

## Epilepsili hastalarda serum paraoksonaz-1 aktivitesi ve malondialdehit düzeyleri

### *Serum paraoxonase-1 activities and malondialdehyde levels in patients with epilepsy*

Mehmet Uğur Çevik<sup>1</sup>, Sefer Varol<sup>1</sup>, Yavuz Yücel<sup>1</sup>, Eşref Akıl<sup>1</sup>, Tahsin Çelepkolu<sup>2</sup>,  
Adalet Arıkanoğlu<sup>1</sup>, Hatice Yüksel<sup>3</sup>, Mehmet Ufuk Aluçlu<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Amacımız epilepsili hastalarda serumda antioksidan olarak paraoksonaz-1 (PON-1) aktivitesi ve malondialdehit (MDA) (oksidatif stres parametresi) düzeylerini değerlendirmektir.

**Gereç ve yöntem:** Çalışmaya kırk beş epilepsi hastası alındı ve kontrol sağlıklı 45 kişi ile karşılaştırıldı. Serum MDA düzeyleri ve PON-1 aktiviteleri sırasıyla Ohkawa ve Eckerson metodları ile ölçüldü.

**Bulgular:** Serum MDA seviyeleri hasta grubunda (3,97±0,71 nmol/mL) kontrol grubuna (3,52±0,95 nmol/mL) göre anlamlı yüksek (p = 0,015) iken, PON-1 aktiviteleri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu (45,17±29,70 U/L ve 66,50±46,15 U/L, p= 0,011).

**Sonuç:** Epilepside reaktif oksijen türlerinin seviyelerinin artması oksidatif stresin bir sonucu olabilir. Bu sebeple antioksidan olarak PON-1 aktivitesi azalırken, MDA düzeyleri artabilir.

**Anahtar kelimeler:** Epilepsi, oksidatif stres, malondialdehit, paraoksonaz-1

#### ABSTRACT

**Objectives:** We aimed to evaluate antioxidant paraoxonase-1 (PON-1) activity together with malondialdehyde (MDA) (an oxidative stress parameter) levels in patients with epilepsy.

**Materials and methods:** Forty-five epilepsy patients were included in the study and compared with healthy controls (n = 45). The levels of serum MDA and PON-1 activities were measured by the Ohkawa method and the Eckerson method, respectively.

**Results:** Serum MDA level was significantly higher (P = 0.015), whereas PON-1 activity was significantly lower (P = 0.011) in the patient group than the controls.

**Conclusions:** Increased reactive oxygen species levels in epilepsy may result in a oxidative stress, which in turn could result in decreased antioxidant PON-1 activity and increased MDA levels.

**Key words:** Epilepsy, oxidative stress, malondialdehyde, paraoxonase-1

#### GİRİŞ

Epilepsi, en sık görülen nörolojik hastalıklardan biridir. Dünyada %1 prevalansa sahip olduğu düşünülmektedir.<sup>1</sup> Epilepside altta yatan patofizyolojik mekanizmalar halen tam olarak bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar, oksidatif stresin epilepsi patofizyolojisinde rolü olduğunu göstermektedir.<sup>2</sup> Beyin dokusu yüksek oranda lipit içermesi ve yüksek miktarda oksijen tüketen dokulardan biri olması nedeni ile lipit peroksidasyonuna oldukça duyarlıdır.<sup>3</sup> Organizmada, serbest radikal üretimi ile serbest

oksijen radikallerindeki artışla mücadele eden antioksidan savunma sistemi arasında bir denge mevcuttur. Oksidatif hasar, bu dengenin serbest radikal üretimi lehine bozulduğu durumlarda ortaya çıkar. Serbest oksijen radikallerinin reaktivite özellikleri nedeni ile organizmada oluşturduğu hücre ve doku hasarı oksidatif stres olarak adlandırılır.<sup>4</sup> Merkezi sinir sistemindeki hücrelerin hasarlanmasının patogenezinde serbest radikaller rol alır. Oksidatif stres epileptogenez patogenezinde rol olan sebeplerden biri olarak düşünülmektedir.<sup>5</sup> Lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) oksidatif stresi

<sup>1</sup> Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

<sup>2</sup> Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

<sup>3</sup> Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

**Yazışma Adresi /Correspondence:** Dr. Mehmet Uğur Çevik,

Dicle üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji AD, Diyarbakır, Türkiye Eposta: mehmetugur.cevik@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 16.09.2012, Kabul Tarihi / Accepted: 25.10.2012

Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2012, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

gösteren biyolojik bir belirteçtir.<sup>6</sup> Endojen antioksidan bir enzim olan paraoksonase-1 (PON-1) karaciğerde hepatositlerde üretilmektedir.<sup>7</sup> İnsanda 7. kromozomun q21-22 bölgesinde lokalize paraoksonaz (PON) multigen ailesi, PON-1, PON-2 ve PON-3 diye isimlendirilen üç üyeden oluşmaktadır.<sup>8</sup> PON-1'in, hücre membranları ve lipoproteinler üzerine serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyonu-na karşı antioksidan etki gösterdiği gözlenmiştir.<sup>9</sup>

Epilepsili hastalarda MDA ve PON-1 düzeyleri ile ilgili az sayıda çalışma vardır.<sup>10</sup> MDA ve PON-1 arasında bir ilişki varsayımı yapılabildiğinden ötürü, çalışmamızın amacı, oksidatif stresin parametreleri olarak serum PON-1 aktivitesi ve MDA düzeylerini değerlendirmek yoluyla, epilepsili hastalarda oksidatif stresin rolünü araştırmaktır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Nöroloji Kliniğine Mart 2011–Nisan 2012 tarihleri arasında başvuran, öykü, fizik ve nörolojik muayeneleri ayrıntılı olarak yapılan, nöroradyolojik ve elektroensefalografi inceleme ile epilepsi tanısı alan 45 hasta (25 Kadın, 20 Erkek) prospektif olarak değerlendirildi. Çalışmaya benzer yaş ve cinsiyette 45 gönüllü kişi (23 Kadın, 22 Erkek) kontrol grubu olarak alındı. Psödonöbet (non-epileptik) olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Biyokimyasal analiz için venöz kan örnekleri interiktal dönemde alındı. Hasta ve kontrol grubuna ait serum malondialdehid düzeyleri, Ohkawa yöntemi ile ölçüldü.<sup>11</sup> Paraoksonaz enzim aktivitesi ise Eckerson yöntemi ile ölçüldü.<sup>12</sup> Çalışma için üniversitemizin lokal etik kurulundan onay alındı.

## İstatistiksel analiz

Sonuçların ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri hesaplandı. İstatistiksel analiz SPSS 11.5 programı kullanılarak parametrik yöntemler ile yapıldı. Epilepsi hastaları ve kontrol grubuna ait serum malondialdehid, paraoksonaz enzim aktivitesi arasındaki farklılık bağımsız T testi ile araştırıldı. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Epilepsi grubunun yaş ortalaması  $34.7 \pm 13.3$  yıl kontrol grubunun yaş ortalaması ise  $35.4 \pm 12.6$  yıl idi ( $p > 0,015$ ). Serum MDA düzeyleri epilepsi

hastalarında ( $3,97 \pm 0,71$  nmol/mL) kontrol grubuna göre ( $3,52 \pm 0,95$  nmol/mL) anlamlı düzeyde yüksekti ( $p = 0,015$ ). Serum PON-1 düzeyleri epilepsi hastalarında ( $45,17 \pm 29,70$  U/L) kontrol grubuna ( $66,50 \pm 46,15$  U/L) göre anlamlı düzeyde düşüktü ( $p = 0,011$ ). Serum MDA ve PON-1 aktivitesi Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Hasta ve kontrol grubuna ait serum MDA düzeyleri ve PON-1 aktivite değerleri

Özellikler	Hastalar (n=45) Ortalama $\pm$ SS	Kontrol (n=45) Ortalama $\pm$ SS	p
MDA (n mol/ml)	3,97 $\pm$ 0,71	3,52 $\pm$ 0,95	0,015
PON (U/ml)	45,17 $\pm$ 29,70	66,50 $\pm$ 46,15	0,011

