



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÜRİDİNİN ANTİEPİLEPTİK ETKİNLİĞİNDE AQUAPORİN-4 ARACILIĞININ
DENEYSEL EPİLEPSİ MODELİNDE ARAŞTIRILMASI

Dr. Birnur AYDIN

UZMANLIK TEZİ

Bursa-2020



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÜRİDİNİN ANTİEPİLEPTİK ETKİNLİĞİNDE AQUAPORİN-4 ARACILIĞININ
DENEYSEL EPİLEPSİ MODELİNDE ARAŞTIRILMASI

Dr. Birnur AYDİN

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Tülin ALKAN

BURSA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY.....	v
KISALTMALAR	vii
GİRİŞ	1
I. Epilepsi	2
I. A. Tanım	2
I. B. Sınıflandırma	3
I. B. I. Nöbet Tipi Sınıflandırması	5
I. B. II. Epilepsi Tipi Sınıflandırması	6
I. C. Epidemiyoloji	6
I. D. Etiyoloji.....	7
I. E. Mortalite ve Komorbid Hastalıklar	8
I. F. Tanı ve Tedavi	9
II. Status Epileptikus (SE)	12
II. A. Tanım	12
II. B. Sınıflandırma	13
II. C. Epidemiyoloji	14
II. D. Etiyoloji.....	14
II. E. Tedavi.....	14
II. F. Status Epileptikus ve Deneysel Modeller	15
II. F. I. Lityum-Pilokarpin (Li - P) Modeli	18
II. G. Status Epileptikus Patofizyolojisi ve Epileptogenez.....	19

III. Epileptogenezde Rol Oynayan Nöron-Dışı Yapılar	24
III. A. Kan-Beyin Bariyeri Disfonksiyonu ve Beyin Ödemi	24
III. B. Aquaporin-4	30
IV. Üridin	34
GEREÇ VE YÖNTEM	38
I. Deney Düzenegi	38
I. A. Status Epileptikus Oluşturulması ve Sonlandırılması	38
I. B. Video Kayıtları	40
I. C. Racine'in Davranışsal Skorlaması	41
I. D. Deney Hayvanlarının Takibi	41
I. E. Deney Grupları	42
II. Analizler	44
II. A. Beyin Su İçeriğinin Hesaplanması	44
II. B. ELISA Analizleri	44
II. C. Western-Blot Analizleri	44
II. D. İstatistiksel Analizler	45
BULGULAR.....	46
I. Deney Prosedürü ile İlgili Veriler	46
II. Beyin Su İçeriğinin Hesaplanması	47
III. ELISA Analizleri	48
III. A. Serum S100B Protein Miktarı	48
III. B. Hipokampus S100B Protein Miktarı	49
IV. Western-Blot Analizleri	50
IV. A. Hipokampus AQP4/ β -aktin Oranı	50
IV. B. Hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin Oranı	51

TARTIŞMA VE SONUÇ	53
KAYNAKLAR	63
TEŞEKKÜR.....	83
ÖZGEÇMİŞ	84

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, lityum-pilokarpin ile indüklenen status epileptikus modelinde beyin ödemi miktarı, kan-beyin bariyeri geçirgenliği, total aquaporin-4 ve α 1-sintrofin protein seviyelerindeki değişimi ve üridinin bu parametreler üzerindeki olası rolünün incelenmesidir.

Çalışmada Sprague-Dawley, 6-8 haftalık 200-250g ağırlığında 112 adet erkek sıçan kullanıldı. Çalışma sham, kontrol ve status epileptikus olarak gruplara ayrıldı. Status epileptikus gruplarında lityum ve pilokarpin enjeksiyonu ile status epileptikus oluşturuldu. Kontrol gruplarına status epileptikus grupları ile aynı enjeksiyonlar yapıldı ancak pilokarpin yerine %0.9 NaCl verildi. Sham gruplarına ise sadece %0.9 NaCl enjeksiyonu yapıldı. Deney hayvanları 48 saat takip edildi ve bu süre içerisinde günde iki kez i.p. %0.9 NaCl ya da 500mg/kg/ml üridin tedavisi verildi. Deney hayvanları 48. saat sonunda dekapite edilerek beyin dokusu ve kan örnekleri alındı. Yaş-kuru ağırlık metodu ile beyin su içeriği yüzdesi hesaplandı. Hipokampus homojenatlarında ve serumda ELISA yöntemi ile S100B miktarı ölçüldü. Hipokampusta total aquaporin-4, α 1-sintrofin ve β -aktin proteinlerinin analizi Western-blot yöntemi ile yapıldı.

Çalışmamızda üridin tedavisinin status epileptikusa bağlı gelişen beyin ödemi arttırdığı gözlemlendi. Ancak aquaporin-4 ve α 1-sintrofin düzeylerinin status epileptikusa bağlı azalmasını engellediği ve serum S100B seviyesini düşürdüğü görüldü. Hipokampusta ise S100B miktarının üridin ile yükseldiği gözlemlendi. Sonuç olarak, üridinin aquaporin-4 polarizasyon kaybını önlediği ve 48. saatte kan-beyin bariyeri geçirgenliğini azaltarak koruyucu etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Üridin tedavisinin aquaporin-4'ten bağımsız mekanizmalarla beyin ödemi arttırması ilerleyen çalışmalarda araştırılacaktır.

Anahtar kelimeler: üridin, status epileptikus, kan-beyin bariyeri, Aquaporin-4

SUMMARY

Investigation of Aquaporin-4's Intermediation on Antiepileptic Efficacy of Uridine in an Animal Model of Epilepsy

The aim of this study is to investigate alterations in amount of brain edema, blood-brain barrier permeability, total aquaporin-4 and α 1-syntrophin levels in the lithium-pilocarpine induced status epilepticus model and the possible role of uridine treatment on these parameters.

In the study, 200-250 g, 6-8 weeks old, male 112 Sprague-Dawley rats were used. The study was designed as Sham, Control and Status epilepticus groups. Status epilepticus was induced by administration of lithium and pilocarpine. Control groups were treated identically but received 0.9% NaCl instead of pilocarpine. Sham groups were treated with 0.9% NaCl only. Rats were observed for 48 hours and received 0.9% NaCl or 500mg/kg uridine twice a day. Following 48 hours rats were sacrificed and brain tissues and blood samples were collected. Brain water content was assessed by wet-dry weight method. S100B protein content was analyzed with ELISA in hippocampus homogenates and serum. Total aquaporin-4, α 1-syntrophin and β -actin proteins were analyzed in hippocampus homogenates using Western-blot technique.

Uridine treatment significantly increased brain edema. But it also prevented the decrease in total aquaporin-4 and α 1-syntrophin levels and decreased serum S100B levels. S100B levels in hippocampus were higher in uridine-treated group. As a result, it is shown that uridine prevents loss of aquaporin-4 polarization and decreases blood-brain barrier permeability at 48 hours post status epilepticus which is suggested as it's neuroprotective efficacy. It is therefore likely that uridine treatment increased brain edema with

an AQP4-independent pathway. Uridine treatment's effect on increasing brain edema with an aquaporin-4 independent pathway will be further investigated.

Keywords: uridine, status epilepticus, blood-brain barrier, Aquaporin-4

KISALTMALAR

AQP: Aquaporin

ASIC1a: Aside duyarlı iyon kanalı 1a

CDP-kolin: Sitidin difosfat-kolin, sitikolin

CTP: Sitidin trifosfat

ET-1: Endotelin-1

ET_B: Endotelin B reseptörü

GABA: Gama aminobutirik asit

GAT-1: GABA taşıyıcısı-1

GLT-1: Glutamat taşıyıcısı-1

IBE: International Bureau for Epilepsy, Uluslararası Epilepsi Bürosu

ILAE: International League Against Epilepsy, Uluslararası Epilepsi ile Savaş Birliği

KCNQ K⁺ kanalı: Nöronal voltaj kapılı K⁺ kanalı

KO: Knock-out

MMP: Matriks metalloproteinaz

PTZ: Pentilentetrazol

SE: Status epileptikus

SUDEP: Sudden Unexpected Death in Epilepsy, Epilepside Beklenmedik Ani ölüm

SV2A: Sinaptik Vezikül 2A

ZO-1: Zonula okludens-1

GİRİŞ

Epilepsi; beynin sürekli epileptik nöbet oluşturmaya yatkınlığı ile karakterize bir bozukluğudur ve nörobiyolojik, bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçlara neden olur (1). En sık görülen nörolojik hastalıklardan biri olan epilepsi dünyada yaklaşık 70 milyon insanı etkilemektedir (2). Hastaların %80'i düşük ve orta gelirli ülkelerde olup, düşük gelirli ülkelerde tedavi almayan hastaların oranı %75'e ulaşmaktadır (3). Klinik kullanımda olan 20'nin üzerinde antiepileptik ilaç bulunmasına rağmen, antiepileptik tedavi alanların yaklaşık üçte birinin nöbetleri kontrol altına alınamamaktadır (4). Toplumdaki stigmatizasyon nedeni ile epilepsi hastaları iş bulamamakta ve eğitim alamamaktadır. Aynı zamanda nöbetler ile ilişkili olarak kazalar ve yaralanmalar sık görülmekte, erken ölüm oranları epilepsi tanısı olmayanlara göre daha yüksek seyretmektedir (5). Bu nedenle epilepsi sadece bir hastalık değil, bireysel ve sosyal etkileri olan bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü'nün Uluslararası Epilepsi ile Savaş Birliği (ILAE) ve Uluslararası Epilepsi Bürosu (IBE) ile birlikte 2019 yılında yayınladığı raporda bu sorunlara vurgu yapılmış ve epilepsi etiyolojisini ve epilepsiye neden olan düzeneklerin araştırılmasına yönelik çalışmaların artması gerektiği bildirilmiştir (6).

Beynin spontan nöbet geliştirme özelliği kazanmasına neden olan moleküler ve hücrel değişikliklerin görüldüğü süreç epileptogenez olarak adlandırılmaktadır. Epileptogenez bir tetikleyici faktör sonrasında başlar ve tekrarlayan spontan nöbetlerin görülmesinden sonra da devam eder (7). Bu tetikleyici faktör; genetik bir bozukluk, travma, inme ya da status epileptikus (SE) olabilir.

Status epileptikus, nöbetin kendi kendini sonlandıramaması sonucu uzamış nöbet aktivitesidir. Status epileptikus epilepsi tanılı hastalarda hastalığın seyri sırasında görülebileceği gibi, nörolojik ya da sistemik hastalıkların komplikasyonu olarak da görülebilir (8). Akut olarak mortalitenin yanı sıra uzun dönemde beyinde moleküler ve hücrel değişikliklere yol

açarak epilepsi gelişimine neden olabilir (9). Bu nedenle epileptogenez araştırmalarında sıklıkla SE modelleri kullanılmaktadır. Epileptogenez multifaktöriyel kompleks bir süreçtir. Deneysel ve klinik çalışmalar konu hakkında önemli bilgiler sunmasına rağmen tam olarak aydınlatılamamıştır ve bu süreci engelleyebilecek nöroprotektif ve antiepileptojenik tedavi araştırmaları halen devam etmektedir.

I. Epilepsi

Epilepsi kelimesi Yunanca ele geçirmek, tutmak, yakalamak anlamına gelen *epilambanien* kelimesinden türemiştir (10). Epilepsiye dair yazılı metinler M.Ö. 2000'li yıllara kadar dayanmaktadır. Babil, Mısır, Yunan uygarlıkları gibi birçok farklı uygarlığa ait metinde epilepsinin tarif edildiği ve nöbetlerin tanrı tarafından cezalandırma, kötü ruhlar tarafından ele geçirilme gibi mistik olaylar şeklinde yorumlandığı görülmektedir (11). İlk kez Hipokrat (M.Ö. 460-377) epilepsinin beyinden kaynaklanan bir hastalık olduğunu ve diyet ve ilaçlarla tedavi edilebileceğini söylemiştir (12). Ancak 17. yy.ın sonlarına kadar ilahi cezalandırma görüşü hâkim olmuş, Aydınlanma Çağı ile birlikte bu bakış açısı yerini bilimsel gerçekliklere bırakmıştır (13).

I. A. Tanım

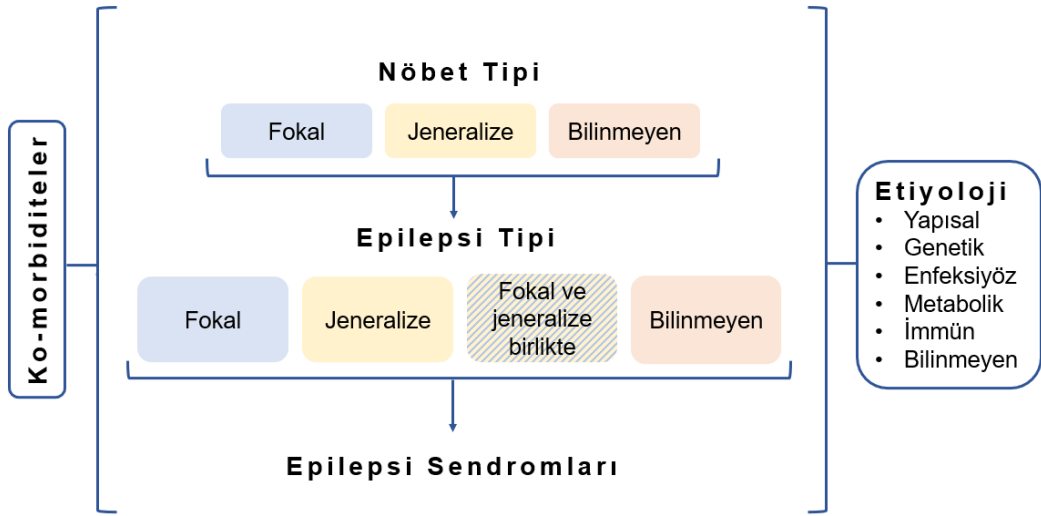
Epileptik nöbet; beyindeki anormal aşırı veya senkron nöronal aktivite sonucu gelişen geçici işaretler ve/veya semptomlar olarak tanımlanmaktadır (1). Anormal epileptik deşarjların beyinde oluştuğu ve yayıldığı bölgeye göre klinik bulgular da çeşitlilik göstermektedir. Nöbet esnasında motor, duysal, otonom ya da psişik semptomlardan biri ya da birkaçı birlikte görülebilir. İnsanların yaklaşık %10'u hayatlarının bir döneminde nöbet geçirmektedir (14). Ancak tetiklenmemiş tek bir nöbet geçirilmesi epilepsi tanısı için yeterli değildir.

Uluslararası Epilepsi ile Savaş Birliği'ne (ILAE) göre epilepsi tanısı:

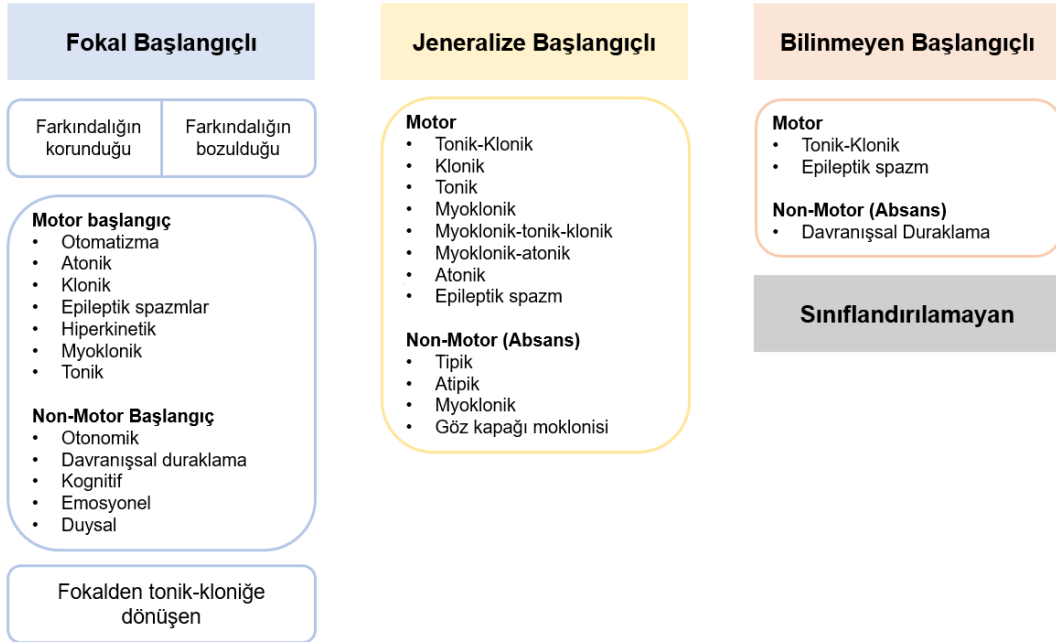
(I) En az iki tetiklenmemiş nöbetin (veya refleks nöbetin) en az 24 saat ara ile meydana gelmesi; (II) tetiklenmemiş bir nöbet (veya refleks nöbet) ve önümüzdeki 10 yıl içinde tekrarlayan nöbet görülmesi olasılığının %60'dan fazla olması ya da (III) epilepsi sendromu tanısı durumlarından birinin varlığında konulabilmektedir (15). Sadece febril nöbet ya da neonatal nöbet geçirmiş olanlar ve akut semptomatik nöbet geçiren hastalar bu tanım içerisinde değerlendirilmemelidir. Akut semptomatik nöbetler, akut nörolojik hasar ile zamansal yakınlığı olan ya da akut sistemik hastalıklara bağlı görülen nöbetlerdir ve tetiklenmemiş nöbet ile karıştırılmaması gerekir (16). Yaş ile ilişkili bir epilepsi sendromu tanısı olan hastanın yaşının, sendromun aktif olduğu yaştan daha ileri olması ya da epilepsi tanılı bir hastanın 10 yıldır nöbetsiz olması ve 5 yıldır antiepileptik ilaç kullanmaması durumunda epilepsi "sonlanmış" olarak kabul edilir (15).

I. B. Sınıflandırma

Epilepsi tek bir semptom ve neden ile açıklanamayacak kompleks bir hastalıktır. Bu nedenle tanımlama ve sınıflandırmasının yapılandırılmış, terminolojisinin herkes tarafından anlaşılabilir netlikte olması; doğru tanı konulup etkin tedavi uygulanması ayrıca etiyolojinin ve prognozunun belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bu amaçla bilinen ilk sistematik epilepsi sınıflandırması 1779 yılında Monsieur Salliant tarafından yapılmıştır (17). 20. yüzyılda ilk modern sınıflandırma ise Henri Gestaut tarafından 1969'da önerilmiş, daha sonra ILAE tarafından 1981, 1989 ve 2010 yıllarında nöbet ve epilepsi sınıflandırmaları revize edilmiştir (18). ILAE Epilepsi Sınıflandırması Çalışma Grubu tarafından 2017 yılında epilepsi ve nöbet sınıflandırmaları ve terminolojisi tekrar düzenlenmiştir. Buna göre epilepsi sınıflandırması 3 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama nöbet tipinin belirlenmesidir. İkinci aşama epilepsi tipinin belirlenmesi, üçüncü aşama ise eğer mümkünse epilepsi sendromunun tanısıdır (19). Bu sınıflandırmada etiyolojiye önem verilmiş ve her bir tanı basamağında etiyolojinin belirlenmesine yönelik bütüncül değerlendirme yapılması önerilmiştir (Şekil-1).



Şekil-1: ILAE 2017 Epilepsi sınıflandırması. (19)'den uyarlanmıştır.



Şekil-2: ILAE 2017 Nöbet tipi sınıflandırması (Genişletilmiş Versiyon). (20).

I. B. I. Nöbet Tipi Sınıflandırması

ILAE'nin 2017 yılında önerdiği nöbet tipleri sınıflandırmasına göre epileptik nöbetler fokal başlangıçlı, jeneralize başlangıçlı ve bilinmeyen başlangıçlı olarak 3 kategoriye ayrılmaktadır. Eski sınıflandırmadan farklı olarak "parsiyel" yerine "fokal" ifadesi kullanılmış ve ek olarak bilinmeyen başlangıçlı nöbetler kategorisi eklenmiştir. Fokal başlangıçlı nöbetler; tek bir hemisferde sınırlı nöronal ağlardan kaynaklanan nöbetler olarak tanımlanmaktadır. Jeneralize başlangıçlı nöbetler ise bir noktada başlayıp hızlıca bilateral nöronal ağlara yayılan nöbetlerdir (21). Bilinmeyen başlangıçlı nöbetler ise yeterli bilginin olmadığı ya da karar verilemediği durumları ifade etmektedir. İkinci bir değerlendirme ile fokal ya da jeneralize başlangıçlı nöbet kategorisine girebilirler (20).

Fokal başlangıçlı nöbetlerin kendi içinde sınıflandırmasında ilk aşama farkındalığın değerlendirilmesidir. Daha önceki sınıflandırmada kullanılan "bilinç" yerine "farkındalık" kelimesinin daha uygun olduğu düşünülmüştür. Bilinç ile farkındalık eş anlamlı değildir ve birbirinin yerine kullanılmaması gerekmektedir. Hastanın bilincinin açık olduğu ancak kendisi ve çevresi hakkında farkındalığın bozulduğu durumlar olabilir (18). Önceki sınıflandırma ile bir diğer farklılık ise "basit parsiyel" ve "kompleks parsiyel" nöbetler yerine sırasıyla "fokal başlangıçlı farkındalığın korunduğu" ve "fokal başlangıçlı farkındalığın bozulduğu" nöbetler ifadesi kullanılmasıdır. Bu aşama klinisyenin inisiyatifine bırakılmıştır, istenirse bu değerlendirme yapılmayabilir. Farkındalık durumunun değerlendirilmesinden sonra ise nöbetin ilk bulgusuna göre "motor / motor olmayan" ayrımı yapılmalıdır. 2017 sınıflandırmasındaki bir diğer değişiklik "sekonder jeneralize nöbet" yerine "fokal başlayan bilateral tonik-klonik nöbet" ifadesinin yer almasıdır. Böylece "jeneralize" kavramı sadece jeneralize başlangıçlı nöbetlerle sınırlandırılmış, kavram karmaşasından kaçınılmıştır. Jeneralize başlangıçlı nöbetlerin çoğunda farkındalığın kaybolması nedeni ile jeneralize başlangıçlı nöbetlerin sınıflandırmasında farkındalık değerlendirilmesi yapılmamaktadır. Motor / motor olmayan bulgulara göre sınıflandırma yapılması önerilmiştir (20) (Şekil-2).

I. B. II. Epilepsi Tipi Sınıflandırması

Nöbet tipinin belirlenmesinden sonra tanı için ikinci basamak epilepsi tipinin belirlenmesidir. Bu aşamada hastanın 2014 yılında tanımlanan epilepsi tanı kriterlerini karşılıyor olması gerekmektedir. Epilepsi tipleri “fokal”, “jeneralize”, “fokal ve jeneralize birlikte” ve “bilinmeyen tip” olarak sınıflandırılmıştır. Hastaların birden fazla tipte nöbet geçirmeleri durumunda tüm nöbet tipleri değerlendirilerek epilepsi tipi belirlenir. Klinisyenin nöbet tipi ve epilepsi tipinin belirlenmesinde etiyolojik faktörleri ve komorbid durumları her aşamada tekrar tekrar gözden geçirmesi önerilmektedir (Şekil-1). Epilepsi tipi, elektroensefalografi (EEG) bulguları, genetik ve görüntüleme tetkikleri sonuçları birlikte değerlendirilip eğer uyumlu ise epilepsi sendromu tanısı konulabilir (20).

I. C. Epidemiyoloji

Epidemiyolojik çalışmalarda metodolojik farklılıklar, epilepsi ve nöbet tipi için farklı sınıflandırmaların kullanılması gibi faktörler nedeni ile epilepsi prevalansı ve insidansında çalışmalar arasında değişkenlik gözlenmektedir. Meta-analiz çalışmalarına bakıldığında, dünya genelinde aktif epilepsi prevalansının 6.38/1000, hayat boyu epilepsi prevalansının 7.60/1000 olduğu görülmektedir. İnsidans ise yılda 67.77/100000 olarak hesaplanmıştır (22). Aktif epilepsi prevalansı, antiepileptik ilaç kullanıp kullanmadığına bakılmaksızın son bir yıl içinde nöbet geçiren epilepsi hastalarını gösterirken, hayat boyu epilepsi prevalansı epilepsinin aktif olup olmadığına bakılmaksızın hayatının bir döneminde epilepsi tanısı almış hastaları göstermektedir. Epilepsi insidansı ise belirli bir zaman diliminde yeni tanı almış vakaları göstermektedir (23).

Epilepsi insidansı ve prevalansı ülkelerin ekonomik durumuna göre farklılık göstermektedir. Düşük ve orta gelirli ülkelerde yıllık insidans 81.7/100000 iken yüksek-gelirli ülkelerde 45/100000'dir (24). Prevalans için de benzer bir tablo söz konusudur. Yapılan bir meta-analiz çalışmasına göre gelişmiş ülkelerde hayat boyu epilepsi prevalansı 5.8/1000, aktif epilepsi prevalansı 4.9/1000 bulunmuştur. Gelişmekte olan ülkelerde ise hayat boyu

epilepsi prevalansı 10.3-15.4/1000, aktif epilepsi prevalansı 5.9-12.7/1000 arasındadır (25). Düşük-gelirli ülkelerdeki epilepsi insidansı ve prevalansındaki yüksekliğin sağlık hizmet sunumuna erişmede güçlük; nörosistoserkoz, malarya gibi endemik hastalıkların sık görülmesi; kafa travmaları ve perinatal risklerin yüksek olması gibi faktörlere bağlı olabileceği düşünülmektedir (24).

Cinsiyetler arası insidans ve prevalansda birçok çalışmada anlamlı farklılık görülmezken bazı çalışmalarda prevalansın erkeklerde daha yüksek olduğu (23), bazı çalışmalarda ise prevalansda farklılık görülmezken insidansın erkeklerde daha yüksek olduğu bildirilmektedir (22).

Epilepsi prevalansı yaş ile birlikte artarken, insidansı bimodal dağılım göstermektedir. Çocukluk çağında ve ileri yaşta pik yapmaktadır (26). 60 yaş üzerinde insidansdaki artışın inme, hematoma gibi beyin damar hastalıklarının ve Alzhiemer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (26).

I. D. Etiyoloji

Hasta yönetimi ve tedavi açısından etiyojinin belirlenmesine 2017 ILAE epilepsi sınıflandırmasında özellikle önem verilmiştir. Bir patolojik sürecin epilepsi etiyojisinde yer alması için ana semptomlarından birinin nöbet olması ön koşuldur. Epilepsi etiyojisi 6 kategoriye ayrılmaktadır (Şekil-1). Bunlar yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immün ve bilinmeyen etiyojidir (19). Yapısal etiyojide nörogörüntüleme yöntemleri ile tespit edilebilen lezyonlar (örneğin kortikal malformasyonlar, inme, travma) kastedilmektedir. Lezyon lokalizasyonu, klinik ve EEG bulguları ile uyumlu ise nöbetin nedeni olarak kabul edilebilir. Tanımlanmış bir genetik mutasyon sonucu gelişen nöbetler için genetik etiyojiden bahsedilebilir. En bilinen örneği *SCN1A* mutasyonu sonucu görülen Dravet sendromudur (27). Dünyada epilepsinin nedenleri arasında en sık görüleni enfeksiyöz etiyojilerdir. Akut enfeksiyon döneminde nöbet geçiren hastalar için geçerli olmayıp, enfeksiyona sekonder epilepsi gelişen hastalar için enfeksiyöz etiyoji söz konusudur. Bu kategoride tüberküloz, serebral malarya, subakut sklerozan

panensefalit örnek olarak verilebilir (28). Tanımlanmış bir metabolik hastalık ile birlikte görülen nöbetler, metabolik etiyojisi kategorisinde değerlendirilir. Metabolik nedenlere aminoasitopatiler, porfiri gibi metabolik hastalıklar örnek verilebilir (29). Anti N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör (NMDAR) ensefaliti gibi otoimmün merkezi sinir sistemi (MSS) inflamasyonu ve nöbetler ile seyreden hastalarda immün etiyojisi düşünülmeli ve gerekli antikor testleri yapılarak immunoterapi seçenekleri değerlendirilmelidir (30). Bilinmeyen etiyojisi ise epilepsi nedeninin henüz saptanamadığı durumlardır. Epilepsi hastalarının yaklaşık üçte birinde etiyojisi bilinmemektedir. Tanı için gerekli görüntüleme yöntemleri, antikor testleri ve genetik testlerin yapılabilmesi için yeterli altyapının olmaması bu oranın yüksek olmasının nedenlerinden bazılarıdır (31).

