



**ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARDAN KARBAMAZEPİNİN OMURGASIZ
TATLI SU TÜRÜ *ASTACUS LEPTODACTYLUS* ÜZERİNE TOKSİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Başak BÜKİN

**DOKTORA TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Başak BÜKİN

19/06 /2023

ANTİEPİLEPTİK İLAÇLARDAN KARBAMAZEPİNİN OMURGASIZ TATLI SU TÜRÜ *ASTACUS LEPTODACTYLUS* ÜZERİNE TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Başak BÜKİN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2023

ÖZET

Çeşitli nöropsikiyatrik bozuklukları tedavisi için trisiklik antikonvülsan karbamazepin kullanımının artışı, toprak ve su sağlığını doğrudan etkilemekte, kalıcılığı ve adsorpsiyon özellikleri tatlı su kaynakları ve sucul türler için risk oluşturmaktadır. Bu çalışmanın amacı, subletal karbamazepinin sucul omurgasız tatlı su kereviti *Astacus leptodactylus Eschscholtz*, 1823 üzerindeki toksik etkilerini incelemektir. Akut toksisite testi sonucunda 96 saatlik LC₅₀ değeri 125,5 mg/L (73,78-193,95 mg/L) olarak belirlenmiştir. Kerevitler, laboratuvar koşullarında kontrol, solvent kontrol (DMSO, dimetil sülfoksit) ve 48 saat, 7 ve 14 gün süresince 1/10 (12,5 mg/L) ve 1/100 (1,25 mg/L) karbamazepin uygulanan gruplar olmak üzere toplam dört gruba ayrılmıştır. Karbamazepin gruplarında toplam hemosit sayıları (THS), özellikle 48 saat ve 7 günlük maruziyetten sonra, kontrol gruplarına kıyasla istatistik önemli ölçüde azalmıştır. Hemolenf total antioksidan durumu (TAS) ve total oksidatif stresi (TOS), karbamazepine maruz kaldıktan sonra özellikle 7. ve 14. günlerde kontrollere kıyasla her ikisi de istatistik olarak önemli ölçüde artmıştır ($p<0,05$). Biyokimyasal analizler, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPX) aktivitelerinin her iki konsantrasyonda da solungaçlarda önemli ölçüde arttığını, ancak hepatopankreas dokusunda kontrollere göre azaldığını ($p<0,05$) göstermiş, kas dokularında ise gruplar arasında farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Katalaz (CAT) aktiviteleri 12,5 mg/mL konsantrasyonunda solungaç, kas, hepatopankreas dokularında her iki konsantrasyonda da artış göstermiştir ($p<0,05$). Malondialdehit (MDA) miktarı her iki konsantrasyonda solungaç ve hepatopankreas dokularında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,05$), ancak gruplar arasında kas dokusunda değişiklik olmamıştır ($p>0,05$). Sonuç olarak, karbamazepinin subletal konsantrasyonları, oksidatif stresi artırarak ve antioksidan mekanizmaları uyatarak kerevitler üzerinde sistemik ve doku düzeyinde toksik etkiler göstermiştir. Bulgularımız ayrıca tatlı su ekosistemlerinin sucul türlerinde karbamazepinin erken toksikolojik etkilerinin daha iyi anlaşılmasını desteklemektedir.

Bilim Kodu : 120704
Anahtar Kelimeler : Karbamazepin, hemolenf, oksidatif stres, histopatoloji, tatlı su ıstakozu
Sayfa Adedi : 115
Danışman : Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL

DETERMINATION OF THE TOXIC EFFECTS OF ANTIEPILEPTIC DRUG
CARBAMAZEPINE ON INVERTEBRATE FRESHWATER SPECIES *ASTACUS*
LEPTODACTYLUS

Başak BÜKİN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2023

ABSTRACT

Increasing prescription of the tricyclic anticonvulsant carbamazepine to treat a variety of neuropsychiatric disorders directly affects soil and water health, its persistence and adsorption properties are likely to pose risks to freshwater resources and aquatic species. The aim of this study was to examine the toxic effects of sublethal carbamazepine on the aquatic invertebrate organism, narrow-clawed crayfish *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. Acute toxicity test showed LC₅₀ value as 125,5 mg/L (73,78-193,95 mg/L). The crayfishes were divided into four groups as control, solvent control (DMSO, dimethyl sulphoxide), and 1/10 (12,5 mg/L) and 1/100 (1.25 mg/L) of 96 h carbamazepine groups and exposed for 48 hours, 7 and 14 days under laboratory conditions. Total hemocyte counts (THCs) significantly decreased in carbamazepine groups, especially after 48 hour and 7 day exposure compared to control groups. The total antioxidant status (TAS) and total oxidative stress (TOS) of hemolymph significantly increased after exposure to both carbamazepine concentrations, especially for 7 and 14 days compared to controls ($p<0,05$). Biochemical analysis showed that the superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX) activities significantly increased at both concentration in gills but decreased in hepatopancreas tissue compared to controls ($p<0,05$) whereas they did not vary in muscle tissues among groups ($p>0,05$). Catalase (CAT) activities increased in gills and muscle tissue at 12.5 mg/mL concentration, in hepatopancreas tissue at both concentrations ($p<0,05$). Malondialdehyde (MDA) amount was significantly higher in gills and hepatopancreas , of crayfish exposed to both concentrations than that of control groups ($p<0,05$) but did not alter in muscle tissue among groups ($p>0,05$). As a result, the sublethal concentrations of carbamazepine have toxic effects on crayfish at systemic and tissue levels via increasing oxidative stress and inducing anti-oxidant mechanisms. Our findings also support better understanding of early toxicological effects of carbamazepine in the aquatic species of freshwater ecosystems.

Science Code : 120740
Key Words : Carbamazepine, haemolymph, oxidative stress, histopathology, crayfish
Page Number : 115
Supervisor : Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL

TEŞEKKÜR

Sayın Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL'ın bilgi birikimi, tutkusu ve kararlılığı, tez çalışmamın başarılı bir şekilde tamamlanmasında önemli bir rol oynamıştır. Kendisinin önerileri ve yönlendirmeleri sayesinde, araştırma sürecinde doğru bir yolu takip etmek ve sonuçları elde etmek konusunda büyük bir güven duydum. Ayrıca, sabrı ve zamanını benimle paylaşmaktaki cömertliği için minnettarım. Sadece bir akademik danışman değil, aynı zamanda bana kılavuzluk eden, motive eden ve destekleyen bir dost olduğu için kendisine minnettarım.

Tez izleme komitesinde verdiği destekler için Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL ve Doç. Dr. Meltem YILMAZ'a, ve tezin biyokimya kısmına yaptığı büyük katkılardan dolayı Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi analizlerimde ve çalışmalarımda bana destek olan Prof. Dr. Aylin SEPİCİ DİNÇEL ve Uzman Biyolog Gülsüm KOÇAK'a ve Öğretim Üyesi Dr. Pınar ARSLAN'a saygı ve minnetlerimi sunarım. Doktora çalışmam boyunca birlikte çalıştığım tüm lisanüstü öğrenci arkadaşlarıma içtenlikle teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, kıymetli annem N. Kıymet BÜKİN'e ve büyük bir özlemle andığım sevgili babam M. Hilmi BÜKİN'e bir anma niteliği taşımaktadır. Rahmetli babam, hayatım boyunca beni desteklemiş ve bana ilham olmuştur. Bu tezi sevgili babama adamak isterim.

Hayatımın en değerlileri sevgili çocuklarım; Nilda ve Beyza TANALP; sizinle birlikte büyümek, öğrenmek ve başarıları paylaşmak çok güzel bir duygu, sabrınız ve desteğiniz için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Farmasötiklerin Çevre Toksikolojisindeki Yeri ve Önemi	3
2.1.1. Farmasötiklerin tatlı su kaynaklarına etkileri	4
2.2. Antiepileptik İlaçlar.....	6
2.2.1. Antiepileptik ilaçların sınıflandırılması.....	9
2.2.2. Antiepileptik ilaçların temel etki mekanizmaları	9
2.2.3. Antiepileptik ilaçların kullanım alanları.....	17
2.2.4. Antiepileptik ilaçların yan etkileri.....	19
2.2.5. Antiepileptik ilaçların etkileşimleri	24
2.3. Karbamazepin.....	28
2.3.1. Karbamazepinin fiziksel ve kimyasal özellikleri	28
2.3.2. Karbamazepinin etki mekanizması	30
2.3.3. Karbamazepinin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri	30
2.3.4. Karbamazepinin kullanım alanları	31
2.3.5. Karbamazepinin kontrendikasyonları	31

	Sayfa
2.3.6. Karbamazepinin ilaç etkileşimleri.....	32
2.3.7. Karbamazepinin yan etkileri	33
2.3.8. Karbamazepinin çevresel kalıcılığı, konsantrasyonu ve dağılımı.....	33
2.4. Omurgasız Tatlı Su Türleri	37
2.4.1. Tatlı su istakozları (<i>Astacus (Pontastacus) leptodactylus</i>).....	37
3. MATERYAL VE YÖNTEM	47
3.1. Materyal	47
3.1.1. Deney yeri	47
3.1.2. Deney organizması.....	47
3.1.3. Deney akvaryumları ve kullanılan su materyali.....	47
3.1.4. Deney kimyasalı	48
3.2. Deney Yöntemi	48
3.2.1. Deneyin gerçekleştirilmesi.....	48
3.2.2. Hemolenf analizleri.....	49
3.3.3. Biyokimyasal analiz yöntemleri	50
3.3.4. Doku protein tayini.....	52
3.3. İstatistiksel analizler.....	53
4. BULGULAR	55
4.1. Akut Toksisite Testi	55
4.2. Hemolenfe İlişkin Bulgular.....	55
4.2.1. Toplam hemosit sayısı (THS).....	55
4.2.2. Hemolenf TAS (total antioksidan durumu) düzeyleri	57
4.2.3. Hemolenf TOS (total oksidatif stres) düzeyleri.....	58
4.3. Tatlı Su İstakozu Dokularına İlişkin Biyokimyasal Bulgular	59
4.3.1. SOD (Süperoksit Dismutaz) değerleri	60

	Sayfa
4.3.2. Glutasyon peroksidaz (GPx) değerleri	63
4.3.3. Katalaz aktivitesi tayini (CAT) değerleri	67
4.3.3. Malondialdehit (MDA) değerleri	71
5. TARTIŞMA	75
5.1. Amacın Değerlendirilmesi	75
5.2. Akut Toksisite	75
5.3. Tatlı su Istakozlarında Hemolenf Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	76
5.3.1. Toplam hemosit sayısı	76
5.3.2. Total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidatif stres seviyesi (TOS)	77
5.4. Tatlı su Istakozlarında Biyokimya Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	79
5.4.1. Superoksit dismutaz (SOD) aktivitesine ilişkin bulguların değerlendirilmesi	80
5.4.2. Glutaton peroksidaz (GPx) aktivitesine ilişkin bulguların değerlendirilmesi	81
5.4.3. Katalaz (CAT) Aktivitesine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi	82
5.4.4. Malondialdehit (MDA) Düzeyine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi ..	84
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	87
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	115

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2. 1. Kimyasal yapılarına göre antiepileptik ilaçlar	9
Çizelge 4.1. Karbamazepinin 96 saatlik tahmini letal konsantrasyonları (LC) ve güven aralıkları	55
Çizelge 4.2. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hemolenfinde toplam hemosit sayıları (THS)	56
Çizelge 4.3. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hemolenfinde toplam antioksidan durumu (TAS) düzeyi	57
Çizelge 4.4. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 21 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hemolenfinde total oksidatif stres (TOS) düzeyleri	59
Çizelge 4.5. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri	60
Çizelge 4.6. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda SOD enzim aktivitesi	62
Çizelge 4.7. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda SOD enzim aktivitesi	63
Çizelge 4.8. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri	64
Çizelge 4.9. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda GPx enzim aktivitesi	65
Çizelge 4.10. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda GPx enzim aktivitesi	66
Çizelge 4.11. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri	68

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.12. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda CAT enzim aktivitesi	69
Çizelge 4.13. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda CAT enzim aktivitesi	70
Çizelge 4.14. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri	72
Çizelge 4.15. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda MDA enzim aktivitesi	73
Çizelge 4.16. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda MDA enzim aktivitesi	74

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalının topografisinin şematik gösterimi (a) Ana kanalı oluşturan $\alpha 1$ alt birimini ve yardımcı δ alt birimleri ayrılmaz membran proteinleridir, β alt birimi hücre içindedir ve doğrudan $\alpha 1$ 'e bağlanırken $\alpha 2$ alt biriminin büyük ölçüde hücre dışı olduğu düşünülür. (b) Kalsiyum kanalı $\alpha 1$ alt biriminin yapısını dört domain yapısı (Cain ve diğerleri, 2012).	12
Şekil 2.2. (a) Bir GABAA reseptörünün şematik gösterimi. Hücre dışı alan (ECD) ve transmembran alanı (TMD), çeşitli bağlanma bölgeleri içerir. Bu bağlanma bölgeleri, bir ana (+) alt birim ve tamamlayıcı (-) bir alt birim tarafından oluşturulur. Hücre içi alan (ICD) şekli, uzak homologlara dayanan tamamen şematik bir görüntüdür. (b) Kanonik bir $\alpha\beta\gamma$ reseptörünün ECD'si (üstte) ve TMD'sinde (altta) şematik düzlemleri, 1 no'lu bölge, yüksek afiniteli benzodiazepin bölgesi, ECD- $\alpha+/\gamma-$ arayüzündedir; Pirazolokinolinon ligandlarının modülatör etkilerini veren 2 no'lu bölge, ECD- $\alpha+/\beta-$ arayüzündedir. 3 no'lu bölge, etomidat bölgesidir ve GABA bağlanma bölgelerinin altındaki TMD- $\beta+/\alpha-$ arayüzlerin iki yerinde bulunur (Iorio ve diğerleri, 2020).....	15
Şekil 2.3. Karbamazepin Yapısal Formülü	29
Şekil 2.4. Karbamazepinin fosfogen ile reaksiyonu sonucu	29
Şekil 2.5. Karbamazepinin potasyum siyanat ile sentezi	29
Şekil 2.6. Tatlı su istakozunun dıştan görünümü (Australian Government Department of Agriculture, Water and the Environment).....	38
Şekil 2.7. a) Kerevitin sinir sistemi ve ventral sinir kordonunun aksotomi şeması b) Çift bağlantı ile merkezi sinir kordonunun karın ganglionu c) Altı abdominal gangliondan oluşan ventral sinir kordonu d) Ventral sinir kordonunun diseksiyonu (Demyanenko ve diğerleri, 2019).....	43
Şekil 4.1. 1,25 ve 12,5 mg/L Karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının toplam hemosit sayısı (THS)	56
Şekil 4.2. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 21 gün maruz kalan tatlı su istakozlarının hemolenf total antioksidan durumu (TAS) değerleri.....	58
Şekil 4.3. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozlarında hemolenf total oksidatif stres (TOS) değerleri.....	59
Şekil 4.4. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri	61

Şekil	Sayfa
Şekil 4.5. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri ...	62
Şekil 4.6. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri .	63
Şekil 4.7. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozu solungaç dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri	64
Şekil 4.8. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozları hepatopankreas dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri	66
Şekil 4.9. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri ..	67
Şekil 4.10. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozu solungaç dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri	68
Şekil 4.11. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozları hepatopankreas dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri	69
Şekil 4.12. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri.....	71
Şekil 4.13. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozu solungaç dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri.....	72
Şekil 4.14. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozları hepatopankreas dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri.....	73
Şekil 4.15. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri	74

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Tatlı su istakozunun canlı görüntüleri (Schainost S., 2016).....	40
Resim 2.2. Form I ve Form II gonopodlar arasındaki fark (Schainost S., 2016).....	41
Resim 3.1. Deney akvaryumları ve deney gruplarının belirlenmesi.....	48
Resim 3.2. Hemolenf örneklerinin toplanması ve analizler için hazırlandığı ortam	49
Resim 3.3. Su banyosunda 45 dakika bekletilen tüpler	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

°C	Celcius
Ca ⁺²	Kalsiyum
g	Gram
mg/L	Litrede 1 miligram
µg	Mikrogram
ml	Mililitre
Na ⁺	Sodyum
ng	Nanogram
O ₂	Oksijen
Pa	Paskal

Kısaltmalar

Açıklamalar

2-OH-CBZ	2-hidroksi-KARBAMAZEPİN
3-OH-CBZ	3-hidroksi KARBAMAZEPİN
APHA	American Public Health Association
CAT	Katalaz
CYP	Sitokrom P450
DMSO	Dimetilsülfoksit
EC ₅₀	Popülasyonun %50'sini etkileyen konsantrasyon
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
GABA	δ-aminobütirik asit
GABA-T	GABA transaminaz
GOT	Glutamat oksaloasetat transaminaz
GPT	Glutamat piruvat transaminaz
GPX	Glutatyon peroksidaz

Kısaltmalar**Açıklamalar**

GR	Glutasyon Redüktaz
GST	Glutasyon S-transferaz
ISO	International Organization for Standardization
LC₅₀	Organizmaların %50'sini öldüren konsantrasyon
LDH	Laktat dehidrojenaz
MDA	Malondialdehit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NMDA	N-methyl-D-aspartate
OXC	Okskarbazepin
PEC	Öngörülen Çevresel Konsantrasyon
PFOS	Perflorooktan sülfonik asit
PhAC	Farmasötik olarak aktif bileşik
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TAS	Total antioksidan durumu
THS	Toplam hemosit sayısı
TOS	Total oksidatif stres
TPM	Topiramet
TSE	Türkiye Standartları Enstitüsü
VPA	Valproik asit

1. GİRİŞ

Son yıllarda sucul ekosistem üzerine kimyasal kirliliğin etkilerini belirlemek adına çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Ekosistemlerin sağlığı üzerine yapılan bu çalışmaların amacı, kirliliğin canlılarda meydana getirdiği etkileri araştırmak ve verdiği zararı ortaya koymak, bu zararın azaltılması yönünde çareler aramak ve gelecekte populasyonlar yok olmadan önce gerekli önlemleri alabilmek adına veriler toplamaktır (Yavuzcan ve Benli, 2004; Juhel, Bayen, Goh, Lee ve Kelly, 2017).

Karbamazepin bir iminobenzil türevi olup, yapı olarak trisiklik antidepresanlara benzer ve antidepresan ve antimanik özelliği mevcuttur. 1950’de ilk olarak sentezlenmesine rağmen kullanıma girmesi 1962 yılında trigeminal nevralji tedavisi için olmuştur (Blom, 1962). Sekonder jeneralizasyona giden veya gitmeyen parsiyel nöbetlerde ve yine primer jeneralize tonik-klonik nöbetlerde kullanılmaktadır. Miyoklonik ve absans nöbetlere etkisizdir hatta nöbeti arttırıcı etkisi vardır (Genton, Gelisse, Thomas ve Dravet, 2000).

Karbamazepin etki mekanizmasını voltaja bağlı sodyum kanallarının bloke edilmesi yolu ile gösterir. Bunun dışında günümüzde ekitatör bir aminoasit olan glutamat inhibisyonu, nöbet yayılımı ve sonlanmasında etkisi olan adenosin reseptörlerinin inhibisyonu ve L-tipi Ca kanallarının inhibisyonu yolu ile de antikonvulzif etki gösterdiği düşünülmektedir (Schumacher, Beck, Steinhäuser, Schramm ve Elger, 1998).

Oral olarak alındıktan sonra gastrointestinal sistemden yavaş şekilde emilir. Emilimi yemeklerden etkilenmez. Oral biyoyararlanımı %75-85 civarındadır. Plazma pik konsantrasyonuna 4-24 saat arasında ulaşır. Proteinlere bağlanma oranı %66-89 arasındadır. Karbamazepin karaciğerde sitokrom p-450 sistemi ile metabolize edilir. Metabolizması sırasında önce 10,11-epoksit türevine dönüşür. Bu türev antikonvülzif etkinlik gösterir ve nörotoksik olduğu ileri sürülmüştür. Karbamazepin potent bir enzim inhibitörüdür. Otoindüksiyonu sitokrom p-450 sisteminin CYP3A4 komponenti tarafından sağlanır. Bu etki özellikle tedavinin ilk 3-5 haftasında belirgindir ve bu sebepten dolayı ilk başta 30-35 saat olan yarılanma ömrü kısalarak 12 saate kadar iner. 5. haftadan sonra bu fenomen kaybolur ve kan seviye değişikliği görülmez (Araal Arpat, 2006).

Karbamazepin, mikrobiyal dönüştürme ve fotodegradasyona dirençli olduğu için ve atık suların temizlenmesinde yeterince temizlenemediği için ortamda çok miktarda bulunmaktadır. Çevre sularında ng/L-µg/L konsantrasyonlarda tespit edilebilmektedir. Su canlılarında fizyolojik ve davranışsal anormalliklere sebep olmaktadır (Oropesa, Florove Palma, 2016; Chen ve diğerleri, 2019).

Daha önce omurgasız türler üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda, karbamazepin maruziyetinin hücre içi organellerinden lizozomda birikerek; lizozom membranına zarar verdiği, dolayısıyla lizozom içeriğinin hücreye dağılıp oksidatif stres yarattığı ve bunun sonucunda lizozom miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla Karbamazepin birikmesi ile antioksidan sistem, lipid ve protein mekanizmasında bozukluklar ve immunotoksisite ortaya çıkmıştır (Martin-Diaz ve diğerleri, 2009; Tsiaka ve diğerleri, 2013).

Karbamazepinin kronik maruziyet sonrasında üreme, büyüme, gelişme, davranış bozuklukları ve histolojik bozukluklara neden olabileceği anlaşılmıştır. Bununla birlikte, karbamazepin gibi farmasötiklerin doğadaki akıbetini iyi anlamak önemlidir, çünkü toprak ve su sağlığını doğrudan etkileyen varlıklarının yanı sıra bu ilaçların kalıcılık ve adsorpsiyon özellikleri nedeni ile yeraltı suları ve tatlı su kaynakları için risk oluşturması muhtemeldir. Yapılan literatür araştırmasında ülkemiz tatlı su ıstakozu türü olan *Astacus leptodactylus* üzerinde karbamazepinin etkisine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır. Biz bu çalışmada epilepsi tedavisinde sıkça kullanılan, evsel atıklarla su kaynaklarına bulaşan ve sucul ortamlarda birikmekte olan karbamazepinin omurgasız tatlı su ıstakozu (*Astacus leptodactylus*) üzerindeki toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla tatlı su ıstakozlarında toplam hemosit sayısı belirlenip ve bu maddelerin enzim düzeyindeki etkileri hepatopankreas, kas ve solungaç dokularında araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Farmasötiklerin Çevre Toksikolojisindeki Yeri ve Önemi

Farmasötikler, hastalarda kullanımı, ilaç üretimi ve formülasyonu ve uygunsuz uzaklaştırma işlemlerinin bir sonucu olarak çevrede bulunmaktadır (Boxall ve diğerleri, 2012). Ağırlıklı olarak sucul sistemlere nüfuz ederler ve tipik olarak 1 ng/L'den altındaki dozlardan birkaç µg/L'ye kadar olan konsantrasyonlarda bulunurlar (Aus der Beek ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, yoğun nüfuslu Hindistan, Çin, ABD gibi ülkelerde bazı endüstriyel atık sularda ve toplayıcı nehirlerde mg/L düzeyinde son derece yüksek konsantrasyonda farmasötikler tespit edilmiştir (Larsson, 2014). Farmasötikler ayrıca karasal ortamda kanalizasyon çamurunun toprağa uygulanması, düzenli depolama alanlarından sızma, arıtılmış veya arıtılmamış atık sularla ekilebilir arazilerin sulanması yoluyla çevrede kalır (Kümmerer, 2008).

Farmasötiklerin yaban hayat üzerindeki olumsuz etkilerinin yaşam döngüsü açısından önceliği vardır. Örneğin Hindistan ve Pakistan'daki Gyps akbaba türlerinde steroid olmayan anti-inflamatuar bir ilaç dolan diklofenak'ın popülasyonda dramatik düşüşlere (>%99) neden olduğu ve bunun da yerel olarak neslinin tükenmesine neden olduğu gösterilmiştir (Oaks ve diğerleri, 2004). Akbabalar, diklofenak ile tedavi edilmiş ölü sığırlar ile beslendikten sonra böbrek yetmezliği geçirmişlerdir. Kontraseptif, etinilestradiol (EE2) ve bir dizi başka doğal ve sentetik östrojenle birlikte tatlı su kaynaklarındaki erkek balıklarda dişileşmeye neden olduğu gösterilmiştir (Lange ve diğerleri, 2009).

Farklı otoriteler, farmasötiklerin çevre üzerindeki olası istenmeyen etkileri ve bunların nasıl değerlendirilmesi gerektiğine ilişkin ayrıntılı yönergeler yayınlamaktadır. Farmasötiklerin tescili için bir ön koşul olarak ekotoksikite testi için ilk gereklilik 1995 yılında, Avrupa Birliği (AB) Direktifi 92/18 EEC'ye ve veteriner ilaçları için ilgili kılavuza göre oluşturulmuştur (European Medicines Agency-EMA, 2005). Avrupa Komisyonu, beşeri tıbbi ürün izninin bir çevresel risk değerlendirmesiyle birlikte verilmesi gerektiğini belirten bir taslak kılavuz (2001/83/EC Direktifi) yayınlamıştır (FDA-CDER, 1998). Ayrıca, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), ilaçların değerlendirilmesi için bir kılavuz yayınlamıştır; buna göre, farmasötik maddenin aktif bileşeninin su ortamında beklenen giriş konsantrasyonu $\geq 1 \mu\text{g/L}$ olduğunda, tetikleme seviyesi olarak yaklaşık 40 L'ye karşılık geldiğini belirlemiştir.

ve ABD'deki başvuru sahiplerinin bu konuyla ilgili bir çevresel değerlendirme raporu sunmaları gerektiğini belirtmiştir (Boxall, Kolpin, Halling-Sorensen ve Tolls, 2003). Ek olarak, 1980 yılından itibaren ABD'de FDA tarafından veteriner ilaçlarının çevresel değerlendirmeleri zorunlu kılınmıştır (Thacker, 2005). Bu genellikle pazarlama başvurusunun sunulmasından hemen önce Faz III klinikleriyle birlikte gerçekleştirilir.

Bununla birlikte, kronik ekotoksisite testi AB'de yalnızca 2006'dan beri gerekli olmuştur ve ABD'de zorunlu olarak gerekli değildir (EMEA, 2006; FDA, 1998). Eski ilaçların çoğu (yani 2006'dan önce kayıtlı olanlar) bu nedenle kronik ekotoksisite verilerinden yoksundur, ancak çoğu mevzuata uygun veriye erişilemediğinden sorunun kapsamı bilinmemektedir.

Ekolojik koruma hedefi nüfus, biyolojik çeşitlilik ve ekosistem hizmetleri seviyelerine yöneliktir. Tehdit altındaki ve nesli tükenmekte olan türler söz konusu olduğunda, biyolojik organizasyonun bireysel seviyesi koruma hedefidir ancak bu, kimyasallar için mevcut test yaklaşımında dikkate alınmaz ve bu nedenle kabul edilen bir sınırlamadır. Gerekli toksisite testindeki önemli noktalar büyüme, ölüm ve üremedir. Farmasötiklerin moleküler, hücre veya doku düzeyindeki tepkileri veya gelişimsel veya davranışsal etkileri dikkate alınmalıdır. İlaçların canlı popülasyonlar ve ekosistem hizmetleri üzerindeki olası etkilerinin tahmin edilebilmesine yönelik çalışmalar yapılmalıdır. Aynı şekilde, bu çalışmalar risk değerlendirme çerçevesinde test edilen diğer tüm kimyasallar için de geçerlidir (Gunnarsson ve diğerleri, 2019).

Farklı farmasötiklere uzun süre maruz kalmanın insan sağlığı üzerindeki olası etkileri, endokrin bozulması, insan patojenlerinde antibiyotik direncinin indüklenmesi, genotoksisite, karsinogenisite, alerjik reaksiyonlar ve üreme ve/veya gelişimsel etkileri içerebilir (Corcoran, Winter ve Tyler, 2010).

2.1.1. Farmasötiklerin tatlı su kaynaklarına etkileri

Tatlı su kaynakları gibi çevresel sistemlerde farmasötik olarak aktif bileşiklerin (PhAC'ler) bulunması, su yaşamı ve insan sağlığı üzerindeki potansiyel zararlı etkileri nedeniyle son yıllarda endişe verici bir konu haline gelmiştir (Gavrilescu, Demnerová, Aamand, Agathos ve Fava, 2015). PhAC'lerin büyük bir kısmı vücuttan atılım ve istenmeyen/süresi dolmuş farmasötiklerin gelişigüzel bertarafı yoluyla kanalizasyona karıştığından, arıtılmamış veya

etkisiz bir şekilde arıtılmış atık suyun bertarafı, çevresel sistemlerde bu maddelerin ortaya çıkışının ana kaynağı olarak kabul edilmektedir (Luo ve diğerleri, 2014). Atık suda ve atık sulardan etkilenen tatlı sularda PhAC'lerin yaygın olarak görülmesi, bunların düzenli olarak izlenmesi için su kalitesi standartlarının oluşturulmasını tetiklemiştir (Brack ve diğerleri, 2017).

Farmasötiklerin çoğu düşük konsantrasyonlarda, biyolojik olarak aktif olacak şekilde tasarlandığından, bu bileşiklerin suda yaşayan vahşi yaşamı etkileme riski bulunmaktadır. Nonsteroid ilaçlar, evsel atık sularında yaygındırlar ve düşük konsantrasyonlarda çevreye etki edebilirler. Asıl endişe verici olan ise farmasötik karışımların etkileridir. Atık sulardaki farklı organizmalar çok bileşenli farmasötik karışımlara maruz kalırlar. Örneğin, ABD’de yapılan bir çalışmada kanalizasyon arıtma tesislerinin atık sularında 56 ilaç ve bunların yedi metabolitinin oluşumu hakkında kapsamlı bir izleme çalışması tamamlanmış ve ortalama 24 ilaç tespit edilmiştir. (Petrovi ve Barcel, 2009). Çizgili bataklık kurbağası (*Limnodynastes peronii*) iribaşları ile yapılan çalışmaların sonucunda, naproksen, karbamazepin ve sülfametoksazol karışımına maruz bırakılan bu canlıların, tek tek bileşiklere maruz kalmaya kıyasla toksisitelerinin (dokusal tepki kaybı) arttığı tespit edilmiştir. Düşük maruz kalma konsantrasyonlarında küçük etkilere rağmen sonuçlar, atık sularda yaygın olarak bulunan nonsteroidal farmasötik karışımlarının amfibi gelişimini etkileme potansiyeli olduğunu göstermiştir (Melvin, Cameron ve Lanctôt, 2014).

Yapılan incelemelerde farmasötik karışımlar, kanalizasyon suyu arıtma tesislerinin çamurlarında da tespit edilmiştir. Örneğin, İspanya’da yapılan bir araştırma sonucunda 3 farklı kanalizasyon suyu arıtma tesisinden elde edilen çamurlarda farklı sınıflardan sırasıyla 21, 24 ve 30 adet farmasötik bulunmuştur (McClellan ve Halden, 2010). Aynı şekilde, yapılan başka bir çalışmada arşivlenmiş ABD biyokatıllarında, en az bir kompozit numunede 38 farklı farmasötik ve kişisel bakım ürünü numunesi bulunmuştur (Vulliet ve Cren-Olivé, 2011).

Farmasötikler ve kişisel bakım ürünleri gibi bazı çevresel kirleticilerin atık sularda nispeten yüksek konsantrasyonlarda mevcut olduğu bilindiğinden, bunların topraktaki akıbetleri, özellikle yeraltı suyu ve tatlı su kaynakları kontaminasyonu olasılığı açısından oldukça fazla dikkat çekmektedir. Kısmen su örneklerinin aksine toprak analizinin daha büyük zorluğu

nedeniyle topraklarda farmasötiklerin ve kişisel bakım ürünlerinin bozunma oranlarının ölçümleri daha az yaygındır (Huertas ve diğerleri, 2008, Liu, Ying, Yang ve Zhou, 2009).

Farmasötiklerin yüzey sularındaki dağılımlar ise aynı şekildedir. İspanya'daki Llobregat nehrinde farmasötiklerin oluşumu hakkında yapılan bir çalışmada, 14 farklı terapötik gruptan 57 farmasötik bileşiğin oluşumunu gösteren bir rapor yayınlanmıştır (Bruni, 1979). Ayrıca Rhône-Alpes bölgesindeki içme suyu kaynaklarını izleyen bir çalışmada 6 ila 21 farmasötik bulunmuştur (Proia ve diğerleri, 2013).

AB'de, farmasötiklerin Öngörülen Çevresel Konsantrasyonu (PEC) $0,01\mu\text{g/L}$ 'yi aşarsa (EMA, 2006) ve ABD'de Beklenen Çevresel Konsantrasyonu $0,1\mu\text{g/L}$ 'yi aşarsa (FDA Guidance for industry, 1998) sucul etki çalışmalarının yapılması gereklidir. Hem AB hem de ABD'de, farmasötik yüksek oranda lipofilikse (dağılım katsayısı logaritması: $\log D \geq 4.5$) ve üremeyi etkileyen potansiyel endokrin bozucular mevcutsa, herhangi bir maruziyet bilgisinden bağımsız olarak özel bir değerlendirmeyi içeren etki çalışmaları da gereklidir (EMA, 2010; FDA, 2016).

2.2. Antiepileptik İlaçlar

Epilepsi beyin aktivitesinin anormal olduğu, nöbetlere neden olan veya olağan dışı davranış, duyu ve bazen bilinç kaybı periyotlarına yol açan nörolojik bir hastalıktır (Fisher ve diğerleri, 2014). Antiepileptik ilaçlar epilepsili hastaların çoğunda hastalığı etkili şekilde kontrol eder. Bununla birlikte, epilepsili kişilerin %30'dan fazlası, mevcut en iyi tedavi rejimiyle bile nöbetleri tam olarak kontrol edilemez (Devinsky, 1999). Tedavi, epilepsi yönetiminin temel dayanağıdır. Antiepileptik ilaç tedavisinin nihai amacı, klinik olarak yan etkileri engellemeden sürekli nöbetsizliğin sağlanmasına bağlı olan, sağlıklı normal bir yaşam kalitesini sağlamaktır (Panayiotopoulos, 2010; Canevini ve diğerleri, 2010).

Epilepsi, farklı prognozları ve tedaviye duyarlılıkları olan birçok nöbet tipini ve sendromunu içeren multifaktöriyel bir hastalıktır. Antiepileptik ilaçlar ise minimum yan etkilerle nöbeti atlatmaya yardımcı olarak epilepsi tedavisinin temel dayanağı olan ilaçlardır (Duncan, Sander, Sisodiya ve Walker, 2006). Şu anda, birçok nöbet tipinin tedavisi için daha fazla seçenek sunan çok sayıda antiepileptik ilaç mevcuttur. Antiepileptik ilaçların farklı etki mekanizmalarına rağmen, hiçbiri hastalığın etiyolojisini tedavi etmemektedir (Sills ve

Rogawski, 2020). Bunun yerine nöbetler meydana geldikten sonra semptomatik olarak bastırmak üzere hareket ederler. Bu nedenle, mevcut antiepileptik ilaçlar tüm epilepsi hastalarının %20-30'unda nöbetleri kontrol etmekte hala başarısız olmaktadır (Kwan ve Brodie, 2000; Löscher, Klitgaard, Twyman ve Schmidt, 2013). İlaça dirençli konvülsif epilepsisi olan hastalar için ek tedavi olarak lamotrijin, levetirasetam ve topiramat gibi daha yeni antiepileptik ilaçlar önerilebilir (World Health Organization, 2015). Karbamazepin, gabapentin ve pregabalin gibi antiepileptik ilaçlar nöropatik ağrının tedavisinde tavsiye edilir ve sıklıkla kullanılır (Attal ve diğerleri, 2010; Johannessen Landmar, Larsson, Rytter ve Johannessen, 2009).

Son yıllarda antiepileptik tedavide büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Antiepileptik ilaçların serum konsantrasyonlarının izlenmesi, farmakokinetiğin önemine ilişkin anlayışımızı geliştirmiştir (Hvidberg ve Dam, 1976). Serum konsantrasyonlarının izlenmesi, her bir ilacı eskisinden çok daha rasyonel bir şekilde kullanmayı ve her ilacı tam potansiyeliyle test etmeyi mümkün kılmış, aynı zamanda monoterapi olarak adlandırılan, mümkün olduğunda sadece tek bir ilaçla tedavi etme fikrine de yol açmıştır (Reynolds, Chadwick ve Galbraith, 1976). Bu tedavi stratejisi, eski terapötik ilkelerden farklıdır ve birçok hasta için toksisitede dramatik bir azalmanın yanı sıra nöbet kontrolünde bir iyileşme sağlamıştır (Shorvon ve Reynolds, 1979).

Antiepileptik tedavilerde temel sorun iki yönlüdür: bir yandan hala tüm hastalarda nöbetler tam olarak kontrol edilemez; diğer yandan, tam nöbet kontrolü elde eden birçok hasta, bunu yalnızca rahatsız edici yan etkiler pahasına yapar. Epilepsinin cerrahi tedavisi, ilaca dirençli epilepsili hastaların azınlığı için iyi bir tedavi seçeneğidir (Dam, Gram ve Schmidt, 1988).

Tıbbi olarak tedavi edilemeyen epilepsisi olan bireyler genellikle çalışma veya sosyal olarak işlev görme yeteneğinde bozulmaya sahiptir (örneğin, araba kullanamama, okula gitmede zorluk, işlerini ve arkadaşlarını kaybetme ve potansiyel olarak tehlikeli koşullarda nöbet geçirme olasılığına ilişkin kaygı) (Swarztrauber, Dewar ve Engel, 2003). Konvansiyonel antiepileptik ilaçlarla tedavi (örneğin oral yoldan verilen fenitoin ve lakozamid), hastaların sadece %33'ünde nöbet nüksünü engelleyebilmektedir (Sander, 2003). Alternatif olarak, nörostimülasyona dayalı tedavinin de nöbet aktivitesini azalttığı gösterilmiştir, ancak nöbet sıklığında tipik olarak akut dönemde yaklaşık %40 ve birkaç yıl sonra %50-69 oranında azalma görülmüştür (Fisher ve Velasco, 2014). Fokal nöbet durumunda nöbet odağının

cerrahi rezeksiyonu yapılabilir; ancak bu işlem epileptik odakların lokalizasyonuna göre sadece seçilmiş hastalarda uygulanabilir (Kwan ve Sperling, 2009).

Antiepileptik tedavilerde bazen ilaç uyumsuzluğu ile karşılaşılabilir. İlaç uyumsuzluğu, başlangıçta bir reçete edilen ilacı kullanmama veya devam etmeme, tedavi süreci tamamlanmadan bir ilacı kesme, sağlık hizmeti sağlayıcısının üzerinde anlaşmaya varılan tavsiyelerine uymama, daha fazla veya daha az ilaç almayı içeren ilaç alımının gönüllü veya istemsiz bir davranışdır (Osterberg ve Blaschke, 2005; Hugtenburg, Timmers, Elders, Vervloet ve van Dijk, 2013).

Dünyada antiepileptik ilaç uyumsuzluğunun prevalansı değişmektedir. Uyumsuzluk prevalansı ABD'de %26 iken Etiyopya'da %37, Kenya'da %54 ve Nijerya'da %67'ye kadar yükselmiştir ve finansal faktörler uyumsuzluğun önemli etkenlerinden olduğu belirlenmiştir (Faight, Weiner, Guérin, Cunnington ve Duh, 2009; Johnbull, Farounbi, Adeleye, Ogunrin ve Uche, 2011; Mbuba ve diğerleri, 2012; El-Shamaa, 2013, Getachew Dekema, Awol, Abdi ve Mohammed, 2014). Kuzey Carolina'da yapılan bir çalışmaya göre, bu prevalans %39 iken hastaneye yatış olasılığının artmasını takriben yaşlılarda bu oran %43 olmaktadır (Davis, Candrilli ve Edin, 2008). Birleşik Krallık'ta birinci basamak temelli bir çalışma, antiepileptik ilaca uyumsuzluk prevalansının %36,4 olduğunu ve çoklu ilaç tedavisi görenlerin tedavilerine uymama eğiliminde olduğunu göstermiştir (Chapman, Horne, Chater, Hukins ve Smithson, 2014). Finlandiya'da yapılan bir araştırma, sigara ve alkol kullanan bireylerde ilaç uyumsuzluk prevalansının %34 olduğunu göstermiştir (Kyngäs, 2000).

Epilepsinin tedavisinde etkili olan antiepileptik ilaçlara zayıf uyum, sürekli remisyon ve fonksiyonel restorasyon için önemli bir sorundur. Bu uyumsuzluk tedavi başarısızlığı ve nöbet nüksü ile sonuçlanır (Dekker ve WHO, 2002; Sabate, 2003). Optimum antiepileptik ilaç tedavisi ile hastaların yaklaşık %70'inin nöbetsiz geçeceği düşünülse de birçok hasta antiepileptik ilaçlarını uygun şekilde almamakta ve tedaviye uyum göstermeyen bu hastalarda ölüm oranı, tedaviye bağlı olanlardan üç kat daha fazla olmaktadır (Sander, 2014). Antiepileptik ilaçların uyumsuzluk davranışının sonucu, kötü nöbet kontrolü, artan morbidite ve mortalite ile birlikte artan hastanede kalış süresi, kötüleşen hasta sonuçları, düşük yaşam kalitesi ve artan sağlık bakım maliyeti ile ilişkilendirilmiştir (Cramer ve diğerleri, 2014).

