



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA
GÖRÜLEN SPONTAN NÖBET AKTİVİTESİ ÜZERİNE
PÜRİNERJİK P2X7 RESEPTÖRÜNÜN ETKİSİ VE BU ETKİDE
NMDA RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ**

Dr. ELİF DOĞAN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

SAMSUN-2019



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/RİJ SIÇANLARDA
GÖRÜLEN SPONTAN NÖBET AKTİVİTESİ ÜZERİNE
PÜRİNERJİK P2X7 RESEPTÖRÜNÜN ETKİSİ VE BU ETKİDE
NMDA RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ**

Dr. Elif DOĞAN
TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Erdal AĞAR

SAMSUN-2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tezimi hazırlama sürecinde desteğini esirgemeyen, bilgi ve hoşgörüsüyle yanında çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli hocam ve tez danışmanım Erdal AĞAR'a;

Asistanlık dönemim boyunca bilgilerinden ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocalarım Prof. Dr. Cafer MARANGOZ, Prof. Dr. Niyazi TAŐÇI, Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ, Prof. Dr. Ayhan BOZKURT ve Dr. Öğr. Üyesi Gökhan ARSLAN'A;

Asistanlığım boyunca birlikte çalışmaktan, tanımaktan keyif aldığım sevgili asistan arkadaşlarım Hatice AYGÜN, Süleyman Emre KOCACAN, Sinem TOSUN, Emre Soner TİRYAKİ, İsa YEŐİLYURT, Fırat AYÇIK, Banu AYÇIK, Özge DARAKÇI, Çiğdem ÇIÇEKLİ; personelimiz Ayőe KÖSE ve tüm fizyoloji ekibine;

Yaşamım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak beni destekleyen, her zaman yanımda olduklarını hissettiğim kıymetli annem Hanım ŞEN ve babam Mevlüt ŞEN'e, kardeşlerim ve sevgili eşim Çağrı DOĞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

Elif DOĞAN

Temmuz, 2019

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Elif (ŞEN) DOĞAN

Doğum Tarihi ve Yeri: 1988/Samsun

Öğrenim Durumu:

Derece	Okul	Yıl
İlk/Orta	Mustafa Kemal İlköğretim Okulu	1993-2001
Lise	Çarşamba Anadolu Lisesi	2001-2005
Lisans/ Yüksek Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi	2006-2012

Görevler:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Pratisyen Hekim	Çarşamba Devlet Hastanesi	2012-2013
Pratisyen Hekim	Amasya İl 112 Komuta Kontrol Merkezi	2014-2015

Projelerde Yaptığı Görevler:

1. Genetik absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda görülen spontan nöbet aktivitesi üzerine pürinerjik P2X7 reseptörünün etkisi ve bu etkide kanabinoid, NMDA ve T - tipi kalsiyum iyon kanallarının rolü (PYO.TIP.1905.15.002) –Yardımcı araştırmacı

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler:

1. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği

Yayınlar ve Bildiriler:

1. Şen, E., Aygün, H., Ayyıldız, M., Açar, E., Askorbik Asidin Absans Epilepsi Modeli Olan WAG/Rij Sıçanlara Etkisi. 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Çanakkale, 09-13 Eylül 2015; 227-228

2. Şen, E., Aygün, H., Arslan, G., Avcı, B., Ayyıldız, M., Ağar, E. Düşük doz memantin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi. 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Düzce, 05-08 Eylül 2016; 116
3. Şen, E., Aygün, H., Arslan, G., Avcı, B., Ayyıldız, M., Ağar, E. Memantin WAG/Rij Sıçanlardaki Epileptik Aktiviteye Etkisi. 15. Sinirbilim Kongresi, Sakarya, 07-10 Mayıs, 2017; 94
4. Aygün, H., Şen, E., Ayyıldız, M., Ağar, E. The effect of modafinil on penicillin-induced epileptiform activity. Sanko University Innovation on Medicine Summit- 3, Gaziantep, 11-13 Mayıs 2017; 93
5. Aygün, H., Şen, E., Ayyıldız, M., Ağar, E. The effect of high dose agomelatine on spike-wave discharges in WAG/Rij rats. Sanko University Innovation on Medicine Summit- 3, Gaziantep, 11-13 Mayıs 2017; 104
6. Şen, E., Aygün, H., Arslan, G., Avcı, B., Ayyıldız, M., Ağar, E. P2X7 reseptör agonisti olan BzATP'nin WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi. 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Denizli, 07-10 Eylül 2017; 26
7. Tosun, S., Şen, E., Arslan, G., Ayyıldız, M., Ağar, E. Leptininin WAG/Rij sıçanlardaki epileptik aktiviteye etkisi. 43. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Denizli, 07-10 Eylül 2017; 37
8. Şen, E., Aygün, H., Arslan, G., Avcı, B., Ayyıldız, M., Ağar, E. P2X7 reseptör antagonisti A-438079'un WAG/Rij sıçanlardaki absans epilepsi üzerine etkisi. 44. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Antalya, 01-04 Kasım 2018
9. Şen, E., Aygün, H., Arslan, G., Avcı, B., Ayyıldız, M., Ağar, E. The role of T-type calcium ion channel in the effect of P2X7 receptors on the absence-like epileptic activity in WAG/Rij rats. 17. Ulusal Sinirbilim Kongresi, Trabzon, 04-07 Nisan 2019;44

BEYAN

“Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Spontan Nöbet Aktivitesi Üzerine Pürinerjik P2X7 Reseptörünün Etkisi ve Bu Etkide NMDA Reseptörlerinin Rolü” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, başka bir çalışmadan kopya edilmediğini, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim. Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (PYO.TIP.1905.15.002).

ÖZET

Giriş ve Amaç: Absans epilepsi, idiyopatik, jeneralize, konvulsif olmayan epilepsi türüdür. WAG/Rij sıçanlar, geçerliliği kanıtlanmış, genetik absans epilepsi modelidir. P2X7 reseptörleri (P2X7R), ATP'ye duyarlı katyon kanallarıdır ve çeşitli epilepsi modellerinde etkinliği gösterilmiştir. P2X7R ve glutamat reseptörü NMDA'nın absans epilepsi üzerine etkileri ve etkileşimi konusunda çalışma yoktur. Bu nedenle P2X7R agonisti BzATP ve antagonisti A-438079'un ve NMDA antagonisti memantinin WAG/Rij sıçanlardaki etkisini ve etkileşimini elektrofizyolojik ve biyokimyasal yönden araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 6-8 aylık 56 erkek WAG/Rij sıçan kullanıldı. Elektrotlar hayvanların kafataslarına yerleştirildi. Bazal elektrokortikografi (ECoG) kayıtları üç saat alındı. BzATP (50 µg-100 µg i.s.v.); A-438079 (20 µg-40 µg i.s.v.); memantin 5 mg/kg i.p. ve etkileşim grupları oluşturuldu ve 3 saat daha ECoG kaydı alındı. Kayıtlar nöbet sayısı ve süresi, diken ve yavaş dalga deşarjı (DDD) sayısı ve amplitüdü açısından incelendi. Biyokimyasal analiz için hayvanların beyni çıkarıldı ve sağ ve sol hemisfer, serebellum ve beyin sapı ayrıldı; kan örnekleri alındı; ileri protein oksidasyonu ürünleri (AOPP), malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon reduktaz (GSR) ölçüldü.

Bulgular: Sunulan çalışmada BzATP'nin ve A-438079'un WAG/Rij sıçanlarda görülen nöbet aktivitesine etkisiz olduğu; memantinin etkisinin ise antikonvulsan ve antioksidan yönde olduğu bulundu. BzATP'nin, memantinin DDD'lere etkisini değiştirmediği ancak antioksidan etkisini azalttığı, A-438079'un ise memantinin DDD'lere olan etkisini azalttığı bulundu.

Tartışma ve Sonuçlar: Edinilen bulgular P2X7R'nin WAG/Rij sıçanlarda görülen DDD'lere doğrudan etki etmediğini, ancak memantinin etkilerini elektrofizyolojik ve biyokimyasal yönden değiştirdiğini göstermektedir. Bu da P2X7R ve NMDA'nın birden fazla mekanizmada ve konumda kesiştiğini düşündürmektedir. Bu ilişkinin aydınlatılabilmesi için farklı moleküler ve hücresele çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Absans, Epilepsi, P2X7, NMDA

ABSTRACT

Aim: Absence epilepsy is a type of idiopathic, generalized, non-convulsive epilepsy. WAG/Rij rats are a validated model of genetic absence epilepsy. P2X7 receptors (P2X7R) are ATP sensitive cation channels and have been shown to be effective in various epilepsy models. There are no studies on the effects and interaction of P2X7R and glutamate receptor NMDA on absence epilepsy. Therefore, we aimed to investigate the electrophysiological and biochemical aspects of P2X7R agonist BzATP and antagonist A-438079 and NMDA antagonist memantine in WAG/Rij rats.

Methods: In this study, 56 male WAG/Rij rats aged 6-8 months were used. Electrodes were placed on the skulls of the animals. Baseline electrocorticography (ECoG) recordings were taken for 3 hours. BzATP (50 µg-100 µg i.s.v.); A-438079 (20 µg-40 µg i.s.v.); memantine 5 mg/kg i.p. and interaction groups were created and ECoG recordings were taken for an additional 3 hours. The records were examined in terms of seizure number and duration, spike and slow wave discharges (SWD) frequency and amplitude. Rats were decapitated for biochemical analysis and the right and left hemisphere, cerebellum and brainstem were separated; blood samples were taken; advanced protein oxidation products (AOPP), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GSR) were measured.

Results: In the present study, BzATP and A-438079 were ineffective on seizures in WAG/Rij rats; the effect of memantine was found to be anticonvulsant and antioxidant. It was found that BzATP did not change the effect of memantine on SWD, but decreased memantine's antioxidant effect, and A-438079 decreased the effect of memantine on SWD.

Discussion: Findings show that P2X7R does not directly affect SWDs seen in WAG / Rij rats, but changes the effects of memantine in electrophysiological and biochemical aspects. This suggests that P2X7R and NMDA intersect in multiple mechanisms and locations. Different molecular and cellular studies are needed to clarify this relationship.

Keywords: Absence, Epilepsy, P2X7, NMDA

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZGEÇMİŞ	ii
BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xii
TABLO LİSTESİ.....	xiv
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Epileptik Nöbet	3
2.2. Epilepsi.....	3
2.3.1. Epilepsinin etiyolojisi	4
2.3.2. Epilepsinin sınıflandırılması.....	4
2.3.3. Elektroensefalogram	6
2.4. Absans Epilepsi.....	8
2.4.1.Absans epilepsinin EEG özellikleri.....	8
2.4.2.Absans epilepsinin sınıflandırılması	9
2.4.3.Absans epilepsinin epidemiyolojisi.....	9
2.4.4.Absans epilepsi etiyolojisi	10
2.4.5.Absans epilepsinin prognozu	10
2.4.6.Absans epilepsinin patofizyolojisi:	10
2.4.7.Nörotransmitterlerin epileptojenizdeki rolü	13
2.5. Bir Nörotransmitter Olarak ATP.....	19
2.5.1.ATP salınım mekanizmaları.....	19
2.5.2.Pürinerjik reseptörler.....	20
2.5.3.ATP'nin nöbetlerle ilişkisi	22
2.5.4.P2X7R	23
2.5.5.P2X7R ve sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkisi.....	26
2.5.6.Epilepside P2X7R	28
2.5.7.P2X7R'nin farmakolojisi	29
2.6. Reaktif Oksijen Türleri ve Epilepsiye Etkileri.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	32
3.1 Deney Hayvanları.....	32

3.2.	Kimyasal Maddeler ve Veriliş Şekilleri	32
3.2.1.	BzATP	32
3.2.2.	A-438079	32
3.2.3.	Memantin:	32
3.3.	Deney Grupları	33
3.4.	Elekreokortikogram Kayıtlarının Elde Edilmesi	33
3.4.1.	Elekreokortikogram elektrodlarının yerleştirilmesi	33
3.4.2.	Elektrokortikogram kayıtlarının alınması	34
3.4.3.	Elektrokortikogram kayıtlarının değerlendirilmesi	36
3.5.	Biyokimyasal Analiz Metodları	36
3.5.1.	Doku örneklerinde protein miktarının belirlenmesi:	37
3.5.2.	Lipid peroksidasyonu düzeylerinin (MDA Düzeyleri) belirlenmesi	37
3.5.3.	Protein oksidasyonu düzeylerinin belirlenmesi	38
3.5.4.	Glutasyon peroksidaz düzeylerinin belirlenmesi	38
3.5.5.	Glutasyon redüktaz düzeylerinin belirlenmesi;	38
3.5.6.	Süperoksid dismutaz düzeylerinin belirlenmesi	38
3.5.7.	Glutasyon düzeylerinin belirlenmesi	39
3.5.8.	Katalaz düzeylerinin belirlenmesi	39
3.6.	İstatistiksel Analiz	39
4.	BULGULAR	41
4.1.	Kontrol grubu	41
4.1.1.	BzATP 50 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi	46
4.1.2.	BzATP 100 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi	47
4.2.	A-438079'un WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi	52
4.2.1.	A-438079 20 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi	52
4.2.2.	A-438079 40 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi	55
4.3.	Memantin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi	59
4.4.	NMDA Reseptör Antagonisti Olan Memantin ile P2X7 Reseptörlerinin Etkileşimlerinin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi	63
4.4.1.	BzATP-Memantin grubunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi	63
4.4.2.	A-438079-Memantin Grubunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi	64
5.	TARTIŞMA	70

5.2. P2X7 Reseptör Aktivitesinin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi.....	72
5.3. NMDA Reseptör Antagonisti Olan Memantin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi	75
5.4. P2X7 Reseptörleri ile NMDA Reseptörlerinin Etkileşiminin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi.....	77
6. SONUÇLAR	81
7. KAYNAKLAR.....	84
8. EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

aDDD	:DDD amplitüdü
AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-propionik asit
AOPP	:İleri protein oksidasyon ürünleri
AP-1	:Aktifleştirici protein-1
BBG	:Brilliant Blue G
BzATP	:2'(3')eO-(4-Benzoylbenzoyl)adenosine5'-triphosphate triethylammonium
CAT	:Katalaz
CREB	:Siklik AMP yanıt elemanı bağlayıcı protein
COX-2	:Siklooksijenaz-2
DDD	:Diken ve yavaş dalga deşajları
ECoG	:Elektrokortikogram
EEG	:Elektroensefalogram
ERK	:Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
GABA	:Gama aminobütirik asit
GABA _A	:Gama-aminobütirik asit A reseptörü
GABA _B	:Gama-aminobütirik asit B reseptörü
GPx	:Glutasyon peroksidaz
GSH	:Glutasyon
GSR	:Glutasyon reduktaz
GSSG	:Glutasyon disülfid
IFSECN	:Elektroensefalografi ve Klinik Nörofizyoloji Terminoloji Komitesi
IL-1 β	:İnterlökin 1- β
ILAE	:Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği
iNOS	:İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
JNK	:c-Jun N terminal kinaz
kDDD	:DDD küme sayısı
KTK	:Kortiko-talamo-kortikal ağ
LTS	:Low treshold spike
MAPK	:Mitojenle aktiflenmiş kinaz

MDA	:Malondialdehit
MEK	:Mitojenle aktiflenen protein kinaz kinaz
mGlu	:Metabotropik glutamat reseptörü
NMDA	:N-metil-D Aspartat
nDDD	:DDD sayısı
NFAT	:Aktive T hücrelerin nükleer faktörü
NRT	:Retiküler talamik çekirdek
NF-κB	:Nükleer faktör- κB
P-Tyr	:Fosforile tirozin
P2XR	:P2X reseptörleri
P2X7R	:P2X7 reseptörleri
P2YR	:P2Y reseptörleri
Po	:Posterior talamik çekirdeği
PTZ	:Pentilentetrazol
ROS	:Reaktif oksijen türleri
S1po	:Perioral somatosensoryel korteks
sDDD	:DDD küme süresi
SEM	:Ortalama ± standart hata
SOD	:Süperoksit dismutaz
SPSS	:Statistical Package for Social Sciences
SWD	:Spike-wave discharges
TC	:Talamik çekirdekler
TM	:Transmembran protein
VPM	:Ventral postero-medial çekirdek

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 ILAE 2017 nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması	5
Şekil 2 İnsanda DDD EEG görüntüsü	8
Şekil 3 Absans epilepsinin kortikal odak teorisinin şematik gösterimi.....	12
Şekil 4 Glutamat sentezi.....	15
Şekil 5 NMDA reseptör modeli	17
Şekil 6 Pürinoseptörler	20
Şekil 7 P2X7R'nin yapısı ve ATP ile uyarılma süresine göre cevapları	24
Şekil 8 P2X7 reseptörü aktivasyonunu takiben mikroglia da meydana gelen sinyal iletim olaylarının şematik gösterimi	25
Şekil 9 P2X7R'nin genel stres cevabı	28
Şekil 10 Reaktif oksijen türleri oluşumu ve antioksidan mekanizmaları.....	31
Şekil 11 Sıçanın kafatasına uygun koordinatlarda vida ve eksternal kanül yerleştirilmesi işleminden sonra dental akrilikle sabitlenmesi.....	34
Şekil 12 Sıçanın kafatasına sabitlenen tripolar elektrod ile PowerLab Sistemi arasında bağlantı kurulması.....	35
Şekil 13 İntraserebroventriküler (i.s.v.) kanülden Hamilton mikroenjektör ile enjeksiyon işlemi.....	35
Şekil 14 LabChart yazılımı ile ECoG kayıtlarının dijital ortamda görüntülenmesi ve kaydedilmesi.....	36
Şekil 15 Çözücü grubunun ECoG kaydı örneği	41
Şekil 16 Çözücü grubunun küme sayıları yüzde değişiminin karşılaştırılması	44
Şekil 17 Çözücü grubunun küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	44
Şekil 18 Çözücü grubunun diken dalga sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	45
Şekil 19 Çözücü grubunun diken dalga amplitüdlерinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	45
Şekil 20 BzATP 50 µg i.s.v. grubunun ECoG kaydı örneği.....	46
Şekil 21 BzATP 100 µg i.s.v. grubunun ECoG kaydı örneği.....	47
Şekil 22 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	50
Şekil 23 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	50
Şekil 24 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, diken dalga sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	51
Şekil 25 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, diken dalga amplitüdlерinin yüzde değişiminin karşılaştırılması	51
Şekil 26 A-438079 20 µg i.s.v. grubunun ECoG kaydı örneği	53
Şekil 27 A-438079 40 µg i.s.v. grubunun ECoG kaydı örneği	55
Şekil 28 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	57
Şekil 29 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	57
Şekil 30 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, diken dalga sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	58

Şekil 31 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, kontrol grubuyla diken dalga amplitüdlerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.	58
Şekil 32 Memantin 5 mg/kg i.p. grubunun ECoG kaydı örneği	59
Şekil 33 Memantin, BzATP-memantin grubunun, A-438079-memantin grubunun ECoG kaydı örneği.....	64
Şekil 34 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.	66
Şekil 35 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.	67
Şekil 36 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, DDD sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	68
Şekil 37 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, diken dalga amplitüdlerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması	69



TABLO LİSTESİ

Tablo 1 Kontrol grubu bazal ECoG kaydı ve distile su uygulanması sonrası ECoG kaydından elde edilen kDDD (küme sayısı \pm SEM), sDDD (küme süresi \pm SEM) , nDDD (diken dalga sayısı \pm SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü \pm SEM) verilerinin her yirmi dakika için ortalama değerleri \pm SEM ..	42
Tablo 2 Kontrol ve çözücü (2 μ l i.s.v. distile su) uygulanması sonrası, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GSR) değerleri.	43
Tablo 3 BzATP 50 μ g ve 100 μ g i.s.v. doz gruplarından alınan kayıtların kDDD (küme sayısı \pm SEM), sDDD (küme süresi \pm SEM), nDDD (diken dalga sayısı \pm SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü \pm SEM) her yirmi dakika için ortalama \pm SEM değerleri	48
Tablo 4 BzATP grubu, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, protein oksidasyonu (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GSR) değerleri.	49
Tablo 5 A-438079 20 μ g i.s.v. grubu, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, protein oksidasyonu (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz(GSR) değerleri.....	54
Tablo 6 A-438079 20 μ g ve 40 μ g i.s.v. doz gruplarından alınan kayıtların kDDD (küme sayısı \pm SEM), sDDD (küme süresi \pm SEM), nDDD (diken dalga sayısı \pm SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü \pm SEM) bulgularının her yirmi dakika için ortalama \pm SEM değerleri.....	56
Tablo 7 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarından alınan kayıtların kDDD (küme sayısı \pm SEM), sDDD (küme süresi \pm SEM), nDDD (diken dalga sayısı \pm SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü \pm SEM) bulgularının her yirmi dakika için ortalama \pm SEM değerleri	60
Tablo 8 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin grupları, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, protein oksidasyonu (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GSR) değerleri.	62

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Epileptik nöbet, sinir hücrelerinde meydana gelen, geçici, anormal elektriksel deşarjlar sonucu görülen klinik bir durumdur. Epileptik nöbet gerçekleştiğinde, beynin etkilenen bölgesine göre hastada geçici bilinç kaybı, kas kasılmaları, tonus kaybı gibi farklı özelliklerde klinik belirtiler olmaktadır. Epilepsi, kendiliğinden tekrarlayan epileptik nöbetlerin olması durumudur. Epilepsi etkilenen kişinin hayatında fiziksel, sosyal ve psikolojik sorunlara yol açabilir. Dünya Sağlık Örgütünün verilerine göre dünyada 50 milyon epilepsi hastası olduğu sanılmaktadır (1). Kafa travması, beyinde kitle, enfeksiyon, genetik hastalıklar, metabolik bozukluklar gibi bir nedene bağlı ortaya çıkabilse de %60 oranında epilepsinin nedeni bulunamaz.

Çocukluk çağında ortaya çıkan en sık epileptik durum çocukluk çağı absans epilepsisidir (2). Absans epilepsi, davranışlarda ani duraksama ile birlikte bilinç kaybı şeklinde görülür. Hastanın vücut tonusunda bir değişiklik olmaz ve nöbet bittikten sonra hasta günlük hayatına kaldığı yerden devam eder, nöbet sırasında olanları hatırlamaz. Nöbet sırasında elektroensefalografi kaydı alındığı takdirde bilateral senkron 3 Hz frekanslı DDD'ler görülür (3). Absans epilepsinin nedeni henüz bilinmemektedir. İnsanlar üzerinde absans epilepsinin patofizyolojisini aydınlatacak çalışmalar yapmak etik olarak uygun olmayacağından çeşitli deney modelleri kullanılmaktadır. WAG/Rij sıçanlar kendiliğinden absans epilepsi benzeri nöbet geçiren hayvanlardır. Yapılan çalışmalar WAG/Rij sıçanlarda görülen nöbetlerin, insanlarda görülen absans epilepsiye klinik, nörofizyolojik ve farmakolojik açıdan benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur (4). Nöbetlerin oluşumunu ve gelişimini etkileyen birçok faktör WAG/Rij sıçanlarında yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur.

Yapılan çalışmalar, absans epilepsinin, beyinde, bilateral somatosensoriyel korteksin perioral bölgesinde bulunan, glutamaterjik odaklardan kaynaklandığını göstermektedir (5, 6). Bu bölgenin kortiko-talamo-kortikal devreyi (KTK) etkilediği düşünülmektedir. Talamustaki çekirdeklerde bulunan T tipi kalsiyum kanallarının aktivitesi patlayıcı salınımlara sebep olarak tipik DDD'lerin görünümüne sebep olur. Absans epilepsinin tedavisinde

kullanılan etosüksimid, bu kanallar üzerinden etki ederek absans epilepsiyi baskılamaktadır. Ancak bazı hastaların halen nöbetlerinin kontrol altına alınamamış olması absans epilepsinin patofizyolojisi hakkında bildiklerimizin yeterli olmadığını ortaya koymaktadır.

Pürinerjik reseptörlerin epilepsi hastalığında ve çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda etkin rol oynadığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (7-11). P2X7R yüksek konsantrasyondaki ATP'ye duyarlı seçici olmayan katyon kanalıdır. Birçok epilepsi modelinde etkili olan P2X7R'nin WAG/Rij sıçanlarda görülen absans epilepsi üzerine etkisi bilinmemektedir.

Glutamat beyinde en çok bulunan uyarıcı nörotransmitterdir. İyonotropik ve metabotropik reseptörleri vardır. Glutamatın NMDA reseptörleri iyon kanallarıdır ve hücre içine kalsiyum girişine izin vermesiyle dikkat çekmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar birçok epilepsi modelinde NMDA antagonisti memantinin etkili olduğunu göstermiştir. Geçerliliği kanıtlanmış absans epilepsi genetik modeli olan WAG/Rij sıçanlarda memantinin etkisi bilinmemektedir.

P2X7R'nin uyarılmasının glutamat salıverilmesine sebep olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (12, 13). Bunun yanında, glutamat artışı durumunda ortamda P2X7R'ne bağlanan ATP molekülü de artmaktadır (12, 14). P2X7R ve NMDA reseptörü hücre içine kalsiyum geçişine izin veren katyon kanallarıdır. Kalsiyum hem absans epilepsinin patofizyolojisinde rol almasıyla hem de hücre içi reaktif oksijen türlerini (ROS) arttırmasıyla önemli bir iyondur (15, 16). Ancak P2X7R ve NMDA reseptörlerinin WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteyi nasıl etkileyeceği merak konusudur ve birlikteliklerinin oksidan devreleri etkilemesi olasıdır. Bu nedenle P2X7R etkinliğini anlayabilmek için P2X7R agonisti BzATP ve antagonisti A-438079'yi, NMDA reseptör etkinliğini anlayabilmek için de memantini kullanarak bahsi geçen yolların etkilerini etkileşimini elektrofizyolojik ve biyokimyasal metodlarla araştırmayı amaçladık.

2 GENEL BİLGİLER

2.1. Epileptik Nöbet

Normal beyin fonksiyonu, uyarıcı ve baskılayıcı nöronların arasındaki dengeye bağlıdır. Nöbetler, bir grup nöronun hipersenkronize deşarjlarına bağlı beyindeki elektriksel aktivitenin ani ve geçici yükselmesidir. Nöbetler, kısa süreli, lokalize olaylardan oluşan birkaç klinik belirti şeklinde görülebileceği gibi, vücudun tonik-klonik konvulsiyonlarını üreten, uzun süren, bilateral klinik olaylara kadar pek çok farklı şekilde ortaya çıkabilir. Nöbetler başlangıç, gelişme ve sona sahiptir, ancak bu üç aşama birbirinden açıkça ayırt edilemez (17). Nöbetler bir hastalık değil, beyindeki uyarılma ve inhibisyon arasındaki dengesizliğin bir belirtisidir (18) . Nöbet insan hayatında çeşitli nedenlerle bir veya birkaç kez geçirilebilir.

2.2. Epilepsi

Epilepsi, tekrarlayan nöbetler ile karakterize, sinir sisteminin kronik bir hastalığıdır. Son çalışmalar epilepsinin toplam nüfusun %1'ini etkilediğini öngörmektedir (19, 20). Epilepsi tüm yaş gruplarındaki insanları etkilemektedir. Epilepsi çocukluk ve ergenlik çağında görülen en sık nörolojik hastalıktır, erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci nörolojik hastalıktır (1).

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği'ne (ILAE) göre epilepsinin tanımı aşağıdaki koşullardan herhangi birini gösteren bir beyin hastalığı olarak kabul edilmiştir (21).

1. En az iki provoke edilmemiş (veya refleks) nöbetin 24 saatten uzun arayla meydana gelmesi;
2. Bir provoke edilmemiş (veya refleks) nöbet geçirmiş olmak ve sonraki 10 yıl içinde başka provoke olmayan nöbet için yüksek riske sahip olmak;
3. Bir epilepsi sendromu tanısı olması.