I. E. Mortalite ve Komorbid Hastalıklar

Epilepsi sadece nörolojik değil, psikiyatrik ve somatik komorbiditeleri ile sistemik etkileri olan bir hastalıktır. Aktif epilepsi hastalarının ~%50'sinde en az bir komorbid hastalık görülmektedir (32). Komorbid hastalıklar; hastane başvurularını, tedavi yükünü ve mortalite riskini artırması, yaşam kalitesini düşürmesi nedeni ile mutlaka sorgulanması gereken durumlardır. Komorbiditenin tespiti, uygun tedavi seçimi, nöbet kontrolü ve prognozun belirlenmesinde de ayrıca önemlidir. Migren, demans, inme, travmatik beyin hasarı gibi MSS hastalıklarının sıklığı epilepsi hastalarında daha yüksektir (33). Psikiyatrik hastalıklar da epilepsi ile sık birliktelik gösteren hastalıklardır. Özellikle depresyon ve anksiyetenin iki kat daha fazla görüldüğü bildirilmektedir. Duygudurum ve anksiyete bozuklukları yaşam kalitesini düşürmekte, intihar riskini arttırmakta ve nöbet kontrolünü zorlaştırmaktadır (33). Nörolojik ve psikiyatrik hastalıkların yanı sıra somatik hastalıkların da (örneğin kardiyovasküler hastalıklar, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, peptik ülser, Tip 1 diyabetes mellitus) epilepsi hastalarında, epilepsi tanısı olmayanlara göre daha sık görülmektedir (32).

Epilepsi bir erken ölüm nedenidir. Epilepside erken ölüm; nöbet ile direkt olarak ilişkili (SE, epilepside beklenmeyen ani ölüm, boğulma, kafa travması, trafik kazaları, yanıklar), nöbet ile indirekt ilişkili (aspirasyon pnömonisi, intihar) ya da nöbete neden olan hastalık ile ilişkili (inme, neoplazm, nörodejeneratif hastalık) olabilir (34). Düşük ve orta gelirli ülkelerde epilepsi hastalarında ölüm oranı normal popülasyona göre 2.6 kat daha yüksektir. Düşük-gelirli ülkelerde erken ölüm riskinin yüksek olmasının nedenleri arasında sağlık hizmetine erişimdeki zorluk ve antiepileptik tedavi verilememesi nedeni ile nöbetlerin kontrol altına alınamaması ve nöbet ile ilişkili ölümlerin gerçekleşmesi ön plana çıkmaktadır (35). Yüksek-gelirli ülkelerde ise ölüm oranınının 1.6-3 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir (36). Epilepside beklenmedik ani ölüm (Sudden Unexpected Death in Epilepsy, SUDEP); epilepsi ile ilişkili ölümlerden en önemli olanıdır. Nöbetleri kontrol altında olan hastalarda nöbet ile ilişkili ölümlerin ve kazaların sıklığı azalsa da ani ölüm riskinin normal popülasyona göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir (36). Bu ani ölümlerde en büyük payı ise SUDEP oluşturmaktadır. Özellikle 20 - 45 yaş arası genç erişkinlikte SUDEP insidansının normal popülasyona göre 24 kat yüksek olması ile dikkat çekmektedir (37).

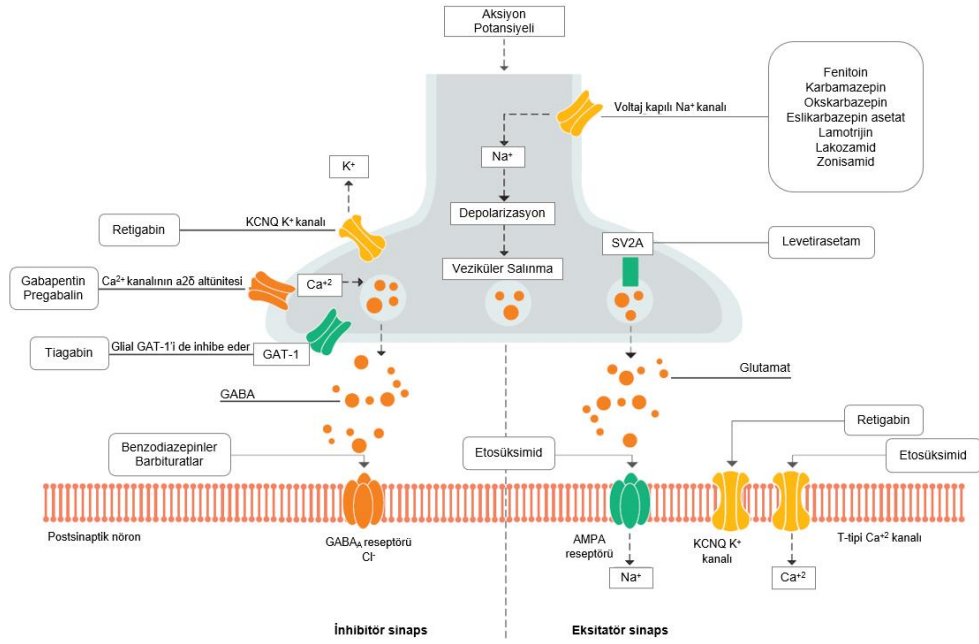
I. F. Tanı ve Tedavi

Epilepsi tanısında ilk yapılması gereken nöbeti taklit eden durumların dışlanmasıdır. Nöbeti taklit eden senkop ve psikojenik epileptik olmayan nöbet gibi durumların ayırt edilmesi gereksiz tetkik ve tedaviyi de önleyecektir. Daha sonra nöbet tipi, epilepsi tipi ve mümkünse epilepsi sendromu belirlenmelidir. Mümkünse nöbet nöroloji uzmanı tarafından gözlenmeli, mümkün değilse nöbete şahit olan kişi tarafından ayrıntılı nöbet tarifi yapılmalıdır. Hastaya nöbet öncesinde, nöbet sırasında ve nöbet sonrasında yaşadığı deneyim sorulmalıdır (4). Nöbeti tetikleyebilecek durumlar (aşırı alkol alımı, ilaç kullanımı, kafa travması, ateş gibi) sorgulanmalıdır. Hastanın özgeçmişini doğum öyküsünden itibaren alınmalı, geçirmiş olduğu hastalıklar, kullandığı ilaçlar ve aile öyküsü mutlaka sorgulanmalıdır. Fizik ve nörolojik muayenede genetik bozukluklar ile ilişkili dismorfik bulgular açısından dikkat edilmelidir (38). Ek olarak her hastaya laboratuvar tetkikleri (tam kan sayımı, kan şekeri

ve elektrolitler, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri) yapılmalı, şüphe halinde toksikoloji testleri istenmelidir. Epilepsi şüphesi olan her hastaya EEG çekilmelidir. EEG interiktal dönemde normal olabileceği gibi, patolojik bulguların varlığında nöbet tipi ve epilepsi sendromu hakkında bilgi verebilmektedir (2). İlk tetiklenmemiş nöbet sonrası çekilen EEG'lerin ancak %23'ünde interiktal epileptiform aktivite izlendiği bildirilmektedir (39). Bu nedenle gerekli görüldüğünde uyku deprivasyonlu EEG ya da uzun süreli video-EEG monitorizasyonu yapılabilir. Bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme tanıya yardımcı görüntüleme teknikleridir. Hastaların ancak yaklaşık %20'sinde ilk nöbet sonrası manyetik rezonans görüntüleme (MRI) epileptojenik lezyon tespit edilebilmektedir (40). Bu oran düşük olsa da nöbetin tekrar riskinin ve tedaviye yanıtın öngörülebilmesi açısından önemlidir.

Epilepsi tedavisinde antiepileptik ilaçlar ana tedaviyi oluşturur. İlaç seçiminde hastanın nöbet tipi, yaşı, cinsiyeti, komorbiditeleri, çocuk sahibi olma isteği, ilaç etkileşimleri gibi bireysel durumların yanı sıra seçilen antiepileptik ilacın güvenilirliği ve tolerabilitesine de dikkat etmek gerekmektedir (41). Antiepileptik ilaçlar Şekil-3'te verildiği gibi 4 ana mekanizma üzerinden etki etmektedir: (I) Voltaj kapılı sodyum, kalsiyum ve potasyum kanallarının modülasyonu; (II) γ -aminobütirik asit (GABA) reseptörleri, GABA taşıyıcısı 1 (GAT-1) ve GABA transaminaz üzerinden inhibisyonun artırılması; (III) Sinaptik vezikül 2A (SV2A) ve voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarının $\alpha_2\delta$ alt ünitesi üzerinden sinaptik vezikül salınımını düzenlenmesi ve (IV) İyonotropik glutamat reseptörleri ile eksitasyonun azaltılması (42). Antiepileptik tedavi ile epilepsi hastalarının ancak %70'inin nöbetleri kontrol altına alınabilmektedir (4). Kontrol altına alınamayan nöbetlerde bir diğer alternatif ise cerrahi tedavidir. Cerrahi tedavi ile epileptik odağın çıkartılması ya da diğer beyin bölgeleri ile bağlantısının kesilmesi dirençli epilepsi olgularında fayda sağlayabilmektedir. İyi seçilmiş dirençli epilepsi olgularında cerrahi tedavi ile nöbet kontrolünün %50-80 olduğu bildirilmektedir (43). Ancak her hastanın cerrahi tedaviye uygun olmayışı ve cerrahi işlem sırasında çevre beyin dokusunda hasar oluşması bu tedavi yönteminin kısıtlılıklarındandır. Nörostimulasyon ise cerrahinin uygulanamadığı ya da başarısız olduğu

durumlarda uygulanabilir. Nörostimulasyonda, periferik sinirlerin ya da belirli beyin bölgelerinin elektriksel uyarımı ile potansiyel nöbet oluşumu ya da yayılımı engellenmektedir. Yapılan çalışmalarda vagal sinir stimülasyonunun hastaların üçte birinden fazlasında nöbet sıklığını %50 azalttığı, derin beyin stimülasyonunun hastaların yarısından fazlasında nöbet sıklığını %50'den fazla düşürdüğü gösterilmiştir (44).



Şekil-3: Antiepileptik ilaçların etki mekanizması. **GABA:** Gama aminobütirik asit, **AMPA:** α-amino-3-hidroksi-5-metill-4-isoksazolpropionik asit, **GAT-1:** GABA taşıyıcısı 1, **SV2A:** Sinaptik Vezikül 2A. (45).

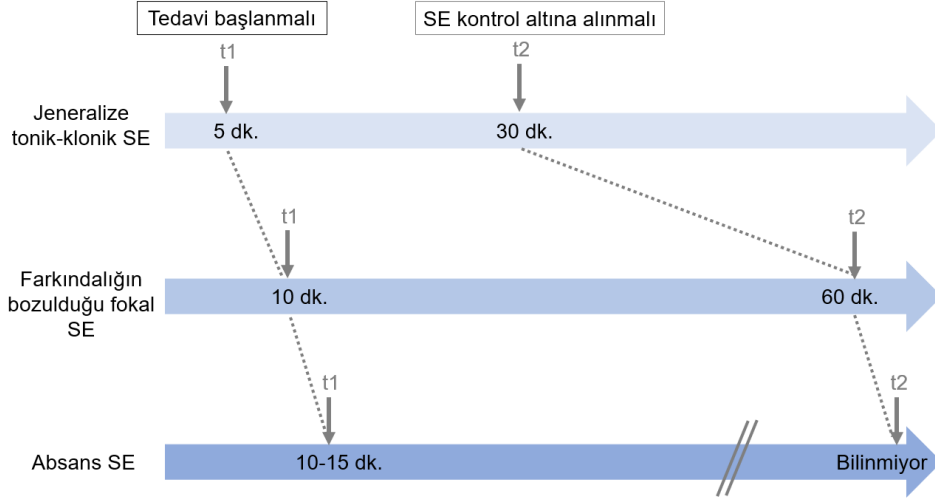
II. Status Epileptikus (SE)

Epileptik nöbetler çoğunlukla kendini sınırlar ancak nöbetin sonlanmasındaki düzeneklerde gelişen başarısızlık sonucu nöbet aktivitesi uzayabilir. Bu durumda status epileptikusdan bahsedilir. Status epileptikus hayatı tehdit eden nörolojik bir acildir ve hızlıca tanı konulup tedaviye başlanması gerekir. Sadece epilepsi hastalarında değil, birçok hastalığın (akut ya da kronik nörolojik olaylar ya da sistemik hastalıklar gibi) komplikasyonu olarak da ortaya çıkabilmektedir (46).

II. A. Tanım

1970'te SE, *sabit ve kalıcı bir durum oluşturmak için yeterli süre boyunca devam eden ya da sık tekrarlayan nöbetler* tanımı ile ILAE Epilepsi Sınıflandırması'nda yer almıştır. Tanımda kullanılan "yeterli süre", deneysel çalışmalarda 30 dakikadan uzun süren nöbet aktivitesinin nöronal hasara neden olduğunun gösterilmesi ile genellikle 30 dk. olarak kabul edilmiştir. Ancak klinik pratikte tedaviye başlamada gecikmeye yol açabileceği düşüncesi ve 5 dk.dan uzun süren nöbetlerin prognozunun daha kötü olması gibi nedenler sonucunda yeni bir tanımlama ihtiyacı doğmuştur (47). Bu ihtiyaç üzerine ILAE tarafından 2015 yılında status epileptikus; *nöbetin sonlanmasından sorumlu mekanizmalarda ya da nöbetin başlamasından sorumlu mekanizmalarda meydana gelen bozukluk sonucu anormal, uzamış nöbet aktivitesi* olarak tanımlanmıştır (9). Akut olarak hayatı tehdit eden bir durum olabileceği gibi nöbetin süresine ve tipine bağlı olarak nöron ölümü, nöronal hasarlanma ve nöronal ağlarda değişiklikler gibi uzun dönem sonuçları olabilmektedir. ILAE yeni tanımlamada iki zaman boyutu belirlemiştir. Buna göre t1 tedaviye başlanması gereken, nöbetin kendini sınırlandıran mekanizmalarda bozulmanın meydana geldiği zamanı; t2 ise uzun dönem sonuçlara neden olan değişikliklerin görülmeye başlandığı ve nöbetlerin kontrol altına alınması gereken zamanı ifade etmektedir. Deneysel modellerin verilerine dayanarak tonik-klonik nöbetler için t1 zamanı 5 dk., t2 ise 30 dk. olarak belirlenmiştir. Fokal nöbetlerde kesin zaman aralıkları vermek için

yeterli veri bulunmаса da farkındalığın bozulduğu fokal status epileptikus için t1 10 dk., t2 ise 60 dk. olarak kabul edilmektedir (9) (Şekil-4).



Şekil-4: Status epileptikusda tedaviye başlanması gereken (t1) ve uzun dönem sonuçların görülmeye başlandığı (t2) zaman boyutları. dk.: dakika. (8).

II. B. Sınıflandırma

ILAE 2015 Status Epileptikus Raporu'nda SE'un sınıflandırmasında 4 eksen tanımlamıştır. Buna göre 1. Eksen semiyoloji, 2. Eksen etiyoloji, 3. Eksen EEG ve 4. Eksen ise yaştır. Semiyoloji eksenini SE'un klinik yansımasını ifade eder ve temelde motor semptomların olup olmaması ve bilinç bozukluğunun derecesine göre sınıflandırılır. 2. Eksende SE etiyolojiye göre sınıflandırılır. Bilinen etiyoloji ve bilinmeyen etiyoloji olarak ikiye ayrılmıştır. Bilinen etiyolojilerde akut etiyolojili (inme, ensefalit gibi), eski sekel etiyolojili (postensefalit, inme sonrası), progresif etiyolojili (beyin tümörleri, Lafora hastalığı) ve tanımlanmış elektroklinik sendromlara bağlı olmak üzere 4 alt sınıf tanımlanmıştır. 3. Eksen EEG bulgularına göre sınıflandırmadır. Status epileptikusa özgü bir EEG bulgusu olmaması ve konvulsif SE'da kas artefaktlarının yoğunluğu EEG'nin klinik kullanımını sınırlasa da özellikle non-konvulsif status epileptikus tanısı için EEG bulguları önem taşımaktadır. Bu nedenle EEG temelli bir sınıflandırmaya ihtiyaç duyulmuştur. Yaş eksenini ise SE'un etiyolojisinde, prognozunda ve tedavi yanıtlarındaki yaşa bağlı değişiklikler nedeni ile sınıflandırmaya dahil edilmiştir (9).

II. C. Epidemiyoloji

Status epileptikus insidansı bimodal dağılım göstermektedir. Erken çocukluk döneminde ve 60 yaş sonrası insidansı artmaktadır. Erişkinde yıllık insidansı 12.6/100.000 iken, 60 yaş üstünde yıllık insidansı 27.1/100.000'e yükselmektedir. Status epileptikusa bağlı fatalite hızı %14.9 olup bu oran refrakter status epileptikusda (RSE) %33.3'e yükselmektedir. Yine yaşlılarda ölüm oranı ortalamaya göre daha yüksek (%24.9) seyretmektedir. Yıllık mortalite oranı ise 0.98/100.000'dir (48). Çocukluk çağında ise insidansı 3-42/100.000 olduğu bildirilmektedir. Status epileptikus ve RSE insidansı 2 yaş altında daha yüksek seyretmektedir. Mortalite çocukluk çağında %3-11 arasındadır (49).

II. D. Etiyoloji

Erişkinde SE etiyojisinde, akut semptomatik etioloji ilk sırayı almaktadır. Bunlar içerisinde en sık görülen neden ise serebrovasküler olaylardır (%45.2) (50). Epilepsi öyküsü, MSS enfeksiyonları, travma ve metabolik bozukluklar da SE etiyojisinde önemli rol oynayan patolojilerdir. Çocukluk çağı SE'un en sık görülen nedeni ise uzamış febril nöbetlerdir (%25-39) (49). Epilepsi öyküsü, hipoksik-iskemik beyin hasarı, konjenital malformasyonlar, MSS enfeksiyonları, elektrolit bozuklukları çocukluk çağı SE'un etiyojisinde yer alan diğer patolojilerdir (49).

II. E. Tedavi

Status epileptikus tedavisinde ilk yapılması gereken hastanın hava yolu, dolaşım ve solunumunun kontrol edilmesidir. Hızlıca damar yolu açılmalı, kan tetkikleri için örnekler alınmalı ve hipoksiyi önlemek için nazal oksijen desteği verilmelidir. Birinci basamak tedavi diazepam, lorezepam, midazolam gibi hızlı etkili benzodiyazepinlerdir. İntravenöz benzodiyazepin uygulaması nöbet durmazsa bir kez daha tekrarlanmalı yanıt alınamazsa i.v. antiepileptik ilaç (fenitoin, fosfenitoin, valproik asit, levetirasetam) yüklemesine geçilmelidir. Birinci ve ikinci basamak tedavilere yanıtız hastalar RSE olarak adlandırılır. Bu hastalara üçüncü basamak tedavi yani i.v. anestezi ilaç (midazolam,

tiyopental, propofol) infüzyonu başlanır. Bu olguların yoğun bakım şartlarında takip edilmesi önerilir (8).

II. F. Status Epileptikus ve Deneysel Modeller

Epilepsi hastalarının cerrahisi sonrası elde edilen beyin dokusunun patolojik incelemesi, epilepsi patolojisinin anlaşılması için çok değerli veriler sağlamaktadır. Ancak bu hastalar epileptogenez sürecinin ileri evresinde olması nedeni ile epilepsi gelişimini başlatan düzenekler hakkında sınırlı bilgi sunmaktadır (51). Bu nedenle hayvan deneyleri ile tüm sürecin takip edilebileceği epilepsi modelleri, patogenezin aydınlatılmasında ve antiepileptik ilaç geliştirme çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Tek bir model epilepsi tiplerinin tamamını modelleyememekte ancak farklı modeller farklı nöbet ve epilepsi tipleri ile benzerlik göstermektedir. Örneğin pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan nöbetler akut jeneralize tonik-klonik nöbetler iken kemokonvulsan ve kindling modelleri kronik epilepsi modeli olarak bilinmektedir (52). Kemokonvulsanlar ile oluşturulan eksitotoksik SE modelleri limbik nöbetler oluşturması, latent periyot sonunda spontan nöbetlerin görülmesi ve histopatolojik olarak temporal lob epilepsisine (TLE) benzer özellikler göstermesi nedeni ile sık kullanılan modellerdir. Kemokonvulsan ya da kindling dışında epileptogenezi başlatan etmen olarak travma, inflamasyon ya da hipertermi gibi çeşitli patolojiler ile epilepsi modelleri oluşturulabilmektedir. GAERS, WAG/Rij gibi genetik modeller ise insanda görülen absans nöbetlere yakınlığı nedeni ile tercih edilmektedir (53). Başlıca deneysel epilepsi modelleri Tablo-1'de özetlenmiştir.

Tablo-1: Deneysel epilepsi modelleri. (53)'den Türkçeleştirilmiştir.

MODEL	İNDÜKSİYON	BELİRTİLER	İNSANDAKİ EŞDEĞERİ	KULLANIMI
Kemokonvulsanlar				
Kainik asit-SE	Sistemik ya da intrahipokampal enjeksiyon	Limbik SE ve kronik nöbetler	TLE-HS	Antiepileptik ilaç araştırmaları, epileptogenez mekanizmaları
Pilokarpin-SE	Sistemik ya da intrahipokampal enjeksiyon	Limbik SE ve kronik nöbetler	TLE-HS	Antiepileptik ilaç araştırmaları, epileptogenez mekanizmaları, kognitif/psikiyatrik komorbiditeler
Akut kimyasal modeller	Sistemik ya da intrahipokampal enjeksiyon	Kullanılan ilaca ve doza bağımlı olarak non-konvulsiv absans ya da jeneralize tonik-klonik nöbetler	Akut ve tekrarlayıcı nöbetler	Antiepileptik ilaç etkilerinin gözlenmesi, tekrarlayan nöbetlerin etkileri
İmmatür rodentlerde SE	Kainik asit ya da pilokarpinin sistemik enjeksiyonu	Tonik-klonik nöbetler	Gelişim sürecinde uzamış nöbetler	Epileptogenez ve uzun dönem sonuçları
İmmatür rodentlerde tekrarlayıcı nöbetler	PTZ'un sistemik enjeksiyonu ya da flurothyl inhalasyonu	Miyoklonik ve jeneralize tonik-klonik nöbetler	Gelişim sürecinde tekrarlayıcı kısa nöbetler	Antiepileptik ilaç araştırmaları ve kognitif yıkım
Elektriksel Stimulasyon				
Elektroşok ile indüklenen nöbetler	Korneal ya da aurikular stimulasyon	Jeneralize tonik-klonik nöbetler	Tonik-klonik nöbetler	Antiepileptik ilaç araştırmaları, epileptiform aktivite ile ilişkili moleküler ve fizyolojik değişiklikler
Art-deşarj	Fokal elektriksel stimulasyon	Kompleks parsiyel ve myoklonik nöbetler	Genellikle diğer bölgelere yayılım gösteren fokal başlangıçlı nöbet	Fokal nöbetlerin neden olduğu elektrofizyolojik ve davranışsal değişiklikler
Kindling	Tezrarlayan art-deşarj indüksiyonu	Fokalden tonik-kloniğe dönüşen nöbetler ve bunların sonunda spontan nöbetler	Kontrol altına alınamayan nöbetlerin sonuçları ve epileptojenik sürecin dinamikleri	Epileptogenez süreçlerinin engellenmesi ve dirençli epilepsi tedavisi

MODEL	İNDÜKSİYON	BELİRTİLER	İNSANDAKİ EŞDEĞERİ	KULLANIMI
Beyin Patolojisi				
Hipertermik nöbetler	Sıcak hava buharı ile immatür rodentlerin vücut ısısını artırma	Hareketsizlik, fasyal otomatizma, myoklonik jerkler	Febril nöbetler	Epileptogenez mekanizmaları ve kognitif sonuçları
Hipoksik-iskemi modeli	İmmatür rodentlerin düşük O ₂ konsantrasyonuna maruz bırakma	Kısa tekrarlayıcı tonik-klonik nöbetler	Neonatal hipoksik-iskemik ensefalopati	Antiepileptik ilaç araştırmaları, epileptogenez mekanizmaları ve uzun dönem sonuçları
Posttravmatik epilepsi	Rostral parasagittal sıvı perküsyon hasarı	Uzun dönemde jeneralize tonik-klonik nöbetler	Posttravmatik epilepsi	Antiepileptik ilaç etkinliği, epileptogenez mekanizması ve dual patolojili hipokampal skleroz
Genetik modeller				
Odyojenik modeller	Genetik olarak eğilimli sıçanlarda akustik stimülasyon	Koşma ve tonik-klonik nöbetler	Refleks epilepsi ve TLE	Epileptogenez mekanizması ve epilepsi ile ilişkili komorbiditler
GAERS, WAG/Rij ve absans epilepsi fare modelleri	Spontan nöbetler	DDD jeneralizasyonu davranışsal duraklama	Jeneralize idipatik epilepsiler	İnsan absans epilepsisine elektrografik ve davranışsal benzerlikler, antiepileptik ilaç cevabı

SE: status epileptikus, **PTZ:** pentilentetrazol, **TLE:** Temporal lob epilepsisi, **TLE-HS:** Hipokampal sklerozun eşlik ettiği temporal lob epilepsisi, **GAERS:** Genetic Absence Epilepsy Rat from Strasbourg, **WAG/Rij:** Wistar Albino Glaxo/Rijswijk, **DDD:** diken-dalga deşarjları

II. F. I. Lityum-Pilokarpin (Li - P) Modeli

Asetilkolinin hipokampal piramidal nöronlarda deşarj frekansını arttırması ve burst deşarjlara neden olduğunun gösterilmesinin ardından farklı birçok kolinerjik ajan deney hayvanlarında nöbet oluşturmak için kullanılmıştır (54). Muskarinik asetilkolin reseptör agonisti olan pilokarpinin kullanımı ise ilk kez 1983'de Turski ve ark. tarafından önerilmiştir (55). Bu modelde sistemik yüksek doz pilokarpin (400mg/kg) enjeksiyonu ile SE oluşturulurken, daha düşük dozlarda SE oluşmayıp, kısa limbik nöbetler görölmektedir. Lityum - pilokarpin modelinde ise pilokarpinden 24 saat önce uygulanan 3mEq/kg lityum, çok daha düşük dozlarda (30mg/kg) SE oluşmasını sağlamaktadır (56). Ancak hem pilokarpin hem de Li - P modelinde laboratuvarlar arası farklılık gözlenirse de mortalitenin yüksek (yüksek doz pilokarpin için ortalama %30-40, Li - P için %45) olduğu bildirilmektedir (57). Bu nedenle Glien ve ark. tarafından pilokarpinin 30 dk. aralarla 10mg/kg dozunda tekrarlayan dozlarda uygulanması şeklinde yeni bir model önerilmiştir. Pilokarpinin bölünmüş dozlarda verilmesi ile deney hayvanlarının %85'inde SE gelişirken, mortalite %7'ye kadar düşmektedir (58). Irklar arası farklılıklar da mortalite oranını değiştirmektedir. Wistar sıçanlarda mortalite oranı Sprague-Dawley sıçanlara göre daha yüksek seyretmektedir (57).

