KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GABAPENTİN'İN FOSFATİDİLKOLİN HÜCRE ZARI LİPİTLERİ İLE ETKİLEŞMELERİNİN İNCELENMESİ

SELEN ALIN

KOCAELİ 2016

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GABAPENTİN'İN FOSFATİDİLKOLİN HÜCRE ZARI LİPİTLERİ İLE ETKİLEŞMELERİNİN İNCELENMESİ

SELEN ALIN

Yard. Doç. Dr. Sevgi TÜRKER KAYA
Danışman, Kocaeli Üniversitesi .....

Doç. Dr. Özlem AKSOY
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi .....

Yard. Doç. Dr. İlknur DURSUN
Jüri Üyesi, İstanbul Kemerburgaz Üniversitesi .....

Tezin Savunulduğu Tarih: 03.06.2016

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Öncelikle yüksek lisans öğrenimim süresince değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her konuda yakın ilgisini ve desteğini benden esirgemeyen sayın hocam, danışmanım Yard. Doç. Dr. Sevgi Türker Kaya'ya,

Tez çalışmalarım süresince Moleküler Bitki Laboratuarı'nda deneylerimi gerçekleştirmemi sağlayan sayın hocam Doç. Dr. Özlem Aksoy'a,

Hayatımın her anında yanıbaşımda olan, bugünlere gelmemi sağlayan canım aileme gönülden teşekkür ederim.

Haziran - 2016 Selen ALIN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR i
İÇİNDEKİLER ii
ŞEKİLLER DİZİNİ iii
TABLOLAR DİZİNİ iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
GİRİŞ 1
1. GENEL BİLGİLER 3
1.1. Epilepsi 3
1.1.1. Epilepsi ve epileptik nöbetlerin sınıflandırılması 4
1.1.1.1. Epilepsi sınıflandırılması 4
1.1.1.2. Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması 5
1.1.2. Epilepsi oluşum mekanizmaları 6
1.1.2.1. Epilepsinin nedenleri 7
1.1.3. Epilepsi tedavisi 7
1.1.3.1. Antiepileptik ilaçların temel etki mekanizmaları 8
1.1.3.2. Gabapentin (GBP) 9
1.2. İlaç- Lipit Etkileşimleri ve Lipozomlar 10
1.3. Çalışmada Kullanılan Teknikler 12
1.3.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi 12
1.3.1.1. İlaç-lipit çalışmalarında kullanılan FT-IR Spektroskopisi ampirik kuralları 15
1.3.2. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) 16
2. MALZEME VE YÖNTEM 18
2.1. Çok Tabakalı Lipozomların Hazırlanması 18
2.2. FT-IR Çalışmaları 18
2.3. DSC Çalışmaları 20
3. BULGULAR 21
3.1. FT-IR Spektroskopisi Çalışmaları 21
3.2. DSC Çalışmaları 29
4.TARTIŞMA 31
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 37
KAYNAKLAR 38
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER 49
ÖZGEÇMİŞ 50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. GABA ve GBP'nin kimyasal yapısı 10
Şekil 1.2. DPPC'nin kimyasal yapısı 12
Şekil 1.3. Elektromanyetik spektrum bölgeleri.....13
Şekil 1.4. Moleküler titreşim türleri 14
Şekil 1.5. FT-IR spektroskopisinin şematik gösterimi 15
Şekil 1.6. Diferansiyel Tarama Kalorimetresinin (DSC) şematik gösterimi.....17
Şekil 2.1. Havanın FT-IR spektrumu 19
Şekil 2.2. DPPC lipozom spektrumları 19
Şekil 3.1. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi 22
Şekil 3.2. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değişimi 23
Şekil 3.3. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_3 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi 24
Şekil 3.4. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi 25
Şekil 3.5. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değişimi 26
Şekil 3.6. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun C=O gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi 27
Şekil 3.7. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun PO^-_2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi 29
Şekil 3.8. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun DSC termogramı 29

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Kızılötesi ışınların dalga boyu, dalga sayısı ve frekans değerleri.....13
Tablo 2.1. DPPC lipitlerinin karakteristik infrared bandları ve karşılık gelen dalga sayıları.....20
Tablo 3.1. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri.....21
Tablo 3.2. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değerleri.....22
Tablo 3.3. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_3 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri 23
Tablo 3.4. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri 24
Tablo 3.5. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değerleri.....26
Tablo 3.6. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun C=O gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri.....27
Tablo 3.7. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun PO^-_2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri 28
Tablo 3.8. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomları için ana faz geçiş sıcaklıkları ve entalpi değerleri 30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

T_m : Ana faz geçiş sıcaklığı
ΔH : Entalpi

Kısaltmalar

AEİ : Antiepileptik İlaç
DPPC : Dipalmitoylphosphatidylcholine (Dipalmitoilfosfatidilkolin)
DSC : Differential Scanning Calorimetry (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre)
EEG : Elektroensefalografi
FDA : U.S. Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi)
FT-IR : Fourier Transform Infrared (Fourier Dönüşüm Kızılötesi)
GABA : Gamma aminobütirik asit
GBP : Gabapentin
NMDA : N-metil- D-aspartat
NMR : Nuclear Magnetic Resonance (Nükleer Manyetik Rezonans)

GABAPENTİN'İN FOSFATİDİLKOLİN HÜCRE ZARI LİPİTLERİ İLE ETKİLEŞMELERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Epilepsi normal beyin fonksiyonlarının tekrarlayan ve öngörülemeyen kesintileri ile karakterize nörolojik bir bozukluktur. Epilepsinin kesin tedavisi olmamakla birlikte mevcut farmakolojik yaklaşımlar yalnızca nöbetleri baskılamaktadır.

Gamma aminobütirik asit'in (GABA) yapısal analoğu olan antiepileptik ilaç (AEİ) Gabapentin'in (GBP) etki mekanizması halen tam olarak bilinmemektedir. GBP'nin epilepsi tedavisindeki rolünü açıklamaya yönelik bilgiler elde etmek amacıyla ilacın hücre zarı lipitleri ile etkileşiminin araştırılması yeni AEİ'lerin geliştirilebilmesi için önemlidir. Fakat hücre zarları karmaşık olduklarından bu tarz çalışmaların uygulanması ve yorumlanması oldukça zordur bu sebepten hücre zarına benzer özelliklere sahip model membran sistemleri ile çalışmak genel bir yaklaşımdır. Bu amaç doğrultusunda, çalışmamızda GBP'nin dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC) lipitlerinden oluşturulmuş çok tabakalı veziküller ile etkileşimi incelendi. Değişen konsantrasyonlardaki (%1, %5, %10, %20) GBP'nin DPPC ana faz geçiş sıcaklığı, faz geçiş entalpisi, düzeni, dinamiği, hidrokarbon zincir ve kafa gruplarının hidrojen bağı yapma kapasiteleri üzerine etkileri sıcaklığa bağlı olarak saptandı. Bu incelemeler, Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) teknikleri kullanılarak gerçekleştirildi.

FT-IR verileri, ilacın DPPC lipitlerinin hidrofobik kısımlarıyla kuvvetli bir potansiyel etkileşimin söz konusu olabileceğini ve sistemin açil zincir düzeninin azalttığını gösterdi. Ayrıca, GBP'nin, fosfalipitlerin karbonil (C=O) ve kafa gruplarının (PO^-_2) hidrojen bağı yapma kapasitelerini artırdığı tespit edildi. DSC verileri, GBP'nin konsantrasyona bağlı olarak DPPC ana faz geçiş sıcaklığı üzerinde bifazik etki gösterdiği ve entalpi değerlerini azalttığı bilgisini verdi.

Sonuçlara göre, GBP'nin beyin hücre zarında yaygın olarak bulunan PC lipitleri ile etkileşimlerinin GBP'nin aksiyon mekanizmasında belirgin bir role sahip olabileceği söylenebilir. Bu sonuçlar, GBP'nin biyolojik sistemlerdeki moleküler düzeydeki etkilerinin anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Anahtar Kelimeler: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC), Dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC), Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi, Gabapentin (GBP).

INVESTIGATION OF THE INTERACTION OF GABAPENTIN WITH PHOSPHATIDYLCHOLINE CELL MEMBRANE LIPIDS

ABSTRACT

Epilepsy is a neurological disorder characterized by repeated and unpredictable distruption of brain functions. Although there is no definite cure for epilepsy, antiepileptic drugs only suppress seizures.

Gabapentin (GBP), a structural analogue of inhibitory neurotransmitter in central nervous system gamma amiobutiric acid (GABA), is an anticonvulsant with unknown molecular mechanism. Investigation of interaction of GBP with membrane lipids is important to obtain information its role in treatment of epilepsy, and the development of new antiepileptic agents (AEDs). However, applications of these studies are difficult due to complexity of cell membrane systems, therefore; it is general approach to study with model membrane systems. For this purpose, in the current study, the effects of GBP at different concentrations (1%, 5%, 10%, 20% moles) on main phase transition temperature, phase transition enthalpy, membrane order, membrane dynamics, hydrocarbon chain and head groups of DPPC lipids were studied by Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy and Differential Scanning Calorimetry (DSC) techniques.

FTIR results showed that GBP potentially interacts with hydrophobic parts of DPPC lipids and decreases membrane order. Furthermore, GBP changes hydrogen bonding capacity of carbonyl groups (C=O) and head groups (PO^{-}_{2}). DSC data revealed that GBP shows biphasic effect on DPPC main phase transition temperature and it reduces enthalpy values.

Hence, it can be stated that PC lipids, mostly found in brain cell membrane, might have a role in the action mechanism of GBP. The findings may contribute to the understanding of interactions of GBP with biological systems and its action mechanisms at molecular level.

Keywords: Differential Scanning Calorimetry (DSC), Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC), Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy, Gabapentin (GBP).

GİRİŞ

İnsanlık tarihi kadar eski zamanlardan bu yana bilinen epilepsi, beynin normal aktivitesinin, sinir hücrelerinde geçici olarak meydana gelen anormal elektriksel aktivite sonucu bozulması ile oluşan nörolojik bir düzensizliktir. Bilinen en eski nörolojik düzensizlikten biri olmasına rağmen günümüzde uygulanan farmakolojik tedaviler ile epilepsi tam olarak tedavi edilememektedir. Mevcut antiepileptik ilaçlar (AEİ) tedavi edici değil, yalnızca nöbeti baskılayıcı etkiye sahiptirler. Şimdiye kadar tedavi edilemeyen epilepsiler için yeni AEİ'lerin geliştirilmesi ve daha etkin ilaçların geliştirilebilmesi adına, mevcut AEİ'lerin moleküler etki mekanizmaları ve onların aksiyonlarını direkt olarak etkileyen hücre zarı ile etkileşmelerinin aydınlatılması gereklidir. İlaçların biyoaktivitesinin, hücre zarı akışkanlığı, lipit-lipit etkileşimleri ve protein-lipit etkileşimleri gibi hücre zarının fiziksel özelliklerini değiştirme kapasitesi ile ilgili olabileceği rapor edilmiştir (Ulrih v.d., 2010; Tarahovsky v.d., 2008). Bu nedenle, ilaçların etki mekanizmalarının anlaşılabilmesi adına ilaç-hücre zarı etkileşimlerinin değerlendirilmesi oldukça önemlidir. İlaç-hücre zarı etkileşimlerinin belirlenmesi ilacın farmakokinetik ve farmakolojik özelliklerinin anlaşılmasını sağlar. Bu bağlamda, şimdiye kadar hücresel aksiyon mekanizması tam olarak belirlenememiş Gabapentin'in (GBP) etki mekanizmasını açıklamaya yönelik faydalı bilgiler elde etmek için, ilacın hücre zarının yapı ve fonksiyonel parametrelerinde neden olduğu değişimlerin belirlenebilmesi oldukça önemlidir. Fakat hücre zarı çok kompleks ve karmaşık yapıda olduğundan moleküller arası etkileşimleri yorumlamak oldukça zordur, bu nedenle gerçek hücre zarı yapısına oldukça benzeyen model membranlar bu tür etkileşimlerin araştırıldığı çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Model membran sistemleri sayesinde ilaçların hücre zarı lipitleri ile etkileşimi sırasında zar içindeki lokasyonu, hangi fosfalipit molekülleri ile etkileşime girdiği, etkileşim sırasında hücre zarının yapısal ve fonksiyonel parametrelerini nasıl değiştirdiğiyle ilgili bilgiler elde edilebilmektedir.

Bu çalışma kapsamında GBP'nin antiepileptik aktivite oluşturmadaki hücresel etki mekanizmasını açıklamaya yönelik bilgiler elde etmek üzere GBP'nin beyin hücre zarında yaygın olarak bulunan dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC) lipitlerinden oluşmuş çok tabakalı model membranı ile etkileşmesinin incelenmesi amaçlandı.

Bu bağlamda; Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) teknikleri kullanılarak farklı konsantrasyonlardaki GBP'nin; DPPC lipit faz geçiş eğrisi ve faz geçiş sıcaklıkları, lipit düzeni (lipit açil zincir esnekliği), lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol iskeletinde hidrojen bağlanmasının şiddeti ve lipit dinamiği üzerine etkisi araştırıldı. Elde edilen bilgiler ışığında GBP'nin DPPC lipozomu içinde olabilecek konumu ve bu zar lipitleri ile ne tarz etkileşimlere girdiği ile ilgili bilgi edinilmiştir.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Epilepsi

Epilepsi, tüm dünyada yaygın olarak görülen ve normal beyin fonksiyonlarının tekrarlayan ve öngörülemeyen kesintileri ile karakterize olan nörolojik bir bozukluktur (Fisher v.d., 2014; Vezzani v.d., 2013; WHO, 2010). Dünya nüfusunun %10'u hayatında en az 1 epileptik nöbet geçirmektedir ve %80'i gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere yaklaşık 50 milyon kişide epilepsi bozukluğu görülmektedir (WHO, 2016; Bell v.d., 2014; Shneker ve Fountain, 2003)

Epilepsi, tek bir hastalık değil, beyinde farklı birçok bozuklukların bir ifadesidir ve beyinde bir dizi aşırı, kontrolsüz elektriksel aktivite ile karakterizedir (Pandolfo, 2011). Elektroensefalografi (EEG) gibi testlerle ya da klinik bir nöbet sonucuyla teşhis edilebilir. Nöbet belirtileri; hastanın yaşı, uyku/uyandırma/kasıtlı durumu, aldığı ilaçlar, beyinde anormal elektriksel aktivitenin meydana geldiği bölge gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Beyinde herhangi bir hasar nöbet odağı oluşturabilir. Bu tür hasarlar ciddi travma, tümör, felç, kanama, enfeksiyon ya da gelişimsel anormallikler sonucunda meydana gelebilir (Fisher, 2005).

Epilepsi kelime olarak Yunanca 'kavramak, yakalamak, ele geçirmek' anlamına gelen 'Epi' üstünde, üstünden, 'lipis' tutmak, tutup sarsmak kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşturulmuş, buna karşın nöbet kelimesinin karşılığı olarak kullanılan 'seizure' kelimesi tutmak, yakalamak, ele geçirmek anlamındaki 'to seize' fiilinden türetilmiştir (Swaiman v.d., 2005).

Epileptik nöbetlerle ilgili bilinen en eski tanımlamalar Mezopotamya'da düzenlenen Akkadian metinleri ile M.Ö. 2000'li yıllara kadar uzanmaktadır. Epilepsi ile ilgili tanımlamalar antik Babil metinlerinde de bulunur. Sakikku (tüm hastalıklar) adı verilen taş tabletlerde (M.Ö. 1067-1046) epileptik nöbetler, epileptik ağlama, yüz hareketlerindeki kontrol edememe, basit ve parsiyel nöbetleri ile ilgili tanımlamalar yapılmıştır (Magiorkinis v.d., 2010). 19. yüzyılın başlarında, Maisonneuve (1745-1826), Calmeil (1798-1895), Jean-Etienne Dominique Esquirol (1772-1840) gibi

Fransız bilimadamları Epileptoloji alanındaki çalışmalarını yayınlamaya başlamışlardır. Epilepsinin mekanizmasıyla ilgili tanımlamalar, epilepsinin beyin hücrelerindeki bir düzensizlikten kaynaklandığı Fritsh (1838-1927) ve Hitzig (1838-1907) tarafından kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmalarda nöbetlerin köpek beyin korteksindeki elektriksel uyarımları sonucu oluştuğunu 'On the Electric Excitability of the Cerebellum' adlı yayında sunmuşlardır (Magiorkinis v.d., 2014). Epilepsi nöbetlerini önlemek amacıyla ilk olarak 1857'de Charles Locock tarafından potasyum bromür kullanılmaya başlanmıştır. 1912 yılında Kenneth R. Kaufman tarafından deneysel oluşturulan nöbetlerde beyindeki elektriksel değişiklikleri gözlemlemiştir. Aynı yıl içerisinde Alfred Hauptmann (1881-1948) tarafından ilk antiepileptiklerden biri olan fenobarbital sentezlenmiştir. 1920'lerde daha çok açlık, ketojenik diyet ve düşük serebral oksijen seviyesindeki değişikliklerin nöbetleri nasıl etkilediği araştırılmıştır (Magiorkinis v.d., 2010; Kwan ve Sander, 2004).

Roberts ve Frankel tarafından Gamma aminobütirik asit (GABA)'nın keşfedilmesi (1949), Charles Pippenger tarafından yapılan kanda antiepileptik ilaç (AEİ) seviyesinin belirlenmesi çalışmaları ve Fritz Dreifuss'un nöbetleri video-görüntüleme çalışmaları antiepileptiklerin geliştirilmesinde önemli adımlardır. Son yıllardaki en önemli gelişmelerden biri de epilepsi ile genetik faktörlerin ilişkisinin araştırılması ile ilgili çalışmalarıdır. 1989 yılında ilk defa Leppert kromozom 20 ile idiopatik epilepsi sendromu arasındaki ilişkiyi araştırmaya yönelik çalışmalar yapmıştır (Magiorkinis v.d., 2010).

1.1.1. Epilepsi ve epileptik sendromların sınıflandırılması

İlk olarak 1960'lı yıllarda uluslararası epilepsi uzmanlarının bir araya gelmesi ile epileptik nöbetlerin sınıflamasının temelleri atılmıştır. International League Against Epilepsy (ILAE)'nin çalışmaları sonucunda 1981 yılında epileptik nöbetlerin nöbet tipi, etioloji, nöbeti uyaran faktörleri başlangıç yaşı ve tedavi seçimi gibi faktörleri kapsayan şekliyle sınıflandırılmış ve 1989 yılında epilepsi epilepsi sendromları, beyindeki anormal elektrik aktivitesi alanına (parsiyel veya jeneralize) göre sınıflandırılması olarak güncellenmiştir (Engel, 2001; Dreifuss, 1990).

1.1.1.1. Epilepsi sınıflandırılması

İdiopatik Epilepsiler, hastalığın belirgin bir nedeni olmayıp, genetik bir bağlantı olduğu düşünülmektedir.