Epilepsinin tedavisi semptomları gidermeye yöneliktir ve hastaların yaklaşık % 30'unda nöbetler mevcut ilaçlarla kontrol altına alınamamaktadır

(22). Kontrol edilemeyen nöbetleri olan hastalar yüksek oranda morbidite ve mortalite oranına sahiptir.

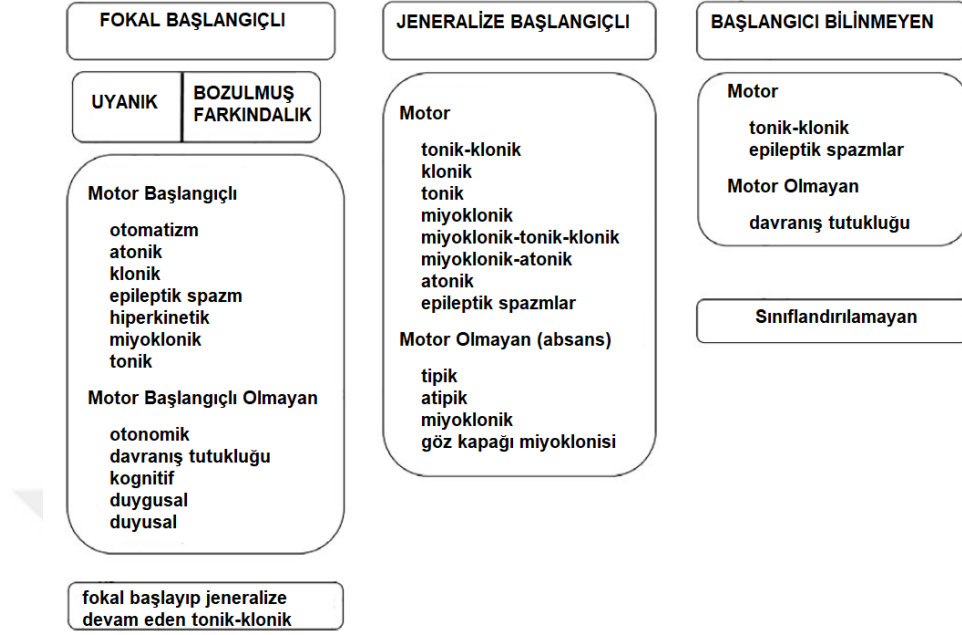
2.3.1. Epilepsinin etiyolojisi

İnsan beynini etkileyen genetik, yapısal, metabolik, immün, enfeksiyöz ve bilinmeyen sebeplerle epilepsi meydana gelebilir (23-25). Genetik nedenler bilinen en sık epilepsi nedenlerinden biridir. Ancak hastaların sadece azınlığında bilinen tek bir genetik mutasyon vardır; genellikle kalıtım multifaktöryeldir. Çocukluk çağı absans epilepsisi, çocukluk çağı miyoklonik epilepsisi gibi bilişsel yeteneklerin korunmuş olduğu hastalıkların etiyolojisinin, ikiz çalışmalarıyla genetik altyapıya sahip olduğu belirlenmiştir (26). Nedeni bilinmeyen epilepsiler tüm epilepsi etiyolojisinin %60'ını oluşturmaktadır (27).

2.3.2. Epilepsinin sınıflandırılması

Etiyolojinin, nöbet semiyolojisinin ve tedaviye yanıtın farklılıklarına bağlı olarak 40'ın üzerinde farklı klinik alt tip tanımlanmıştır. Bu nedenle, farklı nedenleri ve belirtileri, farklı nöbet tiplerini ve ayrıca çeşitli tanımlanabilir sendromları kodlamak için ILAE nöbetler, epilepsiler ve epilepsi sendromları için bir sınıflandırma sistemi oluşturmuştur (28). Bu sınıflandırma sistemi, klinisyenler ve hastalar arasındaki iletişimi kolaylaştırır ve araştırma topluluğu için kavramları belirler. Zaman içinde bu sınıflandırma sistemi yeni bilgiler ve daha açıklayıcı sınıflandırmalar oluşturmak için güncellenir. Son sınıflandırma anahtar bulgular ve belirtiler kullanılarak epilepsiyi fokal başlangıçlı, jeneralize başlangıçlı ve başlangıçlı ve başlangıçlı bilinmeyen olmak üzere üç ana gruba ayrılmıştır (29).

ILAE 2017 NÖBET TİPLERİ GELİŞMİŞ SINIFLANDIRMASI



Şekil 1 ILAE 2017 nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması (25).

Fokal nöbetler; nöbet odağı olan, beynin bir yarıküresinde lokalize bir bölgeden kaynaklanan nöbetlerdir. Fokal nöbetler bilincin açık veya bozulmuş olmasına göre iki alt gruba ayrılabilir. Spesifik olarak motor nöbetler ve motor olmayan nöbetler olarak da sınıflandırılabilir (29). Uyanıklık kişinin hareketsiz olsa bile, nöbet sırasında kendisinin ve çevrenin farkında olduğu anlamına gelir. Fokal uyanık nöbetler eski adıyla basit parsiyel nöbete karşılık gelir. Farkındalığın bozulduğu fokal nöbetler, kompleks parsiyel nöbetlere karşılık gelir ve nöbetin herhangi bir bölümünde bilinç bozulmuş olabilir. Nöbetin ilk belirgin işaretini yansıtan motor başlangıçlı ya da motor olmayan başlangıçlı nöbetler isteğe bağlı olarak bilinç durumuyla beraber adlandırılabilir (Şekil 1). Başlangıcı motor olmayan nöbetler, otonom, davranış tutukluğu, bilişsel, duygusal veya duyusal işlev bozukluğu şeklinde kendini gösterebilir. Fokal nöbetler bilateral tonik klonik nöbetlere dönüşebilir.

Jeneralize nöbetler; bir noktada başlayıp hızla iki yarım küreyi de etkileyen nöbetlerdir. Bilinç düzeyi, jeneralize nöbetler için bir sınıflandırıcı olarak kullanılmaz, çünkü jeneralize nöbetlerin büyük çoğunluğu, bozulmuş farkındalıkla ilişkilendirilir. Jeneralize nöbetler motor ve motor olmayan olarak

iki ana alt gruba ayrılmıştır (Şekil 1) (29). Jeneralize motor nöbet özellikleri; atonik, klonik, epileptik spazmlar, miyoklonik, miyoklonik-atonik, miyoklonik-tonik-klonik, tonik veya tonik-klonik şeklinde olabilir (Şekil 1) (25). Atonik nöbetler ve epileptik spazmlar genellikle belirli bir farkındalığa sahip değildir. Motor olmayan (absans) nöbetler tipik veya atipiktir veya belirgin miyoklonik aktivite veya göz kapağı miyoklonisi gösteren nöbetlerdir. Tipik absans nöbeti ani olarak aktivite ve farkındalığın kaybolmasıyla ortaya çıkar. Atipik absans nöbetler; yavaş başlangıç ya da sonlanma veya atipik yavaş DDD'lerle beraber tonusta değişiklik nedeniyle atipiktir (25).

Başlangıcı bilinmeyen nöbetler de motor ve motor olmayan olarak ayrılabilir. Şu an bilgi yoksunluğu sebebiyle bir sınıfta yer bulamamış olsa da başlangıcı bilinmeyen nöbetler ilerleyen dönemlerde fokal veya jeneralize nöbetler sınıflarına dâhil edilebilirler (25).

2.3.3. Elektroensefalogram

Hans Berger 1929'da insan saçlı derisinden beyin ürettiği elektrik akımlarını hassas galvanometreler kullanarak kaydedilebileceğini ve bunu kâğıt üzerinde grafikler halinde ifade edilebileceğini göstermiş ve bu yeni kayıt metoduna elektroensefalogram (EEG) adını vermiştir (30, 31). Ancak beyin aktiviteleri ilk olarak 1875 yılında Caton tarafından tavşanlardan pia mater üzerinden elde edilmiştir (30, 31). Beyin aktvitesinin bu şekilde pia mater üzerinden elde edilmesine elektrokortikogram (ECoG) denir. EEG olası epilepsili bir hastayı değerlendirmede önemli bir tanı testidir. EEG epilepsi tanısı için destek sağlayabilir ve aynı zamanda altta yatan epileptik sendromun sınıflandırılmasında da yardımcı olabilir (5, 6, 25, 30). EEG sonucu tanı koymada tek başına yeterli olmasa da, bazı olgularda nöbet tipi hakkında bilgi verebilir, bazı olgularda epilepsi sendromlarının tanısında ve prognoz tayininde yardımcı olabilir (25). Beynin elektriksel aktivitesini kaydetmek için birden fazla elektrod kullanılarak bu elektrodlar arasındaki potansiyel farkın ölçümü sağlanır. İnsanlarda saçlı deriye rutinde 16 kanallı kayıt yapacak şekilde elektrodlar yerleştirilir ancak daha küçük alanların değerlendirilmesi için daha fazla elektrod da kullanılabilir. İki elektrod arasında kalan serebral korteks alanındaki potansiyel farkın kaydedilmesi EEG'de bir kanal olarak

gözlenir. Kayıtta görülen dalgalar bu alandaki eksitator ve inhibitör postsinaptik potansiyellerin cebirsel toplamını ifade eder (25). Normal bir insanda saçlı deriden kaydedilen EEG potansiyellerinin frekansı genel olarak 1-30 Hz; amplitüdü ise 20-100 mikrovolt (μV) civarındadır (32). EEG dalgaları frekanslarına göre isimlendirilir, temel olarak beş gruba ayrılmaktadır: delta, teta, alfa, beta, gama (30, 33).

Delta dalgaları: Frekansı saniyede 4'ün altında olan dalgalar delta dalgaları olarak adlandırılır. Amplitüdü 20-200 μV civarındadır (33). Derin uykuda, çocuklarda ve ciddi beyin hasarı olanlarda görülür. Talamusla korteks arasındaki bağlantı kesildiğinde de görülen dalga tipidir. Bu nedenle bu dalganın yalnızca kortekste oluştuğu düşünülmektedir.

Teta dalgaları: Teta frekansı 4-7 Hz olan dalgalardır. Amplitüdü yaklaşık 20-100 μV 'dur (33). Çocuklarda beyin paryetal ve temporal bölgelerinde görülebilir. Erişkinlerde de duygusal streslerde ortaya çıkabilir. Bunun dışında beyin dejeneratif durumlarında gözlenir.

Alfa dalgaları: Berger ritmi olarak isimlendirilen Alfa dalgası, saniyede 8-12 Hz frekansında, 20-60 μV yüksekliğinde ritmik dalgalardır (30, 33). Oksipital bölgede en güçlü olmakla birlikte parietal ve frontal bölgelerde de görülür. Normal sakin bir bireyde, sessiz bir odada gözler kapalı, zihin ve beden tam istirahat halindeyken kaydedilir. Gözler açıldığında bu ritim kaybolur; bu duruma alfa blokajı denir. Uyku sırasında görülmez. Alfa dalgalarının görülebilmesi için talamusla korteks arasındaki bağlantıların sağlıklı olması gerekmektedir.

Beta dalgaları: Beta dalgaları 13-30 Hz frekansında ve 2-20 μV civarı amplitüde sahip düzensiz bir dalgalardır (30, 33). En belirgin frontal bölgede görülür. Zihinsel aktivite artışında belirgin hale gelirler. Beyin hasarı olması durumunda görülmez.

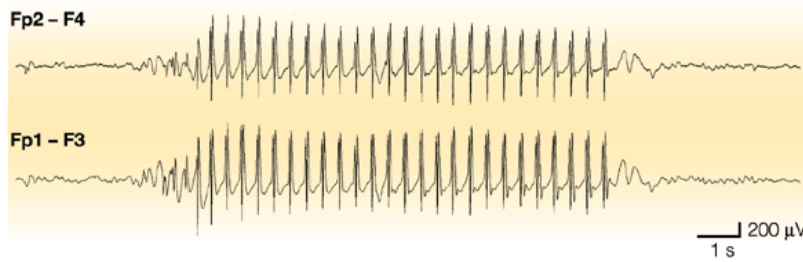
Gama dalgaları: Frekansı 30 Hz ve üzeri dalgalar gama ritmi olarak adlandırılır (33). Somatosensoryel kortekste görülür. 40 Hz gama frekansının, iyi bir hafıza ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

2.4. Absans Epilepsi

Absans epilepsi, çocukluk çağında görülen konvulsif olmayan jeneralize epilepsi türüdür. İlk olarak 1705'te Poupert tarafından absans nöbetler tanımlanmıştır (34). 1770'de Tissot tarafından küçük nöbet anlamına gelen "petitis acces" terimi kullanılmış ve farklı bir kategoride değerlendirilmiştir (34). 1824'te Calmeil tarafından "absans nöbetler" olarak adlandırılmıştır (34, 35). Absans nöbetlerde davranışlarda ani duraksama, bilinç ve hafıza kaybı görülür ve genellikle 5-30 saniye sürer. Bu sırada yapılan EEG kayıtlarında DDD'ler görülür (5, 34). Dışarıdan bakıldığında hayal kuran biri gibi görünür, bu nedenle piknölepsi de denmektedir. Nöbet öncesinde aura görülmez nöbet sonrasında ise tüm aktiviteler geri döner ve nöbet süresince olanlar hatırlanmaz. Gün içerisinde birkaç kez nöbet görülebileceği gibi günde 50-100 defa da görülebilir. Nöbetler 1-2 dakikalık hiperventilasyonla uyarılabilir ve şiddetli ses ve ışıkla sonlandırılabilir (36).

2.4.1. Absans epilepsinin EEG özellikleri

Absans epilepside nöbet sırasında EEG'de bilateral, senkronize, simetrik 2,5-3,5 Hz frekanslı 100-1200 mV amplitüdü DDD'ler görülür (Şekil 2) (37, 38). Elektroensefalografi ve Klinik Nörofizyoloji Terminoloji Komitesi (IFSECN) tarafınca diken ve yavaş dalga kompleksi; "bir yavaş dalganın takip ettiği diken içeren patern" olarak tanımlanmaktadır (39). DDD'ler beynin her yerinden kayıt edilebilir ve kümeler halinde ortaya çıkma eğilimindedir.



Nature Reviews | Neuroscience

Şekil 2 İnsanda DDD EEG görüntüsü (40)

İnsanda görülen absans epilepsinin iyi birer genetik modeli olan WAG/Rij ve GAERS sıçanlarda DDD'ler insanlara göre daha yüksek frekansa

(7- 11 Hz) sahiptir. DDD'lerin diken frekansının retiküler talamik çekirdeğin (NRT) ritmik depolarizasyonlarıyla belirlendiği öne sürülmektedir (41).

2.4.2. Absans epilepsinin sınıflandırılması

Absans epilepsi jeneralize başlangıçlı motor olmayan nöbetler sınıfındadır (25) ve 4 grupta incelenir:

- 1- **Tipik absans nöbet:** Nöbetler ani başlangıçlıdır, devam eden davranışların kesintiye uğraması, boş bakış, muhtemelen gözlerin kısa bir yukarı sapması şeklinde gözlenir. Hasta sorulara cevap vermez. Birkaç saniye ile yarım dakika arasında sürer. Her zaman mevcut değildir ancak nöbet sırasında EEG çekimi gerçekleştirildiğinde karakteristik epileptiform deşarjlar görülür (25).
- 2- **Atipik absans nöbet:** Tipik absana göre başlangıcı ve sonlanması yavaştır. Vücut tonusunda değişiklikler söz konusudur. Yavaş jeneralize DDD'ler görülür (25).
- 3- **Miyoklonik absans nöbet:** Saniyede 3 kez ritmik miyoklonik kasılma ve buna eşlik eden DDD'ler görülür. 10-60 saniye sürer. Bilinç kaybı net olmayabilir. Genetik hastalıklarla birliktelik gösterebilir (25).
- 4- **Göz kapağı miyoklonisi:** Göz kapaklarında miyoklonik çekilmeler görülür ve gözler genellikle yukarı kaymıştır. Sıklıkla göz kapama ve ışıkla tetiklenir. Göz kapağı miyoklonisi absansla ilişkili olabileceği gibi diğer motor nöbetlerle de ilişkili olabilir bu nedenle sınıflandırması zordur. Göz kapağı miyoklonisi ve nöbetler veya göz kapamayla alevlenen EEG bulguları ve fotosensitivite Jeavons sendromunun triadını oluşturur (25, 42).

2.4.3. Absans epilepsinin epidemiyolojisi

Absans epilepsi çocukluk çağı epilepsilerinin en sık görülenidir. Çocukluk çağı epilepsilerinin % 12'sini oluşturur (43, 44). İsveç'te yapılan bir çalışmada 6,8/100.000 (3); Güneybatı Fransa'da yapılan bir çalışmada 8/100.000 insidansa sahip olduğu görülmüştür (45). Kızlarda erkeklerden daha yüksek prevalansa sahip olduğunu gösteren çalışmalar vardır (46).

2.4.4. Absans epilepsi etiyolojisi

Aile ve ikiz çalışmaları tarafından absans epilepsinin nedeninin genetik bozukluklar olduğu öne sürülmüş olsa da, tipik bir absans epilepsi fenotipinde güvenilir bir şekilde ortaya çıkan net tek gen defekti henüz belirlenememiştir. Aile çalışmaları, absans epilepsili hastaların birinci derece akrabalarında tipik absans nöbeti olma riskini yüzde 17'sini göstermektedir (47) ve monozitik hastalarda absans epilepsi için uyum oranı, dizotik ikizlere göre daha yüksektir (26). Herhangi bir dış etkenle absans epilepsi arasında bir bağlantı olup olmadığı bilinmiyor.

Çalışmalar gama-aminobütirik asit A (GABA-A) reseptörleri (48), gama-aminobütirik asit B (GABA-B) reseptörleri (49, 50), kalsiyum kanalları (49-51) veya klorür kanallarının çeşitli alt birimlerini hedef göstermektedir (52, 53).

Absans epilepsinin iyi tanımlanmış genetik modelleri olan WAG/Rij sıçanlar ve GAERS sıçanlar inbred olarak üretilen hayvanlardır (54). Bu hayvanlarda nöbetler cinsiyet arasında fark göstermez. WAG/Rij sıçanlarda 5. ve 9. kromozun belirli gen bölgelerinin absans oluşumuna etkisi tanımlanmış olsa da hayvanlar arasında bulunan farklılıkların, tek bir gen bozukluğundan kaynaklanma olasılığının düşük olduğu ve epigenetik mekanizmaların da etkili olduğunu ortaya koymaktadır (55, 56).

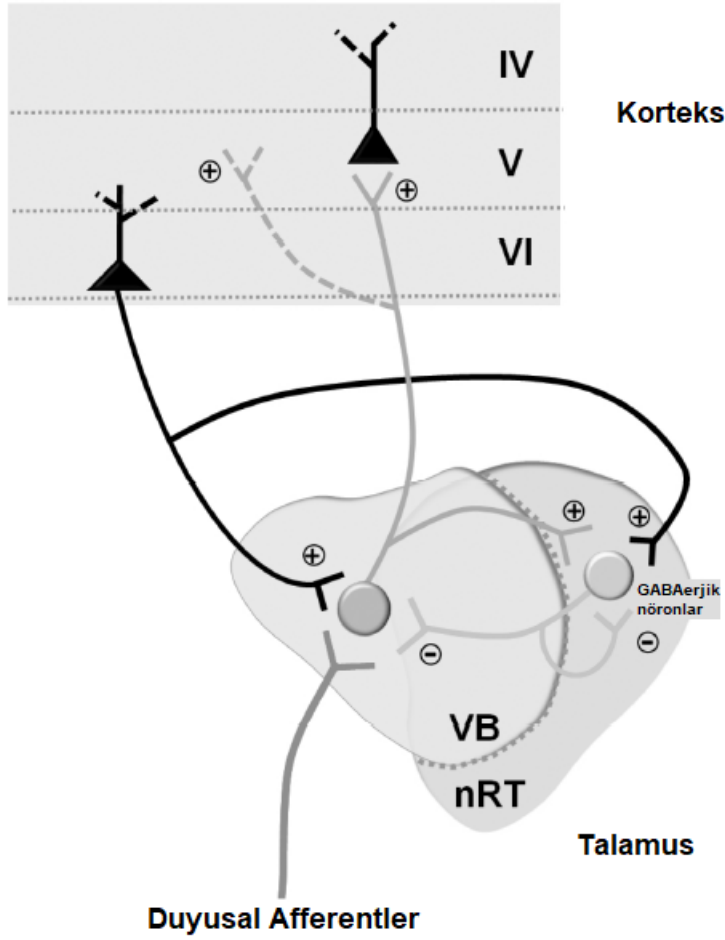
2.4.5. Absans epilepsinin prognozu

Çocukluk çağı absans epilepsisi genellikle pubertede kendiliğinden sonlanma eğilimindedir ve iyi bir antiepileptik ilaçla takip edilerek kontrol altına alınabilir (57). Nöbetlerin beyindeki lezyonlarla ilişkili olması, geç başlangıç ve atipik DDD görülmesi kötü prognoz işaretleridir.

2.4.6. Absans epilepsinin patofizyolojisi:

Absans epilepsinin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Absans epilepsi oluşması için ilk nöbetin ortaya çıkmasından önce nöronlarda oluşan bazı adaptif ve plastik değişikliklerin, absans epileptojenezine yatkınlık sağladığı düşünülmektedir (5).

Beynin ilgili bölgeleri: KTK nöron ağının absans epilepside görülen DDD'lerin üretildiği yer olduğu görüşü yaygın olarak kabul görmüştür (58-60). Ancak yeni birçok çalışmaya göre perioral somatosensoryel korteksin (S1po) derin katmanları içinde (korteksin V ve VI'ncı tabakaları), iki taraflı olarak mevcut, uyarılmaya meyilli, odak alanı, nöbet başlangıç bölgesi olarak tanımlanmıştır (6, 55, 58, 61, 62). S2 veya insüler kortekse yakın bölgeleri odak olarak gösteren hayvan çalışmaları da vardır (63). Aynı zamanda fokal kortikal başlangıç bölgesinin, fronto-temporal kortikal bölgelerde olduğu, bazı EEG, magnetoensefalogram ve EEG-fonksiyonel manyetik rezonans çalışmalarında absans epilepsisi olan çocuklarda tanımlanmıştır (64-66). Bu bölgeler daha sonra, KTK ağda nöroadaptif değişiklikleri tetikleyebilir ve bu da hipereksite bölgedeki nöbetlere cevap verebilir. Benzer olaylar, GAERS gibi diğer kemirgen genetik modellerinde de görülebilir (67). Kortikal bir odağın varlığı iki taraflı senkronize DDD'lerin tam gelişmiş üretimi için yeterli değildir, iki taraflı senkronize DDD'lerin oluşması için sağlam bir KTK ağ şarttır (5).



Şekil 3 Absans epilepsinin kortikal odak teorisinin şematik gösterimi (VB: Ventrobasal talamik çekirdek; nRT: Retiküler talamik çekirdek) (68)

Absans epileptojenezinde kritik olarak rol oynayan üç farklı fazı teorik olarak tanımlayabiliriz (Şekil 3) (5):

1. Fokal bölgenin oluşumuna yol açan genetik beyin değişikliği;
2. Fokal aktivitenin başlaması ve nöbet geçirmeyen DDD'siz diğer beyin bölgelerini uyarması;
3. İlk nöbetin oluşmasından tam ağ olgunlaşması süreci, DDD'lerin kronik stabil ekspresyonunun oluşması.

Somatosensoriyel kortekste ortaya çıkan ilk güçlü uyarıcı aktivite, ventral-postero-medial (VPM) ve posterior talamik çekirdeği (Po) içeren duyuusal talamik çekirdeğe yöneliktir.

Talamus duyuusal çekirdeklerinde bulunan röle nöronlarından çıkan elektriksel uyarılar iki tiptir; tonik ve patlayıcı. Bu nöronlarda T tipi kalsiyum kanalları bulunur. Patlayıcı modda T tipi kalsiyum kanallarından kalsiyum akışı gerçekleşir ve bu akım düşük eşik değerli diken dalga tipi (Low threshold spike; LTS) depolarizan dalga oluşturur. Bu da genellikle aksiyon potansiyeline dönüşür. Bu bilgi kortekse ulaştığında korteksteeki odağı yeniden aktive eder ve DDD oluşumu için gerekli olan KTK ağın oluşumunu sağlar (69, 70). Eğer bir röle hücresi 100 ms üzerinde depolarize olursa T tipi kalsiyum kanallarından kalsiyum akışı durur ve hücre tonik modda uyarı çıkarır (71).

Bunun yanı sıra talamokortikal nöronlar, inhibitör NRT'ye kollateralleri aracılığıyla eksitatör uyarı gönderir. NRT'nin aktivasyonu, NRT'den talamik çekirdeklerdeki röle nöronları üzerine GABAerjik çıktının artmasına neden olur ve bu da biraz daha hiperpolarizasyona sebep olur (5). Kortikal hipereksitasyonun yanında, talamokortikal rölelerinin artmış bir tonik inhibisyonu, absans nöbetlerin oluşumu için bir başka anahtar rol olarak tanımlanmıştır (72, 73).

DDD'lerin oluşumunun dikkat durumu ile de ilgili olduğu göz önüne alındığında, yukarıda açıklanan talamik çekirdeklerin yanında, intralaminar talamik çekirdeklerin de DDD oluşturma ve sürdürülmesinde rol oynadığı öne sürülmüştür (74). Son olarak, substantia nigra ve hipokampus gibi yapıların KTK döngüsünün DDD'lerin ifadesi üzerinde düzenleyici kapasitelere sahip olduğu gösterilmiştir (75, 76).

2.4.7. Nörotransmitterlerin epileptojezdeki rolü

GABA

Gama amino bütirik asit (GABA) beynin temel inhibitör nörotransmitteridir. Glutamik asit karboksilaz tarafından glutamatın metabolize edilmesiyle sentezlenir. İki reseptörü vardır: GABA A reseptörleri (GABA_A)

iyonotropik reseptörler olup hücre içine klor girişine izin verirler. GABA B reseptörleri ($GABA_B$) ise metabotropik reseptörler olup potasyumun hücre dışına çıkışını arttırırken kalsiyum kanallarını kapatır. GABA'nın absans epilepside DDD'lerin oluşumu ve kontrolüne katılımı yaygın olarak kabul edilmektedir (12).