Yüksek doz pilokarpin ve Li - P modelleri arasında davranışsal, metabolik, elektrofizyolojik ve nöropatolojik bulgular ağısından farklılık görölmemektedir (59). Pilokarpinden 30 dk. önce muskarinik antagonist olarak 1mg/kg metilskopolamin verilmesi; pilokarpinin tükrük salgısında artış, tremor, diyare gibi periferik kolinerjik etkilerini engellemektedir. Pilokarpin enjeksiyonunu takiben deney hayvanlarında immobilite gözlenmekte, ardından orofasyal otomatizmalar, tükrük salgısında artış, esneme, göz kırpma gibi belirtileri sürekli olmayan nöbetler izlemektedir. Yaklaşık 40-45 dk. sonra ise limbik motor SE başlamaktadır. Status epileptikus yaklaşık 5-6 saat sonunda kendiliğinden gerilemekte ve deney hayvanları 1-2 gün sürebilen post-iktal komaya girmektedir (55). Status epileptikus sonrası 1-6 hafta süren latent periyodun sonunda rekürren spontan nöbetler ortaya çıkmaktadır (60).

Pilokarpinin nöbet oluşturma mekanizması literatür ışığında açıklanamamakla birlikte M1 muskarinik reseptörlerin nöbetin başlamasından, NMDAR aktivasyonunun ise nöbetlerin devam etmesinden sorumlu olduğu bildirilmektedir (61). Yüksek doz pilokarpin, yabanıl tip (Wild type, WT) ve M2-M5 genleri susturulmuş (knock-out, KO) sıçanlarda nöbetlere ve ölüme neden olurken, M1 KO sıçanlarda bir etki görülmemiştir (62). Muskarinik reseptör yoğunluğu yüksek olan nükleus akumbensin nöbetin başlamasından sorumlu olan bölge olduğu düşünülmektedir (59). Pilokarpin modelinde görülen histopatolojik bulgular hipokampus, amigdala, talamus, piriform ve enthorinal kortekste, substansia nigra ve serebral kortekste 24 saat içerisinde görülen nöronal nekrozdur (63). Ayrıca glutamat eksitotoksitesine bağlı olarak dendritlerde şişme, nöron hücre gövdesinde vakuolar dejenerasyon, astroglial yapılarda dilatasyon gibi hücresel değişiklikler görülmektedir (59). Pilokarpinin sistemik uygulanması sonucu gelişen SE ve sonrasında kronik dönemde izlenen rekürren spontan epileptik nöbetler, histopatolojik değişiklikleri ile insanlarda görülen TLE'ni en iyi taklit eden modellerden biridir (64). Bu nedenle epileptogenez ve yeni ilaç geliştirme çalışmalarında tercih edilmektedir.

II. G. Status Epileptikus Patofizyolojisi ve Epileptogenez

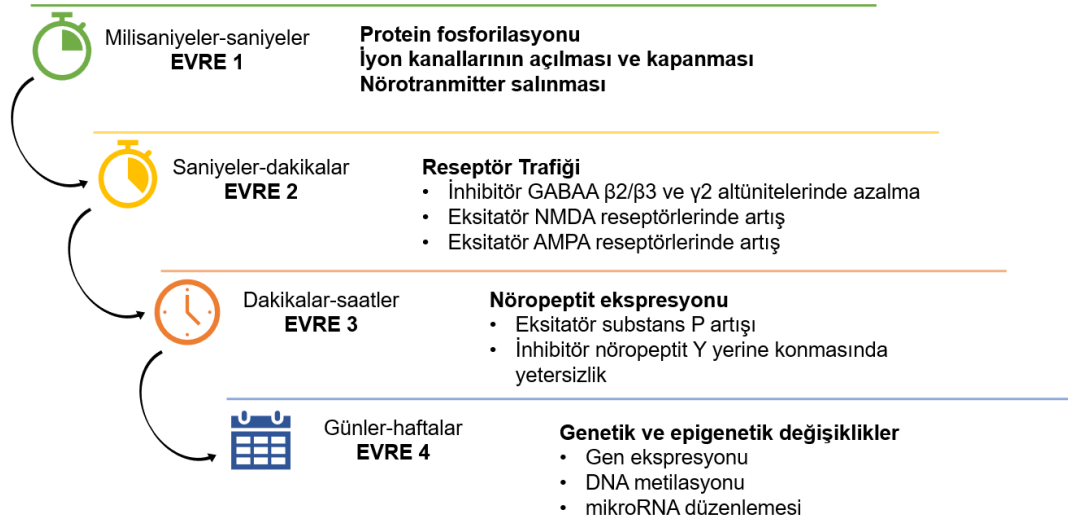
Epileptogenez, epileptik olmayan beynin genetik ve/veya edinsel düzeneklere bağlı olarak spontan tekrarlayıcı epilepsi nöbetleri geliştirme sürecidir (7). Epileptogenez bir tetikleyici faktör sonrasında başlar ve insanlarda yıllarca sürebilecek spontan epileptik nöbetlerin görülmediği latent evre boyunca devam eder. Latent evrenin sonunda ilk nöbet görülür ve hasta spontan tekrarlayıcı nöbet geçirmeye başlar. Epileptogenez, tetikleyici faktör ile başlayan ve spontan tekrarlayıcı nöbetler başladıktan sonra da devam eden progresif bir süreci kapsamaktadır (65). Hem deneysel hem de klinik çalışmalarda SE'un kronik epilepsi gelişimi için bir tetikleyici faktör olduğu gösterilmiştir (7). Epileptogenez düzenekleri hakkında edindiğimiz bilgilerin çoğu da deneysel SE modellerinden elde edilmektedir. Bu nedenle, epileptogenezde rol oynayan mekanizmaları anlamak için ilk önce bir nöbetin SE'a dönüşümünde, SE sırasında ve sonrasında görülen değişikliklerin incelenmesi gerekir.

Nöbet sırasında aşırı artmış eksitasyon ya da endojen inhibitör düzeneklerde bozulma, nöbetin sonlandırılmamasına ve SE'a neden olmaktadır. Nöbetin kendini sınırlaması ve sonlandırması kompleks bir olay olup, öne sürülen düzenekler şunlardır:

Aksiyon potansiyeli sonucu hücre içine giren Ca^{+2} ve Na^+ , K^+ 'un hücre dışına çıkmasına ve hiperpolarizasyona neden olur. Bu durumun nöronun tekrar ateşlenmesini engelleyerek nöbetin durmasına katkı sağlayabileceği öne sürülmektedir (66). Ayrıca uzamış nöronal aktivite ekstrasellüler K^+ konsantrasyonunu arttırmaktadır. Ekstrasellüler K^+ artışı önce hücre membranını depolarize ederek aksiyon potansiyeli oluşumunu artırırken, K^+ 'un daha fazla artması Na^+ kanallarının inaktive olmasına ve depolarizasyon bloğuna neden olur (67). Artan nöronal aktivite artmış enerji ihtiyacını da beraberinde getirmektedir. Hücre içinde ATP'nin azalması membranda iyon gradyentlerinin sürdürülmesini engellemektedir. Nöbet sırasında artmış glukoz ve O_2 ihtiyacının karşılanamamasının nöbeti sonlandıran düzeneklerden olduğu ileri sürülse de *in vivo* çalışmalarda artmış kan akımına bağlı olarak pO_2 , glukoz ve ATP'nin belirgin düşmemesi bu teoriden uzaklaştırmaktadır (68). Uzamış nöronal aktiviteye bağlı presinaptik nöronlarda glutamat miktarında azalma öne sürülen bir diğer teoridir. Yapılan çalışmalarda nöronal aktiviteye bağlı olarak glutamat miktarının azalmasının burst frekansını azalttığı ancak nöbeti sonlandıramadığı gösterilmiştir (69).

Ekstrasellüler ortamdaki değişiklikler de nöbetin sınırlandırılmasına katkı sağlamaktadır. Uzamış nöronal aktivite; artmış CO_2 , anaerobik metabolizma ürünleri ve artmış K^+ konsantrasyonu ile pH'ın düşmesine neden olmaktadır. Ekstrasellüler asidoz ise NMDA reseptörlerini inhibe ederek, GABA reseptör aktivitesini arttırarak, ayrıca aside duyarlı iyon kanalları 1a (ASIC1a) yoluyla nöronal uyarılabilirliği azalttığı bildirilmektedir (70). Nöbet sırasında ortama salınan nöromodülatör maddeler ve etkileri de nöbetin sonlanmasında rol oynayan muhtemel mekanizmalardır. Adenozin ve Nöropeptid Y nöbeti baskılayan özellikleri bilinen nöromodülatörlerdir ve nöbetin sonlanmasında rol oynadıkları düşünülmektedir (66).

Nöbetin kendi kendini sınırlayamaması ve takiben SE'a dönüşmesinde, ve SE'un hem sürekliliği hem de ilaçlara dirençli hale gelmesinde birçok hücrel mekanizma ortaya konmuştur. Bu mekanizmalara baktığımızda farklı zaman dilimlerinde farklı değişikliklerin olduğu görülmektedir (Şekil-5). Nöbet başladıktan sonra saniyeler içinde görülen iyon konsantrasyonlarında değişiklik, iyon kanallarının açılıp kapanması ve protein fosforilasyonu nöbetin SE'a dönüşümüne zemin hazırlar. Saniyeler-dakikalar içinde gelişen reseptör trafiğini, saatler içinde gelişen eksitator nöropeptid ekspresyonlarındaki artış ve inhibitör nöropeptidlerin baskılanması izlemektedir. En sonunda ise günler-haftalar süren ve muhtemel epilepsi gelişimine yol açan genetik ve epigenetik değişiklikler izlenmektedir (71).



Şekil-5: Nöbetten status epileptikusa geçişte görülen ana mekanizmalar. (71)'den uyarlanmıştır.

Nöbetin sonlanmasındaki engellerden biri GABAerjik transmisyonun azalmasıdır. Uzamış nöbet aktivitesi GABA_A reseptörlerinde internalizasyona neden olarak GABA-aracılı inhibisyonu azaltmaktadır (72). Status epileptikusun 1. saatinde dentat girus granül hücrelerinde sinaps başına düşen fizyolojik olarak aktif GABA_A reseptör miktarının %50 azaldığı, hücre içinde $\beta 2/\beta 3$ ve $\gamma 2$ altünitelerinin arttığı gösterilmiştir. GABA reseptörlerinin $\gamma 2$ altünitesi benzodiazepinlerin bağlanması için gerekli olan yapıdır ve bu altünitenin hücre içine alınması benzodiazepin direnci ile ilişkilendirilmektedir (73). GABA reseptör internalizasyonunun, NMDAR aktivitesi sonucu hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artması ve kalsinörin aktivasyonuna bağlı olabileceği bildirilmektedir (74).

GABA reseptörleri hücre içine alınması ile inhibisyon azalırken, NMDA reseptörünün sinaptik membrandaki ekspresyonun artması dengeyi eksitasyon yönüne kaymasına katkı sağlamaktadır. Status epileptikusda 1. saatin sonunda dentat granül hücrelerinde fonksiyonel aktif NMDAR miktarının %38 daha fazla olduğu gösterilmiştir (75). Bu durum NMDAR blokerlerinin ilerleyen saatlerinde bile SE'ü sonlandırmak için kullanılabilmesini sağlamaktadır. Status epileptikus ile reseptör trafiğindeki bir diğer değişiklik ise AMPA reseptörlerinde (AMPA) görülmektedir. AMPAR GluA2 reseptör altünitesinin, SE ile dentat granül hücreleri ve CA1 nöronlarında hücre yüzeyindeki ekspresyonunun azaldığı, hücre içinde ise arttığı gösterilmiştir. Bu durum ise hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun artmasına ve eksitotoksositeye yol açmaktadır (76). Status epileptikusda GluA2 subünitinin internalizasyonunun yanı sıra mRNA ekspresyonu da azalmaktadır. Bu azalma histon deasetilasyonu ile ilişkilidir ve histon deasetilaz inhibitörü trikostatın A ile GluA2 mRNA ekspresyonundaki azalma engellenmektedir (77).

Dakikalar-saatler içerisinde gelişen Substans P ve nörokinin B gibi eksitator nöropeptid ekspresyonlarındaki artış; dinorfin, galanin, somatostatin ve Nöropeptid Y gibi inhibitör nöropeptidlerin baskılanması nöbetin devam etmesine katkıda bulunmaktadır (78). İntrahipokampal Substans P enjeksiyonu ile SE eşliğini düşmesi Substans P'nin prokonvulzan rolünü göstermektedir. Hipokampus CA2 ve CA3 nöronlarında, yosunsu hücrelerde

ve dentat granül hücrelerde SE ile birlikte Substans P immunreaktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada Substans P'nin glutamat salınmasını dramatik bir artışa neden olduğu da gösterilmiştir (79).

Status epileptikus ile DNA metilasyonunda, histon proteinlerinin posttranslasyonel modifikasyonunda ve mikroRNA'da gelişen değişiklikler, epilepsi gelişimi ile ilişkili olabilmektedir (80). İntrakortikal kainik asit enjeksiyonu ile oluşturulan SE modelinde 24 saat sonunda hem nöronlarda hem de glia hücrelerinde epileptogenez ile ilişkili birçok gende hipo / hipermetilasyon ve gen ekspresyonunda değişiklikler görüldüğü bildirilmektedir (81). Status epileptikus ile birlikte onlarca mikroRNA ekspresyonunda değişiklik tanımlanmıştır ancak epilepsi gelişimi ile ilişkisi açısından daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (82).

Status epileptikusun en önemli sonuçlarından biri nöron ölümüdür ve özellikle hipokampus bu hasara karşı daha hassastır. Status epileptikus başladıktan 20 dk. sonra CA1 ve CA3 bölgelerinde nekrotik nöronlar görülmeye başlanıp, SE süresi uzadıkça hasarın şiddeti ve etkilediği bölgeler artmaktadır (83). Artan NMDAR aktivitesi, nöron içine fazla miktarda Ca^{+2} girmesine neden olmaktadır. Hücre içinde artan Ca^{+2} hem Nitrik Oksit Sentaz (NOS), NADPH oksidaz gibi enzimlerin aktivasyonu yoluyla hem de mitokondrial disfonksiyona neden olarak hücre içi reaktif oksijen radikallerinin oluşumuna ve apoptozise yol açmaktadır (84). Apoptotik yollarda özellikle anti / proapoptotik Bcl-2 ailesinin aktivasyonun rol oynadığı düşünülmektedir (85).

Status epileptikus sonucu görülen nöron kaybı ve yeni nöron oluşumu, hipokampusta yeni epileptik devreler yaratması nedeni ile epilepsi gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. Nöronal ölüm pro-epileptojenik etkilerini direkt ya da indirekt olarak gösterebilir. İnhibitör nöron ya da inhibitör nöronları aktive eden eksitatör nöron kaybı eksitasyona neden olabilmektedir. Ayrıca reaktif gliosis ve nöroinflamasyona neden olarak indirekt yolla eksitabiliteyi arttırabilir (85). Uzun süren nöbetler aynı zamanda nörojenezi uyarmaktadır. Pilokarpin-SE modelinde dentat girus subgranüler proliferatif zonda yeni

nöronların oluştuğu ve bu yeni oluşan nöronların dentat girusta hilusa ve molekül tabakaya ektopik olarak göç ettikleri gösterilmiştir (86). Ayrıca dentat granül hücreler, supragranüler iç molekül tabakaya doğru anormal aksonal uzantılar göndermektedir. Bu durum yosunsu hücre filizlenmesi olarak adlandırılır. Tüm bu olaylar eksitator döngülerin oluşmasına ve hipereksitasyona neden olmaktadır (87).

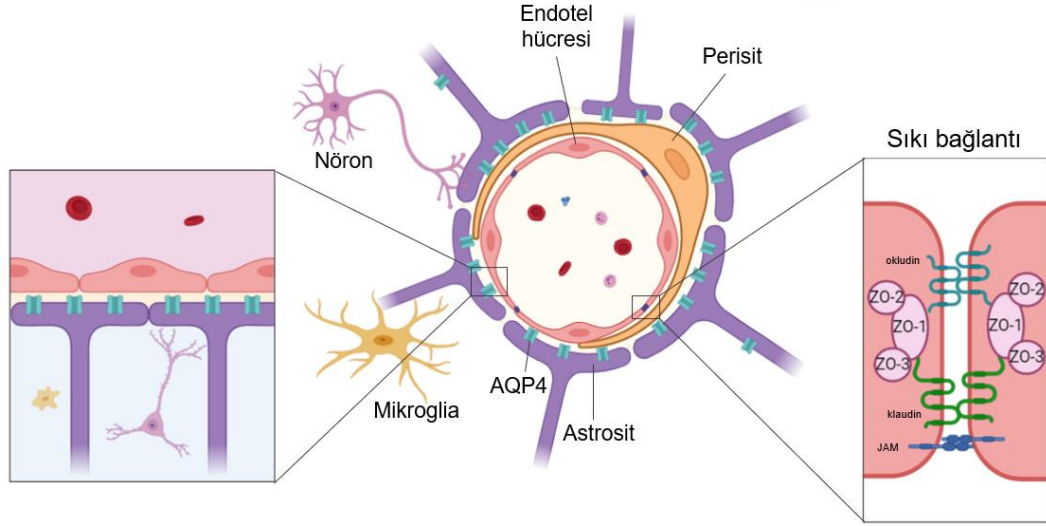
III. Epileptogenezde Rol Oynayan Nöron-Dışı Yapılar

Epileptogenez; nöronal eksitasyon-inhibisyon dengesi eksitasyon lehine bozulduğu, yeni nöral bağlantıların oluştuğu ve yapısal değişikliklerin görüldüğü bir süreçtir. Bu değişikliklere nörodejenerasyon, nörojenesis, gliozis, aksonal hasar ya da filizlenme, dendritik plastisite, kan-beyin bariyeri hasarı, nöroinflamasyon, ekstrasellüler matriksin yeniden düzenlenmesi örnek verilebilir (87). Epileptik aktivitenin nöronlardan kaynaklanması, epilepside esas rolü nöronal yapılara verse de, nöronal hipereksitabilitenin oluşmasında kan-beyin bariyeri, astrositler, mikroglia gibi nöron dışı yapıların da önemli rol üstlendiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (88) .

III. A. Kan-Beyin Bariyeri Disfonksiyonu ve Beyin Ödemi

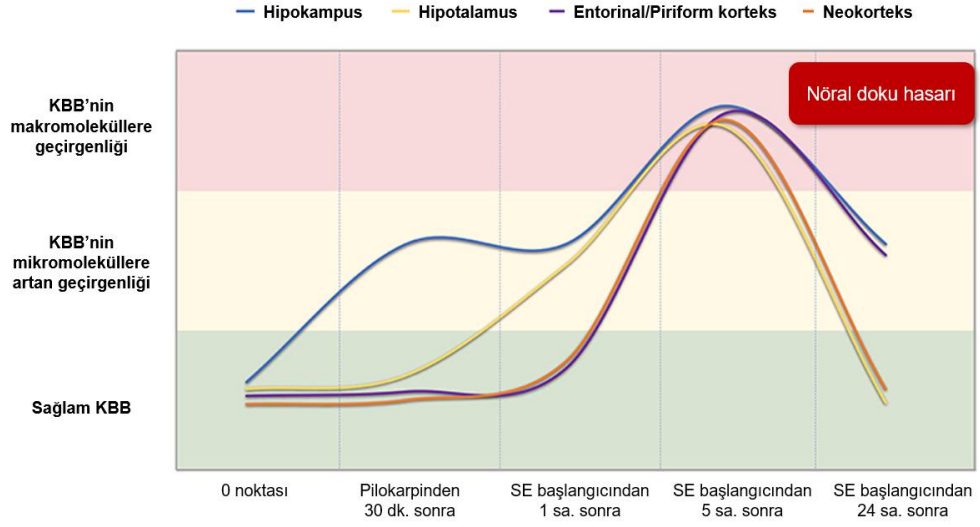
Kan-beyin bariyeri (KBB), beyin mikrovasküler endotel hücreleri, bazal membran, astrositler ve perisitler tarafından oluşturulan bir bariyerdir ve merkezi sinir sistem homeostazisinin sağlanmasında önemli rol oynar (89). Bariyer fonksiyonu esas olarak sıkı bağlantılar ile madde geçişini sınırlandıran endotel hücreleri tarafından sağlanmaktadır. Bazal membran laminin, fibronektin, vitronektin, kollajen gibi ekstrasellüler matriks proteinlerinin oluşturduğu özel bir yapıdır ve endotel hücre adhezyonu, hücre migrasyonu gibi fizyolojik olaylarda önemli rol oynamaktadır. Perisitler ise serebral damarların abluminal yüzeylerini sararak damar stabilizasyonu, damar çapının ve kan akımının düzenlenmesinde işlev görürler (90). Astrositler; sinaptik fonksiyon ve plastisitenin düzenlenmesi, nörotransmitter, iyon ve su tamponlanması ile ekstrasellüler mikroçevrenin dengesinin korunması, nöronal aktivite için gerekli enerjinin sağlanması, KBB'nin fonksiyonlarının

sürdürülmesi gibi görevleri nedeni ile fizyolojik fonksiyonların sürdürülmesinde önemli rolü olan hücrelerdir (91). Astrositler uzantıları ile endotel hücrelerinin çevresini sararak KBB yapısına katılır (Şekil-6).



Şekil-6: Kan-beyin bariyeri yapısına katılan yapılar. **ZO:** Zonula okludens, **JAM:** Bağlantı adhezyon molekülü, **AQP4:** aquaporin-4. (92)'den uyarlanmıştır.

Travma, inme, SE gibi epileptojenik beyin hasarlarının, KBB disfonksiyonuna neden olduğu hem klinik çalışmalarda hem de deneysel modellerde gösterilmiştir (93). Uzamış nöbet aktivitesinin KBB'nde yarattığı değişiklikler ve KBB disfonksiyonunun sonuçları literatürde ayrıntılı olarak incelenmiştir (92). Kan-beyin bariyeri disfonksiyonu nöbet sonrası dakikalar içerisinde gelişmekte ve kronik dönemde de patolojik değişiklikler devam etmektedir. Literatürde TLE tanılı hastaların hipokampus örneklerinin patolojik incelemelerinde KBB geçirgenliğinde artış, plazma protein ve IgG ekstravazasyonu görülmektedir (94). Klinik bulgular ile uyumlu olarak deneysel epilepsi modellerinde de SE sonrası dakikalar içinde gelişen KBB bütünlüğünün bozulma ve IgG immunreaktivitesinde artışın latent evre ve kronik evrede de devam ettiği gösterilmiştir (95, 96). Devam eden geçirgenlik artışının özellikle mikromoleküllere karşı olduğu, makromoleküllere karşı geçirgenliğin 24. saatin sonunda düzeldiği bildirilmektedir (97) (Şekil-7).



Şekil-7: Status epileptikus (SE) ile gelişen KBB disfonksiyonunun çeşitli beyin bölgelerinde zamana göre değişimi. (97).

KBB'nde geçirgenlik artışı kontrast ajan verilerek yapılan bilgisayarlı tomografi ve MRI, Evans mavisini ekstrevasyonu, immunhistokimyasal yöntemlerle albumin ve IgG'nin ekstrevasyonunu gösterilmesi, serum S100B seviyesi ölçümü gibi yöntemler ile gösterilebilmektedir. S100B beyinde esas olarak astrositlerden salgılanan bir Ca^{+2} bağlayıcı proteindir. Hücre içinde; hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını düzenleme, Ca^{+2} homeostazisi, protein fosforilasyonunun düzenlenmesi gibi etkilerinin yanı sıra, ekstrasellüler ortama salındığında nöronlar üzerinde sağ kalımı artırıcı, rejenerasyonu ve nörogenezi uyarıcı etkiler göstermektedir (98). Ancak *in vitro* deneylerde nöroprotektif etkisini fizyolojik nanomolar konsantrasyonlarda gösterdiği, mikromolar düzeyde ise toksisiteye neden olduğu görülmüştür (99). Astrositlerden aktif olarak salınabileceği gibi hasarlı hücreden sızma yolu ile de ekstrasellüler ortama geçebilir. İntrasellüler ve ekstrasellüler S100B mRNA ve protein miktarında artış, astrosit aktivasyonu ve hasar belirteci olarak kullanılmaktadır. Deney hayvanlarında kafa travması, serebral iskemi, epilepsi, nörodejeneratif hastalık modellerinde dokudaki ekspresyonu, klinik çalışmalarda da nöronal hasar ile birlikte serum ve beyin-omurilik sıvısında (BOS) seviyeleri artmaktadır (99). Pilokarpin ile indüklenen SE modelinde SE sonrası 1. günden itibaren S100B ekspresyonunun anlamlı olarak arttığı,

3. gün ise pik yaptığı bildirilmektedir (100). Epilepsi hastalarında da serum S100B miktarının arttığı görülmüştür (101). Bu artışın nedeninin, nöronal aktivite sonucu ortamda artan glutamatın astrositlerde mGlu3 reseptörünü uyararak S100B salınımını arttırması olduğu düşünülmektedir (102). Nöronal hasarın eşlik etmediği, KBB'nin bütünlüğünün bozulduğu durumlarda plazma seviyesinde artış görülmektedir (103). Ayrıca KBB bütünlüğünün korunduğu, S100B miktarının arttığı durumlarda serum S100B seviyelerinin yükselmemesi, seruma geçişinde KBB'nin bariyer fonksiyonunun önemini göstermektedir (104). Bu nedenle serum S100B seviyesinin astrosit aktivasyonunun yanı sıra KBB disfonksiyonunun da göstergesi olarak kullanılmaktadır (103).

Status epileptikusun neden olduğu KBB disfonksiyonunda birçok süreç ve bunlarla bağlantılı düzenekler rol oynamaktadır. Bunlardan ilki endotel hücrelerinde de reseptörü bulunan glutamatın etkileridir. İn vitro olarak glutamatın, endotel hücrelerinde bulunan NMDA reseptörüne bağlanarak hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu ve reaktif oksijen radikalleri oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (105). Yine glutamatın etkisi ile endotel hücrelerinde hücre içi Ca^{+2} artışının sonucu olarak NOS enziminin aktivitesi artmaktadır. Bu durum mikrovasküler yapıların çevresinde NO miktarının ve KBB geçirgenliğinin artışı ile sonuçlanmaktadır (106). Glutamatın kapiler endotelindeki bir diğer etkisi ekstrasellüler matriks ve endotelial sıkı bağlantı proteinlerinin yıkımından sorumlu matriks metalloproteinazların (MMP) aktivitesini arttırmasıdır. Glutamat, MMP-2 ve MMP-9 seviyesini ve aktivitesini arttırarak endotelial sıkı bağlantıların yapısında yer alan zonula okludens-1 (ZO-1), okludin, kladin-1 proteinlerinin seviyesini azaltmakta ve KBB geçirgenliğini arttırmaktadır (107).