2.2.1. Antiepileptik ilaçların sınıflandırılması

Çok çeşitli antiepileptik ilaç, klinik kullanıma giriş tarihlerine göre nesillere ayrılmıştır. Bu ajanlar birinci (1857–1978), ikinci (1993–2009) ve üçüncü (2009-bugüne kadar) nesil antiepileptik ilaçlar olarak sınıflandırılır (Shorvon, 2009; Löscher ve Schmidt, 2011). Tarihsel süreç içinde ortaya çıkan; klonazepam, karbamazepin, etosüksimid, fenobarbital, primidon, fenitoin ve valproik asit birinci nesil, gabapentin, lamotrijin, levetirasetam, okskarbazepin, topiramet ve zonisamid ikinci nesil, brivarasetam, klobazam, kannabidiol, cenobamat, eslikarbazepin asetat, lakozamid, perampenel ve rufinamid ise üçüncü nesil antiepileptik ilaçlar olarak ifade edilmektedir (Chen, Brodie ve Kwan, 2020).

En yaygın olarak kullanılan antiepileptik ilaçlar arasında, epilepsinin çeşitli belirtileri için ilk seçenek tedavi olarak kabul edilen valproik asit (VPA), okskarbazepin (OXC) ve topiramettir (TPM).

Antiepileptik ilaçların kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması Çizelge 2.1’de gösterilmiştir (Tripathi, 2003).

Çizelge 2.1. Kimyasal yapılarına göre antiepileptik ilaçlar

No	Kimyasal Grup	Örnek
1	Barbitüratlar	Fenobarbital, Fenobarbiton, Primidon
2	Hidantoinler	Fonasyonlar, Mefenitoin
3	İminostilben	Karbamazepin
4	Oksazolidindion	Trimetadion (Troksidon)
5	Süksinimit	Etosüksimit
6	Alifatik Karboksilik Asit	Valproik Asit (Sodyum Valproat)
7	Benzodiazepinler	Klonazepam, Diazepam
8	Asetil Üre	Fenasemid
9	Yeni İlaçlar	Progabide, Vigabatrin, Gabapentin Lamotrijin, Felbamat, Topiramet, Tiagabin
10	Diğerleri	Asetazolamid, Deksamfetamin

2.2.2. Antiepileptik ilaçların temel etki mekanizmaları

Antiepileptik ilaçlar, çeşitli moleküler reseptörlerle etkileşime girer. Antikonvülsan etkilerini elde etmek için, bu ilaçların iki büyük hedef kategorisi vardır: genellikle anormal

iyon geçirgenliği (kalsiyum, sodyum, potasyum) ile ilgili hasarlı spesifik membran özellikleri ve hasarlı sinaptik fonksiyonlar (artan indüksiyon veya yetersiz baskılama). Bu ilaçların çoğu, birden fazla etki mekanizmasına sahiptir ve ek farmakolojik etkileri de bulunmaktadır. İlacın etki mekanizmalarının belirli oranlarda kombinasyonu antiepileptik aktivitenin ortaya çıkışını sağlar (Fattore ve Perucca, 2011).

Antiepileptik ilaçların temel etkileri şu şekilde sıralanabilir;

Sodyum kanalları

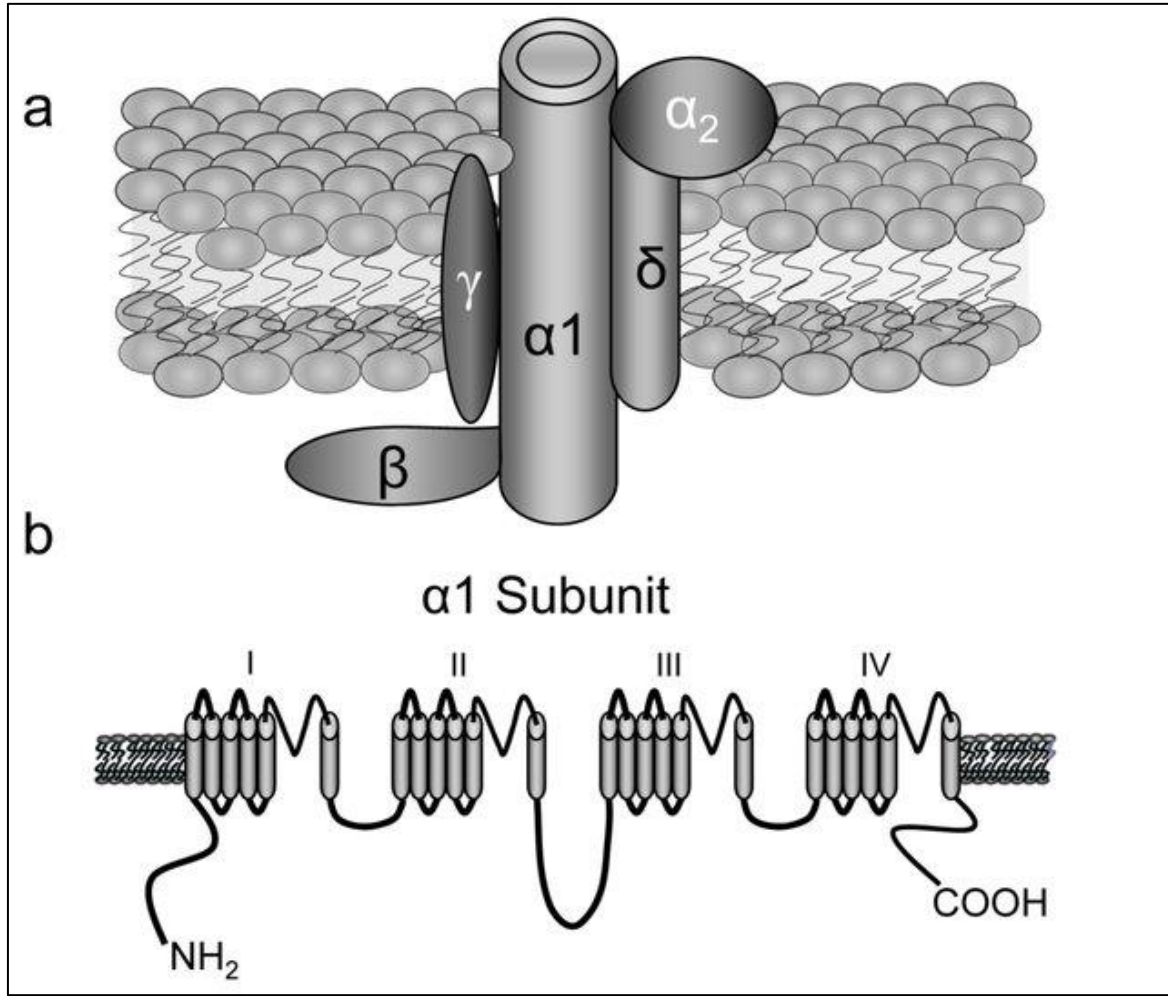
Voltaj kapılı sodyum (Na^+) kanalları, bir transmembran iyon kanalı proteinleri ailesidir. Uyarılabilir hücrelerde yaygın olarak dağılmışlardır, elektrik sinyali amplifikasyonunun ve yayılmasının birincil araçlarıdır. Bu kanalların yapı ve fonksiyonlarındaki anormallikler, hücrelerin uyarılabilirliğini değiştirerek kronik ağrı ve epilepsi gibi çeşitli hastalıklara neden olabilir (Bagal, Marron, Owen, Storer ve Swain, 2015). Pratikte, bu hastalıkları tedavi etmek için bazı voltaj kapılı sodyum kanal blokerleri kullanılmaktadır. Voltaja bağlı sodyum kanalları, sodyuma bağlı aksiyon potansiyellerinin üretilmesinde ve yayılmasında rol alır. Hücre dışı sodyumun hücreye nüfuz etmesini mümkün kılar, bu da nöronal depolarizasyon ve uyarı ile sonuçlanır. Antiepileptik ilaçlar sodyum kanallarının yeniden aktivasyonunu geciktirirken, sürekli tekrarlayan deşarjların sıklığını önemli ölçüde azaltır ve normal fizyolojik süreçleri etkilemez (Britton, Zakaria ve Benarroch, 2011).

Sodyum kanallarının sayısız alt tipi vardır. Birinci nesil sodyum kanalı modülatör ilaçları, klinikte istenmeyen yan etkileri azaltan, tercihen aşırı uyarılmış hücrelere etki eder. Bununla birlikte, birinci nesilde gözlemlenen sınırlı terapötik indeksler, yeni nesil sodyum kanalı inhibitörlerinin keşfedilmesinin yolunu açmıştır (Bagal ve diğerleri, 2015). Sodyum kanallarının inaktivasyonu veya kapanması, "hızlı inaktivasyon" olarak da bilinen hızlı bir şekilde veya "yavaş inaktivasyon" olarak da bilinen daha kademeli, sürekli bir şekilde gerçekleşebilir (Fattore ve Perucca, 2011). Yavaş inaktivasyon, nöronlarda ve aksonlarda paroksizmal deşarjların düzenlenmesi ve modüle edilmesi söz konusu olduğunda önemli bir mekanizmadır (Mumoli ve diğerleri, 2015). Karbamazepin (CBZ) ve türevleri okskarbazepin ve eslikarbazepin asetat, fenitoin, lamotrijin ve zonisamid de dahil olmak üzere çok sayıda antiepileptik ilaç, voltaja bağlı sodyum kanallarının blokerleri olarak işlev görür (Porter, Baulac ve Nohria, 2010; Tambucci ve diğerleri, 2016).

Valproat, rufinamid ve topiramat için sodyum akışları üzerindeki sürekli etkinin modülasyonu, repolarizasyon ve yeni aksiyon potansiyelinin ortaya çıkması için gerekli olan eşik potansiyeline ulaşma süresini geciktirir (Britton ve diğerleri, 2011). Elektrofizyolojik analizler, voltaja bağlı sodyum kanallarının yavaş inaktivasyonunu ve patolojik olarak modifiye edilmiş sürekli ve tekrarlayan nöronal deşarjlar üzerindeki seçici eylemi hızlandırırken, lakozamidin farklı etki mekanizmasını kanıtlar, böylece normal inaktivasyon mekanizmaları üzerinde herhangi bir etkinin olmamasını sağlar (Bialer ve White, 2010).

Kalsiyum kanalları

Nöronların depolarizasyonu, uyarıcı nörotransmitterlerin salınmasıyla ilişkili olan presinaptik kalsiyum (Ca^{+2}) kanalları yoluyla hücrelerin içine kalsiyumun girmesine neden olarak, postsinaptik voltaj bağımlı kanallar yoluyla daha fazla Ca^{+2} akışına neden olur. Kalsiyumun büyük akışının deşarj aktivitesine neden olduğu düşünülmektedir (Britton ve diğerleri, 2011). Voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalları, çeşitli maddelerden oluştukları için karmaşık yapıya sahiptir: $\alpha 1$ alt birimleri, voltaj duyarlılığına sahip iyon geçirgen kanal ve geçirgenliği modüle eden birkaç yardımcı alt birimlerden $\alpha 2\delta$, β ve γ 'yi oluşturur (Şekil 2.1). $\alpha 2\delta$ ek alt birimlerinin önemli modülasyon fonksiyonunun hedefi olduğu tespit edilmiştir (Rogawski ve Bazil, 2008). Voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalları, depolarizasyon eşiklerine göre yüksek ve düşük voltajlı alt tipler olarak sınıflandırılır (Britton ve diğerleri, 2011).



Şekil 2.1. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalının topografisinin şematik gösterimi (a) Ana kanalı oluşturan α_1 alt birimini ve yardımcı δ alt birimleri ayrılmaz membran proteinleridir, β alt birimi hücre içindedir ve doğrudan α_1 'e bağlanırken α_2 alt biriminin büyük ölçüde hücre dışı olduğu düşünülür. (b) Kalsiyum kanalı α_1 alt biriminin yapısını dört domain yapısı (Cain ve diğerleri, 2012).

Kapsamlı ve çoklu etki mekanizmasına sahip bazı antiepileptik ilaçlar (lamotrijin, felbamat, topiramat, levetirasetam ve fenobarbital) yüksek voltajlı aktif kalsiyum kanallarını etkiler (Khosravani ve Zamponi, 2006). Voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının gabapentin ve $\alpha_2\delta$ yardımcı alt birimlerinin etkileşimi ve ayrıca bu bağlantının işlevsel etkileri belirlenmiştir. Deneysel araştırmalar, ilacın $\alpha_2\delta$ 'ye ligand kapasitesinde bağlanmasının, hücre içine kalsiyum girişini ve nörotransmitterlerin salınımını azalttığını göstermektedir (Fattore ve Perucca, 2011; Potschka, 2013).

T kanalları, neokorteks, hipokampus, talamus, serebellum ve alt nükleus olivary dahil olmak üzere merkezi sinir sisteminde yaygın olan birincil düşük voltajlı kalsiyum kanalları türüdür (Catterall ve Few, 2008; Wuttke ve Lerche, 2006). T tipi kalsiyum kanalları

hiperpolarizasyon ile aktive olur ve talamik nöronlarda ve talamokortikal çevrelerde ritmik uyarıcı aktivite paternlerinin uygulanmasında rol oynar, REM uyku evresinde ortaya çıkarken ve absans nöbetleri gibi patolojik durumlarda ortaya çıkar (Britton ve diğerleri, 2011; Porter ve diğerleri, 2010). Etosüksimid ve zonisamidin T tipi kalsiyum kanalları ile seçici etkileşimi vardır. Etosüksimidin kalsiyum kanallarının diğer hedefleri üzerinde önemli bir etkisinin olmaması, kısmi ve tonik klonik nöbetler söz konusu olduğunda etkisiz kaldığını göstermektedir (Britton ve diğerleri, 2011).

Potasyum (K^+)

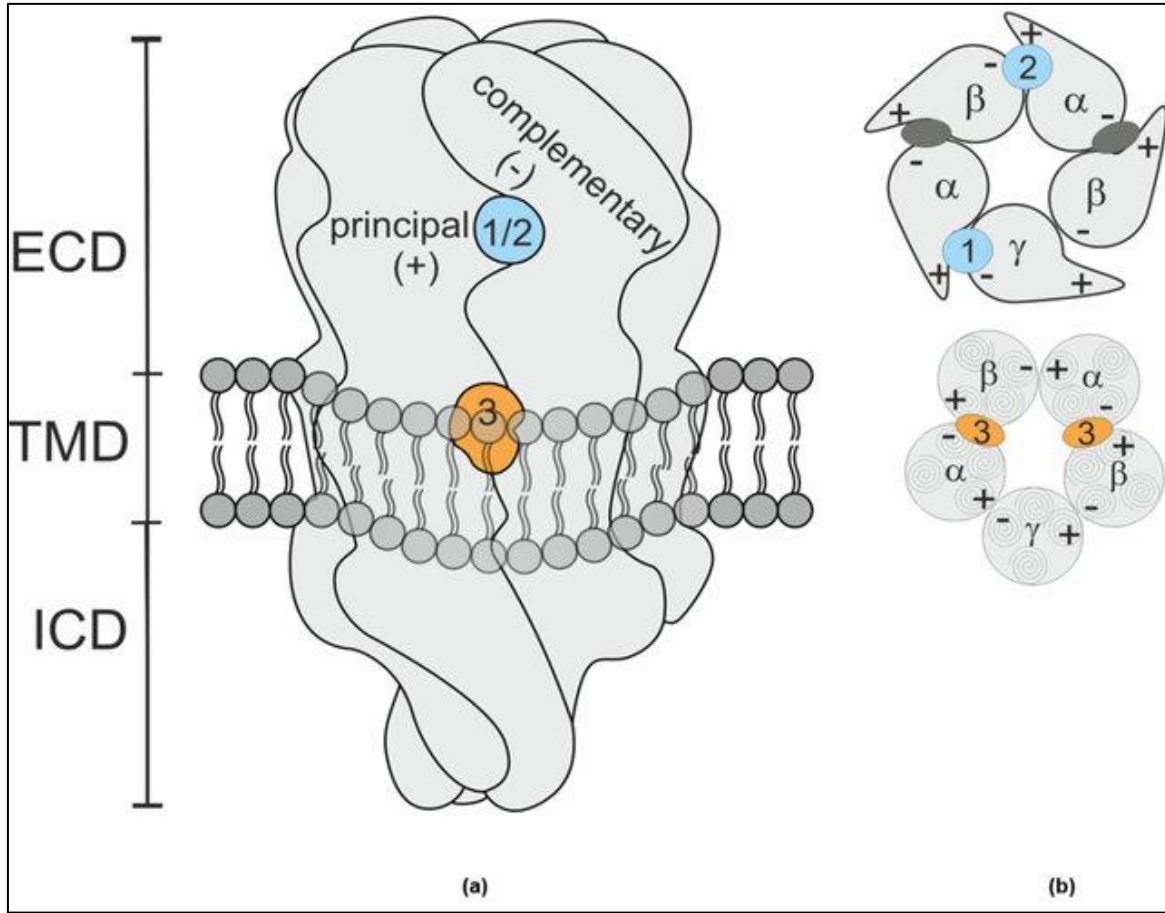
akışının artırılması, hiperpolarizasyona yol açan bir olaydır. Valproik asidin yüksek dozda bu şekilde bir etki oluşturduğu ve diğer etkiler yanında bunun antiepileptik etkinliğe katkısının olacağı ileri sürülmüştür. Nöronlarda hücre içindeki kalsiyum bağlanması azaltılması sonucu sitoplazmadaki serbest Ca^{+2} düzeyinin yükselmesi, K^+ konduktansını artırarak hiperpolarizasyon yapabilir ve eksitabilitiyi azaltabilir (Kayaalp, 2012).

δ -aminobütirik asit (GABA)

GABA, merkezi sinir sistemindeki ana inhibitör nörotransmitterdir. GABAerjik nörotransmisyonun etkisi, epilepsinin farmakoterapisinde en iyi bilinen etki mekanizmaları arasındadır (Britton ve diğerleri, 2011). GABA, potasyum ve klor iyonlarının akışına izin vermek için nöron kanallarını açar ve böylece nöronal membranın hiperpolarizasyonuna, yani nöronal indüksiyonun azalmasına neden olur. Glutamatın glutamik asit dekarboksilaz enziminden dekarboksilasyon yoluyla GABAerjik sinir uçlarında sentezlenir ve aktivitesi için veziküler GABA taşıyıcısı aracılığıyla depolanan piridoksal fosfata ihtiyaç duyulur. Sinaptik yarıktaki serbest bırakıldıktan sonra GABA, GABA transaminaz (GABA-T) enzimi tarafından, mitokondride L-glutamat sentezi için ana substrat olan α ketoglutaratla metabolize olan süksinik semialdehite ayrışmaya uğrar. GABA metabolizmasındaki ara metabolitler, aynı zamanda antiepileptik etkiye sahip olan homokarnosin ve 2-pirolidinondur (Potschka, 2013). GABA, reseptörlerinin uyarılması ve GABA artışının geniş nöbet spektrumuna karşı antikonvülzan etki ile ilişkili olduğu amigdala'daki nöbet aktivitesini sınırlar. Substantia nigra retikularis (SNR), limbik, talamokortikal sistemdeki nöbetleri ve beyin sapında oluşturulan tonik nöbetleri tetiklemeden sorumlu bölümler de

dahil olmak üzere, kolikül superiorları aracılığıyla çok sayıda bireysel epileptojenik bölüm üzerinde dolaylı kontrole sahiptir (Löscher, 2002).

GABAA reseptör aracılı inhibisyonun genetik veya kazanılmış disfonksiyonu, artan nöral indüksiyon için önemli bir patofizyolojik mekanizmadır ve idiyopatik jeneralize epilepsi ve epileptik durumu olan hastalarda tanımlanmıştır. GABA bağlanırken aktive olan ligand bağlantılı postsinaptik klor kanallarına sahip GABAA reseptörleri, GABA'nın hızlı inhibitör etkisine aracılık etmektedir. Nöronal GABAA, santral kanal çevresinde yer alan beş alt birimden (α , β , γ ve δ alt birimleri) oluşan pentamerik proteinlerdir (Şekil 2.2). Belirli bir reseptördeki α -, β -, γ - ve δ - alt birimlerinin kombinasyonları temelinde işlevi değişen birkaç GABAA reseptörü alt tipi vardır. Bu çeşitli alt birimleri kodlayan genler, çeşitli beyin bölgelerinde farklı şekillerde temsil edilirler ve sinaptik inhibisyonda işlevsel farklılıkların yanı sıra ilaçların etkisinde farklılıklar meydana getirirler (Benarroch, 2007; Meldrum ve Rogawski, 2007). Tonik GABAA reseptörleri, uzun süreli inhibisyon oluşturan ve böylece ağ indüklenmesini kontrol eden reseptörlerin bir alt popülasyonudur ve potansiyel antiepileptik hedef olarak epilepsi ile ilişkilendirilmiştir (Benarroch, 2007; Schipper ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.2. (a) Bir GABAA reseptörünün şematik gösterimi. Hücre dışı alan (ECD) ve transmembran alanı (TMD), çeşitli bağlanma bölgeleri içerir. Bu bağlanma bölgeleri, bir ana (+) alt birim ve tamamlayıcı (-) bir alt birim tarafından oluşturulur. Hücre içi alan (ICD) şekli, uzak homologlara dayanan tamamen şematik bir görüntüdür. (b) Kanonik bir αβγ reseptörünün ECD'si (üstte) ve TMD'sinde (altta) şematik düzlemleri, 1 no'lu bölge, yüksek afiniteli benzodiazepin bölgesi, ECD-α+/γ- arayüzündedir; Pirazolokinolinon ligandlarının modülatör etkilerini veren 2 no'lu bölge, ECD-α+/β- arayüzündedir. 3 no'lu bölge, etomidat bölgesidir ve GABA bağlanma bölgelerinin altındaki TMD-β+/α- arayüzlerin iki yerinde bulunur (Iorio ve diğerleri, 2020).

Antiepileptik ilaçlar, çeşitli mekanizmalar yoluyla GABAerjik aktiviteyi modüle edebilir, bu mekanizmalar presinaptik sinir uçları tarafından GABA'nın ters kavranmasının inhibisyonu, GABA-T reseptörlerinin inhibisyonu yoluyla GABA degradasyonunun baskılanması, sinir terminallerindeki GABA-T'nin baskılanması, GAD'ı aktive ederek GABA sentezi, GABA konsantrasyonunun arttırılması (ara metabolitler homokarnosin ve a-pirolidinon) ve klor kanallarının açılma süresinin ve geçişin arttırılmasıdır (Britton ve diğerleri, 2011; Fattore ve Perucca, 2011).

GABAB reseptörü ise, aksonal uçlarda presinaptik olarak birçok durumda bulunabilir ve nöronun içine doğru yönlendirilen potasyum kanallarının iletkenliğini artıran ve presinaptik N- ve P/Q-kalsiyum kanalları'nın iletkenliğini azaltan G proteini ile ilgili bir reseptördür. GABA antagonistleri, elektroensefalografideki ani yavaş dalga deşarjlarını önemli ölçüde azaltır. Yüksek konsantrasyonlarda mevcutsa, fenobarbital, GABAA reseptörlerini doğrudan aktive edebilir. Bu, diğer GABAA reseptör antagonistlerine kıyasla barbitüratların aşırı doz riskinin daha yüksek olduğunu açıklar (Potschka, 2013). Benzodiazepin, GABAA reseptörünün farklı lokasyonlarına, γ alt ünitesi ile kombinasyon halinde $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ veya $\alpha 5$ alt birimlerini içeren bazı reseptörlere bağlanır (Rogawski ve Bazil, 2008). Valproat, beyindeki genel GABA seviyelerinin arttırılması ve GABAerjik aktivitenin güçlendirilmesi ile ilgilidir. Vigabatrin, presinaptik nöronlarda ve glial hücrelerde GABA'yı parçalayan ve beyindeki GABA konsantrasyonunu önemli ölçüde artıran GABA-T enziminin geri dönüşümsüz inhibitörüdür. Bu durumda vigabatrin, GABAA reseptörünün aracılık ettiği sinaptik yanıtın ziyade tonik inhibisyonu güçlendirir (Britton ve diğerleri, 2011; Potschka, 2013). Tiagabin ise, GABA – GAT-1 taşıyıcısı aracılığıyla presinaptik nöronlarda ve komşu glial hücrelerde ters kavramayı engeller ve böylece postsinaptik GABAerjik potansiyelleri güçlendirir. Bu etki, fizyolojik özgülüğünü korurken sadece endojenik GABA'nın etkisini hızlandırdığından, doğrudan reseptör agonizmine kıyasla avantajlarına ve daha az istenmeyen tıbbi etkilerine sahiptir. Çok sayıda antikonvülzan göz önüne alındığında, GABAerjik aktivitenin etkisi, klor akışları yoluyla GABAA reseptörünü allosterik olarak modüle eden sayısız etki mekanizmasından biridir (Fattore ve Perucca, 2011; Luszczi, 2009).

Adenozinerjik nöromodülatör sistemin aktivasyonu antiepileptik etkinliğe katkısı olabilecek bir olaydır. Karbamazepinin bu sistemle etkileştiği ve bu etkileşmenin onun antiepileptik etkinliğine katkısının olabileceği düşünülmektedir. Adenozin, odiojenik epilepsilere ve pentilentetrazol, pikrotoksin, kainik asit ve merkaptopropionik asitle oluşturulan deneysel epilepsi önleyebilir. Kafein ve teofilin ise, adenozin reseptörlerini bloke ederek yüksel dozda konvülsiyon yapar (Chwalczuk, Rubaj, Swiader ve Czuczwar, 2008).

Eksitator amino asitlerle etkileşme

Glutamerjik sinapslarda eksitasyonun inhibe edilmesi antikonvülsan etkinliğe yol açar. Dizosiplin ve diğer glutamat N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptör blokörlerinin güçlü

antikonvülsan etkinlik gösterdikleri bulunmuştur. Fenitoin, fenobarbital ve adenozin, glutamerjik etkinliği antagonize ederler. Lamotrijin, eksitatör amino asitlerin salınmasını inhibe eder; felbamat, NMDA reseptörlerinin etkinliğini azaltır; magnezyum sülfat da NMDA reseptörlerini bloke eder ve antikonvülsan olarak kullanılır (Kayaalp, 2012).

Antiepileptik ilaçlar, hastada üç farklı şekilde yanıt verebilir: nöbetlerin kendiliğinden geçmesi (antiepileptik ilaç kullanımı olmadan), antiepileptik ilaç uygulamasına yeterli yanıt verme veya tedavi ilacına direnç gösterme. Antiepileptik ilaç tedavisine direncin geliştiği mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır; bazı kanıtlar bunun beyin parankimine etkili bir penetrasyon eksikliğinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir; ancak ilaç yan etkileri pozolojide büyük artışı engeller (Löscher, 2005).

2.2.3. Antiepileptik ilaçların kullanım alanları

Antiepileptik ilaçlar, epilepsinin dışında başka endikasyonlarda da kullanılabilmektedir.

Fenobarbital; primidon ve valproat ile birlikte çocuklarda febril konvülziyon rekürrensini azaltır, ancak endikasyonda devamlı antiepileptik tedavi önerilmemektedir (Baumann ve Duffner, 2000).

Karbamazepinler; antiepileptik özelliği dışında birçok farklı endikasyonlarda da tercih edilen bir farmasötiktir. Yaygın olarak bilindiği üzere, antiepileptik ilaçların psikiyatrik endikasyonlarından birisi Bipolar bozukluktur. Valproat, karbamazepin ve lamotrijin bu endikasyonda ruhsatlandırılmış ve kullanılmaktadır, ancak fenitoin, okskarbazepin, levetirasetam, topiramet, zonisamid ve gabapentin yetersiz karakterize edilmiş hastalarda faydalı olabilir. Karbamazepinin antimanik ve profilaktik etkinliği kanıtlanmıştır ve geleneksel olarak lityuma yeterince yanıt vermeyen hastalarda kullanılır (Weisler ve diğerleri, 2006; Smith, Cornelius, Warnock, Bell ve Young, 2007). Karbamazepinin profilaktik etkinliğini lityum tedavisiyle karşılaştıran çalışmalara göre, lityumun üstünlüğünü halen daha öndedir (Greil ve diğerleri, 1997; Hartong ve diğerleri, 2003). Bununla birlikte karbamazepin, Bipolar bozukluğun hızlı döngü seyri, disforik veya psikotik maninin sık tekrarı veya diğer eşlik eden psikiyatrik veya nörolojik durumlar gibi atipik belirtileri için daha iyi bir alternatif olarak görülmektedir (Greil, Kleindienst, Erazo ve Müller-Oerlinghausen, 1998). Lityuma yeterince yanıt vermeyen hastalarda, büyük

kontrollü bir çalışmada gösterildiği gibi tedaviye karbamazepin eklenmesi profilaktik etkinliği büyük ölçüde artırabilir (Denicoff ve diğerleri, 1997). Karbamazepinler çeşitli nöropatik ağrılara (nöraljilere) karşı da etkilidir. Trigemius nöraljisinde tek başına veya fenitoin ile birlikte kullanıldığında ağrıyı keser. Ayrıca diyabetik nöralji, postherpetik nöralji, amiloid nöraljisi, üremik nöralji ve nöropatik beriberiye bağlı nöraljilerde de etkilidir. Kanseri ağrısına karşı, klasik analjeziklere yardımcı olarak da kullanılabilir. (Kayaalp, 2012).

Klonazepam; panik atak bozukluğu tedavisinde yıllardır kullanılan, antikonvülsan, kas gevşetici ve anksiyolitik özelliklere sahip güçlü, uzun etkili bir nitro benzodiazepin türevidir (Nardi ve diğerleri, 2010). Diğer benzodiazepinler gibi klonazepam, GABA reseptörünün modülasyonu yoluyla aminobütirik asidin etkilerini artırır, ancak sadece GABAa reseptöründe etki eder (Moroz, 2004). Aslında klonazepam, gama-aminobütirik asidin inhibitör etkisini güçlendirir ve serotonin kullanımını azaltır, serotonin reseptörlerini ve frontal korteksi düzenler ve antipaniği etkide önemli bir rol oynar (Nilsson ve Sterner, 2011).

Diazepam; benzodiazepinler için en tipik hipnotiktir. 1960'lardan beri anksiyete, epilepsi ve alkol yoksunluğu gibi merkezi sinir sistemi bozukluklarını tedavi etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Woods, Katz ve Winger, 1992).

Klobazam; 1970'lerden beri dünya çapında birçok refrakter epilepsi formunda anksiyolitik bir ilaç olarak da kullanılmaktadır (Purcarin, 2014).

Gabapentin; ilk olarak 1993 yılında kısmi nöbetlerin tedavisi için oral ek tedavi olarak ve daha sonra 2000 yılında periferik nöropati için onaylanmıştır. Gabapentinin etkinliği klinik deneylerde ve birkaç klinik öncesi nöropatik ağrı modelinde gösterilmiştir (Field ve diğerleri, 1997; Rowbotham ve diğerleri, 1998).

Pregabalin; nöropatik ağrının tedavisinde dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır (Vranken ve diğerleri, 2008). GABA ile ilgili hiçbir etkiye sahip değildir; bununla birlikte, voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının α -2- δ alt birimine bağlanır. Bu durumda birkaç uyarıcı nörotransmitterin salınımını azaltır. Bu etki, pregabalini anksiyete tedavisi için potansiyel bir terapötik ajan yapmaktadır (Shneker ve McAuley, 2005).

Felbamat; çocuklardaki infantil spazmlara, absans ve Lennox - Gastaut sendromuna karşı etkilidir (Kayaalp, 2012).

Topiramat; diğer ilaçlara ilave olarak Lennox – Gastaut sendromuna eşlik eden epilepsilere karşı kullanılmaktadır. Buna ek olarak düşük dozlarda migren profilaksisi için de bir seçenektir (Kayaalp, 2012).

2.2.4. Antiepileptik ilaçların yan etkileri

Epilepsi tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen antiepileptik ilaçlar ile epilepsi kontrolü birkaç faktöre bağlıdır: etkinlik, hormonal değişimin yan etkileri, teratojenite, farmakokinetik, antiepileptik ilaçlar veya diğer ilaçlar arasındaki etkileşimler, serum seviyeleri, maliyet ve nöroloğun antiepileptik ilaç kullanımıyla ilgili deneyimidir. Antiepileptik ilaçlar nöbet sıklığı ve şiddetinin azalmasını sağlamakla birlikte, kullanımları sırasında bazı yan etkiler gözlemlenebilmektedir (Saltık, 2014). Bu yan etkiler hastanın tedaviye uyumunu ve klinik tabloyu olumsuz etkileyebilmektedir. Son otuz yılda, epilepsili hastaları tedavi etmek için mevcut olan kullanılan antiepileptik ilaçlar için, yan etki bildirimlerinde dikkate değer bir artış mevcuttur (Alick ve Doyle, 2021). Temel olarak antiepileptik ilaç kullanımındaki amaç, minimum yan etki reaksiyonu ile en yüksek ilaç etkinliği elde etmektir. Elbette diğer ilaç türleri gibi, antiepileptik ilaçlar da çeşitli yan etki reaksiyon türleri ile ilişkilidir. Bununla birlikte, antiepileptik ilaçların ortak mekanizması, birçok nöbet bozukluğunda son substratı oluşturan patolojik nöronal hipereksitabiliteyi baskılamak olduğundan, en sık yan etki reaksiyonu merkezi sinir sistemi üzerine olur (Kennedy ve Lhatoo, 2008). Antiepileptik ilaçların yan etkileri; merkezi sinir sistemi, davranışsal ve genel medikal sorunlar olmak üzere üç ana başlık altında tanımlanmıştır (Cramer, Mintzer, Wheless ve Mattson, 2010).

Rahim içinde antiepileptik ilaca maruz kalma, epilepsili kadınların çocuklarında majör konjenital malformasyonlar ve olumsuz bilişsel sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (Eadie, 2008; Harden, 2008). Hamilelik sırasında eski nesil antiepileptik ilaçların kullanımının, bebeklerde doğum kusurları riskinin iki ila üç kat artması ve maruz kalan bebekte muhtemelen başka olumsuz sonuçlarla ilişkili olduğu bilinmektedir (Tomson ve Battino, 2008).

İlaç uyumsuzluğunun klinikte olduğu gibi ayrıca ekonomik sonuçlar üzerinde de olumsuz etkileri olabilmektedir (Davis ve diğerleri, 2008). Ne yazık ki, antiepileptik ilaçlara uyumsuzluğun nöbet kontrolünün kaybına yol açabileceği iyi bilinmektedir (Jones, Butler, Thomas, Peveler ve Prevett, 2006).

Antiepileptik ilaçlar, çok sayıda advers reaksiyona ve ilaç-ilâç etkileşimlerine neden olabilen güçlü ajanlardır. Psikiyatrik ve davranışsal advers reaksiyonlar yaygındır ki bunlar depresyon, anksiyete, psikoz ve saldırgan davranışları içerir. Günlük pratikte, antiepileptik ilaçlara bağlı psikiyatrik ve davranışsal yan etki reaksiyonların klinik ifadesini, her bir hastadaki endojen klinik belirtilerden ayırt etmek zor olabilir. Levetirasetam, perampanel ve topiramat şu anda agresif davranış için en güçlü kanıtlara sahip antiepileptik ilaçlar olarak tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, benzodiazepinler, brivarasetam, fenobarbital, tiagabin, vigabatrin ve zonisamid de diğer antiepileptik ilaçlara kıyasla daha yaygın şiddetli davranış oluşumu ile ilişkilidir. Önceden psikiyatrik bozukluk öyküsü olan hastalarda risk artmaktadır. Bu tür ağır yan etkiler, antiepileptik ilaçlar daha fazla tedavisi zor epilepside kullanıldığı için, önemli bir klinik sorun haline gelmektedir dolayısıyla bu ilaçlarla nöbet kontrolü sağlandığında, etkili ilacın kesilmesini gerektiren büyük psikiyatrik ve davranışsal advers reaksiyonların ortaya çıkması muhtemeldir (Brodie ve diğerleri, 2016; Andres, Kerling, Hamer ve Winterholler, 2018; Steinig ve diğerleri, 2017).

Kesitsel araştırmalardan elde edilen veriler, antiepileptik ilaç kullanan epilepsili kişilerin %80'inin yan etki yaşadığını göstermektedir (Carreno ve diğerleri, 2018). Yan etkiler, antiepileptik ilaç kullanımının başarısızlığının en temel faktörleri. Bu yan etkiler, hem genel hasta uyumunu olumsuz yönde etkilerken hem de hastaların %25'ine varan oranda tedavinin erken kesilmesine sebep olmaktadır. Dahası yan etkiler; sakatlıkların, morbidite ve mortalitelerin de temel kaynağı olarak belirtilir (Perucca ve Gilliam, 2012). Bazı çalışmalar, yaşam kalitesinin, bildirilen yan etkiler ve antiepileptik ilaçların tolere edilebilirliği ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Baker, Jacoby, Buck, Stalgis ve Monnet, 1997; Kuzmanova, Stefanova, Velcheva ve Stambolieva, 2014).

Çocukluk çağında antiepileptik ilaç kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalarda yan etki insidansının %5,3 ile %63,5 arasında değişmektedir (Kousalya, Swathi Cherukuri, Padmasani ve Arun Prasath, 2014; Korkut ve Aydın, 2022). Bu farklılıkların nedeni, farklı

Çalışma popülasyonu, bölgesel olarak farklı ilaçların kullanımı ve/veya farklı çalışma metodolojisinin benimsenmesi olabilir.

Antiepileptik ilaçların başlık bazında temel yan etkileri incelenecek olursa (Kayaalp, 2012);

Fenitoin ve benzerleri

Vestibloserebeller sistemde disinhibisyon, nistagmus, ataksi, dizartri, uykusuzluk, sinirlilik hali, tremor, zihinsel konsantrasyon, mental ve motor işlemlerinde hız bozukluğu, polinöropati, gingiva hipertrofisi, morbiliform döküntüler, hematolojik bozukluklar, D vitamini eksikliği, bulantı, kusma, akut karın krizi, hirsutizm, teratojeni.

Fenobarbital ve türevleri

Sedasyon, uyuşukluk, başdönmesi, ataksi, nistagmus daha seyrek olmak üzere; ciltte makülopapüler, skarlatiniform veya morbiliform, hiperkrom makrositik anemi, raşitizm, osteomalasi ve K avitaminozuna bağlı kanamalar.

Karbamazepin

Uyuşukluk, sersermlik, ataksi, baş dönmesi, diplopi, nistagmus, bulantı, kusma, mide sıkıntısı, karın ağrısı, iştahsızlık, diyare ve bazen kabızlık, ağızda kuruluk, midriyazis, yakın görmede bozulma, idrar retansiyonu, eritroderma, ekfoliyatif dermatit, toksik pstloderma, sistemik lupus eritematosus benzeri reaksiyon, Steven Johnson sendromu ve toksik epidermal nekroliz, kemik iliği depresyonu ve lenfadenopati, seyrek olarak lökopeni, trombositopeni, agranülositoz ve aplastik anemi, dilüsyonel hiponatremi, seyrek olarak hipertansiyoni sol ventrikül yetmezliği, kardiyovasküler kolapi.

Sksinimidler

Psişik belirtiler, uyuşukluk, letarji, fofotofobi, baş dönmesi, baş ağrısı, bulantı, kusma, iştahsızlık, ritker, Stevens Johnson sendromu, cilt döküntüleri, eozinofili, lupus eritematosus, lökopeni, aplastik anemi.

Sodyum valproat

Kusma, karında kramp, diyare, sedasyon, uyuşukluk hali, kanama zamanında uzama, lökopeni, pansitopeni, geçici saç dökülmesi, ketoasidoz, hiperamoniemi, ensefalopati, teratojenite.

Oksazolidindion

Uyuşukluk, sedasyon, görme bulanıklığı, ışıklı ortamdan rahatsızlık, lenfadenopati, lupus eritematosus, hepatit, nefroz, fatal aplastik anemi, güçlü teratojenite.

Antiepileptik benzodiazepinler

Uyuşukluk hali, ataksi, nistagmus, dizartri, agresif davranış, huzursuzluk, hiperkinezi, solunum depresyonu, ani kesilmesine bağlı olarak status epileptikus ve yoksunluk sendromu.

Gabapentin

Uyuklama, baş dönmesi, ataksi, kesiklik, nistagmus.

Pregabalin

Bulantı, kusma, uyuşukluk, görme bozukluğu, cinsel işlev bozukluğu, depresyon, uykusuzluk, aritmi, hipo/hiperglisemi, kalp yetmezliği, bilinç kaybı.

Vigabatrin

Görme alanı defektleri, uyuşukluk, ataksi, baş dönmesi, baş ağrısı, irritabilite, ajitasyon, kesiklik, psikoz.

Lamotrijin

Cilt dökülmeleri, anjiyoödem, Stevens-Johnson, toksik epidermal nekroliz, baş dönmesi, baş ağrısı, ayaksi, bulantı, kusma, uyuklama, görme bulanıklığı, diplopi, aplastik anemi, trombositopeni.

Felbamat

İştah azalması, uykusuzluk, bulantı, kusma, diyare, baş dönmesi, kesiklik.

Topiramat

Psşik, nörolojik bozukluklar, akut miyoplik, dar açılı glokom, nefrolitiaz.

Tiagabin

Beceri isteyen işlerin yapılamaması (araba sürme, makina kullanma gibi).

Levetirasetam

Yorgunluk hissi, sinirlilik.

Zonisamid

Uyuklama, ataksi (Kayaalp, 2012).