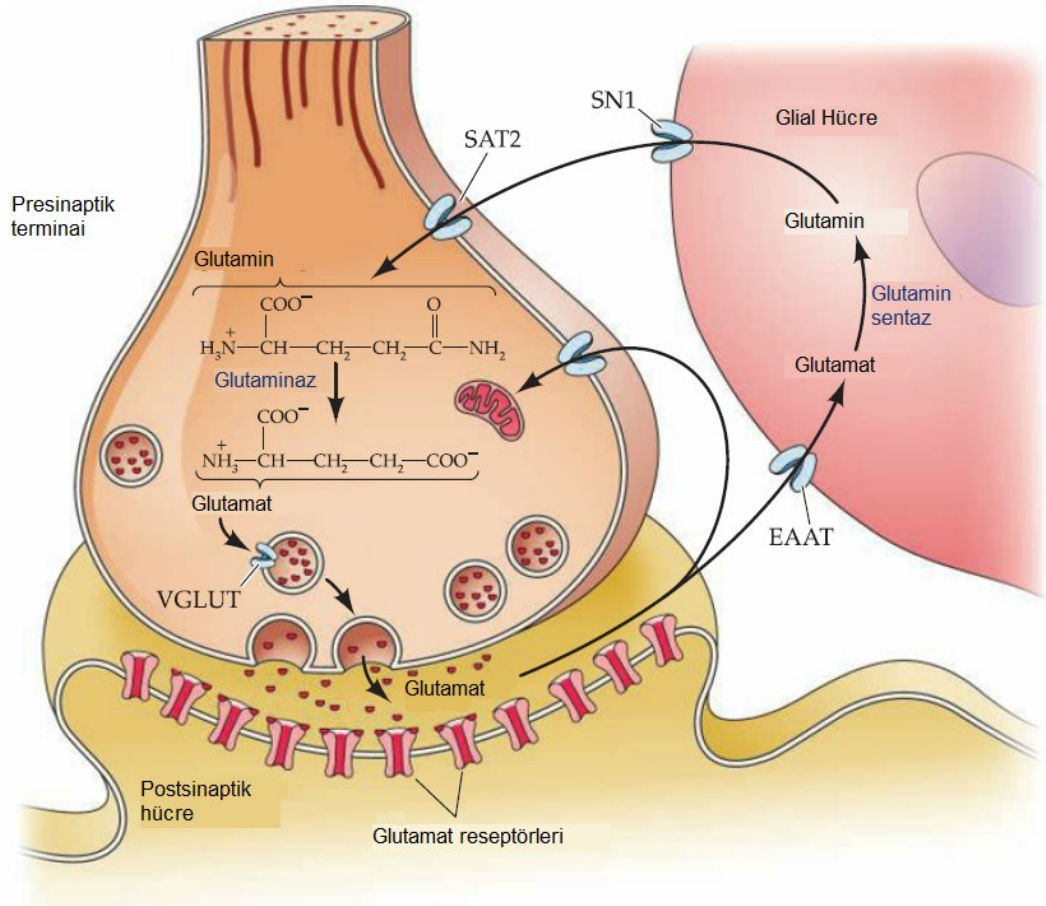
GABA aracılı mekanizmalar, KTK sistem içerisinde kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır ve hem $GABA_A$ hem de $GABA_B$ 'nin DDD oluşumunda yer aldığına dair kanıtlar gösterilmiştir (55). NRT'deki GABAerjik nöronların talamusun özel röle çekirdeklerine etkisi, absans nöbetlerinin gelişiminde ve düzenlenmesinde rol oynamaktadır. İlginç bir şekilde, $GABA_A$ ve $GABA_B$ kaynaklı iletkenlikler arasındaki dengenin DDD'lerin kontrolü için gerekli olduğu öne sürülmüştür (77).

Çalışmalar, absans nöbetler sırasında, talamik çekirdek nöronlarında, her DDD oluşumunda $GABA_A$ 'nın aracılık ettiğini, DDD'lerin, $GABA_B$ 'nin önemli bir katkısı olmadan da oluşabileceğini, göstermektedir (78). Değişmiş $GABA_A$ fonksiyonu, WAG/Rij sıçanlarının serebral korteksinde ve talamusunda tanımlanmıştır ve absans epilepsinin anormal beyin durumlarına etkisi bulunabilir (79). NRT'de ve somatosensoriyel korteksin periferik bölgesinde GABAerjik inhibisyonun lokal olarak arttırılması, DDD'lerde bir azalmayla sonuçlanır, bu da absans epilepside kortekste çok az GABAerjik inhibisyon olduğunu gösterir (72, 80, 81). Vigabatrin ve tiagabin gibi beyindeki GABA aktivitesini arttıran ilaçlar absans epilepsi nöbetlerinin tedavisinde kontraendikedir (82).

Glutamat

Glutamat beyinde bulunan en önemli uyarıcı özellikte nörotransmitterdir. Mitokondriyel glutaminaz enzimi tarafından glutaminin metabolize edilmesi sonucu glutamat sentezlenir (83). Glutaminin presinaptik terminale girişi sistem A transporter 2 sayesinde gerçekleşir. Aynı zamanda glukoz metabolizmasını aktif kullanan nöronlar da Krebs döngüsünün elemanı olan 2-oksoglutaratın transaminasyonu ile glutamat sentezleyebilir (83). Sentezlenen glutamat veziküller glutamat transporterlar aracılığıyla sinaptik

veziküllere depolanır. Glutamat presinaptik terminalden saliverildikten sonra eksitator aminoasit transpoterlar aracılığıyla sinaptik aralıktan glialar tarafından uzaklaştırılır. Glialar glutamati glutamin sentaz aracılığıyla glutamine dönüştürür. Oluşan glutamin sistem N transpoter aracılığıyla gliadan saliverilir ve presinaptik terminale geri alınır (Şekil 4) (83).



Şekil 4 Glutamat sentezi (EAAT: Eksitator aminoasit transpoter, SAT2: Sistem A transpoter 2, SN1: Sistem N transpoter, VGLUT: Veziküler glutamat transpoter)(83).

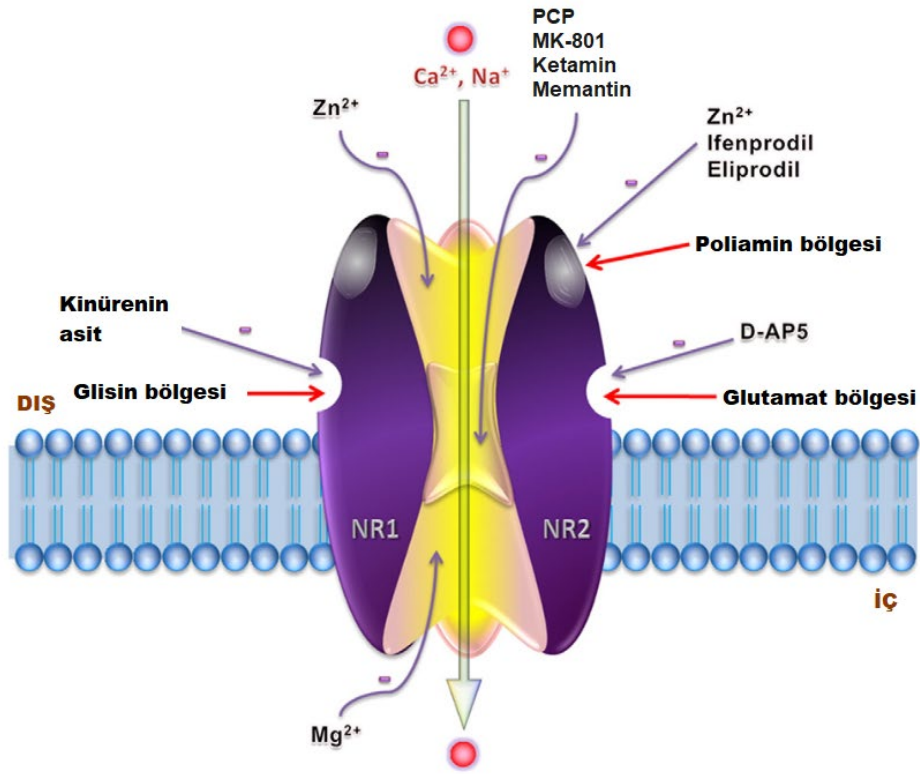
Glutamatın sinaptik aralığa çıkışı veziküler yolla olabileceği gibi veziküler olmayan yolları da vardır. Birçok faktör glutamat saliverilmesini etkileyebilir. Bunlardan biri P2X7R aktivitesidir (12). P2X7R'nin kalsiyuma geçirgen olması veziküler saliverilmesini etkileyebileceği gibi veziküler olmayan yollardan da glutamat saliverilmesini arttırdığı gösterilmiştir (12, 84).

Glutamat reseptörleri iyonotropik ve metabotropik olmak üzere iki grupta toplanır. N-metil-D Aspartat (NMDA), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-

propionik asit (AMPA) ve kainat reseptörleri iyonotropik glutamat reseptörleridir. Glutamatın 8 tane de metabotropik reseptörü vardır (mGlu1-8) NRT'nin glutamaterjik NMDA ve AMPA reseptörleri yoluyla uyarılması, senkronize talamik osilasyonlar için esastır (60). NMDA ve AMPA glutamat reseptörleri DDD'lerin başlatılması ve sürdürülmesi mekanizmalarında rol oynayabileceğini gösteren çalışmalar vardır (77, 85). Deneysel absans nöbetlerinde uyarıcı nörotransmisyon ile ilgili veriler, DDD'lerin üretiminde glutamaterjik yolların dâhil olduğunu düşündürmektedir.

NMDA reseptörleri kalsiyuma, sodyuma ve potasyuma geçirgendir ve nöronlar üzerinde postsinaptik yerleşim gösterir (86). Aynı sinapsta NMDA reseptörleri yanında Kainat ve AMPA reseptörleri de bulunur ve sinaptik membranın hızlı depolarizasyonunu sağlar (87). Depolarize membranda yavaş aktive olan NMDA reseptörünün çalışması kolaylaştırır. Elektriksel depolarizasyon, NMDA reseptör aktivasyonunun iyon kanalları üzerindeki etkisini artırır (87).

NMDA reseptörleri, GluN1 genini ve dört GluN2A-D genini içeren bir gen ailesi tarafından kodlanır (88). Glisin bağlayıcı bölge olan NR1 alt birimi tek tiptir her NMDA reseptörü iki GluN1 alt birimi ve iki farklı GluN2 alt birimi türü içerir ve NMDA reseptörü alt birim genleri, NR1, NR2A-D olarak adlandırılır (Şekil 5) (88).



Şekil 5 NMDA reseptör modeli: Agonistler ve antagonistler için bağlanma yerlerini gösterir (86).

AMPA, kainat ve NMDA reseptörleri, merkezi bir por etrafında düzenlenmiş dört alt üniteli tetramerik proteinlerdir. NMDA reseptörü kanalının açılması için kofaktör olarak glisine ihtiyaç duyar (Şekil 5). Aynı zamanda kanalın açılması liganda ve voltaja bağımlıdır. İstirahat membran potansiyelinde kanala magnezyum iyonu (Mg^{+2}) bağlıdır, ancak hücre zarı depolarize olduğunda Mg^{+2} ayrılır ve katyon geçişine izin verir. Memantin, NMDA reseptör ilişkili kanallardaki Mg^{+2} bölgesinin yanına bağlanır. Kronik eksitotoksik hasar sırasındaki uzun depolarizasyon sürecinde reseptörden Mg^{+2} kadar kolay ayrılmaz (89).

NMDA reseptörleri hücre içine sodyum ve kalsiyum girişine ve potasyum çıkına aracılık eder.

NMDA reseptörlerinin fazla uyarılması hücre içi kalsiyum miktarını artırır. Son çalışmalar, farklı NMDA reseptörü alt gruplarının, mitojenle aktifleşen protein kinaz (MAPK) kaskadı üyelerinin bazılarının (Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK)/ c-Jun N terminal kinaz (JNK) gibi) aktive

edilmesi için kritik öneme sahip olduğunu ve dolayısıyla nöronal sağkalım sinyalleme üzerinde etkili bir rol oynayabileceğini göstermektedir. NMDA bu yolakları sadece hücre içine kalsiyum girişini artırarak değil altbirimlerine bağlı terminallerde bulunan enzimlerin de etkisiyle gerçekleştirmektedir. Bu nedenle NMDA reseptörlerinin bu etkileri NR2A veya NR2B alt tiplerinden hangisinin uyarıldığıyla ilgili farklı etki gösterebilmektedir. Etkide reseptör yerleşimine göre de farklılıklar ortaya çıkmaktadır (90). NMDA reseptörü ayrıca hücre içi kalsiyum artışına yanıt olarak siklik AMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) fosforilasyonunu artırıp plastisiteye, sağkalım ve anti-apoptotik gen transkripsiyonuna yol açtığı gösterilmiştir (90).

WAG/Rij sıçanlarda korteksin özellikle talamus ve NRT'ye ana giriş-çıkış bağlantılarını içeren IV, V ve VI katmanlarında da NMDA reseptör NR1 alt biriminde yaşa bağlı bir azalma gözlenmiştir (91). Henüz tam DDD aktivitesi göstermeyen 3 aylık WAG/Rij sıçanlarda, düşük miktarda NMDA ve AMPA GluR4 reseptörlerinin DDD aktivitesinin oluşmasında etkili olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca hem 2 aylık hem de 6 aylık WAG/Rij sıçanlarında NMDA reseptörlerinin somatosensoryel korteksin çeşitli tabakalarında NR2B alt biriminin, özellikle genç hayvanlardaki, aynı yaştaki Wistar sıçanlara kıyasla daha düşük bulunmuştur (92). İntraserebroventriküler (i.s.v.) NMDA enjeksiyonları, WAG/Rij sıçanlarında DDD sayısını artırırken, NMDA reseptör antagonistleri bu süreçte DDD sayısını azalttığı gösterilmiştir (93, 94).

Memantin (1-amino-3,5-dimethyl-adamantane) düşük afiniteli, yarışmalı olmayan bir NMDA reseptör antagonistidir. Yapılan çalışmalarda hayvan modellerinde kognisyon ve öğrenme üzerinde pozitif etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle son 15 yıldır, özellikle Alzheimer hastalığı olmak üzere birçok demans türü üzerinde etkinliği kanıtlanmıştır ve yan etkileri oldukça azdır. Memantin sığıçanlarda spontan absans benzeri aktiviteleri azalttığı gösterilmiştir (95).

AMPA ve kainat reseptörleri açıldıklarında hücre içine sodyumun ve hücre dışına potasyumun geçişine izin veren iyon kanallarıdır. AMPA reseptörü ayrıca hızlı uyarıcı nörotransmisyona aracılık eder. AMPA, GluA1, GluA2,

GluA3 ve GluA4 alt birimlerinden oluşan bir hetero oligomerdir (96). Ayrıca, WAG/Rij sıçanlarının NRT'sinde AMPA-GluA4 alt birimlerinin sayısal yoğunluğunda yaşa bağlı bir artış bulunmuştur. Ekstrasomal AMPA-GluA4 reseptörlerinin DDD'lerin görünümü ile ilişkili olduğu görülmüştür (88). Ventrikül içine uygulanan yüksek dozda AMPA, DDD'lerde doza bağlı bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (93). AMPA antagonistleri NRT ve somatosensoriyel kortekste perioral bölgeye uygulandığında DDD'lerde önemli bir azalmaya sebep olurken talamusun bazı diğer çekirdeklerine uygulanmasıyla DDD'de bir değişikliğe sebep olmamıştır (81). Bu bulgulara rağmen, sistemik olarak uygulanan AMPA antagonistleri, sadece en yüksek dozda DDD'de azalmaya sebep olmuştur (77).

2.5. Bir Nörotransmitter Olarak ATP

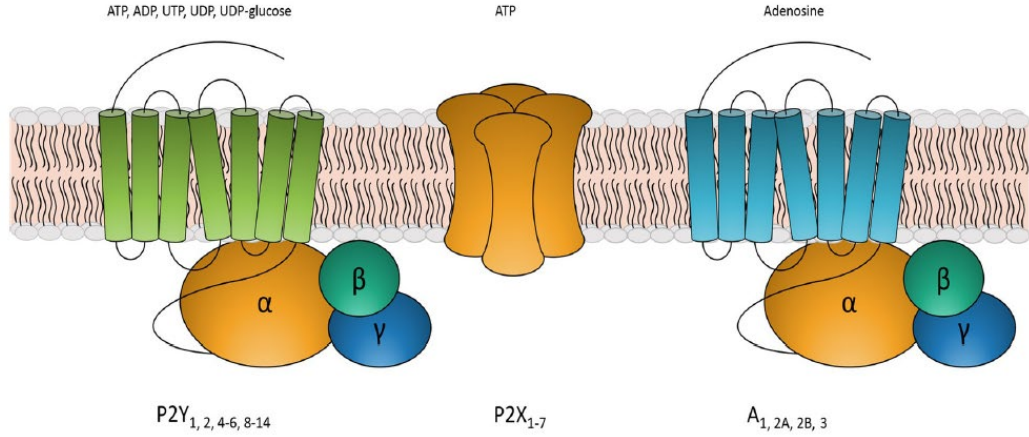
ATP'nin 1929'dan beri hücrenin ana enerji kaynağı olduğu biliniyor. Ancak 1972'de Geoffrey Burnstock ATP'nin nörotransmitter olarak görev yapabileceğini ortaya koymuştur. ATP tek başına bir nörotransmitter olarak ya da kotransmitter olarak santral ve periferik nöronlardan ve astrositlerden salıverilmektedir (97). ATP, diğer klasik nörotransmitterler ile birlikte hemen hemen her sinaptik ve salgı vezikülünde depolanabilir veya yalnızca ATP'ye ait veziküllerde bulunabilir (98-100).

2.5.1. ATP salıverilme mekanizmaları

ATP'nin hücre dışına nasıl salıverildiğini ortaya koymak için birçok potansiyel mekanizma önerilmiştir. Ölmekte olan hücrelerden ATP salıverilmesi için olası bir mekanizmanın bir sızıntı veya bir taşıyıcı veya kanal aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (98). Normal koşullar altında, ATP ve diğer nükleotitler, bir kez serbest bırakıldığında, ektonükleotidazlarla farklı bozunma ürünlerine hızlı bir şekilde indirgenir (101). Ektonükleotidazlar, hücrelerin plazma zarlarında lokalize nükleotit metabolize edici enzimlerdir. ATP'nin sinaptik aralıktaki aktivitesi, salıverilen miktarla hücre dışı alanda enzimatik bozulma arasındaki dengeye bağlıdır (101).

2.5.2. Pürinerjik reseptörler

1972'de, purinerjik kotransmitter kavramı tanınmaya başlandıktan sonra ATP'ye ve adenosin duyarlı iki purin reseptör ailesi belirlendi; P1 reseptörleri (adenozine duyarlı) ve P2 reseptörleri (101).



Şekil 6 Pürinoseptörler (102)

P1 reseptörlerinin tümü, G proteinine bağlı ve adenosin tarafından aktive edilen metabotropik purinerjik reseptörlerdir. A₁, A_{2A}, A_{2B} ve A₃ adında dört tip vardır ve bunlar, nörotransmitter serbest bırakma düzenlemesi dâhil olmak üzere çeşitli hücrel tepkilere aracılık eder (103). Adenosin, nöronal ağ aktivitesinde düzenleyici işlev görür ve yokluğu epilepsi ile ilişkilendirilmiştir (104).

A₁ reseptörü genellikle eksitator nöronların presinaptik bölgelerinde bulunur ve aktive olduklarında glutamat gibi nörotransmitterlerin salıverilmesini azaltarak uyarıyı azaltıcı etki yapar (105). A_{2A} reseptörü aktivasyonunu A₁ reseptörünün inhibisyonuna yol açarak uyarıcı etkiye yol açabilmektedir (106). A_{2B} reseptörü, beynin birçok yerinde düşük bir yoğunlukta bulunduğundan nöron-glia etkileşimine katkı sağladığı düşünülmektedir (107). A₃ reseptörleri, patolojik koşullar altında, yüksek adenosin seviyelerine duyarlı, inhibe edici reseptörlerdir (108).

P2 reseptörleri

ATP'ye duyarlı pürinerjik reseptörlerdir. P2X reseptörleri ionotropik ve P2Y reseptörleri metabotropik özellikteki reseptörlerdir (Şekil 6). Her iki

purinerjik reseptör de santral sinir sisteminde yaygın şekilde dağılmıştır ve astrositler, oligodendrositler ve mikroglia dâhil olmak üzere nöronlar ve glia tarafından eksprese edildiği gösterilmiştir (97).

P2Y reseptörleri (P2YR) G proteinlerine bağlı reseptörlerdir ve 14 farklı P2YR (P2Y1R-P2Y14R) vardır. G proteinin $G\alpha$, G_i , ve G_q alt tiplerinin üçüyle de beraberlik gösterebilir. ATP, ADP, UDP gibi nükleotitlerin bağlanabileceği yapısal farklılıkları vardır (109). P2YR aktivasyonu, nörotransmisyonunda, hücre büyümesi, inflamatuvar süreçler ve apoptoz da dâhil olmak üzere pek çok fizyolojik ve patofizyolojik hücre yanıtında çeşitli basamakların düzenlenmesinde rol alır (109-111).

P2X reseptörleri (P2XR), P2X1R-P2X7R olarak adlandırılan yedi ATP'ye duyarlı, seçici olmayan katyon kanalının bir alt ailesidir. Yapısal olarak, her bir P2XR, iki transmembran alan, büyük bir hücre dışı domen ve hücre içi N ve C terminallerini içerir (112). Fonksiyonel P2XR, her bir alt birimde ATP ve allosterik düzenleme için bağlanma alanları içeren, homomerik veya heteromerik trimerlerden oluşur. P2XR'de ATP için yüksek oranda korunan üç bağlanma bölgesi bulunur, ancak kanalların açılmasına izin verecek yapısal değişikliklerin olması için 2 ATP yeterlidir.

P2XR, 3 aşamalı bir geçiş düzenine sahiptir:

1. Aktivasyon aşaması: ATP'nin bağlanması iç akımın hızlı bir şekilde artmasına neden olur.
2. Duyarsızlaştırma aşaması: ATP'nin kalan ortamda bulunmasıyla iç akımın hızında azalma
3. Deaktivasyon aşaması: ATP'nin ayrılmasından sonra başlar ve hızlı akımların azalmasına neden olur.

Reseptörler arasındaki temel ayrım, bu üç fazdaki farka, farklı depolarize edici cevaplara ve farklı agonistlere duyarlılığa göre yapılıdır (112-114). Tüm P2X reseptörleri, Na^{+1} ve Ca^{+2} geçirgenliği de dâhil olmak üzere küçük katyonlara, monovalentlere veya iki değerlikli maddelere karşı

geçirgendir. P2X reseptörlerinin esas etki ettiği katyonun Ca^{+2} konsantrasyonundaki artış olduğu düşünülmektedir (112, 114).

ATP hücre dışına bırakıldıktan sonra, P2XR'ye bağlamak için sadece birkaç milisaniyesi vardır. Homomerik P2X1R ve P2X3R hızlı bir şekilde duyarsızlaşmış akımlar gösterirken, P2X4R ve P2X2R akımları daha uzun ömürlüdür (112, 113). ATP'nin bağlanmasıyla en uzun iyon akımını sağlayan P2X7R'dir; bağlanmasından sonra birkaç dakika süren iyon akımları sağlar (115). ATP'ye duyarlılık ayrıca reseptörler arasında da farklılık gösterir; örneğin, P2X7R yalnızca yüksek ATP konsantrasyonlarına cevap verirken, P2X ailesinin geri kalanı çok daha düşük bir konsantrasyonda cevap verir (112).

P2XR'nin, hem presinaptik hem de postsinaptik olarak nöronlarda ve gliada lokalize olduğu gösterilmiştir. ATP salınımının, hipokampüsteki postsinaptik akımlara aracılık ettiğini gösteren çalışmalar vardır (10). P2XR'nin hücre fonksiyonları arasında protein sentezi, transkripsiyonel düzenleme ve hormon salgılanması da bulunur. Tüm P2XR tipleri, santral sinir sisteminde bulunur ve beyin travması ve iskemi, epilepsi, nörodejeneratif ve nöroimmün hastalıklar, nöroinflamatuvar reaksiyonlar ve ayrıca depresyon ve şizofreni ve gibi nöropsikiyatrik hastalıklarda etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (101). Epilepsiyle en çok bağlantılı bulunan P2XR'lerden biri P2X7 reseptörüdür (10, 11, 116).

2.5.3. ATP'nin nöbetlerle ilişkisi

İltihaplanma, hücre hasarı, mekanik veya metabolik stres gibi patolojik olaylar veya iyonik ortamdaki değişiklikler gibi birçok farklı uyarıcı ATP salınımını artırabilir (117). ATP'nin epileptik nöbetler sırasında salınıldığını ve nörotransmisyon ve gliotransmisyonda fonksiyonel olduğu öne sürülmüştür (118). Santral sinir sistemindeki bir ekstrasinaptik sinyal yolu, astoglyal Ca^{+2} dalgalarıdır ve bu dalganın ATP ve geçit bağlantıları tarafından gerçekleştirildiği düşünülmektedir (119). ATP'nin nöbetlerin indüklenmesinde ve yayılmasındaki diğer rolleri sinaptik plastisitesini ve sinaptik ağların senkronizasyonunu içerdiği gösterilmiştir (120). Çalışmalar somatosensoriyel

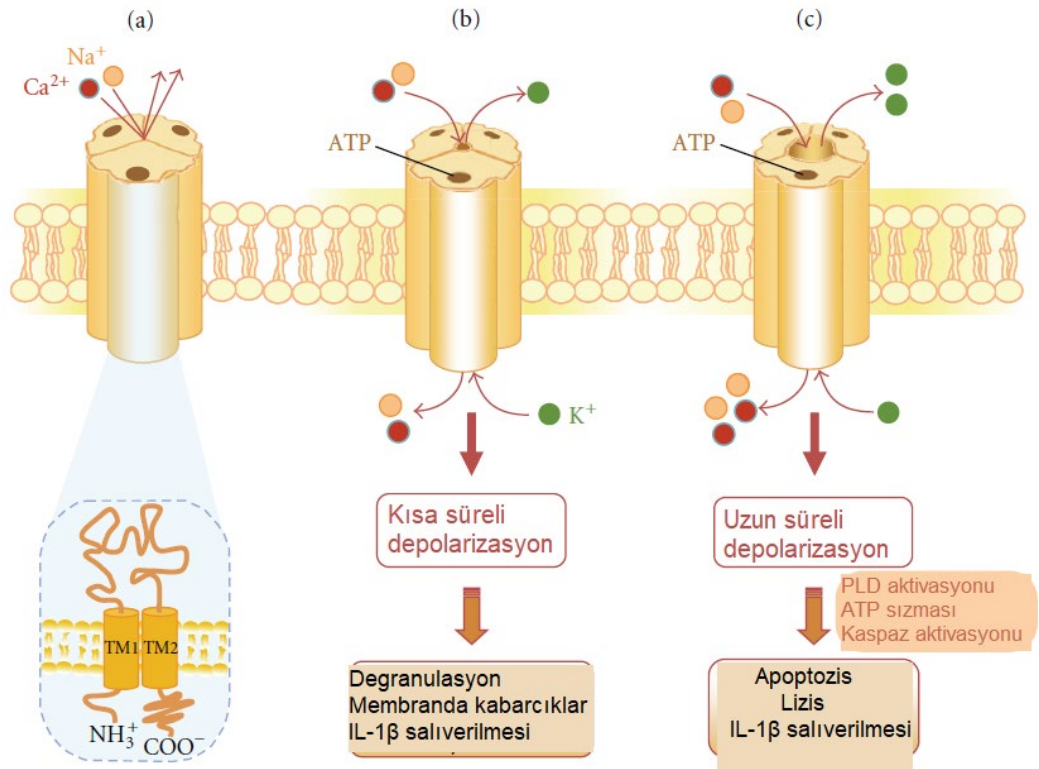
korteksin elektriksel olarak *in vivo* uyarılmasından sonra ve doğrudan korteks stimülasyonuna cevaben ATP salınımı olduğunu göstermiştir (121). Ayrıca, ATP'nin serbest bırakılmasının Ca^{+2} bağımlı olduğu gözlemlenmiştir (122).