Semptomatik Epilepsiler, baş yaralanması, doğum sırasında beyin hasarı, inme, beyin enfeksiyonu ve nadiren beyin tümörü şeklinde nöbetin nedeni bilinmektedir.

Kriptojenik Epilepsiler, hastalığın bir nedeni olduğuna inanıldığı, fakat hastalık nedeninin belirlenemediği durumlardır (ILAE, 1989).

1.1.1.2. Epileptik nöbetlerin sınıflandırılması

1. Parsiyel Nöbetler
A. Basit parsiyel nöbetler
a. Motor semptomlar
b. Duyu ve somatoduysal semptomlar
c. Otonomik semptomlar
d. Psişik semptomlar
B. Komplex parsiyel nöbetler
a. Basit parsiyel başlangıcı bilinç kaybı izler
b. Başlangıç bilinç kaybı ile birliktedir
C. Sekonder jeneralize nöbetler
a. Basit parsiyel nöbet kaynaklı jeneralize nöbetler
b. Kompleks parsiyel nöbet kaynaklı jeneralize nöbetler
c. Basit parsiyel nöbet kaynaklı kompleks parsiyel nöbetlerin neden olduğu jeneralize nöbetler
2. Jeneralize nöbetler
A. Absans nöbetler
a. Tipik absans
b. Atipik absans
B. Miyoklonik nöbetler
C. Klonik nöbetler
D. Tonik nöbetler
E. Tonik- klonik nöbetler
F. Atonik nöbetler
3. Sınıflandırılamayan nöbetler
Veriler yetersiz olduğu için sınıflandırılamayan tüm nöbetler

2010 yılında ILAE sınıflandırmasında terminoloji ve kavramlarda yeni önerileri yayınlanmıştır fakat henüz tam anlamıyla benimsenmiş bir sınıflandırma değildir. (Berg v.d., 2010).

1.1.2. Epilepsi oluşum mekanizmaları

Normal bir beyin dokusunun epileptik olmasına kadar geçen süreç epileptogenez olarak adlandırılır (Giblin ve Blumenfeld, 2010). Epileptogenezde bir başlangıç hasarından sonra nöronal yolaklar, tekrarlayan spontan epileptik nöbetleri oluştururlar ve bu nöbetler kronik epilepsiye dönüşür. Beyin epileptik hale geldiğinde; hücre kaybı, uyarılabilirlik artışı ve anormal döngüsel oluşumların kombinasyonu meydana gelir. Beyinde epileptik nöbetlerin oluşmasına neden olan spesifik mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte, epileptogeneze neden olan bu aksiyonların belirlenebilmesi için uzun yıllardır birçok çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan araştırmalar doğrultusunda epileptogenezden sorumlu hücresel mekanizmalar iyon kanallarındaki değişiklikler ve eksitatör, inhibitör nörotransmisyonun etkinliğinin değiştirilmesi olarak belirtilmiştir (Moshe v.d., 2015; Staley, 2015; Jefferys, 2010; Ransom ve Blumenfeld, 2007; Avoli v.d., 2005; Kwan v.d., 2001). Epileptik nöbetlerin başlamasına neden olduğu öne sürülen önemli mekanizmalardan biri, Na^+, Ca^{2+}, K^+ ve Cl^- gibi iyonların iletilmesinde bir bozukluğa sebep olan moleküler kanal düzensizlikleridir. Voltaja bağlı iyon kanalları, zar potansiyelindeki değişikliklere bağlı olarak kanallarının açılıp kapanması suretiyle Na^+, Ca^{2+}, K^+, Cl^- iyon geçirgenliğinin ve dolayısıyla hücre içi iyon seviyelerinin değiştirilmesine neden olmaktadır (Celesia, 2001). Voltaja bağlı sodyum ve kalsiyum kanallarının Na^+ ve Ca^{+2}, hücre içine girişlerini sağlamaları ile depolarizasyon oluşumu sonrasında, nöronlardan eksitatör nörotransmitter salınımı başlar. Böylece nöbet oluşumu için gerekli olan nöron uyarımı sağlanır. Voltaja bağlı Na^+ ve Ca^{2+} kanalları ile oluşan depolarizasyon sistemi voltaja bağlı K^+ kanallarının inhibitör etkisi ile dengelenmektedir (Graves, 2006; Avanzini ve Franceschetti, 2003).

Beyin hücre zarındaki uyarılmaların devamı ve sinaps yoluyla yayılmalarında rol oynayan nörotransmitterler epileptojenik aktivitede oldukça önemlidir. GABA, beynin ana inhibitör nörotransmitteridir ve eksikliğinin epileptogeneze sebep olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (Shetty ve Upadhya, 2016; Khazipov, 2014; Avanzini ve Franceschetti, 2003). GABA agonistlerinin ve GABA yıkıcı enzim inhibitörlerinin nöbetleri azalttığı, GABA antagonistlerini ise nöbete neden olduğu rapor edilmiştir (Treiman, 2001). GABA beyindeki inhibitör etkisini GABA-A ve GABA-B reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirmektedir. GABA'nın GABA-A reseptörüne bağlanması klor iyonunun hücre içine girmesine olanak sağlayarak nöronal inhibisyon sağlar (Dibbens v.d., 2009). GABA'nın GABA-B reseptörüne bağlanması ise K^+ akımını artırır, Ca^{2+} iyon girişini azaltır ve diğer nörotransmitterlerin presinaptik salınımını

inhibe etmektedir (Stafstrom ve Carmant, 2015; Avanzini ve Franceschetti, 2003; Wallace, 2002).

Birçok epilepsi çeşidinin aşırı glutamerjik sinaptik iletim bozukluğundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Alexander ve Godwin, 2006). Glutamat beynin ana eksitatör nörotransmitteri olup, etkisini alfa-amino 3-hidroksi-5-metilisokzasole-4-propionik asit (AMPA) ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör alt-tipleri aracılığı ile gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Zhou v.d., 2015; Medina-Ceja v.d., 2015; Liubinas v.d., 2014; Guerrini v.d., 2003; Avanzini ve Franceschetti, 2003). NMDA reseptörleri Na^+ ve Ca^{2+} iyonlarının nöron içine girişini sağlayarak yavaş etkili ve uzun süreli eksitatör postsinaptik potansiyellere neden olur (Moldrich v.d., 2003; Avanzini ve Franceschetti, 2003). Epileptik hastalarda ve deneysel hayvan modellerinde aşırı glutamerjik aktivite gözlenmiştir (Alexander ve Godwin, 2006).

1.1.2.1. Epilepsinin nedenleri

Epileptik nöbetler, belirli bir nedeni olup olmamasına göre idiopatik ve semptomatik epilepsiler olmak üzere gruplandırılabilir. Semptomatik epilepsiler metabolik bozukluklar, beyin travmaları, tümörler, inme, metabolik- toksik nedenler ve beyin enfeksiyonları gibi açık bir nedene bağlı olarak gerçekleşen nöbetleri kapsar. İdiopatik epilepsiler ise tanımlanabilir herhangi bir neden olmaksızın gerçekleşen nöbetlerdir fakat son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar genetik faktörlerin bu tür epilepsilerde önemli ölçüde etkili olabileceğini göstermektedir (Piro, v.d., 2013; Shorvon, 2011; Türker v.d., 2011; Chawla v.d., 2002). Örneğin, gen mutasyonları anormal iyonik kanal fonksiyonlarına ve dolayısıyla anormal ağ bağlantılarına neden olabilmektedir (Stafstrom, 2006). Tek gen epilepsilerinin çoğunda, epileptik aktivite oluşmasının nöronal iyon kanallarını kodlayan genlerdeki mutasyonlardan kaynaklandığı gösterilmiştir (Sanchez-Carpintero v.d., 2007). İyon kanallarındaki mutasyonların da eksitatör ve inhibitör nörotransmisyonun etkinliğinin değiştirmesi sonucunda eksitatör nörotransmisyonun artmasına ya da inhibitör fonksiyonun kaybına neden olduğu belirtilmektedir (Macdonald ve Kang, 2009).

1.1.3. Epilepsi tedavisi

Epilepsi tedavisinde genel olarak ilaç kullanımı, cerrahi müdahele, vagus sinir stimülasyonu, elektroşok ve ketojenik diyet tedavileri uygulanmaktadır (Majkowski, 2014; LaRoche ve Helmers, 2004). Epilepsinin başlıca tedavi yöntemi AEİ kullanımıdır (Sorensen ve Kokaia, 2013). AEİ'ler genellikle geliştirildiği veya Food

and Drug Administration (FDA) tarafından onaylandığı tarihlere bağlı olarak 1. 2. ve 3. jenerasyon olmak üzere sınıflandırılmaktadır (WHO, 2008). 1. jenerasyon AEİ'ler 1912-1978 yılları arasında geliştirilen ve halen yaygın olarak kullanımda olan karbamazepin, etosüksimid, fenobarbital, fenitoin, primidon, ve valporat gibi AEİ'leri kapsar. 2. ve 3. jenerasyon AEİ'ler genellikle 1990 sonrası geliştirilen klobazam, ezogabin/retigabin, felbamat, gabapentin, lakosamid, lamotrijin, levetirasetam, oxcarbazepin, pregabalin, rufinamid, tiagabin, topiramat, vigabatrin ve zonisamid gibi AEİ'leri kapsayan gruptur (Newton ve Maschio, 2015)

Mevcut farmakolojik tedaviler yalnızca nöbetleri baskılamaktadır ve bu nedenle antiepileptik olarak adlandırılmaktadır. Her ne kadar şimdiye kadar çok çeşitli antiepileptik ilaç kullanılsa da epilepsili hastaların yaklaşık %60'ında tek bir AEİ ile nöbet kontrolü sağlanırken, birçok farklı kombinasyon tedavisine rağmen hastaların %30-40'ı nöbet geçirmeye halen devam etmektedir (Glauser v.d., 2013; WHO, 2005). Hastalığı tedavi eden yani antiepileptojenik bir tedavi henüz bulunmamaktadır (Moshe v.d., 2015; Rakhade ve Jensen, 2009).

1.1.3.1. Antiepileptik ilaçların temel etki mekanizmaları

1) Nöron hücre zarında yer alan voltaj bağımlı iyon kanallarının (Na^+, Ca^+, Cl^-, K^+) düzenlenmesi,

Nöron hücre zarında yer alan ve hücre içi iyon giriş çıkışını sağlayan kanalların düzenlenmesi antiepileptiklerin birçoğunun temel hedeflerinden biridir (Moshe v.d., 2015; Penuela v.d., 2013; Lason v.d., 2013; Meldrum ve Rogawski, 2007; Rogawski ve Löscher, 2004; Kwan v.d., 2001).

2) Beynin ana eksitatör nörotransmitteri olan glutamat reseptörlerinin bloke edilmesi ya da glutamat salınımının inhibe edilmesi,

Bu grup ilaçların etki mekanizması, uyarılan aminoasit reseptör sistemlerinin blokajı ve uyarılmış glutamat ve aspartat gibi epileptik nöbet sırasında aşırı aktif olan eksitatör aminoasit salımının inhibisyonu ile açıklanabilir (Rowley v.d., 2012; Krystal v.d., 2002).

3) Beyinde inhibitör nörotransmitter (GABA) salınımının artırılması,

Bu gruptaki ilaçlar, etkisini beynin ana inhibitör nörotransmitteri olan GABA'nın ya GABA-A reseptör klorür kanal kompleksini indükleyerek ya da sinaptik aralıkta

GABA-A'nın bulunma olasılığını artırarak etki gösterirler. GABA'nın sinaptik aralıkta bulunmasının artırılması, GABA salınımının sağlanması ya da katabolizma/geri emilimin inhibe edilmesiyle sağlanır. Tiagabin, topiramat ve fenobarbital ana inhibitör nörotransmitter olan GABA aktivitesini artırırken, sodyum valporat ve vigabatrin GABA yıkıcı enzim olan GABA-T enzimi üzerindeki inhibitör etkisi ile GABA seviyesinde artış sağlar (Rowley v.d., 2012; Benarroch, 2007; Krystal v.d., 2002).

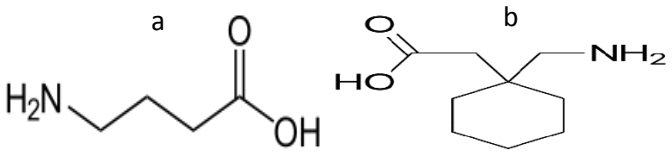
Çalışmada incelenen antiepileptik ajan Gabapentin (GBP), GABA sentez ve konsantrasyonunu, GABAerjik aktivitesini doza bağlı olarak artırır (Karatas v.d., 2003). Yukarıda adı geçen mekanizmaları gerçekleştiren birçok antiepileptik ajan geliştirilmiş ve hala geliştirilmeye devam etmektedir (Rogawski v.d., 2016; Moshe v.d., 2015; Johannessen ve Tomson, 2006).

1.1.3.2. Gabapentin (GBP)

2. jenerasyon bir antiepileptik ajan olan Gabapentin (GBP), 1-(aminometil), siklohekzanasetik asit, (patent adı: Neurontin) FDA tarafından 12 yaşından büyük hastalarda jeneralize ve diğer parsiyel epileptik nöbetlerin tedavisinde kullanılan ve karaciğerde metabolize edilmeyen ilk antiepileptik olarak 1993 yılında onaylanmıştır (Magiorkinis v.d., 2010; LaRoche ve Helmers, 2004; Karataş v.d., 2003). GBP'nin kimyasal formülü $C_9H_{17}O_2$'dir ve moleküler ağırlığı 171,237 g/mol'dür. GBP, santral sinir sisteminin ana inhibitör nörotransmitteri olan GABA'nın yapısal bir analoğudur. GABA ve GBP' nin kimyasal yapıları Şekil 1.1'de gösterilmiştir. GBP'nin tonik klonik ve parsiyel epileptik nöbetler gibi geniş bir spektrumdaki nöbetleri engellediği ve parsiyel nöbet gösteren diğer ilaçlara dirençli hastalarda etkili olduğu rapor edilmiştir (Potschka, 2013; Bruni, 1996). Epilepsi tedavisi için geliştirilmiş olmasına rağmen nöropatik ağrılar için de yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca migren, titreme, sosyal fobi ve bipolar bozukluk tedavisinde de etkili olduğu saptanmıştır (Moore v.d., 2014).

GABA'yı taklit eden bir ajan olarak geliştirilen ve kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçebilen bir antiepileptik olan GBP, GABA'nın yapısal analoğu olmasına rağmen GABA-A ve GABA-B reseptörlerine bağlanmaz ya da metabolize olarak GABA' ya veya GABA agonistlerine dönüşmez (Kukkar v.d., 2013; Kwan v.d., 2001). Beyinde bulunan nörotransmitter ve ilaç reseptörlerinin büyük çoğunluğu (glutamat, NMDA, glisin reseptörleri; kolinerjik, noradrenerjik, dopaminerjik, seratonerjik ve opiramat bağlanma bölgeleri) için afinite göstermez. Etki mekanizması tam olarak

bilinmemekle birlikte yapılan çalışmalar sonucunda, GBP'nin beyinde GABA sentezini ve sinaptik olmayan GABA salınımını artırdığı (Honarmand v.d., 2011; Gotz v.d., 1993; Taylor, 1992) ve GABA'nın metabolize olmasını inhibe ettiği rapor edilmiştir (Mak v.d., 2016; Potschka v.d., 2013; Leach v.d., 1997). Ayrıca, GBP'nin voltaj bağımlı sodyum ve kalsiyum kanallarına bağlanarak hücre içi iyon giriş çıkışını etkilemek suretiyle nöronal elektriksel aktivitenin hızlı bir şekilde inhibisyonunu sağladığı belirtilmiştir (Berlin v.d., 2015; Bialer, 2012; Curran, 2003; Vajda, 2000).



Şekil 1.1. (a) GABA ve (b) GBP'nin kimyasal yapısı

GBP'nin tamamına yakını ince barsaktan absorbe edilir. Eliminasyon yarılanma ömrü doza bağlı değişkenlik göstermekle birlikte 5-7 saat arasındadır. Karaciğerde metabolize olmaz ve idrarla değişmeden atılır. Maksimum plazma konsantrasyonuna sindirimden 2-3 saat sonra ulaşır, ilacın yarılanma ömrü ise 5-9 saat arasındadır. GBP'nin plazma proteinlerine bağlanma oranı %3' den daha azdır. (Berlin v.d., 2015; Johannessen ve Tomson, 2006; Curran, 2003).

GBP'nin diğer antiepileptiklerle belirgin bir etkileşimi yoktur, bu yüzden monoterapiden çok diğer ilaçlarla birlikte kullanımda tercih edilir (Patsalos, 2013; Çelikyurt v.d., 2011; Morris, 1999). Yan etkileri daha çok santral sinir sistemi ile ilişkili olup, somnolans, baş dönmesi, ataksi, nistagmus, tremor, kronik yorgunluk ve kilo artışı GBP'nin önemli yan etkilerindendir (Leong v.d., 2016; Moore v.d., 2014; Asconape, 2014; Rose ve Kam, 2002).

Moleküler etki mekanizması halen tam olarak bilinmeyen GBP'nin epilepsi tedavisindeki rolünü açıklamaya yönelik bilgiler elde etmek ve ilacın hücre zarı lipitleri ile moleküler düzeyde etkileşiminin araştırılması oldukça önemlidir.

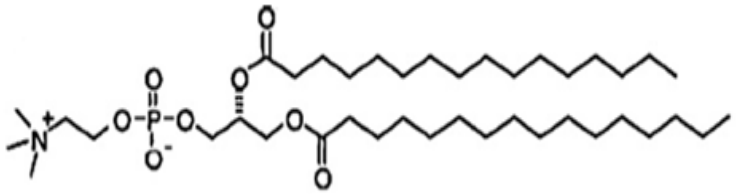
1.2. İlaç- Lipit Etkileşimleri ve Lipozomlar

İlaçların hücre içinde etkilerini gösterebilmeleri ve hücresel cevaplarını gerçekleştirebilmeleri hücre zarı ile etkileşimleri ile başlar ve bu etkileşim sırasında hücre zarında yapısal ve dinamik açıdan birçok değişim meydana gelir. Bu değişimler hücre zarının lipit kalınlığı, faz geçiş eğrisi, faz geçiş sıcaklıkları (ön geçiş ve ana geçiş), lipit dinamiği, lipit düzeni, açil zincir esnekliği (düzen), lipit kafa grubu

ve sulu kısma yakın gliserol iskelet üzerindeki hidrojen bağlanmasının şiddeti gibi parametreleri kapsar. Bu nedenle ilaç-lipit etkileşmelerinde ilacın bu parametreler üzerindeki etkisi incelenerek hücre zarında meydana gelebilecek yapı, kompozisyon, ve dinamik gibi fonksiyona bağlı değişimler saptanabilmektedir (Severcan v.d., 2015; Türker v.d., 2011; Korkmaz ve Severcan, 2005; Severcan ve Cannistraro, 1990). Bundan dolayı birçok hücre kültürü ve in vivo çalışmaları göstermiştir ki; ilaçların hücre zarı ile etkileşmesinin anlaşılması, onların farmakokinetik (hücre içine taşınma, dağılım, birikim) ve farmakolojik özelliklerini değerlendirmek açısından oldukça önemlidir (Knobloch v.d., 2015).