Genel olarak yeni nesil antiepileptik ilaçlarda, eski ilaçlara kıyasla daha az yan etki görüldüğü belirtilmektedir (Kumar, Sarangi, Tripathi ve Gupta, 2020). Anderson ve diğerleri (2015) yan reaksiyonlara en sık neden olan antiepileptik ilaçların valproik asit (%33) ve karbamazepin (%25) olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.5. Antiepileptik ilaçların etkileşimleri

Karmaşık farmakokinetik özellikleri nedeniyle antiepileptik ilaçlar, ilaç-ilaç etkileşimlerine dahil olmaya en yatkın ilaç sınıfları arasındadır. Farmakodinamik etkileşim riski ise, diğer merkezi sinir sistemi ilaçlarla birlikte reçete edilmesiyle artar (Johannessen ve Landmark, 2010). İlaç kullanan popülasyona dayalı çalışmaların verilerine göre, epilepsili hastaların %19-24' ü çoklu antiepileptik ilaç tedavisi görmektedir (Johannessen Landmark ve diğerleri, 2009; van de Vrie-Hoekstra, de Vries, van den Berg, Brouwer ve de Jong-van den Berg, 2008). Dirençli epilepsisi olan çocuklar ve yetişkinlerin ilaç kullanım verilerine göre hastaların %64'ü iki veya daha fazla antiepileptik ilaç ile çoklu tedavi kullanmaktadır. Yetişkinlerin %35'i merkezi sinir sistemi ile ilgili komorbid durumlardan mustarip ki bu da önemli etkileşim risklerine neden olmaktadır (Landmark, Rytter ve Johannessen, 2007; Rytter, Landmark ve Johannessen, 2009).

Eski nesil antiepileptik ilaç etkileşimleri birçok kez araştırılmıştır, yeni ikinci ve üçüncü nesil ilaçlar, eski ilaçlara göre daha az rağbet görmektedir, bu da hastalar için daha az karmaşık terapötik sonuç ve komplikasyon anlamına gelir. Ancak, yeni nesil antiepileptik ilaçlar sıklıkla karaciğerde metabolize edildiğinden, bunların çoğu ilaç etkileşimlerine neden olabilir veya serum konsantrasyonları, ilaç eklenmesiyle artabilir ya da azalabilir (Johannessen Landmark ve Patsalos, 2010; Patsalos ve diğerleri, 2008).

Epilepsi tedavisi nöbetleri durdurmayı amaçlar ancak, farmakolojik etkiyi kontrol altına alacak doğrudan bir önlem olmadığından ilaçların terapötik olarak izleniyor olması farmakovijilansa önemli bir araçtır (Jaquenoud Sirot, van der Velden, Rentsch, Eap ve Baumann, 2006). Bir hasta, birden fazla ilaçla tedavi edildiğinde, genellikle terapötik sonucun değişmesine neden olabilecek ve klinik olarak önemli ilaç etkileşimleri riski meydana çıkar ve etkileşimler farmakolojik varyasyona önemli bir katkıda bulunur. Terapötik izleme, antiepileptik ilaçların etkileşimlerinin serum konsantrasyonlarını ölçerek ortaya çıkarır ve uygun doz ayarlamalarını mümkün kılmaktadır (Johannessen ve Landmark, 2010; Patsalos ve diğerleri, 2008).

Pratikte en sık kullanılan bazı antiepileptik ilaçların etkileşimleri şu şekildedir;

Karbamazepin

Fenobarbital, fenitoin ve valproat CYP3A4'ü indükleyerek Karbamazepin metabolizmasını artırır; karbamazepin de fenitoinin biyotransformasyonunu arttırabilir. Karbamazepinle eşzamanlı verilmesi nedeniyle valproat, lamotrijin, tiagabin ve topiramatin konsantrasyonlarını düşürebilir. Karbamazepin haloperidolün hem plazma konsantrasyonunu hem de terapötik etkisini azaltır. Karbamazepinin metabolizması propoksifen, eritromisin, simetidin, fluoksetin ve isoniazid tarafından baskılanabilir (Brunton, Lazo ve Parker, 2009). Karbamazepinin ilaç etkileşimleri konusu ilgili kısımda ayrıntılı şekilde yer almaktadır (Bkz: 2.3.6. *Karbamazepinin ilaç etkileşimleri*).

Valproat

Güçlü bir enzim inhibitörü olan valproat, sitokrom p450 (CYP), üridin glukuronil transferazları (UGT) ve epoksit hidrolaz dahil olmak üzere çeşitli enzimlerin inhibitörüdür. Lamotrijin (glukuronidasyon), fenobarbital (oksidasyon), karbamazepin metaboliti 10,11-epoksit (epoksit hidrolaz) ve etosuksimit (oksidasyon) metabolizmasını inhibe eder. İnhibe edilen ilaçların serum konsantrasyonlarının artmasına ve sonuç olarak toksisite riskinde artışa yol açar (Patsalos, Fröscher, Pisani ve van Rijn, 2002).

Lamotrijinin serum konsantrasyonu, valproat ile %211 oranında artar ve yarılanma ömrü 30 saatten 60 saate çıkar (May, Rambeck ve Jürgens, 1999). Bu etkileşim oldukça önemlidir çünkü lamotrijinin neden olduğu deri döküntüleri, lamotrijinin serum konsantrasyonundaki artış hızına bağlıdır. Mevcut valproat tedavisine lamotrijinin eklenmesi, bu nedenle düşük bir başlangıç dozu ve dikkatli bir doz artışı gerektirir ayrıca lamotrijinin, valproat tedavisine eklenmesi de valproatın serum konsantrasyonunu %25 oranında arttırmaktadır (Anderson ve diğerleri, 1996).

Yapılan çalışmalarda görülmüştür ki, valproat amitriptilin ve nortriptilin metabolizmasını inhibe eder (Elger ve diğerleri, 2009). Valproatın eklenmesiyle serum fenobarbital konsantrasyonları da önemli ölçüde artış gösterebilir (May ve diğerleri, 1999). Yan etkilerden kaçınmak için fenobarbital dozunun %80'e kadar azaltılması gerekebilir. Valproat, rufinamid konsantrasyonlarını özellikle çocuklarda, ilaç olarak valproat almayan hastalara kıyasla yaklaşık %70 oranında artırır ve bu bulgu, karboksilesterazların

inhibisyonu ile açıklanmaktadır (Perucca, Cloyd, Critchley ve Fuseau, 2008). Yetişkinlerde, valproat tarafından rufinamid klirensindeki tahmini azalma %17'dir (Brodie ve diğerleri, 2009).

Valproatın, enzim indükleyicileri için tarif edildiği gibi antipsikotikleri etkileyip etkilemediğine dair çelişkili görüşler mevcuttur (Besag, Berry, Pool, Newbery ve Subel, 1998; Stephen, 2003). Enzim inhibisyonunun neden olduğu sisplatin ve etoposid gibi antineoplastik ilaçlarla ilişkili hematolojik yan etkilerin insidansında üç kat artışa neden olmaktadır (Bourg, Lebrun, Chichmanian, Thomas ve Frenay, 2001). Oral kontraseptiflerden lamotrijin ile benzer bir mekanizma ile etkilenir, ancak toplam ve bağlanmamış valproatın görünür klerensinde daha az belirgindir (Galimberti ve diğerleri, 2006). Klirensi ise klorpromazin ile orta derecede azaltılmaktadır (%15) (Ishizaki, Chiba, Saito, Kobayashi ve Iizuka, 1984).

Fenitoin

Fenitoin, karbamazepin, okskarbazepinin aktif metaboliti, lamotrijin, etosüksimid, valproat ve primidonun serum konsantrasyonunu, enzim indüksiyonu sonucunda azaltır. Fenobarbitalin serum konsantrasyonu üzerindeki etkisi değişkendir; azalma veya artma yapabilir. Kloramfenikol, simetidin, dikumarol, disulfiram, izoniazid, sulfonamidler, dekstropropofen, trimetropim ve tioridazin, fenitoinin serum konsantrasyonunu yükselten farmasötiklerdir. Farmakolojik dozda folik asit ve kronik alkol alınması da fenitoin düzeyini düşürür (Kayaalp, 2012).

Fenobarbital

Fenobarbital seyrek olarak enzim indüksiyonu ile fenitoinin metabolizmasını artırabilir ve serum düzeyini düşürebilir; ayrıca gastrointestinal absorpsiyonunu azaltarak da fenitoin serum konsantrasyonunu düşürebilmektedir. Ancak bu etkiler, fenobarbitalin daha sık görülen bir etkisi olan fenitoin metabolizmasının inhibisyonu ile kısmen veya tamamen ortadan kaldırılabilir; bu nedenle net etki değişkenlik göstermektedir. Fenobarbital, lamotrijinin serum konsantrasyonunu artırır. Fenobarbital sedatif etkili diğer ilaçlarla ise aditif farmakodinamik etkileşim göstermektedir. Folik asit, fenobarbitalin serum

konsantrasyonunu düşürmektedir. Bir fenobarbital türevi olan primidon ile ilgili etkileşmeler ise fenobarbitalinkilerle benzerdir (Kayaalp, 2012).

Okskarbazepin

Okskarbazepin, CYP2C19'un zayıf bir inhibitörüdür ve fenitoin ve fenobarbitalin serum konsantrasyonunu artırabilir (Hossain, Sallas, Gasparini ve Souza, 1999). Sağlıklı kadınlarda yapılan bir araştırmada, okskarbazepinin oral kontraseptiflerden etinil estradiol ve levonorgestrel ile birlikte uygulanmasıyla, eğri altındaki alanlarında %47 ve yarı ömürlerinde ise %45 oranında azalma tespit edilmiştir (Fattore ve diğerleri, 1999).

Topiramat

Günlük 50-200 mg/gün dozlarında kullanılan topiramat, etinil estradiol ve noretindron içeren oral kontraseptiflerin serum konsantrasyonlarını önemli ölçüde etkilemez (Rosenfeld, Doose, Walker ve Nayak, 1997). Bununla birlikte, daha yüksek dozlarda (400 mg/gün'e kadar), oral klerenste %18-33 artışla orta düzeyde bir indükleyici etki görülmüştür (Doose ve diğerleri, 2003b). Topiramat, hidroklortiazid, metformin veya pioglitazon ile kombinasyon halinde kullanılacaksa her iki ilacın da doz ayarlamasını gerektirebilir ve yakından izlenmelidir ayrıca karboanhidraz inhibitörlerinden kaçınılmalıdır (Lyseng-Williamson ve Yang, 2007).

Etosüksimid

Etosüksimid, diğer antiepileptiklerin serum konsantrasyonlarında belirgin bir değişiklik yapmamaktadır ancak karbamazepin, fenitoin, fenobarbital ve primidon bu ilacın serum konsantrasyonunu düşürür (Kayaalp, 2012).

Lamotrijin

Günde 350 mg lamotrijin ile oral kontraseptif kullanan 22 kadın ve aynı doz lamotrijin kullanıp da oral kontraseptif kullanmayan 30 kadınla yapılan bir çalışmada, lamotrijinin serum konsantrasyonunun %50'den fazla azaldığı tespit edilmiştir (Christensen ve diğerleri, 2007; Sabers, Ohman, Christensen ve Tomson, 2003). Ayrıca, Reimers ve diğerleri

lamotrijin konsantrasyonlarını azaltan şeyin progesteron değil etinil estradiol olduğunu keşfetmişlerdir (Reimers, Helde ve Brodtkorb, 2005). Bu etkileşimin steroidler tarafından UGT1A4 aktivitesinin uyarılmasından kaynaklanması muhtemeldir ve bazı kadınlarda nöbet kontrolünün azalmasına da neden olabilir (Aguglia ve diğerleri, 2009).

Stiripentol

Stiripentol, dört ana yoldan geniş ölçüde metabolize edilir ve doğrusal olmayan bir kinetik sergiler. Güçlü bir CYP3A4, 1A2 ve 2C19 inhibitörüdür ve fenitoin, karbamazepin, fenobarbital, valproik asit ve klobazam gibi antiepileptiklerin serum konsantrasyonunu artırır (Tran ve diğerleri, 1996; Trojnar, Wojtal, Trojnar ve Czuczwar, 2005). Sonuç olarak, metabolitlerinin konsantrasyonları azalır, bu da karbamazepin ve onun epoksit metaboliti için olduğu gibi orijinal ilaçların tolere edilebilirliğinin artmasına neden olabilir (Tran ve diğerleri, 1996). Stiripentolün birkaç CYP üzerindeki inhibitör etkisi nedeniyle, anestezi, hipertansiyon, diyabet ve astım için kullanılan ilaçlar da dahil olmak üzere CYP P450 sistemi yoluyla elimine edilirse, eşzamanlı olarak kullanılan ilaçların dozu %50 azaltılmalıdır, Warfarin ise kullanılmamalıdır (Chiron, 2007).

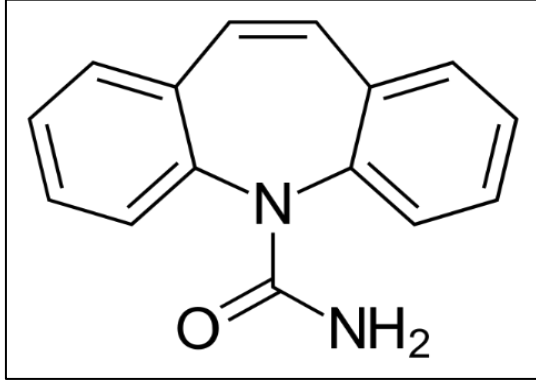
2.3. Karbamazepin

Karbamazepin ($C_{15}H_{12}N_2O$), esas olarak epilepside kısmi nöbete karşı en etkili olan trisiklik bileşiklerden birisidir. Molekülün epilepsi alanına girmesiyle, atakları kontrol etmek için yeni bir aşamaya geçilmiştir. İlk olarak, İsviçre'de kimyager Walter Schindler tarafından keşfedilen karbamazepin (1954), 1962'de trigeminaliyi tedavi etmek üzere pazarlanmış ve 1965'ten itibaren İngiltere'de antikonvülzan ve antiepileptik olarak kullanılmaya devam etmiştir. 1974 yılından ABD'de onaylanmıştır (Grzesiak, Lang, Kim ve Matzger, 2003).

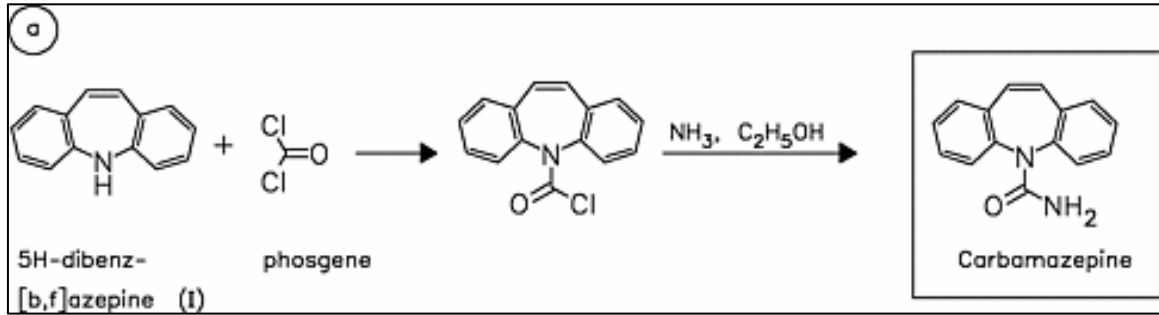
2.3.1. Karbamazepinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Karbamazepin, 5H-dibenz [b,f]azepin-5-karboksamid, %76.25 karbon, %5.12 hidrojen, %11.86 nitrojen ve %6.77 oksijenden oluşan bir bileşiktir (Şekil 2.3). 236,3 g.mo/L moleküler ağırlığında sahip karbamazepinin çözünürlüğü 17,7 mg/L ve yarılanma ömrü 25-65 saattir(25°C). 5H-dibenz[b,f]azepin ve fosgenin reaksiyona girmesiyle 5-klorkarboksi-5H-dibenz[b,f]azepin oluşur ve sonrasında amonyakla reaksiyonu sonucunda karbamazepin

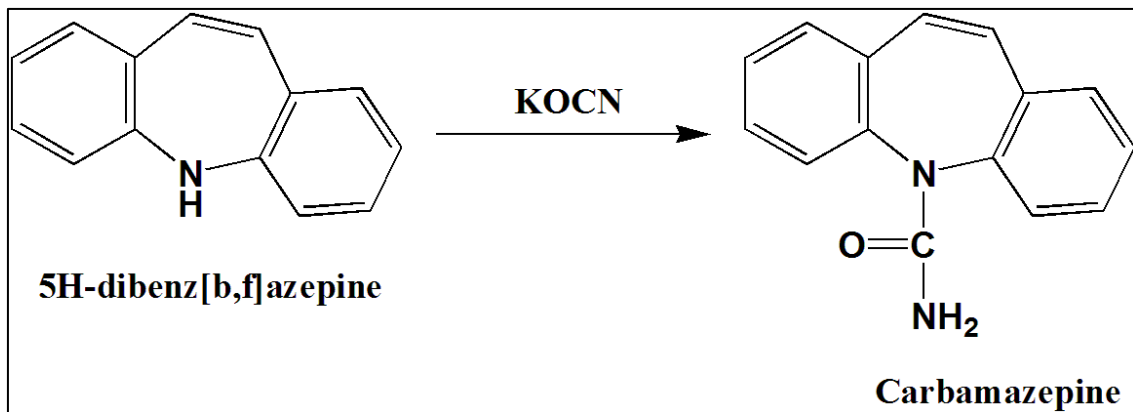
sentezlenir (Şekil 2.4) (Schindler, 1960). Bir diğer sentez yöntemi ise 5H-dibenz [b, f]azepinin potasyum siyanat ile doğrudan reaksiyona girmesi ile oluşmaktadır (Şekil 2.5) (Krahnefeld ve Wunderlich, 1977).



Şekil 2.3. Karbamazepin Yapısal Formülü



Şekil 2.4. Karbamazepinin fosfogen ile reaksiyonu sonucu



Şekil 2.5. Karbamazepinin potasyum siyanat ile sentezi

2.3.2. Karbamazepinin etki mekanizması

Karbamazepin etki mekanizması tam olarak açıklanmamıştır ancak esas olarak sodyum kanallarına bağlandığı öne sürülmüş ve kalsiyum ve potasyum kanalları ile etkileşimleri bildirilmiştir. Genel olarak karbamazepin, sodyum, potasyum ya da kalsiyum iletkenliğini değiştirerek veya GABA ve glutamatı yahut nöbet aktivitesiyle ilgili olabilecek diğer nörotransmitterleri etkileyerek nöronal uyarılabilirliği azaltır veya inhibitör etkisini artırır (Sims, Burton ve Shaw, 2006, Thorn ve diğerleri, 2011).

Karbamazepin inaktive edilmiş Na⁺ kanalına bağlanır ve yenilenme inaktivasyonunu yavaşlatır. Ayrıca sinaptik membranlara Ca⁺² girişini de engeller. Sinaptik işlevi baskılar ve güçlenme sadece supratherapötik seviyelerde azalır. Karbamazepin, yüksek konsantrasyonlarda katekolamin alımını engeller. Trisiklik antidepresanlara kimyasal olarak bağlı olduğu için biyojenik amin geri alımını engellemiş olur. Karbamazepinin adenosin reseptörlerinin iki alt tipine, A1 ve A2'ye bağlanması, iyileştirici tedavilerde geniş yüzey alanına bağlanmanın gerçekleşmesine izin verir. Bu nedenle Karbamazepin, A1-reseptör alt tipinde, nöronal eylem ve nörotransmitter deşarjı üzerinde adenosini güçlü inhibitör manipüle ederek eylem boyunca hareket eder. Bu reseptörlerde bir antagonist görevi görür ve nöronal uyarılabilirliği artırması beklenir (Chwalczuk ve diğerleri, 2008, Lipkind ve Fozzard, 2010).

2.3.3. Karbamazepinin farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri

Karbamazepin, oral uygulamadan sonra %75-85'lik bir biyoyararlanım ile yavaşça emildiği bildirilmiştir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %70-80'e ulaşır ve neredeyse tamamı karaciğerde epoksidasyon ve hidroksilasyon reaksiyonları ile metabolize edilir. Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık 35 saattir, ancak çocuklarda (≈10 saat) daha düşük ve yaşlı hastalarda (30-50 saat) daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Patsalos, 2013, Sims ve diğerleri, 2006, Tolou-Ghamari, Zare, Habibabadi ve Najafi, 2013).

Karbamazepin, CYP3A4'ün güçlü bir indükleyicisidir (Giessmann ve diğerleri, 2004). CYP3A4, CYP3A5 ve CYP2C8 enzimleri tarafından CBZ-10,11-epoksite metabolize edilir. Bu reaktif metabolit, farmakolojik olarak aktif ve potansiyel olarak toksik olduğu için büyük önem taşımaktadır (Korinthenberg, Haug ve Hannak, 1994). CYP3A4 ve CYP2C8,

karbamazepinin epoksidasyon yoluyla karbamazepin-10,11-epoksite dönüşümünü katalize eder (Parker, Pritchard, Preston ve Choonara, 1998). Bu durumda ise, epoksit hidrolaz tarafından daha da metabolize edilir ve idrarla atılır. Karbamazepin aynı zamanda karmaşık farmakokinetiğe yol açan bir otoindükleyici özelliğe sahiptir. Bununla birlikte, bazı raporlara göre CYP1A2'yi de indükler (EMA, 1998). CBZ-10,11-epoksit plazma seviyeleri bireyler arası değişkenlik gösterir; yetişkinlerde ve çocuklarda sırasıyla toplam karbamazepin konsantrasyonlarının %15-55'ini ve %5-81'ini oluştururlar (Bu ve diğerleri, 2005). CBZ-10,11-epoksit ayrıca mikrozomal epoksit hidrolaz (EPHX1) tarafından inaktif molekül CBZ-10,11-trans-dihidrodiol'e metabolize edilir. Karbamazepinin diğer metabolik yolları, CBZ'nin CYP3A4 ve CYP2B6 enzimleri tarafından 2-hidroksi-CBZ (2-OH-CBZ) ve 3-hidroksi CBZ'ye (3-OH-CBZ) dönüştürülmesini içerir. Karbamazepinin yaklaşık %15'i glukuronidasyon ile elimine edilir; dolayısıyla, UDP UGT'ler de karbamazepin metabolizmasında yer alır (Pearce ve diğerleri, 2008, Thorn ve diğerleri, 2011).

Karbamazepin %72 oranında karaciğerden emilir ve metabolize edilir ve %28'i dışkı yoluyla atılır. Üredekı metabolitleri karbamazepin, karbamazepin-epoksit, karbamazepin-diol, karbamazepin-akrida, 2-OH-karbamazepin, 3-OH-karbamazepindir.

2.3.4. Karbamazepinin kullanım alanları

Günümüzde yoğun olarak kullanılan ilaçlardan olan karbamazepin esas olarak epilepsi, aritmi, depresyon ve diğer hastalıkların tedavisi için kullanılır (Tulloch, Carr ve Ensom, 2012). İmipramin ve desipramin gibi trisiklik antidepresanlara bağlanan bir yapı sunar (Bialer, 2012). Karbamazepin aynı zamanda, fokal başlangıçlı (farkındalık ve bozulmuş farkındalık) ve genel başlangıçlı tonik-klonik nöbetlerin tedavisinde de duyu duru düzenleyici olarak kullanılmaktadır (American Psychiatric Association, 2002; Brodie ve Dichter, 1997; Fisher ve diğerleri, 2017).

2.3.5. Karbamazepinin kontrendikasyonları

Karbamazepin, kemik iliğı depresyonuna sahip ve bu ilaca veya amitriptilin gibi trisiklik bileşiklere aşırı duyarlılığı olan hastalarda kontrendikedir (Verrotti, Scaparrotta, Grosso, Chiarelli ve Coppola, 2014). Juvenil myoklonik epilepsi, juvenil absans ve Lennox-Gastaut gibi epileptik ensefalopatilerde nöbetleri arttırır, bu kontrendikasyondan ötürü

kullanılmamaktadır. Aynı şekilde, myoklonik jerkleri, absans nöbetlerini ve atonik nöbetleri arttırabilir. Yenidoğan nöbetleri ve febril nöbetlerde etkili değildir (Dam, Ekberg, Løyning, Waltimo ve Jakobsen, 1989).

Yüksek karaciğer transaminazları değeri, lökopeni ve aplastik anemisi olan hastalar ayrıca olası kontrendikasyonlar açısından yakından izlenmelidir (Brunton ve diğerleri, 2009).

2.3.6. Karbamazepinin ilaç etkileşimleri

Karbamazepin, fenitoin, fenobarbital ve primidon birlikte uygulandığında, çoğu antiepileptik ilacın metabolizma hızını uyararak ve diğer antiepileptik ilaçları indükleyen başlıca enzimlerden CYP enzimlerinden UGT ve epoksit hidrolazı uyarır. Ayrıca karbamazepin, fenitoin ve barbitüratlar tarafından otoindüksiyona ve heteroindüksiyona uğrar (Perucca, 2006). Karbamazepinin aktif 10,11-epoksit metaboliti, epoksit hidrolaz tarafından metabolize edilir. Etkilenen antiepileptik ilaçların serum konsantrasyonundaki azalmanın sonuçları, eklenen komedikasyonun farmakolojik etkisi ile telafi edildiğinden, bu etkileşimlerin klinik önemi genellikle orta düzeydedir. Etkilenen antiepileptik ilaçların doz ayarlamaları en yaygın olarak valproat, lamotrijin ve tiagabin için gereklidir, çünkü bu ilaçların karbamazepin eklendikten sonra serum konsantrasyonlarında azalma oldukça belirgin olabilir (%50-75) (Perucca, 2006).

Günlük 600 mg olarak kullanılan karbamazepin etinil estradiol ve noretindronun klirensini sırasıyla %127 ve %69 oranında artırır (Dose ve diğerleri, 2003a). Psikotrop ilaçlarla ilgili olarak, karbamazepin hem eski tipik ilaçların hem de daha yeni atipik ilaçların serum konsantrasyonlarını azaltır (örneğin risperidon, klorzapin, olanzapin, ketiapin, ziprasidon, aripiprazol, haloperidol, klorpromazin ve klomipramin ve imipramin gibi daha eski antidepresanlar). Bu gibi kombinasyonlardan kaçınmak mümkün olmayabileceğinden, doz ayarlamalarında genellikle ekstra özen gösterilmektedir (Mula, 2008).

Antiepileptiklerin dışındaki birçok ilaç da karbamazepin metabolizmasını etkilemektedir. Bilinen CYP3A4 inhibitörleri dahil olmak üzere birçok ilaç, serum karbamazepin konsantrasyonlarını artırarak karbamazepin toksisitesi belirtilerini hızlandırabilir. Örneğin, klaritromisin, troleandomisin ve eritromisin gibi antibiyotik ajanlar ve dekstropropoksifen gibi analjezik ilaçlar, serum karbamazepin konsantrasyonlarını ciddi şekilde arttırdıkları için

karbamazepin alan hastalarda potansiyel olarak ciddi klinik sonuçlara yol açar ve bu kombinasyonlardan mutlak surette uzak durulur (Bergendal, Friberg, Schaffrath, Holmdahl ve Landahl, 1997; Pauwels, 2002). Probenesidin, karbamazepin-10,11-epoksit biyotransformasyonunu artırarak karbamazepinin serum konsantrasyonunu düşürdüğü düşünülmektedir (Kim, Oh, Par ve Park, 2005). Antipsikotik ilaçlardan risperidon ve muhtemelen haloperidol, karbamazepin serum konsantrasyonunu artırır (Besag ve diğerleri, 1998).

2.3.7. Karbamazepinin yan etkileri

Karbamazepinin yan etkileri arasında, karaciğer hasarı, aplastik anemi ve agranülositoz gibi bozukluklar yer alır (Björnsson ve Olsson, 2005; Zaccara, Franciotta ve Perucca, 2007). Uzun kullanımının risk faktörü olduğu belirtilirken, karbamazepine bağlı ciddi karaciğer hasarı gelişen hastaların ortalama 30 hafta ilaç tedavisi gördüğü bildirilmiştir (Björnsson, 2008).

Karbamazepin, Güneydoğu Asya ülkelerinde tıbbi olarak kullanılması nedeniyle Stevens-Johnson sendromunun ve ilişkili hastalık toksik epidermal nekrolizin ana nedenidir (Chen ve diğerleri, 2011). Toplam mortalite oranı %30 olan bu cilt hastalıkları, hücre ölümünü artırarak epidermin dermisten ayrılmasına neden olur (Pereira, Mudgil ve Rosmarin, 2007).

Çalışmalar karbamazepinin intrauterin maruziyetinin, insan embriyosunda spina bifida (Jentink ve diğerleri, 2010) ve nörogelişimsel sorunlara (Cummings, Stewart, Stevenson, Morrow ve Nelson, 2011) yol açtığını ortaya koymuştur. Atkinson ve diğerleri (2007) ayrıca hamilelik sırasında karbamazepin verilen kadınlar arasında daha yüksek fetal kayıplar ve konjenital malformasyon oranları bildirmiştir.

2.3.8. Karbamazepinin çevresel kalıcılığı, konsantrasyonu ve dağılımı

Hem insan hem de veterinerlik tıbbı için dünyada kullanılan 3000'den fazla aktif farmasötik bileşen (PhAC) bulunmaktadır (Petrovic, 2014; Ternes, 2001). PhAC'ler ana farmasötik bileşik veya farmakolojik olarak aktif metabolitler olarak çevreye karışırlar (Halling-Sorensen ve diğerleri, 1998). Bu PhAC'ler ekosistemlere atıldığında, bileşenlerin yan

ürünleri de bu ortamlara salınmış olur (Ternes, 1998; Walters, McClellan ve Halden, 2010). Bu kimyasallar geleneksel atık su arıtma teknolojileri tarafından tamamen ortadan kaldırılmadığından, sucul ortamlarda büyük bir tehdit oluşturlar (Petrie, McAdam, Scrimshaw, Lester ve Cartmell, 2013).

Karbamazepin, PhAC grubuna girer ve çevresel sistemlerde en sık saptanan farmasötik bileşiklerden biridir (Luo ve diğerleri, 2014). Birçok farklı şekillerde çevreye boşaltılır ve burada kalıntı olarak su kütlelerinde kalıcılığa ve ekosistemler üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir. Üstelik, sulardaki yüksek konsantrasyonu nedeniyle de hedef olmayan türlere karşı tehdit oluşturmaktadır (Rho ve Sankar, 1999). Karbamazepin, tatlı su kaynaklarında kanalizasyon kontaminasyonunun antropojenik bir belirteci olarak önerilmiştir (Osorio, Reis, Lima ve Segundo, 2016).

Karbamazepin kontaminasyonu yaygındır. Örneğin, ABD genelinde 44 nehirde ortalama seviyeler suda 60 ng/L ve tortuda 4.2 ng/mg' dir (Buser, Poiger ve Müller, 1998). Karbamazepin en sık olarak ve en yüksek konsantrasyonda atık sularda tespit edilmiştir (6,3 g/L'ye kadar) (Ferrari, Paxéus, Lo Giudice, Pollio ve Garric, 2003). Ham atıksuda ng/L ila µg/L aralığında her konsantrasyonda bulunabilir ve geleneksel atık su arıtma tesisleri tarafından yalnızca zayıf şekilde uzaklaştırılabilir (Alvarino, Suarez, Lema ve Omil, 2014).

Tüketimi takiben, CBZ'nin %10'a kadarı insan vücudundan atılır (Luo ve diğerleri, 2014). Son çalışmalar, belediye atık suyunda 10 ila 10 000 ng/L konsantrasyonlarda karbamazepin bildirmiştir (Dvory ve diğerleri, 2018). Karbamazepin, geleneksel Atıksu Arıtma Tesisleri tarafından yetersiz şekilde uzaklaştırabilmektedir (tipik olarak %10'dan az) (Wijekoon ve diğerleri, 2003). Bu nedenle, arıtma tesisi atık suları, karbamazepinin yüzey ve yeraltı suyuna bulaşması için önemli bir geçittir. Genel olarak, karbamazepin konsantrasyonunun, atıksu arıtma tesisi atıklarında, yüzey suyuna kıyasla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir, çünkü seyreltme ve doğal azaltma, kirleticilerin konsantrasyonunu önemli ölçüde azaltabilir (Guo ve Krasner, 2009). Karbamazepin büyük olasılıkla atıksu arıtma tesisi atıklarının sızması yoluyla yeraltı suyuna ulaşmaktadır (Heberer, 2002). Ek olarak, depolama sahası sızıntı suyunun bulaşması ve birleşik kanalizasyon taşmaları yeraltı suyunu kirletebilmektedir (Stuart, Lapworth, Crane ve Hart, 2012).

Gibson ve diğerleri (2010) yaptığı araştırma sonucuna göre, Tula Vadisi'nden alınan toprak örneklerinin analizi, arıtılmamış atık su ile düzenli sulama yoluyla sürekli sulamaya rağmen asidik farmasötiklerin ve endokrin bozucuların tespit sınırının altındaki konsantrasyonlarda genel birikime katılmadığını doğrulamış; bu sonuç toprak profilleri boyunca çok az hareket olduğunu kanıtlamıştır. Buna karşılık, karbamazepin hem toprağın A horizonunda sulama ile birkaç yıllık ilavelere eşdeğer konsantrasyonlarında (2.6-7.5 lg /kg) hem de daha derin horizonlarında da tespit edilmiştir. Bu sayede, karbamazepinin kalıcılığı ve hareketliliği, yeraltı suyunu kontamine etme potansiyelini ortaya konmuştur (Gibson ve diğerleri, 2010).

Omurgasız tatlı su türleri üzerine etkileri

karbamazepinin de dahil olduğu çoğu PhAC, sucul sistemlerde yaygın olarak tespit edilir ve sucul ortamlarda kolayca taşınabilir (Breton ve Boxall, 2003). Atık sudan etkilenen yüzey sularındaki sucul organizmalar, özellikle PhAC'lere karşı hassastır (Garcia-Rodriguez, Matamoros, Fontas ve Salvado, 2014; Morley, 2009).

Ying ve diğerleri tarafından yürütülen bir deneyde (2009) karbamazepin için solunum katsayısı değeri (respiratory quotient value) 4,69 olduğu ve bunun, suda yaşayan organizmalar için potansiyel risk taşıdığı belirlenmiştir. Bununla birlikte karbamazepinin acil bir risk oluşturmayaabileceğini gösteren deneysel çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, Ferrari ve diğerleri, (2003) karbamazepinin bakteri, alg, mikro kabuklular ve balıklar üzerindeki toksikolojik etkilerini incelemiş ve test edilen organizmalar üzerinde nispeten sınırlı bir akut ekotoksositeye sahip olduğu gözlenmiştir.

Deniz kabukluları ilgili olarak, karbamazepinin toksik etkileri hakkındaki mevcut bilgiler *Daphnia magna* gibi model türlerle sınırlıdır (Rivetti, Campos ve Barata, 2016). Karbamazepinin sucul ekosistem zincirinin temel bir halkası olan *Daphnia magna* Straus (DMS) üzerindeki toksisitesini inceleyen bir çalışmada 21 günlük karbamazepin maruziyetinden sonra, artan konsantrasyonları ile birlikte üreme sıklığı, toplam yumurta sayısı, vücut uzunluğu ve DMS'nin içsel büyüme hızının azaldığı bulunmuştur. 0,5 mg/L karbamazepin fekunditede %69 ve fertilitede %60 oranında maksimum azalma gözlemlenirken, 0,001 mg/L karbamazepin konsantrasyonunda vücut uzunluğunda maksimum %60 azalma gözlemlendi. Entegre biyomarker yanıtı sürüm 2 (IBRv2) analizi,

karbamazepinin konsantrasyonundaki artışla birlikte DMS üzerindeki genel olumsuz etkisinin arttığını göstermektedir (Tian ve diğerleri, 2019).

Bu etkilerin yanı sıra 1 µg/L karbamazepinin *Daphnia magna*'da üremeyi ve pozitif fototaktik davranışı artırabildiği rapor edilmiştir (Rivetti ve diğerleri, 2016). Kovacevic, Simpson ve Simpson'ın yazdığı rapora göre serin, glisin ve alanin dahil aromatik amino asitlerin, enerji metabolizmasını değiştirecek, ölümcül olmayan karbamazepin maruziyeti için potansiyel biyoindikatörler olabileceğini belirtmiştir (Kovacevic ve diğerleri, 2016).

Tatlı su ekosisteminde yaşayan diğer bir deniz kabuklusu *Daphnia similis*'in karbamazepine akut maruziyetten sonra (4 gün), test edilen konsantrasyonlarda (6.25, 12.5, 25, 50, 100, and 200 µg/L) ölümcül toksisiteye neden olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, 6.25 µg/L'den yüksek konsantrasyonlarda karbamazepin kitobiazın deri değiştirmesini ve salınımını engellediği görülmüştür. Kronik maruziyetin sonucunda, ortalama kabuk değiştirme sayısı, ilk kuluçka boyutu, kuluçka başına ortalama yavru sayısı, dişi başına ortalama yavru sayısı ve dişi başına toplam yavru sayısının artan karbamazepin konsantrasyonları ile önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Karbamazepinin *D. similis*'te kabul değiştirme veya fekundite üzerindeki önemli etkileri, 0.03 µg/L kadar düşük konsantrasyonlarda bile gözlenmiş bu da *D. similis*'te bir endokrin bozucu olarak hareket edeceğini göstermiştir (Chen ve diğerleri, 2019).

Diğer canlı türlerindeki toksisitesi üzerine yapılmış çalışmalar

Karbamazepin, sıçanlarda kanserojen olarak kabul edilir, ancak memeli hücrelerinde mutajenik değildir. *Cnidarian Hydra vulgaris* ile yapılan bir çalışmada, diazepamın 10 g/L'de polip rejenerasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Kostich, Batt ve Lazorchak, 2014).

Malarvizhi, Kavitha, Saravanan ve Ramesh, karbamazepinin, sazan (*Cyprinus carpio*) için 24 saat boyunca öldürücü medyan konsantrasyonu 59,70 mg/L olarak belirlemiş, yine karbamazepinin, çeşitli organlarda glutamat oksaloasetat transaminaz (GOT), glutamat piruvat transaminaz (GPT) ve laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitelerinde değişikliklere neden olduğunu göstermiştir (Malarvizhi ve diğerleri, 2012). *Cyprinus carpio*'da yapılan güncel bir çalışmada üç farklı karbamazepin konsantrasyonunun (1,25, 2,5 ve 5 mg /L) kan faktörlerindeki değişiklikler üzerindeki etkileri çalışılmış ve karbamazepine maruz kaldıktan

sonra balıklarda kırmızı kan hücresi (RBC), beyaz kan hücresi (WBC) ve lenf sayımlarının azaldığı gösterilmiştir. Buna karşılık, karbamazepin maruziyetinden sonra hemoglobin, hematokrit, nötrofil ve monositlerin arttığı gösterilmiştir (Rezaei, Mashinchian Moradi, Mortazavi ve Jamili, 2020).

Aguirre-Martinez ve diğerlerinin çalışmalarında karbamazepinin, bir yengeç türü olan *Carcinus maenas*'ın stabil lizozom membranı, dibenzil floresan dehidrojenaz, glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz, lipid peroksidasyonu ve DNA eklentileri üzerinde önemli etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (Aguirre-Martínez ve diğerleri, 2013). Ayrıca, karbamazepinin etkilerine maruz kalan Aya midyesinin (*Corbicula fluminea*) solungaçları ve sindirim bezindeki sifonlama davranışları, biyolojik belirteçleri ve protein seviyelerinde değişiklik olduğu belirlenmiştir (Tulloch ve diğerleri, 2012).

Sudaki karbamazepin kalıntılarına uzun süre maruz kalmanın potansiyel insan sağlığı riskleri hakkında sınırlı araştırma yapılmıştır. Bugüne kadar yapılan risk değerlendirmeleri, genel olarak içme suyunda tespit edilen eser konsantrasyonlarda karbamazepinin insanlar için kabul edilemez bir sağlık riski oluşturmadığını göstermiştir (Snyder ve diğerleri, 2008).

2.4. Omurgasız Tatlı Su Türleri

2.4.1. Tatlı su istakozları (*Astacus (Pontastacus) leptodactylus*)

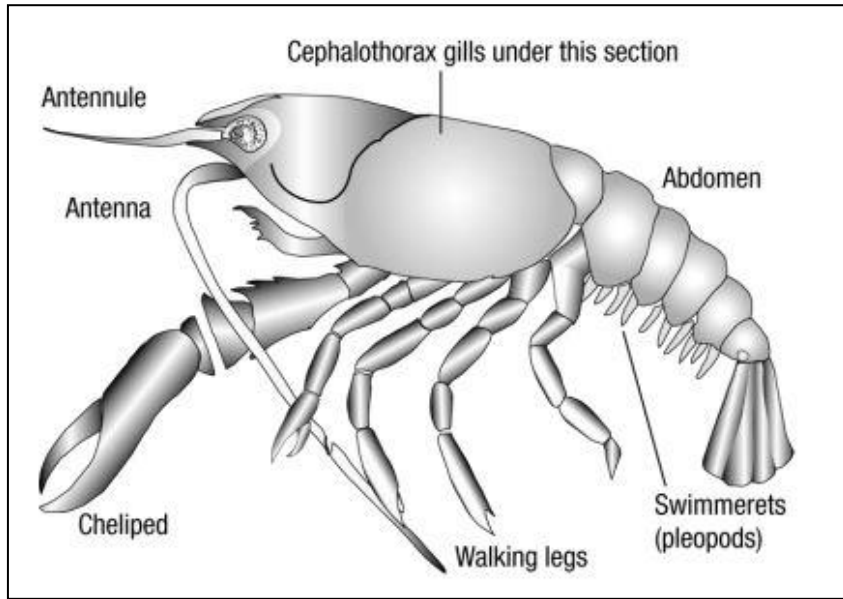
Tatlı su istakozları (kerevitler) dünyanın birçok bölgesinde ve ülkemizde dağılım gösteren yüksek derecede ekonomik, ticari ve ekolojik öneme sahip omurgasız hayvanlardır. Türkiye’de *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 (Türk kereviti) ve *Austropotamobius torrentium* Nordmann, 1842 (Taş kereviti) olmak üzere iki tür kerevit (tatlı su istakozu) dağılım göstermektedir. *Astacus leptodactylus*’un ülkemizde iki alt türe sahip olduğu bildirilmiş olup (*Astacus leptodactylus leptodactylus*, *Astacus leptodactylus salinus*) Anadolu’daki birçok iç su kaynağında doğal olarak yayılım gösteren tek tür olma özelliğine sahiptir.