2.5.4. P2X7R

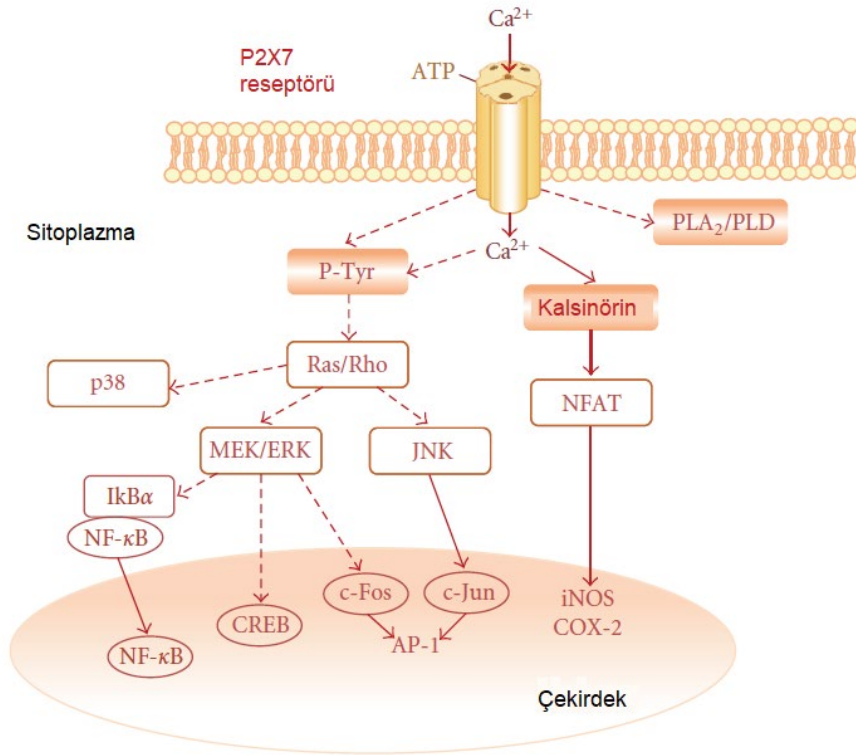
P2X7R, lenfositler, monosit makrofajlar ve mikrogliaları da içeren hematopoetik kökenli hücrelerde, endotel hücrelerinde ve nöronlar, astrositler, oligodendrositler ve dâhil olmak üzere sinir sisteminde bulunabilir (118).

P2X7R, diğer P2XR ailesi ile % 80 benzerlik gösterir. P2X7R temel olarak 2 transmembran proteinini, ATP bağlanma bölgelerini ve hücre içi N ve C terminal alanlarını içeren P2XR ailesinin tipik bir örneğidir (Şekil 7). Ancak P2X7R, diğer P2XR ailesi ile karşılaştırıldığında 239 amino asit içeren çok daha uzun bir hücre içi karboksi terminal alanı ile benzersiz bir yapıya sahiptir. Bunun, hücre içi yapısal ve sinyal veren ara maddeler ile etkileşimlere aracılık etmede önemli olduğu anlaşılmaktadır (117).

ATP, P2X7R'nin aktivasyonuna yol açan hücre dışı bir bölgeye bağlanır ve sodyum, kalsiyum ve potasyum iyonlarının akışına izin veren ve duyarsızlaşmayan bir kanal açıklığı sağlar. P2X7R aktivasyonu, ATP'ye maruz kalma süresine bağlı olarak iki farklı yanıt verir. Kısa süreli ATP ile uyarımı, diğer P2X alt ünite tepkilerine benzer şekilde içe doğru bir katyonik akım üretir. Uzun süreli ATP maruziyeti hassaslaştırıcı tepkilere ve artan membran geçirgenliğine yol açar. ATP stimülasyonu 15 dakikadan daha uzun sürerse, 900 Dalton'a (Da) kadar yüksek moleküler ağırlıklı moleküllerin ve iyonların girmesine izin veren bir por oluşturur (Şekil 7) (118, 123, 124). Por oluşumu, reseptörün agonistlere duyarlılığını artırır (125). P2X7R por oluşumu için, Pannexin-1 adı verilen başka bir transmembran molekülüyle birleşmesi gerektiği ileri sürülmüştür ancak bu görüş tartışmalıdır (126).



Şekil 7 P2X7R'nin yapısı ve ATP ile uyarılma süresine göre cevapları: A) P2X7R homomerik üç proteinin katyon geçirgen bir kanal oluşturacak şekilde organize olmasıyla oluşmuştur. Her bir parçası iki transmembran protein (TM1, TM2), ATP'nin bağlanabileceği geniş bir hücre dışı halka ve hücre içine uzanan uzun N ve C terminallerini içerir. B) Akut reseptör aktivasyonu reseptörün ATP ile kısa süreli (<10 sn) uyarılması sonucu kanalın açılarak sodyum, potasyum ve kalsiyuma geçirgen hale gelmesi. Akut reseptör aktivasyonu ayrıca, sinyalizasyon kaskadları ile birlikte depolarizasyon, degranülasyon ve membranın kabarılaşması gibi bir dizi hücre yanıtını tetikler. C) Reseptörün sürekli uyarılması, 900 Da'ya kadar ATP dâhil katyonik moleküllerin geçişini kolaylaştıran daha büyük bir por oluşmasına, bazı hücre tiplerinde apoptozis / hücre yıkımına neden olur. ATP interlökin 1β (IL-1β) salıverilmesini, esas olarak IL-1β dönüştürücü enzimin (kaspaz-1) aktivasyonu ile sağlar. Aynı zamanda potasyumun hücre içine girişini de arttırdığından uygun IL-1β oluşumu gerçekleşir (PLD: fosfolipaz D) (127).



Şekil 8 P2X7 reseptörü aktivasyonu sonrası mikrogliada meydana gelen sinyal iletim olaylarının şematik gösterimi: P2X7R aktivasyonu ile kalsiyum girişi, kalsinörin ve aktif T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) aktivasyonuna neden olur. P2X7R aktivasyonu ayrıca fosfolipaz A2 ve D'nin (PLA₂, PLD) ve ayrıca tirozin fosforilasyonunun (P-Tyr) aktivasyonu ve mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) yolu proteinlerinin aktivasyonu ile sonuçlanır (MEK: MAPK kinaz, ERK: hücre dışı sinyale düzenlenen kinaz, JNK: c-Jun N terminal kinaz). Son olarak nükleer faktör-κB (NF-κB), siklik AMP yanıt elemanı bağlayıcı protein (CREB) ve proinflamatuvar gen ekspresyonunu düzenleyen aktive edici protein-1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini etkileyebilir (NFAT: T hücrelerinin nükleer faktörü; COX-2: siklooksijenaz-2; iNOS: indüklenebilir nitrik oksit sentaz) kesikli çizgiler birden fazla çok adımlı reaksiyonları gösterir (127).

P2X7R'nin uyarılmasının hücre içi birçok olayı başlattığı monosit ve makrofajlar ve mikroglialarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Şekil 8) (127). P2X7R aktivasyonu JNK, ERK ve p38 mitojenle aktive edilen protein kinaz (p38 MAPK) ve bu da nükleer faktör-κB (NF-κB), CREB, c-fos, c-Jun ardından aktive edici protein-1 (AP-1)'in artmasına sebep olur (128-130). Hücre içi kalsinörin artması aktive T hücrelerinin nükleer faktörünü (NFAT) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) salıverilmesini artırır (127). P2X7R ayrıca diğer küçük moleküler ağırlıklı G-

proteinlerinin aktivasyonunu da indükler. Örneğin, Rho / p38 yolu, aktin filamentinin yeniden düzenlenmesi ve zarda kabarcıklar oluşması yoluyla IL-1 içeren veziküllerin ekzositozunda rol oynayabilir (131). p38 MAPK yolunun nikotinamid adenin dinükleotit fosfata (NADPH) etki ederek süperoksit radikali (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimiyle doğrudan ilişkisi olduğu gösterilmiştir (132).

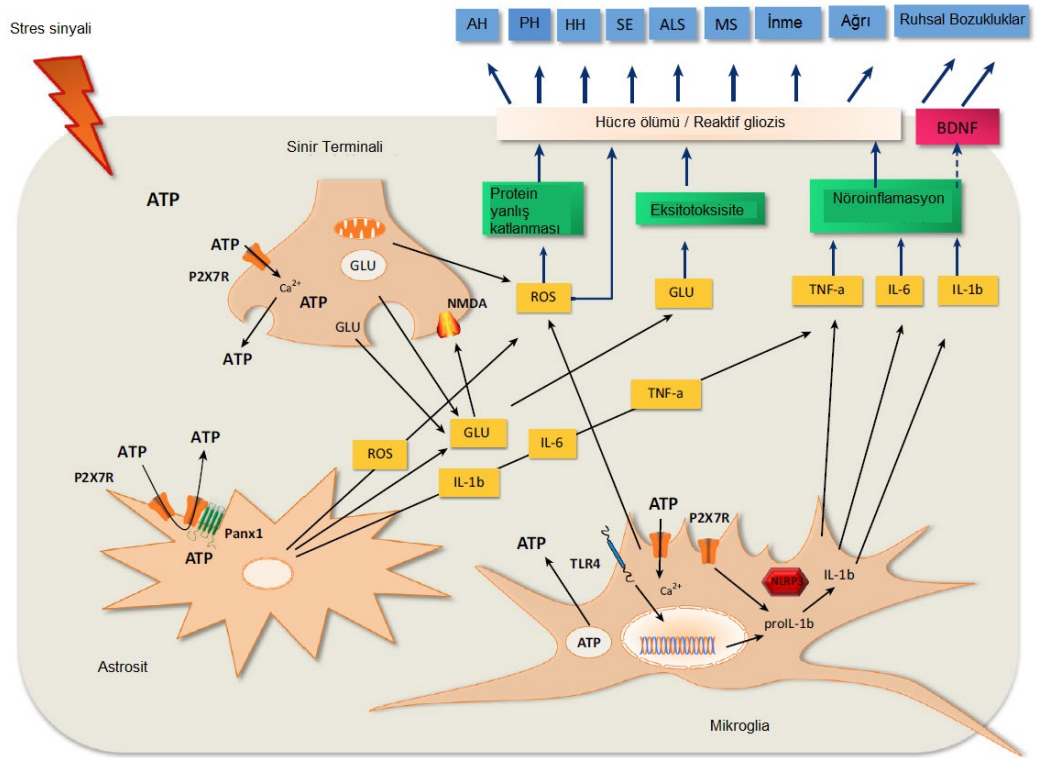
2.5.5. P2X7R ve sinir sistemi hastalıklarıyla ilişkisi

Yaygın bir gözlem, birçok deneysel modelde ve kronik nörolojik bozukluklarda insan beyninde P2X7R'nin artması olmuştur. Alzheimer hastalarının hipokampusunda ve korteksinde yüksek P2X7R seviyeleri gözlenmiştir (9). Huntington hastalığının deneysel modellerinde striatumda P2X7R seviyesi artışı gözlenmiş ve seçici P2X7R inhibitörü olan Brilliant Blue G (BBG) ile nörodejenerasyon ve motor koordinasyon eksikliklerinde bir azalma olduğu bildirilmiştir (8). Parkinson hastalığının hayvan modellerinden elde edilen dejenere hücrelerde P2X7R artışı gözlenmiştir (133). Ayrıca BBG kullanılarak P2X7R inhibisyonu yapılmasının Parkinson hastalığının sıçan modelinde belirtileri hafiflettiği gösterilmiştir (134). İskemi ve travmatik beyin hasarı deney modellerinde P2X7R'nin arttığı bildirilmiştir (135, 136). Omurilik zedelenmesi modelinde P2X7R'nin inhibe edilmesinden sonra daha fazla iyileşme olduğu gösterilmiştir (137). P2X7R'nin artmış seviyeleri amyotrofik lateral skleroz, mekanik yaralanma ve enerji yoksunluğu dâhil olmak üzere diğer nörodejeneratif hastalıklarla da bağlantılıdır (138-140). Ayrıca, multipl skleroz ve duyuşal sinir hasarı olan hastalardan elde edile dokularda P2X7R'nin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (7, 141). Bu nedenle, P2X7R inhibisyonunun terapötik potansiyeli, santral sinir sistemi hastalıkları için geniş bir şekilde ortaya çıkmaktadır.

P2X7R'nin yaygın kabul gören hastalık oluşturma mekanizması şöyledir: Hipoksi, iskemi, mekanik yaralanma, bakteriyel toksinler gibi stres faktörleri mikroglia da P2X7R'nin endojen aktivasyonuna yol açar ve kendiliğinden çoğalan bir ATP salıverilmesine ve P2X7R'nin komşu hücrelerde

aktivasyonuna neden olur. P2X7R aktivasyonunu takiben kalsiyum girişi (şekil 9);

- I. Hem veziküler hem de veziküler olmayan yollarla sinir terminallerinden ve astrositlerden glutamat salıverilmesini sağlar;
- II. Prointerlökin 1'in olgun interlökin 1b'ye dönüşümü P2X7R tarafından uyarılır, ancak Toll benzeri reseptör 4 aktivasyonu prointerlökin 1b'nin sentezi için gereklidir. Dönüşüm sırasında NLRP3 inflamazomu ve nöroinflamasyona katkıda bulunan diğer sitokinlerin de salıverilmesine neden olur;
- III. ROS üretimi artar ve böylece protein yanlış katlanması ve nöron hasarı artar;
- IV. Doğrudan veya dolaylı olarak hücre ölümüne ve sonrasında reaktif astrogliozise yol açar;
- V. Doğrudan veya dolaylı olarak beyin kaynaklı nörotrofik faktörün ve ardından nöroplastisitenin üretimini düzenler.



TRENDS in Pharmacological Sciences

Şekil 9 P2X7R'nin genel stres cevabı: (AH: Alzheimer hastalığı, ALS: Amniyotrofik lateral skleroz, BDNF: Beyinden türetilmiş nörotrofik faktör, Glu: glutamat, HH:Huntington hastalığı, Panx1: Pannexin 1, PH: parkinson hastalığı, ROS: reaktif oksijen türleri, SE: Status epileptikus, TLR4: Toll benzeri reseptör 4) (142).

2.5.6. Epilepside P2X7R

Bu konuda yapılan ilk çalışmada, pilokarpın modelinde, P2X7R agonisti olan ATP veya BzATP ile tedavi edilen hipokampal bölgenin, P2X7R'nin artmış ifadesi nedeniyle, hücre içi Ca^{2+} seviyesini yükselttiğini bildirdiler (143). Status epileptikus sonrası hipokampusta ve kortekste mikrogliyalarda P2X7R immünoaktivitesinin arttığının gösterilmesiyle P2X7R'nin epilepsideki rolü bir kez daha ortaya konmuştur (116). Farelerde amigdala içine kainik asit enjeksiyonuyla, status epileptikus oluşturulmasından 72 saat sonra hipokampal numunelerde P2X7R protein seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (14). Penisilinle indüklenen epilepsi modelinde de P2X7R aktivasyonunun prokonvulsan yönde etki ettiği gösterilmiştir (11).

P2X4R, P2X2R veya P2X1R gibi diğer purinerjik reseptörlerin ayrıca status epileptikus ve kronik epilepsi modellerinde değişikliğe uğradığı rapor

edilmiştir (14). Ek olarak, pürinerjik sinyalleşmenin status epileptikustan sonra arttığı gösterilmiştir (144).

Her ne kadar epilepside P2X7R'lerin proinflamatuvar ve uyarılabilirlik rolüne destek veren çalışmalar olsa da, çelişkili bulgular da vardır. P2X7R'ye sahip olmayan farelerde kainik asit veya pikrotoksin tarafından indüklenen nöbetlerde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (145). Bu, P2X7R'nin nöbetlerde her zaman önemli olmayabileceğini düşündürmektedir.

2.5.7. P2X7R'nin farmakolojisi

Okside ATP, seçici olmayan bir P2XR antagonisti olarak kullanılan bir ATP analog bileşimidir. Daha sonra, NF023 ve NF279 ve MRS2220 ve PPNSD gibi PPADS analogları dâhil olmak üzere bir dizi suramin analogu sentezlenmiştir (146). Bunların çoğu, düşük afiniteli ve rekabetçi olmayan antagonizmalar göstermesine rağmen, P2X1R, P2X3R, P2X4R ve P2X7R dâhil olmak üzere farklı purinerjik reseptörler için üstün seçicilik göstermiştir. BzATP, P2X7 reseptöründe ATP'den 5-30 kat daha fazla potens gösteren P2XR'nin bir aktivatörüdür (147).

P2X7R için BBG boyaları, tirozin türevleri (KN-62 ve KN-04), siklik imitler, adamantan ve benzamid türevleri dâhil olmak üzere birkaç farklı P2X7R antagonist sınıfı tanımlanmıştır. P2X7R için güçlü özgülüğü olan başka bir antagonist, A-438079'dur (3 - (5 - (2,3,3-diklorofenil-1H-tetrazol-1-il)) metil piridin) ve diğer hücre yüzeyi reseptörleri ve iyon kanalları ile etkileşiminin olmadığı rapor edilmiştir (148).

2.6. Reaktif Oksijen Türleri ve Epilepsiye Etkileri

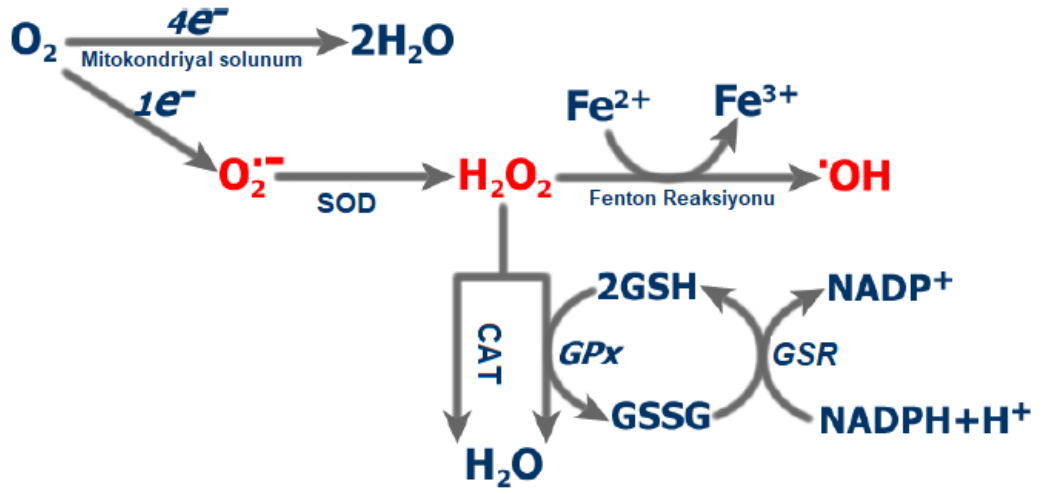
Serbest radikaller bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektronu olan iyonlardır. Oksijenden tek elektron indirgenmesi sonucu oluşan serbest radikallere reaktif oksijen türleri denir (149). Bu radikallerin proteinler, lipitler, karbohidratlar ve nükleik asitlere hasar vererek yaşlanma, kalp damar hastalıkları, kanser, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok değişikliğe sebep olduğu gösterilmiştir (150). En bilinen ve üstünde en çok çalışılan reaktif oksijen türleri (ROS); $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) radikalleridir (Şekil

10) (149). Bu radikallerin oluşumundan metabolik reaksiyonlar ve ekzojen faktörler sorumludur. Hücre içi kalsiyum artışı serbest oksijen radikali oluşumunu artırır (15, 16). Hem P2X7 reseptörü hem de NMDA reseptörü hücre içine kalsiyum geçişine izin veren iyon kanallarıdır ve oksidatif stres oluşturma potansiyeline sahiptirler. Bu nedenle WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkilerinde reaktif oksijen radikallerinin rolü merak konusudur.

Lipid peroksidasyonu: Hidroksil radikali gibi reaktif oksijen radikallerinin, çoklu doymamış yağ asitlerinin metilen grubundan bir hidrojen atomu kopmasıyla oluşan lipid bozulmasına lipid peroksidasyonu denir. Lipid peroksidasyonunun yıkım ürünü malondialdehittir (MDA) (151).

Protein oksidasyonu: ROS'un proteinlerle etkileşimi sonucu oluşur. İleri protein oksidasyon ürünleri (Advanced oxidation protein products (AOPP)) son zamanlarda protein oksidasyonunu ölçmede kullanılan etkili bir belirteçtir (152).

Antioksidan sistemler: Vücudumuzda ROS oluşumunu engelleme ve bu maddelerin meydana getirdiği hasarları önleme, antioksidan sistemler tarafından kontrol edilir (153). Endojen antioksidan olan enzim yapısındaki başlıca antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GSR), katalaz (CAT) gibi enzimlerdir (153). Glutatyon (GSH) ise en önemli antioksidan proteinlerden biridir (Şekil10) (154).



Şekil 10 Reaktif oksijen türleri oluşumu ve antioksidan mekanizmalar: (CAT: Katalaz, GPx: Glutasyon peroksidaz, GSH: Glutasyon, GSR: Glutasyon redüktaz, GSSG: Glutasyon disülfid, NADPH: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat) (155).

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Deney Hayvanları

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 2015/56 sayılı izinle yapılan çalışmamızda, ağırlıkları 250-300 gr arasında, 6-8 aylık 56 erkek WAG/Rij sıçan (n=7) kullanıldı. Hayvanlar çalışma başlayıncaya kadar ve çalışma süresince OMÜ DEHAM'da tutuldu. Sıçanlar, $20\pm 3^{\circ}\text{C}$ sabit sıcaklıkta, 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, nem % 50-70 olacak şekilde, hayvanların yiyecek ve suya serbest ulaşabilecekleri kafeslerde, kontrol altında tutuldular. Deneysel araştırma standartlarına uymayan sıçanlar çalışma dışı bırakıldılar.

3.2. Kimyasal Maddeler ve Veriliş Şekilleri

3.2.1. BzATP

BzATP: 2'(3')eO-(4-Benzoylbenzoyl) adenosine 5'-triphosphate triethylammonium

Molekül formülü: $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_5\text{O}_{15}\text{P}_3 \cdot x\text{C}_6\text{H}_{15}\text{N} \times y\text{H}_2\text{O}$ (Sigma B6396)

Molekül ağırlığı: 715.39 g/mol

Uygulama şekli: $50\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ ve $100\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ dozlarında intraserebroventiküler (i.s.v.) yolla uygulandı. Çözücü olarak distile su kullanıldı.

3.2.2. A-438079

A-438079: A-438079 hydrochloride hydrate (Sigma A9736)

Molekül formülü: $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}_5 \cdot \text{HCl} \cdot x\text{H}_2\text{O}$

Molekül ağırlığı: 342.61 g/mol

Uygulama şekli: $20\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ ve $40\mu\text{g}/2\mu\text{l}$ dozlarında i.s.v. yolla uygulandı. Çözücü olarak distile su kullanıldı.

3.2.3. Memantin:

Memantin: Memantine hydrochloride (Sigma M9292)

Molekül formülü: $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N} \cdot \text{HC}$

Molekül ağırlığı: 215.76 g/mol

Uygulama şekli: 5mg/kg dozunda intraperitoneal yolla uygulandı. Çözücü olarak distile su kullanıldı.

3.3. Deney Grupları

1. Kontrol grubu: 2 µl distile su i.s.v. enjeksiyonun etkisini kontrol etmek amacıyla kanülden lateral ventriküle uygulandı.
2. BzATP 50 µg/2 µl grubu: Üç saatlik bazal kayıdın alınmasından sonra BzATP 50 µg/2 µl i.s.v. uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.
3. BzATP 100 µg/2 µl grubu: Üç saatlik bazal kayıdın alınmasından sonra BzATP 100 µg/2 µl i.s.v. uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.
4. A-438079 20 µg/2 µl grubu: Üç saatlik bazal kayıdın alınmasından sonra A-438079 20 µg/2 µl i.s.v. uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.
5. A-438079 40 µg/2 µl grubu: Üç saatlik bazal kayıdın alınmasından sonra A-438079 40 µg/2 µl i.s.v. uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.
6. Memantin grubu: Üç saatlik bazal kayıdın alınmasından sonra memantin 5 mg/kg dozda i.p. uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.
7. BzATP 100 µg/2 µl i.s.v. + Memantin 5 mg/kg i.p. grubu: Üç saatlik bazal kayıdın alınmasından sonra BzATP 100 µg/2 µl i.s.v. uygulandı ve 10 dakika sonra Memantin 5 mg/kg i.p. uygulandı. Ardından üç saat daha kayıt alındı.
8. A-438079 40 µg/2 µl + Memantin 5 mg/kg i.p. grubu: Üç saatlik bazal kayıdın alınmasından sonra A-438079 40 µg/2 µl i.s.v. uygulandı ve 10 dakika sonra Memantin 5 mg/kg i.p. uygulandı. Ardından üç saat daha kayıt alındı.

3.4. Elektrokortikogram Kayıtlarının Elde Edilmesi

3.4.1. Elektrokortikogram elektrodlarının yerleştirilmesi

Sıçanlar ketamin 90 mg/kg i.p + Ksilazin 3 mg/kg i.p ile anestezi altına alındılar. Anestezinin derinliği kornea ve pençe refleksleri ile kontrol edildi. Daha sonra hayvanların kafa derileri tıraş edildi ve stereotaksi aletine kafaları, kulak delikleri ve ön dişlerden, sabitleme çubukları aracılığı ile sabitlenerek yerleştirildi. Sıçanın kafasında orta hattın yaklaşık 3 cm'lik bir insizyonla

açılarak, kafatası kemikleri, lambda ve bregma noktaları ortaya çıkartılmıştır. Kayıt elektroduları bregma noktası sıfır kabul edilerek, frontal bölgede 2 mm rostral ve 3,5 mm lateral, parietal bölgede 6 mm kaudal ve 4 mm lateral ve serebellum üzerinde referans elektrod olacak şekilde koordinatlar belirlendi (156). Drill kullanılarak, 1 mm genişliğinde matkap ucu ile kafatasının 4 ayrı noktasına delik açıldı. Bu deliklerden 3 tanesine ECoG kaydı için, beyin zarlarına temas edecek şekilde paslanmaz çelik vidalar yerleştirildi (Şekil 11). Tripolar elektrod bu vidalara tutturuldu. Eksternal kanül bregma noktasından 1,1 mm lateral, 1,5 mm rostral ve 3,2 mm derine yerleştirildi. Daha sonra vidalar ve i.s.v. kanül dental akrilik ile kafatasına sabitlenip, kurumaya bırakıldı. Üç gün boyunca günde 2 kez intraperitoneal yol ile 50 mg/kg ampisid enjekte edildi. Cerrahi sonrası hayvanlar tekli kafeslerde tutuldu.



Şekil 11 Sıçanın kafatasına uygun koordinatlarda vida ve eksternal kanül yerleştirilmesi işleminden sonra dental akrilikle sabitlenmesi.

3.4.2. Elektrokortikogram kayıtlarının alınması

Cerrahi işlemden sonra bir hafta dinlenmeye bırakılan hayvanlara yerleştirilen jak çıkışına, jak girişi takıldı ve bu giriş PowerLab veri kazanım sistemine bağlanarak beyinden ECoG kaydı elde edildi (Şekil 12).



Şekil 12 Sıçanın kafatasına sabitlenen tripolar elektrod ile PowerLab Sistemi arasında bağlantı kurulması

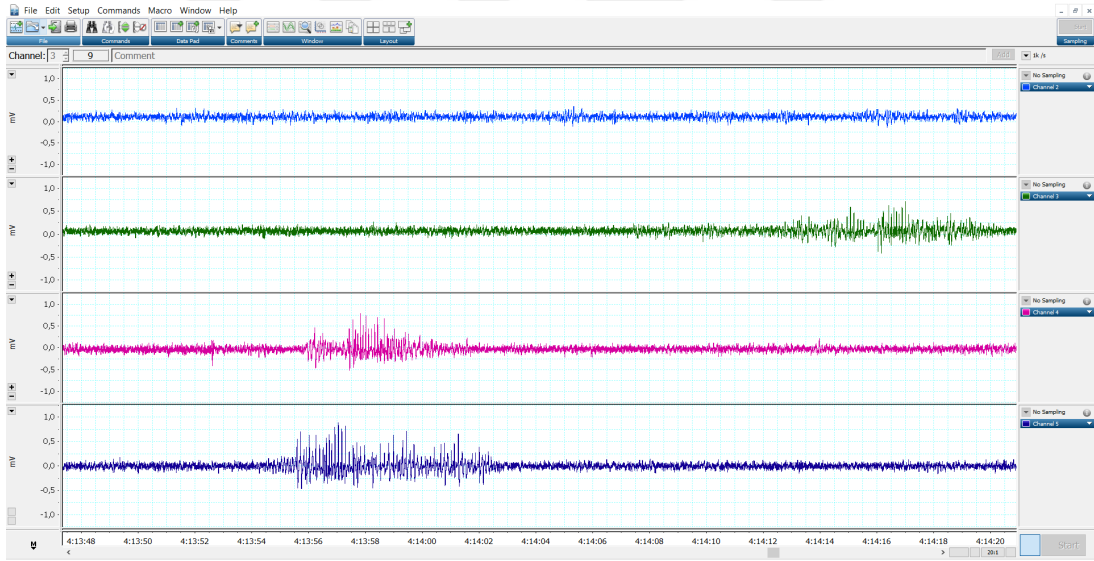
Kayıtlar her seferinde sabah 10:00'da başlayacak şekilde 3 saat bazal kayıt alınması, enjeksiyon yapılması, ardından 3 saat daha kayıt alınması şekilde gerçekleştirildi (Şekil 12-13).