AEİ'ların hücre zarı lipitleri ile etkileşmesinin aydınlatılması sayesinde ilacın hücre içine alınım mekanizması (difüzyon ya da aktif transport gibi), hücre içine alınabilen konsantrasyonu, hücreye zarar verebilecek olası toksik konsantrasyonu, hücre zarı sistemi içindeki lokasyonu, farklı doku ve organlar ile patoloji taşıyan hücrelerin zar sistemlerindeki davranışı ve enkapsülasyon için en uygun lipitin belirlenmesi gibi önemli parametreler optimize edilir (Kepczynski v.d., 2006; Gil v.d., 1998). Hücre zarı, 1000'den fazla çeşit lipit moleküllerinin oluşturduğu fosfalipit çift tabakası ve bu tabakanın bir platform oluşturduğu zar proteinlerden oluşan bir yapıdır. Hücre tipine bağlı olarak değişiklik gösterse de zar lipitleri kompoziyonu; genel olarak fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilserin (PS), spingomyelin (SM), fosfatidik asit (PA), kolesterol ve geriye kalan gangliositleri ile seramitleri içermektedir (Jensen ve Nerdal, 2008). Hücre zarı çok farklı ve çeşitli lipit molekülleri içerdiğinden oldukça heterojen ve karmaşık bir yapı olduğundan, ilaç-hücre zarı etkileşimleri incelenirken sonuçların değerlendirilmesini güçleştirmektedir. Bu tarz çalışmalara kontrollü olarak bileşenleri değiştirilebilen model membranlarla başlamak genel bir yaklaşımdır (Ribeiro v.d., 2010; Severcan v.d., 2005; Korkmaz ve Severcan, 2005). Çok tabakalı model membranlar, lipozomlar, fosfalipit moleküllerinin uygun tampon çözeltiler içerisinde biraraya gelip çok tabakalı küresel bir şekil oluşturarak meydana getirdikleri yapay membranlardır. Model membran oluşturmada kullanılan lipitler nötr ya da +,- yüklü olabilirler. Bu lipitlerin tür ve özelliklerine ve amaca bağlı olarak iki veya çok katmanlı lipit tabakası formunda olup hücre zarı ile ortak özellikler göstermeleri nedeni ile uzun yıllar boyunca model membran olarak kullanılmışlardır. Ayrıca, hazırlama aşamasında dışarıdan eklenen diğer maddeleri de enkapsüle edebilme özelliğine sahip oldukları için ilaç taşıma araçları olarak da kullanılmaktadırlar (Allen ve Cullis, 2013). Çalışmada kullanılan Dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC) iki adet 16 karbonlu sature yağ asitlerinden oluşan

nötr bir fosfalipit olup, lipozom ve model membran çalışmalarında kullanılmaktadır. Şekil 1.2'de kimyasal yapısı verilen DPPC'nin moleküler formülü $C_{40}H_{80}NO_8P$'dir.



Şekil 1.2. DPPC'nin kimyasal yapısı

1.3. Çalışmada Kullanılan Teknikler

İlaç-lipit etkileşimi sırasında lipitlerde yapısal ve fonksiyonel değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler; faz geçiş eğrisi, faz geçiş sıcaklıkları (ön geçiş ve ana geçiş), açil zincir esnekliği (düzen), lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol iskelet üzerindeki hidrojen bağlanmasının şiddeti ve lipit dinamiği gibi parametrelerdeki farklılıklardır. Bu değişimler spektroskopik tekniklerden biri olan Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi ile ve Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC) ile incelenebilmektedir (Khadka v.d., 2015; Bilge v.d., 2014; Türker v.d., 2011).

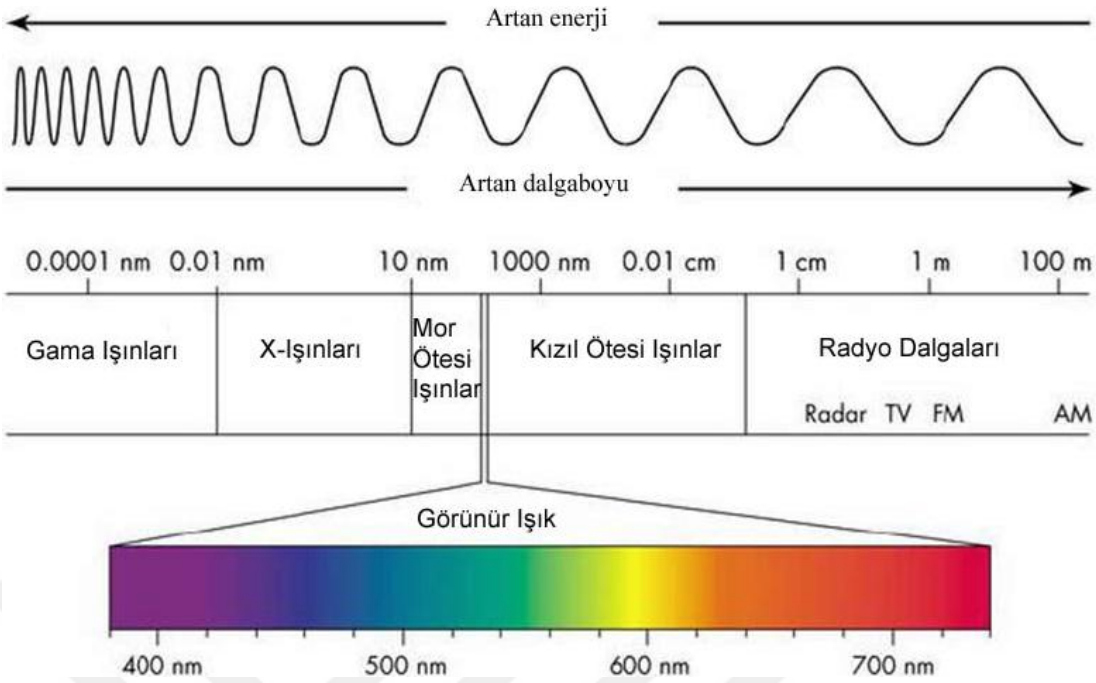
1.3.1. Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi

Spektroskopik analiz yöntemleri, örneğin elektromanyetik radyasyonun çeşitli formlarından oluşan ışına maruz bırakılarak örneğin yaydığı saçtığı veya soğurduğu ışın miktarlarının ölçülmesi temeline dayanmaktadır. (Skoog v.d., 2006). Elektromanyetik spektrum, çok geniş bir enerji (frekans) ve dolayısıyla dalga boyu aralığını kapsamaktadır (Campbell ve Dwek, 1984). Şekil 1.3'de elektromanyetik spektrumun önemli bölgeleri gösterilmektedir.

Bir molekülün toplam enerjisi (E), altı bileşenden oluşur (Campell ve Dwek, 1984).

Toplam enerji denklemi :

$$E_{toplam}=E_{öteleme}+E_{dönme}+E_{titreşim}+E_{elektronik}+E_{Elektron\ spin\ yönelmesi}+E_{nükleer\ spin\ yönelmesi}$$



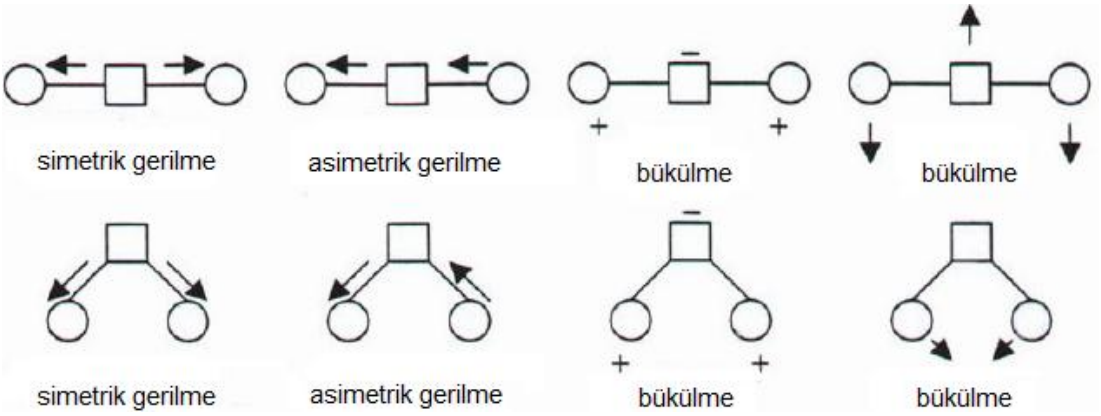
Şekil 1.3. Elektromanyetik Spektrum Bölgeleri

Kızılötesi (IR) bölgesi üç ana bölgeye bölünmüştür (Smith, 1999). Dalga boyları, dalga sayısı ve frekanslarına göre kızılötesi ışınların gruplandırılması Tablo 1.1'de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. Kızılötesi ışınların dalga boyu, dalga sayısı ve frekans değerleri

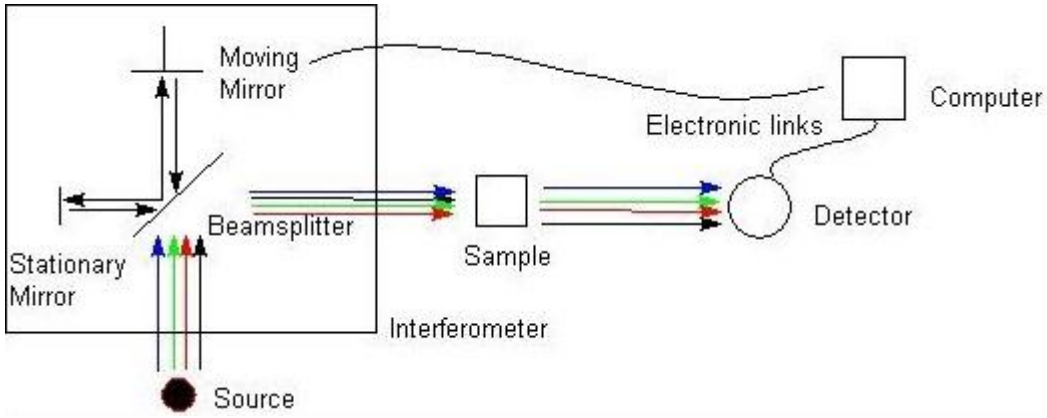
Bölge	Dalga boyu (λ)	Dalga sayısı (v)	Frekans
Yakın kızılötesi	0,75- 2,5 μm	12800-4000 cm^{-1}	$3,8x10^{14}$ -$1,2x10^{14}$ Hz
Orta kızılötesi	2,5- 50 μm	4000-200 cm^{-1}	$1,2x10^{14}$- $6x10^{12}$ Hz
Uzak kızılötesi	50- 1000 μm	200-10 cm^{-1}	$6x10^{12}$- $3x10^{11}$ Hz

Kızılötesi ışınların enerjisi genellikle elektronik geçişleri sağlayamayacak kadar küçüktür, fakat molekülün temel elektronik haline ilişkin titreşim ve dönme halleri arasındaki geçişler, kızılötesi ışığının molekül tarafından soğrulması ile meydana gelir (Skoog v.d.,2006). Moleküler titreşim türleri Şekil 1.4'de verilmiştir.



Şekil 1.4. Moleküler titreşim türleri (+) işareti öne doğru, (-) işareti ise düzlemden geriye doğru hareketi göstermektedir.

Fourier Dönüşüm Kızılötesi (FT-IR) Spektroskopisi (Şekil 1.5), moleküllerin değişik dalga boylarındaki titreşimlerini ölçen ve bu nedenle değişik titreşim gruplarını görüntüleyip onların karakterize edilmesini sağlayıp hücre zarları hakkında değerli bilgiler veren bir teknoloji ürünüdür. Bu teknik sayesinde moleküllerin yapısındaki değişik titreşim gruplarının aynı anda görüntülenmesi ile bu titreşim gruplarının ait oldukları moleküller hakkında bilgi edinilmektedir. Böylelikle ilgili biyolojik sistem hakkında hassas olarak bilgi edinilmesi mümkün olmaktadır (Türker v.d., 2011; Garip v.d., 2010; Çakmak v.d., 2011). Hücre zarı fosfalipitlerinin FT-IR spektrumu, fosfalipitlerin açil zincirlerinden, lipit kafa grubu ve sulu kısma yakın gliserol kısımlarından kaynaklanan bandları gösterir. Bu bandların frekans değişimleri, band genişlikleri ve bu parametrelerin sıcaklığa göre değişimleri ilaçların lipit faz geçişi, lipit düzeni ve akışkanlığı üzerinde yaptığı etkileri ve ilaçların lipit sistemi içindeki konumu hakkında bilgi verir (Mignolet v.d., 2016; Bilge v.d., 2014; Türker v.d., 2011; Sade v.d., 2010; Toyran v.d., 2007; Severcan v.d., 2005). Ayrıca, örneklerin gaz, sıvı ve katı hallerinde hazırlanabiliyor olması, çok az miktarda örnekle dahi çalışılabiliyor olması, nitel yorumlar yapılabilmesi ve verilerin hızlı bir şekilde elde edilebilmesi nedeniyle kızılötesi spektroskopisi oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Türker v.d., 2014; Diem, 1993).



Şekil 1.5. FT-IR spektroskopisinin şematik gösterimi

1.3.1.1. İlaç-lipit çalışmalarında kullanılan FT-IR spektoskopisi ampirik kuralları

a) CH_2 (simetrik – asimetrik) gerilme bandları

Fosfalipitin açil zincirlerini yani hidrokarbon kuyruğu temsil eden karbon-hidrojen gerilme bandlarından en güçlü olan ikisi 2920 cm^{-1} frekansında gözlenen CH_2 asimetrik gerilme bandı ve 2850 cm^{-1} çevresinde gözlenen CH_2 simetrik gerilme bandıdır. CH_2 asimetrik titreşim modunun frekansının sıcaklığa bağlı değişimleri bir yapısal bilgi olan fosfalipitin hidrokarbon zincirinin düzeni (trans veya gauche durumu) hakkında bilgi verir (Elibol-Can v.d., 2015; Türker v.d., 2014; Türker v.d., 2011; Severcan, 1997; Flach v.d., 1993).

b) CH_3 simetrik gerilme bandı

2870 cm^{-1} frekansında gözlenen CH_3 simetrik band frekansındaki değişimin incelenmesi hücre zarının iç kısmının dinamiği hakkında bilgi edinilmesini mümkün kılar. (Mannock v.d., 2010; Mannock v.d., 2008).

c) C=O, PO^-_2 gerilme bandları

Lipitlerin sulu kısma yakın bölgesini temsil eden band 1735 cm^{-1} çevresinde gözlenen C=O gerilme bandı fosfalipitin gliserol grubundan kaynaklıdır ve fosfalipitin baş kısmını temsil eden band 1220-1260 cm^{-1} spektral bölgesinde gözlenen PO^-_2 gerilme bandıdır. C=O gerilme ve PO^-_2 asimetrik gerilme mod frekansındaki sıcaklığa bağlı değişimler bu fonksiyonel grupların etrafındaki hidrojen bağlanması hakkında bilgi verir (Mannock v.d., 2010; Mannock v.d., 2008; Cournia v.d., 2007).

C=O gerilme band frekansının düşük değerlere kayması hidrojen bağlanmasının kuvvetli olduğunu gösterir. Frekansın yüksek değerlere kayması karbonil grubun dehidrasyonunun arttığını yani serbest C=O gruplarının arttığını gösterir (Mannock

v.d., 2010; Mannock v.d., 2008; Cournia v.d., 2007). PO^{-}_{2} asimetrik gerilme bandının etkileri C = O gerilme bandı ile aynı özellikleri taşımaktadır (Mannock v.d., 2010; Şahin v.d., 2007; Severcan v.d., 2005).

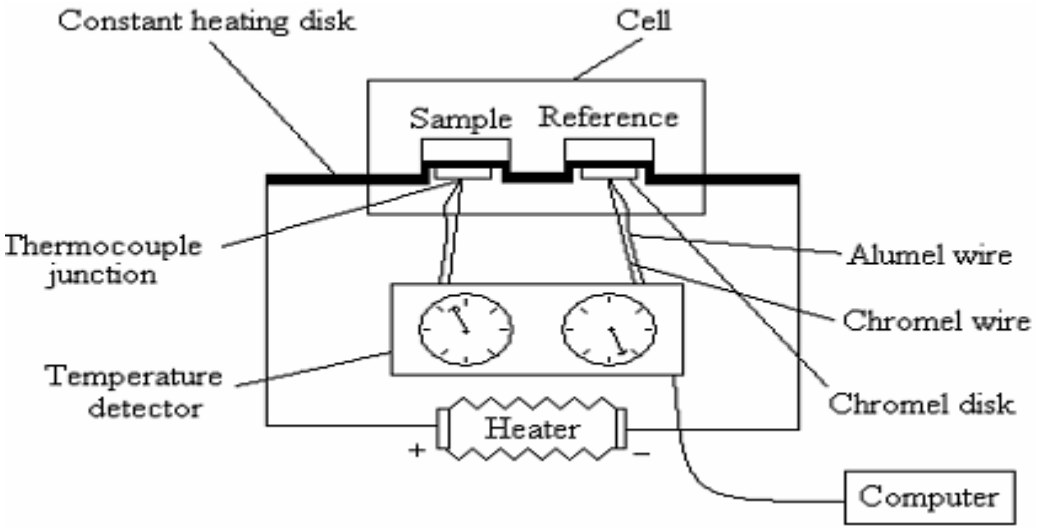
1.3.2. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DSC)

Hücre zarı çalışmalarında kullanılan bir diğer teknik Diferansiyel Tarama Kalorimetresidir (DSC) (Şekil 1.6). Bu teknik; biyolojik yapıların termal ve buna bağlı termodinamik özellikleri hakkında hassas bilgiler veren, ilaç-lipt etkileşmesinin araştırılmasında ilaçların hücre zarı faz geçiş özellikleri üzerine etkilerini araştırmak için kullanılan bir tekniktir (Severcan v.d., 2015; Türker v.d., 2011; Severcan v.d., 2005; Castelli v.d., 2001, Kazancı v.d., 2001). Ayrıca bu teknik, ilaç endüstrisinde fiziksel ve kimyasal özelliklerin araştırılmasında, protein- protein, protein- ligand etkileşimi ve protein domain organizasyonunun araştırılmasında da yaygın olarak kullanılır (Türker v.d., 2011).

Bu metotta referans ve örnek aynı anda değişen sıcaklıklara tabi tutulur. Değişen sıcaklıkla birlikte örnekte faz geçişi gerçekleştiğinde örnek tarafından absorbe edilen termal enerji referansa eklenir. Böylelikle, bu referansa eklenen enerji spesifik bir faz geçişinde örnek tarafından absorbe edilen enerjiye eşittir. Referansa verilen enerji dengeleme enerjisi olarak tanımlabilir ki bu enerjinin kayıt altına alınması örneğin faz geçiş enerjisinin ölçümünü verir (Castelli v.d., 2003; Bradrick v.d., 1989).