Astacus leptodactylus (Eschscholtz 1823), sucul ekosistemlerdeki temel organizmalardandır ve su kirliliğini olduğu gibi yansıtan biyoindikatörlerdir; dolayısıyla kerevit popülasyonları üzerindeki olumsuz etkiler tüm topluluklarda değişikliklere neden olur. *Astacus*

leptodactylus ayrıca kültür potansiyeli ve geniş tüketici talebi nedeniyle Avrupa'daki en önemli kerevit türlerinden biridir. Bu nedenle her yıl düzenli olarak ihraç edilmektedir. Son zamanlarda, aşırı avlanma, kirlilik ve kerevit vebası (*Aphanomyces astaci*) nedeniyle tatlı su istakozlarının toplam yıllık hasadı önemli ölçüde azalmıştır. Türkiye'nin göl, nehir ve göletlerinde de doğal olarak bulunur ve geniş bir yayılım alanına sahiptir. Besin kalitesi açısından da en çok tercih edilenlerden olan kabukluları işlemede Türkiye önemli bir yere sahiptir. 2014 ve 2015 yıllarında tatlı su istakozların av verimi sırasıyla 582 ve 532 ton olarak bildirilmiştir (Barim-Oz., 2018; Harlioglu ve diğerleri, 2013; Turkish Statistical Institute, 2016).

Tatlı su istakozlarının morfolojik özellikleri

Tatlı su istakozları, Decapoda takımına ait Krustase sınıfının Arthropoda şubesinde yer alan omurgasızların geniş bir grubudur. Beş çift yüzme ayağına ve dayanıklı esnek bir dış iskelete sahiptirler ve büyümek için kabuk değiştirmek zorundadırlar (Mazlum ve Yılmaz, 2012).



Şekil 2.6. Tatlı su istakozunun dıştan görünümü (Australian Government Department of Agriculture, Water and the Environment)

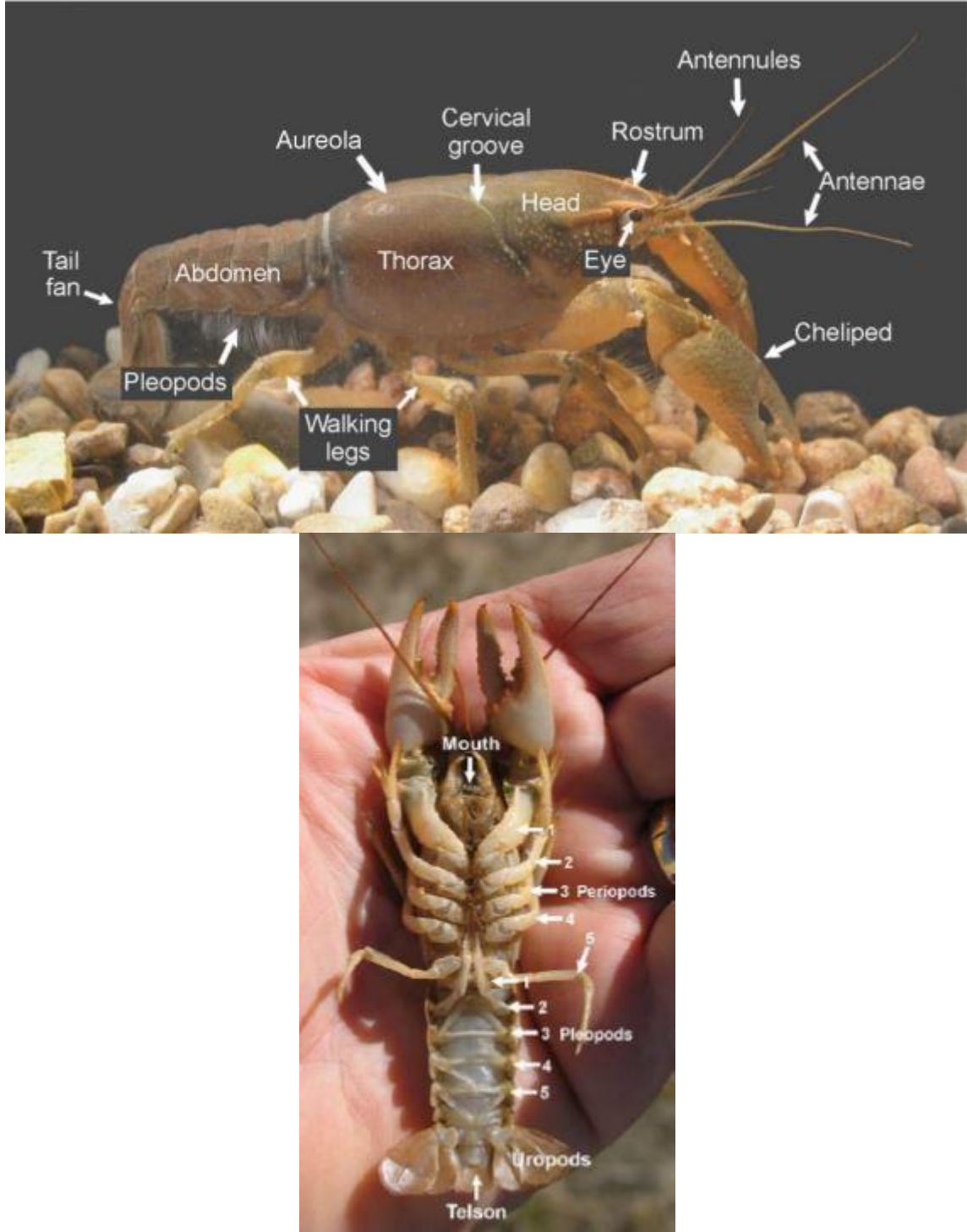
Vücutları sefalotoraks (baş ve thoraksı kapsayan kısım) ve abdomen olmak üzere iki kısım ve 19 segmentten oluşur (Şekil 2.6).

Sefalotoraks, sert ve bölümlenmemiş bir kabuk olup karapaksı oluşturur. İhtiyaçları olan oksijeni karapaksın hemen altında bulunan solungaçları ile alırlar. Solungaç odacıkları suyun girişine izin verecek biçimde alta ve yana açılmaktadır. Su, ikinci maksillere bağlı olan çıkıntıların (padd'lerin) ileri geri hareketi sayesinde solungaç içine çekilir. Çoğu kerevit türünde, yedi adet solungaç bulunmaktadır. Bunlar, yürüme ayaklarının zeminine, son iki maksilliped çiftine veya ağız kısmına bağlanmıştır (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Baş kısmında; gözler, iki çift anten, bir çift mandibular uzantı, iki çift maksil ve üç çift maksilliped bulunur (Resim 2.1). Gözler arasından ileri doğru uzayan çıkıntıya rostrum adı verilir. Hormonlar, gözlerin yanında yer alan bir sinüs bezinden ve belirli sinirlerden sentezlenmektedir. Görme işlevi, her biri facet (yüzey) olarak bilinen yaklaşık 2500 adet altıgen parçaya ayrılmış birleşik bir göz çifti ile gerçekleşir. Her yüzey birbirinden çok küçük açılarla ayrılmıştır ve böylece aynı anda farklı yönleri görebilmektedirler. Toraks kısmında beş çift yürüme ayakları (peripod) bulunur. Bunların iki çifti keskin ve geniş olup kısaç (cheliped) olarak bilinir (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Abdomen (karın) kısmı 5 çift yüzme ayakları (pleopod) ve kuyruktan (telson) oluşmuş ve net bir şekilde bölümlenmiştir. Yüzme ayakları (pleopod), kerevit türlerinin teşhisinde, cinsiyet ve cinsi olgunluğun tespitinde kullanılır (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Kuyruk kısmı, telson ve üropod bölümlerinden oluşmaktadır. Kerevit kuyruğunu karının altına çekerek, karın bölgesindeki kaslar sayesinde bulunduğu yerden çok hızlı bir şekilde geri çekilebilir veya zıplayabilir (Mazlum ve Yılmaz, 2012).



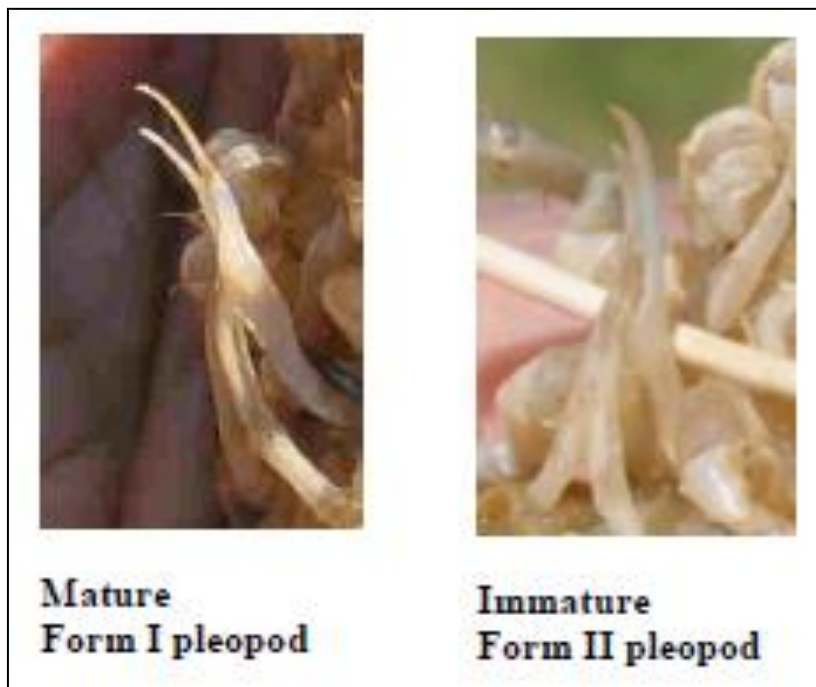
Resim 2.1. Tatlı su istakozunun canlı görüntüleri (Schainost S., 2016)

Tatlı su istakozları yıl boyunca ulaştıkları ağırlığın birkaç katı kadar besin tüketirler. Besin, kısıkaçlar ve çene kısmında bulunan çıkıntılar yardımı ile parçalanır ve ağızdaki diğer uzantılara taşınır. Bu uzantılar besini tutarak çeneler arasına getirir ve dişler tarafından parçalanır, ardından sindirim sistemine gönderilir. Orta mide dışında kalan sindirim

kanalının tümü ince bir kitin tabakaya sahip olup, her kabuk değiştirmede dış iskelet ile birlikte atılır (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Tatlı su istakozları ayrı eşeyli canlılardır. Hem erkek hem dişiler üç loblu bir gonada sahiptir. Dişilerde yumurta kanalı (ovidukt) üçüncü ve dördüncü yürüme ayağının zeminine açılır. Erkeklerde ise iki üreme organı beşinci yürüme ayağında yer alır. Spermiler erkekte bulunan birinci ve ikinci yüzme ayakları (gonopod) yardımı ile dişinin sperm cebine (seminal receptacle, annulus ventralis) taşınır (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Olgun tatlı su istakozlarında ikincil cinsiyet karakterleri belirgin bir şekilde ortaya çıkar. Erkeklerde vücut kısımlarının oransal değişimleri oldukça bariz olup, bu dönemde kısıkaçlar uzar ve genişler. Yüzme ayaklarının ilk iki çiftinde ve yürüme ayaklarının üçüncü ve dördüncü çiftlerinde çıkıntı şeklinde yapılar belirgin olarak görülür. Gonopodlar üreme bakımından aktif olan (Form I) ve aktif olmayan (Form II) olarak iki farklı şekilde belirir. Form I'deki erkeklerin gonopodları Form II'dekilere kıyasla daha uzun ve daha belirgin şekilde görülür (Resim 2.2). Dişilerde ise morfolojik değişiklikler erkeklerdeki kadar belirgin değildir. Cinsel olarak aktif konuma geçecekleri zaman annulus ventralis belirginleşir ve şeffaf bir renk alır (Mazlum ve Yılmaz, 2012).



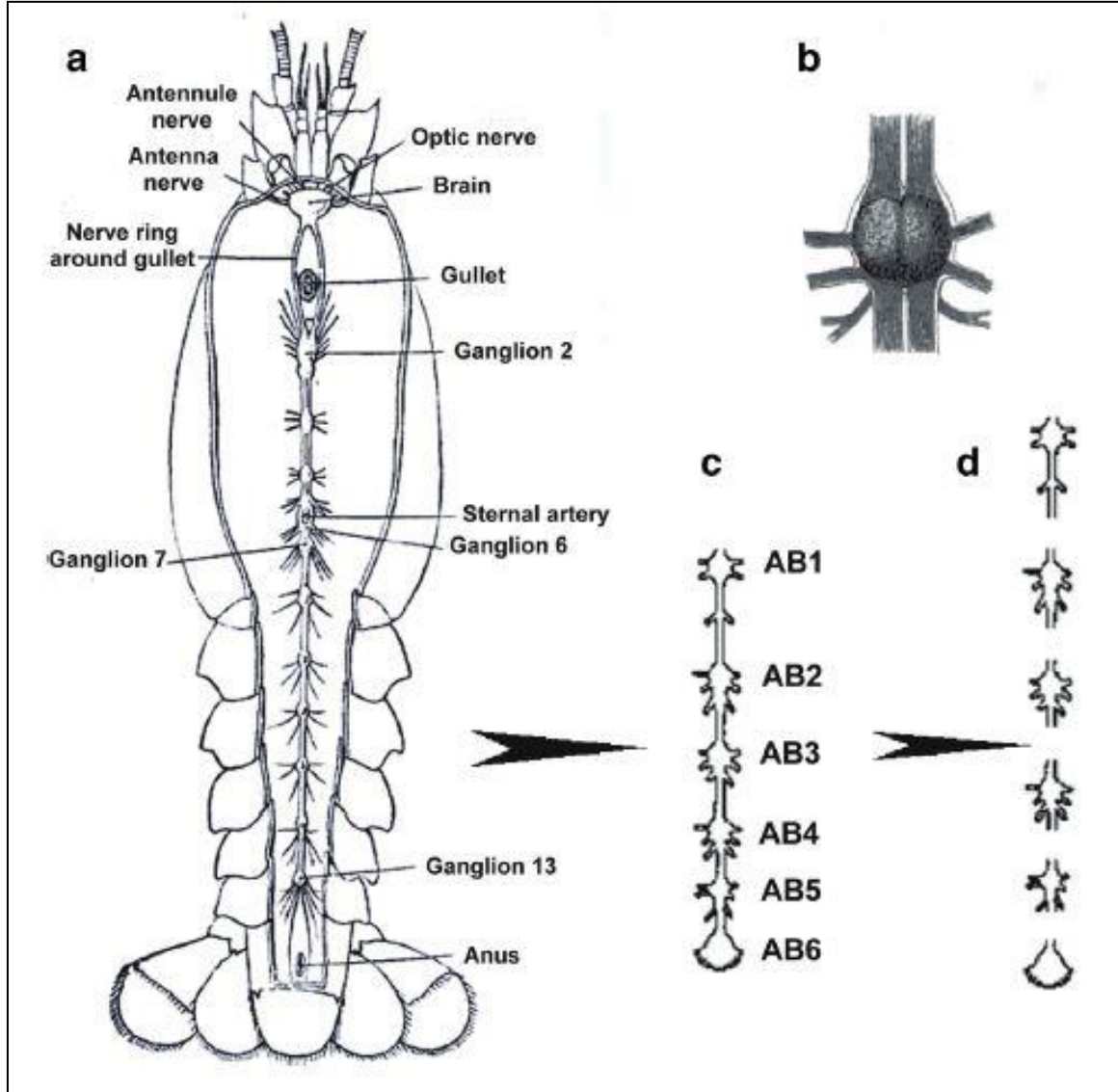
Resim 2.2. Form I ve Form II gonopodlar arasındaki fark (Schainost S., 2016)

Tatlı su istakozlarının sinir sistemleri

Tatlı su istakozlarının temel bir beyinleri bulunmamaktadır. Bunun yerine ana sinir kordonu üzerinde birçok çıkıntı ve ganglia bulunur. Sinir kordonunun önündeki ganglion diğer gangliadan daha büyüktür ve kabaca bir beyine benzetilebilir. Fakat insanlarda olduğu gibi özel bölgelere ayrılmamıştır. Bu geniş ganglion, özofagusun hemen önünde yer alır. Bu noktadan sonra özofagusun her iki yanından geçerek hemen arkasındaki diğer büyük ganglion ile birleşir ve buradan iki ayrı sinir ile devam eder. Ana sinir kordonu altı veya daha fazla sayıdaki küçük ganglionları taşır ve sefalotoraksın alt veya karın yüzeyi boyunca uzanır. Karın bölgesinde uzanan sinir kordonu her segmentte bir gangliona sahiptir. Ganglia hem sefalotoraks hem de karın bölgesinde; kollar, kaslar, duyu organları, ayaklar, kalp ve mide gibi iç organlarda biten küçük sinirlere sahiptir (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Vücudun büyük bir bölümü özellikle kısıkaçlar, ağız kısımları, karnın alt kısmı ve kuyruk ucu dokunmaya karşı oldukça hassastır. Bu bölgelerden duyu sinirlerine bağlı birçok dokunma tüyleri uzanır. Tat ve koku alma duyuları da antenlerin ucunda, ağız parçalarında, kısıkaçların uçlarındaki tüylerde bulunmaktadır. Denge merkezi, her antenin bazal segmentine sırttan açılan kitin kaplı bir çift kese içinde yer alır (Şekil 2.7) (Mazlum ve Yılmaz, 2012).

Pozisyon değişiklikleri tüylerin duyu sinirleri üzerinde çekilmesine ve beyin tarafından alınan uyarının değişikliğine neden olur (Mazlum ve Yılmaz, 2012).



Şekil 2.7. a) Kerevitin sinir sistemi ve ventral sinir kordonunun aksotomi şeması b) Çift bağlantı ile merkezi sinir kordonunun karın ganglionu c) Altı abdominal gangliondan oluşan ventral sinir kordonu d) Ventral sinir kordonunun diseksiyonu (Demyanenko ve diğerleri, 2019)

Tatlı su istakozlarının çevre bilimleri alanındaki önemi

Uygun tatlı su kalitesinin korunması hem suda hem de karada yaşam için çok önemlidir. İlgili biyoindikatörlere dayalı izleme, çevresel durumun değerlendirilmesi için faydalı veriler sağlar (Burger, 2006). Makroomurgasızlar, potansiyel kontaminasyon alanlarında değişen su koşullarını izlemek için sıklıkla biyoindikatör olarak takip edilir (Morse ve diğerleri, 2007). Pratikte, tatlı su istakozları, meydana geldikleri çoğu ekosistemde kilit türler olarak biyoizleme çalışmaları için özel bir öneme sahiptir ve en önemlisi, kirlenmiş ortamları tolere edebilir ve ilgili elementlerin dokularında birikmesi nedeniyle kirlilik

seviyelerini yansıtabilir (Holdich, 2002, Suarez-Serrano, Alcaraz, Ibanez, Trobajo ve Barata, 2010).

Yosunlar ve balıklar da biyo-izleme programlarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır, ancak yosunları tespit etmek bazen zor olabilirken, balıklar hareketlidir ve potansiyel olarak kontamine alanlardan kaçınabilir (Morse ve diğerleri, 2007). Su kütlesi kontaminasyonu, hedef organizmalarda ve dokularında biriken seçilmiş elementlerin miktarı ile değerlendirilebilir. Kerevit ve balık da dahil olmak üzere sucul biyotadaki ağır metal biyobirikiminin değerlendirilmesine, her bir biyoindikatörün kendine has özellikleriyle çok sayıda çalışma ayrılmıştı (Kouba, Buric ve Kozak, 2010; Noel ve diğerleri, 2013; Zhou, Zhang, Fu, Shi ve Jiang, 2008). Organ dokusundaki konsantrasyonları ile gösterildiği gibi tehlikeli kimyasalların biyolojik birikiminin miktarının belirlenmesi, biyolojik izlemenin temelidir (Alikhan, Bagatto ve Zia, 1990). Diğer tatlı su kabuklu türleriyle (yani kırmızı pençeli tatlı su istakozları, *Cherax quadricarinatus*) karşılaştırıldığında, *A. leptodactylus*'un bir dezavantajı, bireyler arasındaki kanibalizm nedeniyle yoğun kültür koşullarında toleransın çok düşük olmasıdır (Svoboda ve diğerleri, 2012).

Deniz ürünlerinin geri kalanı gibi kerevit de hasattan sonra dramatik değişikliklere (yani mikrobiyolojik, kimyasal ve fiziksel) sahip olabilir. Besin değerlerindeki farklılıklar nedeniyle, balık türlerinde eşit olmayan bozulmalar meydana gelir. Ayrıca tatlı su istakozlarının işlenmesi, et kalitesini korumak için bireyler hala hayattayken gerçekleştirilir (Cyril, Gallant ve Ablett, 2001).

Tatlı su istakozları üzerinde çalışılan farmasötikler

Tatlı su istakozları, su ekosistemlerinde öne çıkan organizmalardır ve biyoindikatör olarak kullanım için uygundur; dolayısıyla bu popülasyonlarda meydana gelebilecek olumsuz etkiler tüm toplumda değişikliklere neden olur. Literatürde, çeşitli farmasötiklerin hedefi olarak çeşitli su organizmaları üzerindeki olumsuz etkileri hakkında bilgiler bulunmaktadır (Jia, Mao, Zhang, Zhang ve Jiang, 2018; Uçkun ve Öz, 2021).

Tatlı sulardaki farmasötikler ve yan ürünlerinin dahil olduğu kirleticilerin çoğu kimyasal analizlerle tanımlanabilse de (Clevers 2003), hayvanların sudaki kirleticileri tespit edip edemediğini bilmek değerlidir. Balıkların yanı sıra tatlı su istakozlarının de zararlı

maddelere karşı kaçınma tepkileri gösterdiği öne sürülmüştür (Scott ve Sloman 2004). Bu, hayvanın kaçmak için yeterli alana sahip olmasına bağlıdır (Gadzała-Kopciuch, Berecka, Bartoszewicz ve Buszewski, 2004). Geniş ölçüde kirlenmiş alanlarda, sınırlı alanda veya tehditten kaçınmayı engelleyen diğer koşullarda, kaçınma davranışı ortaya çıkmaz ve hayvanlar görünüşte hareketsiz kalır (Li, Listeman, Doshi ve Cooper, 2000). Bu gibi durumlarda, kalp atımındaki değişkenlik, alarmin ve dolayısıyla potansiyel su kirliliğinin en güvenilir göstergelerinden biridir (Kuklina, Sladkova, Kouba, Kholodkevich ve Kozák, 2014).

Biyobirikim potansiyeli olan (Grabicova ve diğerleri, 2017), farklı etkinlik potansiyeline sahip, atık su arıtımı ile giderimi yapılamayan ve ekotoksikolojik etkileri gösterilen (Boxall ve diğerleri, 2012) PhAC'ler tatlı su istakozları üzerinde nadiren çalışılmıştır. Örneğin anksiyete ve insominya tedavisinde kullanılan oksazepamın mermer kerevit aktivitesini ve hareketliliğini arttırdığı bildirilmiştir (Kubec ve diğerleri, 2019). Bir antidepresan olan Sertraline maruz kalan tatlı su istakozları önemli ölçüde daha yüksek aktivite göstermiş ve daha yüksek hızda daha fazla mesafe kat etmiştir (Hossain ve diğerleri, 2019). Tek başına sertralin ve metamfetamine maruz kalan tatlı su istakozlarının, maruz kalmayan tatlı su istakozlara göre barınak dışında önemli ölçüde daha fazla zaman harcadıkları bulunmuştur (Hossain ve diğerleri, 2019). Altı farklı psikoaktif PhAC'nin mermer tatlı su istakozlarının (*Procambarus virginalis*) lokomotor davranışlarına ve yaşamsal özelliklerine etkilerini inceleyen güncel bir çalışmada barınak olmadığında, farmasötiklere maruz kalan tatlı su istakozlarının, kalmayanlara kıyasla önemli ölçüde daha kısa mesafelerde daha düşük hızda hareket ettiği ve önemli ölçüde daha az aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Kabuk değiştirme, ölüm oranı ve yumurtlama sıklığının gruplar arasında önemli ölçüde farklılık göstermediği belirlendi. Sonuçlar, kombinasyon halinde test edilen bileşiklerin çevresel konsantrasyonlarının, bu bileşiklere bireysel olarak maruziyet kalan hedef olmayan tatlı su istakozlarının davranışını değiştirebileceğini ve bunun stresli koşullarda ekosistem süreçlerinin bozulmasına yol açabileceğini göstermektedir (Hossain ve diğerleri, 2021).

Son yıllarda, önemli bir biyoaktif bileşik kaynağı olarak kullanılan tatlı su kerevit türleri, hemositlerin granüllerinde üretilen, depolanan ve stimülasyondan sonra salınan antimikrobiyal peptitler gibi önemli efektörlerin hemolenfte üretimine ve hücresel tepkilere dayanan doğuştan gelen bir bağışıklık sistemine dayanır. Bu efektörler hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı aktiftir. Çeşitli tatlı su kerevit türlerinden izole edilen

anti mikrobiyal peptitler, enfeksiyöz ajanlarla mücadele için farmasötik uygulamalara yönelik projelerde kullanılmaktadır (Punginelli ve diğerleri, 2022).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deney yeri

Deneyler Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Ana Bilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1.2. Deney organizması

Tatlı su istakozları *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) intermoult döneminde ve av sezonunda balıkçılardan temin edilmiştir. Toplam 300 adet tatlı su istakozu kullanılmıştır. Temin edilen tatlı su istakozları deneye başlanmadan önce 1 ay akvaryumlarda aklimasyon dönemine tabi tutulmuştur. Bu dönemde tatlı su istakozları dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan akvaryumlarda stoklanmıştır. Günlük olarak çiğ alabalık ile beslemeleri yapılarak akvaryumlar sürekli havalandırılmıştır. Su sıcaklığı termostatlı ısıtıcılarla sabit tutuldu. Akvaryum suyunda su kalitesi, suda çözünmüş oksijen, pH, iletkenlik, sertlik, sıcaklık ile amonyak, nitrit, nitrat konsantrasyonları alıştırma periyodunda 2 günde bir ölçülmüştür (Anonymous, 1975). Deneyler, ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri tarafından yayınlanan “Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanımı Kılavuzu” kurallarına göre yapılmıştır (NIH yayın No. 85–23, 1996'da revize edildi).

3.1.3. Deney akvaryumları ve kullanılan su materyali

15 L ile 20 L arasında değişen hacimlerdeki akvaryumlar içlerinde 10 L şebeke suyu olacak şekilde kullanılmıştır. Akvaryumlar deneyler öncesinde dezenfekte edilmiştir. Şebeke suyu en az 48 dinlendirilip havalandırılarak kloru uzaklaştırılarak akvaryumlara aktarılmıştır. Daha sonra akvaryumlara yerleştirilen hava pompaları ile yeterli havalandırma sağlanmıştır (Resim 3.1).



Resim 3.1. Deney akvaryumları ve deney gruplarının belirlenmesi

3.1.4. Deney kimyasalı

Deneylerde Novartis firmasından temin edilen %96 saflıktaki karbamazepin kullanılmıştır. Karbamazepin stok çözeltileri, cam balon jode DMSO (dimethylesulphoxide) içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır. Stok ve doz çözeltileri kullanılabileceği kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir. Kullanım öncesinde ortam sıcaklığına getirilerek deney akvaryumlarına uygulanmıştır (dozlama aşaması). Akvaryumlara Karbamazepin ile dozlama yapılması sırasında otomatik pipetler ve Hamilton marka mikrosiringadan yararlanılmıştır.

3.2. Deney Yöntemi

Tüm deneyler toksisite dilüsyon faktörü (ZSF) tayin metoduna göre yapılmıştır (Anonim, 1991). Ayrıca metod detayları için APHA (American Public Health Association), ISO (International Organization for Standardization), FAO (Food and Agriculture Organization) ve TSE’nin (Türkiye Standartları Enstitüsü) metodlarından da yararlanılmıştır (Anonymous, 1975; Reish and Oshida, 1987; Anonymous, 1989; ISO, 1996). Denemelerde, yarı statik biyodeneysel yöntem kullanılmıştır (Anonymous, 1975). Önce ön deneyler yapılarak subletal konsantrasyonlar belirlenerek, bu doz asıl denemelerde kullanılmıştır.

3.2.1. Deneyin gerçekleştirilmesi

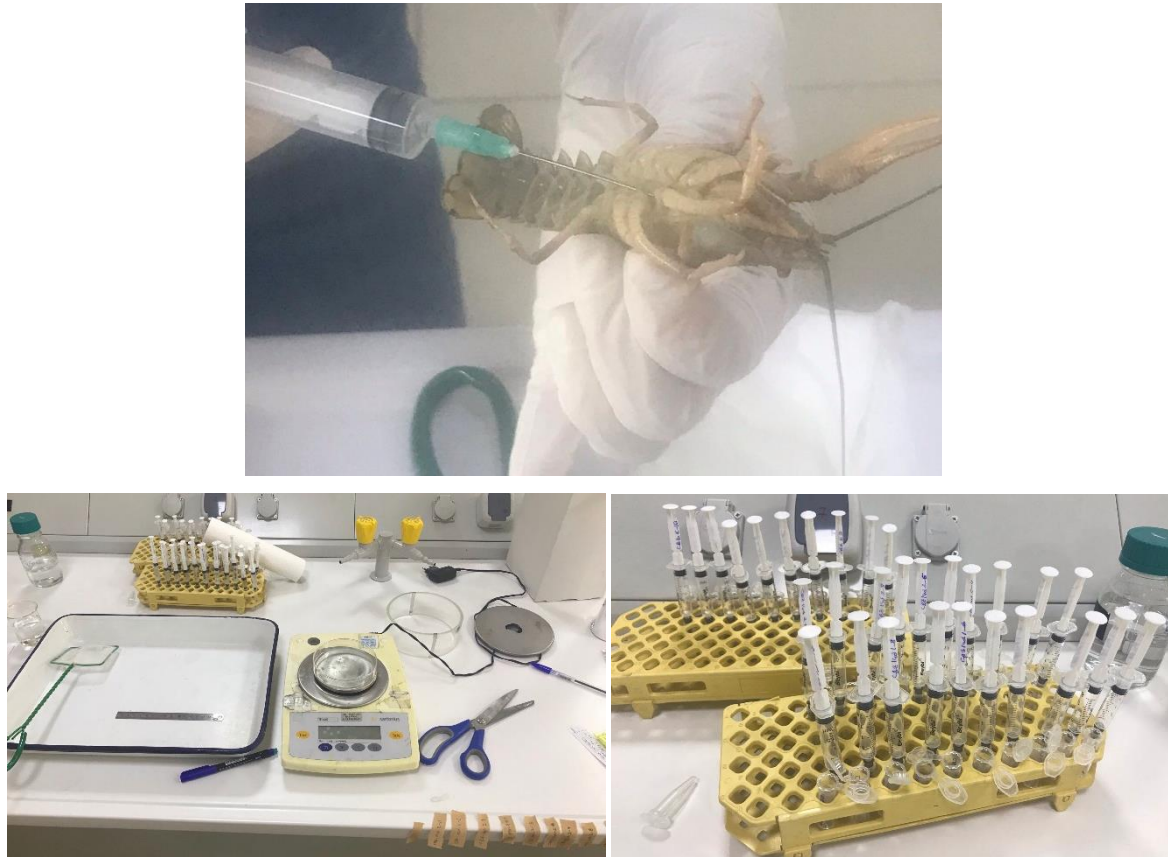
Karbamazepin için önce akut toksik konsantrasyonlar belirlenmek amacıyla ön deney ve ana deneyler yapılarak yarı statik deney koşullarında 48 saatlik LC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Daha sonra akut toksisite testleri verilerinin ışığında subletal konsantrasyonlar belirlenerek,

tatlı su istakozları 48 saat, 7 ve 14 gün süresince bu doza maruz bırakılmıştır. Sudaki kimyasalların konsantrasyonunun sabit kalması için deney ortamı belirli periyotlarla yenilenmiştir.

3.2.2. Hemolenf analizleri

Toplam hemosit sayısının belirlenmesi

Hemolenf, perikardial boşluktan crustacean antikuagulant kullanılarak tatlı su istakozlarından alınmıştır (Resim 3.2). Toplam hemosit sayısı hemositometre kullanılarak Yavuzcan ve Benli (2004)'nin belirlediği yöntemle göre yapılmıştır.



Resim 3.2. Hemolenf örneklerinin toplanması ve analizler için hazırlandığı ortam

Total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidatif stres seviyesi (TOS)

Hemolenfte total antioksidan (TAS) ve total oksidatif stres seviyelerinin (TOS) belirlenmesi için ependorf tüplere alınan hemolenf örnekleri analizlere kadar -80°C de depolanmıştır.

Hemolemfte total antioksidan statü tayini (TAS) ve total oksidatif stres düzeyinin (TOS) belirlenmesinde ticari kitler (Baran Medikal, TR) kullanılmıştır.

Total Antioksidan Statü Tayini (TAS): Deneyin prensibi, ABTS+ radikal katyonunu üretmek için H₂O₂ ile peroksidaz aktivasyonunun oluşturduğu ferrylmyoglobin radikalının 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) (ABTS) ile inkübe etme prensibine dayanmaktadır. Bu, 660 nm'de ölçülebilen oransal olarak stabil mavi-yeşil renk olarak ölçülür. Eklenen örneklerdeki antioksidan düzeyleri konsantrasyonu oluşan rengin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Miller ve diğ., 1993).

Total Oksidatif Stres Düzeyinin Belirlenmesi (TOS): Ortamın oksidatif stres düzeyine bağlı olarak, N, N-dimetil-p-fenilendiamin (DMPD)'nin radikalik formuna dönüşmesi, oluşan renkli radikalik ürünün (DMPD+) kolorimetrik olarak tayin edilmesi esasına dayanmaktadır. 2 ml asetat tamponuna (0.1 M, pH: 4.8) alınan 10 µl hemolemf numunesi üzerine 20 µl DMPD (100 mM) ilave edilerek 37°C'de 75 dakika inkübe edildikten sonra DMPD+ oluşumu 505 nm'de fotometrik olarak tayin edilir. Standart olarak 2.52 mM FeCl₂ ve PBS'de hazırlanan hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinden sonuçlar hesaplanır (Verde ve diğ., 2002).

3.3.3. Biyokimyasal analiz yöntemleri

Bu araştırmada kimyasalların enzim düzeylerine etkilerini belirlemek amacıyla tatlı su istakozlarının buz üzerinde anestezisinden sonra solungaç, hepatopankreas ve kas dokuları diseksiyon yapılarak alınmış ve sıvı azotta dondurulmuştur. Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve Glutatyon peroksidaz (GPX) aktiviteleri, ticari kitler (Cayman Chemical, ABD) kullanılarak ölçülmüştür.

Süperoksit dismutaz aktivite (SOD) tayini

Dokular her bir gram için 1 mM EGTA, 210 mM mannitol, and 70 mM sucrose içeren, pH 7,2 de, 5-10 ml soğuk 20 mM HEPES içinde 1,500 xg de +4°C' de 5dk. santrifüj edilmiştir. Supernatan alınarak analize kadar buz kasetleri üzerinde ya da ertesi güne kalan deneyler için -80°C'de muhafaza edilmiştir. Total SOD için her tüpe 2,9 ml reaktif karışımı + 50 µl numune + 50 µl XO konularak 250°C'de 20 dk. inkübe edildikten sonra her birine 0,8 mM

CuCl₂'den 1 ml eklenerek 560 nm'de distile su körüne karşı okutulmuştur. (Sun, Y.ve diğ., 1988)

Glutasyon peroksidaz (GPx) tayini

Bu çift enzim yöntemi, GPx ile hidrojen peroksitin (H₂O₂) redüksiyonunu ve glutasyon redüktaz ile NADPH' ın NADP' ye oksidasyonunu içermektedir. Enzim aktivitesi 37°C'de NADPH' ın NADP' ye oksidasyonu sonucunda reaksiyon içeriğinin optik dansitesinde azalma olması ile belirlenir. Ticari kitlerde, glutasyon redüktaz ile çift reaksiyona giren GPx aktivitesini indirekt olarak ölçer. GPx tarafından hidroperoksit azaltılması ile üretilen okside glutasyon, azaltılmış halde GR ve NADPH olarak geri kazanılır. Doku homojenizasyonunda dokunun gramı başına 5-10 ml soğuk tampon kullanılmıştır. Tampon 50 mM Tris-HCL, pH 7.5 ve 5 mM EDTA ve 1 mM DDT içermektedir. 10,000xg'de 15 dk. +4°C'de santrifüj sonrası süpernatant alınmış ve deneye kadar buz kasetleri üzerinde ya da ertesi güne kalan deneyler için -80°C'de saklanmıştır. (Wheeler, C.R. ve diğ., 1990).

Katalaz aktivitesi (CAT) tayini

Yöntem, hidrojen peroksitin yıkımı esasına dayanmaktadır. Doku homojenizasyonunda dokunun gramı başına 5-10 ml soğuk tampon kullanılır. Tampon 50 mM potasyum fosfat, pH 7.0 ve 1 mM EDTA içermektedir. 10,000xg'de 15 dakika +4°C'de santrifüj sonrası süpernatant alınır ve deneye kadar -80°C'de saklanır. Enzimin metanol ile reaksiyonunda optimal konsantrasyonunda H₂O₂ oluşumu temeldir. Üretilen formaldehit kromojen olarak 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole ile spektrofotometrik olarak ölçülür (Aebi, H., (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126). Çalışma bu prensibi esas alan Cayman CAT Kiti (Ürün No: 707002) ile yapılmıştır.

Malondialdehit (MDA) tayini

Lipit peroksidasyon ölçüm metodu olan Mihara ve Uchiyama (1978) metodu uygulanarak yapılmıştır. Reaktifler olarak %0,6'lık tiyobarbitürik asit (TBA), %1'lik fosforik asit, n-butanol kullanılmıştır. Tiyobarbitürik asit ile 90-95°C'de reaksiyona giren malondialdehit, pembe renkli kromojen oluşturmaktadır. Tüpün üst kısmındaki n-butanol fazı spektrofotometrede okutulmuştur. 1,15 mg potasyum klorid (KCL) tartılmıştır. Distile su

(dH₂O) ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. %1,15'lik tampon çözeltiden 1/10 oranında kullanılarak homojenat hazırlanmıştır. -80 °C'den çıkartılıp oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra vortex işlemi uygulanmıştır. Her örnekten mikropipet ile 100 µL alınarak cam tüplere konulmuştur. Üzerlerine 3 mL %1 lik fosforik asit 1 mL tiyobarbitürik asit (TBA) (%0,6) eklenerek cam tüpler vortexlenmiştir. Ağız kısımları kapatılan tüpler 1,5 saat kaynar su banyosunda 90°C inkübe edilmiştir. Süre sonunda tüpler sporlara alınarak soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra 4 mL n-butanol eklenmiş, tüpler kapatılarak 3000 rpm +4 °C' de 5 dakika santrifuj edilmiştir. Bütanol fazdan 700 µL mikropipetlerle alınarak (her örnekte uçlar değiştirilmiştir) spektrofotometre okuma küvetlerine aktarılmıştır. UV spektrometrede A₁= 535 nm ve A₂=520 nm'de okutulmuştur. Sonuçlar nmol/g doku proteini olarak ifade edilmiştir. Hesaplama için Absorbans farkı= nmol/g doku TBA formülü kullanılmıştır.



Resim 3.3. Su banyosunda 45 dakika bekletilen tüpler

3.3.4. Doku protein tayini

Dokularda protein tayini Bio-Rad Protein Assay kiti ile (Cat:500-0006) Bradford yöntemine göre yapılmıştır (Bradford, 1976). Bradford belirteci (ayıraç, reagent) 1:4 oranında seyreltilmiş (1 ayıraç, 4 distile su) ve daha sonra Whatman-1 filtre kâğıdı ya da benzeri bir kağıt ile filtre edilerek partikullerden arındırılmıştır. Bu seyreltilmiş ayıraç oda sıcaklığında yaklaşık 2 hafta saklanabilmektedir. Lineer çalışma aralığı 0,2 ile 0,9 mg/ml olan BSA'dan 250, 500, 750 ve 1000µg/ml'lik standartlar hazırlanmıştır. 100µl örnek ve standart temiz tüpe

(kör için distile su ya da proteinin çözüldüğü tampon) pipetlenmiş ve sonra 4,9 ml seyreltilmiş ayıraç üzerine eklenerek vortekslenmiştir. En az 5 dakika oda sıcaklığında 1 saati geçmeyecek şekilde beklenerek absorbanı artışı izlenmiştir. Biorad Smart spektrofotometrsi ile 595 nm’de kuvvetlerle spektrometrik ölçüm yapılmış ve ölçümler iki ya da 3 tekrarlı alınmıştır.