Şekil 13 İntraserebroventriküler (i.s.v.) kanülden Hamilton mikroenjektör ile enjeksiyon işlemi

3.4.3. Elektrokortikogram kayıtlarının değerlendirilmesi

Deneyler sonucunda elde edilen epileptiform aktivite offline olarak küme sayısı, süresi, DDD sayısı ve amplitüdü açısından analiz edildi. Deney gruplarından habersiz bir gözlemci nöbet kümelerini el ile seçerek ve Chart v7.0.3 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı (Şekil 14) ile kümelerin süresinin, DDD sayısının ve amplitüdünün hesaplanmasını sağlayarak yirmi dakikalık bölümler halinde ECoG kayıtlarının analizini yaptı. Tüm deneylerde, elektroda jak girişi takıldıktan 20 dakika sonra alınan kayıtlar değerlendirmeye alındı. Bundan sonraki her yirmi dakika nöbet küme sayısı, süresi, DDD sayısı ve amplitüdü ortalamaları alınarak değerlendirildi. İlk yirmi dakikada elde edilen veriler % 100 kabul edildi ve diğer yirmi dakikalık bölümler ilk yirmi dakikaya oran olarak yüzde değişimleri hesaplandı, grafiklere bu şekilde veri sağlandı. Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan elde edilen kayıtlar için bu hesaplama ayrı ayrı yapıldı.



Şekil 14 LabChart yazılımı ile ECoG kayıtlarının dijital ortamda görüntülenmesi ve kaydedilmesi

3.5. Biyokimyasal Analiz Metodları

Biyokimyasal analizler için oluşturulan etkileşim gruplarında maksimum etki ortaya çıktığında deney sonlandırıldı. Hayvan anestezi altına alındı. Hayvandan intrakardiyak ponksiyonla 5ml kan alındı. Ardından hayvanın kafası kesilerek sürekli oksijenlenen yapay beyin solüsyonu ((aCSF), içeriği

(mM): NaCl, 124; KCl, 5; KH₂PO₄, 1.2; CaCl₂.2.4; MgSO₄, 1.3; NaHCO₃, 26; glucose, 10; HEPES, 10; pH 7.4 95% O₂ ve 5% CO₂ tabii tutularak) içerisinde beyin çıkarıldı. Beyin çıkarıldıktan sonra beyincik ve beyin sapı ve beyinin hemisferleri olarak ayrıldı.

Kan örnekleri 3000 g'de 10 dakika süre ile oda sıcaklığında santrifüj edilerek serum ve plazma ayrıldı. Çıkarılan beyin numuneleri önce sıvı azot tankına daldırılarak hızlı bir biçimde donmaları sağlandı. Daha sonra numuneler doku parçalayıcı ile homojenize edildi ve fosfat tampon solüsyonu (PBS, 10 mM, pH 7.2) içine konuldu. Doku örnekleri +4°C' de 220 V'da 1 dk boyunca sonikasyona tâbi tutulduktan sonra -40°C'de derin dondurucuda saklandı. Çalışma gününde oda ısısında eritilen homojenatlar +4°C' de 15000 g'de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatantlar biyokimyasal analizler için kullanıldı.

3.5.1. Doku örneklerinde protein miktarının belirlenmesi:

Doku homojenatlarında her bir numunenin protein miktarı Lowry (157) metodu ile tespit edildi ve biyokimyasal değerler mg protein başına verildi. Lowry metodunun prensibine göre, alkali şartlar altında peptid nitrojenleri, bakır iyonları (Cu⁺²) ile reaksiyona girerek bakırı indirger (Cu⁺¹). Sonrasında ortama Folin-Ciocalteau'nun fenol reaktifi eklenmesiyle fosfotungstik ve fosfomolibdik asitlerin indirgenmesi sonucu molibdenyum mavisi ve tungsten mavisi renkleri meydana gelir. UV spektrofotometrede çözeltilerin 660 nm'deki absorbans değerleri okunarak protein miktarları saptanır.

3.5.2. Lipid peroksidasyonu düzeylerinin (MDA Düzeyleri) belirlenmesi

MDA lipid peroksidasyon reaksiyonlarının son ürünüdür. Doku ve serum örneklerinde MDA düzeyleri ticari kit (SunRed Rat(MDA) ELISA kit; katalog no:201-11-0157) ile çalışıldı. Deneyin prensibi N-methyl-2-phenylindole ile total MDA'nın reaksiyonu sonucu oluşan ürünün 586 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Testin ölçüm aralığı 0,3-65 nmol/ml; hassasiyeti 0,208 nmol/ml idi. Sonuçlar nmol/ml olarak verilmiştir

3.5.3. Protein oksidasyonu düzeylerinin belirlenmesi

Protein oksidasyonunun derecesini belirlemede duyarlı yeni bir marker olan AOPP, ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleridir. AOPP düzeyleri ticari kit (SunRed Rat (AOPP) ELISA kit; katalog no:201-11-2673) kullanılarak çalışıldı. AOPP, klorine oksidanların oluşumu ile 340 nm'de spektrofotometrik olarak Cloramin-T standartı kullanılarak değerlendirilmektedir. Testin ölçüm aralığı 0,5-100 nmol/ml; hassasiyeti 0,433nmol/ml idi. Sonuçlar nmol/ml olarak verilmiştir.

3.5.4. Glutasyon peroksidaz düzeylerinin belirlenmesi

GPx redükte glutasyonu kullanarak hücreyi oksidatif hasardan korumak amacıyla hidroperoksitlerin indirgenmesini katalizleyen enzimdir. Gpx aktivitesi düzeyleri ticari kit (SunRed Rat(GSH-px/GPX) ELISA kit; katalog no:201-11-5104) kullanılarak çalışıldı. Glutasyon peroksidaz aktivitesinin sınırlı olduğu durumlarda 340 nm'de absorbanstaki düşüş oranı numunedeki GPx aktivitesiyle orantılıdır. Testin ölçüm aralığı 0,8-200 ng/ml; hassasiyeti 0,735 ng/ml idi. Sonuçlar ng/ml olarak verilmiştir.

3.5.5. Glutasyon redüktaz düzeylerinin belirlenmesi;

GSR okside glutasyonun (GSSG) NADPH bağımlı redükte glutasyona (GSH) dönüşüm reaksiyonunu katalizler. Glutasyon redüktaz düzeyleri ticari kit (SunRed Rat(GSR) ELISA kit; katalog no:201-11-5111) kullanılarak çalışıldı. Bu method ile NADPH' ın NADP+ ye oksidasyonu oranı ölçülmektedir. 340 nm'deki absorban azalma oranı glutasyon redüktazın aktivitesini vermektedir. Testin ölçüm aralığı 0,5-100 ng/ml; hassasiyeti 0,475 ng/ml idi. Sonuçlar ng/ml olarak verilmiştir.

3.5.6. Süperoksid dismutaz düzeylerinin belirlenmesi

SOD, $O_2^{\cdot-}$ 'in H_2O_2 'ye dönüşümünü katalizleyer. SOD enzim düzeyleri ticari kit (SunRed Rat(SOD) ELISA kit; katalog no:201-11-0169) kullanılarak çalışıldı. SOD, süper oksit radikalinin nitro blue tetrazoliumu indirgeyip formazon oluşturarak mavi-mor renge dönüşmesi prensibine göre ölçülür. Bu

renklerin absorbanası 560 nm'de ölçülmektedir. Testin ölçüm aralığı 0,5-100 ng/ml; hassasiyeti 0,415 ng/ml idi. Sonuçlar ng/ml olarak verilmiştir.

3.5.7. Glutasyon düzeylerinin belirlenmesi

GSH antioksidan bir proteindir. GSH düzeyleri ticari kit (SunRed Rat(GSH) ELISA kit; katalog no:201-11-7122) kullanılarak çalışıldı. GSH düzeylerinin belirlenmesi için proteinler, perklorik asit ile çöktürülür sonra kromojenik disülfid 5-5'-ditiyobis-2 nitrobenzoik asit (DTNB, Ellman's reagent) ile SH gruplarının arasındaki değişim oranı 405 nm spektrofotometrede okunur. Testin ölçüm aralığı 6-1800 mg/L; hassasiyeti 5,86mg/L idi. Sonuçlar mg/L olarak verilmiştir.

3.5.8. Katalaz düzeylerinin belirlenmesi

CAT, hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda görevli bir antioksidan enzimdir. CAT düzeyleri ticari kit (SunRed Rat(CAT) ELISA kit; katalog no:201-11-5106) kullanılarak çalışıldı. CAT ölçümü, en uygun konsantrasyonda enzimin hidrojen peroksit ile metanol reaksiyonuna dayanmaktadır. Oluşan formaldehitin kromojen olan 4-amino-3-hidrazino-5-merkaptio-1,2,4-triazol (Purpald) ile oluşturduğu rengin absorbanası 540nm'de spektrofotometrik olarak okunur. Testin ölçüm aralığı 1-300 ng/ml; hassasiyeti 0,866 ng/ml idi. Sonuçlar ng/ml olarak verilmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

Kaydedilen elektrofizyolojik verilerin tamamı sayısal değerlere çevrildikten sonra SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 yazılımı aracılığı ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirildi. Grupların kendi bazal kayıtları ile olan karşılaştırmada normal dağılış gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testiyle değerlendirildikten sonra normal dağılışa uyanlar Paired Simple T testi ile etkileşim grupları ise One Way ANOVA ile ve ikili grupların karşılaştırılmasında Tukey testi kullanılarak değerlendirildi. Normal dağılışa uymayanlar için Wilcoxon Rank testi ile etkileşim gruplarının karşılaştırılmasında ise Kruskal Wallis ve ikili grupların karşılaştırılmasında

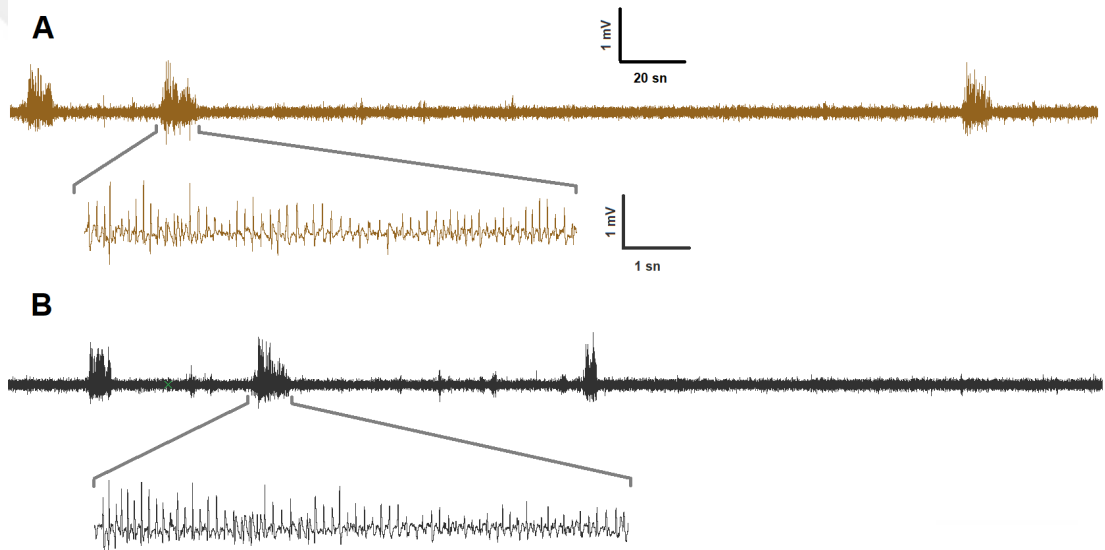
Mann Whitney U Testi kullanıldı. Grafik ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler ortalama \pm standart hata (SEM) olarak ifade edildi, $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Kontrol grubu

Çözücü olarak kullanılan 2 µl distile su i.s.v. ECoG kaydının başlamasından üç saat sonra uygulandı. Bazal ECoG kaydıyla çözücü uygulanması sonrası ECoG kaydı karşılaştırıldığında DDD küme sayısı (kDDD), DDD küme süresi (sDDD), DDD sayısı (nDDD) ve DDD amplitüdü (aDDD) açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0,05$) (Şekil15-19) (Tablo 1). Bu nedenle grafikleri oluşturmada tek bir kontrol kullanıldı.



Şekil 15 A) ECoG kaydının ilk üç saatlik bazal kaydının 80. dakikasından örnektir B) Çözücü olarak kullanılan 2 µl distile su i.s.v. uygulandıktan sonra alınan ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir.

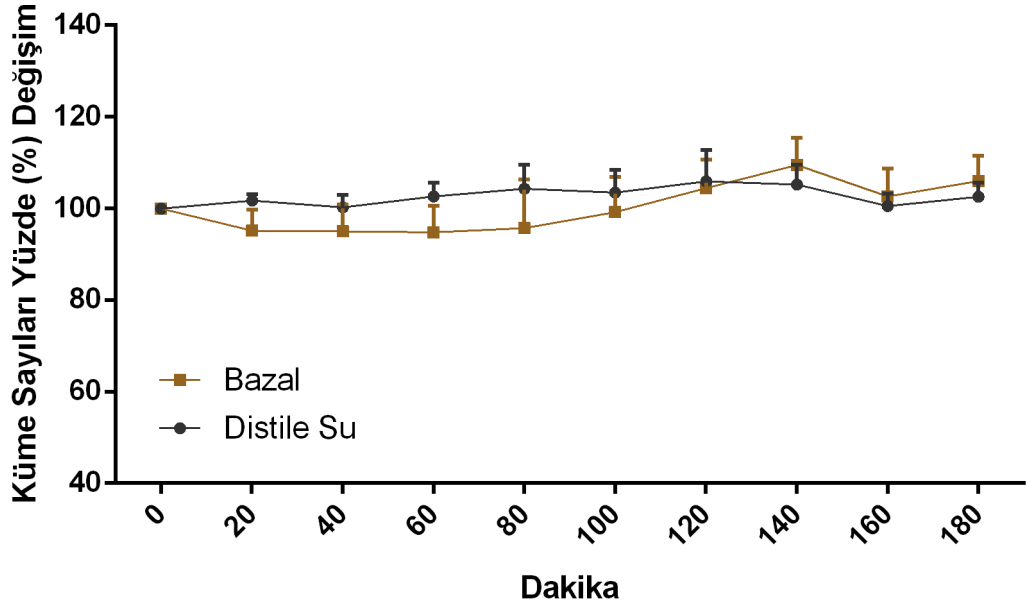
Kontrol grubu bazal ve çözücü sonrası biyokimyasal parametreler karşılaştırıldığında ne AOPP ve MDA seviyelerinde ne de antioksidan parametrelerde (SOD, GSH, CAT, GPx, GSR) bir değişim saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 2).

Tablo 1 Kontrol grubu bazal ECoG kaydı ve distile su uygulanması sonrası ECoG kaydından elde edilen kDDD (küme sayısı \pm SEM), sDDD (küme süresi \pm SEM) , nDDD (diken dalga sayısı \pm SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü \pm SEM) verilerinin her yirmi dakika için ortalama değerleri \pm SEM

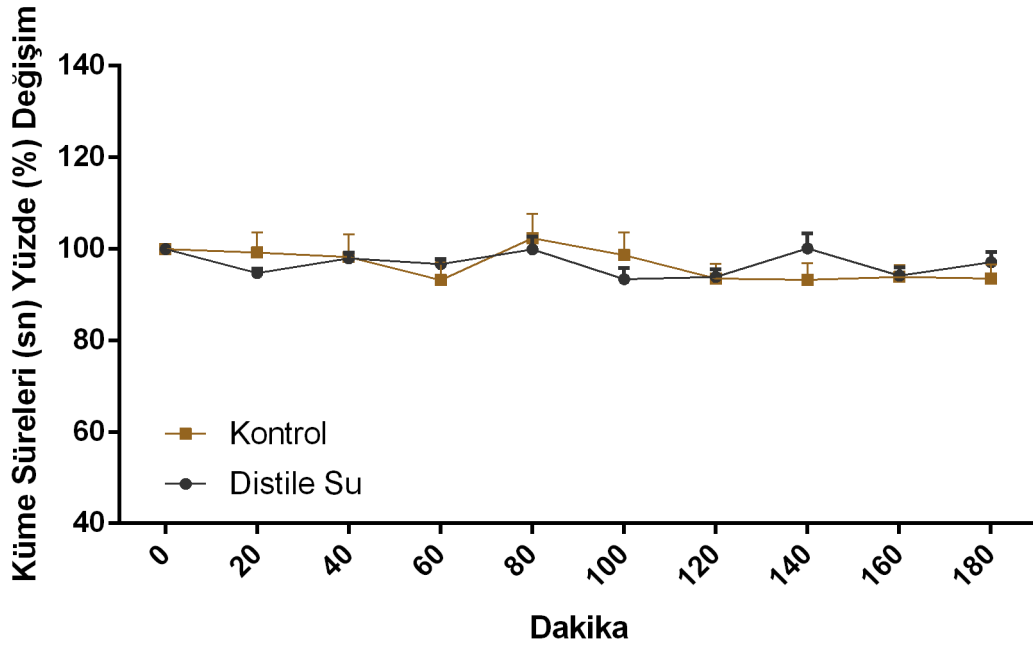
Zaman dk	kDDD küme sayısı/20 dk		sDDD sn		nDDD DDD sayısı/ 20 dk		aDDD mV	
	Bazal	Distile Su	Bazal	Distile Su	Bazal	Distile Su	Bazal	Distile Su
20	11 \pm 0,4	12,4 \pm 0,6	107,1 \pm 4,2	111,7 \pm 3,4	758,2 \pm 34,2	828,6 \pm 31,2	0,5620 \pm 0,01	0,5255 \pm 0,03
40	10,4 \pm 0,2	12,2 \pm 0,9	106,3 \pm 6,2	105,8 \pm 3,3	814,1 \pm 28,9	773,3 \pm 29,4	0,5830 \pm 0,02	0,5299 \pm 0,036
60	10,4 \pm 0,6	11,8 \pm 0,7	105,3 \pm 7,1	109,3 \pm 2,6	720,5 \pm 46	842,1 \pm 17,8	0,5900 \pm 0,02	0,5328 \pm 0,037
80	10,4 \pm 0,6	12,4 \pm 0,7	99,9 \pm 6,3	107,9 \pm 3,2	737,5 \pm 31,9	822,5 \pm 20	0,5830 \pm 0,02	0,5369 \pm 0,046
100	10,4 \pm 0,9	12,8 \pm 0,3	109,2 \pm 4,8	111,8 \pm 5,6	817,2 \pm 47,3	802,6 \pm 37	0,5970 \pm 0,02	0,5311 \pm 0,039
120	11,4 \pm 0,4	12,2 \pm 0,4	105,2 \pm 4,3	104,4 \pm 4,4	772,2 \pm 23,8	815,5 \pm 36,2	0,5760 \pm 0,02	0,5378 \pm 0,037
140	11,8 \pm 0,7	12,6 \pm 0,2	99,9 \pm 3,3	104,9 \pm 3,7	758,5 \pm 24,3	780,1 \pm 45,6	0,5790 \pm 0,02	0,5452 \pm 0,028
160	12 \pm 0,6	12,6 \pm 0,5	99,7 \pm 4,5	111,7 \pm 4,1	821,7 \pm 38,6	810,3 \pm 29,6	0,5920 \pm 0,01	0,5430 \pm 0,035
180	12 \pm 0,6	12 \pm 0,6	100,4 \pm 3,4	105,3 \pm 4,6	799,7 \pm 24,4	788,5 \pm 23,5	0,5790 \pm 0,02	0,5445 \pm 0,033

Tablo 2 Kontrol (K) ve çözücü (Ç) (2µl i.s.v. distile su) uygulanması sonrası, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GSR) değerleri. Kontrol grubu ile karşılaştırma * P<0,05; ** P< 0,01; *** P<0,001.

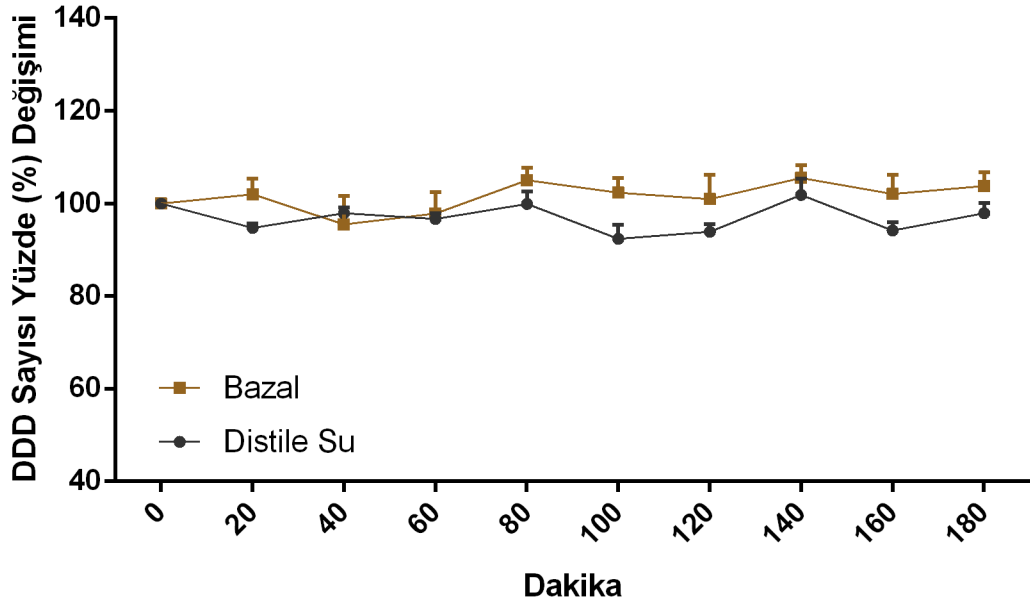
	AOPP nmol/ml	MDA nmol/ml	SOD ng/ml	GSH mg/L	CAT ng/ml	GPx ng/ml	GSR ng/ml
Sol Hemisfer K	4,7±0,7	5,7±0,8	5,1±0,5	52,8±5,6	10,8±0,8	8,8±0,7	5,9±0,5
Sol Hemisfer Ç	4,2±0,58	5,8±0,57	5,6±0,6	51,4±6,2	11,3±1,2	7,8±0,5	5,3±0,4
Sağ Hemisfer K	5±1	5,8±0,7	5±0,4	47,5±4,7	11,3±1,8	7,6±0,5	5,7±0,3
Sağ Hemisfer Ç	5,7±0,5	6,9±0,8	5,2±0,4	48,4±5,9	12,8±1,2	8,2±1	4,9±0,7
Serebellum K	11,2±1,3	7,4±1	9±1	73,8±8,3	15,7±1,9	10,5±1,3	9,1±0,5
Serebellum Ç	12±0,8	8,9±2,2	8,7±0,6	76,4±8,6	14,8±2,2	11,4±1,6	9,6±0,7
Beyin sapı K	9,3±0,9	11,8±1,2	7,1±0,5	100,4±9,9	18,1±1,9	17,8±2,6	8±1,1
Beyin sapı Ç	9,3±0,8	12,3±2,2	6,7±0,6	106,6±7,8	21,3±1,5	16,4±1,2	8,4±0,9
Plazma K	19,7±2,4	41,1±3,6	13,5±2,2	135,5±12,4	35,3±2,5	28,6±3	34,7±4,5
Plazma Ç	19,2±2	40,5±3	16,9±1,1	143,5±19,7	35,7±2,6	29,9±1,7	37,33±2



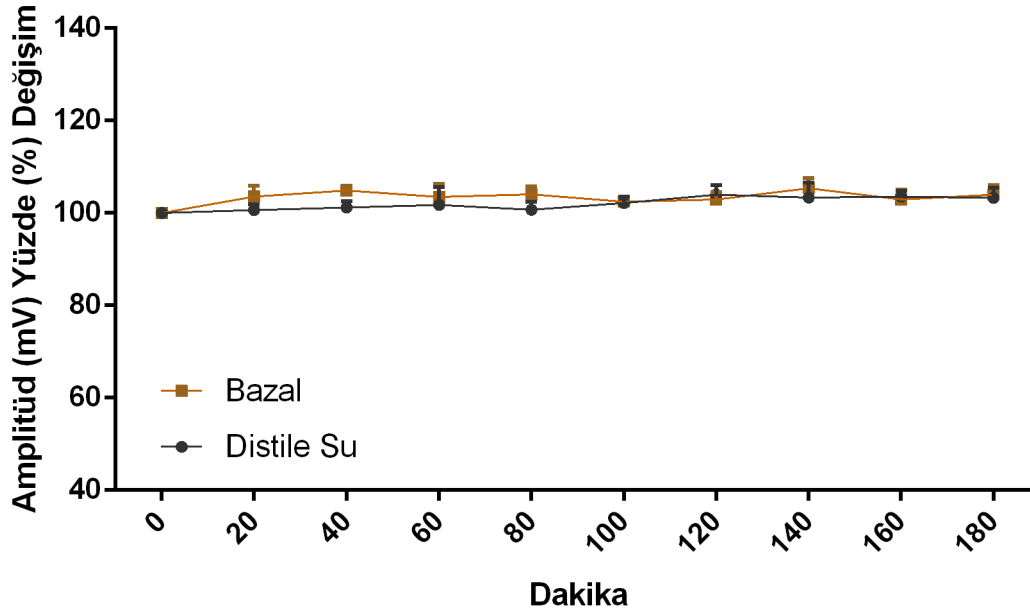
Şekil 16 Çözücü grubunun kendi bazal kaydı ile küme sayıları yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme sayısı yüzde değişimi±SEM). Distile su uygulanan hayvanların kontrol kayıtlarında kendi bazal kayıtlarına göre küme sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).



Şekil 17 Çözücü grubunun kendi bazal kaydı ile küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme süresi yüzde değişimi±SEM). Distile su uygulanan hayvanların kendi bazal kayıtlarına göre küme sürelerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).



Şekil 18 Çözücü grubunun kendi bazal kaydı ile DDD sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD sayısı yüzde değişimi±SEM). Distile su uygulanan hayvanların kendi bazal kayıtlarına göre diken dalga sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).



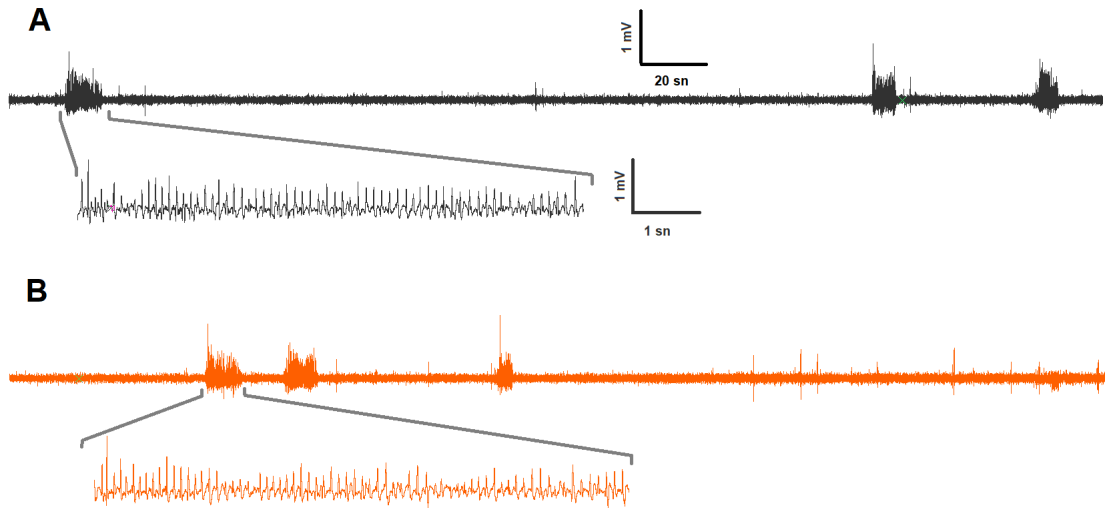
Şekil 19 Çözücü grubunun kendi bazal kaydıyla DDD amplitüdlerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD amplitüdü yüzde değişimi±SEM). Distile su uygulanan hayvanların kendi bazal kayıtlarına göre diken dalga amplitüdünde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).

