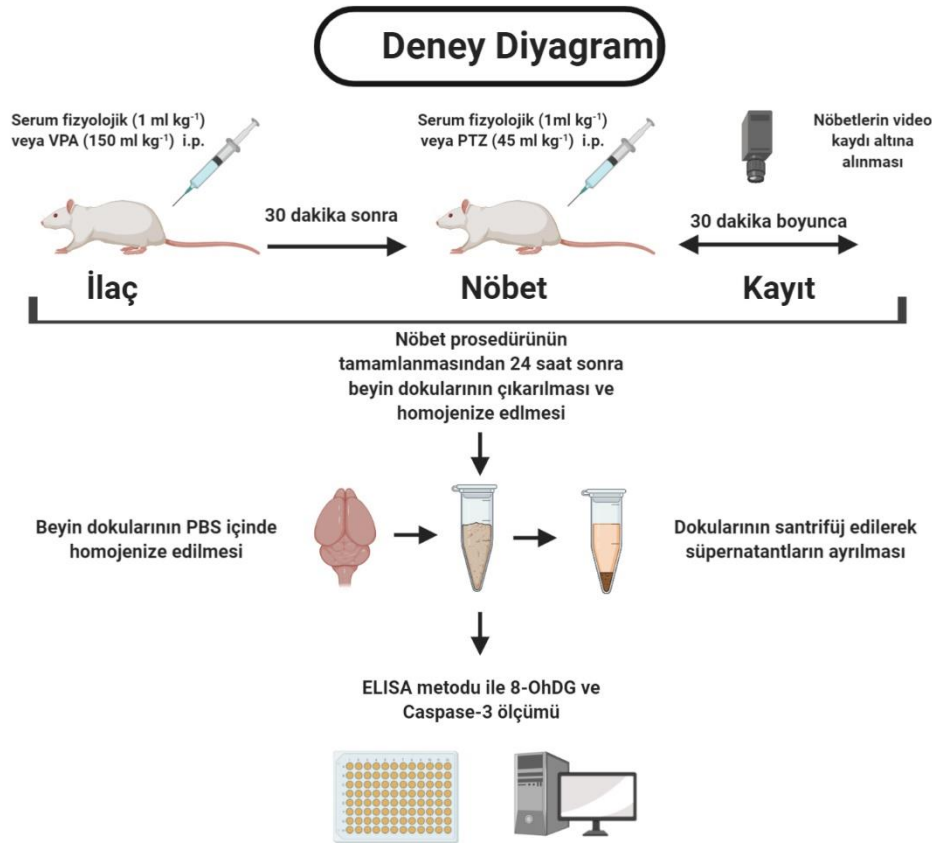
Bu çalışmanın etik kurul onayı, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'ndan 16.01.2020 tarih ve 277 nolu kararla alınmıştır.

Hayvan Materyali

Çalışmada strese maruz bırakılmamış ve uluslararası standartlara uygun kafeslerde yetiştirilen 4 aylık 230-250 gram ağırlığında 18 adet erkek Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir. Deney hayvanları sesten yalıtılmış, % 55±6 nem içeren ve sıcaklığı 22±1 °C olan bir odada tutulmuştur. Ayrıca, sirkadyen ritmin korunması için ortamın 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü sağlanmıştır. Hayvanlar için uygun oranda besin ve su bulundurulmuştur. Deneysel çalışmalar, sirkadyen ritim değişiklikleri ve buna bağlı oluşabilecek etkilerden kaçınmak amacıyla her gün 09.00-12.00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak, deneyin yapıldığı ortamın ses ve ışık düzeyi sürekli kontrol altında tutularak deneysel süreçlerin etkilenmemesi için standardizasyon sağlanmıştır.