3.3. İstatistiksel Analizler

LC₅₀ değeri %95 güven aralığında bir bilgisayar programı (CEAM, 1999) kullanılarak Finney’s Probit Analizi ile hesaplanmıştır. Veriler varyans normalliği ve homojenitesi için Shapiro-Wilks and Levene Test kullanılarak analiz edilmiştir. Çoklu sonuç değişkenleri arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında iki yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni test kullanılmıştır. Tüm testler için istatistiksel anlam düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar ortalama ± standart hata (SE) şeklinde gösterilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Akut Toksisite Testi

Tatlı su istakozlarında %95 güven aralığında 96 saatlik LC₅₀ değeri 125,5 mg/L (73,78-193,95 mg/L) olarak hesaplanmıştır. Kontrol gruplarında mortalite gözlenmemiştir. Karbamazepinin tatlı su istakozları üzerindeki probit sonuçları Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Tatlı su istakozlarında karbamazepinin toksisitesi, Kategori: Akut 3 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Karbamazepinin 96 saatlik tahmini letal konsantrasyonları (LC) ve güven aralıkları

Değer	Konsantrasyon (%)	95% güven aralığı
LC ₁	10,12	0,91 - 25,47
LC ₅	21,16	3,52 - 43,17
LC ₁₀	31,35	7,20 - 57,66
LC ₁₅	40,88	11,59 - 70,50
LC ₅₀	125,54	73,78 - 193,95
LC ₈₅	385,52	240,35 - 1042,96
LC ₉₀	502,71	297,13 - 1660,95
LC ₉₅	744,94	400,66 - 3360,66
LC ₉₉	1557,65	684,82 - 12917,71

4.2. Hemolenfe İlişkin Bulgular

4.2.1. Toplam hemosit sayısı (THS)

Deneyler sonucunda karbamazepinin üç farklı zaman periyodunda maruz kalan tatlı su istakozlarının toplam hemosit sayımları yapılmıştır. Yapılan toplam hemosit sayımlarına (THS) ilişkin sonuçlar Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1.'de sunulmuştur. THS ortalamalarının 48 saat, 7 gün ve 14 gün süreyle karbamazepine maruz kalan deney gruplarında, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Ancak 48 saat ve 7 gün süreyle 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan grubun THS ortalamasında, 1,25 mg/L grubuna kıyasla anlamlı farklar tespit edilmiştir ($p < 0,05$). 14 gün süre ile 1,25 mg/L ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan gruplar arasında THS açısından istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Kontrol grupları arasında da THS açısından

bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

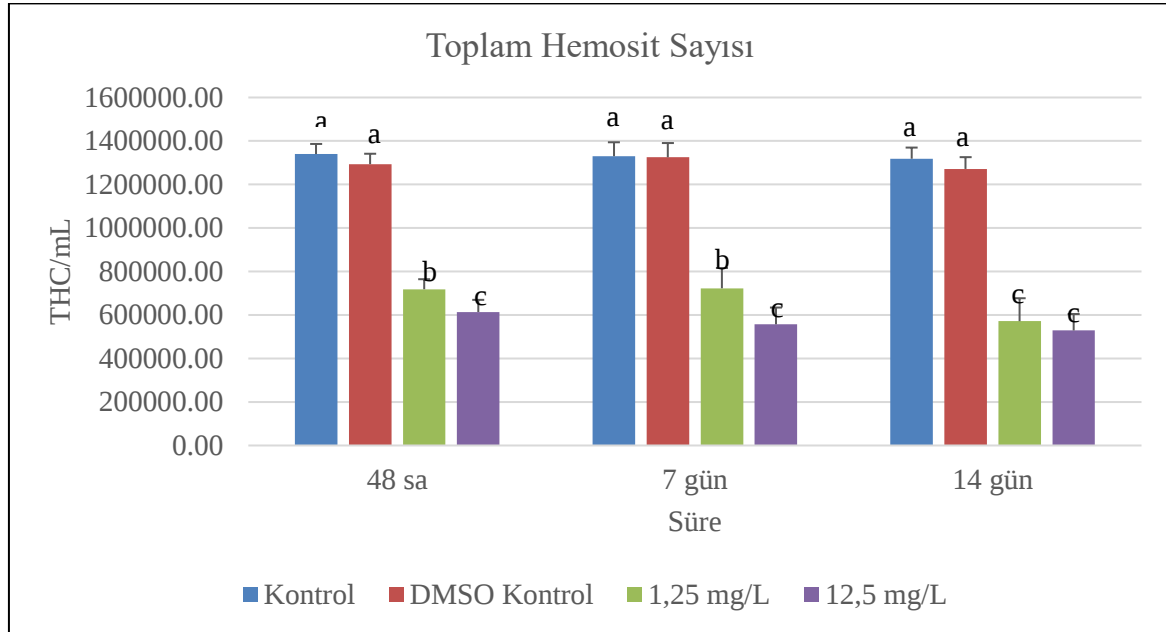
Zamana bağlı THS değişimleri incelendiğinde kontrol gruplarında ve 12,5 mg/L karbamazepin grubundaki düşüşlerin anlamlı olmadığı ($p>0,05$) fakat 14 gün süreyle 1,25 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının THS ortalamasının, 48 saat ve 7 gün gruplarına kıyasla anlamlı derecede düştüğü belirlenmiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.2. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hemolenfinde toplam hemosit sayıları (THS)

Süre	THS/mL			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	1340000±46 ^a	1293333,33± 48 ^a	718333,33±46 ^b	613684,210±55 ^c
7 gün	1330000±64 ^a	1325000±65 ^a	722857,143±93 ^b	557142,857±77 ^c
14 gün	1318461,54±51 ^a	1271428±54 ^a	571428,571±105 ^c	528888,88±75 ^c

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.1. 1,25 ve 12,5 mg/L Karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının toplam hemosit sayısı (THS)

- Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir ($P<0,05$)

4.2.2. Hemolenf TAS (total antioksidan durumu) düzeyleri

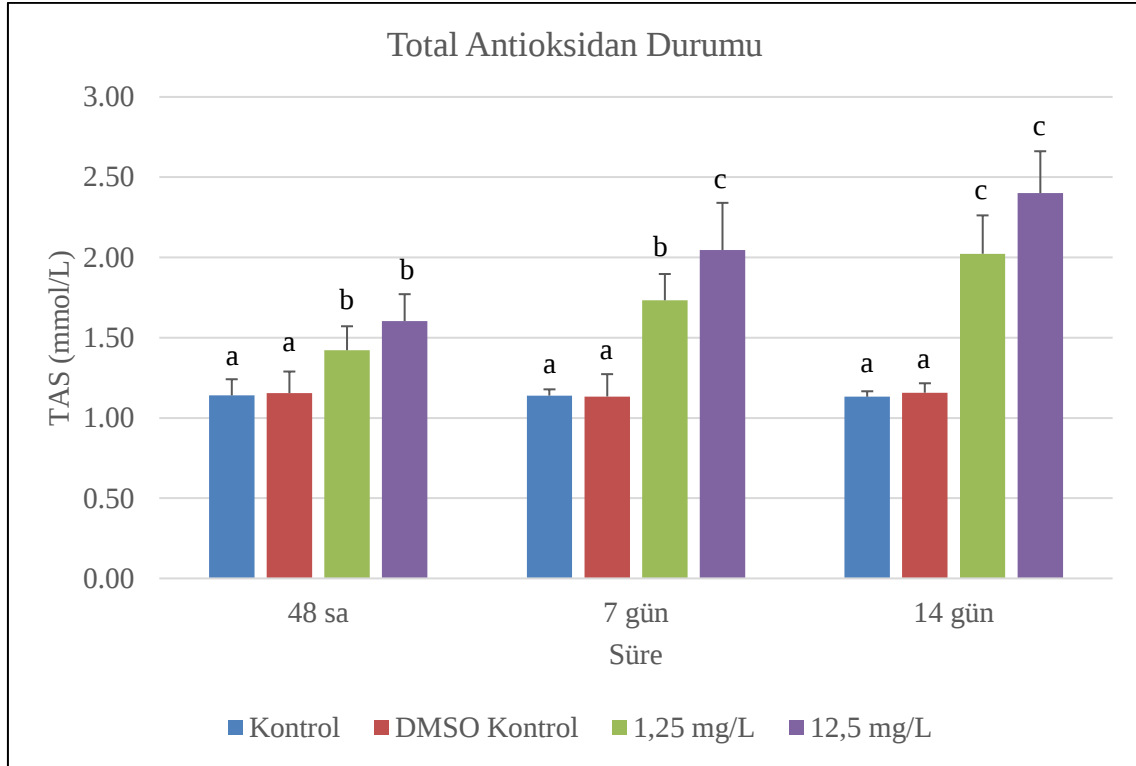
48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 veya 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hemolenf total antioksidan (TAS) değerlerine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. 48 saat, 7 ve 14 gün süresince 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hemolenf TAS değerlerinin, kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Her iki doza maruz kalan tatlı su istakozlarının hemolenf TAS değerleri 48 saat ve 7 gün gruplarına kıyasla, 14 gün sonunda anlamlı düzeyde arttığı belirlenmiştir ($p<0,05$). 7 gün 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının TAS ortalaması, 1,25 mg/L grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p<0,05$) ancak 14 günde iki doz grubu arasında istatistiksel düzeyde fark olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Kontrol grupları arasında zamana bağlı olarak istatistik fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.3. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hemolenfinde toplam antioksidan durumu (TAS) düzeyi

Süre	TAS (mmol/L)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	1,140 ± 0,10 ^a	1,155 ± 0,13 ^a	1,422 ± 0,15 ^b	1,603 ± 0,16 ^b
7 gün	1,139 ± 0,04 ^a	1,134 ± 0,14 ^a	1,733 ± 0,16 ^b	2,046 ± 0,29 ^c
14 gün	1,132 ± 0,03 ^a	1,157 ± 0,06 ^a	2,023 ± 0,24 ^c	2,400 ± 0,26 ^c

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.2. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 21 gün maruz kalan tatlı su istakozlarının hemolenf total antioksidan durumu (TAS) değerleri

4.2.3. Hemolenf TOS (total oksidatif stres) düzeyleri

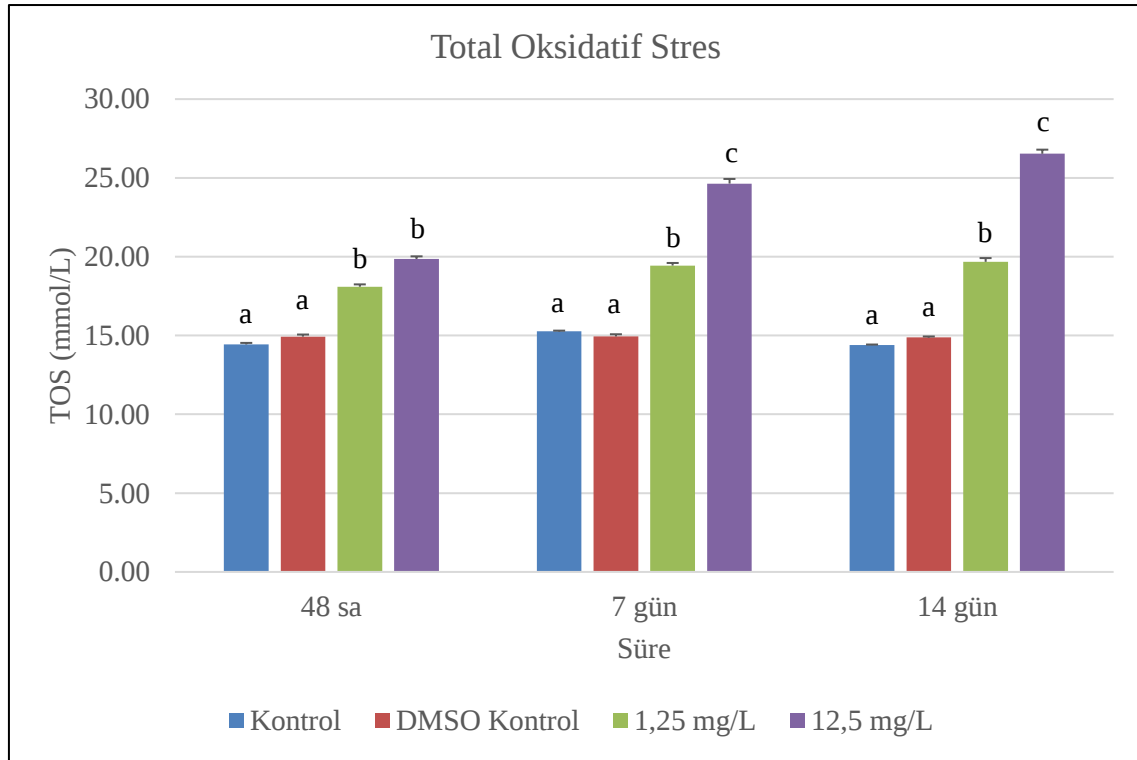
1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepin konsantrasyonlarına 48 saat, 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan tatlı su istakozlarının hemolenf TOS değerlerine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının TOS değeri ortalamaları, tüm maruziyet sürelerinde kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Zamana bağlı TOS değişimleri incelendiğinde kontrol gruplarında ve 1,25 mg/L karbamazepin grubundaki değişimlerin anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) fakat 7 ve 14 gün süreyle 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının TOS ortalamalarının, 48 saate kıyasla anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grupları arasında ve zamana bağlı olarak istatistik bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Çizelge 4.4. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 21 günlük maruziyet sonrası tatlı su tatlı su istakozu hemolenfinde total oksidatif stres (TOS) düzeyleri

Süre	TOS (mmol/L)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	14,431±1,24 ^a	14,929±1,66 ^a	18,095±1,77 ^b	19,855±2,29 ^b
7 gün	15,271±1,18 ^a	14,940±1,42 ^a	19,440±1,25 ^b	24,641±1,97 ^c
14 gün	14,395±1,53 ^a	14,881±1,49 ^a	19,674±1,82 ^b	26,532±2,20 ^c

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.3. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozlarında hemolenf total oksidatif stres (TOS) değerleri

4.3. Tatlı Su İstakozu Dokularına İlişkin Biyokimyasal Bulgular

48 saat, 7 gün ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas, solungaç ve kas dokularında SOD, CAT, MDA ve GPx enzim düzeylerindeki biyokimyasal değişimler incelenmiştir.

4.3.1. SOD (Süperoksit Dismutaz) değerleri

Solungaç dokusunda SOD değerleri

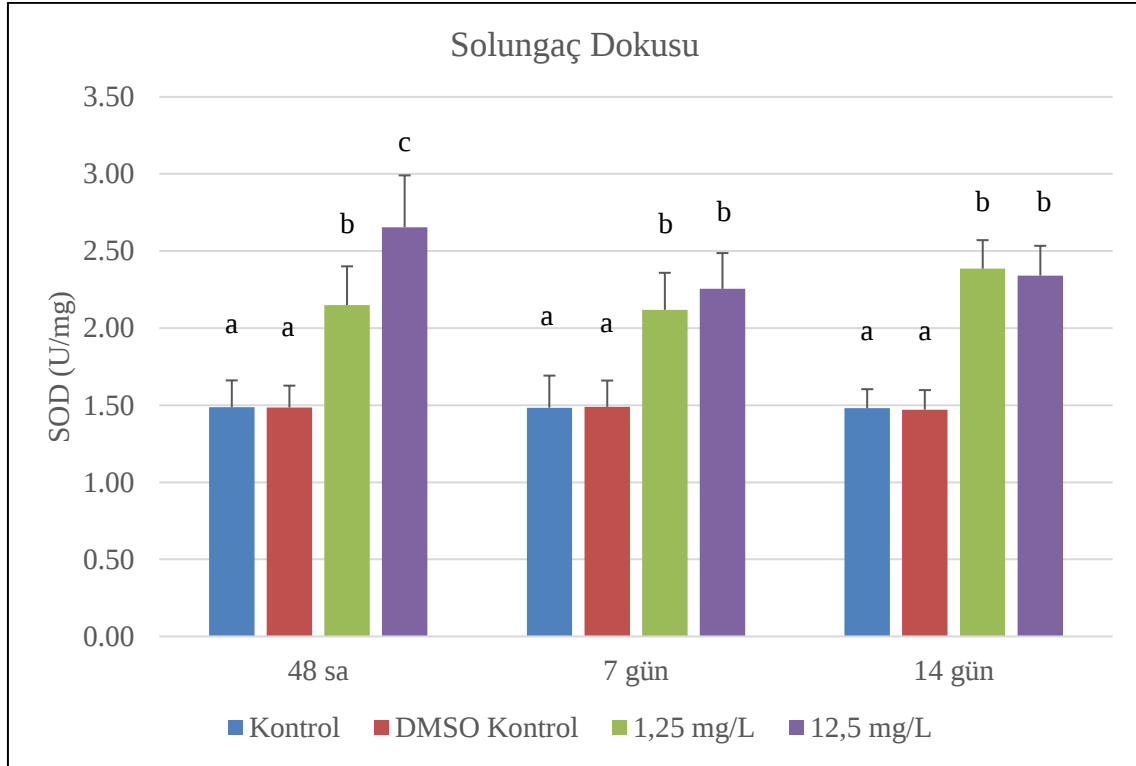
48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda belirlenen SOD değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusu SOD değerleri üç farklı sürede ve her iki ayrı konsantrasyonda kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu ve en yüksek değer 48 saatte 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç SOD değeri olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Zamana bağlı SOD değerlerinde değişim 1,25 mg/L karbamazepin grubunda görülmezken ($p>0,05$) 12,5 mg/L grubunda 7 ve 14 gün sürede anlamlı düşüşler izlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.5. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri

Süre	Solungaç dokusu SOD (U/100 mg)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	1,487±0,17 ^a	1,485±0,14 ^a	2,150±0,25 ^b	2,655±0,34 ^c
7 gün	1,484±0,21 ^a	1,489±0,17 ^a	2,119±0,24 ^b	2,255±0,23 ^b
14 gün	1,480±0,12 ^a	1,471±0,13 ^a	2,386±0,18 ^b	2,341±0,19 ^b

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.4. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri

Hepatopankreas dokusunda SOD değerleri

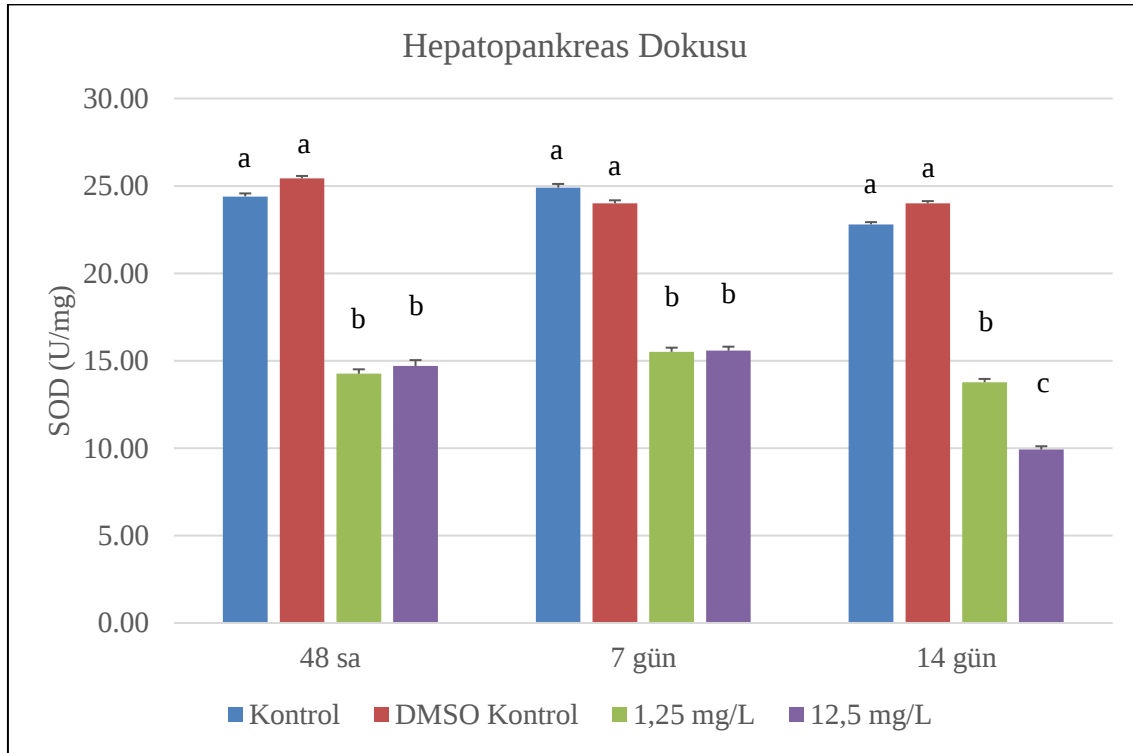
48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozu hepatopankreas dokusu SOD değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.6 ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Tüm maruziyet sürelerinde her iki doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki SOD düzeyleri kontrol gruplarına kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). 14. günde 12,5 mg/mL karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki SOD düzeyleri, 48 saat ve 7 gün süreyle aynı doza maruz kalan gruplara kıyasla anlamlı derecede düştüğü ve ayrıca 1,25 mg/mL doz grubuna göre de düşük olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grupları arasında hepatopankreas dokularındaki SOD düzeyleri açısından istatistik olarak önemli fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Çizelge 4.6. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda SOD enzim aktivitesi

Süre	Hepatopankreas Dokusu SOD (U/100 mg)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	24,396±2,10 ^a	25,428±1,88 ^a	14,259±2,03 ^b	14,700±1,66 ^b
7 gün	24,904±2,31 ^a	24,004±4,92 ^a	15,509±1,88 ^b	15,573±2,49 ^b
14 gün	22,803±2,22 ^a	24,004±3,54 ^a	13,776±2,02 ^b	9,917±0,12 ^c

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).



Şekil 4.5. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri

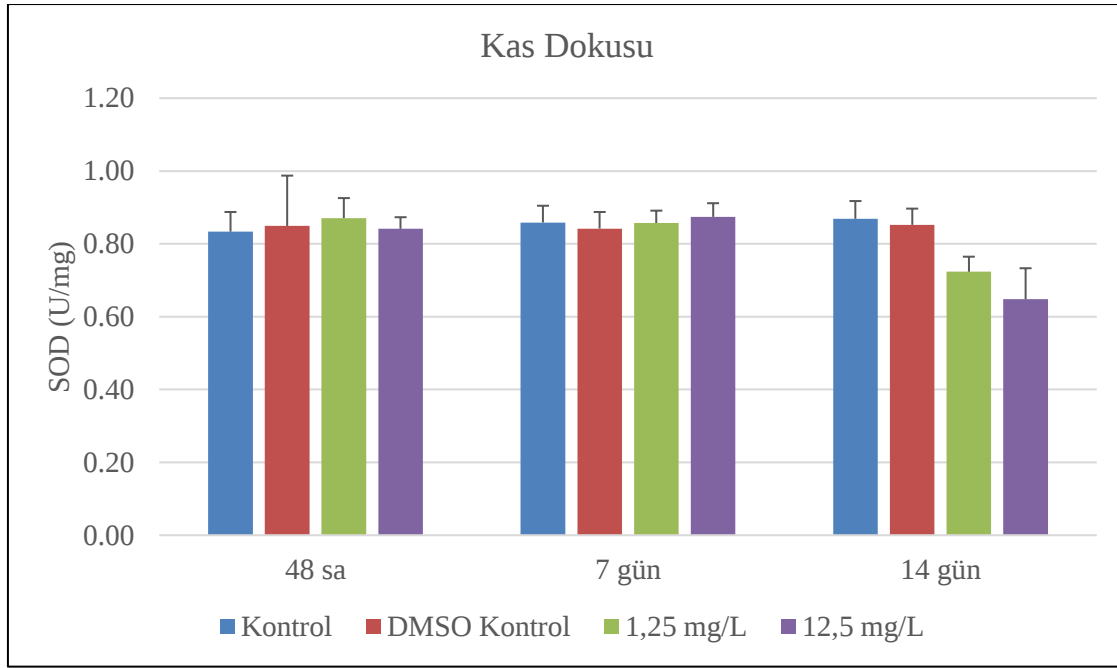
Kas dokusunda SOD değerleri

48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusu SOD değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Karbamazepine maruziyet sonrası tatlı su istakozu kas dokularında ölçülen SOD değerlerinde gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır (p>0,05). Benzer şekilde maruziyet süresine bağlı farklar da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

Çizelge 4.7. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda SOD enzim aktivitesi

Süre	Kas Dokusu SOD (U/100 mg doku)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	0,8336±0,05	0,8492±0,14	0,8707±0,05	0,84125±0,03
7 gün	0,8586±0,04	0,8419±0,04	0,8572±0,03	0,8741±0,03
14 gün	0,8688±0,05	0,8521±0,04	0,7234±0,04	0,648±0,08

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. $p>0,05$



Şekil 4.6. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda SOD enzim aktivitesi değerleri

4.3.2. Glutasyon peroksidaz (GPx) değerleri

Solungaç dokusunda GPx değerleri

48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda belirlenen GPx değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.8 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusu GPx değerleri 7. ve 14. günlerde ve her iki ayrı konsantrasyonda kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu ve en yüksek değerin 14. günde 1,25 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç GPx değeri olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Zamana bağlı GPx değerlerinde değişim kontrol gruplarında görülmezken

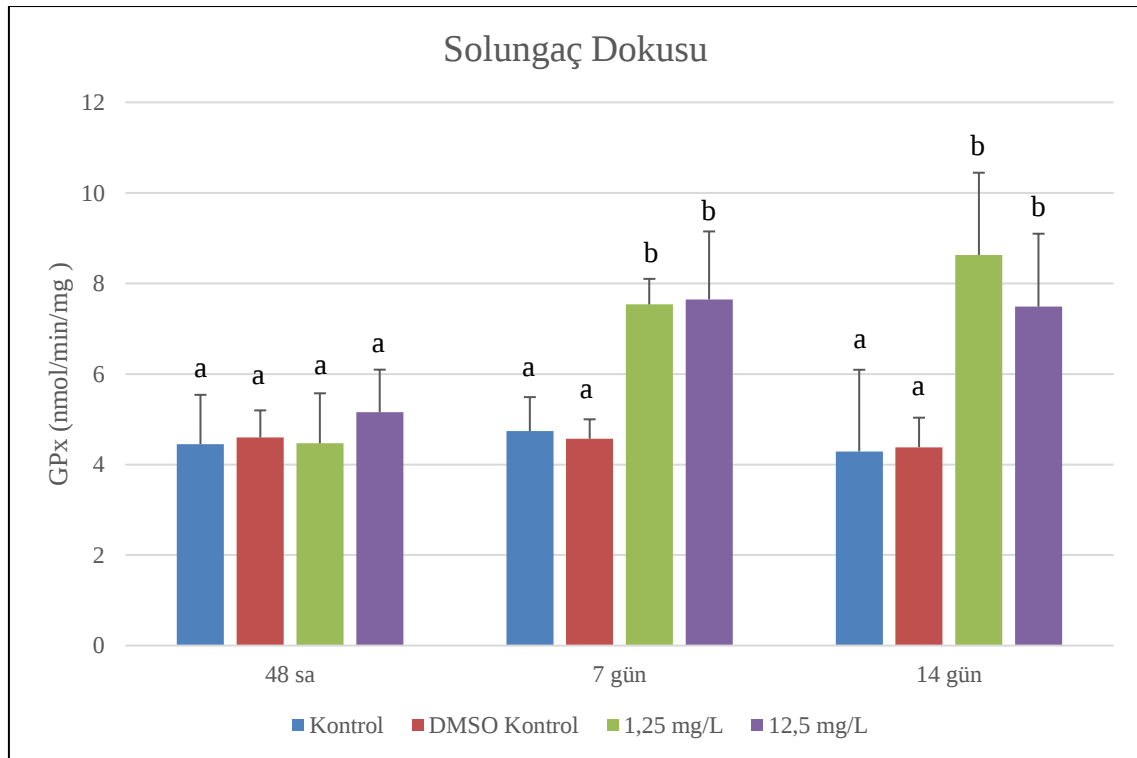
($p>0,05$), 1,25 mg/L ve 12,5 mg/L karbamazepin gruplarında 7 ve 14 gün sürede anlamlı artışlar izlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.8. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri

Süre	Solungaç dokusu GPx (nmol/min/mg doku)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	4,451±1,08 ^a	4,596±0,60 ^a	4,468±1,10 ^a	5,153±0,94 ^a
7 gün	4,737±0,75 ^a	4,570±0,42 ^a	7,538±0,56 ^b	7,645±1,50 ^b
14 gün	4,289±1,80 ^a	4,381±0,65 ^a	8,629±1,82 ^b	7,4875±1,61 ^b

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.7. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozu solungaç dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri

Hepatopankreas dokusunda GPx değerleri

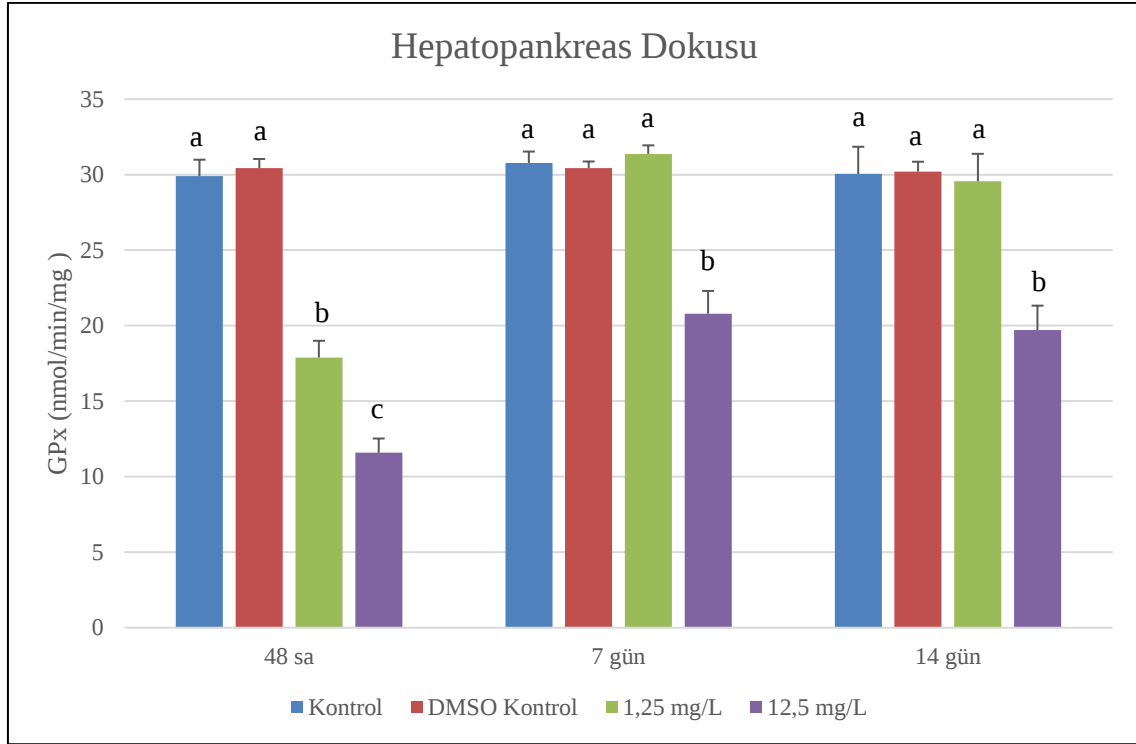
48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokusu GPx değerlerine ait sonuçlar izelge 4.9 ve ekil 4.8’de gösterilmiştir. Tüm maruziyet sürelerinde 12,5 mg/L doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki GPx düzeyleri kontrol gruplarına kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0,05$) ancak 1,25 mg/L doza maruz kalan tatlı su istakozlarında sadece 48 saatte GPx değerlerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğu grlmştir ($p<0,05$). 7 ve 14. günde her iki doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki GPx düzeyleri, 48 saat süreyle aynı dozlara maruz kalan gruplara kıyasla anlamlı derecede yükseldiği belirlenmiştir ($p<0,05$). Kontrol grupları arasında hepatopankreas dokularındaki GPx düzeyleri açısından istatistik olarak önemli fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.9. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda GPx enzim aktivitesi

Süre	Hepatopankreas Dokusu GPx (nmol/min/mg doku)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	29,903±1,02 ^a	30,439±1,18 ^a	17,895±4,15 ^b	11,5867±4,50 ^c
7 gün	30,778±9,91 ^a	30,444±10,02 ^a	31,376±5,36 ^a	20,796±3,95 ^b
14 gün	30,044±1,25 ^a	30,203±2,21 ^a	29,562±5,35 ^a	19,716±3,11 ^b

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.8. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozları hepatopankreas dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri

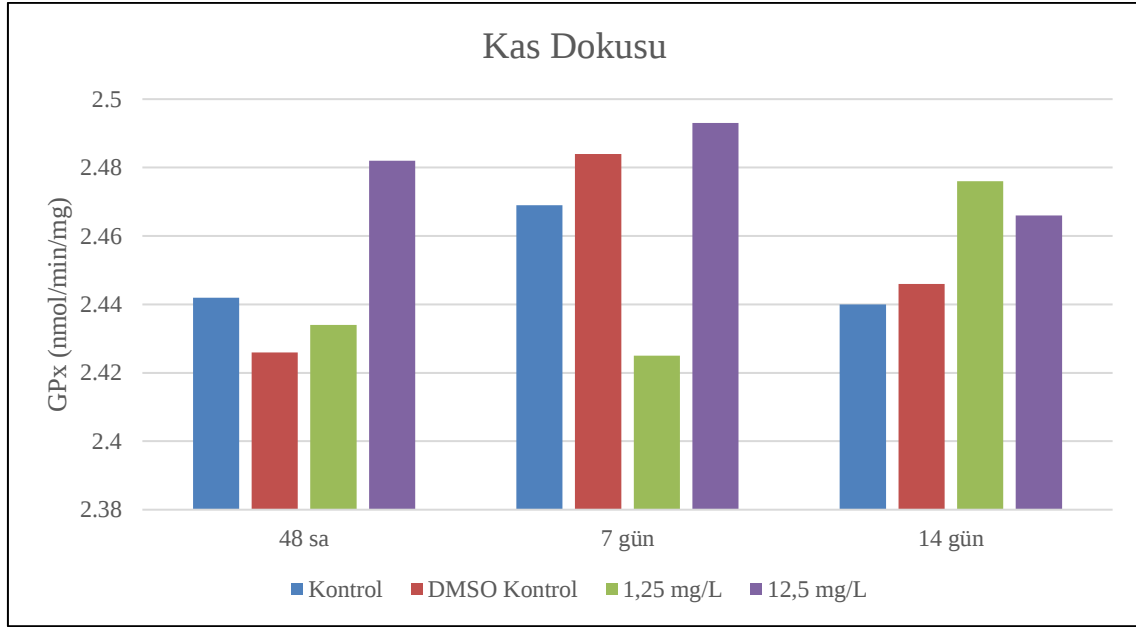
Kas dokusunda GPx değerleri

48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusu GPx değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.10 ve Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Karbamazepine maruziyet sonrası tatlı su istakozu kas dokularında ölçülen GPx değerlerinde gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Benzer şekilde maruziyet süresine bağlı farklar da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.10. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda GPx enzim aktivitesi

Süre	Kas Dokusu GPx (nmol/min/mg doku)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	2,442±0,07	2,426±0,05	2,434±0,13	2,482±0,05
7 gün	2,469±0,05	2,484±0,07	2,425±0,11	2,493±0,11
14 gün	2,440±0,11	2,446±0,17	2,476±0,08	2,466±0,05

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. $p>0,05$



Şekil 4.9. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda GPx enzim aktivitesi değerleri

4.3.3. Katalaz aktivitesi tayini (CAT) değerleri

Solungaç dokusunda CAT değerleri

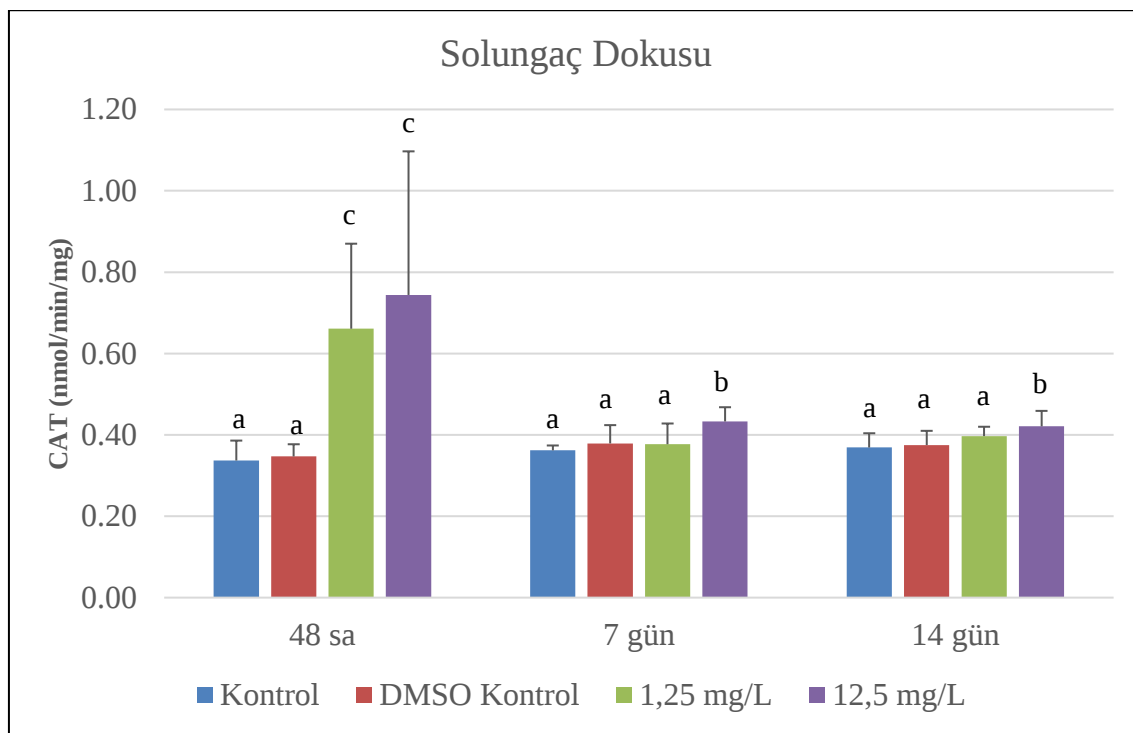
48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda belirlenen CAT değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.11 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusu CAT değerleri 48. saatte her iki ayrı konsantrasyonda, 7. ve 14. günlerde 12,5 mg/L konsantrasyonda kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Zamana bağlı CAT değerlerinde değişim kontrol gruplarında görülmezken ($p > 0,05$), 1,25 mg/L ve 12,5 mg/L karbamazepin gruplarında 7 ve 14 günlük sürede, 48 saatlik maruziyete kıyasla anlamlı düşüşler izlenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Çizelge 4.11. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri

Süre	Solungaç dokusu CAT (nmol/min/mg doku)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	0,337±0,05 ^a	0,347±0,03 ^a	0,661±0,21 ^c	0,744±0,35 ^c
7 gün	0,362±0,01 ^a	0,379±0,04 ^a	0,377±0,05 ^a	0,433±0,03 ^b
14 gün	0,369±0,03 ^a	0,375±0,03 ^a	0,397 ± 0,02 ^a	0,421±0,04 ^b

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).