MDA-Malondialdehid, PON-Paraoksonaz, SS-Standart sapma

## TARTIŞMA

Bu çalışmada epilepsi hastalarında kontrol grubuna göre serum MDA düzeylerinin yükseldiğini ve serum PON-1 düzeylerinin düştüğünü gösterdik. Bu sonuç epilepsi patogenezinde oksidan/antioksidan dengenin oksidatif stres lehine bozulduğunu göstermektedir. Reaktif oksijen türlerinin üretiminin ve oksidatif stresin, epilepsinin patogenezinde önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir.<sup>13</sup> Son yıllarda epilepside oksidatif hasar, antioksidan enzimlerindeki değişimler ve lipid peroksidasyonu ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Aktif oksijen metabolitlerinin ortaya çıkışı ve antioksidatif defans mekanizmalarının azalmış aktivitesinin nöbet riskini arttırdığını düşündürülen veriler mevcuttur. Oksidatif stres, epilepsi ile tetiklenen nöronal ölümün etyolojisinde rol oynayabilecek bir mekanizma olarak düşünülmüştür.<sup>14</sup> Serbest radikallerin epileptik nöbetlerin hem sebebi hem de sonucu olduğu, mitokondirilerde meydana gelen oksidatif fosforilasyonun tüm vücutta olduğu gibi sinir sisteminde de rutin olarak oksijen radikalleri ürettiği bilinmektedir. Beynin lipid içeriği, oksijen tüketimi ve oksidatif metabolizmasının yüksek olması beyini oksidatif strese hassas bir duruma getirmektedir.<sup>3</sup>

Lipitlerin oksidatif degradasyonu lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. MDA lipid peroksidasyonu sonucu oluşan en toksik üründür.<sup>3</sup> Deneysel epilepsi modellerinde nöbetlerin oksidatif stresi arttırdığı bulunmuştur. Tekrarlayan ve uzayan nöbetlerin serbest radikal üretimine ve oksidatif strese yol açarak nöron ölümü ve apoptoza yol açtığı

düşünülmektedir.<sup>3</sup> Sonuç olarak çalışmamızda da epileptik nöbetlerin neden olduğu oksidatif hasar sonucu serum MDA düzeyleri yükselirken, serum PON-1 düzeyleri düşmüş olabilir. Birçok çalışmada antiepileptik ilaçların oksidatif stres üzerine olan etkileri araştırılmıştır.<sup>15</sup> Epilepsi hastalarında, lipit peroksidasyonundaki artışın antiepileptik ilaç kullanımından kaynaklanabileceği sorusu akla gelebilir. Epilepsili çocuklarda yapılmış bir çalışmada<sup>16</sup> plazmadaki MDA düzeyleri ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Başka bir çalışmada ise epilepsi hastalarında sağlıklı bireyler göre oksidatif stres belirteçlerinin (MDA, protein carbonylation) anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da MDA düzeyini epilepsi hastalarında sağlıklı bireylerden anlamlı düzeyde yüksek bulduk. Ancak antiepileptik tedavi almayan epileptik hastalar ile antiepileptik tedavi alan epilepsi hastaları kendi içinde karşılaştırıldığında antiepileptik ilaç kullanmayan hastalarda oksidatif stres belirteçleri anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır. Bu da antiepileptik ilaçların oksidatif stres belirteçleri üzerine etkisi olmadığını göstermektedir.<sup>3</sup> Varoğlu ve ark.'nın antiepileptik kullanan hasta grubu ile yaptıkları çalışmalarında antiepileptik tedavi alan hasta grubunda kontrol grubuna göre serum PON-1 aktivitelerini anlamlı olarak düşük bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olacak şekilde epileptik hastalarda, kontrol grubuna göre PON-1 düzeyleri anlamlı düzeyde düşük bulundu.

Antiepileptik ilaçların oksidatif stres üzerine etkileri konusunda fikir birliğine varılabilmemiş değildir. Antiepileptik ilaçların (valproat, karbamazepin, okskarmazepin) epilepsi hastalarında oksidatif stresi ve MDA düzeylerini arttırdığını,<sup>17-19</sup> PON-1 aktivitesini azalttığını gösteren çalışmalar olduğu gibi diğer taraftan PON aktivitesi ve MDA düzeyleri üzerine etkisi olmadığını savunan çalışmalar da vardır.<sup>20</sup> Cardenas ve ark.'ları ise topiramatin antioksidan etkisi olduğunu göstermişlerdir.<sup>21</sup> Çalışmamızda ise hastaların kullandığı antiepileptik ilaca göre gruplandırılmamış olması çalışmamızın limitasyonu olarak belirtilebilir.

Sonuç olarak, bu çalışmamızda epilepsili hastalarda istatistiksel açıdan önemli oranda düşük serum PON-1 aktivitesi ve artmış MDA seviyeleri tespit ettik. Böylece yapılan diğer çalışmalarla birlikte epilepsinin, oksidatif stres ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki bir dengesizlikle

bağlantılı olduğunu vurgulamak istedik. Çalışmamızda oksidatif stresin parametreleri olarak serum PON-1 aktivitesinin azalması ve MDA düzeylerinin artması epilepsi patogenezinde oksidan/antioksidan dengenin oksidatif stres yönünde bozulduğunu destekleyebilir.