Matriks metalloproteinaz aktivitesindeki değişimi ve KBB disfonksiyonunu indükleyen bir diğer faktör endotelin-1 (ET-1) ile ilişkili yolaklardır. Status epileptikus, proinflatuar sitokinlerden tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) salınımını arttırarak endotel hücrelerinde ve nöronlarda ET-1 seviyesini arttırmaktadır. Endotelin-1 ise endotelin B reseptörleri (ET_B) aracılığı ile endotel hücrelerinde eNOS, astrositlerde NADPH oksidaz

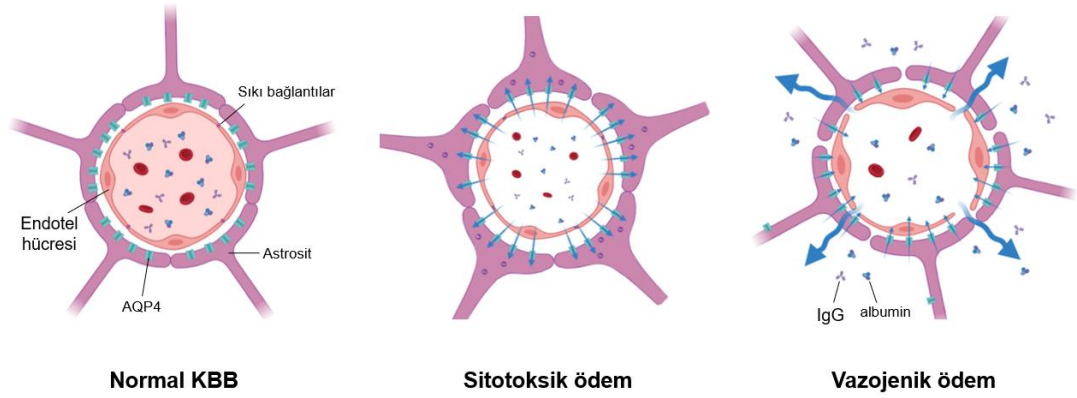
aktivitesini arttırarak astrosit ve endotelial hücre disfonksiyonuna yol açmaktadır (108). Endotelin-1/ET_B/eNOS yolağının MMP-9 aktivitesi arttırarak endotelial sıkı-bağlantıların yapısında ve KBB bütünlüğünde bozulmaya neden olduğu da bildirilmektedir (109).

Distrofin, hem mikrodamarlarda hem de endotel çevresindeki astrositlerin son-ayaklarında yoğun olarak bulunan bir proteindir. Aynı zamanda astrositlerde aquaporin-4'lerin (AQP4) son-ayaklarında yerleşiminden de sorumludur (110). Status epileptikusdan 12 saat sonra vazojenik ödem gelişmeden önce astrositlerde ve endotel hücrelerinde distrofin ekspresyonu da azalarak KBB disfonksiyonuna katkı sağlamaktadır (111). Kan-beyin bariyeri bileşenlerinden bazal membranda bulunan laminin, astrosit son-ayaklarının distrofin kompleksiyle tutunmasını sağlamaktadır. Laminin reseptörlerinden 67-kDa laminin reseptörü, distrofin/AQP4 kompleksinin ekspresyonunu düzenleyerek KBB'nin bütünlüğünü sağladığı ve SE'un astroglial ve endotelial 67-kDa laminin reseptörünün ekspresyonunda kayba neden olduğu bildirilmektedir (112).

Nöbet KBB geçirgenliğini arttırırken, bozulmuş bariyer fonksiyonu eksitabiliteyi arttırmakta ve epilepsi gelişimine neden olmaktadır (92). Sadece KBB geçirgenliğini arttıran müdahalelerin de elektroensefalografik kayıtlarda epileptiform aktiviteye neden olabileceği bildirilmektedir (93). Kan-beyin bariyerinin bozulması sonucu albüminin ekstrasellüler alana geçmesi proepileptojenik değişikliklere neden olmaktadır. Albuminin astrositlerde bulunan dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β) reseptörlerine bağlanarak hücre içine alındığı; TGF- β reseptör blokajı ile astrositlere albüminin hücre içine alınmasının azaldığı ve epileptiform aktivitenin olmadığı gösterilmiştir (113). Albumin aynı zamanda TGF- β 2 reseptörüne bağlanarak inflamatuvar süreçlerde rol oynayan genlerin ekspresyonunu arttırırken, iyon kanalları ve sinaptik nörotransmisyonunda rol oynayan genlerin (örneğin K_{ir}4.1 ve GLT-1) ekspresyonunu azaltmaktadır. Bunun sonucunda astrositlerin K⁺ ve glutamat tamponlama işlevinin bozulması nöronal eksitabilite ile sonuçlanmaktadır (114). Albümin uygulanması sonrası 14-48. saatte ekstrasellüler potasyum tamponlanmasından sorumlu içeri doğrultucu K⁺ kanalları (K_{ir}4.1) kanallarının

immunoreaktivitesinde belirgin azalma olduğu, aynı zamanda astrosit gap junction proteini konneksin-43 ekspresyonunu azaltarak ekstrasellüler potasyumun temizlenmesinde bozulmaya bağlı nöronal hipereksitabiliteye neden olduğu görülmüştür (113, 115). Albuminin bir diğer etkisi eksitator sinaptogenezi indüklemesidir. Albumin astrositlerde TGF- β /ALK5 sinyal yolağı ile eksitator pre-sinaptik “sinapsin-1” ve post-sinaptik “PSD-95” gibi belirteçlerin ekspresyonunu arttırdığı bildirilmektedir (116). Çoğunlukla astrositler tarafından hücre içine alınsa da nöronların da albümini hücre içine aldığı gösterilmiştir. Nöron kültüründe FITC-albumin verilmesi ile albüminin nöronlar tarafından hücre içine alındığı ve nöronlarda glutamat sentezini ve glutamatın ekstrasellüler ortama salınımının arttığı bildirilmektedir (117). Albuminin ekstraselülasyonunun bir diğer sonucu ise astrositlerde AQP4 miktarının azalması ve polarizasyon kaybı sonucu görülen artmış beyin ödemi (118).

Beyin ödemi, SE sonrası ilk dakikalarda başlayan sitotoksik ödem ve KBB geçirgenliğinde artışa bağlı saatler-günler içerisinde ortaya çıkan vazojenik ödem şeklinde görülmekte ve epileptogenezi de rol oynadığı düşünölmektedir (119). Sitotoksik ödem; sıvı ve Na⁺ iyonlarının interstisyel alandan hücre içine geçmesi ve hücre şişmesi şeklinde görölmöken; vazojenik ödem ise KBB geçirgenliğinde artış nedeni ile serum proteinleri ve sıvının ekstraselülasyonu sonucu gelişmektedir (120) (şekil-8). Vazojenik ödemde görölen serum proteinlerinin ekstrasellüler alana geçişi nöronal hipereksitabiliteye, astroglial hücre kaybı ve potasyum homeostazisinde bozulmaya neden olarak epileptogenezi tetiklemektedir. Vazojenik ödem rezolösyonunda esas rolü ise astrosit son-ayaklarında yerleşmiş olan AQP4 su kanalları oynamaktadır (121).

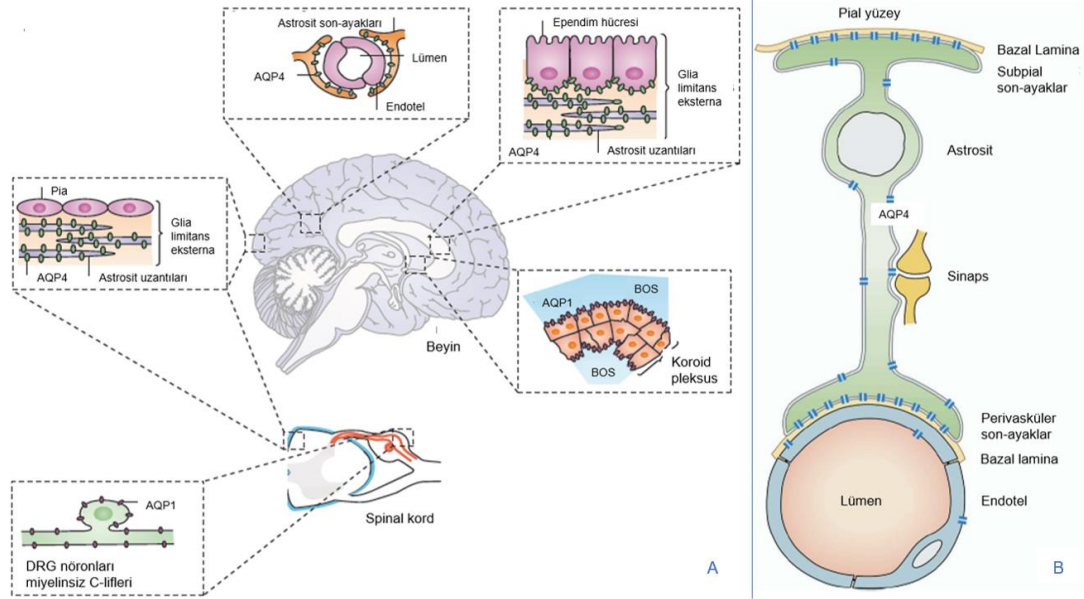


Şekil-8: Sitotoksik ve vazojenik ödem gelişimi ve AQP4 kanallarının rolü. (121)'den uyarlanmıştır.

III. B. Aquaporin-4

Aquaporinler, ozmotik gradiente yanıt olarak membranda su geçişini sağlayan küçük transmembran proteinlerdir. İlk kez 1991 yılında eritrosit membranında AQP1 varlığı gösterilmiş olup (122), daha sonra insanda ve rodentlerde 14 farklı Aquaporin tanımlanmıştır (121). Aquaporinlerin bir kısmı suyun yanı sıra gliserole de geçirgendir ve Aquagliseroprin olarak isimlendirilmektedir. Bazı durumlarda Aquaporinlerin gazları ve iyonları da geçirebildiği gösterilmiştir (123). Vücutta MSS'nde, gastrointestinal sistemde, böbrek, akciğer, kalp, deri, göz gibi organlarda yaygın olarak bulunmaktadır (123). AQP1 ve AQP4 MSS'nde bulunan esas su kanallarıdır, ayrıca beyinde AQP9 düşük de olsa eksprese edilmektedir (121). AQP4, beyin ve spinal kordda bulunan ana su kanalıdır. Mikrodamarları ve pial yüzeyleri çevreleyen astrosit son-ayaklarında yoğun olarak bulunurken astrosit membranının diğer bölgelerinde daha az eksprese edilmektedir. Astrosit membranındaki dağılımında görülen bu farklılık AQP4'ün polarize yerleşim olarak ifade edilmektedir. Endotel hücrelerinde ve ependisitlerde de ekspresyonu olduğu bilinmektedir (124) (Şekil-9). Ekstrasellüler alan ile kan dolaşımı/BOS arasında çift taraflı su taşınmasını sağlamakta ve interstisyel osmolalite ve ekstrasellüler sıvı volümünün düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (125). Astrositlerin AQP4 ve $K_{ir}4.1$ kanalları aracılığı ile su ve K^+ 'un eş zamanlı paralel akımı gerçekleştirerek ekstrasellüler alanın osmolaritesini koruduğu düşünülmektedir (125). Aquaporin-4 sitotoksik beyin

ödeminde beyin parankimine su geçişini kolaylaştırarak beyin ödemi arttırmaktadır. Vazojenik ödemde parankime sıvı geçişi KBB bütünlüğünün bozulması nedeni ile AQP4'ten bağımsız olarak gerçekleşmektedir (126). Ödem rezolüsyonunun ise fazla suyun AQP4-bağımlı olarak ventriküllere ve subaraknoid aralığa ya da perivenöz boşluklardan venöz sisteme geçmesi ile gerçekleştirildiği düşünülmektedir (121).



Şekil-9: A. AQP4'ün MSS'nde ekspresyon edildiği bölgeler. (121). B. AQP'ün astrosit membranında polarize yerleşimi. **DRG:** dorsal root ganglionu, **BOS:** beyin omurilik sıvısı, (125).

Çeşitli MSS patolojilerinde AQP4 ekspresyonunda ve polarizasyonunda değişiklikler görülmektedir. Bu patolojilerden biri de epilepsidir. Hipokampal sklerozun eşlik ettiği TLE hastalarında sklerotik hipokampusta AQP4 protein ve mRNA ekspresyonunun artmaktadır (127). Ancak mezial temporal lob epilepsisi (MTLE) hastalarında total AQP4 ekspresyonu artmakla birlikte perivasküler yerleşimli AQP4 miktarının %44 oranında daha az olduğu gösterilmiştir (128). Deneysel SE modelinde total AQP4 protein miktarı hipokampusta değişmezken SE sonrası 12. saatten itibaren perivasküler AQP4 immunreaktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (129). Aquaporin-4'ün perivasküler yerleşimindeki azalma latent evrede (2. hafta) ve kronik evrede (11. Hafta) de devam etmektedir (130). İntrahipokampal kainik asit ile

oluşturulan SE modelinde de 30 güne kadar takip edilen farelerde hipokampal AQP4 immunreaktivitesindeki düşüş devam etmiştir (131). Hubbard ve ark.larının yaptığı çalışmada ise hipokampusta Western-blot ve RT-PCR ile AQP4 protein ve mRNA ekspresyonları incelenmiştir. Status epileptikus sonrası 1. ve 4. günde AQP4 protein seviyesinin anlamlı olarak düşük olduğu, 30. günde ise kontrole göre arttığı görülmüştür. Dördüncü günden itibaren arttığı tespit edilen mRNA ekspresyonu ise 30. günde görülen artmış protein ekspresyonunun muhtemel nedenidir (132). Literatürde total AQP4 miktarında gözlenen değişim, çalışmalar arası farklılık gösterse de ortak görüş SE sonucunda AQP4 polarize yerleşim kaybının görüldüğü ve bu durumun epileptogenez sürecinde rol oynadığıdır.

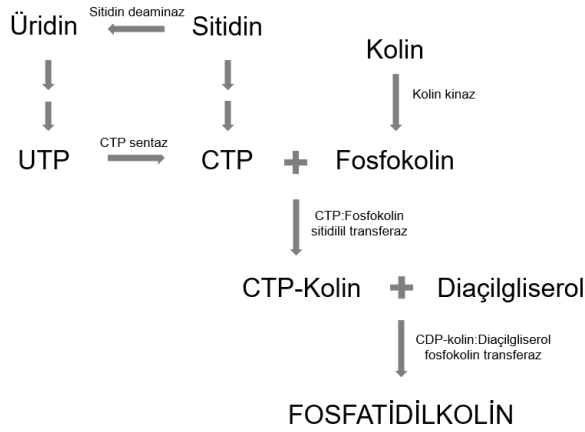
Status epileptikus sonucu gelişen moleküler ve hücresel birtakım değişiklikler AQP4 kanallarının endoteli çevreleyen astrositik son-ayaklardaki yerleşimini ve miktarını azaltmaktadır. İmmunohistokimyasal yöntemler ile AQP4 kaybının görüldüğü bölgelerde distrofin boyanmasının da kaybolduğu izlenmekte ve AQP4 polarizasyon kaybının distrofin kompleksindeki eksikliğe bağlı olduğunu düşündürmektedir (128). Distrofin gen mutasyonu olan *mdx* farelerde yapılan bir çalışmada bu çalışmayı destekler şekilde endotel hücreleri çevreleyen astrositlerde AQP4 ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (133) Distrofin eksikliğine benzer şekilde AQP4'lerin astrosit son-ayaklarında yerleşmesini sağlayan distrofin-ilişkili protein kompleksinin bir parçası olan α 1-sintrofin proteininin susturulduğu farelerde perivasküler yerleşimli AQP4 miktarının anlamlı olarak azaldığı, diğer bölgelerde arttığı ve total AQP4 miktarının değişmediği gösterilmiştir (134). Mezial temporal lob epilepsisi hastalarında distrofin ve α -sintrofin kaybının AQP4 polarizasyonunda görülen etkisine benzer şekilde $K_{ir}4.1$ kanalların perivasküler astrosit son-ayaklarında lokalizasyonun kaybı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (135). Bunun nedeni AQP4 ve $K_{ir}4.1$ kanallarının astrosit membranındaki bağlantısıdır. Laminin varlığında distroglikan, sintrofin, AQP ve $K_{ir}4.1$ 'in agregatlar oluşturduğu bildirilmektedir (136). Aquaporin-4 polarizasyonu ve $K_{ir}4.1$ kanallarının yerleşimindeki değişimin, SE'a bağlı olarak MMP'lerin aktivesinin indüklenmesi ve lamininin bazal membrandan

ayrılması nedeni ile gerçekleştiği düşünülmektedir (128). Ayrıca SE'da endotel hücrelerinde artan ET-1 ekspresyonunun AQP4 miktarını azalması muhtemel mekanizma olarak öne sürülmektedir (137).

Aquaporin-4 polarizasyonunda ve ekspresyonundaki azalmanın sonucunda artmış beyin ödemi ve hipereksitasyon görülmektedir. Aquaporin-4 KO farelerde SE sonrası 1. saatte hipokampus ve korteksteki su miktarı WT farelere göre anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (138). Aquaporin-4 kaybı astrosit-son-ayaklarında şişmeye ve ekstrasellüler ortamdan K⁺un uzaklaştırılmasında gecikmeye, bunun sonucunda uzamış nöbet aktivitesine neden olmaktadır (110). Nöbet sırasında çok miktarda K⁺ ekstrasellüler alana geçmekte ve esas olarak glial hücreler tarafından hücre içine alınarak ekstrasellüler alandan uzaklaştırılmaktadır. K⁺un hücre içine alınmasındaki bozulma uzamış depolarizasyon ve nöbetin sonlanmasında gecikme ile sonuçlanmaktadır (139). Hipokampusta astrositlerde K⁺un hücre içine alınması, esas olarak K_r4.1 kanalları aracılığı ile gerçekleşmektedir. K_r4.1 kanallarının farmakolojik ya da genetik inaktivasyonu ekstrasellüler K⁺ tamponlanmasında bozulmaya ve nöronal hipereksitabiliteye neden olmaktadır (140). K_r4.1 kanalları ile AQP4 kanalları astrosit membranında birlikte bulunması, K⁺un hücre içine alınmasında AQP4 fonksiyonunun da rol olduğu düşünülmektedir (125). Aquaporin-4 -/- farelerde elektriksel stimülasyon ile K⁺ artışı ve düşüşünün WT farelere göre anlamlı olarak daha yavaş olması ve bu farelerde stimülasyon ile uyarılmış nöbet sürelerinin daha uzun olması bu bulguyu destekler niteliktedir (141). Aquaporin-4 KO fareler üzerinde oluşturulan akut epilepsi modelinde, SE sonrası bu hayvanların kontrol grubuna göre daha erken dönemde spontan nöbet geçirdiği ve nöbet sayısının da anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (131, 141). Ayrıca AQP4 KO farelerde GLT-1 ekspresyonunun ve astrositlerde glutamatın hücre içine alınmasının azalması, AQP4 kaybı ile ilişkili hipereksitasyonda glutamatın da rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir (142).

IV. Üridin

Üridin, urasil ve riboz şekerinden oluşan bir pirimidin nükleozididir. Plazmadaki 3-5mM konsantrasyonu ile insandaki majör pirimidin bileşiğidir (143, 144). Dolaşımda vücutta serbest halde bulunabildiği gibi nükleotidlerin (mono-, di- ve tri-fosfatlı halleri), nükleotid şekerlerin (UDP-glukoz ve UDP-galaktoz) ve nükleik asitlerin (RNA ve DNA) yapısına katılarak protein glikolizasyonu, glikojen sentezi, membran fosfolipit sentezi gibi önemli fizyolojik fonksiyonlarda rol oynamaktadır (145). Vücutta pirimidin sentezi *de novo yolak* ve *kurtarma yolağı* ile gerçekleşmektedir. Beyinde *de novo* sentezi az da olsa yapılmakta ancak beyinde üridin nükleotidlerinin esas kaynağının dolaşımdan alınan nükleozidlerden kurtarma yolağı ile sentezlenmesi olduğu düşünülmektedir (146). Bu nedenle pirimidinlerin plazma konsantrasyonu ve taşıyıcı proteinler, beyindeki nörofizyolojik fonksiyonların sürdürülmesi için hayati önem taşımaktadır. Üridin KBB'ni konsantre edici nükleozid taşıyıcısı (CNT) ve dengeleyici nükleozid taşıyıcısı (ENT) olmak üzere iki farklı taşıyıcı ile geçmektedir. Dengeleyici nükleozid taşıyıcısı, konsantrasyon gradiyetine göre çift taraflı geçişe izin veren düşük afiniteli taşıyıcıdır. Konsantre edici nükleozid taşıyıcılar ise düşük K_m değerleri (9-40 μM) ile fizyolojik koşullarda üridinin KBB'den geçişinden sorumludur (147). Ekstraselüler alana geçen üridin yine taşıyıcılar aracılığı ile hücre içine alınmaktadır (148). Hücre içinde alınan üridin, üridin kinaz aktivitesi ile mono-di-tri fosfatlı nükleotidlerine çevrilebilir (145). Ayrıca UTP'den CTP sentaz enzimi ile CTP sentezlenebilir, CTP ise fosfokolin ile birlikte membran fosfolipit sentezi için gerekli olan CDP-kolin sentezine katılır (149, 150). Sistemik ya da oral olarak verilen üridinin ekstraselüler üridin, UDP, UTP, sitidin, CDP ve CDP-kolin miktarını arttırdığı gösterilmiştir (151–154). Üridin bu kaskad ile Kennedy yolağı üzerinden membran fosfolipidlerinin sentezine katılmaktadır (149, 150) (Şekil-10).



Şekil-10: Kennedy yolağı üzerinden fosfolipid sentezi. (150)'den uyarlanmıştır.

Üridin nükleotidleri ise purinerjik P2Y reseptörlerine bağlanarak etki göstermektedir (155). Üridin tri-fosfat P2Y2 ve P2Y4 reseptörünü aktive ederken, UDP P2Y6 reseptörünü aktive etmektedir. P2Y2,4,6 reseptörleri Gq protein ilişkili reseptörler olup; hücre içinde fosfolipaz C aktivitesini arttırarak, diaçilgliserol (DAG), inozitol 1,4,5 trifosfat (IP3) ve intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunu arttırmaktadır (155).

Üridin nükleotidlerinin P2Y reseptör uyarımı ile nöronal proliferasyon, nörotransmisyon, uzun süreli potansiyasyon ve nöroproteksiyonda görev aldığı çeşitli *in vitro* ve *in vivo* modellerde bildirilmiştir (156). Yakın zamanlı çalışmalarda bir üridin donörü olan üridin-5'monofosfat (UMP) içeren tedavilerin hem yavru (157) hem de erişkin (158, 159) deney hayvanlarının beyinde sinaptik oluşumların miktarını arttırdığı ve bu hayvanlarda öğrenme/hafıza gibi bilişsel fonksiyonları geliştirdiği (160) gösterilmiştir. Ayrıca bu tedavinin nörodejeneratif hastalıkları taklit eden çeşitli deneysel modellerde de faydalı olduğu gösterilmiştir. Örneğin, deneysel Parkinson modelinde d-amfetamin ile indüklenen rotasyonel davranışı azaltmış (161) ve çevresel yoksunluğa bağlı bilişsel fonksiyon bozuklukları gösteren deney hayvanlarında öğrenme ve hafıza işlevlerini arttırmıştır (162, 163). Bunların yanı sıra, üridin tedavisinin yenidoğan hipoksik-iskemik ensefalopati ve hiperoksik beyin hasarı modellerinde beyin hasarını azaltarak uzun dönemli takiplerde davranışsal parametrelerin düzelmesini sağladığı gösterilmiştir (164–167).

Üridin ve üridin nükleotidleri KBB geçirgenliğini ve beyin ödemi gelişimini azaltarak nöroprotektif etki gösterebilir. Soğuk hasarına bağlı beyin ödeminde UDP'nin KBB geçirgenliğinin göstergesi olan Evans mavisini ekstrasvazasyonunu azalttığı ve nörolojik semptomlarda düzelmeyi sağladığı gösterilmiştir (168). Bir diğer çalışmada ise tek başına veya melatonin ile kombine olarak verilen üridin tedavisinin travmatik beyin hasarında görülen vazojenik beyin ödemi azalttığı gösterilmiştir (169). Dolayısıyla dışarıdan verilen üridinin beyin harabiyeti oluşturan durumlarda bir nöroprotektif ajan olarak fayda gösterebileceği öngörülebilir.

Üridin'in antiepileptik etkisi ise ilk kez Roberts ve arkadaşlarının 1973 yılında yaptığı çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada kurbağalarda PTZ ve penisilin ile oluşturulan epilepsi modellerinde, üridin verilmesi ile bilateral spike frekans ve amplitüdünde azalma görülmüştür (170). Kainik asit ile indüklenen sürekli depolarizasyonda, üridin verildiğinde hipokampusta nöronal ateşleme hızlarında azalma görülmesi üridinin antiepileptik etkinliğini desteklemiştir (171). Eksojen üridin uygulanmasında sürekli depolarizasyon indüklendiğinde ekstrasellüler üridin miktarında yine artma görülmüş ve bu artışın nöromodülatör ve nöroprotektif bir etkinliğin parçası olabileceği düşünülmüştür (171, 172). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda kindling modelinde de üridinin günde 3 kez 100 mg/kg dozda uygulaması ile günde bir kez 100 mg/kg levetirasetam uygulamasının eşdeğer etkinliğe sahip olduğu gösterilmiştir (173). Lityum-pilokarpin modelinde üridinin antiepileptojenik etkinliği araştırılmış, bellek fonksiyonlarında düzelmeye, elektrografik aktivite ve nöronal hasarda azalma gözlenirse de istatistiksel anlamlılık gözlenmemiştir (174). Absans epileptik Long-Evans ve WAG/Rij sıçanlarda sistemik olarak uygulanan 500mg/kg ve 1000mg/kg dozlarda üridin enjeksiyonunun, talamus ve kortekste diken-dalga deşarj (DDD) sayısı ve süresini doza bağımlı olarak azalttığı bildirilmektedir (175).

Üridin'in antiepileptik etki mekanizması literatürde tam olarak aydınlatılamamıştır. Üridinin benzodiazepinler ile yapısal benzerlik gösterdiği ve GABA reseptörlerine yarışmalı olarak bağlandığı gösterilmiş ve antiepileptik etkisinin GABA mimetik etkisine bağlı olduğu öne sürülmüştür (176). Ancak

absans epileptik sıçanlarda yapılan çalışmada GABA_A reseptör agonisti ve antagonisti ile birlikte verilen üridinin DDD frekansında değişim yapmaması, antiepileptik etkisini GABA reseptörleri üzerinden yaptığı görüşünün en azından absans epilepsi için geçerli olmadığını göstermiştir (177). Bir diğer hipotez de üridinin purinerjik reseptörler üzerinden etki göstermesidir. Amigdala içine kainik asit mikroenjeksiyonu veya pilokarpin ile indüklenmiş SE modelinde intraserebroventriküler yolla UTP verilen farelerde; nöbet sıklığında ve nöronal hasarda azalma, urasil sensitif purinerjik P2Y (P2Y₂₋₄₋₆) reseptörlerinin transkripsiyonunda ve miktarında artış saptanması, üridinin antiepileptik ve nöroprotektif etkinliğinde purinerjik reseptörlerin rol oynayabileceğini düşündürmüştür (178).

Bu bilgiler ışığında üridinin bildirilen antiepileptik ve antiepileptojenik etkinliğinin muhtemel mekanizmaları arasında;

(I) epileptogenezi başlatan faktörlerden biri olarak bilinen KBB geçirgenliğindeki artışı baskılıyor ve

(II) SE sonrasında görülen vazojenik beyin ödeminin rezolüsyonunda önemli rol oynayan AQP4 kanallarının polarizasyon kaybını azaltıyor olabileceği hipotezleri akla gelmektedir. Bu çalışma ile SE oluşturulan deney hayvanlarında akut dönemde verilen üridin tedavisinin beyin ödemi, KBB geçirgenliği ve AQP4 polarize yerleşimi üzerine etkisi incelenmiştir.