Şekil 4.10. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozu solungaç dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri

Hepatopankreas dokusunda CAT değerleri

48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokusu CAT değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.12 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir. Tüm maruziyet sürelerinde her iki doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki CAT düzeyleri kontrol gruplarına kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuş (p<0,05) ve en yüksek CAT düzeylerine 14. Günde 12,5 mg/L doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının

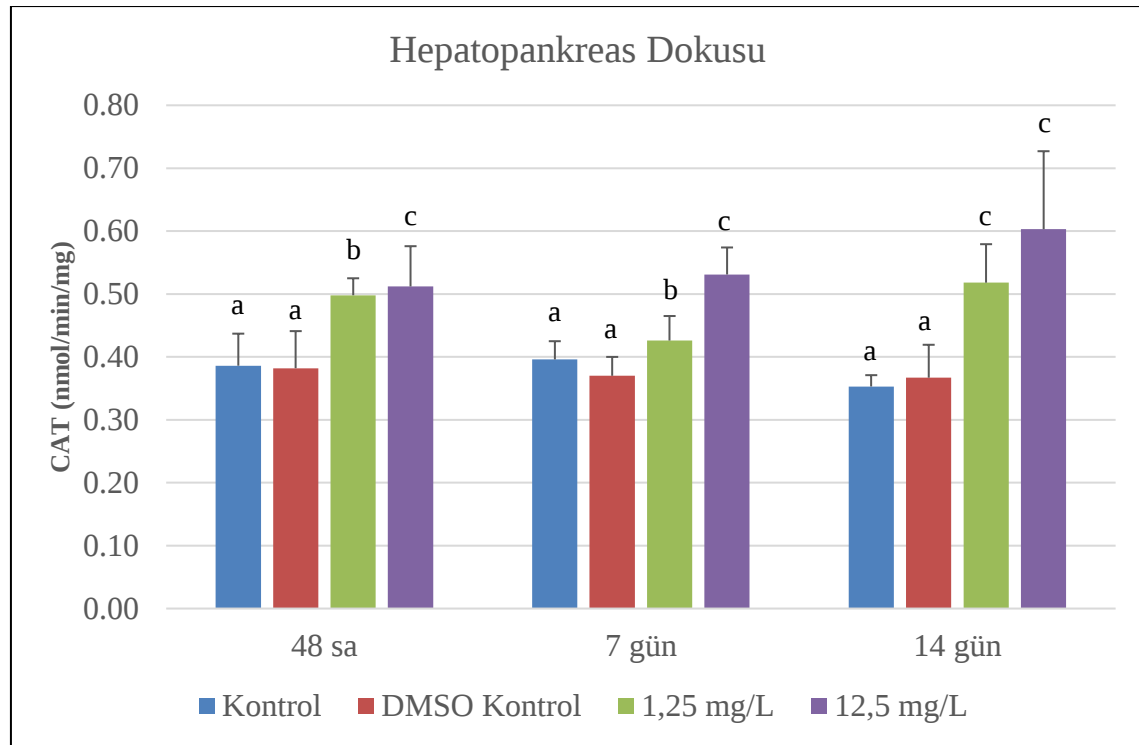
hepatopankreas dokusunda belirlenmiştir ($p<0,05$). 14 gün 1,25 mg/L doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki CAT düzeyleri, 48 saat ve 7 gün süreyle aynı doza maruz kalan gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiş ($p<0,05$) ancak 12,5 mg/L doza maruz kalan tatlı su istakozlarında zamana bağlı değişim görülmemiştir ($p>0,05$). Kontrol grupları arasında hepatopankreas dokularındaki CAT düzeyleri açısından istatistik olarak önemli fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.12. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda CAT enzim aktivitesi

Süre	Hepatopankreas Dokusu CAT (nmol/min/mg)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	0,386±0,05 ^a	0,382±0,06 ^a	0,498±0,02 ^b	0,512±0,06 ^c
7 gün	0,396±0,02 ^a	0,370±0,03 ^a	0,426±0,04 ^b	0,531±0,04 ^c
14 gün	0,353±0,02 ^a	0,367±0,05 ^a	0,518±0,06 ^c	0,603±0,12 ^c

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.11. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozları hepatopankreas dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri

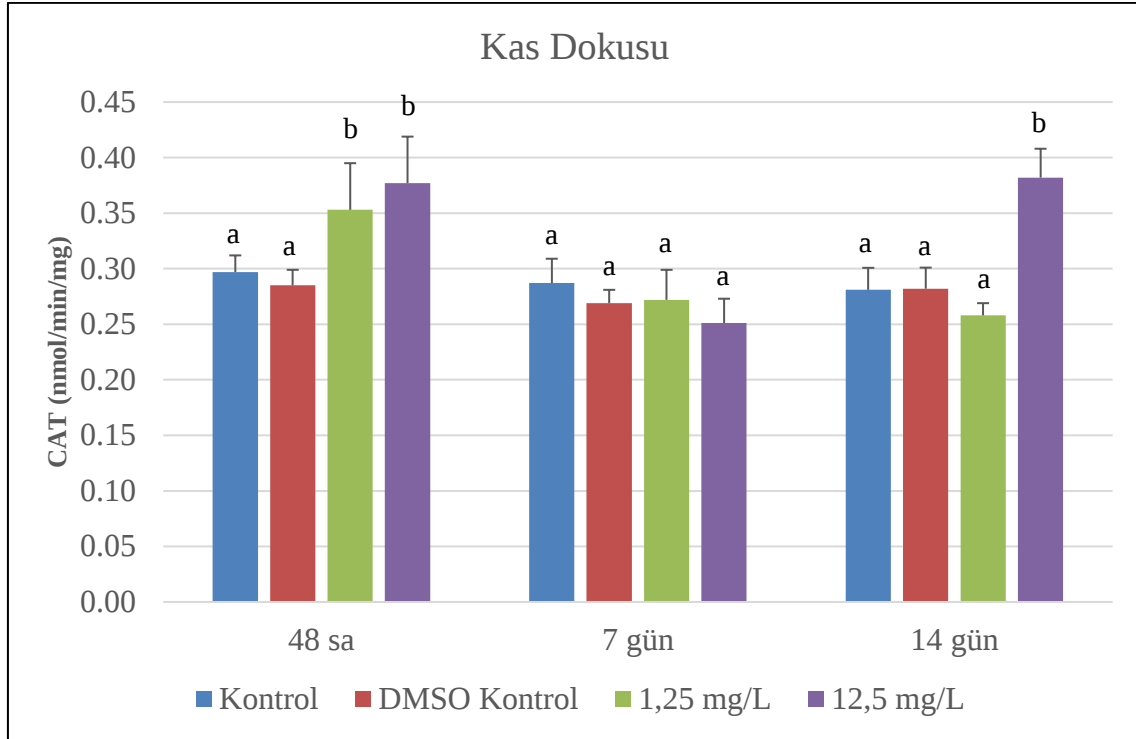
Kas dokusunda CAT değerleri

48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusu CAT değerlerine ait sonuçlar izelge 4.13 ve ekil 4.12’de gösterilmiştir. Her iki doz karbamazepine 48 saat süresince maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokularındaki CAT düzeyleri kontrol gruplarına kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuş ($p<0,05$) ve 12,5 mg/ml doza 14 gün süresince maruz kalanların CAT düzeyi kontrol grubuna ve 1,25 mg/L doz grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). 7 gün grupları arasında ise böyle bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). CAT düzeyleri, 7 ve 14 gün süreyle 1,25 mg/L doz karbamazepine maruz kalan gruplarda, 48 saat grubuna kıyasla anlamlı derecede düştüğü ($p<0,05$) ancak 12,5 mg/L doza maruz kalan tatlı su istakozlarında zamana bağlı değişim olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Kontrol grupları arasında kas dokularındaki CAT düzeyleri açısından istatistik olarak önemli fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.13. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda CAT enzim aktivitesi

Süre	Kas Dokusu CAT (nmol/min/mg)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	0,297±0,01 ^a	0,285±0,01 ^a	0,353±0,04 ^b	0,377±0,042 ^b
7 gün	0,287±0,02 ^a	0,269±0,01 ^a	0,272±0,02 ^a	0,251±0,02 ^a
14 gün	0,281±0,019 ^a	0,282±0,02 ^a	0,258±0,01 ^a	0,382±0,02 ^b

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. $p>0,05$



Şekil 4.12. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda CAT enzim aktivitesi değerleri

4.3.3. Malondialdehit (MDA) değerleri

Solungaç dokusunda MDA değerleri

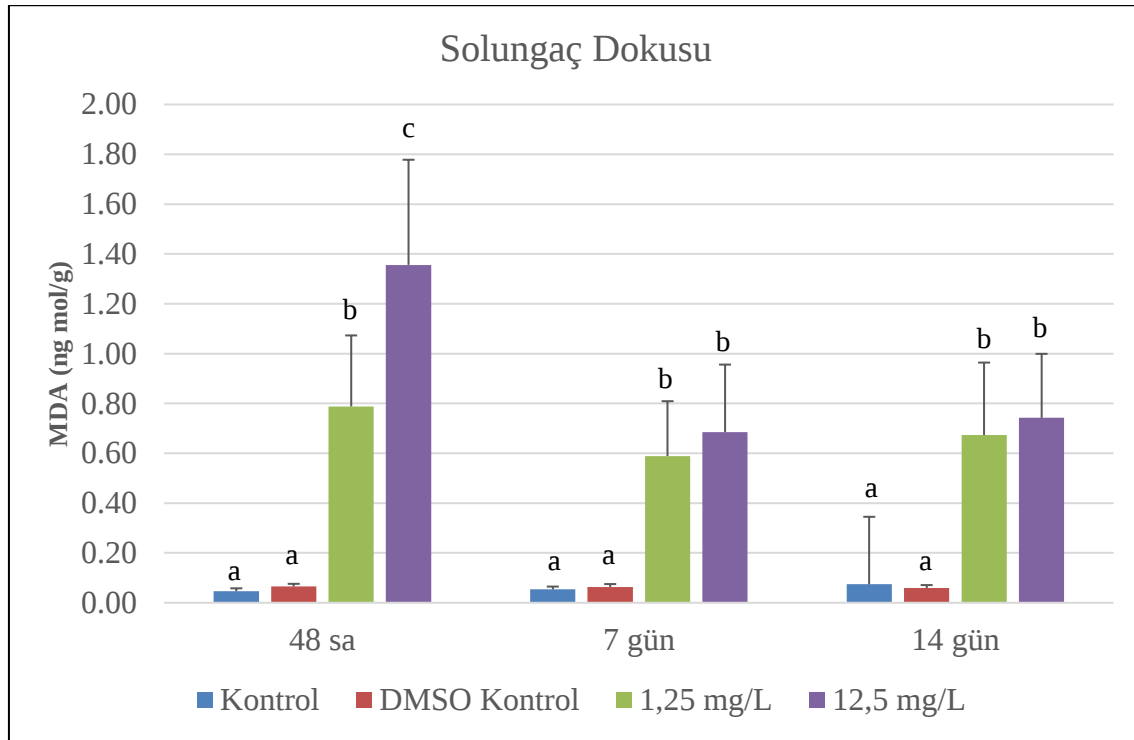
48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda belirlenen MDA değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.14 ve Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının solungaç dokusu MDA değerleri tüm maruziyet sürelerinde her iki ayrı konsantrasyonda, kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Zamana bağlı MDA değerlerinde değişim kontrol gruplarında ve 1,25 mg/L görülmezken ($p > 0,05$), 12,5 mg/L karbamazepin grubunda 7 ve 14 günlük sürede, 48 saatlik maruziyete kıyasla anlamlı düşüşler izlenmiştir ($p < 0,05$). Kontrol grupları arasında solungaç dokusu MDA değerlerinde istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Çizelge 4.14. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının solungaç dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri

Süre	Solungaç dokusu MDA (nmol/min/mg doku)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	0,046±0,01 ^a	0,065±0,01 ^a	0,788±0,28 ^b	1,356±0,42 ^c
7 gün	0,054±0,01 ^a	0,063±0,01 ^a	0,589±0,22 ^b	0,685±0,27 ^b
14 gün	0,074±0,27 ^a	0,059±0,01 ^a	0,673±0,29 ^b	0,742±0,25 ^b

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).



Şekil 4.13. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozu solungaç dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri

Hepatopankreas dokusunda MDA değerleri

48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokusu MDA değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.15 ve Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Tüm maruziyet sürelerinde her iki doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki MDA düzeyleri kontrol gruplarına kıyasla istatistik olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuş (p<0,05) ve en yüksek MDA

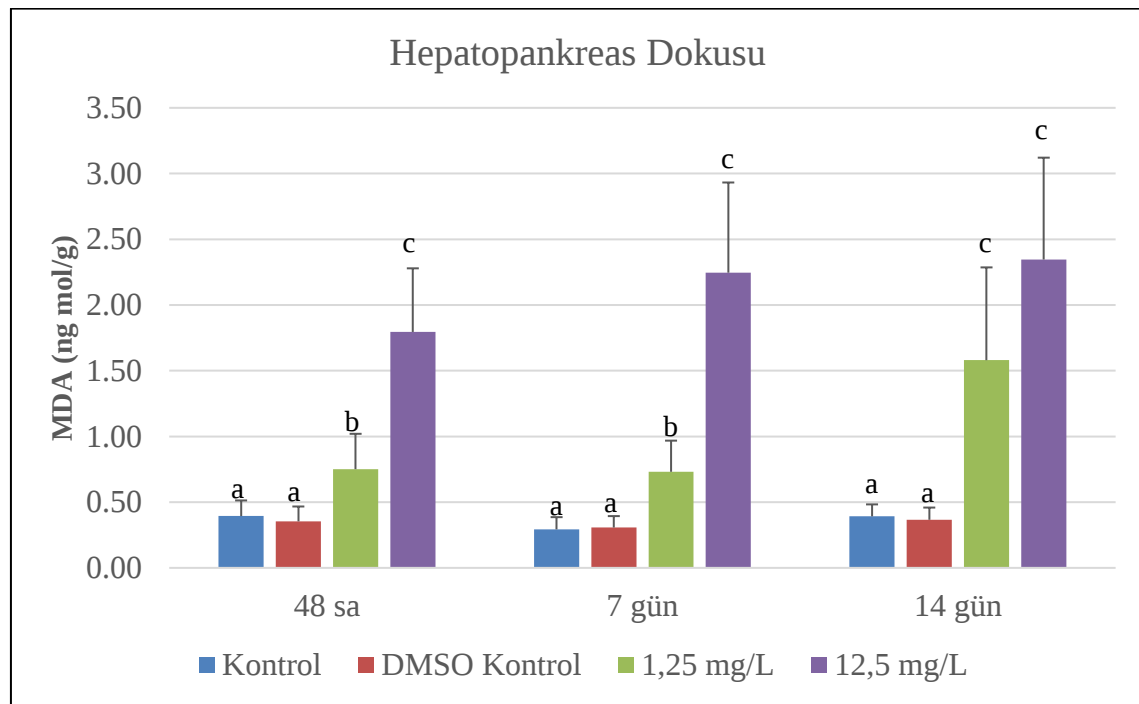
düzeylerine 14. günde 12,5 mg/L doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokusunda belirlenmiştir ($p<0,05$). 14 gün 1,25 mg/L doz karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının hepatopankreas dokularındaki MDA düzeyleri, 48 saat ve 7 gün süreyle aynı doza maruz kalan gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiş ($p<0,05$) ancak 12,5 mg/L doza maruz kalan tatlı su istakozlarında zamana bağlı anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). Kontrol grupları arasında hepatopankreas dokularındaki MDA düzeyleri açısından istatistik olarak önemli fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.15. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozu hepatopankreas dokusunda MDA enzim aktivitesi

Süre	Hepatopankreas Dokusu MDA (nmol/min/mg)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	0,394±0,12 ^a	0,354±0,11 ^a	0,751±0,27 ^b	1,795±0,48 ^c
7 gün	0,293±0,09 ^a	0,307±0,08 ^a	0,731±0,23 ^b	2,246±0,68 ^c
14 gün	0,392±0,09 ^a	0,366±0,09 ^a	1,580±0,70 ^c	2,346±0,77 ^c

Tüm veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur.

Aynı satır ve sütunda a, b, c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.14. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün maruz kalan tatlı su istakozları hepatopankreas dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri

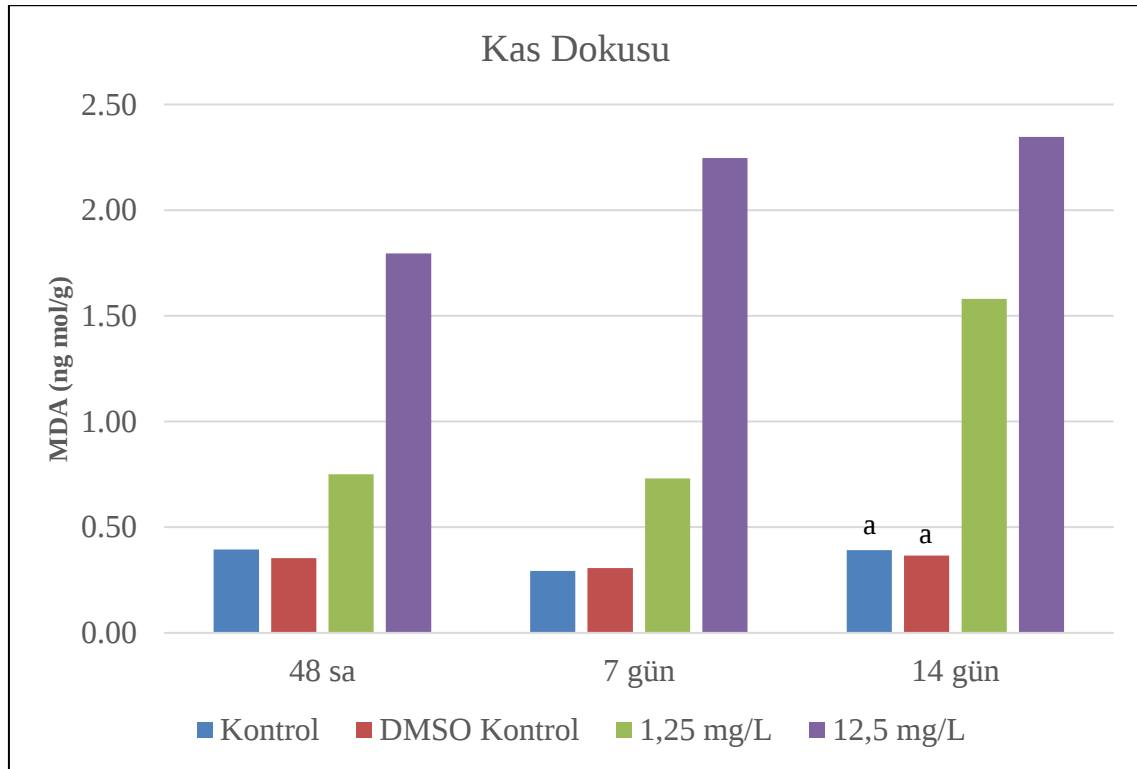
Kas dokusunda MDA değerleri

48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusu MDA değerlerine ait sonuçlar  izelge 4.16 ve  ekil 4.15'te gösterilmiştir. Karbamazepine maruziyet sonrası tatlı su istakozu kas dokularında  l  len MDA değerlerinde gruplar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Benzer şekilde maruziyet süresine bağlı farklar da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.16. Karbamazepinin iki farklı konsantrasyonuna 48 saat, 7 ve 14 günlük maruziyet sonrası tatlı su istakozlarının kas dokusunda MDA enzim aktivitesi

Süre	Kas Dokusu MDA (nmol/min/mg)			
	Kontrol	DMSO Kontrol	1,25 mg/L	12,5 mg/L
48 saat	0,131�0,03	0,139�0,04	0,132�0,04	0,128�0,03
7 gün	0,132�0,04	0,136�0,04	0,132�0,05	0,126�0,03
14 gün	0,134�0,01	0,136�0,02	0,137�0,02	0,128�0,012

Tüm veriler ortalama standart hata olarak sunulmuştur. $p>0,05$



Şekil 4.15. 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su istakozlarının kas dokusunda MDA enzim aktivitesi değerleri

5. TARTIŞMA

5.1. Amacın Değerlendirilmesi

Farmasötikler çeşitli biyolojik etkiler gösterdiklerinden, araştırmalarda fizyolojik veya metabolik performanslarının göstergesi olarak hassas davranışsal tepkilerin değerlendirilmesinden fayda sağlandığı ileri sürülmektedir. Düzenleyici çevresel ve davranışsal etkilerin değerlendirmesinin amacı, gelecekte benzer ekolojik durumları anlamak ve kaçınma yollarını belirlemektir. Bu amaçla kullanılan en savunmasız yaban hayatı popülasyonları ve ekosistemleri daha geniş insan nüfusunu korumak adına yapılacak in vivo deneylere hizmet etmektedir (Aus der Beek ve diğerleri, 2016). Epilepsi tedavisinde sıkça kullanılan karbamazepin sucul çevrede en sık bulunan ve biriken farmasötiktir. Karbamazepinin evsel atıklardaki ve içme suyundaki kalıntısı, intrauterin maruziyet veya emzirme yoluyla embriyo ve bebeğe bir geçebileceğinden, yeraltı sularında ve içme suyunda varlığı, önemli bir endişe kaynağı olmaya devam etmektedir (Baali ve Cosio, 2022). Biz bu çalışmada, karbamazepinin omurgasız tatlı su ıstakozu (*Astacus leptodactylus*) üzerindeki toksik etkilerini araştırdık ve bu amaçla tatlı su ıstakozlarında 48 saat, 7 ve 14 gün süreyle 1,25 mg/L ve 12,5 mg/L dozlarda karbamazepine maruz bıraktığımız tatlı su ıstakozlarının hemolenf analizlerini gerçekleştirdik. Ardından bu dozlara üç farklı sürede maruz kalan tatlı su ıstakozlarının hepatopankreas, kas ve solungaç dokularında SOD, GPx, CAT ve MDA enzim düzeyindeki etkilerini biyokimyasal analizlerle araştırdık.

5.2. Akut Toksisite

Karbamazepinin atık su arıtma tesislerinde düşük filtreleme oranlarının (<45%) bir sonucu olarak (Bueno ve diğerleri, 2012), sucul ekosistemlerde ng/L ile birkaç µg/L arasında değişen konsantrasyonlarda mevcudiyeti tespit edilmiştir (Bayen, Zhang, Desai, Ooi ve Kelly, 2013; Biel-Maeso, Baena-Nogueras, Corada-Fernández ve Lara-Martín, 2018; McEneff, Barron, Kelleher, Paull ve Quinn, 2014; Baali ve Cosio, 2022). Karbamazepinin çoğu sucul organizmalar için az ya da orta derece toksik olduğu bildirilmiştir. Örneğin yabani deniz çift kabuklularında 11 ng/g kuru ağırlığa kadar konsantrasyonlarda karbamazepinin rapor edilmiştir (Moreno-González, Rodríguez-Mozaz, Huerta, Barceló ve León, 2016; Rodrigues ve diğerleri, 2019). Kirli bir nehirde toplanan yabani balıklarda (kg başına 33 µg karbamazepin dozuna kadar), 40 gün süresince 15,7 µg /L karbamazepine (kg

başına 400 µg karbamazepin dozuna kadar) maruz bırakılan *Mytilus galloprovincialis*'te ve 8 gün süresince 80 µg /L karbamazepine (kg başına 1100 µg karbamazepine kadar) maruz kalan *Anemonia sulcata*'da biyolojik olarak biriktiği tespit edilmiştir (Serra-Compte ve diğerleri, 2018; Vitale, Picó, Spanò, Torreblanca ve Del Ramo, 2020). En yüksek konsantrasyon olan 10.000 µg /L, 72 saatlik maruz bırakılan zebra balıklarında Karbamazepinin LC₅₀ değerinin yaklaşık %5'ine karşılık geldiği rapor edilmiştir (Van den Brandhof ve Montforts, 2010). Ofoegbu, ve diğerleri (2019), karbamazepine maruz bıraktıkları *Schmidtea mediterranea*'da, 10,0 mg/L konsantrasyonda dahi herhangi bir öldürücü etki görmemişlerdir. Diğer çalışmalarda *Cerodaphnia dubia* için 48 saatlik bir LC₅₀ 77,7 mg/L (Ferrari ve diğerleri, 2004) ve *Daphnia magna* için 96 saatlik bir LC₅₀ 76,3 mg/L (Kim ve diğerleri, 2007) bildirilmiştir. Bununla birlikte, suda yaşayan hedef olmayan organizmalarla yapılan karbamazepinin akut toksisite deneyleri, mg /L aralığında medyan efektif konsantrasyonlarını (EC₅₀) göstermiştir (Zhang, Geissen ve Gal, 2008; Mohapatra, Brar, Tyagi, Picard ve Surampalli, 2014). Akut toksisite biyo-assayleri etki görülmeyen en kötü vakaların konsantrasyonun (NOEC) 25 µg /L olduğunu, ancak tahmin edilen etkisiz konsantrasyonun (PNEC) 0,42 µg /L olduğunu göstermiş, bu da karbamazepinin yüzey sularında yaygın olarak bulunan konsantrasyonlarda ekolojik toksisite potansiyeline sahip olduğuna işaret etmiştir (Ferrari ve diğerleri, 2003; Zhang ve diğerleri, 2008). Bu bulgular sucül biyotada çok yüksek bir karbamazepin birikim potansiyeli olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmamızda tatlı su istakozlarında subletal konsantrasyonları belirlemek üzere karbamazepinin medyan letal konsantrasyonunu tahmin etmek için bir akut toksisite testi yapılmıştır. Akut toksisite testinden sonra probit analizi ile 96 saatlik LC₅₀ değeri 125,5 mg/L (73,78-193,95 mg/L) olarak belirlenmiştir.

5.3. Tatlı su Istakozlarında Hemolenf Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

5.3.1. Toplam hemosit sayısı

Çevresel kirleticiler veya su parametrelerindeki değişikliklerin neden olduğu stres koşulları sucül organizmaların hemositlerde azalmalara neden olmaktadır (Baali ve Cosio, 2021). Literatürde organizmalarda ölçülen THS'lerdeki düşüşün, hasat sonrası artan stresin ve kötüleşen sağlık durumunun bir göstergesi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Tatlı su istakozlarında THS'lerin düşüşü, nitrite maruz kalmanın bir sonucu olarak stresin veya su

koşullarının kötüleştiğinin bir göstergesi olabileceği bilinmektedir (Yavuzcan ve Benli 2004).

Tsiaka ve diğerleri 1 saat boyunca karbamazepine (0,01–100 µg/L) maruz kalan midyegillerden *Mytilus galloprovincialis* hemosit sayısında düşüşe ve hücre ölümünde artışa sebep olduğunu ve süperoksit anyonları ve nitrik oksit seviyelerinde bir artış olduğunu bildirmiştir (Tsiaka ve diğerleri, 2013). Venlafaksin (200 ng/L), karbamazepin (200 ng/L) ve diazepam (10 ng/L) içeren bir psikiyatrik karışıma 3 gün maruz kaldıktan sonra yarasa kulak salyangozu *Lymnaea stagnalis*'in hemosit canlılığı ve sayıları üzerinde anlamlı bir etki gözlenmemiştir (Gust, Fortier, Garric, Fournier ve Gagné, 2013). Lacaze ve diğerleri (2015), 21 saat boyunca 0,0015 ile 75 mg/L arasındaki bir konsantrasyon aralığında karbamazepine maruz kalan mavi mideye *Mytilus edulis*'in hemositlerinde önemli düşüşler olduğu ve bu düşüşleri genotoksik sapmaların indüklediğini gözlemlemiştir. Yeşil midye *Perna viridis*'te test edilen konsantrasyonların hiçbirinde (1 ng/L, 10 ng/L ve 96 ng/L) 24 saat karbamazepin maruziyetinin hemosit sayıları üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır (Juhel ve diğerleri, 2017). Literatüre benzer şekilde biz de çalışmamızda karbamazepinin iki farklı dozuna (1,25 mg/L ve 12,5 mg/L) üç farklı zaman periyodunda maruz kalan tatlı su ıstakozlarında THS kontrol gruplarına göre istatistik olarak önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir ($P < 0,05$). THS'deki azalmanın nedeni, karbamazepinin neden olduğu membran değişiklikleri ve indüklenmiş hücre ölümü olabilir.

5.3.2. Total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidatif stres seviyesi (TOS)

İnsanlarda uzun süreli karbamazepin kullanımının ardından gözlenen yan etkiler arasında oksidatif stres ve membran fosfolipidlerinin değişmesi yer alır. Bununla birlikte, çevresel konsantrasyonlar, insanlara uygulanan terapötik dozlardan çok daha düşüktür. Ayrıca, insanlar ve suda yaşayan hayvanlar arasında toksikokinetik ve toksikodinamik farklılıklar olması beklenir. Bu nedenle, sucul biyotada karbamazepinin etki mekanizmalarını ve toksikolojik etkilerini araştıran çok sayıda çalışma, karbamazepinin sucul organizmalarda oksidatif stres, antioksidan düzeyi, lipid peroksidasyonu ve enzimatik aktiviteleri değiştirebildiğini göstermektedir (Baali ve Cosio, 2022).

Oksidatif durumla ilişkili biyobelirteçler, kirleticilerin reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ile antioksidan savunma kapasitesi arasındaki dengeyi bozma kabiliyeti hakkında bilgi

sağlayabilir. Bu dengesizlik DNA ve lipitler gibi biyolojik moleküllerde hasara ve patolojilerin ortaya çıkmasına neden olabilir (Rahal ve diğerleri, 2014). Bu bağlamda TOS ve TAS, sucul hayvanların oksidatif durumu hakkında bilgi sağlar (Erel, 2005). TAS, çeşitli reaktif nitrojen türleri (RNS) ve ROS türlerine karşı antioksidan aktivitesinin tam spektrumunu kapsar (Yağan, Kesim ve Liman, 2014). Farklı antioksidan moleküllerin tek tek ölçümü zaman ve maliyet kaybına neden olmakta ve karmaşık tekniklere ihtiyaç doğurmaktadır ancak TAS ölçümü uygulamada basit bir yöntemdir (Erel, 2005). TAS değerinde özellikle zamana bağlı olarak gerçekleşen artış, antioksidan sistemin artan ROS'a karşı savunma tepkisini ortaya koymaktadır (Selvi ve diğerleri, 2011). Önceki çalışmalar, sucul canlıların plazma veya hemolenf TAS seviyelerinin, bağışıklık sisteminin stres faktörlerine karşı verdiği tepkinin biyoindikatörü olabileceğini göstermiştir (Valavanidis, Vlahogianni, Dassenakis ve Scoullou, 2006; Sepici-Dinçel ve diğerleri, 2009). Karbamazepinin, çevresel olarak ilgili konsantrasyonlarda sucul organizmalarda antioksidan enzimlerin aktivitesinin modifikasyonuna yol açan ROS üretimini tetiklediği gösterilmiştir. Bununla birlikte, veriler aynı zamanda türlere ve organa bağlı tepkileri de göstermektedir (Baali ve Cosio, 2022).

Çalışmamızda, 1,25 mg/L ve 12,5 mg/L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz kalan tatlı su ıstakozlarının hemolenf TAS seviyeleri, maruz kalma süresine bağlı olarak önemli ölçüde artış göstermiştir. Bizim bulgularımıza benzer olarak Belek ve diğerleri, (2022), endüstriyel bir florlu organik kimyasal olan perflorooktan sülfonatın (PFOS) 0,5 ve 5 mg/L konsantrasyonlarına 48 saat, 7 gün ve 21 gün maruz bıraktıkları tatlı su ıstakozlarının (*Astacus leptodactylus*) hemolenf TAS değerlerinin arttığını tespit etmişlerdir.

Bulgularımızın aksine, 14 gün süreyle 19,5°C'de 600 ng/L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan bir knidililere ait *Hydra circumcincta*'nın TAS düzeyinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır (Desbiolles ve diğerleri, 2020). Ancak lipit peroksidasyonu 19,5°C'de kontrollerle karşılaştırıldığında karbamazepine maruz kalan poliplerde önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, düşük dozlarda karbamazepinin, antioksidatif sistemler tarafından etkisiz hale getirilmeyen membran lipid peroksidasyonunu indüklemesi gerçeğiyle açıklanmıştır.

Sucul omurgasızlarda TOS değerlendirilmesine literatürde oldukça az rastlanmaktadır. Bulgularımız karbamazepinin *Astacus leptodactylus* hemolenfi TOS düzeylerinin

belirlenmesine ilişkin ilk rapor olması açısından değerlidir. Çalışmamızda 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının TOS değeri ortalamaları, tüm maruziyet sürelerinde kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. 7 ve 14 gün süreyle 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozlarının TOS ortalamalarının, 48 saate kıyasla anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde Belek ve diğerleri (2022) 48 saat ve 7 gün süresince 5 mg/L PFOS'a maruz kalan tatlı su istakozlarının hemolenf TOS düzeyini kontrollere kıyasla daha yüksek bulmuştur. Benzer bir artış Franco ve diğerleri (2016) tarafından kurşuna maruz kalan *Mytilus galloprovincialis*'in solungaçlarında TOS ve TAS düzeylerinde artış tespit edilmiş ancak TAS düzeyinde yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 96 saat boyunca Polistiren nanoplastiklerin tek başına veya karbamazepin (6.3 µg/L) ile birlikte Akdeniz midyesi *Mytilus galloprovincialis* üzerindeki etkilerini değerlendiren Brandts ve diğerleri (2018), karbamazepinin hemolenf TAS ve TOS değerlerini tek başına değiştirmedığını fakat 0,5 mg /L doz polistiren nanoplastiklerin sindirim bezlerinde TOS değerini arttırdığını ve 50 mg /L dozun da TAS değerini arttırdığını rapor etmiştir.

5.4. Tatlı su İstakozlarında Biyokimya Parametrelerine İlişkin Bulguların Değerlendirilmesi

Oksidatif stres ve bağışıklık tepkisini birbirine bağlayan sistemlerle ilgili olan ROS'un hızlı bir şekilde ortadan kaldırılması, organizmanın hayatta kalması için gereklidir. Bu sistemler, SOD, CAT, selenyum bağımlı glutatyon peroksidaz (Se-GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) dahil olmak üzere farklı antioksidan sistemleri içerir (Gust ve diğerleri, 2013). Antioksidan mekanizmalar ve oksidanlar arasındaki denge bozulur ve oksidanlar yönüne kayarsa yani hücre daha fazla ROS'a maruz kalırsa bu oksidatif stresi artırır (Halliwell, 1999). İnsan farmasötikleri ROS indükleyebilir ve oksidatif strese neden olarak antioksidan aktivitelerini değiştirebilir (Stara ve diğerleri, 2012). Bugüne kadar sucul organizmalarda karbamazepine karşı oksidatif stres tepkilerini ve antioksidan enzim aktivitelerini rapor eden birkaç çalışma yapılmıştır (Martin-Diaz ve diğerleri, 2009; Li ve diğerleri, 2010a; Brandts ve diğerleri, 2018; Baali ve Cosio, 2022). Bununla birlikte, karbamazepine maruz kalan tatlı su istakozu *Astacus leptodactylus*'taki antioksidan enzim yanıtlarına ilişkin veriler hala eksiktir.

Çalışmamızda, tatlı su istakozlarında (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) iki karbamazepin konsantrasyonun solungaç, hepatopankreas ve kas dokularındaki belirli

antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, GPx ve CAT) ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyleri belirlenmiştir. Çalışmamızda tüm biyokimyasal parametreler dokuya ve maruziyet süresine bağlı olarak farklılıklar göstermiştir. Belirli dokularda enzim aktivitelerinin farklı tepkileri incelenen bu dokuların farklı metabolik aktiviteleri ve çevresel koşullara farklı yanıtları olarak açıklanabilir (Borkovic, 2008).

5.4.1. Superoksit dismutaz (SOD) aktivitesine ilişkin bulguların değerlendirilmesi

Antioksidan savunma mekanizma enzimlerinden biri olan SOD aktivitesi, çalışmamızda 1,25 ve 12,5 mg/L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaç dokusunda SOD aktivitesinin arttığı, hepatopankreas dokusunda azaldığı ve kas dokusunda önemli bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. SOD aktivitesi karbamazepinin her iki dozuna karşı dokuya bağlı bir tepki göstermiştir. Sonuçlarımıza benzer şekilde; 28 gün süreyle 1,1 µg /L karbamazepine maruz bırakılan Venüz istirdiyesi *Ruditapes philippinarum*, SOD aktivitesinin 2,6x kat indüklendiği tespit edilmiştir (Almeida ve diğerleri, 2018). 28 gün süreyle 0,03, 0,3 ve 3 µg /L karbamazepine maruz bırakılan *R. philippinarum*'da SOD aktivitesinin iki kat oranında indüklendiği, ancak 6 µg /L karbamazepin ile kontrol arasında anlamlı bir fark bulunmadığı görülmüştür (Almeida ve diğerleri, 2015). Palourde deniz tarağı *Ruditapes decussatus*'ta, 14 gün sonra SOD aktivitesinin 30 µg /L konsantrasyonda %100 ve 50 µg /L konsantrasyonda %200 indüklendiği tespit edilmiştir (Abdelhafidh ve diğerleri, 2018). Semelidae familyasına ait çift kabuklu bir yumuşakça olan *Scrobicularia plana*'da, 96 saat 6 ve 9 µg /L karbamazepine maruz kalma, SOD aktivitesini 1,29x kat inhibe ettiği bulunmuştur (Almeida ve diğerleri, 2017). Son olarak aynı türde, 14 gün süreyle 4 µg /L konsantrasyonda karbamazepin maruz kalma, SOD aktivitesini iki kat oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir (Almeida ve diğerleri, 2017). 7 gün süreyle 5, 15, 50 ve 100 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan *Daphnia magna*'da, SOD aktiviteleri kontrole göre %23, %26, %42 ve %58 oranında azaldığı belirlenmiştir (Nkoom ve diğerleri, 2019). Bulgularımızın tersine, 42 gün boyunca öldürücü olmayan 2.0 mg/L karbamazepin konsantrasyonuna maruz bırakılan gökkuşağı alabalığının karaciğerinde lipid peroksidasyonu ve protein karbonil seviyeleri ile ölçülen oksidatif stresin yükseldiği ancak bu stresin SOD, GPx ve GR dahil olmak üzere antioksidan enzim aktivitelerini indükleyemediği rapor edilmiştir (Li ve diğerleri, 2010a). 30 gün süreyle 50 µg /L karbamazepine maruz kalan Aya midyesinin (*Corbicula fluminea*), solungaçlardaki SOD'lerin aktivitesini 1,66x ve sindirim bezinde 1,33x kat inhibe ettiği rapor edilmiştir

(Chen, Zha, Liang, Li ve Wang, 2014). 22 gün süreyle 15 µg /L karbamazepine maruz kalan Venüz istirdiyesi *Ruditapes philippinarum* sindirim bezinde SOD aktivitesinin 1,60x kat indüklendiği, ancak solungaçlarda SOD aktivitesinin 1,75x kat düştüğü belirlenmiştir (Trombini ve diğerleri, 2019). SOD aktivitelerinin farklı sucul organizmalarda hem indüksiyonu hem de inhibisyonu, spesifik toksikokinetik ve toksikodinamiklerine bağlı olarak karbamazepine toleranslar ile ilgili olarak türler arasında karbamazepine verilen yanıtlardaki farklılıkları işaret etmektedir.

Çalışmalar arasındaki farklılıklar farklı konsantrasyonlar, büyüme eğrileri ve maruziyet sürelerinden kaynaklanmaktadır. Ek olarak gen cevaplarında da farklılıklar görülmektedir. 0,01 µg /L karbamazepine 24 saat ve 48 saat maruz kalan Akdeniz midyesi *Mytilus galloprovincialis*'in larva evrelerinde, bir SOD kodlayan genin 2 kat eksprese olduğu, 48 saat 1 µg /L karbamazepine maruziyetin SOD ekspresyonunu 2 kat inhibe ettiği belirlenmiştir (Franzellitti ve diğerleri, 2019). 7 gün süreyle 0.23, 2.36, 23.6 ve 236 µg /L karbamazepine maruz bırakılan Zebra midyesi *Dreissena polymorpha*'da, SOD'u kodlayan genlerin ekspresyonun 1,2 kat inhibe edildiği rapor edilmiştir (Contardo-Jara ve diğerleri, 2011).

5.4.2. Glutaton peroksidaz (GPx) aktivitesine ilişkin bulguların değerlendirilmesi

ROS uyarısına organizmalar, düşük moleküler ağırlıklı antioksidanları (askorbat, glutatyon ve tokoferol gibi) içeren savunma mekanizmalarıyla yanıt verir ve SOD gibi enzimatik antioksidanlar, $O_2^{\cdot-}$ anyonunun H_2O_2 'ye dönüşümünü katalize eder, ardından CAT ve GPx H_2O_2 'yi parçalar. GPx, hidrojen peroksidaz ve diğer hidroperoksitlerin temizleyicileri olarak CAT ile işbirliği içinde hareket eder (Gate ve diğerleri, 1999).

Çalışmamızda tatlı su ıstakozlarının solungaç dokularında GPx aktivitelerinin, 7 gün ve 14 gün sonra her iki karbamazepin konsantrasyonunda önemli ölçüde arttığı ancak hepatopankreas dokusunda azaldığı görülmüştür. Hepatopankreasta GPx seviyesi her iki konsantrasyonda da 7 ve 14 günde artış gösterse de kontrol grubuna göre istatistiksel olarak hala daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kas dokusunda GPx seviyesinde kontrol grubuna göre herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak literatürde karbamazepinin gökkuşağı alabalığının hepatik antioksidan durumu ve hematolojik parametreleri üzerindeki kronik toksik etkisi araştırıldığı bir çalışmada balıklar

21 gün sonunda 0,2 mg/L ve 2 mg/ L konsantrasyonlarda hepatik GPx aktivitesini anlamlı derecede arttırdığı ancak 42 gün sonunda 2.0 mg/ L karbamazepinin GPx aktivitesini azalttığı belirlenmiştir (Li ve diğerleri, 2010a). Yazarlar, enzimatik inhibisyonun muhtemelen hücrel savunma sistemini tehlikeye atabilecek lipide peroksidasyonu artışı ile ilişkili olduğunu varsaymaktadır. Li ve diğerleri, (2010b), 0,2 ile 2 mg /L arasındaki yüksek konsantrasyonların, bir sazan türü olan *Cyprinus carpio* sperminde iki saat sonra SOD, GR ve GPx aktivitesinde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Güncel bir çalışmada karbamazepinin 0,005, 1, and 10 µg/L konsantrasyonlarına 14 gün süreyle maruz kalan tatlı su balığı *Oreochromis mossambicus*'un karaciğerinde GPx aktivitesinin 10 µg/L konsantrasyonda kontrol ve diğer konsantrasyon gruplarına kıyasla 2 kat arttığı fakat solungaç dokusundaki GPx aktivitesinin farklılık göstermediği rapor edilmiştir. Benzer şekilde karaciğer SOD ve CAT değerlerinin her üç konsantrasyonda arttığı fakat solungaç dokusunda farklılık olmadığı da tespit edilmiştir (Sibiya ve diğerleri, 2023).

Fizyolojik koşullar altında, GPx gibi antioksidan enzimlerin genleri, oksidatif strese yanıt olarak aşırı eksprese edilir, ancak, ROS tarafından makromoleküllere verilen hasar, konformasyonel olarak değişmiş ve inaktif enzimlerin birikmesine neden olur (Landis ve Tower, 2005). Bu davranış, areno oksitler, kinonlar, iminokinonlar, katekolonlar veya epoksitler (Kang ve diğerleri, 2008) gibi karbamazepin metabolitlerinin oluşumu nedeniyle protein karbonil içeriğinin artmasıyla enzimlerin zarar görmesinden kaynaklanabilmektedir (Aguirre-Martínez ve diğerleri, 2016). Literatüre ek olarak sonuçlarımız, 12,6 mg/L kadar yüksek doz karbamazepin konsantrasyonlarının, sucul organizmaların fizyolojisini değiştirebileceğini göstermektedir. Bu, organizmaları ölüme yol açabilen oksidatif süreçlerle inflamasyon süreçlerine, DNA hasarına, nekroz ve apoptoza duyarlı hale getirebilir.