4.2. BzATP'nin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi

BzATP, laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada etkili bulunan dozlarla 2 grup oluşturularak çalışıldı (11). ECoG kaydının başlamasından üç saat sonra BzATP 50 µg i.s.v. ve BzATP 100 µg i.s.v. uygulamaları yapıldı. Ardından üç saat daha ECoG kaydı alınarak WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktivite üzerine etkisi incelendi (Tablo 3).

4.2.1. BzATP 50 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi

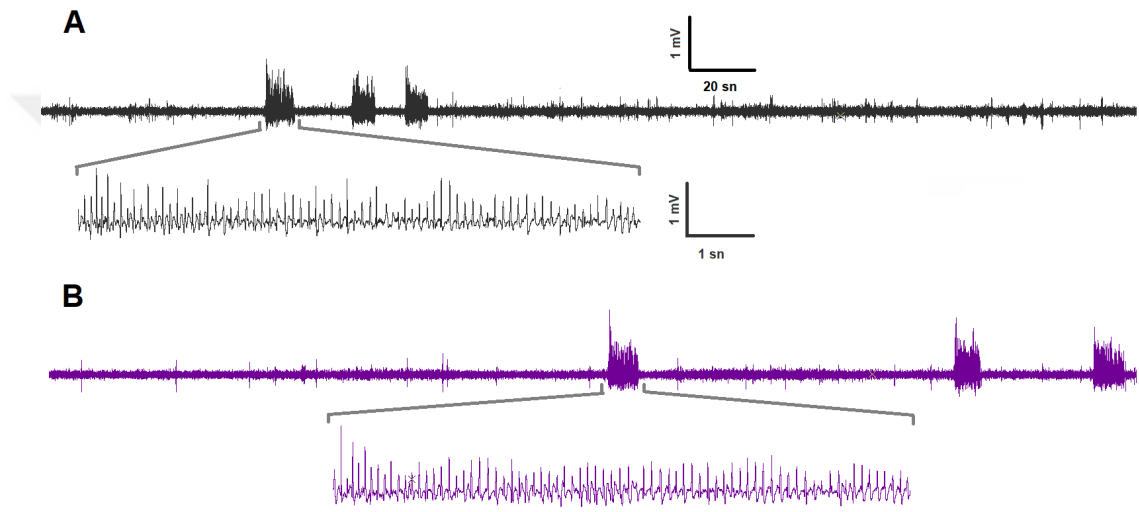
Bazal kaydıyla karşılaştırıldığında BzATP 50 µg i.s.v. uygulanması kDDD, sDDD, nDDD ve aDDD'leri açısından anlamlı bir değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$) (Şekil 20,22-25) . BzATP 50 µg grubunun bazal kaydının 80. dakika kDDD $11\pm0,6$ küme sayısı/20dk, sDDD $105,1\pm4,5$ sn, nDDD $759,2\pm42,7$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,6030\pm0,014$ mV idi. BzATP 50 µg i.s.v. uygulanması sonrası 80. dakika kDDD $12,2\pm0,9$ küme sayısı/20 dk, sDDD $108,6\pm9,2$ sn, nDDD $863,5\pm47,6$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,6148\pm0,016$ mV idi (Tablo 3).



Şekil 20 A) ECoG kaydının ilk 3 saatlik bazal kaydının 80. dakikasından örnektir B) BzATP 50 µg i.s.v. uygulandıktan sonra alınan ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir.

4.2.2. BzATP 100 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi

Bazal kaydıyla karşılaştırıldığında BzATP 100 µg i.s.v., kDDD, sDDD, nDDD ve aDDD'leri açısından anlamlı bir şekilde değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$) (Şekil 21-25). BzATP 100 µg grubunun bazal kaydının 80. dakika kDDD $10,8\pm0,5$ küme sayısı/20 dk, sDDD $96,03\pm4,2$ sn, nDDD $792,08\pm13,8$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,6060\pm0,014$ mV idi. BzATP 100 µg i.s.v. uygulama sonrası 80. dakika kDDD $11,1\pm0,9$ küme sayısı/20 dk, sDDD $104,2\pm6,6$ sn, nDDD $817,2\pm64,2$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,6148\pm0,016$ mV idi (Tablo 3).



Şekil 21 A) ECoG kaydının ilk üç saatlik bazal kaydının 80. dakikasından örnektir B) BzATP 100 µg i.s.v. uygulandıktan sonra alınan ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir.

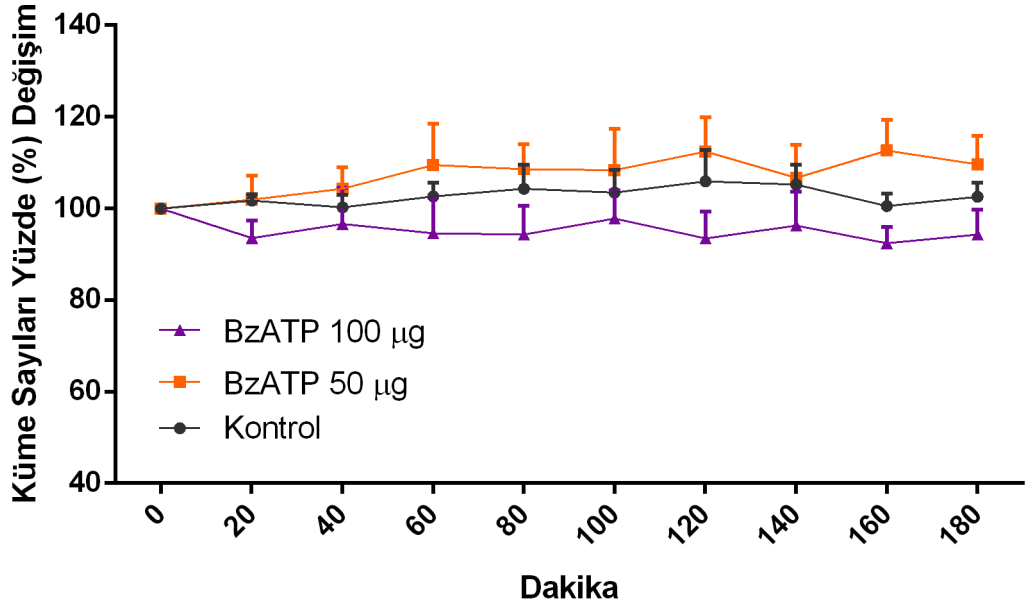
BzATP WAG/Rij sıçanlarda görülen absans epilepside etkisinin olmadığı görüldü. Bu nedenle biyokimyasal analizler için laboratuvarımızda yapılan bir başka çalışmada en etkin bulunan doz olan 100 µg i.s.v. biyokimyasal çalışmalar için kullanıldı (11). BzATP, oksidan parametrelerden AOPP ve MDA düzeylerini kontrol grubuna ölçüm yapılan hiçbir dokuda etkilemedi ($p>0,05$). Antioksidan parametrelerden CAT ve GPx düzeylerini etkilemezken sadece sağ ve sol hemisferde SOD ve GSR seviyelerini artırdı ($p<0,05$). Plazma GSH seviyesi BzATP uygulanmasıyla birlikte artış gösterirken ($p<0,05$), dokularda bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 4).

Tablo 3 BzATP 50 µg ve 100 µg i.s.v. doz gruplarından alınan kayıtların kDDD (küme sayısı±SEM), sDDD (küme süresi±SEM), nDDD (diken dalga sayısı±SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü±SEM) her yirmi dakika için ortalama±SEM değerleri

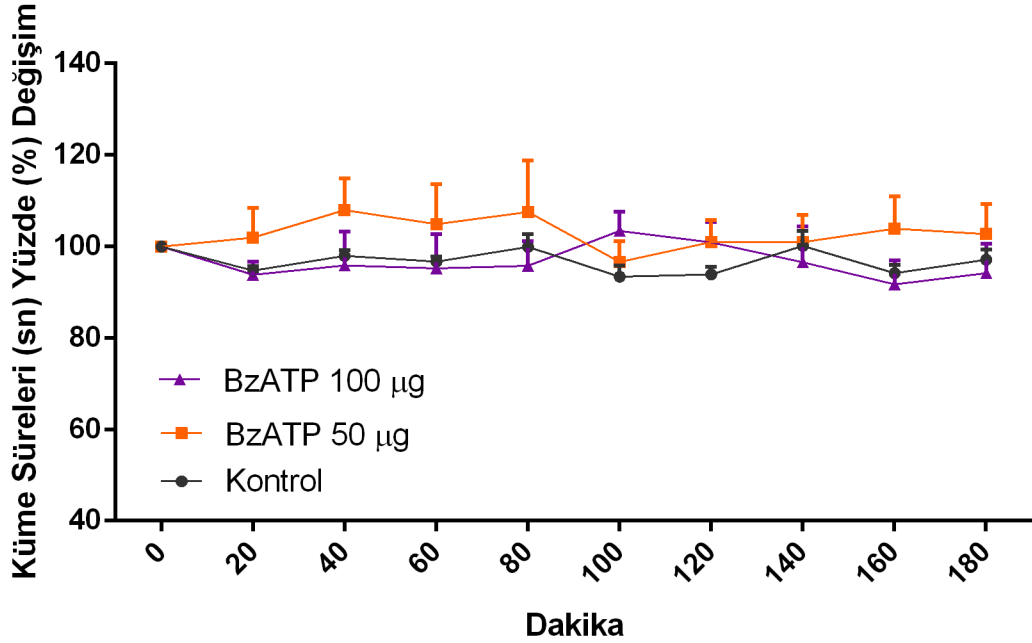
Zaman dk	kDDD		sDDD		nDDD		aDDD	
	küme sayısı/20 dk		sn		DDD sayısı/20 dk		mV	
	BzATP 50 µg	BzATP 100 µg	BzATP 50 µg	BzATP 100 µg	BzATP 50 µg	BzATP 100 µg	BzATP 50 µg	BzATP 100 µg
20	11,2±0,1	11,8±0,3	103,6±1,6	109,2±5,1	800±34,5	831,9±54,1	0,6133±0,009	0,6009±0,017
40	11,1±0,5	11±0,6	105,5±6,9	102,8±5,9	823±36,6	782,8±54,1	0,6251±0,025	0,5786±0,018
60	11,6±0,5	11,3±0,7	111,7±6,8	104,2±6,6	841,8±25,4	789,9±47,5	0,6293±0,002	0,5867±0,033
80	12,2±0,9	11,1±0,9	108,6±9,2	104±8,3	863,5±47,6	817,2±64,2	0,6490±0,013	0,6148±0,016
100	12±0,6	11,1±0,7	111,3±11,5	104,5±6	891,9±46,5	779±66,1	0,6548±0,009	0,5874±0,022
120	11,8±0,9	11,5±0,8	100,3±6	112,5±4,7	830,2±54,7	803±82,8	0,6330±0,009	0,6096±0,023
140	12,6±0,7	11±0,7	104,6±5,7	110,1±5	870,7±57,8	796,5±71,8	0,6519±0,15	0,6062±0,021
160	11,8±0,8	11,3±0,8	104,7±7	105,4±8,3	856,7±46,9	792,6±75	0,6481±0,010	0,6040±0,234
180	12,1±0,7	10,9±0,7	107,8±7,9	100,6±7,6	876,8±41,6	749,5±70,4	0,6406±0,003	0,5823±0,015

Tablo 4 BzATP grubu, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, protein oksidasyonu (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GSR) değerleri. Kontrol grubu ile karşılaştırma (Tablo 2'de) * P<0,05; ** P< 0,01; *** P<0,001

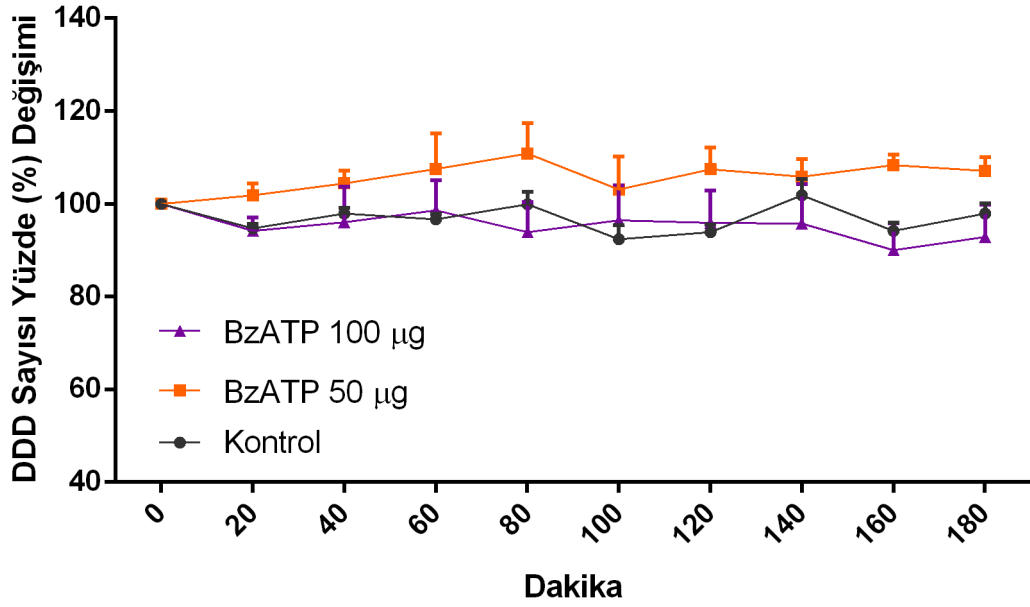
	AOPP nmol/ml	MDA nmol/ml	SOD ng/ml	GSH mg/L	CAT ng/ml	GPx ng/ml	GSR ng/ml
Sol hemisfer	5,65±0,9	6,7±0,8	7,1±0,6*	60,6±5,5	10,1±0,7	9,7±1	8,7±1,1*
Sağ hemisfer	6,1±1	7,1±1,1	8±0,8*	56,4±5,3	10,5±1,3	8,8±0,8	8,1±0,5*
Serebellum	12,1±1,2	7,6±1	10,3±0,8	78,5±2	15,6±2,4	12,5±0,9	9±0,4
Beyin sapı	10,1±1,3	13,3±0,9	9,3±0,7	103,7±11,7	17,9±1,7	19,7±1,7	8,4±0,6
Plazma	24±1,9	50,3±4,2	13±1,1	185,1±11,4*	41,5±4,3	34,9±1,9	36,7±4,6



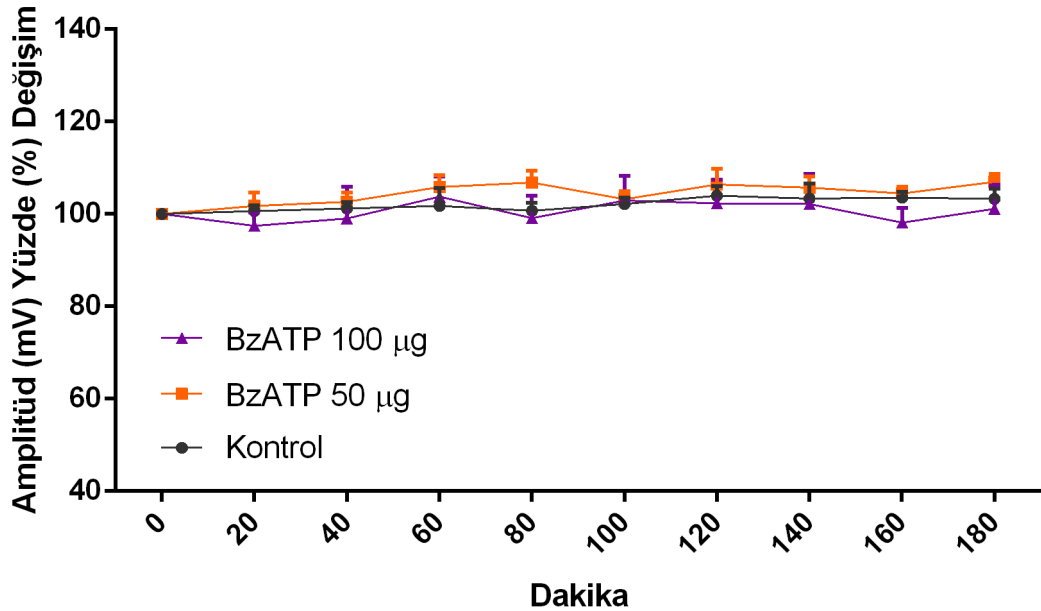
Şekil 22 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme sayısı yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla ve birbirleriyle karşılaştırıldığında BzATP, 50 µg ve 100 µg doz gruplarının küme sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$)



Şekil 23 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme süresi yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla ve birbirleriyle karşılaştırıldığında BzATP, 50 µg ve 100 µg doz gruplarının küme süresinde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).



Şekil 24 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, kontrol grubuyla DDD sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD sayısı yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla ve birbirleriyle karşılaştırıldığında BzATP, 50 µg ve 100 µg doz gruplarının diken dalga sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).



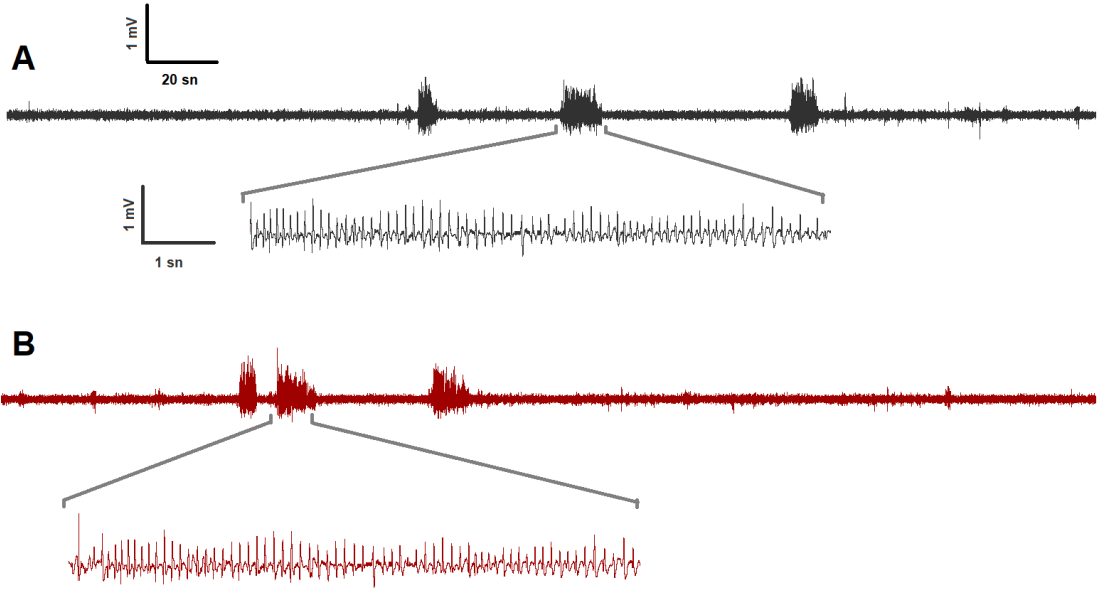
Şekil 25 BzATP, 50 µg ve 100 µg gruplarının, kontrol grubuyla DDD amplitüdlerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD amplitüdü yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında BzATP, 50 µg ve 100 µg doz gruplarının diken dalga amplitüdünde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).

4.3. A-438079'un WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi

A-438079, laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada etkili bulunan dozlarla 2 grup oluşturularak çalışıldı (11). ECoG kaydının başlamasından üç saat sonra A-438079 20 µg i.s.v. ve A-438079 40 µg i.s.v. uygulamaları yapıldı. Ardından üç saat daha ECoG kaydı alınarak WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktivite üzerine etkisi incelendi.

4.3.1. A-438079 20 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi

Bazal kaydıyla karşılaştırıldığında A-438079 20 µg i.s.v., kDDD, sDDD, nDDD ve aDDD'leri açısından anlamlı bir şekilde değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$) (Şekil 26,28-31). A-438079 20 µg grubunun bazal kaydının 80. dakika kDDD 11,6±1,3 küme sayısı/20 dk, sDDD 95,06±2,4 sn, nDDD 778,8±35,1 DDD sayısı/20 dk ve aDDD 0,601±0,014 mV idi. A-438079 20µg i.s.v. uygulanması sonrası 80. Dakika kDDD 15,6±3,2 küme sayısı/20 dk, sDDD 95,1±17,1 sn, nDDD 694,9±129 DDD sayısı/20 dkve aDDD 1;0,6325±0,033 mV idi (Tablo 6).



Şekil 26 A) ECoG kaydının ilk 3 saatlik bazal kaydının 80. dakikasından örnektir B) A-438079 20 µg i.s.v. uygulandıktan sonra alınan ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir.

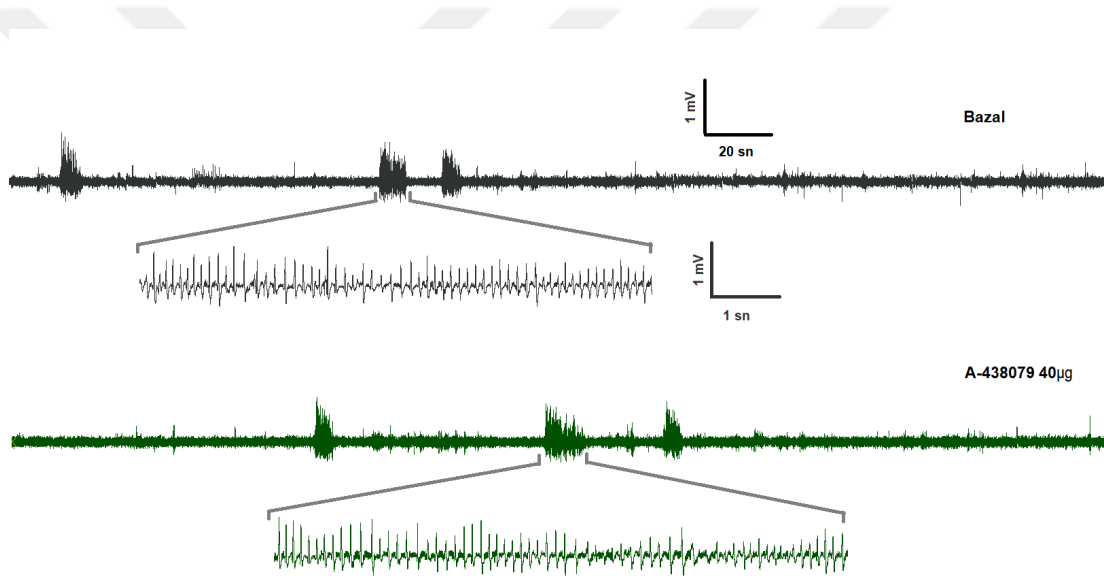
A-438079'un WAG/Rij sıçanlarda görülen absans epilepside etkisinin olmadığı görüldü. Bu nedenle biyokimyasal analizler için laboratuvarımızda yapılan bir başka çalışmada etkin bulunan en düşük doz olan 20 µg i.s.v. biyokimyasal çalışmalar için kullanıldı (11). P2X7R antagonisti A-438079, hiçbir dokuda AOPP, MDA, SOD, GSH, CAT, GPx ve GSR düzeylerini değiştirmede ($p>0,05$) (Tablo 5).

Tablo 5 A-438079 20 µg i.s.v. grubu, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, protein oksidasyonu (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz(GSR) değerleri. Kontrol grubu ile karşılaştırma (Tablo 2’de) * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

	AOPP nmol/ml	MDA nmol/ml	SOD ng/ml	GSH mg/L	CAT ng/ml	GPx ng/ml	GSR ng/ml
Sol hemisfer	4,4±0,5	6±0,7	4,6±0,2	48,4±4,3	11,8±1,3	6,4±0,9	4,7±0,7
Sağ hemisfer	4,6±0,7	5±1	4,5±0,3	50,6±5,1	9,9±2	7±0,3	5±0,4
Serebellum	10,3±1	6,6±0,9	8,4±0,9	62,8±8,4	13,7±2,1	10,7±1	8,4±0,8
Beyin sapı	8,6±0,9	10,7±0,6	6,8±0,6	108,4±11	17,9±1,7	19,7±2,1	8,4±0,6
Plazma	18,6±1,6	44,1±3	13,5±1,7	139,9±14,7	28,9±3,4	32,2±2,3	32,3±4,3

4.3.2. A-438079 40 µg dozunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi

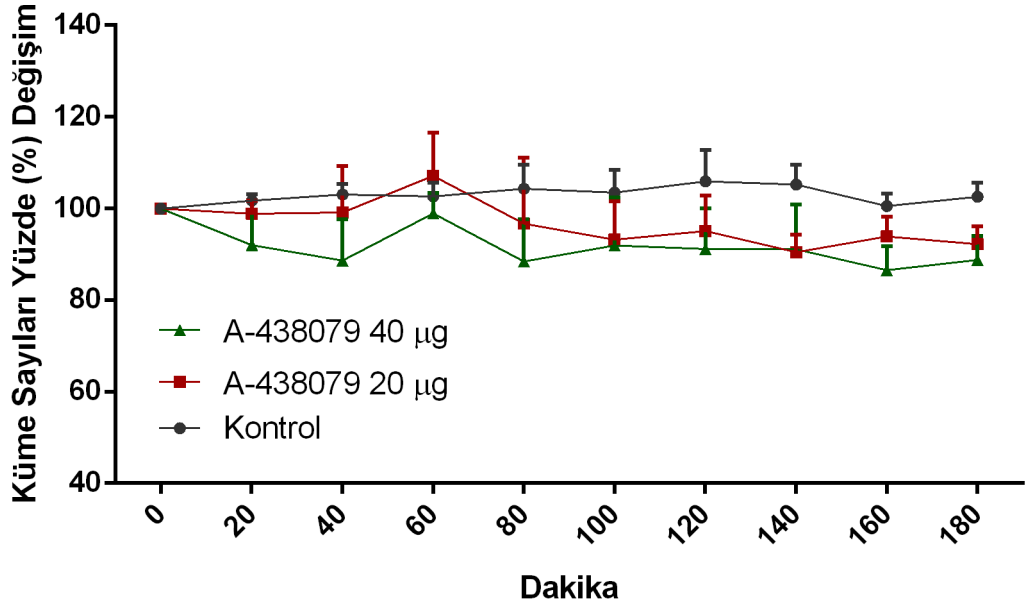
Bazal kaydıyla karşılaştırıldığında A-438079 40 µg i.s.v., kDDD, sDDD, nDDD ve aDDD'leri açısından anlamlı bir şekilde değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$)(Şekil 27-31). A-438079 40 µg grubunun bazal kaydının 80. dakika kDDD $11,0\pm0,6$ küme sayısı/20 dk, sDDD $96,16\pm2,4$ sn, nDDD $788,8\pm42,2$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,581\pm0,02$ mV idi. A-438079 40 µg i.s.v. uygulanması sonrası 80. dakika kDDD $13,4\pm1,2$ küme sayısı/20 dk, sDDD $89,8\pm7,1$ sn, nDDD $575,7\pm127,2$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,6219\pm0,053$ mV idi (Tablo 6).