DSC tekniği, ajan-lipit etkileşimi araştırmalarında ilaçların hücre zarı faz geçiş sıcaklığı, faz geçiş entalpisi ve kooperativiti gibi özellikleri üzerindeki etkilerini direkt olarak gösterebilmektedir (Bensikaddour v.d., 2008; Şahin v.d. 2007; Toyran v.d., 2007; Severcan v.d., 2005). Hücre zarı çalışmalarında zar lipitlerinin faz geçiş özelliklerini yani faz geçiş sıcaklığı (T_m, ^oC), kooperativiti, faz geçiş entalpisi (ΔH, kkal/mol) ve entropisi analiz edilirler (Mouristen ve Biltonen, 1993). Sıcaklık arttığında çift tabaka, hidrokarbon zincirlerin düzenli olduğu jel fazdan zincirlerin farklı konformasyonlarda olduğu daha akışkan sıvı kristal faza geçer. Jel fazdan akışkan faza esas geçiş, T_m olarak adlandırılan esas faz geçiş sıcaklığında meydana gelir (Hianik, 2006; Simons ve Vaz, 2004). Faz geçiş entalpisi, molekül içi ve moleküller arası Van der Walls bağları ile trans-gauche izomerlerinin bozulması ile oluşan faz geçişi sırasındaki enerji olarak tanımlanmaktadırlar (Mouritsen ve Biltonen, 1993; Bultmann v.d., 1991). Kooperativiti ise faz geçişine katılan lipit moleküllerinin yaklaşık miktarı ile ilgili olup lipit düzenliliği hakkında bilgi veren bir

parametredir (Cevc ve Marsh, 1987). Yüksek kooperativiti değerleri faz geçişine daha fazla lipit molekülünün katıldığı anlamına gelmektedir (Mouristen ve Biltonen, 1993; Bultmann v.d., 1991; Cevc ve Marsh, 1987).



Şekil 1.6. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi'nin (DSC) şematik gösterimi

2. MALZEME VE YÖNTEM

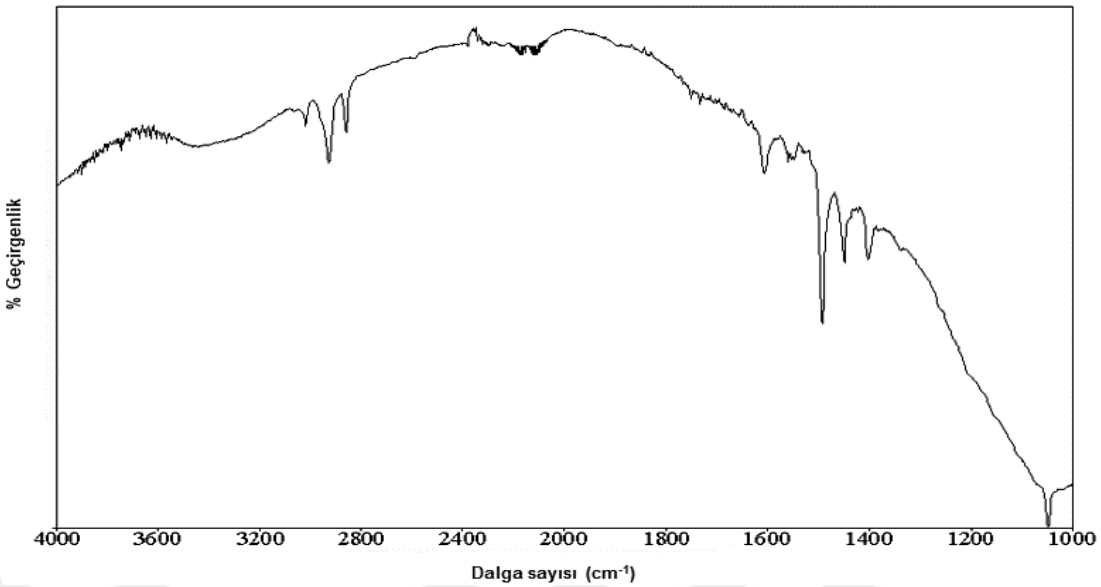
1-(aminometil) siklohekzanasetik asit (gabapentin, GBP), dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC), fosfat tampon tablet, triklorometan (kloroform), methanol Sigma Kimyasal (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) firmasından temin edildi. Çalışmalarda kullanılan kimyasallar saflaştırma işlemine tabi tutulmadı.

2.1. Çok Tabakalı Lipozomların Hazırlanması

Fosfalipit çok tabakalı lipozomlar literatüre uygun olarak hazırlandı (Türker v.d., 2011; Severcan v.d., 2005). %1, %5, %10 ve %20 mol yüzdeleri için gerekli olan GBP miktarları hesaplandı. Uygun miktarda DPPC kloroformda ve GBP metanolde çözdürülerek stok çözeltileri hazırlandı. Stok çözeltilerden gerekli olan GBP ve DPPC miktarları alınarak ependorf kaplara eklendi. Karışımlardaki organik çözücüler (metanol ve kloroform) önce azot gazı ile sonra kurutma sisteminde (Freeze-drying System) 12 saat boyunca vakumlanarak ortamdan uzaklaştırıldı. İnce lipit tabakaları içeren tüplere 50 µL fosfat tampon çözeltisi (pH=7.4) ilave edildi. Elde edilen karışım toplamda 6-7 döngü olmak üzere; 2 dakika DPPC faz geçiş sıcaklığının (41°C) en az 20°C üzerindeki sıcaklıkta (65°C) tutularak, 2 dakika vorteks karıştırıcıda karıştırılarak süt renginde yoğun kıvamlı çok katlı lipozomlar elde edildi.

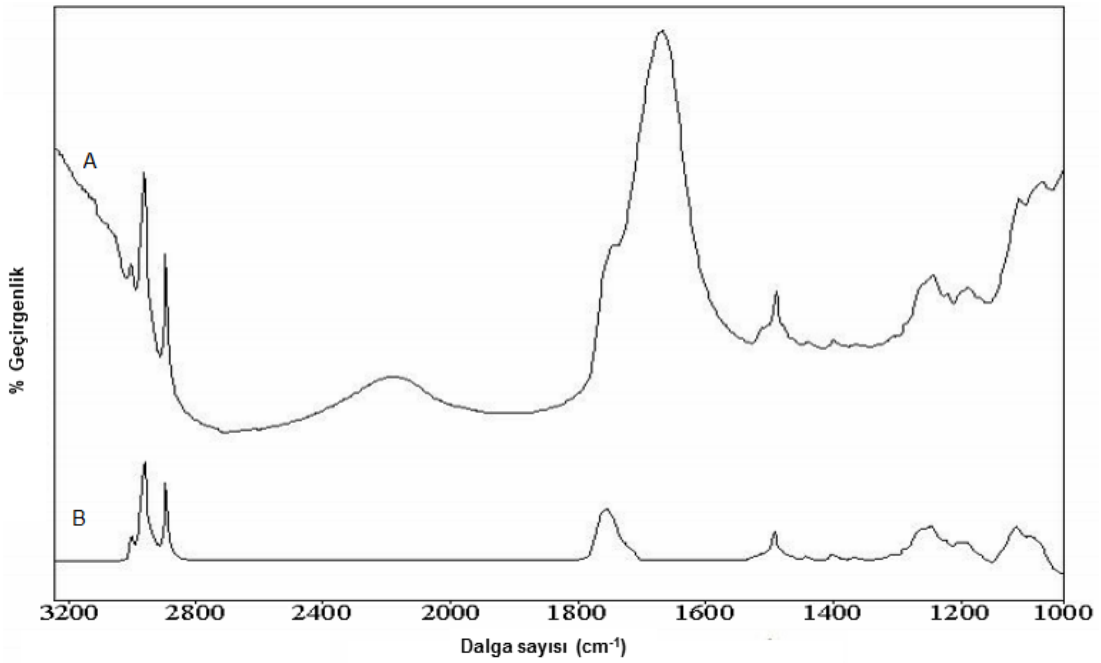
2.2. FT-IR Çalışmaları

FT-IR spektroskopisi ölçümleri için dötoryumlu triglisin sülfat (DTGS) dedektörlü Perkin-Elmer Spektrum One FT-IR Spektroskopisi kullanıldı (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA). Lipozom örneklerinden 20 µL alınarak 12 µm kalınlıktaki kalsiyum florür (CaF_2) quartz pencere arasına yerleştirildi. Örneklerin 28 °C ve 58 °C arasında 3 °C aralıklar ile artırılarak her sıcaklıkta 5 dk inkübe edilerek spektrumları alındı. Aletin içerisinden geçen havadaki su buharı ve karbondioksit, örnek spektrumlarını etkilediğinden her taramadan önce havanın spektrumu (Şekil 2.1) alınarak, örnek spektrumlarından Perkin Elmer Spektrum One programı ile otomatik olarak çıkartıldı. Her örneğin belirtilen sıcaklıklardaki 4000 cm^{-1} ile 1000 cm^{-1} frekans aralığında ve 2 cm^{-1} çözünürlükteki spektrumları elde edildi.



Şekil 2.1. Havanın FT-IR spektrumu

Tampon çözeltideki özellikle 3400-3200 cm^{-1} ve 1800-1500 cm^{-1}'deki OH gerilme bandları analiz edilecek olan bandları kapattığı için Perkin Elmer Spektrum One programı kullanılarak tampon çözelti spektrumları örnek spektrumlarından çıkartıldı. Şekil 2.2'de tampon çözelti spektrumları çıkartılmamış (A) ve çıkartılmış (B) DPPC lipozom spektrumları gösterilmiştir.



Şekil 2.2. DPPC lipozom spektrumları, A-tampon çözelti spektrumu çıkartılmamış DPPC lipozom spektrumu, B-tampon çözelti spektrumu çıkartılmış DPPC lipozom spektrumu

FT-IR spektral analiz için 4000-1000 cm^{-1} frekans aralığındaki titreşimlerin tamamı frekans ve band genişliklerinin sıcaklığa bağlı değişimi göz önüne alınarak incelendi. İncenen her bir titreşim spektral bölgede çeşitli frekans değerlerine karşılık gelmektedir. Tablo 2.1'de çalışma dahilinde incelenen titreşim türleri ve buna karşılık gelen frekans değerleri gösterildi. Band frekansları bandların ağırlık merkezleri üzerinden değerlendirilerek pik yüksekliğinin %80'i alınarak hesaplandı. GBP- DPPC model membran etkileşimi; CH_3 simetrik, CH_2 asimetrik, CH_2 simetrik, C=O gerilme bandı ve PO^-_2 asimetrik gerilme bandlarının frekans değerlerinin ölçülen tüm sıcaklıklardaki değişimi incelendi. Ayrıca, hücre zarının iç dinamiği hakkında bilgi edinmek için CH_2 asimetrik ve CH_2 simetrik bandları için, farklı sıcaklıklardaki band genişlikleri incelendi.

Tablo 2.1. DPPC Lipitlerinin karakteristik infrared bandları ve karşılık gelen dalga sayıları (Türker, 2011)

Frekans (cm^{-1})	Fonksiyonel Grup
2920	CH_2 asimetrik gerilme
2870	CH_3 simetrik gerilme
2850	CH_2 simetrik gerilme
1730	C=O gerilme
1230	PO^{-2} asimetrik gerilme

2.3. DSC Çalışmaları

DSC çalışmaları için örnekler Shimadzu DSC 60- Plus aleti ile tarandı. Lipit karışımı infrared çalışmaları için kullanılan aynı yöntem ile hazırlandı. Sadece 2 mg lipit ve 50 µL tampon çözelti (fosfat buffer) kullanıldı. DSC çekimleri 20 µL'lik miktarlarda örnek içeren özel alüminyum panlarda gerçekleştirildi. DSC ısıtma hızı dakikada 0.5 ºC ve çalışılan sıcaklık bölgesi 25 ºC ile 50 ºC arasındadır. %1, %5, %10 ve %20 mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomlarının her biri için yapılan taramalar 3 tekrar olarak gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

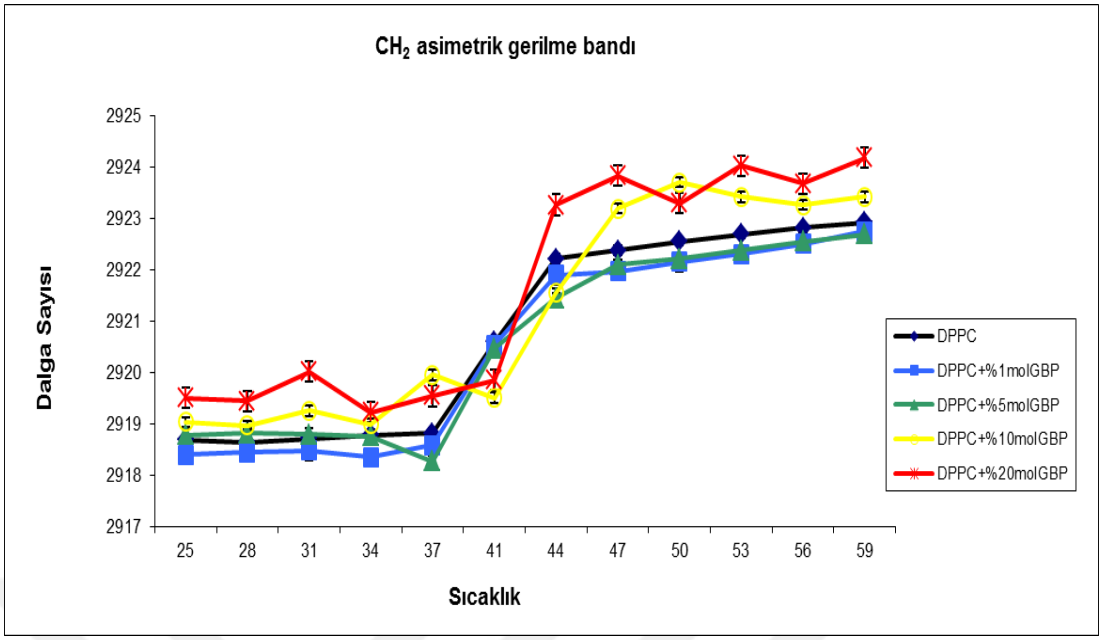
Yapılan FT-IR analizleri ile sistemin lipit düzeni, dinamiği (band genişliği), hidrojen bağlanma durumu, faz geçişleri ve GBP'nin DPPC lipozomu içindeki konumu hakkında, DSC analizleri ile ise sistemin faz geçiş sıcaklıkları (ön geçiş – ana faz geçiş) hakkında bilgiler elde edildi.

3.1. FT-IR Spektroskopisi Çalışmaları

CH_2 asimetrik gerilme titreşim frekansının sıcaklığa bağlı değerlerine göre (Tablo 3.1, Şekil 3.1) saf DPPC lipozomlarına %10 ve %20 mol GBP eklendiğinde faz geçiş sıcaklığında artma tespit edildi. Diğer taraftan %1 ve %5 mol GBP eklenmesine bağlı olarak faz geçiş sıcaklığında önemli bir değişim gözlenmedi. %10 ve %20 mol GBP'nin DPPC lipozomlarına eklenmesi ile jel ve kristal fazda CH_2 asimetrik band frekansında anlamlı artışa neden oldu.

Tablo 3.1. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri

Sıcaklık	DPPC	DPPC+ % 1 mol GBP	DPPC+ % 5 mol GBP	DPPC+ % 10 mol GBP	DPPC+ % 20 mol GBP
25	2918,69	2918,40	2918,79	2919,04	2919,51
28	2918,65	2918,45	2918,82	2918,97	2919,45
31	2918,72	2918,48	2918,80	2919,26	2920,02
34	2918,79	2918,36	2918,76	2919	2919,23
37	2918,82	2918,59	2918,27	2919,96	2919,55
40	2920,60	2920,54	2920,47	2919,51	2919,86
43	2922,22	2921,90	2921,45	2921,55	2923,27
46	2922,38	2921,98	2922,10	2923,2	2923,84
49	2922,56	2922,16	2922,22	2923,71	2923,3
52	2922,70	2922,31	2922,38	2923,43	2924,03
55	2922,82	2922,51	2922,56	2923,27	2923,68
58	2922,93	2922,76	2922,70	2923,43	2924,19

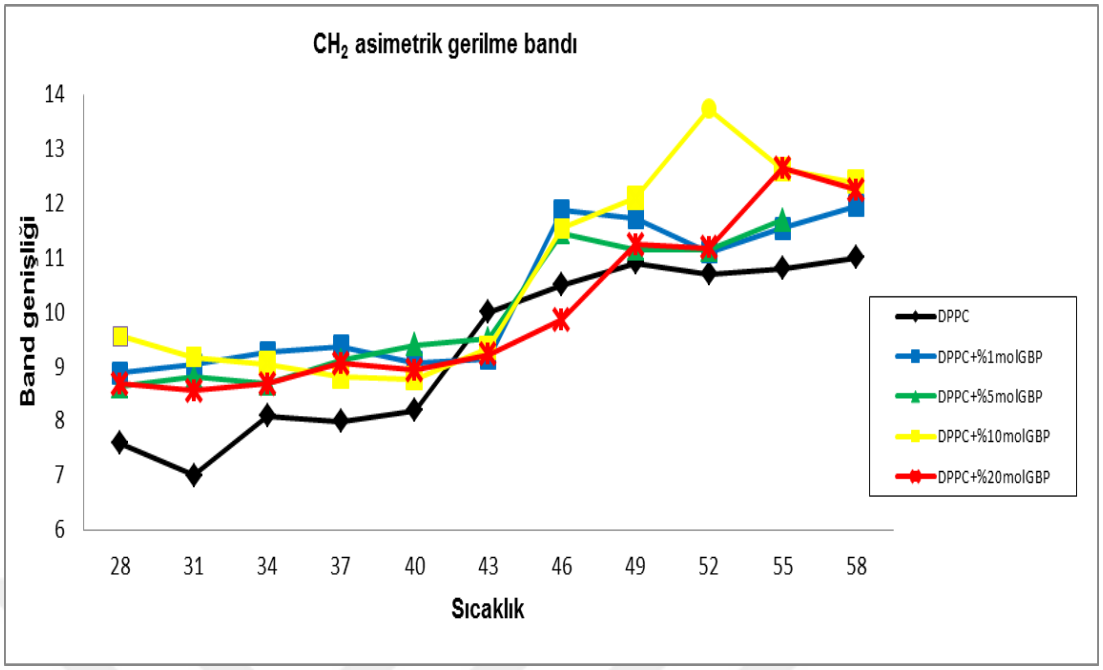


Şekil 3.1. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi

CH_2 asimetrik gerilme titreşiminin band genişliğinin sıcaklığa bağlı değerleri incelendiğinde (Tablo 3.2, Şekil 3.2), hem jel hem de sıvı-kristal fazdaki değerler saf DPPC lipozomuna göre, GBP'nin %1, %5, %10 ve %20 mol konsantrasyonlarda eklenmesi ile arttı.