Deney Grupları

Her bir grupta altışar hayvan olacak şekilde, sıçanlar kontrol (n=6), PTZ (n=6) ve VPA (150 mg kg⁻¹; n=6) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Kontrol grubuna ilaç çözücüsü olarak kullanılan serum fizyolojik 1 ml/kg ml kg⁻¹ uygulanmış ardından 30 dakika sonra PTZ çözücüsü olarak kullanılan serum fizyolojik 1 ml kg⁻¹ intraperitoneal olarak uygulanmıştır. PTZ grubuna ilaç çözücüsü olarak kullanılan serum fizyolojik 1 ml kg⁻¹ olarak intraperitoneal olarak uygulanmış bu uygulamadan 30 dakika sonra 45 mg kg⁻¹ pentilentetrazol intraperitoneal olarak verilerek nöbet oluşumu sağlanmıştır. VPA grubuna bulunan sıçanlara VPA 150 mg kg⁻¹ intraperitoneal olarak uygulanmış bu uygulamadan 30 dakika sonra 45 mg kg⁻¹ pentilentetrazol intraperitoneal olarak verilerek nöbet oluşumu sağlanmıştır. PTZ ve VPA grubundaki sıçanların nöbet davranışları video kaydı altına alınmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Deney diyagramı

Bu videolarla nöbet evreleri Racine skalasına göre değerlendirilmiş (Çizelge 1) ve ilk miyoklonik jerk süreleri saniye cinsinden kaydedilmiştir.

Çizelge 1. Racine skalasına göre nöbet evreleri (Racine, 1972).

Evre	Epileptik Davranışsal Karşılığı
0	Cevap yok
1	Hiperaktivite, bıyık hareketleri
2	Kafa klonusu
3	Myoklonik jerkler
4	Düşmeksizin meydana gelen tonik-klonik kasılmalar
5	Sırt üstü düşme ile birlikte meydana gelen tonik-klonik kasılmalar
6	Ölüm

Beyin Dokularının Çıkarılması ve Laboratuvar Analizleri

Hayvanlara servikal dislokasyon ile ötenazi uygulandıktan sonra kafatası açılarak beyin dokuları çıkarılmıştır. Soğuk zemin üzerinde beyin dokularının korteks ve hipokampus bölgeleri ayrılmıştır. Ependorf tüplere alınan korteks ve hipokampus parçaları fosfat tampon solüsyonu (PBS, pH: 7.4) içinde manüel bıçaklı homojenizatör yardımıyla homojenize edilmiştir (Golechha ve ark., 2014; El-Deeb ve ark.,2019). Elde edilen homojenatlar 15 ml'lik falkon tüplere konularak 4000 rpm'de 10 dakika (soğutmalı santrifüjde 4°C'de) santrifüj edilmiş ve homojenatların süpernatant kısımları alınıp pellet kısımları atılmıştır. Elde edilen doku süpernatantlarından 8-OhDG ve caspase-3 seviyeleri, spesifik sıçan ELISA ticari kitleri (Shanghai Sunred Biological Technology, Shanghai, Çin) kullanılarak ölçülmüştür. Üreticinin talimatlarına göre, ilk olarak kit içerisinde yer alan standartlar ve doku örnekleri kuyucuklar yüklenerek 37 °C derecede 60 dk inkübe edilmiştir. Ardından kuyucuklar yıkama solüsyonuyla yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra kuyucuklara boyama solüsyonları eklenerek 37 °C derecede 15 dk tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Son aşama olarak kuyucuklara durdurma solüsyonu eklenmesini takiben, kuyucuklar ELISA okuyucu ile 450 nm dalga boyunda okutulmuştur. Standartların absorbanslarına göre doğrusal bir grafik oluşturulmuştur. Bu doğrusal grafikte elde edilen denklem yardımıyla örneklerin değerleri hesaplanmıştır. Bununla birlikte, dokularından elde edilen sonuçların optimize edilmesi amacıyla örneklerde total protein tayini Bradford yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Kruger, 2009).