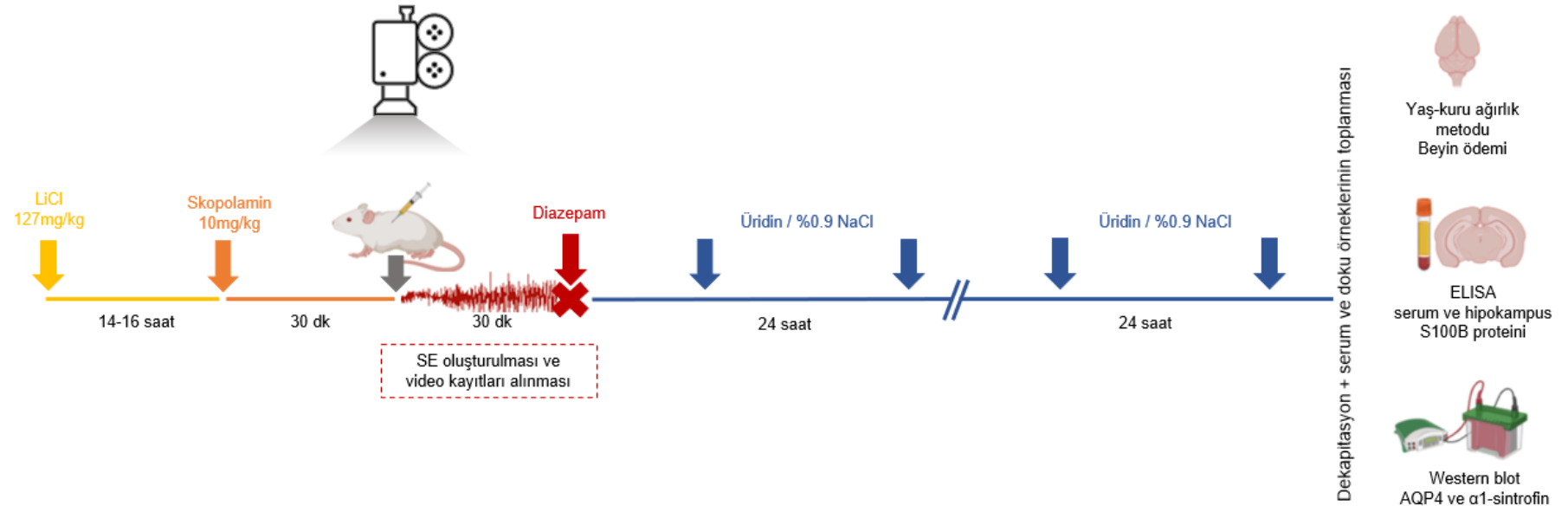
GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24.12.2019 tarih, 2019-13/07 karar no'lu onayı ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan 112 adet, 6-8 haftalık, 200-250 g ağırlığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilmiştir. Sıçanlar su ve besin kısıtlaması olmaksızın, 12 saatlik aydınlık / karanlık döngüsünde 20-24 °C oda sıcaklığında standart kafeslerde takip edilmiştir. Denekler üzerinde yapılacak tüm işlemler Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Nörovasküler Araştırma Laboratuvarı ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalındaki araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

I. Deney Düzenegi

I. A. Status Epileptikus Oluşturulması ve Sonlandırılması

Status epileptikus oluşturmak için 10 mg/kg pilokarpin (Sigma, ABD) 1 ml/kg %0.9 NaCl içerisinde çözdürülerek intraperitoneal (i.p.) uygulandı ve Racine'in davranışsal skorlamasına göre evre 4-5 SE gözlenene kadar 10 mg/kg dozunda pilokarpin enjeksiyonu tekrarlandı (118). Pilokarpin enjeksiyonundan 14-16 saat öncesinde 1 ml/kg %0.9 NaCl içinde 127 mg/kg lityum klorid (Sigma, ABD), 30 dk. öncesinde pilokarpinin periferik etkilerini engellemek için 1 ml/kg %0.9 NaCl içinde 1 mg/kg metil skopolamin (Sigma, ABD) i.p. uygulandı. Mortaliteyi azaltmak için nöbet başlangıcından 30 dk. sonra 10 mg/kg diazepam (Diazem® 10mg/2ml ampul, Deva, T.C.) i.p. uygulandı. Gerekirse 20 dk. sonra 10 mg/kg ve 2. dozdan 30 dk. sonra 5 mg/kg diazepam tekrar verildi. SH-SF ve SH-ÜRİ gruplarında tüm enjeksiyonlar yerine eş volümde i.p. %0.9 NaCl enjeksiyonları yapıldı. K-SF ve K-ÜRİ gruplarında protokole uygun olarak lityum, skopolamin ve diazepam uygulamaları yapıldı ancak nöbet oluşturulmayacağı için pilokarpin yerine eş volümde %0.9 NaCl uygulandı (Şekil-11)



Şekil-11: Deneş akış şeması

I. B. Video Kayıtları

Tüm SE oluşturulan gruplarda video kamera kaydına (HIKVISION 4MP IP Kamera, Çin Halk Cumhuriyeti) pilokarpin enjeksiyonunu takiben hemen başlandı ve diazepam ile nöbetler tamamen sonlanana kadar devam edildi. Video kayıtları sırasında sıçanlar 40Gx40Yx40D şeffaf pleksiglas özel kabinlerde takip edildi (Şekil-12).



Şekil-12: Deney hayvanlarının SE sırasında takip edildiği düzenek.

I. C. Racine'in Davranışsal Skorlaması

Pilokarpin uygulanmasından sonra tüm deney hayvanlarına Racine'in davranışsal skorlaması uygulandı ve evre 4-5 olan hayvanlar çalışmaya dahil edildi (179) (Tablo-2).

Tablo-2: Racine'in davranışsal skorlaması.

Racine'in davranışsal skorlaması	
1	Fasiyal otomatizmalar
2	Baş sallama
3	Ön bacak klonusu ve lordotik postür
4	Ön bacak klonusuna şaha kalkmanın eşlik etmesi
5	Ön bacak klonusu ve şaha kalkmaya doğrulma refleksinin kaybı ve düşme eklenmesi

I.D. Deney hayvanlarının takibi

Status epileptikus sonrasında deney hayvanları tekli kafeslerde takip edilmiştir. 48 saatlik takip süresince SH-ÜRİ, K-ÜRİ ve SE-ÜRİ gruplarına günde iki kez 500mg/kg üridin, 1ml/kg %0.9 NaCl içerisinde çözdürülerek i.p. uygulandı. SH-SF, K-SF ve SE-SF gruplarına ise eş volümde %0.9 NaCl enjeksiyonu yapıldı. 48. saatin sonunda deney hayvanları dekapite edildi.

I. E. Deney Grupları

Deney grupları ve uygulanan tedavi çizelgesi Tablo-3'te gösterilmiştir.

Sham grupları

SE oluşturulmayan; lityum, skopolamin ve pilokarpin yerine eş volümde i.p %0.9 NaCl enjeksiyonu yapılan;

Sham - Serum Fizyolojik grubu // SH-SF: tedavi protokolü uyarınca günde 2 kez i.p. %0.9 NaCl uygulanan grup (n:16)

Sham - Üridin grubu // SH-ÜRİ: tedavi protokolü uyarınca günde 2 kez 500mg/kg üridin uygulanan grup (n:16)

Kontrol grupları

SE oluşturulmayan; lityum ve skopolamin enjeksiyonu yapılan, pilokarpin yerine eş volümde i.p. %0.9 NaCl enjeksiyonu yapılan;

Kontrol - Serum Fizyolojik grubu // K-SF: tedavi protokolü uyarınca günde 2 kez i.p. %0.9 NaCl uygulanan grup (n:16)

Kontrol - Üridin grubu // K-ÜRİ: tedavi protokolü uyarınca günde 2 kez i.p. 500mg/kg üridin uygulanan grup (n:16)

Status Epileptikus grupları

Tablo-3'te belirtilmiş protokol uyarınca lityum, skopolamin ve pilokarpin enjeksiyonu yapılarak SE oluşturulan;

Status Epileptikus - Serum Fizyolojik grubu // SE-SF: SE sonlandırılmasını takiben tedavi protokolü uyarınca günde 2 kez i.p. %0.9 NaCl uygulanan grup (n:16)

Status Epileptikus - Üridin grubu // SE-ÜRİ: SE sonlandırılmasını takiben tedavi protokolü uyarınca günde 2 kez i.p. 500 mg/kg üridin uygulanan grup (n:16)

Tablo-3: Deney grupları ve yapılan ilaç uygulama çizelgesi.

	1. gün	2. gün				3. gün	
	16:00	08:00	08:30	12:00	17:00	08:00	17:00
SH-SF	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl
SH-ÜRİ	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	üridin	üridin	üridin	üridin
K-SF	LiCl	metilskopolamin	%0.9 NaCl	diazepam + %0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl
K-ÜRİ	LiCl	metilskopolamin	%0.9 NaCl	diazepam + üridin	üridin	üridin	üridin
SE-SF	LiCl	metilskopolamin	pilokarpin	(SE'i takiben) diazepam + %0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl	%0.9 NaCl
SE-ÜRİ	LiCl	metilskopolamin	pilokarpin	(SE'i takiben) diazepam + üridin	üridin	üridin	üridin

SH-SF: Sham-Serum Fizyolojik, **SH-ÜRİ:** Sham-Üridin, **K-SF:** Kontrol-Serum Fizyolojik, **K-ÜRİ:** Kontrol-Üridin, **SE-SF:** Status Epileptikus-Serum Fizyolojik, **SE-ÜRİ:** Status Epileptikus-Üridin

II. Analizler

II. A. Beyin Su İçeriğinin Hesaplanması

Beyin su içeriği yüzdesi yaş-kuru ağırlık metodu ile hesaplandı. Deney hayvanları dekapite edildikten sonra hızlıca beyin dokusu çıkartılıp tüm beyin ağırlığı ölçüldü. 110 C'de 24 saat kurutulan beyinler tekrar tartılarak kuru ağırlıkları belirlendi ve beyin su içeriği aşağıda verilen Elliot formülüne göre hesaplandı (180):

$$\text{Beyin su içeriği \%} = (\text{yaş ağırlık} - \text{kuru ağırlık}) / (\text{yaş ağırlık}) \times 100\%$$

II. B. ELISA Analizleri

Hipokampus ve serum S100B düzeyleri ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemiyle analiz edildi. Bu amaçla hipokampus homojenatları ve dekapitasyon sırasında boyun damarlarından elde edilen kan rneleri kullanıldı. 48. saatte dekapite edilen sıçanların hipokampus dokusu disseke edildi ve soğuk fosfat tamponlu salin (PBS) içinde homojenize edildikten sonra 20.000 rpm'de 30 dk. süreyle santrifüj edildi. Süpernatant kısımları ependorflara alındı ve ELISA ve Western blot analizleri yapılana kadar -80C'de saklandı. Dekapitasyon sırasında boyun kanı tüplere alınıp 15-20 dk. pıhtılaşması için beklendikten sonra 30.000 rpm'de 20 dk. santrifüjlenerek serum kısmı ayrılmıştır. Serum rneleri analizler yapılana kadar -20C'de saklandı. S100B analizleri ELISA prensibiyle çalışan ticari kit (Rat protein S100-B ELISA Kit, BT Lab, in Halk Cumhuriyeti) protokolleri takip edilerek yapıldı ve spektrofotometrik (BioTek Quant, BioTek Instruments Inc., ABD) olarak analiz edildi.

II. C. Western-Blot Analizleri

Tüm hipokampus homojenatlarının total protein miktarı Lowry yöntemi (181) ile ölçüldü ve takiben 1:1 oranında Leammli tamponu (182) ile muamele edilerek kaynatıldı. Eşit protein miktarına (20g/ml) sahip homojenatlar Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE; Mini Protean II, Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) yardımıyla elektroforetik olarak yürütüldü. Protein bantlarının jel üzerinde ayrışması ve takiben poliviniliden

florür membranlara (Millipore, Billerica, MA, ABD) aktarılması sağlandı. Membranlar tris tamponlu salin ve tween 20 (TBST) içinde çözdürülmüş %5 yağsız kuru süt (Carnation, Glendale, CA, ABD) çözeltisi ile bloke edildi. Membranlar gece boyunca primer anti-AQP4 (1:1000, Elabscience, ABD) ve anti-sintrofin α 1 (1:1000, Bioss, ABD) antikoruyla inkübe edildi ve ertesi gün TBST solüsyonu ile yıkandıktan sonra primerlere uygun sekonder antikorla 1 saat boyunca muamele edildi. İnkübasyonun sonunda kemiluminesans solüsyonu ile inkübe edilerek membranların üzerindeki protein bantları dijital bir tarayıcıda (C-Digit Western Blot Scanner, LI-COR Biosciences, Lincoln, NE, ABD) okutularak ilgilenilen proteinlerin optik dansiteleri sayısal değere dönüştürüldü ve sonuçlar yarı-kantitatif olarak ifade edildi. Eşit miktarda protein yüklendiğinin kontrol edilebilmesi için yapısal bir protein olan β -aktin proteininin analizi yapıldı. Bunun için membranlar, anti- β -aktin (1:1000, Cell Signaling Technologies, ABD) antikor ile gece boyunca inkübe edilip, ertesi gün TBST solüsyonu ile yıkandıktan sonra uygun sekonder antikor ile muamele edildi. Ardından protein bandlarının optik dansiteleri analiz edildi.

II. D. İstatistiksel Analizler

Verinin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Tanımlayıcı istatistikler nicel veri için ortalama ve standart sapma olarak belirtildi. Normal dağılım gösteren veri için ikiden fazla grup karşılaştırmasında tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Anlamlılık bulunması durumunda ikili karşılaştırmalarda Holm-Sidak testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $\alpha=0.05$ olarak belirlendi. Verinin istatistiksel analizi SigmaPlot (versiyon 12.5) istatistik paket programında yapıldı.

BULGULAR

I. Deney Prosedürü ile İlgili Veriler

SH-SF, SH-ÜRİ, K-SF ve K-ÜRİ gruplarına deney prosedürüne uygun enjeksiyonları yapılmış ve 48 saatlik takiplerinde mortalite gözlenmemiştir.

Status epileptikus gruplarında toplam 51 deney hayvanının 47'sinde evre 4-5 SE oluşturulmuş olup 4 sıçanda maksimum doz (50mg/kg) pilokarpine rağmen SE gözlenmemiştir (%7.84). Status epileptikus görülen sıçanlarda maksimum pilokarpin dozu toplamda 40 mg/kg'dır. Status epileptikus oluşturmak için uygulanan ortalama pilokarpin dozu 25.1 mg/kg olarak hesaplanmıştır. Status epileptikus oluşturulan hayvanlar randomize olarak SE-SF ve SE-ÜRİ grubuna ayrılmış ve 48 saat süresince günde iki kez %0.9 NaCl ya da 500mg/kg üridin enjeksiyonu yapılmıştır.

SE-SF grubunda 24 deney hayvanının 8'i 48 saat içerisinde ölmüştür. Mortalite oranı %33.3 olarak hesaplanmıştır. SE-ÜRİ grubunda 23 deney hayvanının 7'si 48 saatlik takip süresi içerisinde ölmüştür. Mortalite oranı %30.4 olarak hesaplanmıştır. Mortalite oranları açısından anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.721).

II. Beyin Su İçeriğinin Hesaplanması

Elliot formülüne (180) göre beyin su içeriği yüzdesi hesaplanmış olup;

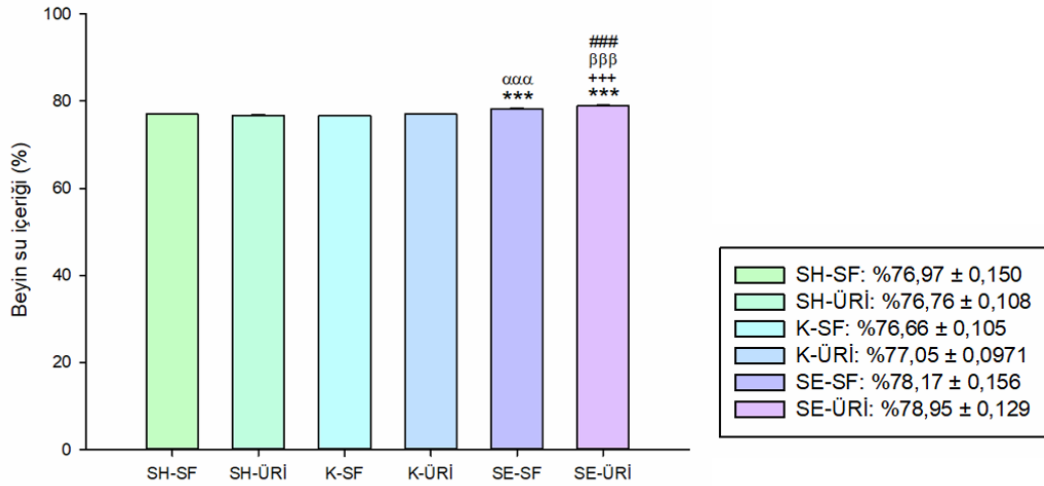
SH-ÜRİ, K-SF ve K-ÜRİ grupları SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

K-SF grubu ile K-ÜRİ grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

SE-SF grubu, SH-SF ve K-SF grupları ile karşılaştırıldığında SE-SF grubunda beyin su içeriğinin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p < 0.001$).

SE-ÜRİ grubu; SH-SF, SH-ÜRİ ve K-ÜRİ grupları ile karşılaştırıldığında SE-ÜRİ grubunda beyin su içeriği anlamlı olarak artmıştır ($p < 0.001$).

SE-SF ile SE-ÜRİ grupları karşılaştırıldığında SE-ÜRİ grubunda beyin su içeriği anlamlı olarak artmıştır ($p < 0.001$) (Şekil-13).



Şekil-13: Beyin su içeriği yüzdesi (ortalama değer±standart hata). (*** $p < 0.001$ SH-SF grubuna göre, +++ $p < 0.001$ SH-ÜRİ grubuna göre, ^{aaa} $p < 0.001$ K-SF grubuna göre, ^{βββ} $p < 0.001$ K-ÜRİ grubuna göre, ### $p < 0.001$ SE-SF grubuna göre).

III. ELISA Analizleri

III. A. Serum S100B Protein Miktarı

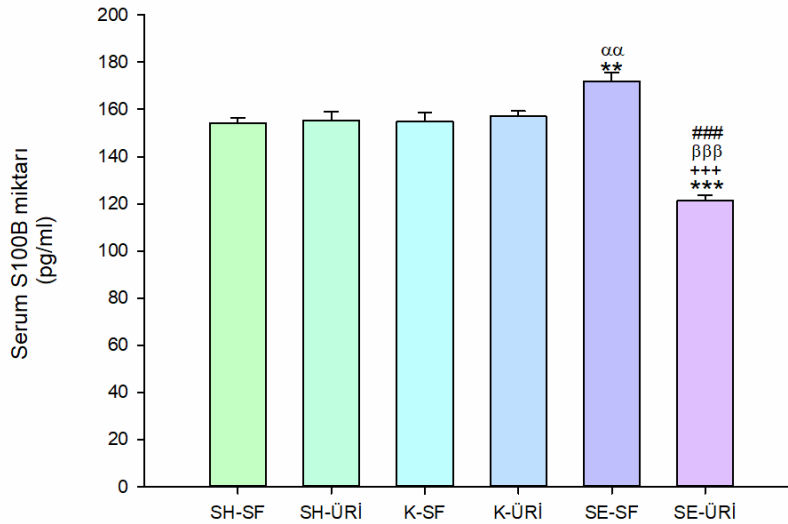
ELISA yöntemi ile serum örneklerinde S100B protein miktarları ölçülmüş ve yapılan istatistiksel analizler sonucunda;

SH-ÜRİ, K-SF ve K-ÜRİ grupları SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

K-ÜRİ grubu K-SF grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

SE-SF grubu ile SH-SF ve K-SF grubu karşılaştırıldığında SE-SF grubunda serum S100B seviyesinin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.01$).

SE-ÜRİ grubu ile SH-SF, SH-ÜRİ, K-ÜRİ ve SE-SF grubu ile karşılaştırıldığında SE-ÜRİ grubunda serum S100B seviyesinin anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p<0.001$) (Şekil-14).



Şekil-14: Serumda ölçülen S100B miktarları (ortalama değer \pm standart hata). (** $p<0.001$ SH-SF grubuna göre, ** $p<0.01$ SH-SF grubuna göre, +++ $p<0.001$ SH-ÜRİ grubuna göre, $\alpha\alpha p<0.01$ K-SF grubuna göre, $\beta\beta\beta p<0.001$ K-ÜRİ grubuna göre, ### $p<0.001$ SE-SF grubuna göre).

III. B. Hipokampus S100B Protein Miktarı

ELISA yöntemi ile hipokampus örneklerinde S100B protein miktarları ölçülmüş ve yapılan istatistiksel analizler sonucunda;

SH-ÜRİ, K-SF ve K-ÜRİ grupları SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

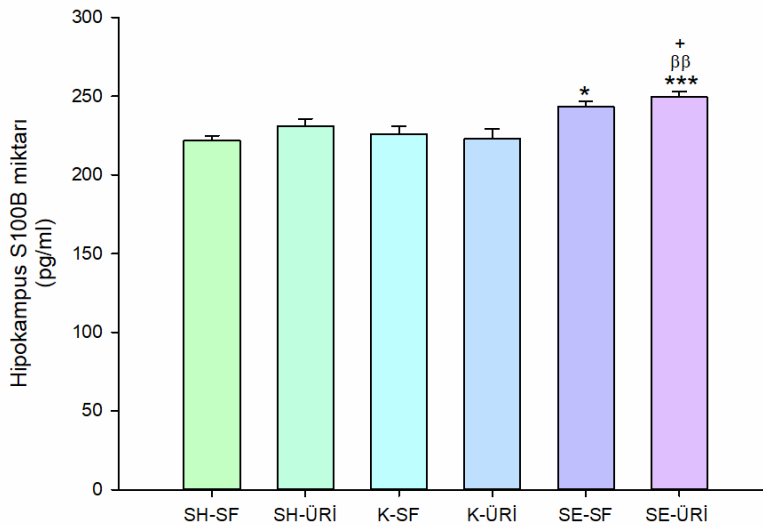
K-ÜRİ grubu K-SF grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

SE-SF grubu ile SH-SF ile karşılaştırıldığında SE-SF grubunda hipokampus S100B seviyesinin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$).

SE-SF grubu, K-SF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

SE-ÜRİ grubu SH-SF, SH-ÜRİ ve K-ÜRİ grupları ile karşılaştırıldığında SE-ÜRİ grubunda hipokampus S100B seviyesi SH-SF ($p<0.001$), SH-ÜRİ ($p<0.05$) ve K-ÜRİ ($p<0.01$) gruplarına göre anlamlı olarak artmıştır.

SE-ÜRİ grubu SE-SF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Şekil-15).



Şekil-15: Hipokampus S100B miktarları (ortalama değer \pm standart hata). (* $p<0.05$ SH-SF grubunda göre, *** $p<0.001$ SH-SF grubuna göre, + $p<0.05$ SH-ÜRİ grubuna göre, $\beta\beta p<0.01$ K-ÜRİ grubuna göre).

IV. Western Blot Analizleri

IV. A. Hipokampus AQP4/ β -aktin Oranı

Her grupta AQP4 düzeyi, AQP4 ve β -aktin protein bantlarının ortalama dansiteleri oranlanarak hesaplanmış ve AQP4/ β -aktin protein düzeyleri, SH-SF grubundaki AQP4/ β -aktin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirilmiştir (Şekil-16).

SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında SH-ÜRİ ve K-ÜRİ grubunda istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir.

K-SF grubu SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında hipokampus AQP4/ β -aktin oranı SH-SF grubuna göre K-SF grubunda anlamlı olarak azalmıştır ($p < 0.01$).

K-ÜRİ grubu SH-ÜRİ grubu ile karşılaştırıldığında hipokampus AQP4/ β -aktin oranı K-ÜRİ grubunda anlamlı olarak azalmıştır ($p < 0.001$).

SE-SF grubu SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmemiştir.

SE-SF grubu K-SF ile karşılaştırıldığında hipokampus AQP4/ β -aktin oranı SE-SF grubunda anlamlı olarak artmıştır ($p < 0.001$).

SE-ÜRİ grubu SH-SF, SH-ÜRİ ve SE-SF grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmemiştir.

SE-ÜRİ grubu K-ÜRİ grubu ile karşılaştırıldığında hipokampus AQP4/ β -aktin oranı SE-ÜRİ grubunda K-ÜRİ grubuna göre ($p < 0.05$) anlamlı olarak artmıştır.

IV. B. Hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin Oranı

Hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin protein düzeyleri, SH-SF grubundaki α 1-sintrofin/ β -aktin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildiğinde (Şekil-17);

SH-ÜRİ ve K-SF grupları SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

K-ÜRİ grubu SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında K-ÜRİ grubunda hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0.01$).

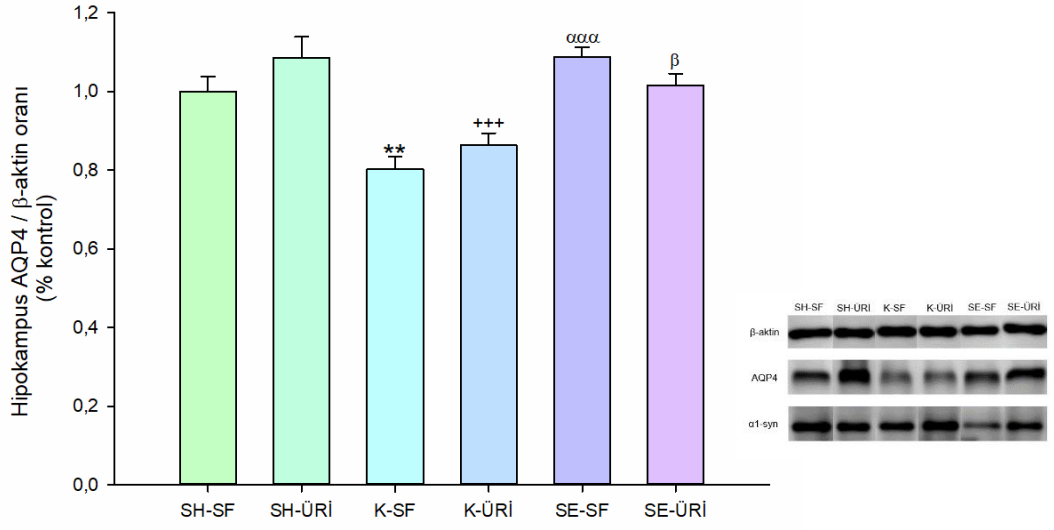
K-ÜRİ grubu SH-ÜRİ ve K-SF grupları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

SE-SF grubu SH-SF ve K-SF grupları ile karşılaştırıldığında SE-SF grubunda hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin oranı SH-SF grubuna göre ($p < 0.05$) ve K-SF grubuna göre ($p < 0.001$) anlamlı olarak düşük bulunmuştur.

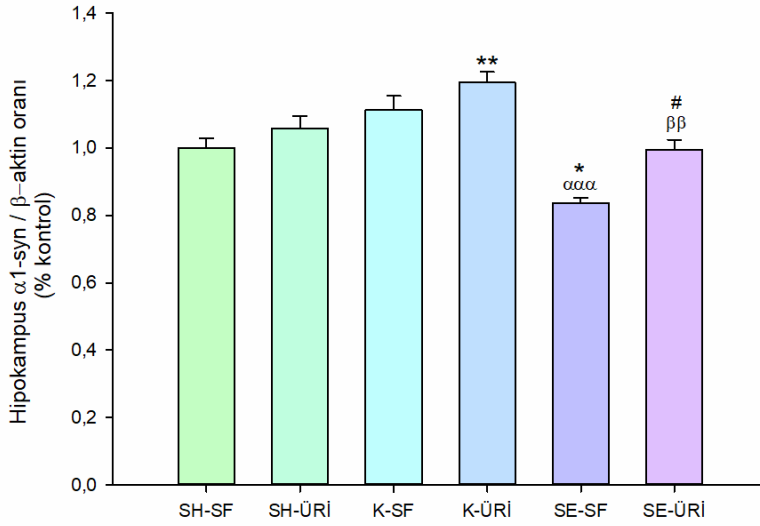
SE-ÜRİ grubu SH-SF ve SH-ÜRİ grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

SE-ÜRİ grubu K-ÜRİ grubu ile karşılaştırıldığında SE-ÜRİ grubunda hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin oranı anlamlı olarak azalmıştır ($p < 0.01$).