5.4.3. Katalaz (CAT) aktivitesine ilişkin bulguların değerlendirilmesi

SOD-CAT sistemi, oksiradikal oluşumu üzerindeki inhibitör etkileri sayesinde, oksijen toksisitesine karşı ilk savunma hattını sağlar ve ROS üretimini gösteren bir biyobelirteç olarak kullanılır (Van der Oost ve diğerleri, 2003). Sucul organizmalarda karbamazepinin CAT aktivitesine etkilerini ölçen çok sayıda çalışma yapılmıştır (Martin-Diaz ve diğerleri, 2009; Brandts ve diğerleri, 2018; Franzellitti ve diğerleri, 2019). Ancak tatlı su ıstakozu *Astacus leptodactylus* farklı dokularındaki CAT aktivitesi daha önce ölçülmemiştir.

Çalışmamızda 48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz bıraktığımız tatlı su ıstakozlarının solungaç, hepatopankreas ve kas dokularında her iki dozda CAT aktivitelerinin kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde arttığı fakat zamana bağlı değişimlerin dokularda farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. 7 ve 14 günlük süreyle her iki doz karbamazepine maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaç dokusunda CAT aktivitesi, 48 saatlik maruziyete kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı, 1,25 mg/L karbamazepine maruz kalanların hepatopankreas dokusunda zamanla arttığı fakat aynı dozda kas dokusunda düştüğü belirlenmiştir.

7 gün boyunca 0,1–10 µg/L karbamazepin uygulanan midyelerin hemositlerinde lizozomal membran geçirgenliğinde önemli bir azalma, sindirim bezi ve mantoda GST ve CAT aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Martin-Diaz ve diğerleri, 2009). 14 gün süreyle 30 µg /L ve 50 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan Venüz istirdiyesi *Ruditapes philippinarum*'ın CAT aktivitelerinin sırasıyla iki ve üç kat indüklendiği tespit edilmiştir (Abdelhafidh ve diğerleri, 2018). 30 gün süreyle 0,5, 5 ve 50 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan Aya midyesinin (*Corbicula fluminea*), solungaçlar dokularındaki CAT aktivitelerinin sırasıyla 1,15x, 1,25x ve 1,65x ve sindirim bezindekilerin ise 1,375x, 1,75x ve 1,75x aktivitesini indüklendiği belirlenmiştir (Chen ve diğerleri, 2014). 7 gün süreyle 0,1 ve 10 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan *M. galloprovincialis*'in, sindirim bezlerinde CAT aktivitesinin 1,6x ve 1,9x kat arttığı ve 10 µg /L konsantrasyonda gonadlarda 1,2x arttığı tespit edilmiştir (Martin-Diaz ve diğerleri, 2009). 96 saat süreyle 0,3, 3, 6 ve 9 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan *Scrobicularia plana*'nın CAT aktivitesinin taze kütle başına 1.75 U'dan sırasıyla 3, 3, 3,25 ve 2,5 U'ya yükseldiği bildirilmiştir (Almeida ve diğerleri, 2017). 28 gün süreyle 0,03 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan *R. philippinarum*'da CAT aktivitesinin kontrole kıyasla 1,3 oranında azaldığı görülmüştür (Almeida ve diğerleri, 2015). Aynı türde, 14 gün süreyle uygulanan 4 ve 8 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepin, CAT aktivitesini sırasıyla 2,75 ve 3,0 oranında indüklemiştir (Almeida ve diğerleri, 2017). 63 gün süreyle 10 µg /L ve 10 mg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan Zebra balığı *Danio rerio*'da CAT aktivitesinin solungaçlarda 1,25x kat ve karaciğerde 1,5x kat inhibe edildiği rapor edilmiştir (Silva Santos ve diğerleri, 2018). Sonuçlarımıza benzer şekilde 96 saat 75 µg /L karbamazepine maruz kalan zebra balığı karaciğerinde CAT aktivitesinin %1600 oranında indüklendiği gösterilmiştir (Gomes ve diğerleri, 2019). Tersine 10 gün süreyle 100 ng /L karbamazepine maruz kalan dişi *D. rerio*'da, CAT aktivitesinin 3,2 kat azaldığı

belirlenmiştir (Shi ve diğerleri, 2019). 7 gün süreyle 5, 15, 50 ve 100 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz kalan *D. magna*'da, kontrole kıyasla CAT aktivitelerinin %24, %43, %52 ve %66 oranında azaldığı izlenmiştir (Nkoom ve diğerleri, 2019). Suda yaşayan hayvanlarda karbamazepin maruziyeti sonrası CAT aktivitesi ile ilgili olarak mevcut literatürdeki benzerlikler ve farklılıklar, sucul türlere, maruziyet sürelerine ve konsantrasyonlara bağlı olabilir. Bu değişimler CAT genlerin ekspresyonuna da bağlı olabilmektedir. 96 saat 6.5 µg /L karbamazepine maruz bırakılan Akdeniz midyesi *M. galloprovincialis* solungaçlarında CAT kodlayan genlerin transkripsiyon seviyelerinin 9 kat arttığı gösterilmiştir (Brandts ve diğerleri, 2018). Aksine, 48 saat 0,01 ve 1 µg /L karbamazepine maruz bırakılan *M. galloprovincialis*'in larva evrelerinde, CAT ve GST kodlayan genlerin ekspresyonunun 2 kat azaldığı belirlenmiştir (Franzellitti ve diğerleri, 2019).

5.4.4. Malondialdehit (MDA) düzeyine ilişkin bulguların değerlendirilmesi

Sucul organizmalarda karbamazepin tarafından lipid peroksidasyonu (LPO) sıklıkla incelenmiştir (Baali ve Cosio, 2022). LPO, hücrelerde antioksidan savunmalar aşıldığında ROS tarafından indüklenir. Bir lipid peroksidasyon markerı olan MDA, hücrelerde çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonunun son ürünlerinden biridir. Serbest radikallerdeki artış, MDA'nın aşırı üretimine neden olur. MDA seviyesi, kanserli hastalarda oksidatif stres ve antioksidan durumunun bir belirteci olarak bilinir (Gawel ve diğerleri, 2004). Bir organizmadaki MDA seviyesi, oksidanların üretimi arasındaki dengeye ve antioksidanların bu oksidanları ne ölçüde temizlediğine bağlıdır. Antioksidanlar devre dışı kaldığında veya aşırı tükendiğinde, oksidatif stresin bir göstergesi olan LPO, MDA içeriğinde artışa neden olur (Wilhelm, 1996). Çalışmamızda 48 saat, 7 ve 14 gün boyunca 1,25 ve 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaç ve hepatopankreas dokularında her iki dozda MDA düzeylerinin kontrol gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde arttığı fakat kas dokularından anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. 7 ve 14 günlük süreyle 12,5 mg/L karbamazepine maruz kalan tatlı su ıstakozlarının solungaç dokusunda MDA düzeyi, 48 saatlik maruziyete kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı, 1,25 mg/L karbamazepine maruz kalanların hepatopankreas dokusunda zamanla arttığı belirlenmiştir.

Bulgularımıza benzer şekilde Tsiaka ve diğerleri (2013) bir saat süreyle 0,01, 0,1 ve 10 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepin maruziyetinin, *M. galloprovincialis* hemositlerinde

MDA içeriğini 2x ve 3x kat artırdığı ve süperoksit konsantrasyonu artışı ile korele olduğu görülmüştür (Tsiaka ve diğerleri, 2013). 22 gün süreyle 15 µg /L karbamazepin maruziyetinin, *R. philippinarum* solungaçlarında MDA düzeyini 1.9x kat artırdığı tespit edilmiştir (Trombini ve diğerleri, 2019). Aynı türün 28 gün sürede 1,1 ve 3 µg /L karbamazepin maruziyetinin, MDA'yı 13 nmol'den 18 nmol'e çıkarırken, 0,03 ve 0,3 µg /L konsantrasyonlara maruziyetin MDA'yı 13 nmol'den 9 nmol'e düşürdüğü belirlenmiştir (Almeida ve diğerleri, 2017). 14 gün süreyle 30 µg /L karbamazepine maruz kalan *R. philippinarum*'da MDA konsantrasyonun 2.3x kat ve 50 µg /L karbamazepine maruz kalanlarda 2.8x kat indüklendiği gösterilmiştir (Abdelhafidh ve diğerleri, 2018). 96 saat süreyle 9 µg /L karbamazepin maruziyetinin, *S. plana* dokularında MDA düzeyini 10 nmol'den 11 nmol'e yükselttiği rapor edilmiştir (Almeida ve diğerleri, 2017). 5 ve 50 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine 30 gün maruz kalan *C. fluminea* solungaçlarında MDA konsantrasyonu 1.6x ve 1.8x kat, 50 µg /L konsantrasyonda sindirim bezlerinde 1.4x kat artmıştır (Chen ve diğerleri, 2014). 28 gün süreyle 50 µg /L karbamazepine maruz kalan *Carcinus maenas*'ın dokularında MDA düzeyi 0,02 nmol'den 0,15 nmol'e yükselmiştir (Aguirre-Martínez ve diğerleri, 2013). 7 gün süreyle 5, 15, 50 ve 100 µg /L konsantrasyonlarda karbamazepine maruz bırakılan *D. magna*'da MDA içerikleri 0,33x, 0,91x, 1,13x ve 1,38x kat artmıştır (Nkoom ve diğerleri, 2019). Literatür verileri, bulgularımızın desteklediği şekilde farklı konsantrasyonlarda karbamazepinin, sucul organizmalarda ROS üretimine ve ardından MDA'da artışa yol açtığını göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Organizmaların stresle kısmen veya tamamen başa çıkmalarını sağlayan antioksidanların enzim aktiviteleri, karbamazepin varlığı gibi riskli çevre koşulları altında indüklenir. Ancak aşırı toksisite, aşırı ROS üretimine neden olarak antioksidan enzimleri inhibe edebilir. Bu da dokularda oksidatif hücre hasarına yol açarak sucul organizmaların hemosit sayılarını, total oksidatif stres durumunu ve total antioksidan cevabı değiştirebilir (Baali ve Cosio, 2022). Bu değişimi destekler nitelikteki çalışmamızda tatlı su ıstakozlarında antiepileptik ilaç olan karbamazepinin neden olduğu hemolenfe ait parametrelerdeki değişikliğin yanı sıra dokulardaki oksidatif stres parametrelerinde ve antioksidan enzim aktivitelerinde oluşan bazı değişiklikler ortaya konmuştur.

Çalışmamızda tatlı su ıstakozlarında yüksek konsantrasyonlarda (1,25 ve 12,5 mg/L) karbamazepine 48 saat 7 ve 14 gün sürelerde maruziyet sonrası oluşan fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar karbamazepin maruziyetinin, tatlı su ıstakozlarının hemosit sayılarında önemli bir azalmaya yol açması ve TAS ve TOS düzeylerini önemli derecede değiştirmesi, karbamazepinin tatlı su ıstakozu için potansiyel toksisitesini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada gözlemlenen antioksidan enzim aktivitelerinin (SOD, CAT ve GPx) farklı dokularda farklı şekilde zamana bağlı olarak düzenlenmesi ve aynı anda MDA içeriğinin indüksiyonu, tatlı su ıstakozlarında bir antioksidan savunma sisteminin indüklenmesine yol açan karbamazepin birikiminin ortaya çıkardığı ciddi oksidatif strese işaret etmektedir. Bu gözlemler, karbamazepinin sucul ortamında test edilen konsantrasyonlarda birikebileceği ve sonuç olarak *Astacus leptodactylus* popülasyonlarında çalışmamızda gözlemlenen fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olabileceği anlamına gelir.

Ekotoksikoloji alanında oksidatif stres biyomarkerları gibi klasik göstergeler karbamazepin için de çalışılmıştır. Fakat bu moleküler markerlar, karbamazepinin sucul organizmalara etkilerini göstermekte yetersizdir. İnsan ve biotada karbamazepinin toksidiniği farklı olduğu için karbamazepinin sucul organizmalarda etki mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Çevrede en sık bulunan farmasötik bileşik karbamazepinin *Astacus leptodactylus*'da biyokonsantrasyonu, davranışsal ve biyokimyasal tepkileri ve atık sularda veya temiz su kaynaklarında farmasötik kontaminasyonun değerlendirileceği ileri ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Moleküler ve hücrel toksisite hedefleri

hakkında daha ayrıntılı bilgiler, karbamazepinin tek başına veya karışım halindeki etkisini daha iyi tahmin etmek için yararlı olacaktır. Muhtemel moleküler tetikleyici olayların belirlenmesine yardımcı olmak için, omikler gibi organizmanın fizyolojik durumunun daha bütünsel bir şekilde anlaşılmasını kolaylaştıran yaklaşımlar önerilmektedir. Hipoteze dayalı yaklaşımların uygulanması, karbamazepinin sucul biyota üzerindeki etki mekanizmalarını ve toksikolojik etkilerini araştırmaya yardımcı olacaktır. Atık sularda bulunan karbamazepin hakkında daha iyi bir toksikolojik bilgiye ulaşmak için de çok önemlidir.

KAYNAKLAR

- Abdelhafidh, K., Ali, M., Hassen, K., Badreddine, S., Jaume, A., Sandra, P., ... & Ezzeddine, M. (2018). Uptake and metabolism of Carbamazepine (CBZ) by *Clam Ruditapes decussatus* and its effects in biochemical responses. *Xenobiotica*, 48(7), 727-733.
- Aguglia, U., Barboni, G., Battino, D., Cavazzuti, G. B., Citernesi, A., Corosu, R., Guzzetta, F. M., Iannetti, P., Mamoli, D., Patella, A., Pavone, L., Perucca, E., Primiero, F., Pruna, D., Savasta, S., Specchio, L. M., & Verrotti, A. (2009). Italian consensus conference on epilepsy and pregnancy, labor and puerperium. *Epilepsia*, 50 (1), 7-23.
- Aguirre-Martínez, G. V., Del Valls, T. A., & Martín-Díaz, M. L. (2013). Early responses measured in the brachyuran crab *Carcinus maenas* exposed to carbamazepine and novobiocin: application of a 2-tier approach. *Ecotoxicology and environmental safety*, 97, 47-58.
- Aguirre-Martínez, G. V., DelValls, T. A., & Martín-Díaz, M. L. (2016). General stress, detoxification pathways, neurotoxicity and genotoxicity evaluated in *Ruditapes philippinarum* exposed to human pharmaceuticals. *Ecotoxicology and environmental safety*, 124, 18-31.
- Alikhan, M. A., Bagatto, G., & Zia, S. (1990). The crayfish as a “biological indicator” of aquatic contamination by heavy metals. *Water Research*, 24 (9), 1069-1076.
- Almeida, Â., Calisto, V., Domingues, M. R. M., Esteves, V. I., Schneider, R. J., Soares, A. M., ... & Freitas, R. (2017). Comparison of the toxicological impacts of carbamazepine and a mixture of its photodegradation products in *Scrobicularia plana*. *Journal of hazardous materials*, 323, 220-232.
- Almeida, Â., Calisto, V., Esteves, V. I., Schneider, R. J., Soares, A. M., Figueira, E., & Freitas, R. (2018). Effects of single and combined exposure of pharmaceutical drugs (carbamazepine and cetirizine) and a metal (cadmium) on the biochemical responses of *R. philippinarum*. *Aquatic Toxicology*, 198, 10-19.
- Almeida, Â., Freitas, R., Calisto, V., Esteves, V. I., Schneider, R. J., Soares, A. M., & Figueira, E. (2015). Chronic toxicity of the antiepileptic carbamazepine on the clam *Ruditapes philippinarum*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 172, 26-35.
- Alvarino, T., Suarez, S., Lema, J., Omil, F. (2014). Understanding the removal mechanisms of ppccps and the influence of main technological parameters in anaerobic uasb and aerobic cas reactors. *Journal of Hazardous Materials*, 278, 506–513.
- American Psychiatric Association. Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder (revision). (2002). *American Journal of Psychiatry*, 159(4), 1-50.
- Anderson, G.D., Yau, M.K., Gidal, B.E., Harris, S.J., Levy, R.H., Lai, A.A., Wolf, K.B., Wargin, W.A., Dren, A.T. (1996). Bidirectional interaction of valproate and lamotrigine in healthy subjects. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 60, 145-156.

- Anderson, M., Egunsola, O., Cherrill, J., Millward, C., Fakis, A., Choonara, I. (2015). A prospective study of adverse drug reactions to antiepileptic drugs in children. *BMJ Open*, 5, e008298.
- Andres, E., Kerling, F., Hamer, H., and Winterholler, M. (2018). Behavioural changes in patients with intellectual disability treated with brivaracetam. *Acta Neurologica Scandinavica*, 138 (3), 195–202.
- Anonim. (1991). *Resmi Gazete*, 20748, 1-64.
- Anonymous. (1975). *Standard Methods for the Examination of water and Wastewater*, 14th ed. American Public Health Assoc. The Washington Post, 34.
- Anonymous. (1989). *Water Quality*. Managing Iowa Fisheries, Iowa State University, Ames, Iowa, 50011.
- Araal Arpat, Ö. (2006). *Valproik asit ve KARBAMAZEPİN monoterapisi alan erkek hastalarda serum seks hormon düzeylerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırılması*, Yayınlanmamış Doktora Tezi, İstanbul.
- Atkinson, E.D., Brice-Bennett, S., D’Souza, W.S. (2007). Antiepileptic medication during pregnancy: Does fetal genotype affect outcome? *Pediatric Research*, 62, 120-127.
- Attal, N., Cruccu, G., Baron, R., Haanpää, M., Hansson, P., Jensen, T. S., Nurmikko, T. (2010). EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision. *European journal of neurology*, 17(9), 1113-e88.
- Aus der Beek, T., Weber, F. A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., Küster, A. (2016). Pharmaceuticals in the environment-Global occurrences and perspectives. *Environmental toxicology and chemistry*, 35(4), 823–835.
- Baali, H., Cosio, C. (2022). Effects of carbamazepine in aquatic biota. *Environmental science. Processes & impacts*, 24(2), 209–220.
- Bagal, S. K., Marron, B. E., Owen, R. M., Storer, R. I., Swain, N. A. (2015). Voltage gated sodium channels as drug discovery targets. *Channels (Austin, Tex.)*, 9(6), 360-366.
- Baker, G. A., Jacoby, A., Buck, D., Stalgis, C., Monnet, D. (1997). Quality of life of people with epilepsy: a European study. *Epilepsia*, 38(3), 353–362.
- Barim-Oz, O. (2018). The effects on some non-enzymatic antioxidants and oxidative stress of *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823) of starvation periods. *Aquaculture Nutrition*, 24:492-503.
- Baumann, R. J., Duffner, P. K. (2000). Treatment of children with simple febrile seizures: the AAP practice parameter. American Academy of Pediatrics. *Pediatric neurology*, 23(1), 11-17.

- Bayen, S., Zhang, H., Desai, M. M., Ooi, S. K., & Kelly, B. C. (2013). Occurrence and distribution of pharmaceutically active and endocrine disrupting compounds in Singapore's marine environment: influence of hydrodynamics and physical-chemical properties. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 182, 1–8.
- Belek, N., Erkmen, B., Dinçel, A. S., & Gunal, A. C. (2022). Does persistent organic pollutant PFOS (perfluorooctane sulfonate) negative impacts on the aquatic invertebrate organism, *Astacus leptodactylus* [Eschscholtz, 1823]. *Ecotoxicology (London, England)*, 31(8), 1217–1230.
- Benarroch, E. E. (2007). GABAA receptor heterogeneity, function, and implications for epilepsy. *Neurology*, 68(8), 612–614.
- Bergendal, L., Friberg, A., Schaffrath, A. M., Holmdahl, M., Landahl, S. (1997). The clinical relevance of the interaction between carbamazepine and dextropropoxyphene in elderly patients in Gothenburg, Sweden. *European journal of clinical pharmacology*, 53(3-4), 203–206.
- Besag, F. M., Berry, D. J., Pool, F., Newbery, J. E., Subel, B. (1998). Carbamazepine toxicity with lamotrigine: pharmacokinetic or pharmacodynamic interaction?. *Epilepsia*, 39(2), 183–187.
- Bialer M. (2012). Chemical properties of antiepileptic drugs (AEDs). *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(10):887–895.
- Bialer, M., & White, H. S. (2010). Key factors in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Nature reviews, Drug discovery*, 9(1), 68–82.
- Biel-Maeso, M., Baena-Nogueras, R. M., Corada-Fernández, C., & Lara-Martín, P. A. (2018). Occurrence, distribution and environmental risk of pharmaceutically active compounds (PhACs) in coastal and ocean waters from the Gulf of Cadiz (SW Spain). *The Science of the total environment*, 612, 649–659.
- Björnsson, E. (2008). Hepatotoxicity associated with antiepileptic drugs. *Acta Neurologica Scandinavica*, 118: 281–290.
- Björnsson, E., Olsson, R. (2005). Outcome and prognostic markers in severe drug-induced liver disease. *Hepatology*, 42:481–489.
- Blom, S. (1962). Trigeminal neuralgia: its treatment with a new anticonvulsant drug (G-32883). *Lancet*. 1(7234):839–840.
- Borkovic, S.S., Pavlovic, S.Z., Kovacevic, T.B., Stajn, A.S., Petrovic, V.M., Saicic, Z.S. (2008). Antioxidant defence enzyme activities in hepatopancreas, gills and muscle of Spiny cheek crayfish (*Orconectes limosus*) from the River Danube. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147(1), 122–128.

- Bourg, V., Lebrun, C., Chichmanian, R. M., Thomas, P., Frenay, M. (2001). Nitroso-urea-cisplatin-based chemotherapy associated with valproate: increase of haematologic toxicity. *Annals of oncology: official journal of the European Society for Medical Oncology*, 12(2), 217-219.
- Boxall, A. B., Rudd, M. A., Brooks, B. W., Caldwell, D. J., Choi, K., Hickmann, S., Innes, E., Ostapyk, K., Staveley, J. P., Verslycke, T., Ankley, G. T., Beazley, K. F., Belanger, S. E., Berninger, J. P., Carriquiriborde, P., Coors, A., Deleo, P. C., Dyer, S. D., Ericson, J. F., Gagné, F., Van Der Kraak, G. (2012). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions?. *Environmental health perspectives*, 120 (9), 1221-1229.
- Boxall, A.B., Kolpin, D.W., Halling-Sorensen, B., Tolls, J. (2003). Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environmental Science & Technology*, 37 (15), 286A–294A.
- Brack, W., Dulio, V., Ågerstrand, M., Allan, I., Altenburger, R., Brinkmann, M., Bunke, D., Burgess, R.M., Cousins, I., Escher, B.I. (2017). Towards the review of the european union water framework directive: Recommendations for more efficient assessment and management of chemical contamination in european surface water resources. *Science of The Total Environment*, 576, 720-737.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins, utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Brandts, I., Teles, M., Gonçalves, A. P., Barreto, A., Franco-Martinez, L., Tvarijonaviciute, A., Martins, M. A., Soares, A. M. V. M., Tort, L., & Oliveira, M. (2018). Effects of nanoplastics on *Mytilus galloprovincialis* after individual and combined exposure with carbamazepine. *The Science of the total environment*, 643, 775–784.
- Breton, R., Boxall, A. (2003). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: regulatory drivers and research needs. *QSAR & Combinatorial Science*, 22, 399-409.
- Britton, J.W., Zakaria, T.M., Benarroch, E. (2011). *Mechanisms of action of antiepileptic drugs*. In: Cascino GD, Sirven JI. Adult Epilepsy. John Wiley & Sons, 115-126.
- Brodie, M. J., Besag, F., Ettinger, A. B., Mula, M., Gobbi, G., Comai, S., Aldenkamp, A. P., Steinhoff, B. J. (2016). Epilepsy, Antiepileptic Drugs, and Aggression: An Evidence-Based Review. *Pharmacological reviews*, 68(3), 563-602.
- Brodie, M. J., Rosenfeld, W. E., Vazquez, B., Sachdeo, R., Perdomo, C., Mann, A., Arroyo, S. (2009). Rufinamide for the adjunctive treatment of partial seizures in adults and adolescents: a randomized placebo-controlled trial. *Epilepsia*, 50(8), 1899–1909.
- Brodie, M.J., Dichter, M.A. (1997). Established antiepileptic drugs. *Seizure*, 6(3)159-174.
- Bruni, J. (1979). Recent advances in drug therapy for epilepsy. *Canadian Medical Association Journal*, 120:817-24.

- Brunton, L., Lazo, J.S., Parker, K.L. (2009). *Goodman & Gilman, Tedavinin Farmakolojik Temeli* (1. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 512-513.
- Bu, H. Z., Kang, P., Deese, A. J., Zhao, P., Pool, W. F. (2005). Human in vitro glutathionyl and protein adducts of carbamazepine-10,11-epoxide, a stable and pharmacologically active metabolite of carbamazepine. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 33(12), 1920–1924.
- Bueno, M. J., Gomez, M. J., Herrera, S., Hernando, M. D., Agüera, A., & Fernández-Alba, A. R. (2012). Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: two years pilot survey monitoring. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 164, 267–273.
- Burger, J. (2006). Bioindicators: types, development, and use in ecological assessment and research. *Environmental Bioindicators*, 1(1), 22–39.
- Buser, H.R., Poiger, T., Müller, M.D. (1998). Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. *Environmental Science & Technology*, 32 (22), 3449–3456.
- Cain, S.M., Snutch, T.P. *Voltage-Gated Calcium Channels in Epilepsy*. In: Noebels, J. L., Avoli, M., Rogawski, M. A., Olsen, R. W., & Delgado-Escueta, A. V. (Eds.). (2012). *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* (4th ed.). National Center for Biotechnology Information (US).
- Canevini, M. P., De Sarro, G., Galimberti, C. A., Gatti, G., Licchetta, L., Malerba, A., Muscas, G., La Neve, A., Striano, P., Perucca, E., & SOPHIE Study Group. (2010). Relationship between adverse effects of antiepileptic drugs, number of coprescribed drugs, and drug load in a large cohort of consecutive patients with drug-refractory epilepsy. *Epilepsia*, 51(5), 797–804.
- Carreno, M., Gil-Nagel, A., Sánchez, J. C., Elices, E., Serratosa, J. M., Salas-Puig, J., Villanueva, V., & Porcel, J. (2008). Strategies to detect adverse effects of antiepileptic drugs in clinical practice. *Epilepsy & behavior: E&B*, 13(1), 178–183.
- Catterall, W. A., & Few, A. P. (2008). Calcium channel regulation and presynaptic plasticity. *Neuron*, 59(6), 882–901.
- Chapman, S. C., Horne, R., Chater, A., Hukins, D., & Smithson, W. H. (2014). Patients' perspectives on antiepileptic medication: relationships between beliefs about medicines and adherence among patients with epilepsy in UK primary care. *Epilepsy & behavior: E&B*, 31, 312–320.
- Chen, H., Gu, X., Zeng, Q., Mao, Z., Liang, X., & Martyniuk, C. J. (2019). Carbamazepine disrupts molting hormone signaling and inhibits molting and growth of *Eriocheir sinensis* at environmentally relevant concentrations. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 208, 138–145.

- Chen, H., Zha, J., Liang, X., Li, J., & Wang, Z. (2014). Effects of the human antiepileptic drug carbamazepine on the behavior, biomarkers, and heat shock proteins in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Aquatic toxicology*, 155, 1-8.
- Chen, P., Lin, J. J., Lu, C. S., Ong, C. T., Hsieh, P. F., Yang, C. C., Tai, C. T., Wu, S. L., Lu, C. H., Hsu, Y. C., Yu, H. Y., Ro, L. S., Lu, C. T., Chu, C. C., Tsai, J. J., Su, Y. H., Lan, S. H., Sung, S. F., Lin, S. Y., Chuang, H. P., ... Taiwan SJS Consortium (2011). Carbamazepine-induced toxic effects and HLA-B*1502 screening in Taiwan. *The New England journal of medicine*, 364(12), 1126–1133.
- Chen, Z., Brodie, M. J., & Kwan, P. (2020). What has been the impact of new drug treatments on epilepsy?. *Current opinion in neurology*, 33(2), 185–190.
- Chiron C. (2007). Stiripentol. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 4(1), 123–125.
- Christensen, J., Petrenaite, V., Atterman, J., Sidenius, P., Ohman, I., Tomson, T., & Sabers, A. (2007). Oral contraceptives induce lamotrigine metabolism: evidence from a double-blind, placebo-controlled trial. *Epilepsia*, 48(3), 484–489.
- Chwalczuk, K., Rubaj, A., Swiader, M., & Czuczwar, S. J. (2008). Wpływ antagonisty receptorów adenozynowych A1, 8-cyklopentylo-1,3-dipropyloksantyny, na przeciwdrgawkowe działanie leków przeciwpadaczkowych u myszy [Influence of the antagonist of adenosine A1 receptors, 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine, upon the anticonvulsant activity of antiepileptic drugs in mice]. *Przegląd lekarski*, 65(11), 759–763.
- Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology letters*, 142(3), 185–194.
- Contardo-Jara, V., Lorenz, C., Pflugmacher, S., Nützmann, G., Kloas, W., & Wiegand, C. (2011). Exposure to human pharmaceuticals Carbamazepine, Ibuprofen and Bezafibrate causes molecular effects in *Dreissena polymorpha*. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 105(3-4), 428–437.
- Corcoran, J., Winter, M. J., Tyler, C. R. (2010). Pharmaceuticals in the aquatic environment: a critical review of the evidence for health effects in fish. *Critical reviews in toxicology*, 40(4), 287–304.
- Cramer, J. A., Mintzer, S., Wheless, J., Mattson, R. H. (2010). Adverse effects of antiepileptic drugs: a brief overview of important issues. *Expert review of neurotherapeutics*, 10(6), 885–891.
- Cramer, J. A., Wang, Z. J., Chang, E., Powers, A., Copher, R., Cherepanov, D., & Broder, M. S. (2014). Healthcare utilization and costs in adults with stable and uncontrolled epilepsy. *Epilepsy & behavior: E&B*, 31, 356–362.
- Cummings, C., Stewart, M., Stevenson, M., Morrow, J., & Nelson, J. (2011). Neurodevelopment of children exposed in utero to lamotrigine, sodium valproate and carbamazepine. *Archives of disease in childhood*, 96(7), 643–647.

- Cyril, G., Gallant, H. L., Ablett, R. (2001). *Methods for recovering raw meat from the head-shells of crustaceans; e.g. lobster and use thereof for stuffed crustaceans, e.g. lobster and stuffing so-provided*, United states patent, Patent No: US 6,235,338 B1.
- Da Silva Santos, N., Oliveira, R., Lisboa, C. A., e Pinto, J. M., Sousa-Moura, D., Camargo, N. S., ... & Domingues, I. (2018). Chronic effects of carbamazepine on zebrafish: Behavioral, reproductive and biochemical endpoints. *Ecotoxicology and environmental safety*, 164, 297-304.
- Dam, M., Ekberg, R., Løyning, Y., Waltimo, O., Jakobsen, K. (1989). A double-blind study comparing oxcarbazepine and carbamazepine in patients with newly diagnosed, previously untreated epilepsy. *Epilepsy research*, 3(1), 70–76.
- Dam, M., Gram, L. and Schmidt, D. (1988). Surgical treatment of epilepsy. *Acta Neurologica Scandinavica*, 78, Suppl. 117.
- Davis, K. L., Candrilli, S. D., Edin, H. M. (2008). Prevalence and cost of nonadherence with antiepileptic drugs in an adult managed care population. *Epilepsia*, 49(3), 446–454.
- Dekker, P. A. (2002). *Epilepsy: A Manual for Medical and Clinical Officers in Africa*. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Demyanenko, S., Dzreyan, V., & Uzdensky, A. (2019). Axotomy-Induced Changes of the Protein Profile in the Crayfish Ventral Cord Ganglia. *Journal of molecular neuroscience: MN*, 68(4), 667–678.
- Denicoff, K. D., Smith-Jackson, E. E., Disney, E. R., Ali, S. O., Leverich, G. S., & Post, R. M. (1997). Comparative prophylactic efficacy of lithium, carbamazepine, and the combination in bipolar disorder. *The Journal of clinical psychiatry*, 58(11), 470–478.
- Desbiolles, F., Moreau, X., de Jong, L., Malleret, L., Grandet-Marchant, Q., Wong-Wah-Chung, P., & Laffont-Schwob, I. (2020). Advances and limits of two model species for ecotoxicological assessment of carbamazepine, two by-products and their mixture at environmental level in freshwater. *Water research*, 169, 115267.
- Devinsky O. (1999). Patients with refractory seizures. *The New England journal of medicine*, 340(20), 1565–1570.
- Doose, D. R., Brodie, M. J., Wilson, E. A., Chadwick, D., Oxbury, J., Berry, D. J., Schwabe, S., & Bialer, M. (2003a). Topiramate and lamotrigine pharmacokinetics during repetitive monotherapy and combination therapy in epilepsy patients. *Epilepsia*, 44(7), 917–922.
- Doose, D. R., Wang, S. S., Padmanabhan, M., Schwabe, S., Jacobs, D., & Bialer, M. (2003b). Effect of topiramate or carbamazepine on the pharmacokinetics of an oral contraceptive containing norethindrone and ethinyl estradiol in healthy obese and nonobese female subjects. *Epilepsia*, 44(4), 540–549.
- Duncan, J. S., Sander, J. W., Sisodiya, S. M., & Walker, M. C. (2006). Adult epilepsy. *Lancet (London, England)*, 367(9516), 1087–1100.

- Dvory, N. Z., Kuznetsov, M., Livshitz, Y., Gasser, G., Pankratov, I., Lev, O., Adar, E., & Yakirevich, A. (2018). Modeling sewage leakage and transport in carbonate aquifer using carbamazepine as an indicator. *Water Research*, 128, 157–170.
- Eadie, M. J. (2008). Antiepileptic drugs as human teratogens. *Expert Opinion on Drug Safety*, 7, 2, 195–209.
- Elger, C., Halász, P., Maia, J., Almeida, L., Soares-da-Silva, P., & BIA-2093-301 Investigators Study Group. (2009). Efficacy and safety of eslicarbazepine acetate as adjunctive treatment in adults with refractory partial-onset seizures: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group phase III study. *Epilepsia*, 50(3), 454–463.
- El-Shamaa, E.T. (2013). Factors contributing to therapeutic compliance of epileptic patients and the suggestive solutions. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 3(3): 22–35.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*. 2005 Dec 1;38(12):1103-11.
- European Medicines Agency. (1998). *Note for Guidance: Environmental Risk Assessment for Veterinary Medicinal Products other than GMOcontaining and Immunological Products*, CVMP/SWP/055/96. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), London.
- European Medicines Agency. (2005). *Note for Guidance: Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use*, CMPC/SWP/4447/draft. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), London.
- European Medicines Agency. (2006). *Note for Guidance: Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use*, CHMP/SWP/4447/00. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), London.
- European Medicines Agency. (2010). *Note for Guidance: Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use*, CHMP/SWP/44609/2010. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA), London.
- Fattore, C., Cipolla, G., Gatti, G., Limido, G. L., Sturm, Y., Bernasconi, C., & Perucca, E. (1999). Induction of ethinylestradiol and levonorgestrel metabolism by oxcarbazepine in healthy women. *Epilepsia*, 40(6), 783–787.
- Fattore, C., Perucca, E. (2011). Novel medications for epilepsy. *Drugs*, 71, 2151-2178.
- Faught, R. E., Weiner, J. R., Guérin, A., Cunnington, M. C., & Duh, M. S. (2009). Impact of nonadherence to antiepileptic drugs on health care utilization and costs: findings from the RANSOM study. *Epilepsia*, 50(3), 501–509.

- Ferrari, B., Mons, R., Vollat, B., Fraysse, B., Paxéus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A., & Garric, J. (2004). Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment?. *Environmental toxicology and chemistry*, 23(5), 1344–1354.
- Ferrari, B., Paxéus, N., Lo Giudice, R., Pollio, A., & Garric, J. (2003). Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibrac acid, and diclofenac. *Ecotoxicology and environmental safety*, 55(3), 359–370.
- Field, M. J., Oles, R. J., Lewis, A. S., McCleary, S., Hughes, J., & Singh, L. (1997). Gabapentin (neurontin) and S-(+)-3-isobutylgaba represent a novel class of selective antihyperalgesic agents. *British journal of pharmacology*, 121(8), 1513–1522.
- Fisher, R. S., & Velasco, A. L. (2014). Electrical brain stimulation for epilepsy. *Nature reviews. Neurology*, 10(5), 261–270.
- Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Jr, 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. (2014). ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475–482.
- Fisher, R. S., Cross, J. H., D'Souza, C., French, J. A., Haut, S. R., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Lagae, L., Moshé, S. L., Peltola, J., Roulet Perez, E., Scheffer, I. E., Schulze-Bonhage, A., Somerville, E., Sperling, M., Yacubian, E. M., & Zuberi, S. M. (2017). Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*, 58(4), 531–542.
- Food and Drug Administration (FDA), The Center for Drug Evaluation and Research (CDER). (1998). *Guidance for Industry-Environmental Assessment of Human Drugs and Biologics Applications*, Revision 1. FDA- CDER, Rockville.
- Food and Drug Administration (FDA), The Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER). (2016). *Guidance for Industry-Environmental Assessment: Questions and Answers Regarding Drugs with Estrogenic, Androgenic, or Thyroid Activity*, Revision 1. FDA- CDER, Rockville.
- Franco, L., Romero, D., García-Navarro, J.A., Teles, M., Tvarijonaviciute, A. (2016). Esterase activity (EA), total oxidant status (TOS) and total antioxidant capacity (TAC) in gills of *Mytilus galloprovincialis* exposed to pollutants: analytical validation and effects evaluation by single and mixed heavy metal exposure. *Marine Pollution Bulletin*, 102(1), 30-35.
- Franzellitti, S., Balbi, T., Montagna, M., Fabbri, R., Valbonesi, P., Fabbri, E., & Canesi, L. (2019). Phenotypical and molecular changes induced by carbamazepine and propranolol on larval stages of *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, 234, 962–970.

- Gadzała-Kopciuch, R., Berecka, B., Bartoszewicz, J., Buszewski, B. (2004). Some considerations about bioindicators in environmental monitoring. *Polish Journal of Environmental Studies*, 13(5):453–462.
- Galimberti, C. A., Mazzucchelli, I., Arbasino, C., Canevini, M. P., Fattore, C., & Perucca, E. (2006). Increased apparent oral clearance of valproic acid during intake of combined contraceptive steroids in women with epilepsy. *Epilepsia*, 47(9), 1569–1572.
- Garcia-Rodriguez, A., Matamoros, V., Fontas, C., Salvado, V. (2014). The ability of biologically based wastewater treatment systems to remove emerging organic contaminants—a review. *Environmental Science and Pollution Research (international)*, 21, 11708–11728.
- Gate, L., Paul, J., Ba, G. N., Tew, K. D., & Tapiero, H. (1999). Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 53(4), 169–180.
- Gavrilescu, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S., & Fava, F. (2015). Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New biotechnology*, 32(1), 147–156.
- Gaweł, S., Wardas, M., Niedworok, E., & Wardas, P. (2004). Dialdehyd malonowy (MDA) jako wskaźnik procesów peroksydacji lipidów w organizmie [Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker]. *Wiadomości lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 57(9-10), 453–455.
- Genton, P., Gelisse, P., Thomas, P., & Dravet, C. (2000). Do carbamazepine and phenytoin aggravate juvenile myoclonic epilepsy?. *Neurology*, 55(8), 1106–1109.
- Getachew, H., Dekema, N., Awol, S., Abdi, A., and Mohammed, M. (2014). Medication adherence in epilepsy and potential risk factors associated with non adherence in tertiary care teaching hospital in southwest Ethiopia. *Gaziantep Medical Journal*, 20(1), 59–65.
- Gibson, R., Durán-Álvarez, J. C., Estrada, K. L., Chávez, A., & Jiménez Cisneros, B. (2010). Accumulation and leaching potential of some pharmaceuticals and potential endocrine disruptors in soils irrigated with wastewater in the Tula Valley, Mexico. *Chemosphere*, 81(11), 1437–1445.
- Giessmann, T., May, K., Modess, C., Wegner, D., Hecker, U., Zschiesche, M., Dazert, P., Grube, M., Schroeder, E., Warzok, R., Cascorbi, I., Kroemer, H. K., & Siegmund, W. (2004). Carbamazepine regulates intestinal P-glycoprotein and multidrug resistance protein MRP2 and influences disposition of talinolol in humans. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 76(3), 192–200.
- Gomes, T. B., Junior, S. F. S., Saint’Pierre, T. D., Correia, F. V., Hauser-Davis, R. A., & Saggiaro, E. M. (2019). Sublethal psychotropic pharmaceutical effects on the model organism *Danio rerio*: oxidative stress and metal dishomeostasis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 171, 781–789.