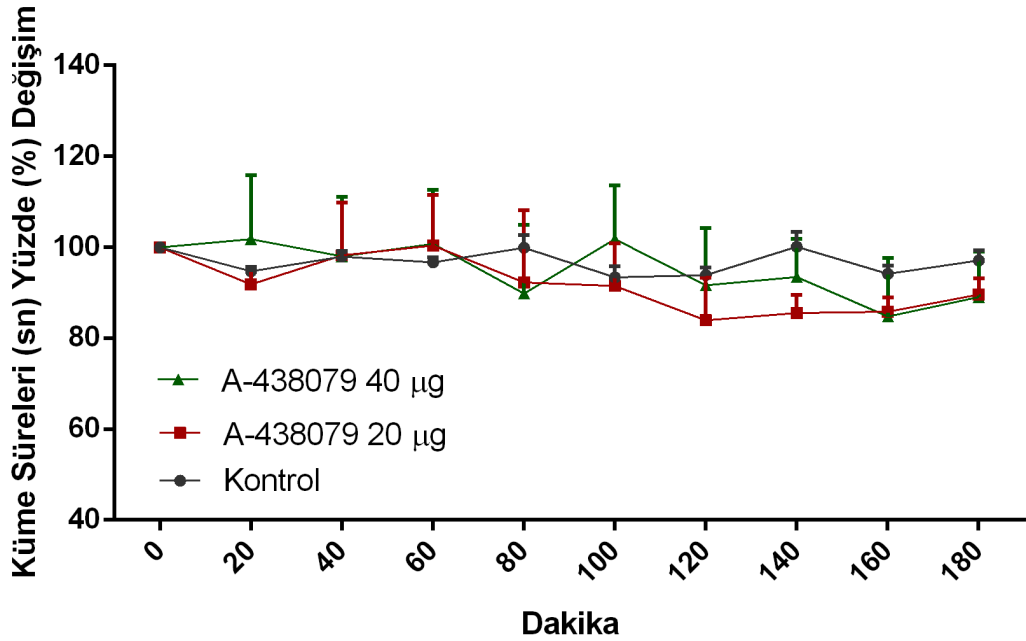
Şekil 27 A) ECoG kaydının ilk 3 saatlik bazal kaydının 80. dakikasından örnektir B) A-438079 40 µg i.s.v. uygulandıktan sonra alınan ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir.

Tablo 6 A-438079 20 µg ve 40 µg i.s.v. doz gruplarından alınan kayıtların kDDD (küme sayısı±SEM), sDDD (küme süresi±SEM), nDDD (diken dalga sayısı±SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü±SEM) bulgularının her yirmi dakika için ortalama±SEM değerleri

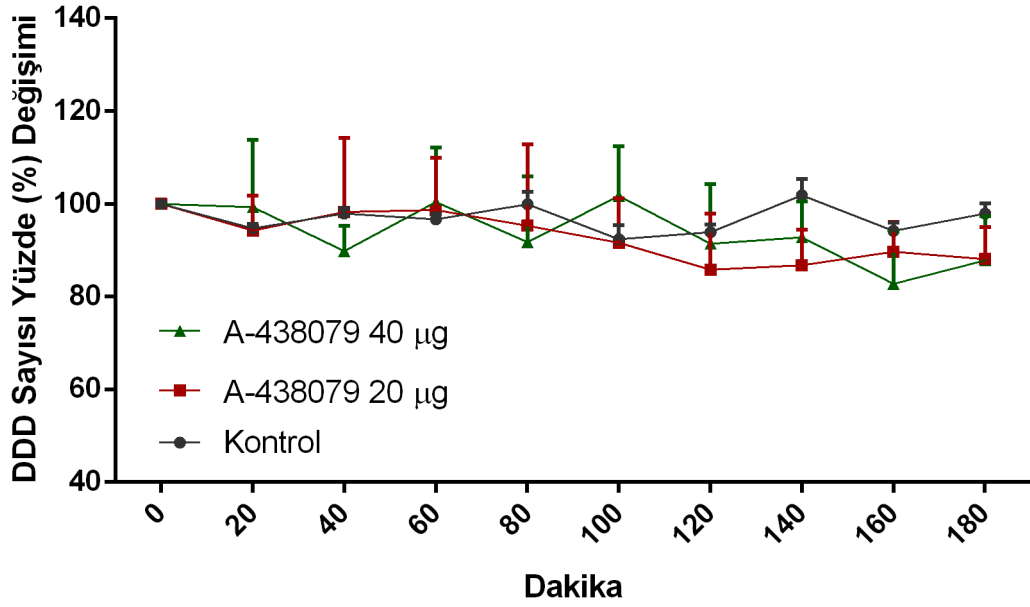
Zaman dk	kDDD		sDDD		nDDD		aDDD	
	küme sayısı/20 dk		sn		DDD sayısı/20 dk		mV	
	A-438079 20 µg	A-438079 40 µg	A-438079 20 µg	A-438079 40 µg	A-438079 20 µg	A-438079 40 µg	A-438079 20 µg	A-438079 40 µg
20	14,9±1,9	14±1,6	105,5±15,2	101,6±5,7	777,3±135,2	641,6±130,1	0,5838±0,013	0,6148±0,045
40	13,9±1,9	12,4±1,5	90,1±11	92,3±13,4	668,6±114,1	622,3±140,4	0,5832±0,014	0,6178±0,055
60	14,1±2,5	12,6±2,8	90,3±11,5	92,2±17,3	663,8±108,5	456,3±92,5	0,6273±0,016	0,6313±0,054
80	15,6±3,2	13,4±1,2	95,1±17,1	89,8±7,1	694,9±129,1	575,7±127,2	0,6325±0,033	0,6219±0,053
100	14,5±4	11,7±1,7	88,6±22,9	81,5±12,3	695,1±213,2	536,5±135	0,5890±0,007	0,6351±0,050
120	13,6±2,7	12,3±1,5	89±17,8	93,3±9,5	668,2±145,7	593,3±131,8	0,6442±0,017	0,6249±0,047
140	13,2±1,7	12,5±1,9	77,1±8,7	83,3±10,2	575,9±57,6	521,1±125,5	0,6344±0,020	0,6563±0,060
160	12,6±1,4	12,1±1	80±9,4	80,4±7,1	597,5±69,5	499±91,6	0,6422±0,005	0,6478±0,055
180	14,1±0,9	11,1±1,6	79,7±7,1	75,1±7,5	602±56,7	450,7±92,7	0,6545±0,007	0,6595±0,073



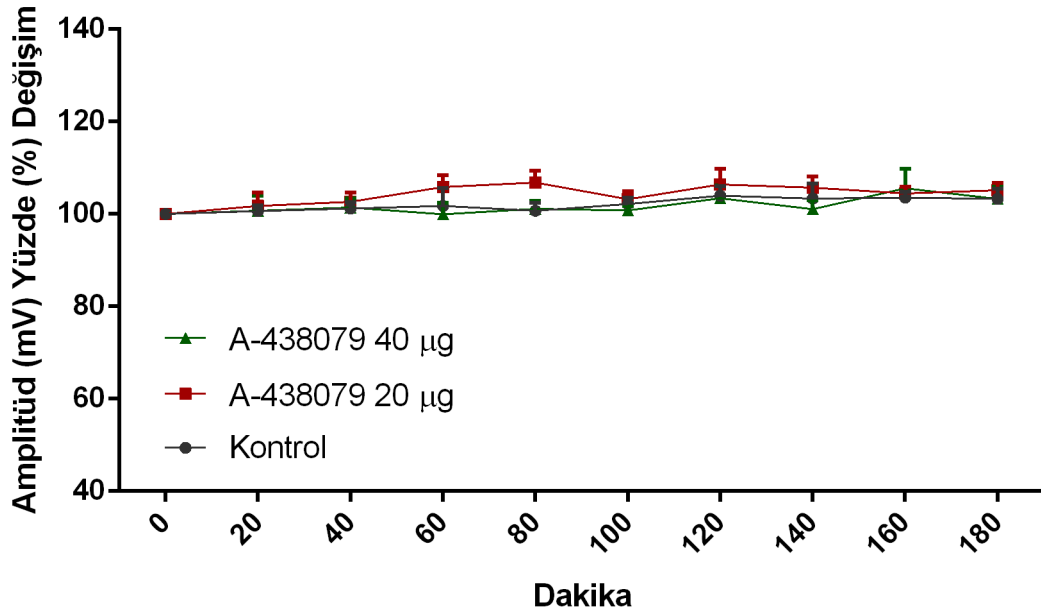
Şekil 28 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme sayısı yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 4-38079, 20 µg ve 40 µg doz grupları küme sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).



Şekil 29 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme süresi yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 4-38079, 20 µg ve 40 µg doz gruplarında küme sürelerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).



Şekil 30 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, kontrol grubuyla DDD sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD sayısı yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 4-38079, 20 µg ve 40 µg doz gruplarında diken dalga sayısında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).

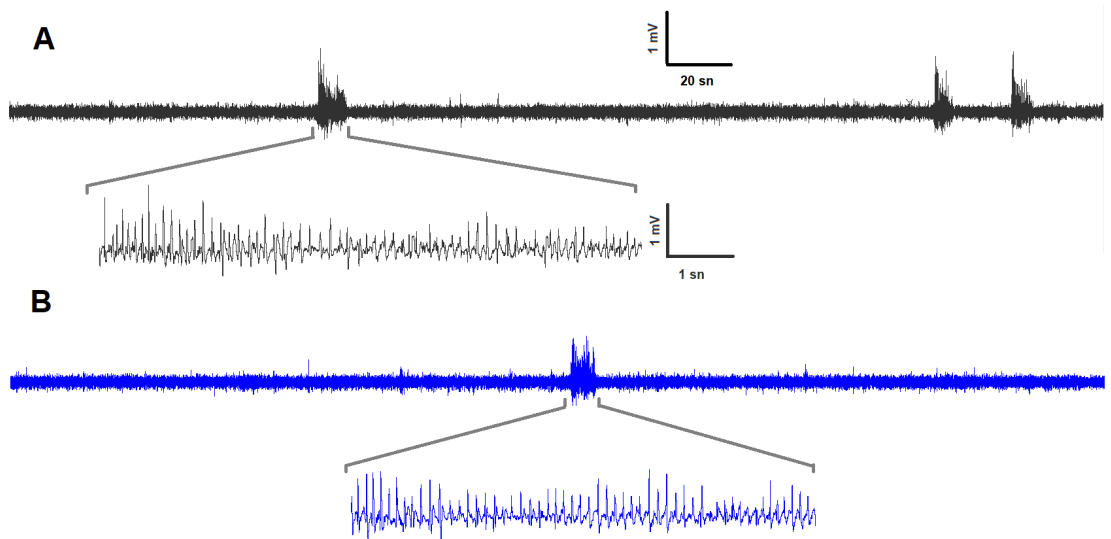


Şekil 31 4-38079, 20 µg ve 40 µg gruplarının, kontrol grubuyla DDD amplitüdlerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD amplitüdü yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 4-38079, 20 µg ve 40 µg doz gruplarında diken dalga amplitüdünde istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik olmadı ($p>0,05$).

4.4. Memantin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi

Memantin, laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada etkili bulunan dozda çalışıldı (158). ECoG kaydının başlamasından üç saat sonra memantin 5 mg/kg i.p. uygulandı. Ardından üç saat daha ECoG kaydı alınarak WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktivite üzerine etkisi incelendi.

Bazal kaydıyla karşılaştırıldığında memantin 20. dakikadan itibaren kDDD, sDDD ve nDDD'yi anlamlı derecede azalttı ($p<0,001$), ancak aDDD üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$) (Şekil 32). Memantin 5 mg/kg grubunun bazal kaydının 40. dakika kDDD $10,6\pm0,5$ küme sayısı/20 dk, sDDD $96,8\pm4,1$ sn, nDDD $743,1\pm58,8$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,598\pm0,016$ mV idi. Memantin uygulaması sonrası 40. dakika kDDD $1,9\pm0,7$ küme sayısı/20 dk, sDDD $15\pm4,7$ sn, nDDD 116 ± 37 DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,593\pm0,02$ mV idi (Tablo 8).



Şekil 32 A) ECoG kaydının ilk üç saatlik bazal kaydının 80. dakikasından örnektir B) Memantin 5 mg/kg i.p. uygulandıktan sonra alınan ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir.

Tablo 7 Memantin (M), BzATP-Memantin (BzM) ve A-438079-Memantin (A4M) gruplarından alınan kayıtların kDDD (küme sayısı±SEM), sDDD (küme süresi±SEM), nDDD (diken dalga sayısı±SEM) ve aDDD (DDD ortalama amplitüdü±SEM) bulgularının her yirmi dakika için ortalama±SEM değerleri

Zaman dk	kDDD küme sayısı/20dk			sDDD sn			nDDD DDD sayısı/20dk			aDDD mV		
	M	BzM	A4M	M	Bz M	A4M	M	BzM	A4M	M	BzM	A4M
20	9,7±0,7	8,8±0,1	9,5±0,8	75,8±8,4	60,1±3,3	72,6±8,5	559±64,2	491±32	579±68,7	0,56±0,01	0,598±0,04	0,623±0,01
40	1,9±0,7	1,7±0,6	7±1,1	15±4,7	7±1,6	55,1±9,6	116±37	61±14,3	434±85,8	0,593±0,02	0,593±0,03	0,582±0,04
60	2,9±0,3	1,8±0,1	7±1,1	21,2±4,2	10,1±2,1	54,5±5,6	146±27,7	83±16,1	431±51,4	0,593±0,01	0,627±0,02	0,606±0,03
80	2,9±0,5	1,9±0,5	6,1±0,9	21,5±2,4	13±5	44,8±13	172±28,9	105±37,5	358±104	0,605±0,03	0,599±0,03	0,629±0,03
100	3±0,03	1,7±0,9	5,9±0,9	22,2±1,1	10,2±5,2	44,1±6,2	164±8,5	88±44,4	346±49,7	0,609±0,02	0,610±0,02	0,631±0,01
120	4±0,8	2,3±1,1	6,1±0,9	29±7,3	15,2±9,7	47,5±1,1	211±46,9	124±76,6	364±7,8	0,588±0,01	0,603±0,02	0,604±0,04
140	3±0,7	2,1±1	6,2±0,3	19,3±4,2	12,4±6,4	46,6±4,7	139±30,4	107±54,9	362±42,4	0,609±0,02	0,612±0,03	0,609±0,05
160	2,7±0,5	2,5±0,8	5,7±1	19±4,8	13,2±5,9	34,2±4,3	126±26,2	117±50,5	267±35,1	0,579±0,01	0,610±0,01	0,604±0,03
180	2,1±0,5	0,5±0,5	5,7±0,9	14,5±4,3	3,9±3,9	40,4±14	110±33,7	33±33,1	360±87	0,601±0,01	0,600±0,02	0,636±0,01

Tek başına uygulanan memantin, hiçbir dokuda AOPP seviyelerinde değişim oluşturmazken, MDA düzeylerini sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve kan plazmasında kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı ($p<0,05$). Antioksidan parametrelerden SOD ve GPx enzim seviyeleri hiçbir dokuda anlamlı bir değişim göstermedi ($p>0,05$). İntraperitoneal memantin uygulanmasıyla birlikte sağ hemisfer, sol hemisfer ve kan plazmasında GSH ve GSR düzeyleri azalırken, diğer dokularda anlamlı bir düşüş saptanmadı. CAT düzeylerine bakıldığında sadece sağ hemisfer, sol hemisfer ve kan plazmasında artış gözlendi ($p<0,05$) (Tablo 7).



Tablo 8 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin grupları, sol hemisfer, sağ hemisfer, serebellum, beyin sapı ve plazmada, protein oksidasyonu (AOPP), lipid peroksidasyon (MDA), Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GSR) değerleri. Kontrol grubu ile karşılaştırma (Tablo 2'de) * P<0,05; ** P< 0,01; *** P<0,001

Gruplar	Örnek	AOPP nmol/ml	MDA nmol/ml	SOD ng/ml	GSH mg/L	CAT ng/ml	GPx ng/ml	GSR ng/ml
Memantin	Sol hemisfer	3,6±0,5	2,6±0,4*	4,6±0,4	35±3,5*	17,3±0,6**	7,6±0,6	2,6±0,3**
	Sağ hemisfer	4,5±0,6	3,1±0,4*	5,2±0,6	27,9±3,1*	18,2±0,7*	6±0,7	2,5±0,4**
	Serebellum	8,9±0,7	4,4±0,6*	7,7±1,2	60±7,1	20,7±2,4	9,7±0,7	7,9±0,8
	Beyin sapı	7,6±0,7	6,4±1,1*	6,3±0,8	92,3±10,5	17,8±2,1	16,9±1,4	7,3±0,8
	Plazma	14,4±0,8	31,5±1,5*	11,5±1,7	147,5±23,3	61,4±6,7*	28,6±3,4	16,9±3,5**
BzATP- Memantin	Sol hemisfer	4,9±0,7	4,7±0,6	4,5±0,7	37,4±2,9*	15±0,3*	9,5±1,1	3,7±0,3*
	Sağ hemisfer	6±0,9	4,7±0,6	5,2±0,7	25,5±3*	19,7±1,3*	6,4±0,8	3,4±0,5*
	Serebellum	9,1±1,1	7±0,8	7,2±1,1	66,4±6,5	17,6±3,4	8,7±1	10±1,2
	Beyin sapı	8,3±0,8	9,1±0,8	5,9±0,4	89,7±8,8	21,8±3,4	14,3±1,2	10,1±1,2
	Plazma	17,4±1,6	41,3±4,5	14,1±2,5	117,9±12,5	62,9±4,1*	24,6±4	27,1±4,4
A-438079- Memantin	Sol hemisfer	3,4±0,6	3,1±0,3*	4,3±0,6	32,2±4,1*	16,1±0,5*	6,9±0,4	3±0,4*
	Sağ hemisfer	4,2±1	3,3±0,3*	4,6±0,4	29±4,1*	17,8±0,6*	5,7±0,4	2,4±0,6**
	Serebellum	7,7±1,4	3,6±0,5*	8±0,8	59,7±5,9	19,9±3,6	8,6±0,8	8,9±0,7
	Beyin sapı	7,5±1	7,1±0,7**	6±0,6	82,3±7,1	14,6±1,7	16,5±1	7,6±0,7
	Plazma	15,7±0,7	33,8±2,7*	12,3±15	149,5±16,8	72,8±8,8**	25,4±2,5	19,4±5,3*

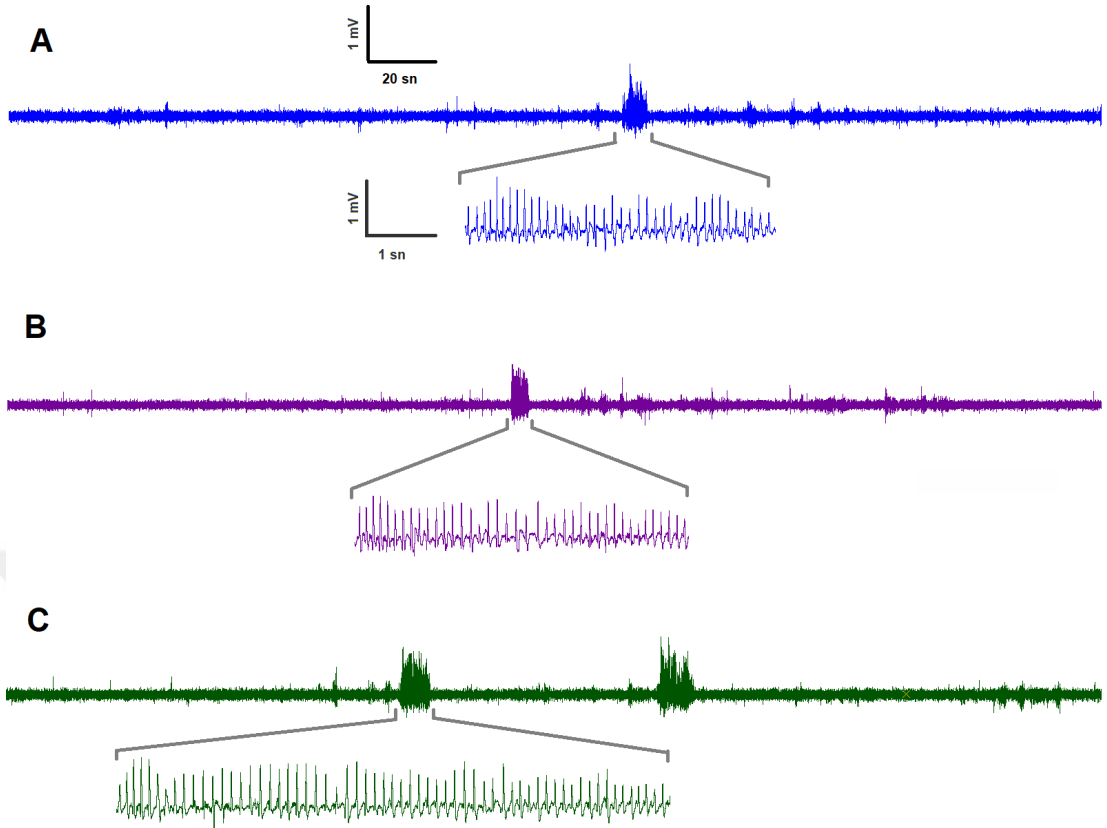
4.5. NMDA Reseptör Antagonisti Olan Memantin ile P2X7 Reseptörlerinin Etkileşimlerinin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi

4.5.1. BzATP-Memantin grubunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi

Çalışmamızda P2X7R agonisti olan BzATP etkisiz bulunmuştur. Bu nedenle laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada en etkin doz olarak bulunan BzATP 100 µg i.s.v. dozu etkileşim grubunda kullanıldı (11). Bazal kayıt alındıktan sonra önce BzATP 100 µg i.s.v. uygulaması yapıldı, 10 dk geçmesinin ardından memantin 5 mg/kg i.p. uygulandı ve üç saat daha kayıt alındı.

Bazal kaydıyla karşılaştırıldığında BzATP-memantin 20. dakikadan itibaren kDDD, sDDD ve nDDD'yi anlamlı derecede azalttı ($p<0,001$), ancak aDDD üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$). BzATP-memantin grubunun 40. dk bazal kDDD $10,4\pm0,2$ küme sayısı/20 dk, sDDD $102\pm4,6$ sn, nDDD $836,4\pm43,1$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,596\pm0,014$ mV idi. BzATP-memantin uygulanması sonrası 40. Dakika kDDD $1,7\pm0,6$ küme sayısı/20 dk, sDDD $7\pm1,6$ sn, nDDD $61\pm14,3$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,593\pm0,03$ mV idi (Tablo 8). BzATP-memantin grubu memantin grubuyla karşılaştırıldığında kDDD, sDDD, nDDD ve aDDD anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$) (Şekil 33-37).

P2X7R agonisti BzATP ile birlikte uygulanan memantin, hiçbir dokuda AOPP ve MDA seviyelerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadı ($p>0,05$). Bunun yanında, BzATP-memantin grubu hiçbir dokunun SOD ve GPx düzeylerini etkilemedi ($p>0,05$). GSH düzeyleri analiz edildiğinde, BzATP ile birlikte uygulanan memantin sadece sol ve sağ hemisferde anlamlı bir düşüş oluşturdu ($p<0,05$). BzATP-memantin grubu serebellum ve beyin sapı CAT düzeylerini etkilemezken, sol hemisfer, sağ hemisfer ve plazmada kontrol grubuna göre anlamlı bir artışa neden oldu ($p<0,05$). Glutatyon redüktaz (GSR) seviyelerinde ise sadece sağ hemisfer ve sol hemisferde kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş saptandı ($p<0,05$).



Şekil 33 A) Memantin 5 mg/kg i.p. uygulandıktan sonra alınan ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir. B) BzATP-memantin grubunun ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir C) A-438079-memantin grubunun ECoG kaydının 80. dakikasından örnektir

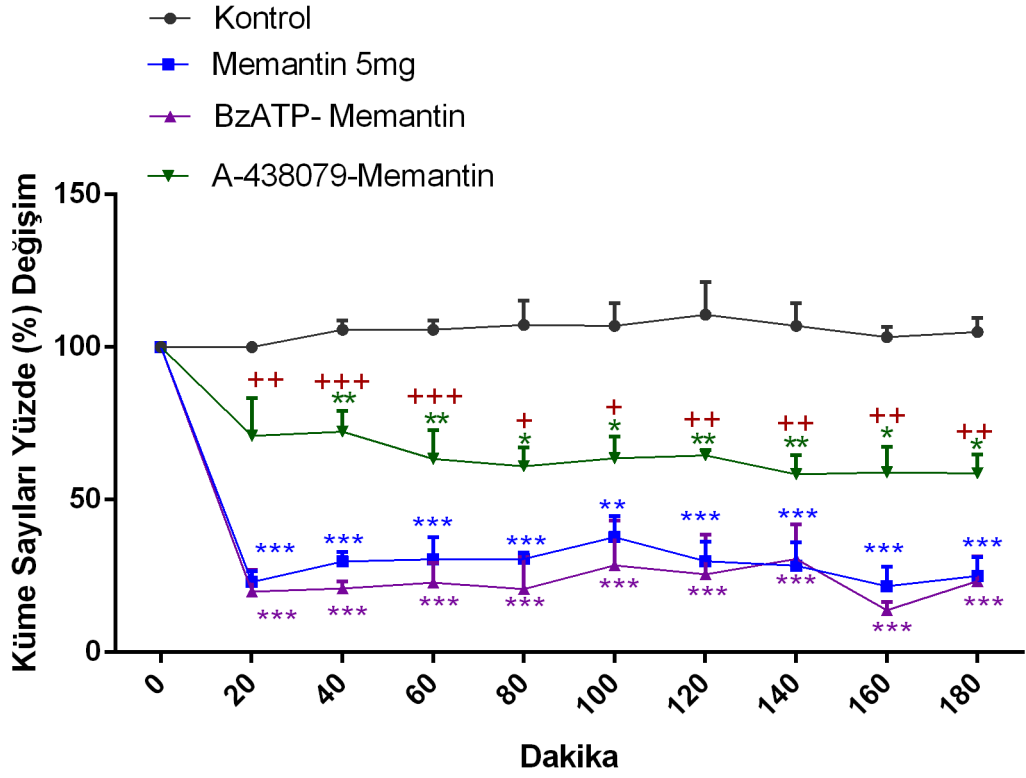
4.5.2. A-438079-Memantin Grubunun WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisi

Çalışmamızda P2X7R antagonisti A-438079 etkisiz bulunmuştur. Bu nedenle laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada en etkin olan en düşük doz olarak bulunan A-438079 20 µg i.s.v. dozu etkileşim grubunda kullanıldı (11). Bazal kayıt alındıktan sonra önce A-438079 20 µg i.s.v. uygulaması yapıldı, 10 dk geçmesinin ardından memantin 5mg/kg i.p. uygulandı ve 3 saat daha kayıt alındı.