SE-ÜRİ grubu SE-SF grubu ile karşılaştırıldığında SE-ÜRİ grubunda hipokampus α 1-sintrofin/ β -aktin oranı anlamlı olarak artmıştır ($p < 0.05$).



Şekil-16: Hipokampus AQP4/β-aktin düzeyinin yüzde değişim oranı (ortalama ± standart hata). (**p<0.01 SH-SF grubuna göre, +++p<0.001 SH-ÜRİ grubuna göre, αααp<0.001 K-SF grubuna göre, βp<0.05 K-ÜRİ grubuna göre).



Şekil-17: Hipokampus α1-syn/β-aktin düzeyinin yüzde değişim oranı (ortalama ± standart hata). (* p<0.05 SH-SF grubuna göre, ** p<0.01 SH-SF grubuna göre, ααα p<0.001 K-SF grubuna göre, ββ p<0.01 K-ÜRİ grubuna göre, # p<0.05 SE-SF grubuna göre).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Epilepsi, dünyada yaklaşık 70 milyon insanın etkilendiği, beynin tekrarlayan spontan nöbet oluşturmaya yatkınlığı ile karakterize bir hastalıktır (2). Hastalık yükü bakımından nörolojik hastalıklar içerisinde beşinci sırada yer almaktadır (183). Epilepsi etiolojisinde yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik ve immünolojik etmenler rol oynamaktadır ancak hastaların yaklaşık üçte birinde neden bilinmemektedir (31). Beynin spontan nöbet geliştirme özelliği kazanmasına neden olan moleküler ve hücresele düzeneklerin oluşturduğu süreç epileptogenez çalışmalarının konusudur. Epileptogenez bir başlatıcı faktör sonrasında başlar ve hastanın spontan nöbetleri başladıktan sonra da nöbetlerin neden olduğu patolojik değişiklikler nedeni ile ilerleyici bir seyir izler (7). Bu başlatıcı faktör genetik mutasyon, enfeksiyon, travma, inme gibi beyin hasarları ya da status epileptikus olabilir.

Epileptogenez ile ilgili araştırmalarda, epilepsi hastalarından elde edilen beyin dokularının yanı sıra sıklıkla bu patolojilerin modellendiği deney hayvanları kullanılmaktadır (51). İdeal bir deneysel modelde; patoloji insandakine benzer nedenlerle ortaya çıkmalı, insanda görülen fizyolojik, davranışsal ve genetik fenotipi göstermeli ve tedaviye benzer şekilde yanıt vermelidir (184). Epilepsi için tek bir modelin tüm epilepsi tiplerini modelleyebilmesi mümkün değildir ve farklı epilepsi tipleri için farklı modeller kullanılmaktadır (53). Temporal lob epilepsisi en sık görülen epilepsi sendromudur ve sıklıkla ilaç direnci ile birlikte görülmektedir. İlaç direncinin varlığında hastalığın gelişimini engellemek daha da önem kazanmaktadır (185). Patogenezin ve nedenlerin aydınlatılması yeni antiepileptik ve antiepileptojenik ajan geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Kainik asit ve pilokarpin gibi kemokonvulsanlarla indüklenen SE modelleri; tetikleyici faktörün varlığı, sonrasında görülen latent periyot ve latent periyot sonunda ortaya çıkan spontan tekrarlayıcı nöbetler ile TLE patogenezine benzerlik göstermekte ve sıklıkla kullanılmaktadır (51).

Kainik asit ve pilokarpin modellerinin her ikisi de histopatolojik, davranışsal ve elektrofizyolojik olarak TLE'ni taklit etme açısından benzerlik göstermektedir. Ancak pilokarpin modeli daha erken dönemde ve daha yaygın hasar oluşturması ile kainik asit modelinden ayrılmaktadır (186). Pilokarpin ile indüklenen SE'da birden fazla prosedür tanımlanmıştır. Bunlardan ilki Turski ve ark. tarafından 1983'te tanımlanan yüksek doz pilokarpin ile SE oluşturulmasıdır (55). Ancak modelde kullanılan yüksek doz pilokarpin mortaliteyi arttırmakta, dozun düşürülmesi ise SE oluşturma oranını düşürmektedir. Pilokarpin toksisitesini önlemek için 16-24 saat öncesinde 127mg/kg dozda lityum verilmesi bir diğer yöntemdir (56). Lityum, pilokarpin duyarlılığını artırarak daha düşük doz pilokarpin (30mg/kg) ile SE oluşmasını sağlamaktadır (59). Lityum-pilokarpin modelinde mortalitenin düşmesi beklense de farklı laboratuvarlarda yüksek doz pilokarpin ile benzer mortalite ve SE oluşma zamanı açısından farklılıklar bildirilmektedir (187). Mortalite sorununa çözüm olarak Glien ve ark. pilokarpinin 10mg/kg dozlarda tekrarlayan şekilde verilmesini önermiştir. Bu modelde 10mg/kg dozda pilokarpin maksimum 50mg/kg olacak şekilde SE görülene kadar 30 dk. aralarla verilmektedir. Status epileptikus oluşturma oranının tek doz (30mg/kg) pilokarpin modeli ile benzer, mortalitenin ise daha düşük (%10'un altında) olduğu bildirilmektedir (58). Çalışmamızda SE'un 30. dk.da sonlandırılması ve 48 saatlik takip planlandığı için histopatolojik değişikliklerin daha erken dönemde olduğu Li - P modeli tercih edilmiş ve mortalitenin daha düşük olması için pilokarpin tekrarlayan dozda uygulanmıştır. Çalışmamızda deney hayvanlarının %92.16'sında SE oluşmuş, ancak mortalite oranı bildirilenden daha yüksek çıkmıştır (%30.4-33.3).

Mortalite oranını etkileyen bir durum da SE'un süresidir. Nöbet süresinin uzaması artmış mortalite ile ilişkilidir (58). Pilokarpin ile indüklenen SE'da nöbetler 5-6 saat sonra kendiliğinde sonlanmaktadır. Fakat bu durumda mortalite %100'e ulaşmaktadır (188). Status epileptikus 90 dk. ile sınırlandırıldığında mortalite %45'e düşmektedir. Status süresinin kısalması ise kronik epilepsi gelişim oranını düşürmektedir. Status epileptikus 60. dk.da sonlandırıldığında spontan tekrarlayıcı nöbet gelişme oranı farklı çalışmalarda

%25-83 arasında bildirilmektedir (58). Literatürde epileptojenik değişikliklerin görüldüğü en kısa süre ise 30 dk. olarak bildirilmiştir (189, 190). Bu bilgiler ışığında SE'un 48 saat içindeki akut etkilerinin incelendiği çalışmamızda, status epileptikus süreci epileptojenik en kısa süre olan 30. dk.da diazepam ile sonlandırılmıştır.

Diazepam, SE'un ilk basamak tedavilerinden biridir (8). Literatürde de SE'u belirlenen zaman aralığında durdurup hasarı sınırlamak ve standardizasyonu yakalamak için diazepam, midazolam, pentobarbital, ketamin, MK-801 gibi ajanlar tek başlarına ya da kombine olarak kullanılmaktadır (187). Kombine tedavinin amacı, SE'un süresinin uzaması ile gelişen ilaç direncini yenmek ve SE'un davranışsal ve elektrografik bulgularını sonlandırmaktır. Diazepam çeşitli çalışmalarda 5-20mg/kg dozlarda tek sefer ya da tekrarlayan dozlarda ve/veya pentobarbital, MK-801, ketamin ile kombine şekilde verilmektedir (187). Çalışmamızda, insanda ilk basamak tedavi olarak kullanıldığı için diazepam seçilmiş ve literatürde belirtildiği gibi tekrarlayan dozda uygulanması tercih edilmiştir (118). Status epileptikus esnasında EEG kayıtlarının alınmaması nedeni ile diazepam ile elektrografik nöbetlerin sonlanıp sonlanmadığının tespiti yapılamamıştır. Elektroensefalografi elektrotlarının yerleştirilmesi sırasında oluşabilecek hasarın, sonuçları etkileyebileceği düşünülerek EEG kayıtları alınmamış, sadece Racine'in davranışsal skorlaması yapılmıştır. Racine'in davranışsal skorlaması nöbet aktivitesinin 5 ayrı evreye ayrıldığı bir skorlamadır ve literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır (108, 179). Sıçanlarda epileptik nöbet sıklığının östrus siklusuyla değişmesi nedeniyle sadece erkek sıçanlar çalışmaya dahil edilmiştir (64). Pilocarpin ile indüklenen SE modellerinde mortalitesi diğer türlere göre daha düşük olan Sprague-Dawley ırkı sıçanlar tercih edilmiştir (191).

Üridin ve üridin nükleotidleri; RNA sentezi, protein ve lipid glikolizasyonu, membran fosfatidlerinin biyosentezi ve pirimidinerjik transmisyon gibi önemli fizyolojik fonksiyonlarda rol oynamaktadır (145). Ayrıca Parkinson, hipoksik-iskemik ensefalopati ve hiperoksik beyin hasarı gibi deneysel modellerde gerek moleküler ve histopatolojik yöntemlerle gerekse

davranışsal testlerle nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir (161, 164, 166, 167). Üridin, membran fosfolipid sentezini artırma (158), histon deasetilasyonunu azaltma (165), antioksidan savunma düzeneklerinin etkinliğini artırma (192) ve caspase-3 ilişkili apoptotik yolları inhibisyonu (167) yolu ile nörodejenerasyona ve beyin hasarına karşı koruyucu etki göstermektedir. Üridinin deneysel SE modellerinde antiepileptik ve antiepileptojenik etkisi bildirilmektedir (171, 173–175). Ancak etki mekanizması ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Bu çalışmada, SE'un neden olduğu erken dönemde KBB disfonksiyonu ve ortaya çıkardığı sonuçların kronik epilepsi gelişimindeki rolü nedeni ile üridinin nöroprotektif ve olası antiepileptojenik etkisi sözü geçen düzenek ile açıklanmaya çalışılmıştır. Literatürde çeşitli modellerde nöroprotektif ve antiepileptik etkisi gösterilen 500mg/kg etkin dozda üridin tercih edilmiştir (164, 177).

Klinik ve deneysel çalışmalarda beyin ödemi ölçümleri MRI'de T2 ve diffüzyon ağırlıklı görüntüleme ve volümetrik ölçümler yapılarak, kuru-yaş beyin ağırlığı metodu gibi yöntemler ile ölçülebilmektedir. Çalışmamızda beyin ödeminin yansıması olarak beyin su içeriği yüzdesi hesaplanmıştır. Kainik asit ile indüklenen SE modelinde sitotoksik ödemin 3. saatte artmaya başladığı ve 24. saatte belirgin hale geldiği ve 48. saatte normale döndüğü diffüzyon ağırlıklı MRI ile gösterilmiştir (193). Kan-beyin bariyeri geçirgenliğinde artışa bağlı vazojenik ödemin ise tüm limbik yapılarda 48. saatte anlamlı olarak yükseldiği, bu artışın piriform kortekste 10. güne kadar devam ettiği bildirilmektedir (118, 119). Literatürde daha önce yapılmış olan çalışmalarda SE'a bağlı albumin ektravazasyonu ve beyin ödemi 24-48. saatte pik yaptığının saptanması üzerine çalışmamızda deney sonlanım noktası SE sonrası 48. saat olarak belirlenmiştir (118).

Çalışmamızda SE oluşturulan SE-SF grubunda hem SH-SF hem K-SF grubu ile karşılaştırıldığında literatür ile uyumlu olarak beyin ödeminin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Status epileptikus oluşturulup, iki gün boyunca günde iki kez 500mg/kg dozda üridin tedavisi uygulanan SE-ÜRİ grubunda ise 48. saatte beyin ödeminin SE-SF grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Üridinin beyin ödemi üzerine etkisi literatürde travmatik beyin

hasarı modelinde incelenmiş olup, beyin ödemi azalttığı bildirilmektedir (169). Ayrıca üridin nükleotidlerinden UTP'nin iskemik beyin hasarında, UDP'nin ise soğuk hasarında beyin ödemi azalttığını gösterilmiştir (168, 194). Çalışmamızda gözlemlediğimiz, üridinin 48. saatte beyin ödemi artırıcı etkisi üridin nükleotidlerinin NO sentezini artırıcı etkisine bağlı olarak gelişmiş olabileceğini düşündürmektedir. Hasar sırasında ekstrasellüler alana geçen üridin nükleotidleri endotel, mikroglia ve astrositlerdeki purinerjik reseptörlerine bağlanarak NO sentezini arttırmaktadır. Endotel hücrelerinde bulunan P2Y reseptörlerine bağlanan UTP hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu artırarak eNOS'un indüklenmesine neden olmaktadır (195). Benzer şekilde astrositlerde de P2Y2/P2Y4 reseptörlerine bağlanarak hücre içi Ca^{+2} artışına ve NO sentezine neden olduğu gösterilmiştir (196). UDP ise mikroglia kültüründe P2Y6 reseptörlerine bağlanarak PLC/PKC yoluyla iNOS'u indükleyerek NO salınımına neden olmaktadır (197).

Nitrik oksit KBB geçirgenliğinde ve fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. NO artışı KBB geçirgenliğinde artış ile ilişkilidir (198). Status epileptikus sonucu artan KBB geçirgenliğinin nedenlerinden biri endotelial NOS enziminin indüklenmesi ve NO artışıdır (108). Endotelial NOS, hem endoplazmik retikulum stresini artırarak hem de MMP-9 aktivitesini artırarak endotelial disfonksiyona ve KBB'nin bariyer fonksiyonunda bozulmaya neden olmaktadır (109, 199). Pentilentetrazol ile indüklenen SE'da da nöronal NOS'ın indüklenmesi ile NO sentezinin artmasına ve KBB disfonksiyonuna neden olduğu bildirilmektedir (200). Üridinin de endotelial ve nöronal NOS'ı indükleyerek disfonksiyona katkı sağlamış ve vazojenik ödemi arttırmış olduğu düşünülmektedir.

Literatürde CDP-kolinin Li - P modelinde, SE'dan 2 saat sonra başlanıp 1 hafta süreyle verilmesinin KBB geçirgenliğini ve nöronal dejenerasyonu arttırdığı bildirilmektedir. Ancak bu etki sadece Li - P modelinde gözlenmiş olup kainik asit-SE modelinde görülmemiştir. Modeller arasındaki farklılığın, CDP-kolin ve pilokarpinin sinerjistik etki ile asetilkolin miktarını aşırı arttırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (201). CDP-kolin ile benzer şekilde üridin ve UMP'nin de beyinde ekstrasellüler asetilkolin miktarını arttırdığı gösterilmiştir

(202, 203). Status epileptikus takiben verilen üridinin erken dönem etkisinin incelendiği çalışmamızda, üridinin beyinde asetilkolin miktarını arttırarak epileptik aktivitenin şiddetini ve KBB geçirgenliğini arttırmış olması bir diğer olası mekanizmadır. Üridinin erken dönem etkisinin farklı SE modellerinde incelenmesi olası mekanizmaların aydınlatılmasına fayda sağlayacaktır.

S100B beyinde esas olarak astrositlerde eksprese edilen ve ekstrasellüler ortama salınan Ca^{+2} bağlayıcı bir proteindir. Hem nöroprotektif hem de nörodejeneratif etkileri mevcuttur (98). Akut nöronal hasarda ekspresyonu ve salınımı artmaktadır (99). Status epileptikus da astrosit aktivasyonu ile birlikte S100B ekspresyonunu arttıran nedenlerden biridir (100). S100B'nin artan konsantrasyonları KBB geçirgenliğinin de bozulduğu durumlarda serum konsantrasyonunda artışa neden olmakta ve bir hasar biyobelirteci olarak kullanılabilirliği düşünülmektedir (204). Çalışmamızda ELISA yöntemi ile hem hipokampus dokusunda hem de serumda S100B seviyeleri ölçülmüştür.

Literatür ile benzer şekilde SE-SF grubunda hipokampus S100B seviyesi artmıştır. SE-ÜRİ grubunda da benzer şekilde SH-SF grubuna göre S100B seviyelerinin anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. SE-ÜRİ ve SE-SF grupları arasında anlamlı olmamakla birlikte hipokampus S100B seviyesi SE-ÜRİ grubunda daha yüksektir. Astrositlerde S100B ekspresyonunu ve ekstrasellüler alana salınmasını etkileyen birçok faktör tanımlanmıştır (98). Bunlardan biri de glutamat miktarının artmasıdır. Epilepside artan S100B miktarının nöronal aktivite ile artan glutamat olduğu literatürde gösterilmiştir (102). Üridinin asetilkolin miktarında artışa neden olarak epileptik aktiviteyi arttırması, çalışmamızda görülen üridin tedavisi alan grupta S100B miktarındaki artışın da nedeni olabileceği düşünülmektedir.

S100B seviyesindeki akut artışın, nöroprotektif bir mekanizma olabileceği de literatürde bildirilmektedir. In vitro çalışmalarda S100B'nin glukoz deprivasyonu, glutamat toksisitesi gibi durumlarda nöronları apoptoza karşı koruduğu bilinmektedir (205, 206). Ayrıca intraserebroventriküler olarak uygulanan S100B'nin, hücre kültüründe nörotoksik etki gösteren dozlardan

daha yüksek dozlarda bile, travmatik beyin hasarında uzun dönem takiplerinde hipokampusta nörogenezi artırıcı etki gösterdiği, kognitif fonksiyonları iyileştirdiği bildirilmektedir (207, 208). Çalışmamızda gözlemlediğimiz üridinin hipokampal S100B seviyesi üzerine etkisi hasar boyutunu gösterebileceği gibi nöroprotektif bir etkinliğin yansıması olabileceğini de düşündürmektedir. Bu ayırımın yapılabilmesi için tedavi sonrası uzun dönem takip gerekmektedir.

Hipokampal S100B seviyeleri ile paralel olarak SE-SF grubunda serum S100B miktarının SH-SF grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Bu durum SE oluşturulan hayvanlarda artmış S100B seviyesini ve KBB'nin 48. saatte de bariyer fonksiyonundaki bozulmanın devam ettiğine işaret etmektedir. SE-ÜRİ grubunda ise serum S100B miktarının SE-SF grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür. SE-ÜRİ grubunda hipokampal S100B seviyesi yüksek iken serum seviyelerinin düşmesi, verilen üridin tedavisi sonucunda 48. saatte izlenen KBB hasarındaki iyileşmenin ve KBB'nin geçirgenliğindeki azalmanın göstergesi olarak yorumlanmaktadır.

AQP4, beyin ve spinal kordda bulunan ana su kanalıdır ve çift yönlü su geçişinden sorumludur. Esas olarak mikrodamarları ve pial yüzeyleri çevreleyen astrosit son-ayaklarında yoğun olarak bulunur, diğer bölgelerinde ise az miktarda eksprese edilir (125). AQP4 kanallarının astrosit membranında perivasküler bölgeye yakın yerleşim göstermesi beyin osmolaritesini ve su dengesini sağlaması açısından önemlidir. Sitotoksik ödem oluşumunda ve vazojenik ödem rezolüsyonunda polarize yerleşimi ödemi azaltıcı etki göstermektedir (121). AQP4'ün perivasküler bölgede astrosit son-ayaklarında yerleşiminin en önemli belirleyici faktörü distrofin-ilişkili protein kompleksinin bir üyesi olan α 1-sintrofindir (209). Alfa1-sintrofin delesyonu ile perivasküler AQP4 yerleşimi spinal kordda %79, neokortekste %94 oranında azalmaktadır. Bu nedenle α 1-sintrofin, AQP4 polarizasyonunun iyi bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (210). Status epileptikusda da AQP4 polarizasyonu bozularak beyin ödemi miktarı arttırmakta ve kronik epilepsi gelişimine neden olmaktadır (130). AQP4'ün perivasküler bölgede ekspresyonu azalsa da diğer bölgelerdeki miktarının kompensatuvar artışı ile total AQP4 miktarının

değişmediği (129), arttığı (128) ya da azaldığını (132) bildiren çalışmalar mevcuttur.

Çalışmamızda hipokampus doku homojenatlarından Western-blot yöntemi ile total AQP4 ve α 1-sintrofin protein seviyeleri ölçülmüş ve üridinin etkisi incelenmiştir. Total AQP4 miktarları karşılaştırıldığında hem SE-SF grubunda hem de SE-ÜRİ grubunda SH-SF grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmemiştir. Alfa1-sintrofin miktarı ise SE-SF grubunda SH-SF grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ($p < 0,05$). SE-SF grubunda α 1-sintrofin seviyesi azalırken AQP4 seviyesinin değişmemesi; SE'un α 1-sintrofin seviyesini azalmasına paralel olarak AQP4'ün perivasküler yerleşimini de azalttığı şeklinde yorumlanmaktadır. Total AQP4 seviyesinde değişim olmaması, AQP4'ün α 1-sintrofin-bağımsız bölgelerdeki artışının göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Bu bulgular daha önce literatürde (129) bildirilen bulgular ile uyumludur.

SE-ÜRİ grubunda ise total AQP4 ve α 1-sintrofin seviyeleri açısından SH-SF grubu ile arasında anlamlı fark olmadığı görülmüştür. SE-SF grubu ile karşılaştırıldığında SE-ÜRİ grubunda α 1-sintrofin seviyesi anlamlı olarak yükselmiştir. Ayrıca K-ÜRİ grubu K-SF grubu ile ve SH-ÜRİ grubu SH-SF grubu ile karşılaştırıldığında α 1-sintrofin seviyeleri üridin tedavisi ile artış eğilimi göstermiş ancak istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Üridin, SE'a bağlı olarak gelişen α 1-sintrofin seviyesindeki azalmayı önlemiştir. Elde edilen veriler üridinin α 1-sintrofin seviyesindeki azalmayı engelleyerek AQP4'ün polarize yerleşimini koruduğu şeklinde yorumlanmaktadır. Üridinin AQP4 ve α 1-sintrofin üzerine etkisi literatürde daha önce incelenmemiş olup bu çalışma ile ilk kez gösterilmiştir. Bulguların immunohistokimyasal çalışmalar ile desteklenmesi literatüre katkı sağlayacaktır.

Status epileptikusa bağlı olarak AQP4'ün polarizasyon kaybının nedeni, astrosit son-ayaklarının bazal membrana tutunmasını sağlayan laminin-distrofin etkileşimi ve bu proteinlerin AQP4'ün astrosit membranına tutunmasını sağlayan α 1-sintrofin ile kurdukları bağlantılarda gelişen değişikliklerdir (112, 128, 134). Status epileptikusda artan MMP aktivitesinin

bu değişikliklerden sorumlu olabileceği bildirilmektedir (128). Üridinin MMP aktivitesi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada üridinin korneal epitel hücrelerinde MMP-9 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir ancak literatürde beyin dokusunda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır (211). Periferik sinir yaralanmasında ise UTP'nin MMP-2 aktivitesi ve ekspresyonunu arttırdığı bildirilmektedir (212). Üridinin AQP4 ve α 1-sintrofin seviyeleri üzerine etkisini, SE'da artan MMP-9 ekspresyonunu azaltarak gösteriyor olması olası bir mekanizmadır. Bu konuda daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

K-SF ve K-ÜRİ gruplarında SH-SF grubuna göre anlamlı olarak AQP4 seviyesinin düşük olduğu görölmüştür. Literatürde AQP4 ekspresyonunu inceleyen çalışmalarda SE'un ya kainik asit ya da yüksek doz pilokarpin ile indüklendiği, Li - P modeli kullanılan çalışmalarda ise kontrol grubu olarak tek bir grup (sadece %0.9 NaCl verilen grubu ya da lityum + %0.9NaCl verilen grup) kullanılmıştır. Çalışmamızda sham grupları ile kontrol grupları da karşılaştırılmıştır ve literatürde benzer bir karşılaştırmaya rastlanmamıştır. Literatürde lityumun AQP4 üzerine etkisini inceleyen tek çalışmada kronik stres modeli oluşturulmuş farelerde KBB bütünlüğü ve olası aracı proteinler incelenmiştir. Bu çalışmada stressiz hayvanlarda lityumun AQP4 miktarını azaltma eğiliminde olduğu, stresin AQP4 miktarını azaltan etkisini ise tersine çevirdiği gözlenmiş ancak istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır (213). Yakın zamanlı çalışmalarda inme ve intraserebral hemoraji modellerinde de lityum tedavisinin KBB bütünlüğünü koruyucu ve beyin ödemi azaltıcı etkisi olduğu bildirilmektedir. Bu etkisini MMP-9 ekspresyonunu azaltarak ve sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu arttırarak göstermektedir (214, 215). Çalışmamızda lityum uygulanan kontrol gruplarında AQP4 seviyesi düşerken, α 1-sintrofin seviyelerinin değişmemesi, lityumun özellikle perivasküler yerleşim dışındaki AQP4 ekspresyonunu değiştirdiği şeklinde yorumlanmaktadır. Bu etki, lityumun bildirilen MMP-9 ekspresyonunda azaltıcı etkisi ile uyumlu olduğu düşünölmektedir. Lityumun AQP4 ekspresyonu üzerine etkisinin ayrıntılı olarak incelenmesi, farklı MSS patolojilerinde lityumun terapötik amaçlı kullanımında etki mekanizmalarının aydınlatılmasına da fayda sağlayacaktır.

Üridinin SE oluşturulan sıçanlarda KBB disfonksiyonu, beyin ödemi ve total AQP4 ve α 1-sintrofin düzeyleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmamızda sonuç olarak; üridinin (I) SE oluşturulan sıçanlarda erken dönemde beyin ödemi miktarını azaltma yönünde etki göstermediği, (II) hipokampus S100B seviyelerini arttırdığı, (III) KBB geçirgenliğini gösteren serum S100B miktarını azalttığı ve (IV) hipokampus AQP4 ve α 1-sintrofin miktarındaki SE'a bağlı azalmayı önlediği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar, üridinin AQP4 polarizasyon kaybını önlemesinin yanı sıra, farklı düzenekler ile beyin ödemi artırıcı etki gösterdiğini işaret etmektedir. Üridinin bilinmeyen bir düzenek ile beyin ödemi arttırmasının yanı sıra, AQP4 polarizasyonunu koruyarak beyin ödemi rezolüsyonunu hızlandırması da olasıdır. Bu nedenle üridin tedavisinin beyin ödemi üzerine etkisinin farklı teknikler ile farklı zaman aralıklarında incelenmesi aydınlatıcı olacaktır.

Elde edilen sonuçlar, üridinin AQP4 polarizasyon kaybını önlediğinin ilk kez gösterilmesi anlamında bilimsel literatüre özgün bir katkıda bulunmaktadır. Üridinin status epileptikusda akut dönemde beyin ödemi artırıcı etkisinin gösterilmesi farklı deneysel modellerde üridinin terapötik kullanımı ile ilişkili çalışmalara da yol gösterici olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Fisher RS, Van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J. Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 46 Epilepsia: 470–472, 2005.
2. Thijs RD, Surges R, O'Brien TJ, Sander JW. Epilepsy in adults. *Lancet* 2019; 393: 689–701. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32596-0.
3. Saxena S, Li S. Defeating epilepsy: A global public health commitment. *Epilepsia Open* 2017; 2: 153–155. doi: 10.1002/epi4.12010.
4. Devinsky O, Vezzani A, O'Brien TJ, Jette N, Scheffer IE, De Curtis M, Perucca P. Epilepsy. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 4 Nature Publishing Group: 2018.
5. Meyer AC, Dua T, Ma J, Saxena S, Birbeck G. Global disparities in the epilepsy treatment gap: A systematic review. *Bull World Health Organ* 2010; 88: 260–266. doi: 10.2471/BLT.09.064147.
6. WHO | Epilepsy: a public health imperative [Çevrimiçi]. http://www.who.int/mental_health/neurology/epilepsy/report_2019/en/ [11 Tem. 2020].
7. Pitkänen A, Lukasiuk K, Edward Dudek F, Staley KJ. Epileptogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5 doi: 10.1101/cshperspect.a022822.
8. Trinka E, Kälviäinen R. 25 years of advances in the definition, classification and treatment of status epilepticus. *Seizure* 44 W.B. Saunders Ltd: 65–73, 2017.
9. Trinka E, Cock H, Hesdorffer D, Rossetti AO, Scheffer IE, Shinnar S, Shorvon S, Lowenstein DH. A definition and classification of status epilepticus - Report of the ILAE Task Force on Classification of Status Epilepticus. *Epilepsia* 2015; 56: 1515–1523. doi: 10.1111/epi.13121.
10. Baloyannis SJ. Epilepsy: A way from Herodotus to Hippocrates. *Epilepsy Behav* 2013; 28: 303. doi: 10.1016/j.yebeh.2012.04.003.
11. Panteliadis CP, Vassilyadi P, Fehlert J, Hagel C. Historical documents on epilepsy: From antiquity through the 20th century. *Brain Dev.* 39 Elsevier B.V.: 457–463, 2017.
12. The History and Stigma of Epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44: 12–14. doi: 10.1046/j.1528-1157.44.s.6.2.x.
13. Diamantis A, Sidiropoulou K, Magiorkinis E. Epilepsy during the middle ages, the renaissance and the enlightenment. *J. Neurol.* 257 Springer:

691–698, 2010.