- Grabicova, K., Grabic, R., Fedorova, G., Fick, J., Cervený, D., Kolarova, J., Turek, J., Zlabek, V., & Randak, T. (2017). Bioaccumulation of psychoactive pharmaceuticals in fish in an effluent dominated stream. *Water research*, 124, 654–662.
- Greil, W., Kleindienst, N., Erazo, N., & Müller-Oerlinghausen, B. (1998). Differential response to lithium and carbamazepine in the prophylaxis of bipolar disorder. *Journal of clinical psychopharmacology*, 18(6), 455–460.
- Greil, W., Ludwig-Mayerhofer, W., Erazo, N., Schöchlin, C., Schmidt, S., Engel, R. R., Czernik, A., Giedke, H., Müller-Oerlinghausen, B., Osterheider, M., Rudolf, G. A., Sauer, H., Tegeler, J., & Wetterling, T. (1997). Lithium versus carbamazepine in the maintenance treatment of bipolar disorders--a randomised study. *Journal of affective disorders*, 43(2), 151–161.
- Grzesiak, A. L., Lang, M., Kim, K., & Matzger, A. J. (2003). Comparison of the four anhydrous polymorphs of carbamazepine and the crystal structure of form I. *Journal of pharmaceutical sciences*, 92(11), 2260–2271.
- Gunnarsson, L., Snape, J. R., Verbruggen, B., Owen, S. F., Kristiansson, E., Margiotta-Casaluci, L., Österlund, T., Hutchinson, K., Leverett, D., Marks, B., & Tyler, C. R. (2019). Pharmacology beyond the patient - The environmental risks of human drugs. *Environment international*, 129, 320–332.
- Guo, Y.C., Krasner, S.W. (2009). Occurrence of primidone, carbamazepine, caffeine and precursors for n-nitrosodimethylamine in drinking water sources impacted by wastewater. *Journal of the American Water Resources Association*, 45, 58–67.
- Gust, M., Fortier, M., Garric, J., Fournier, M., & Gagné, F. (2013). Effects of short-term exposure to environmentally relevant concentrations of different pharmaceutical mixtures on the immune response of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *The Science of the total environment*, 445-446, 210–218.
- Halling-Sorensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H. C., & Jørgensen, S. E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment--a review. *Chemosphere*, 36(2), 357–393.
- Halliwell, B., (1999). Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning. *Free Radical Research*, 31(4), 261-272.
- Harden, C. L. (2008). Antiepileptic drug teratogenesis: what are the risks for congenital malformations and adverse cognitive outcomes? *International Review of Neurobiology*, 83, 205– 213.
- Harlioglu, M.M., Cakmak, M.N., Köprücü, K., Aksu, O., Harlioglu, A.G., Mise Yonar, S., Cakmak Duran, T., Ozcan, S., Gundogdu, H. (2013). The effect of dietary n-3 series fatty acids on the number of pleopodal egg and stage 1 juvenile in freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz. *Aquaculture Research*, 44:860–868.

- Hartong, E. G., Moleman, P., Hoogduin, C. A., Broekman, T. G., Nolen, W. A., & LitCar Group (2003). Prophylactic efficacy of lithium versus carbamazepine in treatment-naïve bipolar patients. *The Journal of clinical psychiatry*, 64(2), 144–151.
- Heberer T. (2002). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology letters*, 131(1-2), 5–17.
- Holdich, D. M. (2002). Distribution of crayfish in Europe and some adjoining countries. *Bulletin Francais de la Pêche et de la Pisciculture*, 367, 611-650.
- Hossain, M. S., Kubec, J., Grabicová, K., Grabic, R., Randák, T., Guo, W., Kouba, A., & Buřič, M. (2019). Environmentally relevant concentrations of methamphetamine and sertraline modify the behavior and life history traits of an aquatic invertebrate. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 213, 105222.
- Hossain, M. S., Kubec, J., Guo, W., Roje, S., Ložek, F., Grabicová, K., Randák, T., Kouba, A., & Buřič, M. (2021). A combination of six psychoactive pharmaceuticals at environmental concentrations alter the locomotory behavior of clonal marbled crayfish. *The Science of the total environment*, 751, 141383.
- Hossain, M., Sallas, W., Gasparini, M., D Souza, J. (1999). Drug-drug interaction profile of oxcarbazepine in children and adults. *Neurology* 52: 525.
- Huertas, E., Salgot, M., Hollender, J., Weber, S., Dott, W., Khan, S., Schäfer, A., Messalem, R., Bis, B., Aharoni, A., Chikurel, H. (2008). Key objectives for water reuse concepts. *Desalination*, 218, 120–131.
- Hugtenburg, J.G., Timmers, L., Elders, P., Vervloet, M., van Dijk, L. (2013). Definitions, variants, and causes of nonadherence with medication: a challenge for tailored interventions. *Patient Prefer Adherence*, 7, 675-682.
- Hvidberg, E.F. and Dam, M. (1976). Clinical pharmacokinetics of anticonvulsants. *Clinical Pharmacokinetics* 1, 161-168
- Iorio, M. T., Vogel, F. D., Koniuszewski, F., Scholze, P., Rehman, S., Simeone, X., Schnürch, M., Mihovilovic, M. D., & Ernst, M. (2020). GABAA Receptor Ligands Often Interact with Binding Sites in the Transmembrane Domain and in the Extracellular Domain-Can the Promiscuity Code Be Cracked?. *International journal of molecular sciences*, 21(1), 334.
- Ishizaki, T., Chiba, K., Saito, M., Kobayashi, K., & Iizuka, R. (1984). The effects of neuroleptics (haloperidol and chlorpromazine) on the pharmacokinetics of valproic acid in schizophrenic patients. *Journal of clinical psychopharmacology*, 4(5), 254–261.
- ISO. (1996). *Water quality, Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish*. Static method. ISO 7346-2. 1-11.

- Internet: Alick, S., and Doyle, A. (2018). *Choosing Antiepileptic Drugs*. URL: <https://practicalneurology.com/articles/2018-oct/choosing-antiepileptic-drugs?c4src=top5>, Son Erişim Tarihi: 23.03.2022.
- Internet: Schainost, SC. (2016). "The Crayfish of Nebraska" Nebraska Game and Parks Commission -- White Papers, Conference Presentations, & Manuscripts. 69. URL: <http://digitalcommons.unl.edu/nebgamewhitepap/69>, Son Erişim Tarihi: 13.03.2023
- Internet: *Turkish Statistical Institute*. (2016). URL: <http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?altid=1005.73>). Son Erişim Tarihi: 13.03.2022.
- Jaquenoud Sirot, E., van der Velden, J. W., Rentsch, K., Eap, C. B., & Baumann, P. (2006). Therapeutic drug monitoring and pharmacogenetic tests as tools in pharmacovigilance. *Drug safety*, 29(9), 735–768.
- Jelic, A., Petrovi, M., Barcel, D. (2009). Multi-residue method for trace level determination of pharmaceuticals in solid samples using pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry. *Talanta* 80, 363–371.
- Jentink, J., Dolk, H., Loane, M. A., Morris, J. K., Wellesley, D., Garne, E., de Jong-van den Berg, L., & EUROCAT Antiepileptic Study Working Group (2010). Intrauterine exposure to carbamazepine and specific congenital malformations: systematic review and case-control study. *BMJ (Clinical research ed.)*, 341, c6581.
- Jia, W., Mao, L., Zhang, L., Zhang, Y., & Jiang, H. (2018). Effects of two strobilurins (azoxystrobin and picoxystrobin) on embryonic development and enzyme activities in juveniles and adult fish livers of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 207, 573–580.
- Johannessen Landmark, C., & Patsalos, P. N. (2010). Drug interactions involving the new second- and third-generation antiepileptic drugs. *Expert review of neurotherapeutics*, 10(1), 119–140.
- Johannessen Landmark, C., Larsson, P. G., Rytter, E., & Johannessen, S. I. (2009). Antiepileptic drugs in epilepsy and other disorders--a population-based study of prescriptions. *Epilepsy research*, 87(1), 31–39.
- Johannessen, S. I., & Landmark, C. J. (2010). Antiepileptic drug interactions - principles and clinical implications. *Current neuropharmacology*, 8(3), 254–267.
- Johnbull, O. S., Farounbi, B., Adeleye A.O., Ogunrin, O., and Uche, A. P. (2011). Evaluation of factors influencing medication adherence in patients with epilepsy in rural communities of Kaduna State, Nigeria. *Neuroscience & Medicine*, 2(4), 299–305.
- Jones, R. M., Butler, J. A., Thomas, V. A., Peveler, R. C., & Prevett, M. (2006). Adherence to treatment in patients with epilepsy: associations with seizure control and illness beliefs. *Seizure*, 15(7), 504–508.

- Juhel, G., Bayen, S., Goh, C., Lee, W. K., & Kelly, B. C. (2017). Use of a suite of biomarkers to assess the effects of carbamazepine, bisphenol A, atrazine, and their mixtures on green mussels, *Perna viridis*. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(2), 429–441.
- Kang, P., Liao, M., Wester, M. R., Leeder, J. S., Pearce, R. E., & Correia, M. A. (2008). CYP3A4-Mediated carbamazepine (CBZ) metabolism: formation of a covalent CBZ-CYP3A4 adduct and alteration of the enzyme kinetic profile. *Drug metabolism and disposition*, 36(3), 490-499.
- Kayaalp, O. (2012). *Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (II. Cilt, 13. Baskı), Ankara: Pelikan, 919-929.
- Kennedy, G. M., Lhatoo, S. D. (2008). CNS adverse events associated with antiepileptic drugs. *CNS drugs*, 22(9), 739–760.
- Khosravani, H., & Zamponi, G. W. (2006). Voltage-gated calcium channels and idiopathic generalized epilepsies. *Physiological reviews*, 86(3), 941–966.
- Kim, Y., Choi, K., Jung, J., Park, S., Kim, P. G., & Park, J. (2007). Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea. *Environment international*, 33(3), 370–375.
- Kim, K. A., Oh, S. O., Park, P. W., & Park, J. Y. (2005). Effect of probenecid on the pharmacokinetics of carbamazepine in healthy subjects. *European journal of clinical pharmacology*, 61(4), 275–280.
- Korinthenberg, R., Haug, C., & Hannak, D. (1994). The metabolism of carbamazepine to CBZ-10,11-epoxide in children from the newborn age to adolescence. *Neuropediatrics*, 25(4), 214–216.
- Korkut, O. Aydın, H. (2020). Ebeveynlerin Antiepileptik İlaç Kullanımıyla İlgili Bilgi, Tutum, Davranışları ve Antiepileptik İlaçların Sık Gözlenen Yan Etkileri; Tek Merkezli Gözlemsel Deneyim. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*, 1-7.
- Kostich, M. S., Batt, A. L., & Lazorchak, J. M. (2014). Concentrations of prioritized pharmaceuticals in effluents from 50 large wastewater treatment plants in the US and implications for risk estimation. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 184, 354–359.
- Kouba, A., Buric, M. and Kozak, P. (2010). Bioaccumulation and effects of heavy metals in crayfish: a review. *Water, Air and Soil Pollution*, 211 (1-4), 5-16.
- Kousalya, K., Swathi Cherukuri, D.P., Padmasani, L.N., Arun Prasath, T.S. (2014). Drug utilization pattern of antiepileptics and their adverse effects in pediatrics. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3 504-13.

- Kovacevic, V., Simpson, A. J., & Simpson, M. J. (2016). (1)H NMR-based metabolomics of *Daphnia magna* responses after sub-lethal exposure to triclosan, carbamazepine and ibuprofen. *Comparative biochemistry and physiology. Part D, Genomics & proteomics*, 19, 199–210.
- Krahnefeld, H., Wunderlich, H. (1977). G.D.R. *Pat.* 133.052,
- Kubec J., Hossain M. S., Grabicová K., Randák T., Kouba A., Grabic R., Roje S., Buřič M. (2019). Oxazepam alters the behavior of crayfish at diluted concentrations, cenlafaxine does not. *Water*, 11 (2), 196.
- Kuklina, I., Sladkova, S., Kouba, A., Kholodkevich, S., & Kozák, P. (2014). Investigation of chloramine-T impact on crayfish *Astacus leptodactylus* (Esch., 1823) cardiac activity. *Environmental science and pollution research international*, 21(17), 10262–10269.
- Kumar, S., Sarangi, S. C., Tripathi, M., & Gupta, Y. K. (2020). Evaluation of adverse drug reaction profile of antiepileptic drugs in persons with epilepsy: A cross-sectional study. *Epilepsy & behavior: E&B*, 105, 106947.
- Kuzmanova, R., Stefanova, I., Velcheva, I., and Stambolieva, K. (2014). Translation, cross-cultural adaptation, and validation of the Bulgarian version of the Liverpool Adverse Event Profile. *Epilepsy & Behavior*, 39, 88–91.
- Kümmerer, K. (2008). *Pharmaceuticals in the Environment: Sources, Fate, Effects and Risks*. Germany Springer Science & Business Media.
- Kwan, P., & Brodie, M. J. (2000). Early identification of refractory epilepsy. *The New England journal of medicine*, 342(5), 314–319.
- Kwan, P., & Sperling, M. R. (2009). Refractory seizures: try additional antiepileptic drugs (after two have failed) or go directly to early surgery evaluation?. *Epilepsia*, 50 Suppl 8, 57–62.
- Kyngäs, H. (2000). Compliance with health regimens of adolescents with epilepsy. *Seizure*, 9(8), 598–604.
- Lacaze, E., Pédelucq, J., Fortier, M., Brousseau, P., Auffret, M., Budzinski, H., & Fournier, M. (2015). Genotoxic and immunotoxic potential effects of selected psychotropic drugs and antibiotics on blue mussel (*Mytilus edulis*) hemocytes. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 202, 177–186.
- Landis, G. N., & Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of ageing and development*, 126(3), 365–379.
- Landmark, C. J., Rytter, E., & Johannessen, S. I. (2007). Clinical use of antiepileptic drugs at a referral centre for epilepsy. *Seizure*, 16(4), 356–364.

- Lange, A., Paull, G. C., Coe, T. S., Katsu, Y., Urushitani, H., Iguchi, T., & Tyler, C. R. (2009). Sexual reprogramming and estrogenic sensitization in wild fish exposed to ethinylestradiol. *Environmental science & technology*, 43(4), 1219–1225.
- Larsson D. G. (2014). Pollution from drug manufacturing: review and perspectives. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 369(1656), 20130571.
- Li, H., Listeman, L. R., Doshi, D., Cooper, R. L. (2000). Heart rate measures in blind cave crayfish during environmental disturbances and social interactions. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, 127(1), 55–70.
- Li, Z. H., Velisek, J., Zlabek, V., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., & Randak, T. (2010). Hepatic antioxidant status and hematological parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after chronic exposure to carbamazepine. *Chemico-biological interactions*, 183(1), 98–104.
- Li, Z. H., Li, P., Rodina, M., & Randak, T. (2010b). Effect of human pharmaceutical Carbamazepine on the quality parameters and oxidative stress in common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa. *Chemosphere*, 80(5), 530–534.
- Lipkind, G. M., & Fozzard, H. A. (2010). Molecular model of anticonvulsant drug binding to the voltage-gated sodium channel inner pore. *Molecular pharmacology*, 78(4), 631–638.
- Liu, F., Ying, G. G., Yang, L. H., & Zhou, Q. X. (2009). Terrestrial ecotoxicological effects of the antimicrobial agent triclosan. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72(1), 86–92.
- Löscher W. (2002). Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS drugs*, 16(10), 669–694.
- Löscher, W. (2005). Mechanisms of drug resistance. *Epileptic Disorders*, 7(1), S3–S9.
- Löscher, W., Schmidt, D. (2011). Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: ways out of the current dilemma. *Epilepsia*, 52(4), 657–678.
- Löscher, W., Klitgaard, H., Twyman, R. E., & Schmidt, D. (2013). New avenues for anti-epileptic drug discovery and development. *Nature reviews. Drug discovery*, 12(10), 757–776.
- Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J., Liang, S., & Wang, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *The Science of the total environment*, 473–474, 619–641.
- Luszczki, J. J. (2009). Third-generation antiepileptic drugs: mechanisms of action, pharmacokinetics and interactions. *Pharmacological reports : PR*, 61(2), 197–216.

- Lyseng-Williamson, K. A., Yang, L. P. (2007). Topiramate: a review of its use in the treatment of epilepsy. *Drugs*, 67(15), 2231–2256.
- Malarvizhi, A., Kavitha, C., Saravanan, M., Ramesh, M. (2012). Carbamazepine (CBZ) induced enzymatic stress in gill, liver and muscle of a common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of King Saud University - Science*, 24(2):179-186.
- Martin-Diaz, L., Franzellitti, S., Buratti, S., Valbonesi, P., Capuzzo, A., & Fabbri, E. (2009). Effects of environmental concentrations of the antiepileptic drug carbamazepine on biomarkers and cAMP-mediated cell signaling in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 94(3), 177–185.
- May, T. W., Rambeck, B., & Jürgens, U. (1999). Influence of oxcarbazepine and methsuximide on lamotrigine concentrations in epileptic patients with and without valproic acid comedication: results of a retrospective study. *Therapeutic drug monitoring*, 21(2), 175–181.
- Mazlum, Y., Yılmaz, E. (2012). *Kerevitler: Tatlı Su Istakozlarının Biyolojisi ve Yetiştiriciliği*, Hatay: Color Ofset, 17-33.
- Mbuba, C. K., Ngugi, A. K., Fegan, G., Ibinda, F., Muchohi, S. N., Nyundo, C., Odhiambo, R., Edwards, T., Odermatt, P., Carter, J. A., & Newton, C. R. (2012). Risk factors associated with the epilepsy treatment gap in Kilifi, Kenya: a cross-sectional study. *The Lancet, Neurology*, 11(8), 688–696.
- McClellan, K., Halden, R.U. (2010). *Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey*.
- McEneff, G., Barron, L., Kelleher, B., Paull, B., & Quinn, B. (2014). A year-long study of the spatial occurrence and relative distribution of pharmaceutical residues in sewage effluent, receiving marine waters and marine bivalves. *The Science of the total environment*, 476-477, 317–326.
- Meldrum, B. S., & Rogawski, M. A. (2007). Molecular targets for antiepileptic drug development. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 4(1), 18–61.
- Melvin, S. D., Cameron, M. C., & Lanctôt, C. M. (2014). Individual and mixture toxicity of pharmaceuticals naproxen, carbamazepine, and sulfamethoxazole to Australian striped marsh frog tadpoles (*Limnodynastes peronii*). *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 77(6), 337–345.
- Mihara, M., & Uchiyama, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical biochemistry*, 86(1), 271–278.
- Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science (London, England : 1979)*, 84(4), 407–412.

- Mohapatra, D. P., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Picard, P., & Surampalli, R. Y. (2014). Analysis and advanced oxidation treatment of a persistent pharmaceutical compound in wastewater and wastewater sludge-carbamazepine. *The Science of the total environment*, 470-471, 58–75.
- Moreno-González, R., Rodríguez-Mozaz, S., Huerta, B., Barceló, D., & León, V. M. (2016). Do pharmaceuticals bioaccumulate in marine molluscs and fish from a coastal lagoon?. *Environmental research*, 146, 282–298.
- Morley N. J. (2009). Environmental risk and toxicology of human and veterinary waste pharmaceutical exposure to wild aquatic host-parasite relationships. *Environmental toxicology and pharmacology*, 27(2), 161–175.
- Moroz G. (2004). High-potency benzodiazepines: recent clinical results. *The Journal of clinical psychiatry*, 65 Suppl 5, 13–18.
- Morse, J.C., Bae, Y.J., Munkhjargal, G., Sangpradub, N., Tanida, K., Vshivkova, T.S., Wang, B., Yang, L. and Yule, C.M. (2007), Freshwater biomonitoring with macroinvertebrates in East Asia. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5: 33-42.
- Mula, M. (2008). Anticonvulsants - antidepressants pharmacokinetic drug interactions: the role of the CYP450 system in psychopharmacology. *Current drug metabolism*, 9(8), 730–737.
- Mumoli, L., Palleria, C., Gasparini, S., Citraro, R., Labate, A., Ferlazzo, E., Gambardella, A., De Sarro, G., & Russo, E. (2015). Brivaracetam: review of its pharmacology and potential use as adjunctive therapy in patients with partial onset seizures. *Drug design, development and therapy*, 9, 5719–5725.
- Nardi, A. E., Freire, R. C., Valença, A. M., Amrein, R., de Cerqueira, A. C., Lopes, F. L., Nascimento, I., Mezzasalma, M. A., Veras, A. B., Sardinha, A., de Carvalho, M. R., da Costa, R. T., Levitan, M. N., de-Melo-Neto, V. L., Soares-Filho, G. L., & Versiani, M. (2010). Tapering clonazepam in patients with panic disorder after at least 3 years of treatment. *Journal of clinical psychopharmacology*, 30(3), 290–293.
- Nilsson, J., & Sterner, O. (2011). Modulation of GABA(A) receptors by natural products and the development of novel synthetic ligands for the benzodiazepine binding site. *Current drug targets*, 12(11), 1674–1688.
- Nkoom, M., Lu, G., Liu, J., Yang, H., & Dong, H. (2019). Bioconcentration of the antiepileptic drug carbamazepine and its physiological and biochemical effects on *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 172, 11-18.
- Noel, L., Chekri, R., Millour, S., Merlo, M., Leblanc, J. C., & Guérin, T. (2013). Distribution and relationships of As, Cd, Pb and Hg in freshwater fish from five French fishing areas. *Chemosphere*, 90(6), 1900–1910.

- Oaks, J. L., Gilbert, M., Virani, M. Z., Watson, R. T., Meteyer, C. U., Rideout, B. A., Shivaprasad, H. L., Ahmed, S., Chaudhry, M. J., Arshad, M., Mahmood, S., Ali, A., & Khan, A. A. (2004). Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*, 427(6975), 630–633.
- Ofoegbu, P. U., Lourenço, J., Mendo, S., Soares, A. M. V. M., & Pestana, J. L. T. (2019). Effects of low concentrations of psychiatric drugs (carbamazepine and fluoxetine) on the freshwater planarian, *Schmidtea mediterranea*. *Chemosphere*, 217, 542–549.
- Oropesa, A. L., Floro, A. M., & Palma, P. (2016). Assessment of the effects of the carbamazepine on the endogenous endocrine system of *Daphnia magna*. *Environmental science and pollution research international*, 23(17), 17311–17321.
- Osorio, M., Reis, S., Lima, J., Segundo, M. (2016). Analytical Features of Diclofenac Evaluation in Water as a Potential Marker of Anthropogenic Pollution. *Current Pharmaceutical Analysis*, 12. 1-1.
- Osterberg, L., & Blaschke, T. (2005). Adherence to medication. *The New England journal of medicine*, 353(5), 487–497.
- Panayiotopoulos, C. P. A. (2010). *Clinical Guide to Epileptic Syndromes and Their Treatment, 2nd edition*. London: Springer London.
- Parker, A. C., Pritchard, P., Preston, T., & Choonara, I. (1998). Induction of CYP1A2 activity by carbamazepine in children using the caffeine breath test. *British journal of clinical pharmacology*, 45(2), 176–178.
- Patsalos, P.N. (2013). *Antiepileptic drug interactions*. London: Springer London.
- Patsalos, P. N., Berry, D. J., Bourgeois, B. F., Cloyd, J. C., Glauser, T. A., Johannessen, S. I., Leppik, I. E., Tomson, T., & Perucca, E. (2008). Antiepileptic drugs--best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: a position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*, 49(7), 1239–1276.
- Patsalos, P. N., Fröscher, W., Pisani, F., & van Rijn, C. M. (2002). The importance of drug interactions in epilepsy therapy. *Epilepsia*, 43(4), 365–385.
- Pauwels, O. (2002). Factors contributing to carbamazepine-macrolide interactions. *Pharmacological Research*, 45, 291-298.
- Pearce, R. E., Lu, W., Wang, Y., Uetrecht, J. P., Correia, M. A., & Leeder, J. S. (2008). Pathways of carbamazepine bioactivation in vitro. III. The role of human cytochrome P450 enzymes in the formation of 2,3-dihydroxycarbamazepine. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*, 36(8), 1637–1649.
- Pereira, F. A., Mudgil, A. V., & Rosmarin, D. M. (2007). Toxic epidermal necrolysis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 56(2), 181–200.

- Perucca E. (2006). Clinically relevant drug interactions with antiepileptic drugs. *British journal of clinical pharmacology*, 61(3), 246–255.
- Perucca, E., Cloyd, J., Critchley, D., & Fuseau, E. (2008). Rufinamide: clinical pharmacokinetics and concentration-response relationships in patients with epilepsy. *Epilepsia*, 49(7), 1123–1141.
- Perucca, P., & Gilliam, F. G. (2012). Adverse effects of antiepileptic drugs. *The Lancet. Neurology*, 11(9), 792–802.
- Petrie, B., McAdam, E.J., Scrimshaw, M.D., Lester, J.N., Cartmell, E. (2013). Fate of drugs during wastewater treatment. *Trends in Analytical Chemistry*, 49, 145–159.
- Petrovic, M. (2014). Methodological challenges of multi-residue analysis of pharmaceuticals in environmental samples. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 1:e25-e33.
- Porter, R. J., Baulac, M., & Nohria, V. (2010). Clinical development of drugs for epilepsy: a review of approaches in the United States and Europe. *Epilepsy research*, 89(2-3), 163–175.
- Potschka, H. (2013). Pharmacological treatment strategies: Mechanisms of antiepileptic drugs. *Epileptology*, 1, 31-37.
- Proia, L., Osorio, V., Soley, S., Köck-Schulmeyer, M., Pérez, S., Barceló, D., Romaní, A. M., & Sabater, S. (2013). Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 178, 220–228.
- Punginelli, D., Schillaci, D., Mauro, M., Deidun, A., Barone, G., Arizza, V., & Vazzana, M. (2022). The potential of antimicrobial peptides isolated from freshwater crayfish species in new drug development: A review. *Developmental and comparative immunology*, 126, 104258.
- Purcarin, G., & Ng, Y. T. (2014). Experience in the use of clobazam in the treatment of Lennox-Gastaut syndrome. *Therapeutic advances in neurological disorders*, 7(3), 169–176.
- Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *BioMed research international*,
- Reimers, A., Helde, G., & Brodtkorb, E. (2005). Ethinyl estradiol, not progestogens, reduces lamotrigine serum concentrations. *Epilepsia*, 46(9), 1414–1417.
- Reish, D.L., Oshida, P.S., (1987). Manual of Methods in Aquatic Environment Research. Part 10. Short -Term Static Bioassays. *FAO Fisheries Technical Paper*, 247: 17-33.
- Reynolds, E.H., Chadwick, D. and Galbraith, A.W. (1976). One drug 'phenytoin' in the treatment of epilepsy. *Lancet*, i, 923-926.

- Rezaei, M., Mashinchian Moradi, A., Mortazavi, P., Jamili, S. (2020). Effects of chronic exposure to carbamazepine on hematological parameters in *Cyprinus carpio*. *IJFS*, 19 (1) :443-456.
- Rho, J.M., Sankar, R. (1999). The pharmacologic basis of antiepileptic drug action. *Epilepsia*, 40:1471-83.
- Rivetti, C., Campos, B., Barata, C. (2016). Low environmental levels of neuro-active pharmaceuticals alter phototactic behaviour and reproduction in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 170:289–296.
- Rodrigues, J., Albino, S., Silva, S., Cravo, A., Cardoso, V.V., Benoliel, M.J., Almeida, C.M. (2019). Development of a multiresidue method for the determination of 24 pharmaceuticals in clams by QuEChERS and liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. *Food Anal Methods*, 12:838–851.
- Rogawski, M. A., & Bazil, C. W. (2008). New molecular targets for antiepileptic drugs: alpha(2)delta, SV2A, and K(v)7/KCNQ/M potassium channels. *Current neurology and neuroscience reports*, 8(4), 345–352.
- Rosenfeld, W. E., Doose, D. R., Walker, S. A., & Nayak, R. K. (1997). Effect of topiramate on the pharmacokinetics of an oral contraceptive containing norethindrone and ethinyl estradiol in patients with epilepsy. *Epilepsia*, 38(3), 317–323.
- Rowbotham, M., Harden, N., Stacey, B., Bernstein, P., Magnus-Miller, L., Group, G.P.N.S. (1998). Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia: A randomized controlled trial. *JAMA* 280, 1837–1842.
- Rytter, E., Landmark, C. J., & Johannessen, S. I. (2009). Antiepileptic drug treatment of children at a referral centre for epilepsy--does admission make a difference?. *Seizure*, 18(8), 573–579.
- Sabate, E. (2003). *Adherence to Long-Term Therapies: Evidence for Action*, World Health Organization, Geneva,
- Sabers, A., Ohman, I., Christensen, J., Tomson, T. (2003). Oral contraceptives reduce lamotrigine plasma levels. *Neurology*, 61(4), 570–571.
- Saltık, S. (2014). Çocukluk Epilepsilerinde Tıbbi Tedavi. *Epilepsi*, 20(Ek 1):50-5.
- Sander, J. W. (2003). The epidemiology of epilepsy revisited. *Current opinion in neurology*, 16(2), 165–170.
- Sander, J. W. (2004). The use of antiepileptic drugs—principles and practice. *Epilepsia*, 45(6), 28–34.
- Schindler, W., Häfliger, F. (1954). Beyond derivatives of iminodibenzyls. *Helvetica Chimica Acta* 37:472-83.
- Schindler, W. (1960). *U.S. Pat.* 2.948.718.

- Schipper, S., Aalbers, M. W., Rijkers, K., Swijsen, A., Rigo, J. M., Hoogland, G., & Vles, J. S. (2016). Tonic GABAA Receptors as Potential Target for the Treatment of Temporal Lobe Epilepsy. *Molecular neurobiology*, 53(8), 5252–5265.
- Schumacher, T. B., Beck, H., Steinhäuser, C., Schramm, J., & Elger, C. E. (1998). Effects of phenytoin, carbamazepine, and gabapentin on calcium channels in hippocampal granule cells from patients with temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 39(4), 355–363.
- Scott, G. R., & Sloman, K. A. (2004). The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquatic toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 68(4), 369–392.
- Selvi, M., Cavaş, T., Benli, A.C.K., Koçak Memmi, B., Cinkılıç, N., Sepici Dinçel, A., Vatan, O., Yılmaz, D., Sarıkaya, R., Zorlu, T., Erkoç, F. (2011). Sublethal toxicity of esbiothrin relationship with total antioxidant status and in vivo genotoxicity assessment in fish (*Cyprinus carpio* L., 1758) using the micronucleus test and comet assay. *Environmental Toxicology*, 28(11), 644–651.
- Sepici-Dinçel, A., Alparslan, N., Benli, A.C.K., Selvi, M., Sarıkaya, R., Özkul İ.A., Erkoç, F. (2013). Haemolymph biochemical parameters reference intervals and total haemocyte counts of narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Ecological Indicators*, 24, 305–9.
- Serra-Compte, A., Maulvault, A. L., Camacho, C., Álvarez-Muñoz, D., Barceló, D., Rodríguez-Mozaz, S., & Marques, A. (2018). Effects of water warming and acidification on bioconcentration, metabolization and depuration of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 236, 824–834.
- Shi, C., He, Y., Liu, J., Lu, Y., Fan, Y., Liang, Y., & Xu, Y. (2019). Ecotoxicological effect of single and combined exposure of carbamazepine and cadmium on female *Danio rerio*: A multibiomarker study. *Applied Sciences*, 9(7), 1362.
- Shneker, B. F., McAuley, J. W. (2005). Pregabalin: a new neuromodulator with broad therapeutic indications. *The Annals of pharmacotherapy*, 39(12), 2029–2037.
- Shorvon, S. D. (2009). Drug treatment of epilepsy in the century of the ILAE: the second 50 years, 1959–2009. *Epilepsia*, 50 Suppl 3, 93–130.
- Shorvon, S.D. and Reynolds, E.H. (1979). Reduction in polypharmacy for epilepsy. *British Medical Journal*, 1023–1025.
- Sibiya, A., Jeyavani, J., Saravanan, M., Albeshr, M. F., Nicoletti, M., Govindarajan, M., & Vaseeharan, B. (2023). Response of hepatic biochemical parameters and neurotoxicity to carbamazepine and ibuprofen in *Oreochromis mossambicus*. *Fish physiology and biochemistry*, 10.1007/s10695-023-01172-x.
- Sills, G. J., Rogawski, M. A. (2020). Mechanisms of action of currently used antiseizure drugs. *Neuropharmacology*, 168, 107966.

- Sims, P.J., Burton, M., Shaw, L. (2006). *Applied pharmacokinetics & pharmacodynamics principles of therapeutic drug monitoring*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Smith, L. A., Cornelius, V., Warnock, A., Bell, A., & Young, A. H. (2007). Effectiveness of mood stabilizers and antipsychotics in the maintenance phase of bipolar disorder: a systematic review of randomized controlled trials. *Bipolar disorders*, 9(4), 394–412.
- Snyder, S.A., Vanderford, B.J., Drewes, J., Dickenson, E., Snyder, E.M., Bruce, G.M., Pleus, R.C. (2008). *State of Knowledge of Endocrine Disruptors and Pharmaceuticals in Drinking Water*; IWA Publishing: London, UK, 264.
- Stara, A., Machova, J., Velisek, J. (2012). Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33, 334–343.
- Steinig, I., von Podewils, F., Möddel, G., Bauer, S., Klein, K. M., Paule, E., Reif, P. S., Willems, L. M., Zöllner, J. P., Kunz, R., Runge, U., Kurlmann, G., Schubert-Bast, S., Rosenow, F., & Strzelczyk, A. (2017). Postmarketing experience with brivaracetam in the treatment of epilepsies: A multicenter cohort study from Germany. *Epilepsia*, 58(7), 1208–1216.
- Stephen L. J. (2003). Drug treatment of epilepsy in elderly people: focus on valproic Acid. *Drugs & aging*, 20(2), 141–152.
- Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E., Hart, A. (2012). Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *The Science of the total environment*, 416, 1–21.
- Suarez-Serrano, A., Alcaraz, C., Ibanez, C., Trobajo, R., Barata, C. (2010). *Procambarus clarkii* as a bioindicator of heavy metal pollution sources in the lower Ebro River and Delta. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73 (3), 280–286.
- Sun, Y., Oberley, L. W., Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry*, 34(3), 497–500.
- Svoboda, J., Kozubíková, E., Kozák, P., Kouba, A., Bahadır Koca, S., Diler, O., Diler, I., Polícar, T., & Petrusek, A. (2012). PCR detection of the crayfish plague pathogen in narrow-clawed crayfish inhabiting Lake Eğirdir in Turkey. *Diseases of aquatic organisms*, 98(3), 255–259.
- Swarztrauber, K., Dewar, S., Engel, J., Jr (2003). Patient attitudes about treatments for intractable epilepsy. *Epilepsy & behavior: E&B*, 4(1), 19–25.
- Tambucci, R., Basti, C., Maresca, M., Coppola, G., & Verrotti, A. (2016). Update on the role of eslicarbazepine acetate in the treatment of partial-onset epilepsy. *Neuropsychiatric disease and treatment*, 12, 1251–1260.
- Ternes, T.A. (1998). Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Research*, 32 3245–3260

- Ternes, T.A. (2001). Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 20:419-434.
- Thacker P. D. (2005). Pharmaceutical data elude researchers. *Environmental science & technology*, 39(9), 193A–194A.
- Thorn, C. F., Leckband, S. G., Kelsoe, J., Leeder, J. S., Müller, D. J., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2011). PharmGKB summary: carbamazepine pathway. *Pharmacogenetics and genomics*, 21(12), 906–910.
- Tian, Y., Xia, X., Wang, J., Zhu, L., Wang, J., Zhang, F., & Ahmad, Z. (2019). Chronic Toxicological Effects of Carbamazepine on *Daphnia magna* Straus: Effects on Reproduction Traits, Body Length, and Intrinsic Growth. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 103(5), 723–728.
- Tolou-Ghamari, Z., Zare, M., Habibabadi, J. M., & Najafi, M. R. (2013). A quick review of carbamazepine pharmacokinetics in epilepsy from 1953 to 2012. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 18(Suppl 1), S81–S85.
- Tomson, T., & Battino, D. (2008). Teratogenic effects of antiepileptic drugs. *Seizure*, 17(2), 166–171.
- Tran, A., Vauzelle-Kervroedan, F., Rey, E., Pous, G., d'Athis, P., Chiron, C., Dulac, O., Renard, F., & Olive, G. (1996). Effect of stiripentol on carbamazepine plasma concentration and metabolism in epileptic children. *European journal of clinical pharmacology*, 50(6), 497–500.
- Tripathi, K.D. (2003). *Essential of medical pharmacology* (5th ed). New Delhi: Jaypee Brothers Medical publishers (P) Ltd, 369-80.
- Trojnar, M. K., Wojtal, K., Trojnar, M. P., Czuczwar, S. J. (2005). Stiripentol. A novel antiepileptic drug. *Pharmacological reports: PR*, 57(2), 154–160.
- Trombini, C., Hampel, M., Blasco, J. (2019). Assessing the effect of human pharmaceuticals (carbamazepine, diclofenac and ibuprofen) on the marine clam *Ruditapes philippinarum*: An integrative and multibiomarker approach. *Aquatic Toxicology*, 208, 146-156.
- Tsiaka, P., Tsarpali, V., Ntaikou, I., Kostopoulou, M. N., Lyberatos, G., & Dailianis, S. (2013). Carbamazepine-mediated pro-oxidant effects on the unicellular marine algal species *Dunaliella tertiolecta* and the hemocytes of mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology (London, England)*, 22(8), 1208–1220.
- Tulloch, J. K., Carr, R. R., & Ensom, M. H. (2012). A systematic review of the pharmacokinetics of antiepileptic drugs in neonates with refractory seizures. *The journal of pediatric pharmacology and therapeutics : JPPT : the official journal of PPAG*, 17(1), 31–44.

- Uçkun, A. A., & Öz, Ö. B. (2021). Evaluation of the acute toxic effect of azoxystrobin on non-target crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) by using oxidative stress enzymes, ATPases and cholinesterase as biomarkers. *Drug and chemical toxicology*, 44(5), 550–557.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 64(2), 178-189.
- Van de Vrie-Hoekstra, N. W., de Vries, T. W., van den Berg, P. B., Brouwer, O. F., & de Jong-van den Berg, L. T. (2008). Antiepileptic drug utilization in children from 1997-2005--a study from the Netherlands. *European journal of clinical pharmacology*, 64(10), 1013–1020.
- van den Brandhof, E. J., Montforts, M. (2010). Fish embryo toxicity of carbamazepine, diclofenac and metoprolol. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(8), 1862–1866.
- van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57–149.
- Verde, V., Fogliano, V., Ritieni, A., Maiani, G., Morisco, F., & Caporaso, N. (2002). Use of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine to evaluate the oxidative status of human plasma. *Free radical research*, 36(8), 869–873.
- Verrotti, A., Scaparrotta, A., Grosso, S., Chiarelli, F., & Coppola, G. (2014). Anticonvulsant drugs and hematological disease. *Neurological sciences: official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*, 35(7), 983–993.
- Vitale, D., Picó, Y., Spanò, N., Torreblanca, A., & Del Ramo, J. (2020). Carbamazepine exposure in the sea anemones *Anemonia sulcata* and *Actinia equina*: Metabolite identification and physiological responses. *The Science of the total environment*, 744, 140891.
- Vranken, J. H., Dijkgraaf, M. G., Kruis, M. R., van der Vegt, M. H., Hollmann, M. W., & Heesen, M. (2008). Pregabalin in patients with central neuropathic pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of a flexible-dose regimen. *Pain*, 136(1-2), 150–157.
- Vulliet, E., & Cren-Olivé, C. (2011). Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*, 159(10), 2929–2934.
- Walters, E., McClellan, K., & Halden, R. U. (2010). Occurrence and loss over three years of 72 pharmaceuticals and personal care products from biosolids-soil mixtures in outdoor mesocosms. *Water research*, 44(20), 6011–6020.

- Weisler, R. H., Hirschfeld, R., Cutler, A. J., Gazda, T., Ketter, T. A., Keck, P. E., Swann, A., Kalali, A., & SPD417 Study Group. (2006). Extended-release carbamazepine capsules as monotherapy in bipolar disorder: pooled results from two randomised, double-blind, placebo-controlled trials. *CNS drugs*, 20(3), 219–231.
- Wijekoon, K. C., Hai, F. I., Kang, J., Price, W. E., Guo, W., Ngo, H. H., & Nghiem, L. D. (2013). The fate of pharmaceuticals, steroid hormones, phytoestrogens, UV-filters and pesticides during MBR treatment. *Bioresource technology*, 144, 247–254.
- Wilhelm Filho, D. (1996). Fish antioxidant defenses--a comparative approach. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research= Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas*, 29(12), 1735-1742.
- Woods, J. H., Katz, J. L., & Winger, G. (1992). Benzodiazepines: use, abuse, and consequences. *Pharmacological reviews*, 44(2), 151–347.
- World Health Organization. (2015). *Anti-epileptic medicines for medication resistant convulsive epilepsy*, Geneva, Swiztherland.
- Wuttke, T. V., Lerche, H. (2006). Novel anticonvulsant drugs targeting voltage-dependent ion channels. *Expert opinion on investigational drugs*, 15(10), 1167–1177.
- Yağın, A., Kesim, S., Liman, N. (2014). Effect of low-dose doxycycline on serum oxidative status, gingival antioxidant levels, and alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. *Journal of Periodontology*, 85(3), 478– 489.
- Yavuzcan, H. Y. and Benli, A. C. K. (2004). Nitrite Toxicity to Crayfish, *Astacus leptodactylus*, the Effects of Sublethal Nitrite Exposure on Hemolymph Nitrite, Total Hemocyte Counts, and Hemolymph Glucose. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 59(3):370-5.
- Ying, G. G., Kookana, R. S., & Kolpin, D. W. (2009). Occurrence and removal of pharmaceutically active compounds in sewage treatment plants with different technologies. *Journal of environmental monitoring: JEM*, 11(8), 1498–1505.
- Zaccara, G., Franciotta, D., & Perucca, E. (2007). Idiosyncratic adverse reactions to antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 48(7), 1223–1244.
- Zhang, Y., Geissen, S.U., Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73(8):1151-61.
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., & Jiang, G. (2008). Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica chimica acta*, 606(2), 135–150.



Gazili olmak ayrıcalıktır