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel değerlendirme için SPSS programı (Windows vers. 25.0) kullanıldı. Tüm gruplarda ölçülen epileptik davranış değerlendirmeleri, korteks ve hipokampüste ölçülen 8-OhDG ve caspase-3 düzeyleri ortalaması alınarak değerlendirildi. Veriler Kolmogorov Smirnov testiyle normal dağılıma uygunluk göstermesinden dolayı gruplar arası karşılaştırmada varyans analizi (One way ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit edilmesi amacıyla Tukey testi (post-hoc test) uygulandı. Gruplara ait veriler ortalama \pm standart hata (Ort. \pm SH) olarak ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR VE TARTIŞMA

PTZ ile nöbet oluşturulan sıçanların nöbet evreleri ve ilk miyoklonik jerk zamanları Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2'den görülebileceği gibi grupların (kontrol, PTZ ve VPA) Racine skalasına göre belirlenen nöbet evreleri ortalama değerleri sırayla 0.00 ± 0.00 , 5.16 ± 0.30 ve 2.83 ± 0.30 şeklindedir. Görüldüğü gibi, VPA nöbet evresini anlamlı olarak azaltmıştır ($p < 0.001$). Bununla birlikte Çizelge 2'de belirtilen grupların (kontrol, PTZ ve VPA) ilk miyoklonik jerk süre ortalamaları sırayla 0.00 ± 0.00 ,

Valproik Asit'in Sıçanlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Epileptik Nöbet Sonrası Hipokampus ve Kortekste Meydana Gelen DNA Hasarı ve Apoptozis Üzerine Etkisi

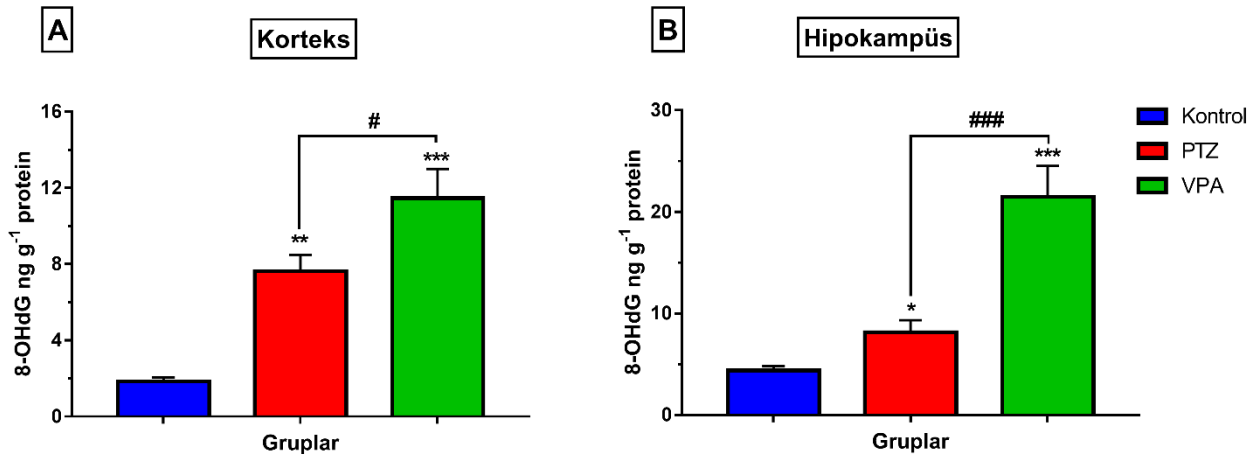
54.00±1.98 ve 134.50±4.68 olarak bulunmuştur. VPA ilk küçük nöbete giriş zamanını yansıtan ilk myoklonik jerk süresini anlamlı olarak uzatarak nöbete girişi geciktirmiştir ($p<0.001$). Bu sonuçlar VPA'in bilinen antiepileptik etkinliğini göstermekte ve literatürde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu şekildedir (Lotfy ve ark., 2018). Fakat çalışma açısından önemine bakılacak olursa yapılan modelin uygun şekilde gerçekleştiği ve VPA'in uygulanan dozunun nöbet baskılamada yeterli olduğunu yansıtmaktadır.

Çizelge 2. Grupların nöbet evreleri ve ilk myoklonik jerk (sn) süreleri

Gruplar	Nöbet Evresi	İlk Myoklonik Jerk Süresi (sn)
Kontrol	0.00±0.00	0.00±0.00
PTZ	5.16±0.30	54.00±1.98
VPA	2.83±0.30 ^{###}	134.50±4.68 ^{###}

Veriler Ort. ± SH olarak sunulmuştur. ^{###} $p<0.001$, PTZ grubu ile karşılaştırıldığında.