14. Hauser WA, Beghi E. First seizure definitions and worldwide incidence and mortality. *Epilepsia* 2008; 49: 8–12. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01443.x.
15. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J, Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshé SL, Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 2014; 55: 475–82. doi: 10.1111/epi.12550.
16. Beghi E, Carpio A, Forsgren L, Hesdorffer DC, Malmgren K, Sander JW, Tomson T, Hauser WA. Recommendation for a definition of acute symptomatic seizure. *Epilepsia* 2010; 51: 671–675. doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02285.x.
17. Brigo F, Luigi Bragazzi N, Lattanzi S, Nardone R, Martini M, Trinka E. Classification of epilepsies in the 18th century. 2018.
18. Falco-Walter JJ, Scheffer IE, Fisher RS. The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Res.* 139 Elsevier B.V.: 73–79, 2018.
19. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW, Moshé SL, Nordli DR, Perucca E, Tomson T, Wiebe S, Zhang YH, Zuberi SM. ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Zeitschrift fur Epileptol* 2018; 31: 296–306. doi: 10.1007/s10309-018-0218-6.
20. Fisher RS, Cross JH, Souza CD', French JA, Haut SR, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Mosh SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Schulze-Bonhage A, Somerville E, Sperling M, Arcia Yacubian EM, Zuberi SM. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia* 2017; 58: 531–542. doi: 10.1111/epi.13671.
21. Berg AT, Millichap JJ. The 2010 revised classification of seizures and epilepsy. *Contin. Lifelong Learn. Neurol.* 19: 571–597, 2013.
22. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Dykeman J, Pringsheim T, Lorenzetti DL. Prevalence and Incidence of Epilepsy: A Systematic Review and Meta-analysis of International Studies. .
23. Banerjee PN, Filippi D, Allen Hauser W. The descriptive epidemiology of epilepsy-A review. *Epilepsy Res.* 85 Elsevier: 31–45, 2009.
24. Ngugi AK, Kariuki SM, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis. *Neurology* 77 Lippincott Williams and Wilkins: 1005–1012, 2011.

25. Ngugi AK, Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: A meta-analytic approach. *Epilepsia* 2010; 51: 883–890. doi: 10.1111/j.1528-1167.2009.02481.x.
26. Beghi E, Giussani G. Aging and the Epidemiology of Epilepsy. *Neuroepidemiology* 2018; 51: 216–223. doi: 10.1159/000493484.
27. Orsini A, Zara F, Striano P. Recent advances in epilepsy genetics. *Neurosci. Lett.* 667 Elsevier Ireland Ltd: 4–9, 2018.
28. Vezzani A, Fujinami RS, White HS, Preux PM, Blümcke I, Sander JW, Löscher W. Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathol.* 131 Springer Verlag: 211–234, 2016.
29. Lee VLL, Choo BKM, Chung YS, Kundap UP, Kumari Y, Shaikh MF. Treatment, therapy and management of metabolic epilepsy: A systematic review. *Int. J. Mol. Sci.* 19 MDPI AG: 2018.
30. Britton J. Autoimmune epilepsy. İçinde: *Handbook of Clinical Neurology.* Elsevier, p. 219–245.
31. Pack AM. Epilepsy Overview and Revised Classification of Seizures and Epilepsies. *Contin. Lifelong Learn. Neurol.* 25 Lippincott Williams and Wilkins: 306–321, 2019.
32. Keezer MR, Sisodiya SM, Sander JW. Comorbidities of epilepsy: Current concepts and future perspectives. *Lancet Neurol.* 15 Lancet Publishing Group: 106–115, 2016.
33. Kanner AM. Management of psychiatric and neurological comorbidities in epilepsy. *Nat. Rev. Neurol.* 12 Nature Publishing Group: 106–116, 2016.
34. Devinsky O, Spruill T, Thurman D, Friedman D. Recognizing and preventing epilepsy-related mortality. *Neurology* 86 Lippincott Williams and Wilkins: 779–786, 2016.
35. Levira F, Thurman DJ, Sander JW, Hauser WA, Hesdorffer DC, Masanja H, Odermatt P, Logroscino G, Newton CR. Premature mortality of epilepsy in low- and middle-income countries: A systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 2017; 58: 6–16. doi: 10.1111/epi.13603.
36. Thurman DJ, Logroscino G, Beghi E, Hauser WA, Hesdorffer DC, Newton CR, Scorza FA, Sander JW, Tomson T. The burden of premature mortality of epilepsy in high-income countries: A systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia* 58 Blackwell Publishing Inc.: 17–26, 2017.
37. Devinsky O, Hesdorffer DC, Thurman DJ, Lhatoo S, Richerson G. Sudden unexpected death in epilepsy: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet Neurol.* 15 Lancet Publishing Group: 1075–1088,

2016.

38. Cervenka MC, Kaplan PW. *Epilepsy. Semin Neurol* 2016; 36: 342–349. doi: 10.1055/s-0036-1585100.
39. Krumholz A, Wiebe S, Gronseth G, Shinnar S, Levisohn P, Ting T, Hopp J, Shafer P, Morris H, Seiden L, Barkley G, French J. Practice parameter: Evaluating an apparent unprovoked first seizure in adults (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the American Epilepsy Society. *Neurology* 2007; 69: 1996–2007. doi: 10.1212/01.wnl.0000285084.93652.43.
40. Hakami T, McIntosh A, Todaro M, Lui E, Yerra R, Tan KM, French C, Li S, Desmond P, Matkovic Z, O'Brien TJ. MRI-identified pathology in adults with new-onset seizures. *Neurology* 2013; 81: 920–927. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a35193.
41. Moshé SL, Perucca E, Ryvlin P, Tomson T. *Epilepsy: New advances. Lancet* 385 Lancet Publishing Group: 884–898, 2015.
42. Rogawski MA, Löscher W, Rho JM. Mechanisms of action of Antiseizure Drugs and the Ketogenic diet. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2016; 6: 28. doi: 10.1101/cshperspect.a022780.
43. Ryvlin P, Cross JH, Rheims S. Epilepsy surgery in children and adults. *Lancet Neurol.* 13 Lancet Publishing Group: 1114–1126, 2014.
44. Kwon C-S, Ripa V, Al-Awar O, Panov F, Ghatan S, Jetté N. Epilepsy and Neuromodulation—Randomized Controlled Trials. *Brain Sci* 2018; 8: 69. doi: 10.3390/brainsci8040069.
45. Schmidt D, Schachter SC. Drug treatment of epilepsy in adults. *BMJ* 2014; 348 doi: 10.1136/bmj.g254.
46. Ramesh Yasam V, Senthil V, Lavanya Jakki S, Jawahar N. Status Epilepticus: An Overview. *Curr Drug Metab* 2017; 18: 174–185. doi: 10.2174/1389200218666170106091705.
47. Lowenstein DH, Bleck T, Macdonald RL. It's time to revise the definition of status epilepticus. *Epilepsia* 1999; 40: 120–122. doi: 10.1111/j.1528-1157.1999.tb02000.x.
48. Lv RJ, Wang Q, Cui T, Zhu F, Shao XQ. Status epilepticus-related etiology, incidence and mortality: A meta-analysis. *Epilepsy Res* 2017; 136: 12–17. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2017.07.006.
49. Gurcharran K, Grinspan ZM. The burden of pediatric status epilepticus: Epidemiology, morbidity, mortality, and costs. *Seizure* 68 W.B. Saunders Ltd: 3–8, 2019.
50. Leitinger M, Trinkla E, Giovannini G, Zimmermann G, Florea C, Rohrachner A, Kalss G, Neuray C, Kreidenhuber R, Höfler J, Kuchukhidze G, Granbichler C, Dobesberger J, Novak HF, Pilz G,

- Meletti S, Siebert U. Epidemiology of status epilepticus in adults: A population-based study on incidence, causes, and outcomes. *Epilepsia* 2019; 60: 53–62. doi: 10.1111/epi.14607.
51. Becker AJ. Review: Animal models of acquired epilepsy: insights into mechanisms of human epileptogenesis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2018; 44: 112–129. doi: 10.1111/nan.12451.
 52. Löscher W. Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure* 2011; 20: 359–368. doi: 10.1016/j.seizure.2011.01.003.
 53. Kandratavicius L, Alves Balista P, Lopes-Aguiar C, Ruggiero RN, Umeoka H, Garcia-Cairasco N, Soares Bueno-Junior L, Pereira Leite J. Animal Models of Epilepsy: Utility and Limitations. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2014; 10: 1693–1705. doi: 10.2147/NDT.S50371.
 54. Benardo LS, Prince DA. Acetylcholine induced modulation of hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res* 1981; 211: 227–234. doi: 10.1016/0006-8993(81)90089-5.
 55. Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: Behavioural, electroencephalographic and neuropathological study. *Behav Brain Res* 1983; 9: 315–335. doi: 10.1016/0166-4328(83)90136-5.
 56. Honchar MP, Olney JW, Sherman WR. Systemic cholinergic agents induce seizures and brain damage in lithium-treated rats. *Science (80-)* 1983; 220: 323–325. doi: 10.1126/science.6301005.
 57. Curia G, Longo D, Biagini G, Jones RSG, Avoli M. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J Neurosci Methods* 2008; 172: 143–157. doi: 10.1016/j.jneumeth.2008.04.019.
 58. Glien M, Brandt C, Potschka H, Voigt H, Ebert U, Löscher W. Repeated low-dose treatment of rats with pilocarpine: Low mortality but high proportion of rats developing epilepsy. *Epilepsy Res* 2001; 46: 111–119. doi: 10.1016/S0920-1211(01)00272-8.
 59. Clifford DB, Olney JW, Maniotis A, Collins RC, Zorumski CF. The functional anatomy and pathology of lithium-pilocarpine and high-dose pilocarpine seizures. *Neuroscience* 1987; 23: 953–968. doi: 10.1016/0306-4522(87)90171-0.
 60. Cavalheiro EA, Leite JP, Bortolotto ZA, Turski WA, Ikonomidou C, Turski L. Long-Term Effects of Pilocarpine in Rats: Structural Damage of the Brain Triggers Kindling and Spontaneous I Recurrent Seizures. *Epilepsia* 1991; 32: 778–782. doi: 10.1111/j.1528-1157.1991.tb05533.x.
 61. Smolders I, Khan GM, Manil J, Ebinger G, Michotte Y. NMDA receptor-mediated pilocarpine-induced seizures: Characterization in freely moving rats by microdialysis. *Br J Pharmacol* 1997; 121: 1171–1179.

doi: 10.1038/sj.bjp.0701231.

62. Bymaster FP, Carter PA, Yamada M, Gomeza J, Wess J, Hamilton SE, Nathanson NM, McKinzie DL, Felder CC. Role of specific muscarinic receptor subtypes in cholinergic parasympathomimetic responses, in vivo phosphoinositide hydrolysis, and pilocarpine-induced seizure activity. *Eur J Neurosci* 2003; 17: 1403–1410. doi: 10.1046/j.1460-9568.2003.02588.x.
63. Covolan L, Mello LEAM. Temporal profile of neuronal injury following pilocarpine or kainic acid-induced status epilepticus. *Epilepsy Res* 2000; 39: 133–152. doi: 10.1016/S0920-1211(99)00119-9.
64. Brandt C, Bankstahl M, Töllner K, Klee R, Löscher W. The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy: Marked intrastrain differences in female Sprague–Dawley rats and the effect of estrous cycle. *Epilepsy Behav* 2016; 61: 141–152. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.05.020.
65. Dudek FE, Staley KJ. The time course of acquired epilepsy: Implications for therapeutic intervention to suppress epileptogenesis. *Neurosci Lett* 2011; 497: 240–246. doi: 10.1016/j.neulet.2011.03.071.
66. Lado FA, Moshé SL. How do seizures stop? *Epilepsia* 49 NIH Public Access: 1651–1664, 2008.
67. Bikson M, Hahn PJ, Fox JE, Jefferys JGR. Depolarization block of neurons during maintenance of electrographic seizures. *J Neurophysiol* 2003; 90: 2402–2408. doi: 10.1152/jn.00467.2003.
68. Löscher W, Köhling R. Functional, metabolic, and synaptic changes after seizures as potential targets for antiepileptic therapy. *Epilepsy Behav*. 19 *Epilepsy Behav*: 105–113, 2010.
69. Jones J, Stubblefield EA, Benke TA, Staley KJ. Desynchronization of Glutamate Release Prolongs Synchronous CA3 Network Activity. *J Neurophysiol* 2007; 97: 3812–3818. doi: 10.1152/jn.01310.2006.
70. Zubler F, Steimer A, Gast H, Schindler KA. Seizure termination. İçinde: *International Review of Neurobiology*. Academic Press Inc., p. 187–207.
71. Betjemann JP, Lowenstein DH. Status epilepticus in adults. *Lancet Neurol*. 14 *Lancet Publishing Group*: 615–624, 2015.
72. Goodkin HP, Yeh JL, Kapur J. Status epilepticus increases the intracellular accumulation of GABA A receptors. *J Neurosci* 2005; 25: 5511–5520. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0900-05.2005.
73. Naylor DE, Liu H, Wasterlain CG. Trafficking of GABAA receptors, loss of inhibition, and a mechanism for pharmacoresistance in status epilepticus. *J Neurosci* 2005; 25: 7724–7733. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4944-04.2005.
74. Eckel R, Szulc B, Walker MC, Kittler JT. Activation of calcineurin

- underlies altered trafficking of $\alpha 2$ subunit containing GABAA receptors during prolonged epileptiform activity. *Neuropharmacology* 2015; 88: 82–90. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.09.014.
75. Naylor DE, Liu H, Niquet J, Wasterlain CG. Rapid surface accumulation of NMDA receptors increases glutamatergic excitation during status epilepticus. *Neurobiol Dis* 2013; 54: 225–238. doi: 10.1016/j.nbd.2012.12.015.
 76. Rajasekaran K, Todorovic M, Kapur J. Calcium-permeable AMPA receptors are expressed in a rodent model of status epilepticus. *Ann Neurol* 2012; 72: 91–102. doi: 10.1002/ana.23570.
 77. Huang Y, Doherty JJ, Dingledine R. Altered histone acetylation at glutamate receptor 2 and brain-derived neurotrophic factor genes is an early event triggered by status epilepticus. *J Neurosci* 2002; 22: 8422–8428. doi: 10.1523/jneurosci.22-19-08422.2002.
 78. Mazarati AM, Wasterlain CG. Anticonvulsant effects of four neuropeptides in the rat hippocampus during self-sustaining status epilepticus. *Neurosci Lett* 2002; 331: 123–127. doi: 10.1016/S0304-3940(02)00847-9.
 79. Liu H, Mazarati AM, Katsumori H, Sankar R, Wasterlain CG. Substance P is expressed in hippocampal principal neurons during status epilepticus and plays a critical role in the maintenance of status epilepticus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 5286–5291. doi: 10.1073/pnas.96.9.5286.
 80. Henshall DC. Epigenetic changes in status epilepticus. *Epilepsia* 2018; 59: 82–86. doi: 10.1111/epi.14502.
 81. Berger TC, Vigeland MD, Hjorthaug HS, Etholm L, Nome CG, Taubøll E, Heuser K, Selmer KK. Neuronal and glial DNA methylation and gene expression changes in early epileptogenesis. *PLoS One* 2019; 14 doi: 10.1371/journal.pone.0226575.
 82. De Araújo MA, Marques TEBS, Octacílio-Silva S, De Arroxelas-Silva CL, Pereira MGAG, Peixoto-Santos JE, Kandratavicius L, Leite JP, Garcia-Cairasco N, Castro OW, Duzzioni M, Passos GA, Paçó-Larson ML, Gitaí DLG. Identification of microRNAs with dysregulated expression in status epilepticus induced epileptogenesis. *PLoS One* 2016; 11 doi: 10.1371/journal.pone.0163855.
 83. Fujikawa DG. The temporal evolution of neuronal damage from pilocarpine-induced status epilepticus. *Brain Res* 1996; 725: 11–22. doi: 10.1016/0006-8993(96)00203-X.
 84. Walker MC. Pathophysiology of status epilepticus. *Neurosci. Lett.* 667 Elsevier Ireland Ltd: 84–91, 2018.
 85. Henshall DC, Engel T. Contribution of apoptosis-associated signaling pathways to epileptogenesis: Lessons from Bcl-2 family knockouts.

- Front Cell Neurosci 2013; 7 doi: 10.3389/fncel.2013.00110.
86. Lukawski K, Andres-Mach M, Czuczwar M, Łuszczki JJ, Kruszyński K, Czuczwar SJ. Mechanisms of epileptogenesis and preclinical approach to antiepileptogenic therapies. *Pharmacol. Reports* 70 Elsevier B.V.: 284–293, 2018.
 87. Pitkänen A, Lukasiuk K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *Lancet Neurol.* 10 Elsevier: 173–186, 2011.
 88. Patel DC, Tewari BP, Chaunsali L, Sontheimer H. Neuron–glia interactions in the pathophysiology of epilepsy. *Nat Rev Neurosci* 2019; 20: 282–297. doi: 10.1038/s41583-019-0126-4.
 89. Abbott NJ, Patabendige AAK, Dolman DEM, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol. Dis.* 37 Neurobiol Dis: 13–25, 2010.
 90. Winkler EA, Bell RD, Zlokovic B V. Central nervous system pericytes in health and disease. *Nat. Neurosci.* 14 Nat Neurosci: 1398–1405, 2011.
 91. Devinsky O, Vezzani A, Najjar S, De Lanerolle NC, Rogawski MA. Glia and epilepsy: Excitability and inflammation. *Trends Neurosci* 2013; 36: 174–184. doi: 10.1016/j.tins.2012.11.008.
 92. Löscher W, Friedman A. Structural, molecular, and functional alterations of the blood-brain barrier during epileptogenesis and epilepsy: A cause, consequence, or both? *Int. J. Mol. Sci.* 21 MDPI AG: 2020.
 93. van Vliet EA, Aronica E, Gorter JA. Blood-brain barrier dysfunction, seizures and epilepsy. *Semin. Cell Dev. Biol.* 38 Academic Press: 26–34, 2015.
 94. Van Vliet EA, Araújo SDC, Redeker S, Van Schaik R, Aronica E, Gorter JA. Blood-brain barrier leakage may lead to progression of temporal lobe epilepsy. *Brain* 2007; 130: 521–534. doi: 10.1093/brain/awl318.
 95. Michalak Z, Sano T, Engel T, Miller-Delaney SFC, Lerner-Natoli M, Henshall DC. Spatio-temporally restricted blood-brain barrier disruption after intra-amygdala kainic acid-induced status epilepticus in mice. *Epilepsy Res* 2013; 103: 167–179. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2012.10.006.
 96. Ndode-Ekane XE, Hayward N, Gröhn O, Pitkänen A. Vascular changes in epilepsy: functional consequences and association with network plasticity in pilocarpine-induced experimental epilepsy. *Neuroscience* 2010; 166: 312–332. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.12.002.
 97. Mendes NF, Pansani AP, Carmanhães ERF, Tange P, Meireles JV, Ochikubo M, Chagas JR, da Silva AV, Monteiro de Castro G, Le Sueur-Maluf L. The Blood-Brain Barrier Breakdown During Acute

- Phase of the Pilocarpine Model of Epilepsy Is Dynamic and Time-Dependent. *Front Neurol* 2019; 10: 382. doi: 10.3389/fneur.2019.00382.
98. Donato R, Sorci G, Riuzzi F, Arcuri C, Bianchi R, Brozzi F, Tubaro C, Giambanco I. S100B's double life: Intracellular regulator and extracellular signal. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1793 Elsevier: 1008–1022, 2009.
 99. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi MA, Serrano A, Marchese E, Corvino V, Geloso MC. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *J Neurochem* 2019; 148: 168–187. doi: 10.1111/jnc.14574.
 100. Shapiro LA, Wang L, Ribak CE. Rapid astrocyte and microglial activation following pilocarpine-induced seizures in rats. *İn*: *Epilepsia*. Blackwell Publishing Inc., p. 33–41.
 101. Liang K-G, Mu R-Z, Liu Y, Jiang D, Jia T-T, Huang Y-J. Increased Serum S100B Levels in Patients With Epilepsy: A Systematic Review and Meta-Analysis Study. *Front Neurosci* 2019; 13: 456. doi: 10.3389/fnins.2019.00456.
 102. Sakatani S, Seto-Ohshima A, Shinohara Y, Yamamoto Y, Yamamoto H, Itohara S, Hirase H. Neural-activity-dependent release of S100B from astrocytes enhances kainate-induced gamma oscillations in vivo. *J Neurosci* 2008; 28: 10928–10936. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3693-08.2008.
 103. Marchi N, Cavaglia M, Fazio V, Bhudia S, Hallene K, Janigro D. Peripheral markers of blood-brain barrier damage. *Clin Chim Acta* 2004; 342: 1–12. doi: 10.1016/j.cccn.2003.12.008.
 104. Kleindienst A, Toliaş CM, Corwin FD, Müller C, Marmarou A, Fatouros P, Bullock MR. Assessment of cerebral S100B levels by proton magnetic resonance spectroscopy after lateral fluid-percussion injury in the rat. *J Neurosurg* 2005; 102: 1115–1121. doi: 10.3171/jns.2005.102.6.1115.
 105. Sharp CD, Houghton J, Elrod JW, Warren A, Jackson TH, Jawahar A, Nanda A, Minagar A, Alexander JS. *N*-methyl- D -aspartate receptor activation in human cerebral endothelium promotes intracellular oxidant stress. *Am J Physiol Circ Physiol* 2005; 288: H1893–H1899. doi: 10.1152/ajpheart.01110.2003.
 106. Vazana U, Veksler R, Pell GS, Prager O, Fassler M, Chassidim Y, Roth Y, Shahar H, Zangen A, Raccah R, Onesti E, Ceccanti M, Colonnese C, Santoro A, Salvati M, D'Elia A, Nucciarelli V, Inghilleri M, Friedman A. Glutamate-mediated blood–brain barrier opening: Implications for neuroprotection and drug delivery. *J Neurosci* 2016; 36: 7727–7739. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0587-16.2016.

107. Rempe RG, Hartz AMS, Soldner ELB, Sokola BS, Alluri SR, Abner EL, Kryscio RJ, Pekcec A, Schlichtiger J, Bauer B. Matrix Metalloproteinase-Mediated Blood-Brain Barrier Dysfunction in Epilepsy. *J Neurosci* 2018; 38: 4301–4315. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2751-17.2018.
108. Kim JE, Ryu HJ, Kang TC. Status Epilepticus Induces Vasogenic Edema via Tumor Necrosis Factor- α / Endothelin-1-Mediated Two Different Pathways. *PLoS One* 2013; 8: 1–13. doi: 10.1371/journal.pone.0074458.
109. Kim JY, Ko AR, Hyun HW, Kang TC. ET α receptor-mediated MMP-9 activation induces vasogenic edema via ZO-1 protein degradation following status epilepticus. *Neuroscience* 2015; 304: 355–367. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.07.065.
110. Amiry-Moghaddam M, Otsuka T, Hurn PD, Traystman RJ, Haug F-M, Froehner SC, Adams ME, Neely JD, Agre P, Ottersen OP, Bhardwaj A. An -syntrophin-dependent pool of AQP4 in astroglial end-feet confers bidirectional water flow between blood and brain. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 2106–2111. doi: 10.1073/pnas.0437946100.
111. Sheen SH, Kim J-E, Ryu HJ, Yang Y, Choi K-C, Kang T-C. Decrease in dystrophin expression prior to disruption of brain–blood barrier within the rat piriform cortex following status epilepticus. *Brain Res* 2011; 1369: 173–183. doi: 10.1016/j.brainres.2010.10.080.
112. Park H, Choi SH, Kong MJ, Kang TC. Dysfunction of 67-kDa laminin receptor disrupts BBB integrity via impaired dystrophin/AQP4 complex and p38 MAPK/VEGF activation following status epilepticus. *Front Cell Neurosci* 2019; 13: 236. doi: 10.3389/fncel.2019.00236.
113. Ivens S, Kaufer D, Flores LP, Bechmann I, Zumsteg D, Tomkins O, Seiffert E, Heinemann U, Friedman A. TGF- β receptor-mediated albumin uptake into astrocytes is involved in neocortical epileptogenesis. *Brain* 2007; 130: 535–547. doi: 10.1093/brain/awl317.
114. Cacheaux LP, Ivens S, David Y, Lakhter AJ, Bar-Klein G, Shapira M, Heinemann U, Friedman A, Kaufer D. Transcriptome Profiling Reveals TGF- Signaling Involvement in Epileptogenesis. *J Neurosci* 2009; 29: 8927–8935. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0430-09.2009.
115. Braganza O, Bedner P, Hüttmann K, Von Staden E, Friedman A, Seifert G, Steinhäuser C. Albumin is taken up by hippocampal NG2 cells and astrocytes and decreases gap junction coupling. *Epilepsia* 2012; 53: 1898–1906. doi: 10.1111/j.1528-1167.2012.03665.x.
116. Weissberg I, Wood L, Kamintsky L, Vazquez O, Milikovsky DZ, Alexander A, Oppenheim H, Ardizzone C, Becker A, Frigerio F, Vezzani A, Buckwalter MS, Huguenard JR, Friedman A, Kaufer D. Albumin induces excitatory synaptogenesis through astrocytic TGF- β /ALK5 signaling in a model of acquired epilepsy following blood-brain

- barrier dysfunction. *Neurobiol Dis* 2015; 78: 115–125. doi: 10.1016/j.nbd.2015.02.029.
117. Tabernero A, Granda B, Medina A, Sánchez-Abarca LI, Lavado E, Medina JM. Albumin promotes neuronal survival by increasing the synthesis and release of glutamate. *J Neurochem* 2002; 81: 881–891. doi: 10.1046/j.1471-4159.2002.00843.x.
 118. Bankstahl M, Breuer H, Leiter I, Märkel M, Bascuñana P, Michalski D, Bengel FM, Löscher W, Meier M, Bankstahl JP, Härtig W. Blood–Brain Barrier Leakage during Early Epileptogenesis Is Associated with Rapid Remodeling of the Neurovascular Unit. *Eneuro* 2018; 5: ENEURO.0123-18.2018. doi: 10.1523/ENEURO.0123-18.2018.
 119. Itoh K, Inamine M, Oshima W, Kotani M, Chiba Y, Ueno M, Ishihara Y. Prevention of status epilepticus-induced brain edema and neuronal cell loss by repeated treatment with high-dose levetiracetam. *Brain Res* 2015; 1608: 225–234. doi: 10.1016/j.brainres.2015.03.005.
 120. Michinaga S, Koyama Y. Pathogenesis of Brain Edema and Investigation into Anti-Edema Drugs. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 9949–9975. doi: 10.3390/ijms16059949.
 121. Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin water channels in the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2013; 14: 265–277. doi: 10.1038/nrn3468.
 122. Preston GM, Agre P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons: Member of an ancient channel family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 11110–11114. doi: 10.1073/pnas.88.24.11110.
 123. Verkman AS. Aquaporins. *Curr. Biol.* 23 Cell Press: 2013.
 124. Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Bourque C, Agre P, Ottersen OR. Specialized membrane domains for water transport in glial cells: High-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J Neurosci* 1997; 17: 171–180. doi: 10.1523/jneurosci.17-01-00171.1997.
 125. Nagelhus EA, Mathiisen TM, Ottersen OP. Aquaporin-4 in the central nervous system: Cellular and subcellular distribution and coexpression with KIR4.1. *Neuroscience* 2004; 129: 905–913. doi: 10.1016/j.neuroscience.2004.08.053.
 126. Clément T, Rodriguez-Grande B, Badaut J. Aquaporins in brain edema. *J. Neurosci. Res.* 98 John Wiley and Sons Inc.: 9–18, 2020.
 127. Lee TS, Eid T, Mane S, Kim JH, Spencer DD, Ottersen OP, de Lanerolle NC. Aquaporin-4 is increased in the sclerotic hippocampus in human temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol* 2004; 108: 493–502. doi: 10.1007/s00401-004-0910-7.