Tablo 3.2. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değerleri

Sıcaklık	DPPC	DPPC+ % 1 mol GBP	DPPC+ % 5 mol GBP	DPPC+ % 10 mol GBP	DPPC+ % 20 mol GBP
28	7,6	8,89	8,64	9,56	8,69
31	7	9,03	8,81	9,18	8,56
34	8,1	9,26	8,69	9,05	8,69
37	8	9,38	9,11	8,81	9,06
40	8,2	9,07	9,4	8,77	8,93
43	10	9,15	9,51	9,34	9,23
46	10,5	11,87	11,45	11,54	9,86
49	10,9	11,73	11,15	12,09	11,24
52	10,7	11,11	11,14	13,74	11,18
55	10,8	11,54	11,69	12,62	12,65
58	11	11,96	11,78	12,38	12,25



Şekil 3.2. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 asimetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değişimi

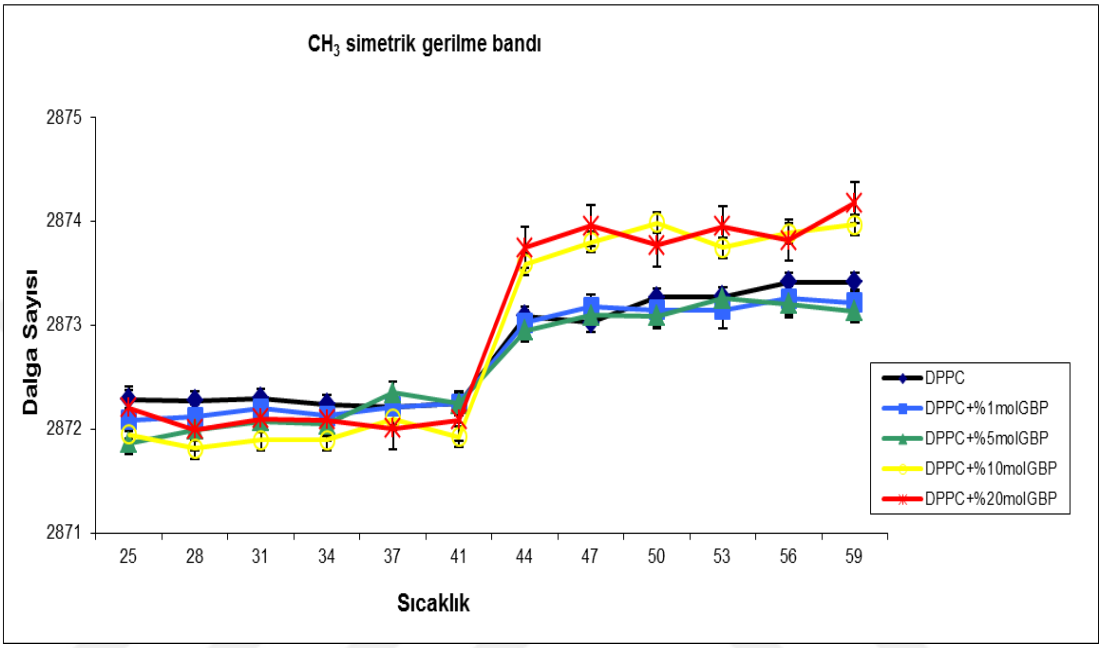
CH_3 simetrik gerilme titreşim frekansının sıcaklığa bağlı değerlerini incelendiğinde (Tablo 3.3, Şekil 3.3), jel fazda saf DPPC lipozomuna farklı konsantrasyonlarda GBP eklenmesinin band frekansında çok etkin olmayan bir şekilde azalmaya sebep olurken, sıvı-kristal fazda saf DPPC'ye yüksek konsantrasyonlarda (%10 ve %20 mol) GBP eklenmesinin frekansın yüksek değerlere anlamlı bir şekilde kaymasına neden olduğu görüldü.

Tablo 3.3. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_3 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri

Sıcaklık	DPPC	DPPC+ % 1 mol GBP	DPPC+ % 5 mol GBP	DPPC+ % 10 mol GBP	DPPC+ % 20 mol GBP
25	2872,29	2872,09	2871,87	2871,95	2872,21
28	2872,28	2872,12	2872	2871,82	2872
31	2872,3	2872,2	2872,08	2871,9	2872,1
34	2872,24	2872,13	2872,05	2871,9	2872,09
37	2872,22	2872,22	2872,35	2872,1	2872,01
40	2872,25	2872,25	2872,25	2871,93	2872,09
43	2873,09	2873,03	2872,95	2873,59	2873,75
46	2873,03	2873,18	2873,1	2873,8	2873,96
49	2873,27	2873,15	2873,09	2873,99	2873,77

Tablo 3.3.(Devam) Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_3 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri

52	2873,28	2873,15	2873,26	2873,75	2873,95
55	2873,42	2873,26	2873,21	2873,89	2873,82
58	2873,42	2873,22	2873,14	2873,97	2874,18



Şekil 3.3. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_3 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi

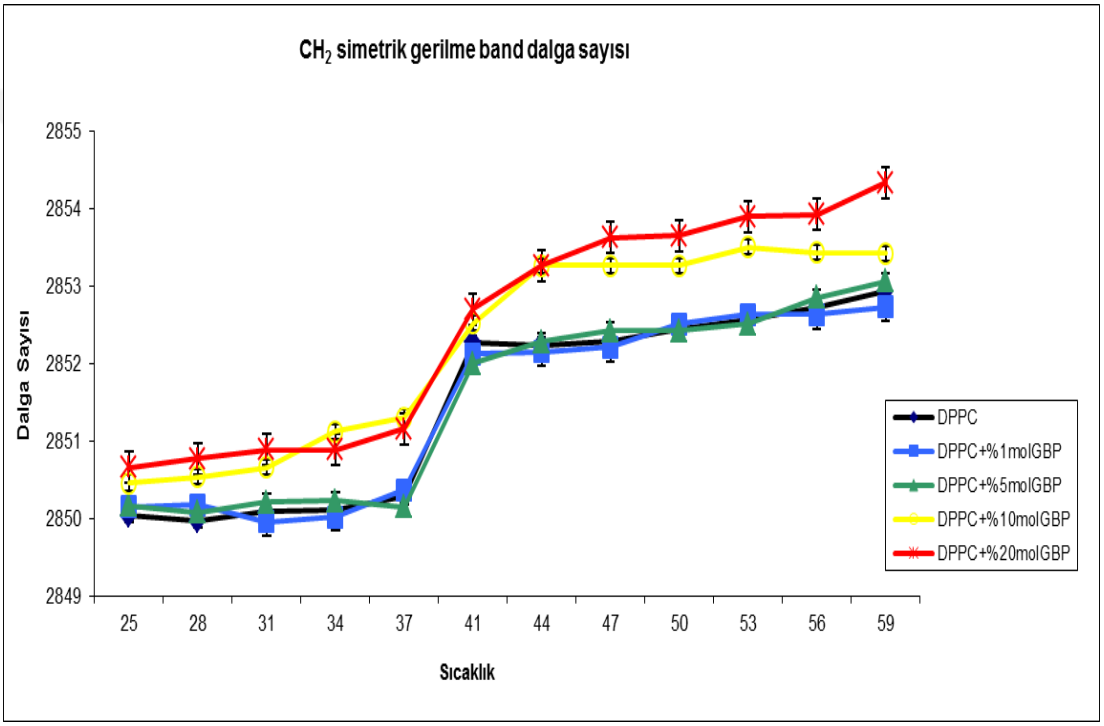
CH_2 simetrik gerilme titreşim frekansının sıcaklığa bağlı değerlerine göre (Tablo 3.4, Şekil 3.4) CH_2 asimetrik gerilme titreşim frekansında olduğu gibi jel fazda ve sıvı-kristal fazda sisteme %10 ve %20 mol GBP ilavesiyle CH_2 simetrik gerilme titreşim frekansı arttı.

Tablo 3.4. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri

Sıcaklık	DPPC	DPPC+ % 1 mol GBP	DPPC+ % 5 mol GBP	DPPC+ % 10 mol GBP	DPPC+ % 20 mol GBP
25	2850,05	2850,16	2850,18	2850,47	2850,67
28	2849,98	2850,19	2850,09	2850,55	2850,78
31	2850,1	2849,97	2850,22	2850,67	2850,9
34	2850,12	2850,03	2850,24	2851,13	2850,9
37	2850,3	2850,38	2850,16	2851,31	2851,17

Tablo 3.4.(Devam) Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri

40	2852,28	2852,13	2852,01	2852,53	2852,71
43	2852,25	2852,16	2852,29	2853,27	2853,27
46	2852,29	2852,22	2852,43	2853,27	2853,63
49	2852,46	2852,52	2852,43	2853,27	2853,66
52	2852,58	2852,64	2852,52	2853,51	2853,9
55	2852,73	2852,64	2852,86	2853,44	2853,93
58	2852,94	2852,74	2853,07	2853,43	2854,34

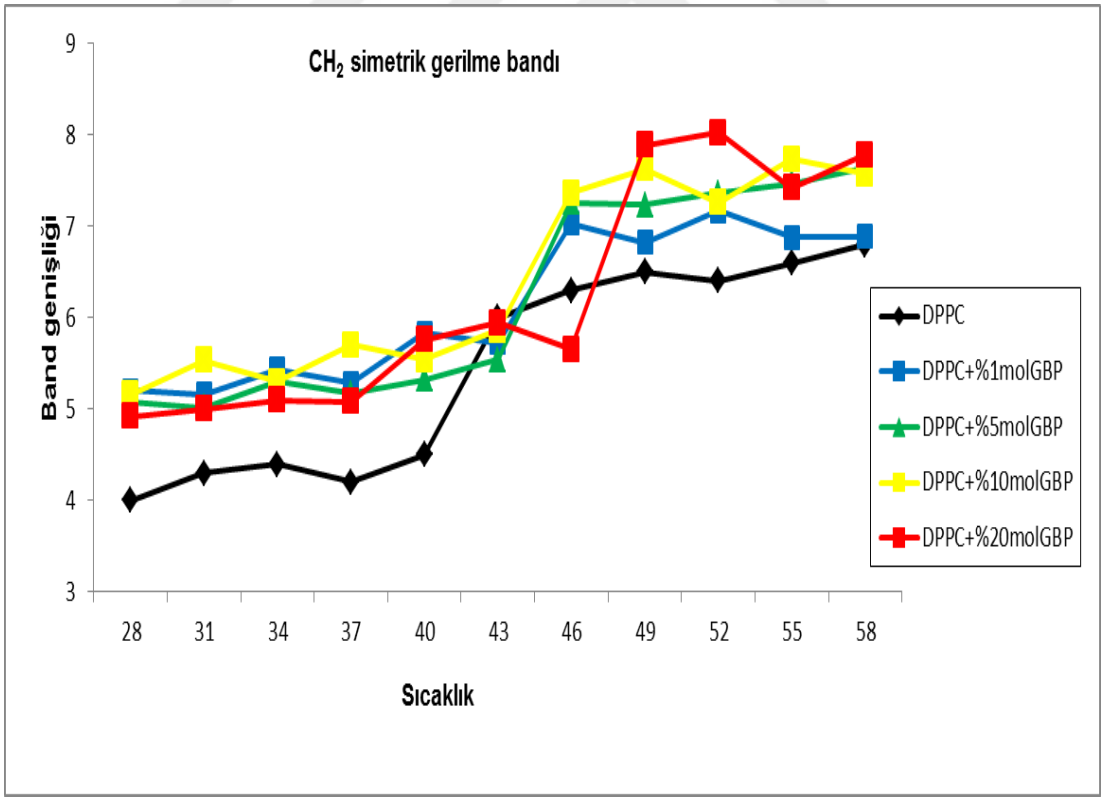


Şekil 3.4. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi

CH_2 simetrik gerilme titreşiminin band genişliğinin sıcaklığa bağlı değerleri incelendiğinde (Tablo 3.5, Şekil 3.5), hem jel hem de sıvı-kristal fazdaki değerler saf DPPC lipozomuna göre, GBP'nin %1, %5, %10 ve %20 mol konsantrasyonlarda eklenmesi ile arttı. Elde edilen sonuç, CH_2 asimetrik gerilme modu band genişliği verilerini destekler niteliktedir.

Tablo 3.5. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değerleri

Sıcaklık	DPPC	DPPC+ % 1 mol GBP	DPPC+ % 5 mol GBP	DPPC+ % 10 mol GBP	DPPC+ % 20 mol GBP
28	4	5,2	5,07	5,16	4,92
31	4,3	5,16	5,02	5,53	5
34	4,4	5,44	5,3	5,3	5,1
37	4,2	5,28	5,17	5,7	5,08
40	4,5	5,83	5,32	5,54	5,76
43	6	5,73	5,54	5,86	5,94
46	6,3	7,03	7,26	7,36	5,65
49	6,5	6,82	7,23	7,63	7,89
52	6,4	7,17	7,36	7,26	8,02
55	6,6	6,88	7,47	7,73	7,42
58	6,8	6,89	7,64	7,57	7,78

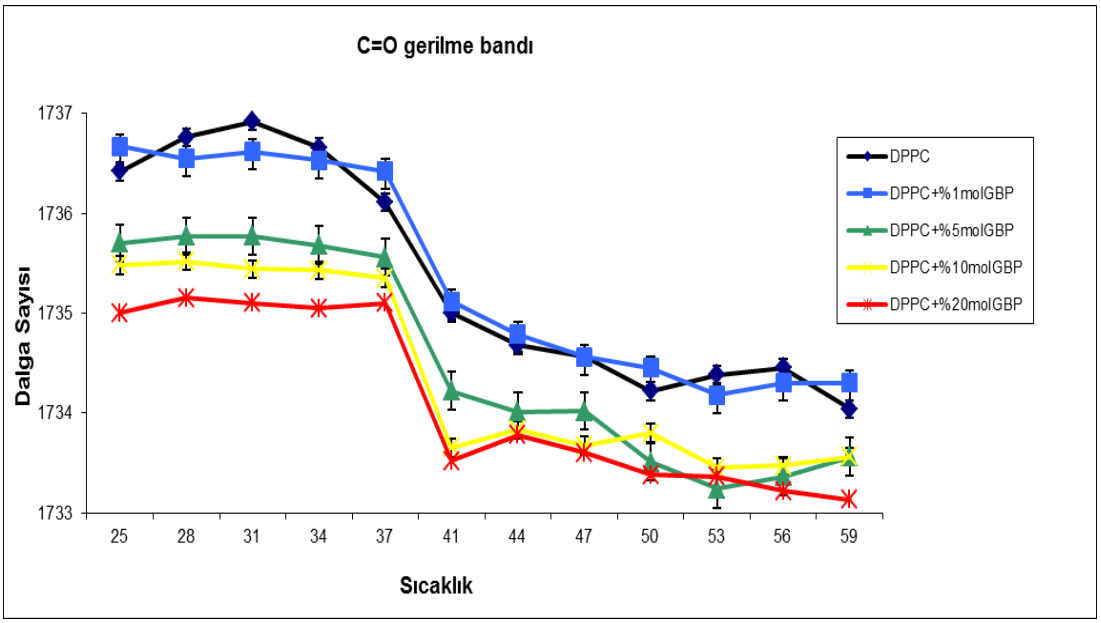


Şekil 3.5. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun CH_2 simetrik gerilme modu band genişliğinin sıcaklığa bağlı değişimi

C=O gerilme titreşim frekansının sıcaklığa bağlı değerleri incelendiğinde (Tablo 3.6, Şekil 3.6), hem sıvı kristal fazda hem de jel fazda, saf DPPC lipozomuna GBP'nin farklı konsantrasyonlarının eklenmesi (%1 mol hariç), C=O gerilme titreşim frekans değerlerinde azalmaya neden oldu.

Tablo 3.6. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun C=O gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri

Sıcaklık	DPPC	DPPC+ % 1 mol GBP	DPPC+ % 5 mol GBP	DPPC+ % 10 mol GBP	DPPC+ % 20 mol GBP
25	1736,42	1736,67	1735,70	1735,48	1735,00
28	1736,76	1736,55	1735,77	1735,52	1735,15
31	1736,92	1736,62	1735,77	1735,44	1735,10
34	1736,66	1736,53	1735,68	1735,43	1735,05
37	1736,11	1736,42	1735,56	1735,35	1735,10
40	1735,00	1735,12	1734,22	1733,65	1733,52
43	1734,68	1734,79	1734,01	1733,83	1733,78
46	1734,56	1734,56	1734,02	1733,67	1733,60
49	1734,22	1734,45	1733,51	1733,80	1733,38
52	1734,38	1734,18	1733,24	1733,45	1733,36
55	1734,45	1734,30	1733,36	1733,47	1733,22
58	1734,04	1734,30	1733,56	1733,56	1733,13

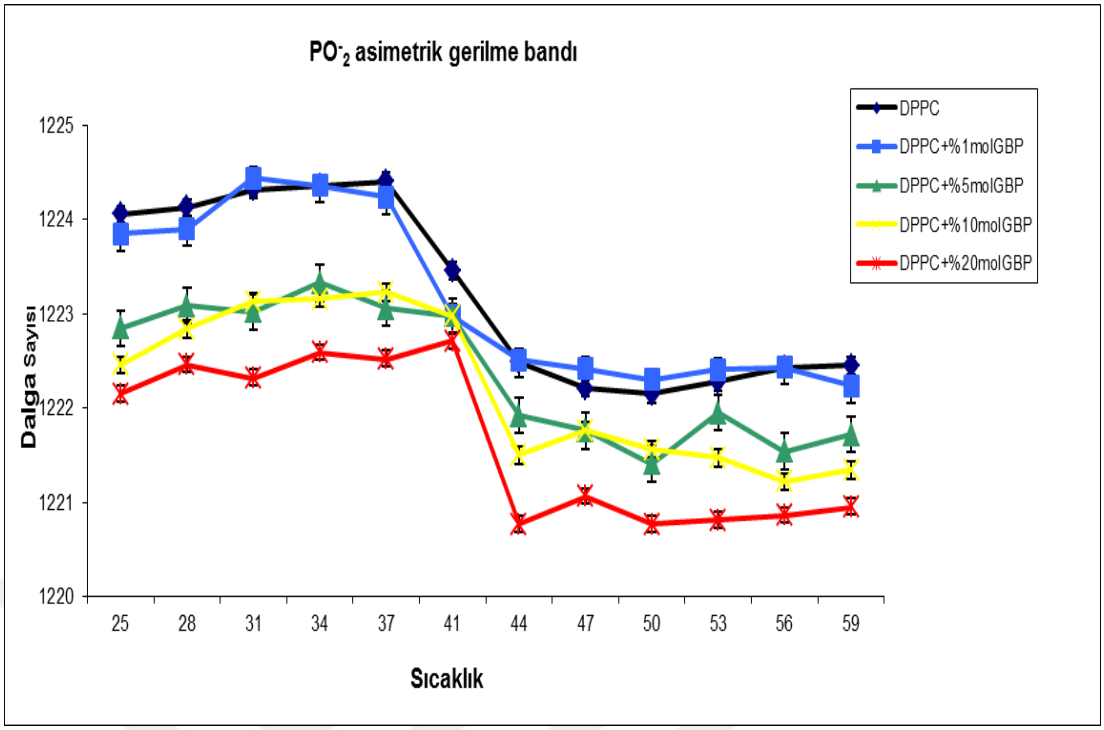


Şekil 3.6. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun C=O gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi

Sıvı kristal fazda, DPPC lipozomuna artan GBP konsantrasyonları eklendiğinde PO^{-}_{2} asimetrik gerilme titreşim frekansında C=O gerilme band frekansı üzerindeki etkisine benzer olarak azalmaya neden olduğu gözlendi. Jel fazda da, sıvı kristal fazda olduğu gibi saf DPPC lipozomuna GBP'nin artan konsantrasyonları (%5, %10 ve %20 mol) eklenmesi ile PO^{-}_{2} asimetrik modu frekans değerlerinin saf DPPC frekans değerlerine kıyasla azalmaya neden olduğu tespit edildi (Tablo 3.7, Şekil 3.7).