Şekil 2'den anlaşılacağı gibi nöbet sonrası oksidatif hasara bağlı DNA hasarı sonucu oluşan 8-OHdG seviyesi hem kortekste ($p<0.01$) hem de hipokampüste ($p<0.05$) yükselmiştir. Fakat nöbet öncesi VPA uygulanması bu 8-OHdG yükselişini belirgin şekilde korteks ($p<0.05$) ve hipokampüste ($p<0.001$) arttırmıştır.

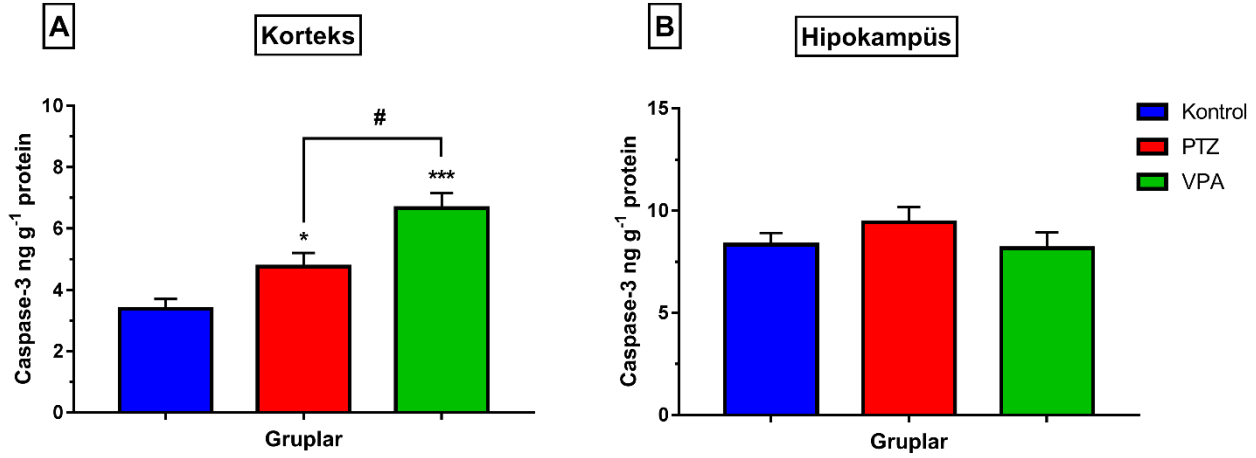


Şekil 2. Korteks ve hipokampüste 8-OHdG seviyeleri. Veriler Ort. ± SH olarak sunulmuştur. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ ve *** $p<0.001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. # $p<0.05$, ### $p<0.01$ ve #### $p<0.001$ PTZ grubu ile karşılaştırıldığında.

Yapılan bazı klinik çalışmalar VPA'in uzun süreli kullanımının oksidatif stresi arttırdığını göstermiştir (Michoulas ve ark., 2006; Verrotti ve ark., 2008). Bununla birlikte yapılan başka bir çalışma epilepsili çocuklarda VPA kullanımının 8-OHdG seviyelerini arttırdığı belirtilmiştir (Haznedar ve ark., 2019). Çalışmamız bu çalışmalarla benzerlik göstermekle birlikte, uygulanan VPA'in tek doz verilmesi ve doku seviyesinde inceleme yapılmış olması çalışmamızı farklı kılmaktadır. Önceki çalışmalar ve çalışmamız birlikte düşünüldüğünde, hastalarda beyin dokusu seviyesinde parametrelerin bakılamayışı ve seruma hasarın yansıması zaman alabileceği nedeniyle, VPA'in tek kullanımı sonucu meydana getirdiği hasarı gölgeleyebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, çalışmamıza zıt olarak, bir araştırmada 300 mg kg⁻¹ tek doz uygulanan VPA'in beyin iskemi-reperfüzyon hasarını azalttığı ve buna bağlı olarak 8-OHdG seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Suda ve ark., 2013).