128. Eid T, Lee T-SW, Thomas MJ, Amiry-Moghaddam M, Bjornsen LP, Spencer DD, Agre P, Ottersen OP, de Lanerolle NC. Loss of perivascular aquaporin 4 may underlie deficient water and K⁺ homeostasis in the human epileptogenic hippocampus. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102: 1193–1198. doi: 10.1073/pnas.0409308102.
129. Kim JE, Yeo S II, Ryu HJ, Kim MJ, Kim DS, Jo SM, Kang TC. Astroglial loss and edema formation in the rat piriform cortex and hippocampus following pilocarpine-induced status epilepticus. *J Comp Neurol* 2010; 518: 4612–4628. doi: 10.1002/cne.22482.
130. Alvestad S, Hammer J, Hoddevik EH, Skare Ø, Sonnewald U, Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP. Mislocalization of AQP4 precedes chronic seizures in the kainate model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2013; 105: 30–41. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2013.01.006.
131. Lee DJ, Hsu MS, Seldin MM, Arellano JL, Binder DK. Decreased expression of the glial water channel aquaporin-4 in the intrahippocampal kainic acid model of epileptogenesis. *Exp Neurol* 2012; 235: 246–255. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.02.002.
132. Hubbard JA, Szu JI, Yonan JM, Binder DK. Regulation of astrocyte glutamate transporter-1 (GLT1) and aquaporin-4 (AQP4) expression in a model of epilepsy. *Exp Neurol* 2016; 283: 85–96. doi: 10.1016/j.expneurol.2016.05.003.
133. Nico B, Frigeri A, Nicchia GP, Corsi P, Ribatti D, Quondamatteo F, Herken R, Girolamo F, Marzullo A, Svelto M, Roncali L. Severe alterations of endothelial and glial cells in the blood-brain barrier of dystrophic mdx mice. *Glia* 2003; 42: 235–251. doi: 10.1002/glia.10216.
134. Neely JD, Amiry-Moghaddam M, Ottersen OP, Froehner SC, Agre P, Adams ME. Syntrophin-dependent expression and localization of Aquaporin-4 water channel protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 14108–14113. doi: 10.1073/pnas.241508198.
135. Heuser K, Eid T, Lauritzen F, Thoren AE, Vindedal GF, Taubøll E, Gjerstad L, Spencer DD, Ottersen OP, Nagelhus EA, De Lanerolle NC. Loss of perivascular kir4.1 potassium channels in the sclerotic hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2012; 71: 814–825. doi: 10.1097/NEN.0b013e318267b5af.
136. Guadagno E, Moukhles H. Laminin-induced aggregation of the inwardly rectifying potassium channel, Kir4.1, and the water-permeable channel, AQP4, via a dystroglycan-containing complex in astrocytes. *Glia* 2004; 47: 138–149. doi: 10.1002/glia.20039.
137. Jo SM, Ryu HJ, Kim JE, Yeo S II, Kim MJ, Choi HC, Song HK, Kang TC. Up-regulation of endothelial endothelin-1 expression prior to vasogenic edema formation in the rat piriform cortex following status

- epilepticus. *Neurosci Lett* 2011; 501: 25–30. doi: 10.1016/j.neulet.2011.06.032.
138. Lee DJ, Amini M, Hamamura MJ, Hsu MS, Seldin MM, Nalcioglu O, Binder DK. Aquaporin-4-dependent edema clearance following status epilepticus. *Epilepsy Res* 2012; 98: 264–268. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2011.09.016.
 139. Binder DK, Nagelhus EA, Ottersen OP. Aquaporin-4 and epilepsy. *Glia* 2012; 60: 1203–1214. doi: 10.1002/glia.22317.
 140. Steinhäuser C, Seifert G, Bedner P. Astrocyte dysfunction in temporal lobe epilepsy: K⁺ channels and gap junction coupling. *Glia* 2012; 60: 1192–1202. doi: 10.1002/glia.22313.
 141. Binder DK, Yao X, Zador Z, Sick TJ, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure duration and slowed potassium kinetics in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Glia* 2006; 53: 631–636. doi: 10.1002/glia.20318.
 142. Zeng XN, Sun XL, Gao L, Fan Y, Ding JH, Hu G. Aquaporin-4 deficiency down-regulates glutamate uptake and GLT-1 expression in astrocytes. *Mol Cell Neurosci* 2007; 34: 34–39. doi: 10.1016/j.mcn.2006.09.008.
 143. Traut TW. Physiological concentrations of purines and pyrimidines. *Mol Cell Biochem* 1994; 140: 1–22. doi: 10.1007/BF00928361.
 144. Wurtman RJ, Regan M, Ulus I, Yu L. Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 989–992. doi: 10.1016/S0006-2952(00)00436-6.
 145. Lecca D, Ceruti S. Uracil nucleotides: From metabolic intermediates to neuroprotection and neuroinflammation. *Biochem Pharmacol* 2008; 75: 1869–1881. doi: 10.1016/j.bcp.2007.12.009.
 146. Bourget PA, Tremblay GC. PYRIMIDINE BIOSYNTHESIS IN RAT BRAIN. *J Neurochem* 1972; 19: 1617–1624. doi: 10.1111/j.1471-4159.1972.tb06207.x.
 147. Griffith DA, Jarvis SM. Nucleoside and nucleobase transport systems of mammalian cells. *Biochim Biophys Acta - Rev Biomembr* 1996; 1286: 153–181. doi: 10.1016/S0304-4157(96)00008-1.
 148. Nagai K, Nagasawa K, Fujimoto S. Transport mechanisms for adenosine and uridine in primary-cultured rat cortical neurons and astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 334: 1343–1350. doi: 10.1016/J.BBRC.2005.07.032.
 149. KENNEDY EP, WEISS SB. The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides. [Çevrimiçi]. *J Biol Chem* 1956; 222: 193–214. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13366993> [14 Eki. 2019].

150. Cansev M. Uridine and cytidine in the brain: Their transport and utilization. *Brain Res Rev* 2006; 52: 389–397. doi: 10.1016/j.brainresrev.2006.05.001.
151. E. Parkinson F, L. Damaraju V, Graham K, Y.M. Yao S, A. Baldwin S, E. Cass C, D. Young J. Molecular Biology of Nucleoside Transporters and their Distributions and Functions in the Brain. *Curr Top Med Chem* 2011; 11: 948–972. doi: 10.2174/156802611795347582.
152. Hogans AF, Guroff G, Udenfriend S. STUDIES ON THE ORIGIN OF PYRIMIDINES FOR BIOSYNTHESIS OF NEURAL RNA IN THE RAT. *J Neurochem* 1971; 18: 1699–1710. doi: 10.1111/j.1471-4159.1971.tb03744.x.
153. Cansev M, Watkins CJ, van der Beek EM, Wurtman RJ. Oral uridine-5'-monophosphate (UMP) increases brain CDP-choline levels in gerbils. *Brain Res* 2005; 1058: 101–108. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2005.07.054.
154. Peters GJ, van Groeningen CJ, Laurensse EJ, Lankelma J, Leyva A, Pinedo HM. Uridine-induced hypothermia in mice and rats in relation to plasma and tissue levels of uridine and its metabolites. *Cancer Chemother Pharmacol* 1987; 20: 101–8. doi: 10.1007/bf00253962.
155. von Kügelgen I, Hoffmann K. Pharmacology and structure of P2Y receptors. *Neuropharmacology* 2016; 104: 50–61. doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.10.030.
156. Cansev M. Involvement of Uridine-Nucleotide-Stimulated P2Y Receptors in Neuronal Growth and Function. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* 2008; 7: 223–229. doi: 10.2174/187152407783220814.
157. Cansev M, Marzloff G, Sakamoto T, Ulus IH, Wurtman RJ. Giving Uridine and/or Docosahexaenoic Acid Orally to Rat Dams during Gestation and Nursing Increases Synaptic Elements in Brains of Weanling Pups. *Dev Neurosci* 2009; 31: 181–192. doi: 10.1159/000193394.
158. Wurtman RJ, Ulus IH, Cansev M, Watkins CJ, Wang L, Marzloff G. Synaptic proteins and phospholipids are increased in gerbil brain by administering uridine plus docosahexaenoic acid orally. *Brain Res* 2006; 1088: 83–92. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2006.03.019.
159. Sakamoto T, Cansev M, Wurtman RJ. Oral supplementation with docosahexaenoic acid and uridine-5'-monophosphate increases dendritic spine density in adult gerbil hippocampus. *Brain Res* 2007; 1182: 50–59. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2007.08.089.
160. Holguin S, Martinez J, Chow C, Wurtman R. Dietary uridine enhances the improvement in learning and memory produced by administering DHA to gerbils. *FASEB J* 2008; 22: 3938–3946. doi: 10.1096/fj.08-112425.

161. Cansev M, Ulus IH, Wang L, Maher TJ, Wurtman RJ. Restorative effects of uridine plus docosahexaenoic acid in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Res* 2008; 62: 206–209. doi: 10.1016/J.NEURES.2008.07.005.
162. Holguin S, Huang Y, Liu J, Wurtman R. Chronic administration of DHA and UMP improves the impaired memory of environmentally impoverished rats. *Behav Brain Res* 2008; 191: 11–16. doi: 10.1016/J.BBR.2008.02.042.
163. Teather LA, Wurtman RJ. Chronic administration of UMP ameliorates the impairment of hippocampal-dependent memory in impoverished rats [Çevrimiçi]. *J Nutr* 2006; 136: 2834–2837. <https://academic.oup.com/jn/article-abstract/136/11/2834/4664222> [11 Tem. 2020].
164. Cansev M, Minbay Z, Goren B, Yaylagul EO, Cetinkaya M, Koksall N, Alkan T. Neuroprotective effects of uridine in a rat model of neonatal hypoxic–ischemic encephalopathy. *Neurosci Lett* 2013; 542: 65–70. doi: 10.1016/J.NEULET.2013.02.035.
165. Koyuncuoglu T, Turkyilmaz M, Goren B, Cetinkaya M, Cansev M, Alkan T. Uridine protects against hypoxic-ischemic brain injury by reducing histone deacetylase activity in neonatal rats. *Restor Neurol Neurosci* 2015; 33: 777–784. doi: 10.3233/RNN-150549.
166. Goren B, Cakir A, Ocalan B, Serter Kocoglu S, Alkan T, Cansev M, Kahveci N. Long-term cognitive effects of uridine treatment in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic encephalopathy. *Brain Res* 2017; 1659: 81–87. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2017.01.026.
167. Goren B, Cakir A, Sevinc C, Serter Kocoglu S, Ocalan B, Oy C, Minbay Z, Kahveci N, Alkan T, Cansev M. Uridine treatment protects against neonatal brain damage and long-term cognitive deficits caused by hyperoxia. *Brain Res* 2017; 1676: 57–68. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2017.09.010.
168. Yoshida S, Alksne JF, Seelig JM, Bailey MD, Moore SS, Kitamura K. Effect of uridine 5'-diphosphate on cryogenic brain edema in Rabbits. *Stroke* 1989; 20: 1694–1699. doi: 10.1161/01.STR.20.12.1694.
169. Kabadi S V., Maher TJ. Posttreatment with uridine and melatonin following traumatic brain injury reduces edema in various brain regions in rats. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1199: 105–113. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05352.x.
170. Roberts CA. Anticonvulsant effects of uridine: comparative analysis of metrazol and penicillin induced foci. *Brain Res* 1973; 55: 291–308. doi: 10.1016/0006-8993(73)90296-5.
171. Dobolyi Á, Szikra T, Kékesi AK, Kovács Z, Juhász G. Uridine is released by depolarization and inhibits unit activity in the rat

- hippocampus. *Neuroreport* 1999; 10: 3049–3053. doi: 10.1097/00001756-199909290-00032.
172. Slézia A, Kékesi AK, Szikra T, Papp AM, Nagy K, Szente M, Maglóczky Z, Freund TF, Juhász G. Uridine release during aminopyridine-induced epilepsy. *Neurobiol Dis* 2004; 16: 490–499. doi: 10.1016/j.nbd.2004.02.011.
 173. Zhao Q, Shatskikh T, Marolewski A, Rusche JR, Holmes GL. Effects of uridine on kindling. *Epilepsy Behav* 2008; 13: 47–51. doi: 10.1016/j.yebeh.2008.02.002.
 174. Zhao Q, Marolewski A, Rusche JR, Holmes GL. Effects of uridine in models of epileptogenesis and seizures. *Epilepsy Res* 2006; 70: 73–82. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2006.03.003.
 175. Kovács Z, Slézia A, Bali ZK, Kovács P, Dobolyi A, Szikra T, Hernádi I, Juhász G. Uridine modulates neuronal activity and inhibits spike-wave discharges of absence epileptic Long Evans and Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats. *Brain Res Bull* 2013; 97: 16–23. doi: 10.1016/j.brainresbull.2013.05.009.
 176. Guarneri P, Guarneri R. Interaction of uridine with GABA binding sites in cerebellar membranes of the rat. *Neurochem Res* 1983; 8: 1537–1545.
 177. Kovács Z, Kékesi KA, Dobolyi, Lakatos R, Juhász G. Absence epileptic activity changing effects of non-adenosine nucleoside inosine, guanosine and uridine in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rats. *Neuroscience* 2015; 300: 593–608. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.054.
 178. Alves M, Gomez-Villafuertes R, Delanty N, Farrell MA, O'Brien DF, Miras-Portugal MT, Hernandez MD, Henshall DC, Engel T. Expression and function of the metabotropic purinergic P2Y receptor family in experimental seizure models and patients with drug-refractory epilepsy. *Epilepsia* 2017; 58: 1603–1614. doi: 10.1111/epi.13850.
 179. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: I. after-discharge threshold. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32: 269–279. doi: 10.1016/0013-4694(72)90176-9.
 180. Elliott KAC, Jasper H. Measurement of experimentally induced brain swelling and shrinkage. *Am J Physiol* 1949; 157: 122–129. doi: 10.1152/ajplegacy.1949.157.1.122.
 181. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. PROTEIN MEASUREMENT WITH THE FOLIN PHENOL REAGENT* [Çevrimiçi]. <http://www.jbc.org/> [13 Ara. 2020].
 182. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680–685. doi: 10.1038/227680a0.

183. Beghi E, Giussani G, Abd-Allah F, Abdela J, Abdelalim A, Abraha HN, Adib MG, Agrawal S, Alahdab F, Awasthi A, Ayele Y, Barboza MA, Belachew AB, Biadgo B, Bijani A, Bitew H, Carvalho F, Chaiah Y, Daryani A, Do HP, Dubey M, Endries AYY, Eskandarieh S, Faro A, Farzadfar F, Fereshtehnejad SM, Fernandes E, Fijabi DO, Filip I, Fischer F, Gebre AK, Tsadik AG, Gebremichael TG, Gezae KE, Ghasemi-Kasman M, Weldegewergs KG, Degefa MG, Gnedovskaya E V., Hagos TB, Haj-Mirzaian A, Haj-Mirzaian A, Hassen HY, Hay SI, Jakovljevic M, Kasaeian A, Kassa TD, Khader YS, Khalil I, Khan EA, Khubchandani J, Kisa A, Krohn KJ, Kulkarni C, Nirayo YL, Mackay MT, Majdan M, Majeed A, Manhertz T, Mehndiratta MM, Mekonen T, Meles HG, Mengistu G, Mohammed S, Naghavi M, Mokdad AH, Mustafa G, Irvani SSN, Nguyen LH, Nichols E, Nixon MR, Ogbo FA, Olagunju AT, Olagunju TO, Owolabi MO, Phillips MR, Pinilla-Monsalve GD, Qorbani M, Radfar A, Rafay A, Rahimi-Movaghar V, Reinig N, Sachdev PS, Safari H, Safari S, Safiri S, Sahraian MA, Samy AM, Sarvi S, Sawhney M, Shaikh MA, Sharif M, Singh G, Smith M, Szoeki CEI, Tabarés-Seisdedos R, Temsah MH, Temsah O, Tortajada-Girbés M, Tran BX, Tsegay AAT, Ullah I, Venketasubramanian N, Westerman R, Winkler AS, Yimer EM, Yonemoto N, Feigin VL, Vos T, Murray CJL. Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol* 2019; 18: 357–375. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30454-X.
184. Grone BP, Baraban SC. Animal models in epilepsy research: Legacies and new directions. *Nat Neurosci* 2015; 18: 339–343. doi: 10.1038/nn.3934.
185. Kienzler-Norwood F, Costard L, Sadangi C, Müller P, Neubert V, Bauer S, Rosenow F, Norwood BA. A novel animal model of acquired human temporal lobe epilepsy based on the simultaneous administration of kainic acid and lorazepam. *Epilepsia* 2017; 58: 222–230. doi: 10.1111/epi.13579.
186. Lévesque M, Avoli M, Bernard C. Animal models of temporal lobe epilepsy following systemic chemoconvulsant administration. *J Neurosci Methods* 2016; 260: 45–52. doi: 10.1016/j.jneumeth.2015.03.009.
187. Ahmed Juvale II, Che Has AT. The evolution of the pilocarpine animal model of status epilepticus. *Heliyon* 6 Elsevier Ltd: e04557, 2020.
188. Jope RS, Morrisett RA, Snead OC. Characterization of lithium potentiation of pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *Exp Neurol* 1986; 91: 471–480. doi: 10.1016/0014-4886(86)90045-2.
189. Klitgaard H, Matagne A, Vanneste-Goemaere J, Margineanu DG. Pilocarpine-induced epileptogenesis in the rat: Impact of initial duration of status epilepticus on electrophysiological and neuropathological alterations. *Epilepsy Res* 2002; 51: 93–107. doi: 10.1016/S0920-1211(02)00099-2.

190. Bortel A, Lévesque M, Biagini G, Gotman J, Avoli M. Convulsive status epilepticus duration as determinant for epileptogenesis and interictal discharge generation in the rat limbic system. *Neurobiol Dis* 2010; 40: 478–489. doi: 10.1016/j.nbd.2010.07.015.
191. Langer M, Brandt C, Löscher W. Marked strain and substrain differences in induction of status epilepticus and subsequent development of neurodegeneration, epilepsy, and behavioral alterations in rats. Strain and substrain differences in an epilepsy model in rats. *Epilepsy Res* 2011; 96: 207–224. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2011.06.005.
192. Al N, Cakir A, Koc C, Cansev M, Alkan T. Antioxidative effects of uridine in a neonatal rat model of hyperoxic brain injury. .
193. Righini A, Pierpaoli C, Alger JR, Di Chiro G. Brain parenchyma apparent diffusion coefficient alterations associated with experimental complex partial status epilepticus. *Magn Reson Imaging* 1994; 12: 865–871. doi: 10.1016/0730-725X(94)92027-3.
194. Tian M-L, Zou Z, Yuan H-B, Wang C-C, Zhu Q-F, Xu H-T, Gao X, Shi X-Y. Uridine 5'-triphosphate (UTP) protects against cerebral ischemia reperfusion injury in rats. *Neurosci Lett* 2009; 465: 55–60. doi: 10.1016/J.NEULET.2009.08.076.
195. Gonçalves Da Silva C, Specht A, Wegiel B, Ferran C, Kaczmarek E. Mechanism of purinergic activation of endothelial nitric oxide synthase in endothelial cells. *Circulation* 2009; 119: 871–879. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.764571.
196. Mehta B, Begum G, Joshi NB, Joshi PG. Nitric oxide-mediated modulation of synaptic activity by astrocytic P2Y receptors. *J Gen Physiol* 2008; 132: 339–49. doi: 10.1085/jgp.200810043.
197. Quintas C, Pinho D, Pereira C, Saraiva L, Gonçalves J, Queiroz G. Microglia P2Y6 receptors mediate nitric oxide release and astrocyte apoptosis. *J Neuroinflammation* 2014; 11: 1–12. doi: 10.1186/s12974-014-0141-3.
198. Thiel VE, Audus KL. Nitric oxide and blood-brain barrier integrity. *Antioxidants Redox Signal*. 3 Mary Ann Liebert Inc.: 273–278, 2001.
199. Ko AR, Kim JY, Hyun HW, Kim JE. Endothelial NOS activation induces the blood-brain barrier disruption via ER stress following status epilepticus. *Brain Res* 2015; 1622: 163–173. doi: 10.1016/j.brainres.2015.06.020.
200. Danjo S, Ishihara Y, Watanabe M, Nakamura Y, Itoh K. Pentylentetrazole-induced loss of blood-brain barrier integrity involves excess nitric oxide generation by neuronal nitric oxide synthase. *Brain Res* 2013; 1530: 44–53. doi: 10.1016/j.brainres.2013.06.043.
201. Kim JH, Lee DW, Choi BY, Sohn M, Lee SH, Choi HC, Ki Song H, Suh

- SW. Cytidine 5'-diphosphocholine (CDP-choline) adversely effects on pilocarpine seizure-induced hippocampal neuronal death. *Brain Res* 2015; 1595: 156–165. doi: 10.1016/j.brainres.2014.11.011.
202. Cansev M, Orhan F, Yaylagul EO, Isik E, Turkyilmaz M, Aydin S, Gumus A, Sevinc C, Coskun N, Ulus IH, Wurtman RJ. Evidence for the existence of pyrimidineric transmission in rat brain. *Neuropharmacology* 2015; 91: 77–86. doi: 10.1016/j.neuropharm.2014.12.019.
203. Wang L, Albrecht MA, Wurtman RJ. Dietary supplementation with uridine-5'-monophosphate (UMP), a membrane phosphatide precursor, increases acetylcholine level and release in striatum of aged rat. *Brain Res* 2007; 1133: 42–48. doi: 10.1016/J.BRAINRES.2006.11.048.
204. Kleindienst A, Hesse F, Bullock MR, Buchfelder M. The neurotrophic protein S100B: value as a marker of brain damage and possible therapeutic implications. *Prog. Brain Res.* 161 Elsevier: 317–325, 2007.
205. Barger SW, Van Eldik LJ, Mattson MP. S100 β protects hippocampal neurons from damage induced by glucose deprivation. *Brain Res* 1995; 677: 167–170. doi: 10.1016/0006-8993(95)00160-R.
206. Ahlemeyer B, Beier H, Semkova I, Schaper C, Krieglstein J. S-100 β protects cultured neurons against glutamate- and staurosporine-induced damage and is involved in the antiapoptotic action of the 5 HT(1A)-receptor agonist, Bay x 3702. *Brain Res* 2000; 858: 121–128. doi: 10.1016/S0006-8993(99)02438-5.
207. Kleindienst A, Harvey HB, Rice AC, Müller C, Hamm RJ, Gaab MR, Bullock MR. Intraventricular infusion of the neurotrophic protein S100B improves cognitive recovery after fluid percussion injury in the rat. *J Neurotrauma* 2004; 21: 541–547. doi: 10.1089/089771504774129874.
208. Kleindienst A, McGinn MJ, Harvey HB, Colello RJ, Hamm RJ, Bullock MR. Enhanced hippocampal neurogenesis by intraventricular S100B infusion is associated with improved cognitive recovery after traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2005; 22: 645–655. doi: 10.1089/neu.2005.22.645.
209. Amiry-Moghaddam M, Frydenlund DS, Ottersen OP. Anchoring of aquaporin-4 in brain: Molecular mechanisms and implications for the physiology and pathophysiology of water transport. *Neuroscience* 2004; 129: 997–1008. doi: 10.1016/j.neuroscience.2004.08.049.
210. Hoddevik EH, Khan FH, Rahmani S, Ottersen OP, Boldt HB, Amiry-Moghaddam M. Factors determining the density of AQP4 water channel molecules at the brain–blood interface. *Brain Struct Funct* 2017; 222: 1753–1766. doi: 10.1007/s00429-016-1305-y.
211. Oh JY, In YS, Kim MK, Ko JH, Lee HJ, Shin KC, Lee SM, Wee WR,

- Lee JH, Park M. Protective Effect of Uridine on Cornea in a Rabbit Dry Eye Model. *Investig Ophthalmology Vis Sci* 2007; 48: 1102. doi: 10.1167/iovs.06-0809.
212. Lamarca A, Gella A, Marti  ez T, Segura M, Figueiro-Silva J, Grijota-Martinez C, Trullas R, Casals N. Uridine 5'-Triphosphate Promotes In Vitro Schwannoma Cell Migration through Matrix Metalloproteinase-2 Activation. *PLoS One* 2014; 9: e98998. doi: 10.1371/journal.pone.0098998.
213. Taler M, Aronovich R, Henry Hornfeld S, Dar S, Sasson E, Weizman A, Hochman E. Regulatory effect of lithium on hippocampal blood-brain barrier integrity in a rat model of depressive-like behavior. .
214. Haupt M, Zechmeister B, Bosche B, Lieschke S, Zheng X, Zhang L, Venkataramani V, Jin F, Hein K, Weber MS, Hermann DM, B  hr M, Doeppner TR. Lithium enhances post-stroke blood-brain barrier integrity, activates the MAPK/ERK1/2 pathway and alters immune cell migration in mice. *Neuropharmacology* 2020; 181: 108357. doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108357.
215. Li W, Li R, Zhao S, Jiang C, Liu Z, Tang X. Lithium Posttreatment Alleviates Blood–Brain Barrier Injury After Intracerebral Hemorrhage in Rats. *Neuroscience* 2018; 383: 129–137. doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.05.001.

TEŞEKKÜR

2017 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda başladığım uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, her daim destek olan Fizyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Emekli Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kasım Özlük, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Naciye İşbil, Prof. Dr. Nevzat Kahveci, Prof. Dr. Fadıl Özyener ve Doç. Dr. Bülent Gören'e; çalışmalarım sırasında bilgisini ve zamanını benden esirgemeyip her zaman yanımda olan Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Mehmet Cansev'e ve laboratuvarlarını kullanmama izin veren Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve tüm çalışanlarına; tez çalışmamda yaptıkları katkılarından ötürü çalışma arkadaşlarım Öğr. Gör. Dr. Ayşen Çakır, Araş. Gör. Büşra Öcalan, Araş. Gör. Süeda Tunçak ve Araş. Gör. Cansu Koç'a; destekleri için Öğr. Gör. Dr. Aslıhan Durak'a; verdiğim kararlarda her zaman yanımda olup beni destekleyen eşim Dr. Okan Aydın'a; ve son olarak her zaman beni sabırla dinleyip yönlendiren, bilgisini, tecrübesini ve zamanını benden esirgemeyen, öğrencisi olmaktan onur duyduğum tez danışmanım Prof. Dr. Tülin Alkan'a teşekkür ederim.

Bu çalışma Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje no: KUAP(T)-2020/3

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Giresun'da doğdum. İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi'den 2013 yılında mezun oldum. 2017 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak başladığım görevime halen devam etmekteyim.