Tablo 3.7. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun PO^{-}_{2} asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değerleri

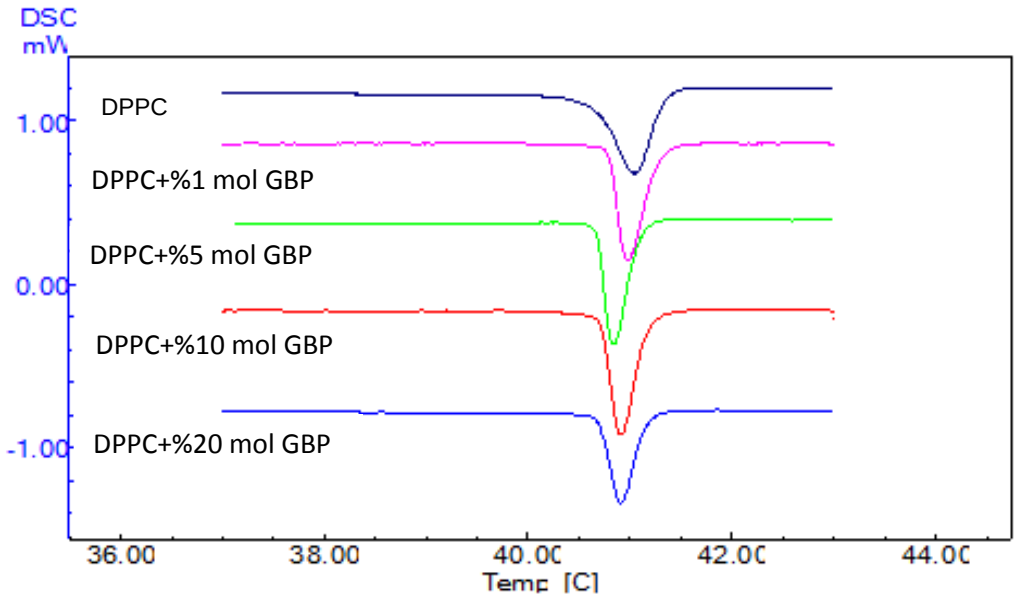
Sıcaklık	DPPC	DPPC+ % 1 mol GBP	DPPC+ % 5 mol GBP	DPPC+ % 10 mol GBP	DPPC+ % 20 mol GBP
25	1224,06	1223,85	1222,85	1222,46	1222,15
28	1224,13	1223,90	1223,09	1222,84	1222,46
31	1224,32	1224,44	1223,02	1223,13	1222,32
34	1224,36	1224,36	1223,33	1223,16	1222,59
37	1224,41	1224,24	1223,06	1223,23	1222,52
40	1223,46	1222,98	1222,98	1222,98	1222,71
43	1222,49	1222,51	1221,92	1221,5	1220,77
46	1222,21	1222,42	1221,76	1221,76	1221,06
49	1222,15	1222,3	1221,41	1221,56	1220,77
52	1222,28	1222,41	1221,95	1221,47	1220,81
55	1222,43	1222,43	1221,54	1221,22	1220,86
58	1222,45	1222,24	1221,72	1221,34	1220,95



Şekil 3.7. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun PO^{-}_{2} asimetrik gerilme modu frekansının sıcaklığa bağlı değişimi

3.2. DSC Çalışmaları

DSC cihazı ile farklı konsantrasyonlardaki GBP 'nin DPPC faz geçiş sıcaklığı ve faz geçiş entalpisi üzerine etkisi incelendi.



Şekil 3.8. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomunun DSC termogramı

Şekil 3.8'de saf DPPC ve değişik GBP konsantrasyonları içeren DPPC lipozomlarının termogramları görülmektedir. Saf DPPC lipozom örneği 41.07 derecede ana faz geçişi (T_m) tespit edildi. Saf DPPC için gözlenen T_m değeri literatüre (41°C) uygundur (Ergun v.d., 2014; Türker v.d., 2011). DPPC'ye eklenen GBP konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak esas faz geçişinin daha düşük sıcaklıklarda olduğu gözlendi.

Tablo 3.8. Farklı % mol GBP içeren ve içermeyen DPPC lipozomları için ana faz geçiş sıcaklıkları ve entalpi değerleri

Örnek	T_m (ºC)	ΔH (mcal)
DPPC	41,07	7,90
DPPC+%1 mol GBP	40,84	5,53
DPPC+%5 mol GBP	40,84	5,25
DPPC+%10 mol GBP	40,91	5,23
DPPC+%20 mol GBP	40,91	4,60

Tablo 3.8'de, saf DPPC lipozomlarına değişik konsantrasyonlarda GBP eklenmesinin T_m değerinin daha düşük değerlere kaymasına ve aynı zamanda entalpi değerlerinin azalmasına neden olduğu görülmektedir.

4. TARTIŞMA

Epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlar nöbetlerin sıklığını ve derecesini azaltsa da, şu anda mevcut farmakolojik yönmötemlerle epilepsinin kesin bir tedavisinin olmadığı bilinmektedir (Stafstrom ve Carmant, 2015; Rogawski ve Löscher, 2004; McCorry v.d., 2004; Vajda, 2000). Bu nedenle, tedaviye yönelik uygun ve etkin karakterdeki ilaçların geliştirilebilmesi için mevcut antiepileptik ilaçların hücre zarında meydana getirdikleri değişimler hakkında bilgi sağlayan çalışmalara ihtiyaç vardır. Biyolojik membranlar çok karmaşık yapılar olduğundan, yapı itibariyle biyolojik membranlarla hemen hemen aynı özelliklere sahip olan, bileşen sayısını ve konsantrasyonlarını değiştirebildiğimiz model membranlar ilaç-lipit etkileşimlerinin araştırılmasında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Knobloch v.d., 2015; Maghraby v.d., 2008; Chan ve Boxer, 2007). İlaçların biyoaktivitesinin, hücre zarı akışkanlığı, lipit-lipit etkileşimleri ve protein-lipit etkileşimleri gibi hücre zarının fiziksel özelliklerini değiştirme kapasitesi ile ilgili olabileceği rapor edilmiştir (Ulrih v.d., 2010; Tarahovsky v.d., 2008). Bu nedenle, ilaçların etki mekanizmalarının anlaşılabilmesi adına ilaç-hücre zarı etkileşimlerinin değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Çalışmamızda ikinci kuşak bir antiepileptik ilaç olan GBP'nin hücre zarı lipitleri ile moleküler düzeyde etkileşimlerini belirlemeye yönelik bilgiler elde etmek amacıyla, saf DPPC lipozomuna eklenen farklı konsantrasyonlardaki GBP'nin DPPC lipozomu ile etkileşimi FT-IR spektroskopisi ve DSC teknikleri kullanılarak incelendi. GBP'nin model membranlarla etkileşmesini anlamak, incelenecek sistemin gerçek membranlara benzemesi nedeni ile hem gerçek sistemlerdeki etkileşmeleri anlamamız açısından değerli bilgiler verecektir hem de GBP'nin etki mekanizması ile ilgili bilgiler verecektir.

Fosfalipitlerin faz geçişinin hücre zarının yapısı etkileyen önemli bir faktör olduğu ve hücre zarının fonksiyonlarını etkilediği bilinmektedir (Yeagle, 2005). Bundan dolayı çalışmada kullanılan DSC tekniği ile GBP'nin DPPC ana faz geçiş sıcaklığı ve faz geçiş entalpisi üzerindeki etkileri araştırıldı. Şekil 3.8'deki DSC eğrilerinde ve Tablo 3.8'den görüldüğü üzere; saf DPPC'ye GBP'nin artan konsantrasyonları eklendiğinde, ana faz geçiş sıcaklığının belli bir GBP konsantrasyonuna kadar artması ile (%1 ve % 5 mol GBP) düşük sıcaklıklara kaydığı gözlenmiştir. Saf DPPC için ana faz geçiş sıcaklık (T_m) değeri literatüre uygun olarak 41.07 ºC'de tespit edildi

(Yeagle, 2005). Literatüre uygun olarak tespit edilen faz geçiş sıcaklık değeri hazırlanan lipozom örneklerinin saflığının çalışmaya uygun olduğunu herhangi bir kimyasal farklılığa neden olmadığını göstermektedir. Saf DPPC'ye %1 ve %5 mol GBP eklenmesi ana faz geçiş sıcaklığının 40.84 ºC'ye düşmesine neden olurken, sisteme daha yüksek konsantrasyonlarda eklenen GBP'nin (%10 ve %20 mol) ana faz geçiş sıcaklığını 40.91 ºC sıcaklığa kaydırdığı gözlendi. Başka bir deyişle, belli bir konsantrasyona (%10 mol) kadar artırılan GBP faz geçiş sıcaklığını azaltırken, bu değerin üzerindeki konsantrasyonlar için faz geçiş sıcaklıkları yeniden yüksek değerlere kaymaktadır. Bu durum, GBP'nin lipit ana faz geçiş sıcaklığı üzerinde bifazik etkiye sahip olduğu yorumunu getirdi (Yeagle, 2005). Benzer davranış alkol için Rowe tarafından rapor edilmiştir (Rowe, 1985). Ana faz geçiş sıcaklığının üstündeki sıcaklıklar açil zincirlerde gauche izomerlerinin sayıca artmasına bağlı olarak yapısal bir düzensizlik başlamasına neden olurken, esas faz geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda trans izomer içeriği yüksek olan düzenli açil zincirlerden bahsedilebilir (Ergun v.d., 2014; Hianik, 2006; Severcan v.d., 2005; Toyran ve Severcan, 2003; Severcan,1997). Saf DPPC ile kıyaslandığında, farklı konsantrasyonlarda GBP içeren lipit sistemlerinde ana faz geçişinin daha düşük sıcaklıklarda gözlenmesi, lipit sisteminin daha stabil ve kararlı durumdan daha stabil olmayan duruma geçtiği yorumu yapılabilir. Bu durum ayrıca lipitlerin yağ asitleri kısımlarında bulunan bazı trans izomerlerin gauche izomerlerine değişiminin daha düşük sıcaklıklarda meydana gelmesi demektir (Flach v.d., 1993). Söz konusu durum GBP'nin lipit açil zincirleri ile etkileşime girebileceği yorumunu getirdi. Bu yorumu aydınlatmak adına faz geçiş entalpi değerleri değerlendirildi.

Tablo 3.8'de entalpi değerlerinin farklı % GBP içeren lipozomlar için değerlendirildiğinde; GBP konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak entalpi değerlerinin azaldığı görüldü. Bu sonuç çift tabaka içindeki paketlenmelerin değiştiğini göstermektedir (Yeagle, 2005). Entalpi değerlerinde gözlenen azalma, ilacın zar içerisinde kendine yer açabilmek için zara karşı uyguladığı bir kuvvet olduğu anlamına gelebilir. Zar yapısında bulunan lipit bileşenlerinin bir arada tutulmasını sağlayan kuvvet genellikle fiziksel kuvvetlerdir ve bunlar hidrojen bağlanmaları, Van der Waals etkileşimleri ve elektrostatik çekimlerdir (Yeagle, 2005). T_m sıcaklığının ve entalpi değerlerinin azalması, ilacın hidrofobik kısım ile etkileşmesine bağlı olarak hidrofobik açil zincirleri arasındaki Van der Waals etkileşimlerini bozduğunu anlamına gelebilir. Bu da, lipitler arası işbirliğinin

azaldığını, dolayısıyla sistemin daha düzensiz hale geçtiğini göstermektedir (Ergun, 2014; Korkmaz ve Severcan, 2005).

DSC çalışmalarından elde edilen sonuçları detaylandırmak adına FT-IR tekniği ile, fosfalipitin açil zincirleri yani hidrokarbon zincir düzeni (trans veya gauche durumu) hakkında bilgi edinmek adına C-H gerilme bandlarından CH_2 asimetik, CH_3 simetrik ve CH_2 simetrik gerilme band frekanslarının sıcaklığa bağlı değişimleri incelendi. Ayrıca lipit dinamiğinin (akışkanlığın) belirlenebilmesi için de CH_2 asimetrik ve CH_2 simetrik gerilme band genişliklerinin sıcaklığa bağlı değişimleri tespit edildi. GBP'nin lipit sistemlerinin hidrofilik kafa grupları üzerindeki etkisi PO^-_2 asimetrik gerilme bandı ve gliserol iskeleti üzerine etkileri C=O gerilme bandlarının analizi incelenerek araştırıldı.

Şekil 3.1, Tablo 3.1'de CH_2 asimetrik gerilme bandı ve Şekil 3.4, Tablo 3.4'de CH_2 simetrik gerilme bandı frekans değerleri incelendiğinde; jel ve sıvı-kristal fazda yüksek konsantrasyonlarda eklenen (%10 ve %20 mol) GBP'nin DPPC'nin CH_2 asimetrik ve simetrik band frekanslarını yüksek değerlere kaydırması, GBP'nin yüksek konsantrasyonlarda sistemdeki gauche izomerlerinin sayısının artmasına ve sistemin açil zincir (hidrokarbon zincir) düzeninin azalmasına neden olduğu anlamına gelmektedir (Türker v.d., 2014; Lewis ve McElhaney, 2013). Aynı zamanda, CH_2 gerilme band frekansındaki değişimler, lipit moleküllerinin kooperativitesi ile ilgilidir ve lipit zincirleri arasındaki bağlanmaların azalması lipit molekülleri arasındaki Van der Waals bağlanmasını azaltıcı etkisi ile bağdaştırılmaktadır (Bilge v.d., 2014; Güldütuna v.d., 1997). GBP'nin sistemin lipit düzenini azaltması, ajanın etkisini yağ asitleri arasındaki Van der Waals bağları ve hidrofobik interaksiyonları azaltması ile gerçekleştirdiği yorumunu getirebilir. Ayrıca CH_2 asimetrik bandında yüksek konsantrasyonlardaki GBP eklenmesine bağlı olarak görülen faz değişim sıcaklığındaki artış GBP'nin çok tabakalı membranın hidrofobik kısımları ile etkileştiği ve buradaki güçlü Van der Waals bağları arasındaki etkileşimi azaltarak fosfalipit açil zincirlerin farklı sıcaklıklarda faz geçişine sebep olduğu söylenebilir (Ergun v.d. 2014). Elde edilen bu sonuç DSC sonuçlarını destekler niteliktedir.

Hücre zarının akışkanlığı; zar geçirgenliği, hücre bölünmesi ve hücre büyümesini etkiler ve hücre için oldukça önemlidir (Demirel, 2008; Yeagle 2005). Bu bilgiye dayanarak GBP'nin hücre zarı akışkanlığı üzerine olası etkiler hakkında bilgi edinmek amacıyla CH_2 asimetrik ve CH_2 simetrik gerilme titreşiminin band

genişliklerinin sıcaklığa bağlı değerleri incelendiğinde (Şekil 4.2 ve 4.5); band genişliği değerlerinin farklı konsantrasyonlardaki (%1, %5, %10, %20 mol) GBP eklenmesine bağlı olarak hem jel hem de sıvı kristal fazda saf DPPC değerlerine göre artması, lipit açil zincirlerinin hareket özgürlüğünün (dinamiğin) her iki fazda arttığını dolayısı ile GBP'nin membranın akışkanlığının arttığı anlamına gelmektedir (Türker v.d., 2011; Severcan v.d., 2005; Toyran ve Severcan, 2003; Kazancı, 2001). Zar akışkanlığındaki bu artış GBP'nin epileptik nöbetler esnasında gözlenen yüksek aksiyon potansiyeli aktivitesini azaltmak üzere membran akışkanlığı arttırabileceği sonucuna vardırabilir. GBP'nin hücre zarının geçirgenliğini artırmasına bağlı olarak epileptik nöbet oluşturan iyonların hücre içi giriş-çıkışını düzenlemesinin GBP'nin etki mekanizmalarından biri olabileceği yorumu yapılabilir. GBP'nin hücre zarı akışkanlığı üzerindeki olası etkileri onun ağrı kesici olarak kullanılmasının sebeplerinden biri olarak varsayılabilir. Örneğin literatürde etkisini hücre zarının akışkanlığını arttırarak gösteren ağrı kesici ilaçlar rapor edilmiştir (Tsuchiya v.d., 2010).

Fosfalipitin açil zincirlerinin, karbon-hidrojen bandlarından bir diğeri 2870 cm^{-1} bölgesindeki CH_3 simetrik gerilme bandıdır. CH_3 simetrik gerilme bandı lipitlerin yağ asidi uç kısımları hakkında bilgi verir (Türker v.d., 2016; Çakmak v.d., 2006; Severcan v.d., 2004; Severcan v.d., 2000). Dolayısıyla CH_3 simetrik gerilme bandındaki değişimlerin, ilacın hücre zarı lipitleri ile etkileşmesi hakkında da bilgi sağladığı yorumu yapılabilir. Şekil 3.3'de ve Tablo 3.3'de görüldüğü üzere, %10 ve %20 mol GBP'nin jel fazda CH_3 simetrik band frekansında neden olduğu azalma, GBP'nin DPPC çok tabakalı lipozomlarının iç kısmının düzeni üzerinde etkin bir rol oynamadığı, fakat diğer taraftan sıvı-kristal fazda GBP'nin aynı konsantrasyonlarda (%10 ve %20 mol) CH_3 simetrik frekans değerlerinde anlamlı bir şekilde artışa neden olması bu fazda GBP'nin lipit yağ asitlerinin uç kısımlarıyla interaksiyona girdiği anlamına gelebilir (Bilge v.d., 2014; Türker v.d., 2011; Çakmak v.d., 2006; Toyran v.d., 2004). GBP'nin faz geçiş sıcaklığının altındaki ve üstündeki sıcaklıklarda farklı davranması, GBP'nin jel ve sıvı kristal fazda membran sistemi içerisinde farklı davranışları olarak yorumlanabilir. Ayrıca, her iki fazda, daha düşük konsantrasyonlarda (%1 mol ve %5 mol) eklenen GBP'nin bu band frekansında saf DPPC'ye kıyasla belirgin bir etki oluşturmaması, GBP'nin etkisini doza bağlı olarak gerçekleştirmesi anlamına gelebilir (Martin v.d., 2002). GBP'nin zar iç kısımları ile etkileşmesi DSC verilerinden elde edilen T_m ve entalpi değişikliklerine de neden olduğu yorumu yapılabilir (Ergun v.d., 2014).