Çalışmamızda apoptozis belirteci olarak kabul edilen caspase-3 ölçülmüştür. Şekil 3'te görüleceği gibi nöbet sonrası kortekste caspase-3 seviyesi yükselmiştir ($p<0.05$). Ayrıca VPA uygulanması kortekste meydana gelen bu caspase-3 yükselişini belirgin şekilde arttırmıştır ($p<0.05$).

Fakat hipokampüste gruplar arasında caspase-3 seviyesinde bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu sonuçlar VPA'nin kortekste apoptozisi indüklediğini göstermektedir.



Şekil 3. Korteks ve hipokampüste caspase-3 seviyeleri. Veriler Ort. ± SH olarak sunulmuştur. * $p<0.05$ ve *** $p<0.001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. # $p<0.05$ PTZ grubu ile karşılaştırıldığında.

Gelişme sürecindeki sıçanlarda (7-14 günlük) yapılan çalışmalarda VPA'nin beyinde farklı bölgelerde nöronal hasarlanma yaparak apoptozisi indüklediği gösterilmiştir (Demirel Yılmaz ve ark., 2019; Shona ve ark., 2018). Bu çalışmalara benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada nöroblastom hücrelerinde VPA'nin histon asetilasyon döngüsünü bozarak DNA'yı hasarladığı belirlenmiştir (Cerna ve ark., 2018). Çalışmamız bu çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. Fakat çalışmamızda kullanılan hayvanların yetişkin sıçanlardan olduğu göz önüne alındığında, VPA'nin sadece gelişmekte olan beyin yapılarını değil maturasyonunu tamamlayarak olgunlaşmış nöronlara da etki gösterebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmalarla birlikte, yapılan bir araştırma bizim çalışmamızın da aksine olarak beş gün arka arkaya 150 mg kg⁻¹ VPA verildikten sonra tek doz PTZ uygulayarak oluşturulan nöbet sonrası, VPA'nin caspase-3 seviyelerini azalttığı ileri sürülmüştür (Lotfy ve ark., 2018). Bu çalışmayla birlikte spinal kord hasarlanma modeli uygulanan hayvanlarda VPA'nin iyileştirici ve nöronları koruyucu etkisi bildirilmiştir (Chu ve ark., 2015). Ayrıca, benzer şekilde beyin iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlarda VPA'nin koruyucu etkinlik gösterdiği ortaya konmuştur (Chen ve ark., 2018).

Tüm bu çalışmalar ortak olarak düşünüldüğünde, VPA'nin farklı patolojik durumlarda farklı karakteristik özellikler ortaya koyduğu görülmektedir. Bunun nedeni patolojilerin altında yatan mekanizmaları farklılığı olabilir.