## KAYNAKLAR

1. Zupec-Kania BA, Spellman E. An overview of the ketogenic diet for pediatric epilepsy. *Nutr Clin Pract* 2008;23(6):589-96.
2. Devi PU, Manocha A, Vohora D. Seizures, antiepileptics, antioxidants and oxidative stress: an insight for researchers. *Exp Opin Pharmacother* 2008;9(18):3169-77.
3. Menon B, Ramalingam K, Kumar RV. Oxidative stress in patients with epilepsy is independent of antiepileptic drugs. *Seizure* 2012;21(10):780-4.
4. Perrone S, Negro S, Tataranno ML, et al. Oxidative stress and antioxidant strategies in newborns. *J Maternal-Fetal Neonate* 2010;23 Suppl 3:63-5.
5. Aguiar CC, Almeida AB, Araujo PV, et al. Oxidative stress and epilepsy: literature review. *Oxid Med Cell Longevity* 2012;2012:795259.
6. Giera M, Lingeman H, Niessen WM. Recent Advancements in the LC- and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview. *Chromatographia* 2012;75(9):433-40.
7. Schrader C, Ernst IM, Sinnecker H, et al. Genistein as a potential inducer of the anti-atherogenic enzyme paraoxonase-1: studies in cultured hepatocytes in vitro and in rat liver in vivo. *J Cell Mol Med* 2012;16(10):2331-41.
8. Draganov DI, La Du BN. Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2004; 369(1):78-88.
9. Berbecki J, Mitosek-Szewczyk K, Kurzepa J, et al. Processes of free radical lipid peroxidation with a particular regard to the role of paraoxonase-1 in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Wiad Lek* 2011;64(1):31-6.
10. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Coenzyme Q10 ameliorates neurodegeneration, mossy fiber sprouting, and oxidative stress in intrahippocampal kainate model of temporal lobe epilepsy in rat. *J Mol Neurosci* 2012 Sep 25. [Epub ahead of print].
11. Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2):351-8.
12. Eckerson HW, Romson J, Wytte C, et al. The human paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983;35(2):214-27.
13. Freitas RM. Investigation of oxidative stress involvement in hippocampus in epilepsy model induced by pilocarpine. *Neuroscience Lett* 2009;462(3):225-9.
14. Frantseva MV, Perez Velazquez JL, et al. Oxidative stress is involved in seizure-induced neurodegeneration in the kindling model of epilepsy. *Neuroscience* 2000;97(3):431-5.
15. Kutluhan S, Naziroglu M, Celik O, Yilmaz M. Effects of selenium and topiramate on lipid peroxidation and antioxi-

- dant vitamin levels in blood of pentylentetrazol-induced epileptic rats. *Biol Trace Element Res* 2009;129(1-3):181-9.
16. Ramaekers VT, Bosman B, Jansen GA, et al. Increased plasma malondialdehyde associated with cerebellar structural defects. *Arch Dis Child* 1997;77(3):231-4.
  17. Peker E, Oktar S, Ari M, et al. Nitric oxide, lipid peroxidation, and antioxidant enzyme levels in epileptic children using valproic acid. *Brain Res* 2009;1297(1):194-7.
  18. Yildiz M, Simsek G, Uzun H, et al. Assessment of low-density lipoprotein oxidation, paraoxonase activity, and arterial distensibility in epileptic children who were treated with anti-epileptic drugs. *Cardiol Young* 2010;20(5):547-54.
  19. Karikas GA, Schulpis KH, Bartzeliotou A, et al. Early effects of sodium valproate monotherapy on serum paraoxonase/arylesterase activities. *Scand J Clin Lab Invest* 2009;69(1):31-5.
  20. Cardenas-Rodriguez N, Coballase-Urrutia E, Huerta-Gertrudis B, et al. Antioxidant activity of topiramate: An antiepileptic agent. *Neurol Sci* 2012 [Epub ahead of print].
  21. Chaudhary S, Parvez S. An in vitro approach to assess the neurotoxicity of valproic acid-induced oxidative stress in cerebellum and cerebral cortex of young rats. *Neuroscience* 2012;225(3):258-68.