Lipit sistemlerinin baş grubu gerilme bölgesinin hidrasyon durumu hakkında bilgi edinebilmek için PO^{-}_{2} gerilme titreşim frekanslarının sıcaklığa bağlı değerlerindeki değişimleri incelendi. Baş grupları etrafındaki gliserol iskeleti ile ilaç arasındaki etkileşimler C=O gerilme bandlarının analizi ile elde edildi (Lopez-Garcia v.d., 1993). C=O gerilme ve PO^{-}_{2} asimetrik gerilme band frekansındaki değişimler bu fonksiyonel grupların etrafındaki hidrojen bağlanmaları hakkında bilgi verir (Şahin, 2007; Severcan v.d., 2005; Korkmaz ve Severcan, 2005). Şekil 3.6'da, C=O gerilme frekansının hem jel fazda hem de sıvı kristal fazda DPPC lipozomuna eklenen %5, %10 ve %20 mol konsantrasyondaki GBP'nin frekans değerlerini düşürmesi, GBP'nin DPPC lipozomunun karbonil grupları ile kuvvetli hidrojen bağı yaptığını gösterir (Türker v.d., 2011). PO^{-}_{2} asimetrik gerilme band frekansının sıcaklığa bağlı değerleri incelendiğinde (Şekil 3.7, Tablo 4.7), saf DPPC lipozomlarına artan konsantrasyonlarda GBP (%5, %10 ve %20 mol) eklenmesi ile frekans değerlerinde C=O gerilme band frekansında olduğu gibi azalma gözlendi. Hem jel hem de sıvı kristal fazda artan GBP konsantrasyonları ile PO^{-}_{2} band frekans değerlerinin azalması yine GBP'nin her iki fazda da fosfalipitlerin baş grupları ile kuvvetli hidrojen bağı yaptığını gösterir (Rosa v.d., 2015). Hidrojen bağlanmaları fosfalipitlerin karbonil ve fosfat kafa gruplarının su molekülleri ve oksijen molekülleri arasında olabileceği ve bu etkinin muhtemelen lipitlerin kafa grupların boyutunu etkileyen enzimlerin aktivasyonu sonucu olabileceği belirtilmiştir. Lipit paketlenmelerindeki tüm değişimlerin doğrudan hidrofobik ve hidrofilik kısımlar ile protein etkileşimlerini değiştirebileceği belirtilmiştir (Türker v.d., 2014).

Elde edilen sonuçlar, GBP'nin hücre zarı yapısını değiştirmesi ve dolayısıyla hücre zarının geçirgenliği, polaritesi ve protein düzenini değiştirmesi GBP'nin nöbet oluşum mekanizmalarından biri olabileceği yorumunu getirmektedir. Na^{+} iyon akışındaki değişmeler epilepside olduğu gibi aksiyon potansiyelini değiştirmesi sebebiyle abnormal nöronal aktiviteye ve sinir hücresinde uyarı doğmasına neden olduğu bilinmektedir (Stafstrom, 2007). Yine hücre içi Ca^{2+} miktarı artışı da nörotransmitter salınımı ve sinaptik iletiyi bozmaktadır (Durlach v.d., 1987). Beyin hücre zarında %70-85 oranında bulunan lipitlerden sonra yaygın olarak bulunan (%15-30) ve zarın fonksiyonunu etkileyen bir diğer yapı hücre zarı proteinleridir. Hücre zarı proteinleri de aşırı, anormal ve senkronize sinir hücresi etkinliğinin sonucu olarak epileptik nöbet mekanizmasında yer alırlar (Türker v.d., 2014; Avanzini ve Franceschetti, 2003). Dolayısıyla, GBP'nin lipit-protein etkileşimini değiştirerek zar proteinlerinin yapı ve fonksiyonunu değiştirdiği yorumu yapılabilir.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde; GBP'nin DPPC lipozomlarının karbonil ve fosfat gruplarıyla güçlü hidrojen bağlanmalarına sebep olurken, sistemin açil zincir (hidrokarbon zincir) düzeninin azalmasına neden olduğu gözlendi. Bu sonuçlar, GBP'nin kimyasal yapısına uygun olarak DPPC lipozomlarının baş grubu ve yağ asitleri kısımlarıyla özellikle yüksek konsantrasyonlarda etkileşime girdiği bilgisini verdi.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Birçok ilacın etkinliği direkt olarak ilacın hücre zarı ile etkileşimlerine bağlıdır. Bu yüzden ilaç-hücre zarı etkileşimlerinin anlaşılması, ilaçların farmakolojik performanslarının geliştirilmesi için gerekli olduğu gibi bu etkileşimler ilaç araştırma ve geliştirmelerinde oldukça önemlidir. İlaç molekülleri hücre zarı etkileşimlerine bağlı olarak akışkanlık ve faz geçiş sıcaklığı gibi önemli özelliklerini değiştirebilirler. Bu etkileşimler hücre zarının yalnızca fizikokimyasal özelliklerini değiştirmez aynı zamanda ilacın zar içindeki lokalizasyonunu ve konformasyonunu da etkiler. Bu çalışmada ilaç-hücre zarı etkileşimleri model membran (DPPC lipozomu) kullanılarak FT-IR ve DSC teknikleri kullanılarak incelendi. FT-IR tekniği ile, kullanılan ilacın hücre zarı lipitlerinin kafa grubu ve kuyruk kısımları ile etkileşimleri hakkında bilgi edinilmesi amaçlandı. Katkı maddelerinin model membranlar ile moleküler düzeyde etkileşimlerinin incelenmesinde kullanılan DSC tekniği ile de, lipit çift tabakalarındaki termal değişiklikler incelendi.

Elde edilen FT-IR spektroskopisi verileri ve DSC verileri sayesinde GBP'nin hücre zarı üzerindeki olası etkileri moleküler düzeyde araştırıldı. GBP'nin hücre zarı yapısında en çok bulunan PC lipitleri ile etkileşmesini araştırmakla, hem gerçek zar sistemlerdeki etkileşmeleri hem de GBP'nin etki mekanizması ile ilgili faydalı bilgiler elde edildi. Bununla birlikte GBP'nin zar içerisindeki olası konumu hakkında bilgi edinildi. Fakat ilacın hücre içi konumu ile ilgili daha detaylı bilgi edinebilmek için NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) Spektroskopisi çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yapılan çalışmanın, GBP'nin hastalıkların tedavisindeki rolünü anlamak için yapılacak olan diğer çalışmalara kaynak olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Alexander G. M., Godwin D. W., Metabotropic Glutamate Receptors as a Strategic Target for the Treatment of Epilepsy, *Epilepsy Research*, 2006, **71**(1), 1-22.

Allen T. M., Cullis P. R., Liposomal Drug Delivery Systems: From Concept to Clinical Applications, *Advanced Drug Delivery Review*, 2013, **65**(1), 36-48.

Asconapé J. J., Use of Antiepileptic Drugs in Hepatic and Renal Disease, *Handbook of Clinical Neurology,* 2014, **119**(1), 417-432.

Avanzini G., Franceschetti S., Cellular Biology of Epileptogenesis, *Lancet Neurology*, 2003, **2**(1), 33-42.

Avoli M., Louvel J., Pumain R., Köhling R., Cellular and Molecular mechanisms of Epilepsy in the Human Brain, *Progress in Neurobiology*, 2005, **77**(3), 166-200.

Bell G. S., Neligan A., Sander J. W., An Unknown Quantity- The Worldwide Prevalence of Epilepsy, *Epilepsia*, 2014, **55**(7), 958-962.

Benarroch E. E., GABA-A Receptor Heterogeneity, Function, and Implications for Epilepsy,. *Neurology*, 2007, **68**(8), 612-614.

Bensikaddour H., Snoussi K., Lins L., Bambeke F. V., Tulkens P. M., Brasseur R., Goormaghtigh E., Leclercq M. P. M., Interactions of Ciprofloxacin with DPPC and DPPG: Fluorescence Anisotropy, ATR-FTIR and ^{31}P NMR Spectroscopies and Conformational Analysis, *BBA-Biomembranes*, 2008, **1778**(11), 2535- 2543.

Berg A. T., Berkovic S. F., Brodie M. J., Buchhalter J., Cross J. H., Van Emde Boas W., Engel J., French J., Glauser T. A., Mathern G. W., Moshe S. L., Nordli D., Plouin P., Scheffer I. E., Revised Terminology and Concepts for Organisation of Seizures and Epilepsies, Report of the ILAE Comission on Classification and Terminology, 2005- 2009, *Epilepsia*, 2010, **51**(4), 676-685.

Berlin R. K., Butler P. M., Perloff M. D.,Gabapentin Therapy in Psychiatric Disorders: A Systematic Review, *The Primary Care Companion CNS Disorders*, 2015, **17**(5), 1-27.

Bialer M., Chemical Properties of Antiepileptic Drugs (AEDs), *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, **64**(10), 887-895.

Bilge D., Şahin İ., Kazancı N., Severcan F., Interactions of Tamoxifen with Distearoyl Phosphatidylcholine Multilamellar Vesicles: FTIR and DSC Studies, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, **130**(1), 250-256.

Bradrick T. D., Freire E., Georghiou S., A High-Sensitivity Differential Scanning Calorimetric Study of the Interaction of Melittin with Dipalmitoylphosphatidylcholine Fused Unilamellar Vesicles, *Biochim. Biophys. Acta*., 1989, **982**(1), 94-102.

Bruni J., Gabapentin, *Can. J. Neurol. Sci*., 1996, **4**(2),10-12.

Bultmann T., Vaz W. L. C., Melo E. C. C., Sisk R. B., Thompson T. E., Fluid-Phase Connectivity and Translational Diffusion in an Eutectic, Two-Component, Two-Phase Phosphatidylcholine Bilayer. *Biochemistry*, 1991, **30**(22), 5573–5579.

Campbell I. D., Dwek R. A., Biological Spectroscopy, *Biochemical Education*, 1984, **13**(2), 93.

Castelli F., Caruso S., Uccella N., Biomimetics Transport of Simple Olive Biophenol and Analogues Through Model Biological Membranes by Differential Scanning Calorimetry, *J. Agric. Food Chem*., 2001, **49**(11), 5130-5135.

Castelli F., Caruso S., Uccela N., Biomimesis of Linolenic Acid Transport Through Model Lipidic Membranes by Differential Scanning Calorimetry, *J. Agruc. Food Chem*., 2003, **51**(4), 851-855.

Celesia G. G., Disorders of Membrane Channels or Channelopathies, *Clinical Neurophysiology*, 2001, **112**(1), 2-18.

Cevc G., Marsh D., *Phospholipid Bilayers*, Wiley, New York, 1987.

Chan Y. H. M., Boxer S. G., Model Membrane Systems and Their Applications, *Current Opinion in Chemical Biology*, 2007, **11**(6), 581-587.

Chawla S., Aneja S., Kashyap R., Mallika V., Etiology and Clinical Predictors of Intractable Epilepsy, *Pediatric Neurology,* 2002, **27**(3), 186-191.

Cournia Z., Ullmann G. M., Smith J. C., Differential Effects of Cholesterol, Ergosterol and Lanosterol on a Dipalmitoyl Phosphatidylcholine Membrane: a Molecular Dynamics Simulation Study, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2007, **111**(7), 1786-1801.

Curran M. P., Wagstaff A. J., Gabapentin in Postherpetic Neuralgia, *CNS Drugs*, 2003, **17**(13), 975-982.

Çakmak G., Togan I., Severcan F., 17β-Estradiol Induced Compositional , Structural and Functional Changes in Rainbow trout Liver, Revealed by FT-IR Spectroscopy: A Comparative Study with Nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, 2006, **77**(1), 53-63.

Çakmak G., Zorlu F., Severcan M., Severcan F., Screening of Protective Effect of Amifostine on Radiation-induced Structural and Functional Variations in Rat Liver Microsomal Membranes by FT-IR Spectroscopy, *Anal. Chem.,* 2011, **83**(7), 2438–2444.

Çelikyurt İ., Mutlu O., Gabapentin, a GABA Analogue, Enhances Cognitive Performance in Mice, *Neuroscience Letters*, 2011, **492**(2), 124-128.

Demirel S., *Biyokimya*, Tusem Tıbbi Yayıncılık, Ankara, 2008.

Dibbens L. M., Harkin L. A., Richards M., Hodgson B. L., Clarke A. L., Petrou S., Scheffer I. E., Berkovic S. F., Mulley J. C., The Role of Neuronal GABA(A) Receptor Subunit Mutations in Idiopathic Generalized Epilepsies, *Neuroscience Letters*, 2009, **453**(3), 162-165.

Diem M., *Introduction to Modern Vibrational Spectroscopy*, John Wiley& Sons, USA, 1993.

Dreifuss F. E., The Epilepsies: Clinical Implications of the International Classification, *Epilepsia*, 1990, **31**(3), 3-10.

Elibol-Can B., Şimşek-Özek N., Severcan F., Severcan M., Jakubowska-Dogru E., Vitamin A deficiency induces structural and functional alterations in the molecular constituents of the rat hippocampus, *British Journal of Nutrition*, 2015, **113**(1), 45-55.

Engel J., A Proposed Diagnostic Scheme for People with Epileptic Seizures with Epilepsy: Report of the Ilae Task Force on Classification and Terminology, *Epielpsia,* 2001, **42**(6), 796-803.

Ergun S., Demir P., Uzbay P., Severcan F., Agomelatine Strongly Interacts with Zwitterionic DPPC and Charged DPPG Membranes, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 2014, **1838**(11), 2798-2806.

Fisher R. S., Boas W. V. E., Blume W., Elger C., Genton P., Lee P., Engel J., Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 2005, **46**(4), 470–472.

Fisher R. S., Acevedo C., Arzimanoglou A., Bogacz A., Cross J. H., Elger C. E., Engel J., Forsgren L., French J. A., Glynn M., Hesdorffer D. C., Lee B. I., Mathern G. W., Moshé S. L., Perucca E., Scheffer I. E., Tomson T., Watanabe M., Wiebe S., A Practical Clinical Definition of Epilepsy, Epilepsia, 2014, **55**(4):475–482.

Flach C. R., Branuer J. W., Mendelson R., Calcium Ion Interactions with Insoluble Phospholipid Monolayer Films at the A/W Interface: External Reflection-Absorption Infrared Studies, *Biophysical Journal*, 1993, **65**(5), 1994-2001.

Garip S., Yapıcı E., Özek N. S., Severcan M., Severcan F., Evaluation and Discrimination of Simvasin-induced Structural Alterations in Proteins of Different Rat Tissues by FTIR Spectroscopy and Neural Network Analysis, *Analyst.,* 2010, **135**(12), 3233-3241.

Garrett R., Grisham C., *Biochemistry*, 3. Baskı, 2006.

Giblin K. A., Blumenfeld H., Is Epilepsy a Preventable Disorder? New Evidence From Animal Models, *Neuroscientist*, 2010, **16**(3), 253-275.

Gil T., Ipsen J. H., Mouritsen O. G., Sabra M. C., Sperotto M. M., Zuckermann M. J., Thermal Analysis of Protein Organisation in Lipid Membranes, *Biochim. Biophys. Acta*., **1376**(3), 245-266.

Glauser T., Ben-Menachem E. Bourgeois B., Cnaan A., Guerreiro C., Kalviainen R., Mattson R., French J. A., Perucca E., Tomson T., Updated ILAE Evidence Review of Antiepileptic Drug Efficacy and Effectiveness aas Initial Monotherapy for Epileptic Seizures and Syndromes, *Epilepsia*, 2013, 54**(3),** 551-563.

Gotz E., Feuerstein T. J., Meyer D. K., Effects of Gabapentin on Release of g-aminobutyric acid from Slices of Rat Neostriatum, *Drug Research*, 1993, **43**(6), 636-638.

Graves T. D., Ion channels and epilepsy. *Journal of the Association of Physicians*, 2006, **99**(4), 201-217.

Guerrini R., Casari G., Marini C., The Genetic and Molecular Basis of Epielpsy, *Trends in Molecular Medicine*, 2003, **9**(7), 300-306.

Güldütuna S., Deisinger B., Weiss A., Freisleben H. J., Zimmer G., Sipos P., Leuschner U., Ursodeoxycholate Stabilizes Phospholipid-rich Membranes and Mimics the Effect of Cholesterol: Investigations on Large Unilamellar Vesicles, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA*), 1997, **1326**(2), 265-274.

Hianik T., Structure and Physical Properties of Biomembranes and Model Membranes, *Acta Physica Slovaca*, 2006, **56**(6), 687-805.

Honarmand A., Safavi M., Zare M., Gabapentin: An update of its pharmacological properties and therapeutic use in epilepsy, *Journal of Research in Medical Sciences*, 2011, **16**(8), 1062-1069.

Jefferys J. G. R., Advances in Understanding Basic mechanisms of Epilepsy and Seizures, *Seizure*, 2010, **19**(10), 638-646.

Jensen M., Nerdal W., Anticancer Cisplatin Interactions with Bilayers of Total Lipid Extract from Pig Braib: A13C, 31P and 15N Solid-State NMR Study*, Eur.J. Pharm. Sci*., 2008, **34**(2-3), 140-148.

Johannessen S., Tomson T., Pharmacokinetic Variability of Newer Antiepileptic Drugs, *Clinical Pharmacokinetics*, 2006, **45**(11), 1061-1075.

Karataş G., Tamam L., Özpoyraz N., Anksiyete Bozukluklarında Gabapentin Tedavisi, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2003, **13**(1), 37-42.

Kazancı N., Toyran N., Haris P. L., Severcan F., Vitamin D2 at High and Low Concentrations Exert Opposing Effects on Molecular Order and Dynamics of Dipalmitoyl Phosphatidylcholine Membranes, 2001, *Spectroscopy*, **15**(2), 47-55.

Kepczynski M., Nawalany K., Jachimska B., Romek M., Nowakowska M., Pegylated Tetraarylporphyrin Entrapped in Liposomal Membranes: A Possible Novel Drug-Carrier System for Photodynamic Therapy, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2006, **49**(1), 22-30.

Khazipov R., Valeeva G., Khalilov I., Depolarizing GABA and Developmental Epilepsies, *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2014, **21**(2), 83-91.

Khadka N. K., Cheng X., Sing Ho, C., Katsaras J., Pan J., Interactions of the Anticancer Drug Tamoxifen with Lipid Membranes, *Biophysical Journal*, 2015, **108**(10), 2492- 2501.

Knobloch J., Suhendro D. K., Zieleniecki J. L., Shapter J. G., Köper, I., Membrane-Drug Interactions Studied Using Model Membrane Systems, *Saudi Journal of Biological Sciences,* 2015, **22**(6), 714-718.