SONUÇ

Çalışmamızın sonuçlarına göre; VPA'nin PTZ ile oluşturulan akut modelde nöbet öncesi uygulanması nöbeti azaltırken, nöbet sonrası beyinde DNA hasarını arttırmakta ve apoptozisi indüklemektedir. Bu etki VPA'nin olumsuz yan etkisi olarak düşünülmekle birlikte, olayın aydınlatılması için ileri moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma için finansal destek alınmamıştır. Fakat Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Merkezi (CÜTFAM) alt yapısı kullanılarak çalışma gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Cerna T, Hrabeta J, Eckschlagler T, Frei E, Schmeiser HH, Arlt VM, Stiborová M, 2018. The histone deacetylase inhibitor valproic acid exerts a synergistic cytotoxicity with the DNA-damaging drug ellipticine in neuroblastoma cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 19: 164.
- Chateauvieux S, Morceau F, Diederich M, 2014. Valproic Acid. In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*, 905-908.
- Chen X, Wang H, Zhou M, Li X, Fang Z, Gao H, Li Y, Hu W, 2018. Valproic acid attenuates traumatic brain injury-induced inflammation in vivo: Involvement of autophagy and the Nrf2/ARE signaling pathway. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11: 117.
- Chu T, Zhou H, Lu L, Kong X, Wang T, Pan B, Feng S, 2015. Valproic acid-mediated neuroprotection and neurogenesis after spinal cord injury: From mechanism to clinical potential. In *Regenerative Medicine*, 10: 193-209.
- Demirel Yılmaz B, Eren B, Sağır D, Eren Z, Başardı Gökçe A, 2019. Stereological examination of curcumin's effects on hippocampal damage caused by the anti-epileptic drugs phenobarbital and valproic acid in the developing rat brain. *Acta Histochemica*, 121: 430-436.
- El-Deeb OS, Ghanem HB, El-Esawy RO, Sadek MT, 2019. The modulatory effects of luteolin on cyclic AMP/Ciliary neurotrophic factor signaling pathway in experimentally induced autoimmune encephalomyelitis. *IUBMB Life*, 71: 1401-1408.
- Ergul M, Bakar Ateş F, 2019. RO3280: A Novel PLK1 Inhibitor, Suppressed the Proliferation of MCF-7 Breast Cancer Cells Through the Induction of Cell Cycle Arrest at G2/M Point. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 19: 1846-1854.
- Golechha M, Sarangal V, Bhatia J, Chaudhry U, Saluja D, Arya DS, 2014. Naringin ameliorates pentylenetetrazol-induced seizures and associated oxidative stress, inflammation, and cognitive impairment in rats: Possible mechanisms of neuroprotection. *Epilepsy and Behavior*, 09: 98-102.
- Haznedar P, Doğan Ö, Albayrak P, Öz Tunçer G, Teber S, Deda G, Eminoglu FT, 2019. Effects of levetiracetam and valproic acid treatment on liver function tests, plasma free carnitine and lipid peroxidation in childhood epilepsies. *Epilepsy Research*, 153: 7-13.
- Henshall DC, Simon RP, 2005. Epilepsy and apoptosis pathways. In *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 25: 1557-1572.
- Kruger NJ, 2009. The Bradford method for protein quantitation. *The protein protocols handbook*. Humana Press, Totowa, NJ, 17-24.
- Lotfy DM, Safar MM, Mohamed SH, Kenawy SA, 2018. Effect of valproic acid alone or combined with low dose gamma irradiation in modulating PTZ-induced convulsions in rats involving AKT/m-TOR pathway. *Life Sciences*, 212: 261-266.
- Michoulas A, Tong V, Teng XW, Chang TKH, Abbott FS, Farrell K, 2006. Oxidative stress in children receiving valproic acid. *Journal of Pediatrics*, 149: 692-696.
- Nanau RM, Neuman MG, 2013. Adverse drug reactions induced by valproic acid. In *Clinical Biochemistry*, 46: 1323-1338.
- Racine RJ, 1972. Modification of seizure activity by electrical stimulation: I. after-discharge threshold. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 32: 269-279.
- Shakirullah Ali N, Khan A, Nabi M, 2014. The Prevalence, Incidence and Etiology of Epilepsy. *Int J Clin Exp Neurol*, 2014: 29-39.
- Shona SI, Rizk AA, El Sadik AO, Emam HY, Ali EN, 2018. Effect of valproic acid administration during pregnancy on postnatal development of cerebellar cortex and the possible protective role of folic acid. *Folia Morphologica (Poland)*, 77: 201-209.

Valproik Asit'in Sıçanlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Epileptik Nöbet Sonrası Hipokampus ve Kortekste Meydana Gelen DNA Hasarı ve Apoptozis Üzerine Etkisi

- Suda S, Katsura KI, Kanamaru T, Saito M, Katayama Y, 2013. Valproic acid attenuates ischemia-reperfusion injury in the rat brain through inhibition of oxidative stress and inflammation. *European Journal of Pharmacology*, 707: 26-31.
- Taskiran AS, Gumus E, Gunes H, Cetindag A, Ozdemir E, 2018. The Protective Effects of Vitamin B 12 on Pentylenetetrazole-Induced Seizures in Rats. *Anatomy Physiology & Biochemistry International Journal*, 4: 1-5.
- Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C, 2009. 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 27: 120-139.
- Verrotti A, Scardapane A, Franzoni E, Manco R, Chiarelli F, 2008. Increased oxidative stress in epileptic children treated with valproic acid. *Epilepsy Research*, 78: 171-177.