Korkmaz F., Severcan F., Effect of Progesterone on DPPC Membrane: Evidence for Lateral Phase Separation and Inverse Action in Lipid Dynamics, *Archieves of Biochemistry and Biophysics*, 2005, **440**(2), 141-147.

Krystal J. H., Sanacora G., Blumberg H., Anand A., Charney D. S., Marek G., Epperson C. N., Goddard A., Mason G. F., Glutamate and GABA Systems as Targets for Novel Antidepressant and Mood-stabilizing Treatments, *Molecular Psychiatry*, 2002, **7**(1), 71-80.

Kukkar A., Bali A., Singh N., Jaggi A. S., Implications and Mechanism of Action of Gabapentin in Neuropathic Pain, *Arch. Pharm. Res*., 2013, **36**(3), 237-251.

Kwan P., Sills G.J., Brodie M. J., The Mechanisms of Action of Commonly Used Antiepileptic Drugs, *Pharmacology and Therapeutics*, 2001, **90**(1), 21-34.

Kwan P, Sander J. W., The Natural History of Epilepsy: An Epidemiological View, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatr*y, 2004, **75**(10), 1376-1381.

LaRoche S. M., Helmers S. L., The New Antiepileptic Drugs Clinical Applications, *The Journal of the American Medical Association (JAMA)*, 2004, **291**(5), 605-614.

Lason W., Chlebicka M., Rejdak K., Research Advances in Basic Mechanisms of Seizures and Antiepileptic Drug Action, *Pharmacological Reports*, 2013, **65**(4), 787-801.

Leach J. P., Sills G. J., Butler E., Forrest G., Thompson G. G., Brodie M. J., Neurochemical Actions of Gabapentin in Mouse Brain, *Epilepsy Research*, 1997, **27**(3), 175-180.

Leong C., Mamdani M. M., Gomes T., Juurlink D. N., Macdonald E. M., Yogendran M., Antiepileptic Use for Epilepsy and Nonepilepsy Disorders: A Population-Based Study (1998-2013), *Neurology*, 2016, **86**(10), 939-946.

Lewis R. N., McElhaney R. N., Membrane Lipid Phase Transitions and Phase Organisation Studied by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, *Biochim. Biophys Acta*., 2013, **1828**(10), 2347-2358.

Liubinas S. V., O'Brien T. J., Moffat B. M., Drummond K. J., Morokoff A. P., Kaye A. H., Tumour associated epilepsy and glutamate excitotoxicity in patients with gliomas, *Journal of Clinical Neuroscience*, 2014, **21**(6), 899-908.

Lopez-Garcia F., Villalain J., Gomez-Fernandez J. C., Infrared Spectroscopic Studies of the Interaction of Diacylglycerols with Phosphatidylserine in the Presence of Calcium, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1993, **1169**(3), 264-272.

Macdonald R. L., Kang J. Q., Molecular Pathology of Genetic Epilepsies Associated with $GABA_A$ Receptor Subunit Mutations, *Epielpsy Curr.*, 2009, **9**(1), 18-23.

Maghraby G. M., Barry B. W., Williams A. C., Liposomes and Skin: From Drug Delivery to Model Membranes, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2008, **34**(4-5), 203-222.

Magiorkinis E., Sidiropoulou K., Diamantis A., Hallmarks in the History of Epilepsy: From Antiquity Till the Twentieth Century, *Epilepsy Behav*., 2010, **17**(1), 103-108.

Magiorkinis E., Diamantis A., Sidiropoulou K., Panteliadis C., Highights in the History of Epilepsy: The Last 200 Years, *Epilepsy Research and Treatment*, 2014, **2014**(1), 1-13.

Majkowski J., Epilepsy Treatment and Nutritional Intervention, Faik Atroshi, *Pharmacology and Nutritional Intervention in the Treatment of Disease*, Intech, Rijeka, 1-42, 2014.

Mak W. Y., Tan S. S., Wong J. W., Chin S. K., Lim A. B., Soon E. P., Looi I., Yuen K. H., Pharmacokinetic Comparison of Two Gabapentin Formulations in Healthy Volunteers, *The Journal of Bioequivalence & Bioavailability*, 2016, **8**(2), 55-58.

Mannock D. A., Lee M. Y. T., Lewis R. N. A. H., McElhaney R. N., Comparative Calorimetric and Spectroscopic Studies of the Effects of Cholesterol and Epicholesterol on the Thermotropic Phase Behaviour of Dipalmitoylphosphatidylcholine Bilayer Membranes, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 2008, **1778**(10), 2191-2202.

Mannock D. A., Lewis R. N. A. H., McElhaney R. N., A Calorimetric and Spectroscopic Comparison of the Effects of Ergosterol and Cholesterol on the Thermotropic Phase Behavior and Organization of Dipalmitoylphosphatidylcholine Bilayer Membranes, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 2010, **1798**(3), 376-388.

Martin D. J., McClelland D., Herd M. B., Sutton K. G., Hall M. D., Lee K., Pinnock P. D., Scott R. H., Gabapentin-mediated Inhibition of Voltage-activated Ca^{2+} Channel Currents in Cultured Sensory Neurones is Dependent on Culture Conditions and Channel Subunit Expression, *Neuropharmacology*, 2002, **42**(3), 353-366.

Matsuki H., Goto M., Tada K., Tamai N., Thermotropic and Barotropic Phase Behaviour of Phosphatidylcholine Bilayers, *International Journal of Molecular Sciences,* 2013, **14**(2), 2282-2302.

McCorry D., Chadwick D., Marson A., Current Drug Treatment of Epilepsy in Adults, *The Lancet Neurology*, 2004, **3**(12), 729-735.

Medina-Ceja L., Pardo-Peña K., Morales-Villagrán A., Ortega-Ibarra ., López-Pérez S., Increase in the Extracellular Glutamate Level During Seizures and Electrical Stimulation Determined Using a High Temporal Resolution Technique, *BMC Neuroscience*, 2015, **16**(11), 1-11.

Meldrum B. S., Rogawski M. A., Molecular Targets for Antiepileptic Drug Development, *Neurotherapeutics*, 2007, **4**(1), 18-61.

Mignolet A., Derenne A., Smolina M., Wood B. R., Goormaghtigh E., FTIR spectral signature of anticancer drugs. Can drug mode of action be identified?, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2016, **1864**(1), 85-101.

Moldrich R. X., Chapman A. G., Sarro G., Meldrum B. S., Glutamate Metabotropic Receptors as Targets for Drug Therapy in Epilepsy, *European Journal of Pharmacology*, 2003, **476**(1-2), 3-16.

Moore A., Wiffen P., Kalso E., Antiepileptic Drugs for Neuropathic Pain and Fibromyalgia, *JAMA Clinical Evidence Synopsis*, 2014, **312**(2), 182-183.

Morris G. L., Gabapentin, *Epilepsia*, 1999, **40**(5), 63-70.

Moshe S. L., Perucca E., Ryvlin P., Tomson T., Epilepsy: new advances, *The Lancet*, 2015, **385** (9971), 884-898.

Mouritsen O. G., Biltonen R. L., Protein-Lipid Interactions and Membrane Heterogenity, *New Comprehensive Biochemistry*, 1993, **25**(1), 1-39.

Newton H. B., Maschio M., *Epilepsy and Brain Tumors*, 1. Baskı, Elsevier, New York, 2015.

Pandolfo M., Genetics of Epilepsy, *Semin. Neurol.*, 2011, **31**(5), 506-518.

Patsalos P. N., Drug Interactions with the Newer Antiepileptic Drugs (AEDs)—Part 1: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Interactions Between AEDs , *Clinical Pharmacokinetics*, 2013, **52**(11), 927–966.

Penuela S., Gehi R., Laird D. W., The biochemistry and function of pannexin channels, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA),* 2013, **1828**(1), 15–22.

Piro E., Martines M., Ballacchino A., Buse M. ,Graziano F., Salzano E., Consiglio V., Antona V., Corsello G., Copy Number Variations in the Etiology of Epilepsy, *Acta Medica Mediterranea*, 2013, **29**(317), 337-342.

Potschka H., Pharmacological Treatment Strategies: Mechanisms of Antiepileptic Drugs, *Epileptology,* 2013, **1**(1), 31–37.

Rakhade S. N., Jensen F. E., Epileptogenesis in the Immune Brain: Emerging Mechanisms, *Nat. Rev. Neurol*., 2009, **5**(7), 380-391.

Ransom C. B., Blumenfeld H., Acquired Epilepsy: Cellular and Molecular Mechanisms, Waxman S.G., *Molecular Neurology*, Elsevier Academic Press, Burlington, 347-370, 2007.

Ribeiro M. M., Melo M. N., Serrano I. D., Santos N. C., Castanho M. A., Drug-Lipid Interaction Evaluation: Why a 19th Century Solution?, Trends Pharmacol Sci., 2010, **31**(10), 449-454.

Rogawski M. A., Löscher M.,The Neurobiology of Antiepileptic Drugs, *Nature Reviews Neuroscience,* 2004, **5**(7), 553-564.

Rogawski M. A., Löscher M., Rho J.M., Mechanisms of Action of Antiseizure Drugs and the Ketogenic Diet, Perspectives in Medicine, 2016, **6**(5),1-28.

Rosa A. S., Cutro A. C., Frias M. A., Disalvo E. A., Interaction of Phenylalanine with DPPC Model Membranes: More Than a Hydrophobic Interaction, J*ournal of Physical Chemistry,* 2015, **11**9(52), 15844−15847.

Rose M. A., Kam P. C. A., Gabapentin: Pharmacology and Its Use in Pain Management, *Anaesthesia*, 2002, **57**(5), 451-462.

Rowe E. S., Thermodynamic Reversibility of Phase Transitions. Specific Effects of Alcohols on Phosphatidylcholines, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1985, **813**(2), 321-330.

Rowley N. M., Madsen K. K., Schousboe A., White H. S., Glutamate and GABA Synthesis, Release, Transport and Metabolism as Targets For Seizure Control, *Neurochemistry International*, 2012, **61**(4), 546-558.

Sade A., Banerjee S., Severcan F., Concentration-dependent Differing Actions of the Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug, Celecoxib, in Distearoyl Phosphatidylcholine Multilamellar Vesicles, *Journal of Liposome Research*, 2010, **20**(2), 168-177.

Sánchez Carpintero A. R., Sanmartí Vilaplana F.X., Serratosa Fernández J.M., Genetic Causes of Epilepsy, *The Neurologist*, 2007, **6**(1), 47-51.

Severcan F., Özek N. Ş.,Gök S., Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Imaging in Cancer Diagnosis and Characterization, Biophysical Journal, 2015, **108**(2), 479-480.

Severcan F., Vitamin E Decreases the Order of the Phospholipid Model Membranes in the Gel Phase: An FT-IR Study, *Bioscience Reports*, 1997, **17**(2), 231-235.

Severcan F., Şahin İ., Kazancı N., Melatonin Strongly Interacts with Zwitterionic Model Membranes- Evidence from Fourier Transform İnfrared Spectroscopy and Differential Scanning Calorimetry, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 2005, **1668**(2), 215-222.

Severcan F., Toyran N., Kaptan N., Turan B., Fourier Transform Infrared Study of the Effect of Diabetes on Rat Liver and Heart Tissues in the C-H Region, *Talanta*, 2000, **53**(1), 55-59.

Severcan M., Severcan F., Haris I. P., Using Artificially Generated Spectral Data to Improve Protein Secondary Structure Prediction from FT-IR Spectra of Proteins, *Analytical Biochemistry*, 2004, **332**(2), 238-244.

Severcan F., Gorgulu G., Gorgulu S. T., Guray T., Rapid Monitoring of Diabetes-induced Lipid Peroxidation by Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Evidence from Rat Liver Microsomal Membranes, *Analytical Biochemistry*, 2005, **339**(1), 36-40.

Severcan F., Cannistraro S., A Spin Label ESR and Saturation Transfer ESR Study of a Tocopherol Containing Model Membranes, *Chemistry and Physics of Lipids*, 1990, **53**(1), 17-26.

Shetty A. K., Upadhya D., GABA-ergic Cell Therapy for Epilepsy: Advances, Limitations and Challenges, *Neuroscience & Biobehaviorial Reviews*, 2016, ***62***(1), 35-47.

Shneker B., Fountain N., Epilepsy, *Disease a Month*, 2003, **49**(7), 426-478.

Shorvon S. D., The Etiologic Classification of Epilepsy, *Epilepsia*, 2011, **52**(6), 1052-1057.

Simons K., Vaz W. L., Model Systems, Lipid Rafts and Cell Membranes, *Annu. Rev. Biophys. Biomol.Struct.,* 2004, **33**(1), 269-295.

Skoog, D. A., West D. M., Holler F. J.,Crouch S. R., *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 8. Baskı, Bilim Yayınevi, Ankara, 2006.

Smith B., *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*, CRC Press, Florida, USA, 1999.

Sorensen A. T., Kokaia M., Novel Approaches to Epilepsy Treatment, *Epilepsia*, 2013, **54**(1), 1-10.

Stafstrom C. E., Carmant L., Seizures and Epilepsy: An Overview for Neuroscientists, *Cold Spring Harb Perspect Med.,* 2015, **5**(6)**,** 1-18.

Stafstrom C. E., Persistent Sodium Current and Its Role in Epilepsy, *Epilepsy Currents*, 2007, **7**(1), 15-22.

Stafstrom C. E., Epilepsy: A Review of Selected Clinical Syndromes and Advances in Basic Science, *J Cereb Blood Flow Metab.*, 2006, **26**(8), 983-1004.

Staley K., Molecular Mechanisms of Epilepsy, *Nature Neuroscience*, 2015, **18**(3), 367-372.

Swaiman K. F., Ashwal S., Ferriero D. M., Schor N. F., *Swaiman's Pediatric Neurology Principles and Practice*, 5. Baskı, Elsevier, New York, 2005.

Şahin İ., Severcan F., Kazancı N., Melatonin Induces Opposite Effects on Order and Dynamics of Anionic DPPG model membranes, *Journal of Molecular Structure*, 2007, **834-836**,195-201.

Tarahovsky Y. S., Muzafarov E. N., Kim Y. A., Rafts Making and Rafts Braking: How Plant Flavonoids May Control Membrane Heterogeneity, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2008, **314**(1-2), 65-71.

Taylor C. P., Vartanian M. G., Andruszkiewicz R., Silverman R. B., 3-Alkyl GABA and 3-alkylglutamic acid Analogues: Two New Classes of Anticonvulsant Agents, Epilepsy Research, 1992, **11**(2), 103-110.

Toyran N., Severcan F., Competitive Effect of Vitamin D2 and Ca^{2+} on Phospholipid Model Membranes: An FT-IR Study, *Chemistry and Physics of Lipits*, 2003, **123**(1), 165-176.

Toyran N., Zorlu F., Donmez G., Oge K., Severcan F., Chronic Hypoperfusion Alters the Content and Structure of Proteins and Lipids of Rat Brain Homogenates: A Fourier Transform Infrared Spectroscopic Study, *European Biophysics Journal*, 2004, **33**(6), 549-554.

Toyran N., Severcan F., Interaction Between Vitamin D2 and Magnesium in Liposomes: Differential Scanning Calorimetry and FT-IR Spectroscopy Studies, *Journal of Molecular Structure*, 2007, **839**(1-3), 19-27.

Toyran N., Severcan F., Severcan M., Turan B., Investigation of Diabetes-induced Effect on Apex of Rat Heart Myocardium by Using Cluster Analysis and Neural Network Approach: An FT-IR Study, *Spectroscopy- An International Journal*, 2007, **21**(5-6), 269-278.

Treiman D. M., GABAergic Mechanisms in Epilepsy, *Epilepsia*, 2001, **42**(3), 8-12.

Tsuchiya H., Ueno T., Mizogami M., Takakura K., Local Anesthetics Structure-dependently Interact with Anionic Phospholipid Membranes to Modify the Fluidity, *Chemico-Biological Interactions*, 2010, **183**(1), 19-24.

Türker S., Ilbay G., Severcan M., Severcan F., Investigation of Compositional, Structural, and Dynamical Changes of Pentylenetetrazol-induced Seizures on a Rat Brain by FT-IR Spectroscopy, *Analytical Chemistry*, 2014, **86**(3), 1395-1403.

Türker-Kaya S., Mutlu O., Komsuoğlu-Çelikyurt İ., Akar F., Ulak G., Tianeptine, Olanzapine and Fluoxetine Show Similar Restoring Effects on Stress Induced Molecular Changes in Mice Brain: An FT-IR Study, Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2016, **161**(1), 17-185.

Türker S., Wassall S., Stillwell W., Severcan F., Convulant Agent Pentylenetetrazol Does Not Alter the Structural and Dynamical Properties of Dipalmitoylphosphatidylcholine Model Membranes, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2011, **54**(2), 379-386.

Ulrih N. P., Ota A., Sentjurc M., Kure S., Abram V., Flavonoids and Cell Membrane Fluidity, *Food Chemistry,* 2010, **121**(1), 78-84.

Vajda F. J. E., New Antiepileptic Drugs, *Journal of Clinical Neuroscience*, 2000, **7**(2), 88-101.

Vezzani A., Aronica E., Mazarati A., Pittman Q. J., Epilepsy and Brain Inflammation, *Exp Neurol*., 2013, **244**(1), 11-21.

Wallace R., Mutations in GABA-Receptor Genes Cause Human Epilepsy, *Lancet Neurology*, 2002, **1**(4), 212.

World Health Organization, *Atlas: Epilepsy Care in the World*, 2005.

World Health Organization- *Epilepsy in the Who European Region: Fostering Epilepsy Care in Europe*, 2008.

World Health Organization- *Epilepsy in the Who Eastern Mediterranean Region: Bridging the Gap*, 2010.

World Health Organization, *Epilepsy Fact Sheet*, 2016.

Yeagle P. L., *The Structure of Biological Membranes*, 2. Baskı, CRC Press, Florida, USA, 2005.

Zhou C., Sun H., Klein P. M., Jensen F. E., Neonatal seizures alter NMDA glutamate receptor GluN2A and 3A subunit expression and function in hippocampal CA1 neurons, *Front Cell Neuroscience,* 2015, **9**(362), 1-11.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Alın S., Türker S., Antiepileptik İlaç Olan Gabapentin'in Fosfatidilkolin Lipitleri ile Etkileşmelerinin İncelenmesİ, *51. Ulusal Nöroloji Kongresi*, Antalya, 27 Kasım-3 Aralık 2015.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Kocaeli'de doğdu. İlköğrenimini Kocaeli'de Petkim İlköğretim Okulu ve ortaöğrenimini Kocaeli'de Kocaeli Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2008 yılında girdiği Abant İzzet Baysal Üniversitesi İngilizce Biyoloji (2. Öğrenim) Bölümü'nden 2010 yılında kendi isteği ile ayrıldı. Yine 2010 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi İngilizce Biyoloji (1. Öğrenim) Bölümü'nde öğrenimine devam etti ve Ocak-2013 tarihinde Biyolog olarak mezun oldu. 2013-2016 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Öğrenimini tamamladı.