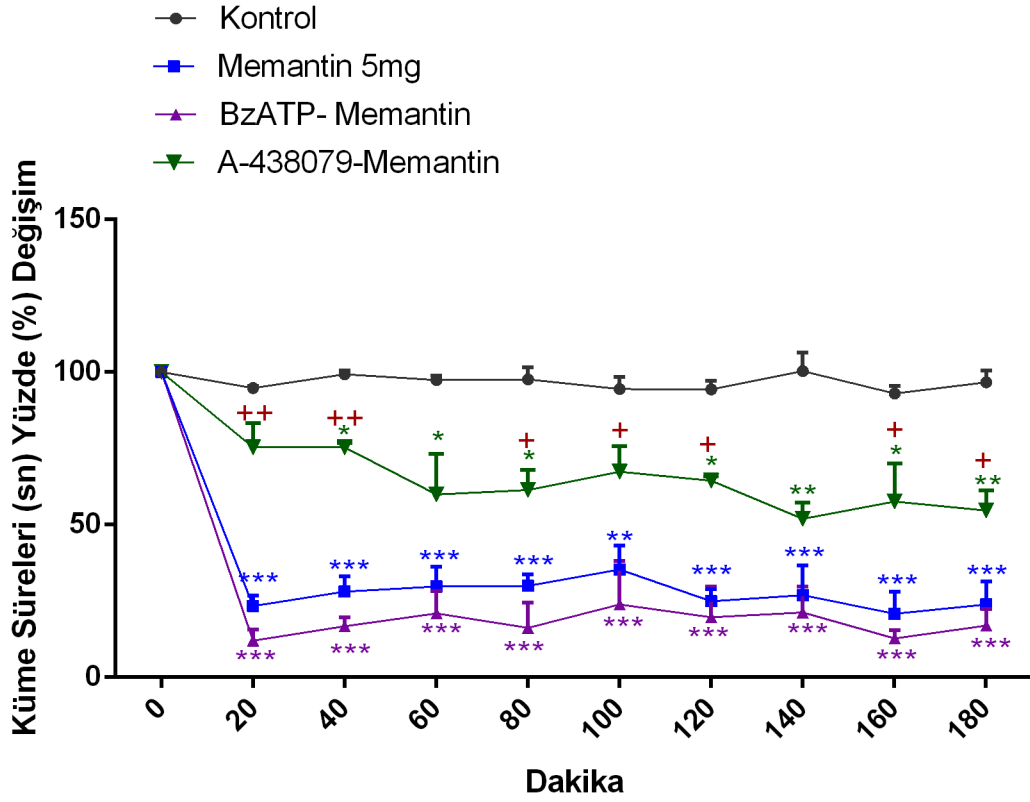
Bazal kaydıyla karşılaştırıldığında A-438079 nöbet aktivitesinde 60. dakikadan itibaren kDDD ($p < 0,001$), sDDD ($p < 0,05$) ve 80. dakikadan itibaren

nDDD'yi anlamlı derecede azalttı ($p<0,05$), ancak aDDD üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$). A-438079-memantin grubunun bazal kaydının 80. dakika kDDD $11,2\pm0,3$ küme sayısı/20 dk, sDDD $103\pm3,2$ sn, nDDD $778\pm35,1$ DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,597\pm0,017$ mV idi. A-438079-memantin uygulaması sonrası 80. Dakika kDDD $6,1\pm0,9$ küme sayısı/20 dk, sDDD $44,8\pm13$ sn, nDDD 358 ± 104 DDD sayısı/20 dk ve aDDD $0,629\pm0,03$ mV idi (Tablo 7).

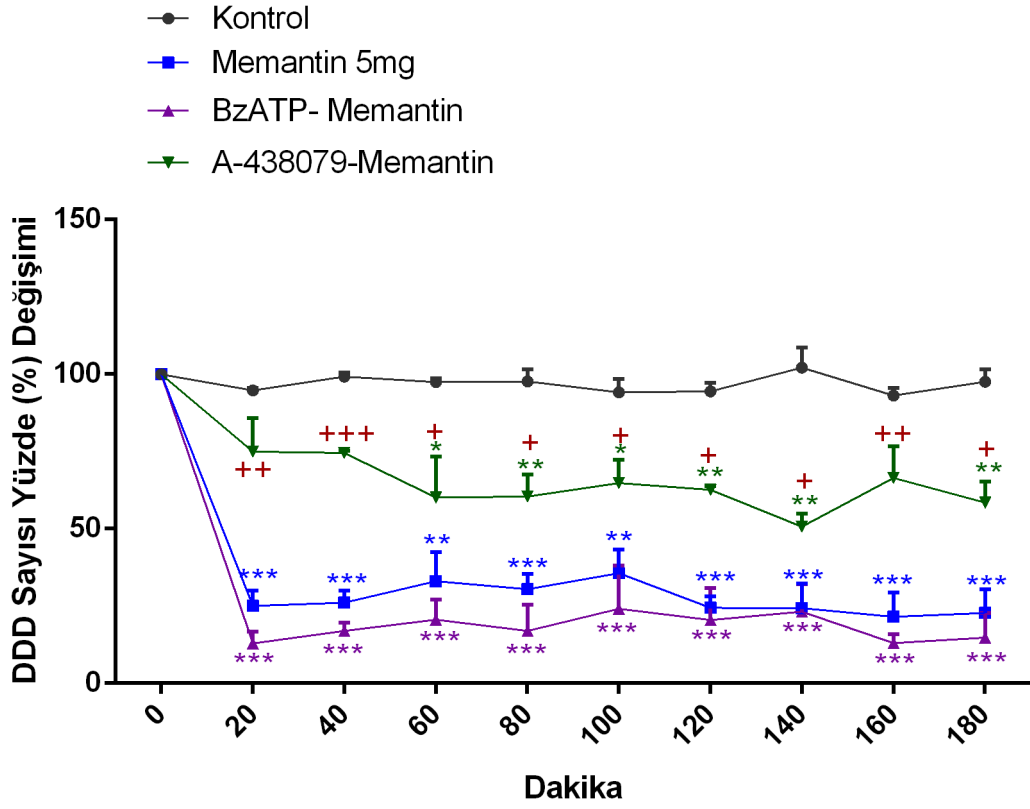
A-438079-Memantin grubu memantin grubuyla karşılaştırıldığında 20. dakikadan itibaren kDDD, sDDD ve nDDD'yi memantin grubuna göre anlamlı derecede arttırdı ($p>0,01$) ancak aDDD üzerinde anlamlı bir değişikliğe sebep olmadı ($p>0,05$) (Şekil 33-37).



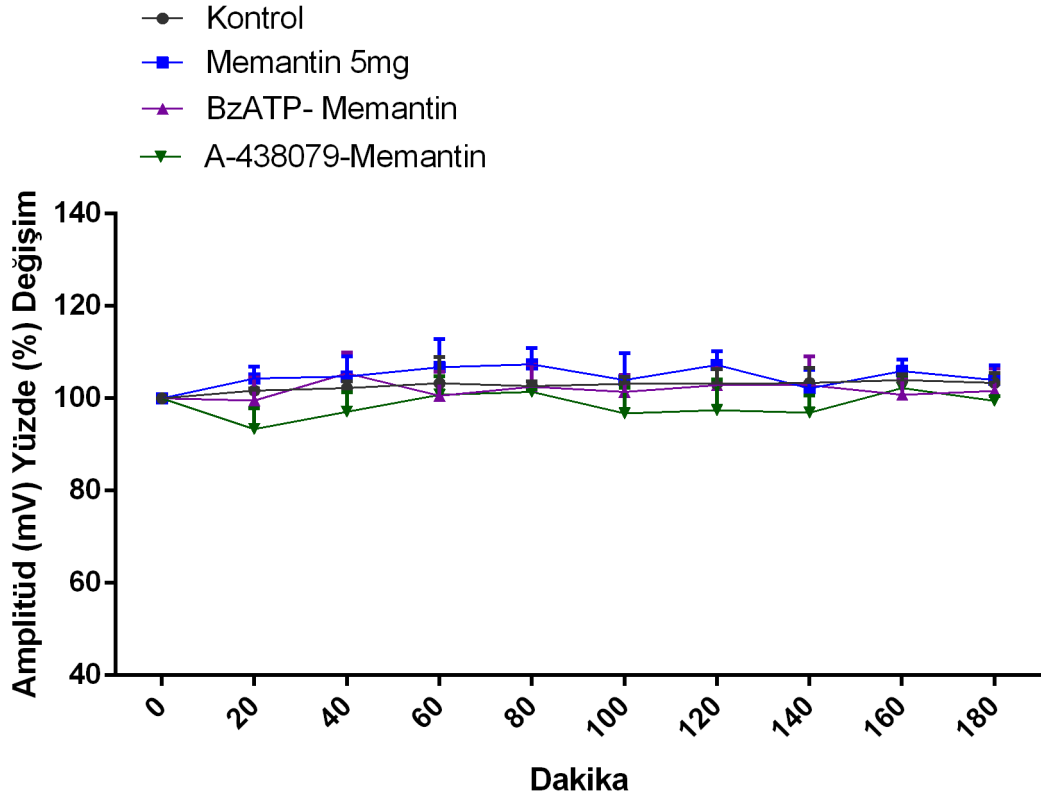
Şekil 34 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme sayısı yüzde değişimi±SEM) . Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Memantin, BzATP-memantin 20. Dakikadan itibaren ve A-438079-Memantin grubu 40. Dakikadan itibaren itibaren küme sayısını anlamlı derecede azalttı (*= $p<0,05$; **= $p<0,01$; ***= $p<0,001$). Memantin ve BzATP-memantin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). A-438079-memantin grubu memantin grubuna kıyasla nöbet sayısını daha az düşürdü (+= $p<0,05$; ++= $p<0,01$; +++= $p<0,001$).



Şekil 35 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme süresi yüzde değişimi±SEM) . Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Memantin, BzATP-memantin 20. Dakikadan itibaren ve A-438079-Memantin grubu 40. Dakikadan itibaren küme süresini anlamlı derecede azalttı (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$). Memantin ve BzATP-memantin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). A-438079-memantin grubu memantin grubuna kıyasla nöbet süresini daha az düşürdü (+= $p < 0,05$; ++= $p < 0,01$; +++= $p < 0,001$).



Şekil 36 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, kontrol grubuyla DDD sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD sayısı yüzde değişimi±SEM) . Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Memantin, BzATP-memantin 20. Dakikadan itibaren ve A-438079-Memantin grubu 60. Dakikadan itibaren DDD sayısını anlamlı derecede azalttı (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$). Memantin ve BzATP-memantin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). A-438079-Memantin grubu Memantin grubuna kıyasla DDD sayısını daha az düşürdü (+= $p < 0,05$; ++= $p < 0,01$; +++= $p < 0,001$).



Şekil 37 Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin gruplarının, kontrol grubuyla DDD amplitüdlerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (DDD amplitüdü yüzde değişimi \pm SEM). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Memantin, BzATP-Memantin ve A-438079-Memantin grubu diken dalga amplitüdünü anlamlı derecede etkilemedi ($p>0,05$).

P2X7R antagonisti A438079 ile birlikte uygulanan memantin, hiçbir dokuda AOPP seviyelerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmazken ($p>0,05$), MDA düzeylerini tüm dokularda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalttı ($p<0,05$). A438079-memantin kombinasyonu hiçbir dokunun SOD ve GPx düzeylerini etkilemedi ($p>0,05$). GSH düzeyleri analiz edildiğinde, kombinasyon grubu sadece sol ve sağ hemisferde anlamlı bir düşüş oluşturdu ($p<0,05$). A438079 ile birlikte uygulanan memantin, serebellum CAT düzeylerini etkilemezken, beyin sapında anlamlı bir azalma, sol hemisfer, sağ hemisfer ve plazmada kontrol grubuna göre anlamlı bir artışa neden oldu ($p<0,05$). Glutatyon redüktaz (GSR) seviyelerinde ise sadece sağ hemisfer, sol hemisfer ve kan plazmasında anlamlı bir düşüş saptandı ($p<0,05$) (Tablo 8)

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada; absans epilepsinin genetik modeli olan WAG/Rij sıçanlarda, P2X7 reseptörlerinin rolü ve NMDA reseptörleriyle etkileşimi incelendi. Bunun için P2X7 reseptör agonisti BzATP ve antagonisti A-438079 ve NMDA reseptör antagonisti memantin kullanıldı ve dozları daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalar referans alınarak belirlendi (11, 158). Bu dozlar BzATP için 50 µg-100 µg i.s.v., A-438079 için 20 µg-40 µg i.s.v. ve memantin için 5 mg/kg i.p. idi. bu dozlarda elektrofizyolojik incelemeler yapıldı. BzATP ve A-438079 sunulan çalışmada etkisiz bulunduğundan laboratuvarımızda yapılan bir başka çalışmada etkin bulunan BzATP 100 µg i.s.v., A-438079 20 µg-40 µg i.s.v. dozları kullanılarak memantin ile elektrofizyolojik etkileşimleri ve biyokimyasal etkileri ve etkileşimleri incelendi.

5.1. WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktivite

Absans epilepsi, kronik, konvulsif olmayan, motor olmayan jeneralize nöbettir (5, 25, 34). Nöbet sırasında EEG'de bilateral, senkronize 3 Hz frekanslı DDD'ler görülür (5, 25). İnsanlarda genellikle çocukluk çağında görülür ve okul başarısını ve hayat kalitesini kötü etkiler. Kalsiyum kanal blokörü olan etosüksimide iyi cevap verir ve çoğunlukla pubertede kendiliğinden sonlanır (5). Ancak tedaviye dirençli olgular ve pubertede kötüleşen epilepsi vakaları da vardır (6, 54). Bu nedenle absans epilepsinin patofiyolojisinin araştırılması ve tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

Epilepsinin temelinde yatan mekanizmaları ortaya deneysel epilepsi modelleri kullanılmaktadır. Absans epilepsi için önceleri kimyasal maddelerle oluşturulan modeller kullanılmış olsa da bugünlerde genetik hayvan modelleri kullanılmaktadır (159). WAG/Rij ve GAERS tipi sıçanlar geçerliliği kanıtlanmıştır; insanlarda görülen absans epilepsiye, klinik, nörofizyolojik ve farmakolojik olarak benzerlik göstermektedirler (5, 159, 160). Ancak bazı farklılıkları bulunmaktadır. WAG/Rij sıçanların nöbet DDD frekansı 8-14 Hz'i bulabilir ve nöbet sırasında frekans başlarda yüksekken sonlara doğru azalır, GAERS sıçanlarda DDD frekansı 6-8 Hz frekansıdır ve daha stabildir (160).

GAERS sıçanlarda görülen küme sayısı ve toplam küme süresi daha yüksektir. WAG/Rij sıçanlarda iki tip DDD kümesi görülür; korteksten alınan kayıtlarda görülen form insanlarda görülen DDD küme paternine daha çok benzerlik göstermektedir (160).

Bugüne kadar yapılan çalışmalar absans epilepsinin üç aşamada gerçekleştiğini göstermiştir: genetik olarak kortekste epileptojenik bir odağın oluşması; oluşan odağın korteksin diğer bölümlerini anormal deşarjlarla uyarması; uyarıların talamusa ulaşması KTK ağın oluşması ve olgunlaşması (6, 41, 58, 70, 79, 85, 159, 161). Bu süreçte glutamatin, GABA'nın, T tipi kalsiyum kanllarının rolü büyüktür (79, 85, 159). Ancak absans epilepsi oluşumunu tek sorumlusu bu mekanizmalar ve bu nörotransmitterler değildir. Diğer birçok faktörden de etkilendiği bilinmektedir (92, 162).

Sunulan çalışmada WAG/Rij sıçanlar kendiliğinden nöbet aktivitesine sahip olduğundan model oluşturmak için herhangi bir işlem yapılmamıştır. Kontrol amaçlı hayvanlardan önce üç saat bazal kayıt alınıp, çözücü olarak kullanılan 2 µl distile su uygulanmıştır. Hayvanlar birbirilerine göre nöbet paterninde farklılık gösterebildiğinden kontrol için aynı gün alınan bazal kaydın kullanılması daha güvenli sonuçlar vermektedir. BzATP 50 µg-100 µg i.s.v., A-438079 20 µg-40 µg i.s.v. ve memantin 5 mg/kg i.p, ve etkileşim için 10 dakika arayla BzATP 100 µg i.s.v.- memantin 5 mg/kg i.p ve A-438079 20 µg i.s.v.- memantin 5 mg/kg i.p uygulaması yapıp, sonrasında üç saat daha kaydı alınarak hayvanlar elektrofizyolojik açıdan değerlendirildi. Belirlenen en etkin olan dakikada hayvanlardan kan örnekleri alınıp, beyinleri çıkarılıp sağ ve sol hemisfer, serebellum ve beyin sapı biyokimyasal inceleme için ayrıldı.

Bu çalışma kronik epilepsi modeli olan WAG/Rij sıçanlarda görülen absans epilepsi üzerine P2X7 reseptörlerinin ve NMDA reseptörü anagonisti olan memantin etkilerini ve etkileşimini elektrofizyolojik yöntemlerle değerlendiren ve bu reseptör etkinliklerinin oksidan ve antioksidan parametrelere etkisini biyokimyasal yöntemlerle inceleyen ilk çalışma olma niteliğindedir.

5.2. P2X7R Aktivitesinin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi

P2X7R pürinerjik reseptör ailesinin en yeni üyesi olup sinir sisteminde yaygın bulunması ile araştırmacıların dikkatini çekmiştir (97, 98, 118). P2X7R, inflamasyon sürecinde de çok önemli bir rol oynayabilen, glial hücreler tarafından, inflamazom kompleksi ve sitokin IL-1 sekresyonunun aktivasyonunun ana düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir (Şekil 9) (118, 163). Bu nedenle özellikle nöroinflamatuvar ve nörodejeneratif hastalıklar olmak üzere epilepsi de dâhil birçok hastalığın patofizyolojisinde yer aldığı düşünülmekte ve tedavide hedef olarak gösterilmektedir (118, 142). Çeşitli epilepsi modellerinde P2X7R'ün ekspresyonunun arttığı ve P2X7R antagonistlerinin antikonvulsan yönde etki ettiği, bazı epilepsi modellerinde de P2X7R'nin etkisinin sınırlı olduğu gösterilmiştir (11, 14, 120, 143, 163-165).

Sunulan çalışmada WAG/Rij sıçanlara P2X7R agonisti BzATP, 50 µg ve 100µg i.s.v. dozlarında ve P2X7R antagonisti A-438079, 20 µg ve 40µg i.s.v. dozlarında uygulandı. WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye P2X7R agonist veya antagonist uygulanmasının anlamlı bir etkisinin olmadığı görüldü. Bu da P2X7R'nin absans epilepside görülen DDD oluşumunda ve düzenlenmesinde tek başına etki etmediğini düşündürmektedir. Bunun nedeni WAG/Rij sıçanlarda görülen epilepsinin kronik bir epilepsi modeli olması ve aktif inflamatuvar süreçlerin olmaması olabilir. P2X7R sayısının inflamasyon durumunda arttığı bilinmektedir (118). Absans epilepsi tedavisinde kalsiyum kanal blokörleri etkilidir (5, 82). P2X7R seçici olmayan katyon kanallarıdır ve özellikle kalsiyuma geçirgenliği çok yüksektir (101). Ayrıca reseptörün desensitizasyonu düşüktür, bu nedenle uzun süre iyon geçişine izin verebileceğinden sitotoksik etkilere yol açabilir (163). Aynı zamanda voltaj kapılı kalsiyum kanallarına da etki ettiği bilinmesine rağmen P2X7R aktivitesi WAG/Rij sıçanlardaki epileptik aktiviteye anlamlı düzeyde etkili bulunmamıştır (127). Bunun nedeni P2X7R'nin yerleşimi olabilir. Absans epilepsi için talamus çekirdeklerinde bulunan röle nöronlarındaki kalsiyum akımları önemlidir (5, 70, 160). P2X7R'nin talamusun bu bölgesindeki varlığı ve yoğunluğu hakkında bilgi yoktur.

Biyokimyasal verileri incelendiğinde BzATP'nin her iki hemisferde SOD ve GSR düzeylerinin arttırdığı; plazmada da GSH düzeyini arttırdığı bulundu. İki hemisferin birbirine üstünlüğü yoktu. A-438079 hiçbir biyokimyasal parametrede kontrol grubuna göre anlamlı bir değişikliğe sebep olmadı. Buna göre P2X7R'nin WAG/Rij sıçanlarda özellikle kortikal yapılar üzerine etkili olduğu görülmektedir. P2X7R aktivitesinin p38 MAPK aktivitesine etki ederek NADPH aktivitesini etkilediği ve O⁻ radikalinin oluşumunu arttırdığı Alzheimer modelinde gösterilmiştir (132). O⁻ radikalini H₂O₂'ye dönüştüren antioksidan enzim SOD'dur ve sunulan çalışmada SOD düzeyinin artışı O⁻ radikalinin artışını desteklemektedir. Ayrıca ALS modellerinde ve hücre kültürü çalışmalarında P2X7R'nin mutant SOD üzerine doğrudan etki ettiği de gösterilmiştir (166-168). GSR, NADPH'ı GSH disülfidin (GSSG) GSH'a redüksiyon reaksiyonunda kullanmaktadır. Sonuçlar da buna uyumlu şekilde GSR'nin arttığını göstermektedir. GSR'nin artmasının sebebi NADPH'ın artışına ikincil olabilir. Bu durumda kortekste GSH miktarının artması beklenirdi. Ancak BzATP GSH'ı yalnızca plazmada arttırdı. Muhtemel bir mekanizma O⁻ radikalinin SOD ile H₂O₂'ye dönüşümü sonucu oluşan fazla H₂O₂'nin suya indirgenmesinde GSH'ın kullanılması olabilir. Bu da NADPH kullanımı sonucu artan GSH'ın, kortekste oluşan O⁻ radikalinin H₂O₂'ye dönüşümü için kullanılmış ve fazlasının plazmaya geçmiş olabileceğini akla getirmektedir. Ancak GPx miktarının değişmemesi bu ihtimali düşürmektedir.

BzATP'nin penisilinle indüklenen epilepsi modelinde görülen epileptiform aktiviteyi arttırdığı, A-438079'un ise azalttığı gösterilmiştir (11). Penisilinle indüklenen epilepsi modeli akut, jeneralize, konvulsif epilepsi modelidir ve kortekse uygulanan penisilin, GABA antagonisti bikukuline benzer şekilde etki etmesine ve sonuçta beyinde uyarılabilirliğin artmasına yol açmasına dayanmaktadır (169). Penisilinle indüklenen epilepsi modelinde görülen diken dalgalar interiktal diken dalga niteliğindedir (169, 170). Absans epilepsi, kronik, konvulsif olmayan epilepsi türüdür ve benzodiazepinler gibi GABA aktivitesini arttıran ilaçlardan olumsuz etkilenmektedir ve WAG/Rij sıçanlarda görülen DDD'ler iktal diken dalga niteliğindedir (5, 169). İki model arasındaki bu farklar nedeniyle P2X7R etkinliğinin farklı etkilere yol açması

beklenen bir durumdur. BzATP'nin penisilinle indüklenen epilepsi modelinde aynı zamanda AOPP, MDA, SOD, GSH, CAT, GPx, GSR değerlerini yükselttiği ancak T tipi kalsiyum kanal blokörünün kullanılmasıyla bu etkisinin normal değerlere geri döndüğü gösterilmiştir (11). A-438079, penisilinle indüklenen epilepsi modelinde, AOPP, MDA, SOD, GSH, CAT, GPx, GSR düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir. Penisilinle indüklenen penisilin modelinin kontrol grubuna göre MDA, CAT, GPx ve GSR'yi arttırdığı gösterilmiştir (11). Penisilin modelinin kendisi oksidan nitelikte olduğundan inflamatuvar süreçlerin aktif olması beklenmektedir (11). P2X7R'lerin sayısının inflamatuvar durumlarda arttığı ve daha çok etki ortaya çıkardığı bilinmektedir (118). P2X7R sayısının ve etkinliğinin daha fazla olmasının sebebi P2X7R sayısının ve etkinliğinin artışı olabilir. Bugüne kadar absans epilepsinin oluşumunda oksidan mekanizmaların ve inflamatuvar mekanizmaların rol oynadığını gösteren çalışma da bulunmamaktadır. Bu nedenle WAG/Rij sıçanlarda inflamatuvar süreçler olmadığından, P2X7R sayısının ve etkinliğinin az olması, BzATP ve A-438079'un etkisiz olmasının nedeni olabilir.

P2X7R antagonistlerinin (AFC-5128, JNJ-47965567), maksimal elektroşokla veya tek doz pentilentetrazol (PTZ) ile tetiklenen akut nöbetlere, tek başına katkıda bulunmadığı, ancak P2X7R antagonistinin karbamazepinle beraber uygulandığında karbamazepinin etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir (163, 171). Karbamazepin voltaj bağımlı sodyum kanallarına bağlanarak etki etmektedir. P2X7R antagonisti ile karbamazepin arasındaki bu ilişkinin sebebi ise bilinmiyor ve farmakokinetik olarak bir etkileşimin söz konusu olabileceği düşünülüyor. Bu durum P2X7R'nin nöbet oluşumunda aktif rol alması da düzenleyici görev alıyor olabileceğini de düşündürmektedir.

PTZ tutuşma modelinde P2X7R antagonistlerinin (AFC-5128, JNJ-47965567), nöbet başlangıcını geciktirdiğini ve glial inflamatuvar cevapları azalttığı ancak tam tutuşma gerçekleşmesi durumunda daha az antikonvulsan etkili olduğu gösterilmiştir (163). Benzer şekilde hipoksiyle uyarılan yenidoğan nöbetlerinde P2X7R antagonistlerinin (A-438079, JNJ-47965567) nöbet sırasında antikonvulsan etki gösterdiği ancak nöbet sonrası dönemde etkili olmadığı gösterilmiştir (171). Bunun sebebinin akut nöbet sırasında P2X7R'nin

mikroglialardan IL-1 β saliverilmesine sebep olması ve kaspaz-1'i aktiflemesi olduğu düşünülüyor. IL-1 β 'nin glutamaterjik sinyalleri yükselttiği, iNOS'un aktivitesini arttırdığı, COX-2 ve tümör nekrozis faktör α 'yı harekete geçirdiği biliniyor (127, 141, 166). Bu da nöronların uyarılabilirliğini ve nöron hasarını artırır. P2X7R antagonistlerinin uygulanması bu süreci yavaşlatabilir. Ancak WAG/Rij sıçanlarda akut inflamatuvar durum olmadığından ortamda aktif mikroglia olması beklenmemektedir.

Birçok epilepsi modelinde daha P2X7R'nin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (10, 14, 143, 163, 165). WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye ve oksidan parametreler üzerine P2X7R'nin etkileri daha silik ortaya çıkmıştır. P2X7R'nin oksidan devrelere etki ettiği yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (11, 172, 173). Aynı zamanda P2X7R sayısının iskemi, travma, inflamasyon, enfeksiyon gibi akut yangı durumlarında arttığı bilinmektedir (142). P2X7R'nin WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisinin azlığının sebebi, absans epilepsinin kronik bir hastalık olması ve akut bir inflamasyonun olmayışı nedeniyle P2X7 reseptör ekspresyonunun azlığı olabileceğini akla getirmektedir.

5.3. NMDA Reseptör Antagonisti Olan Memantin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi

Glutamat, SSS'deki en önemli eksitatör nörotransmitterdir. Glutamatın iyonotropik ve metabotropik birçok reseptörü vardır bunlardan en çok bilineni üzerinde en çok çalışma yapılanı NMDA reseptörleridir. NMDA reseptörü katyon kanalı görevi görür ve kalsiyuma geçirgenliği yüksektir (87). NMDA reseptörlerinin epilepsiyle ilişkisi birçok çalışmada ortaya konmuştur.

Memantin; düşük afiniteli, yarışmasız bir NMDA reseptör antagonistidir. Memantin NMDA reseptöründe iyon kanalı içindeki Mg⁺²'nin bağlandığı bölgeye veya bu bağlanma bölgesinin yakınında bir yere bağlanarak etki göstermektedir (86, 174). Böylece, NMDA aracılı uyarılmayı engeller aynı zamanda kalsiyumun NMDA aracılığıyla hücre içine girişini önlemiş olur (86). Yapılan çalışmalarda bazı epilepsi modellerinde farklı dozlar etkin bulunmuşsa da genellikle memantin için etkin doz 5 mg/kg olarak belirlenmiştir (95, 158).

Sunulan çalışmada memantin 5 mg/kg i.p. uygulandı. Memantin WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteyi, küme sayısı, süresi, DDD sayısı bakımından 20. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde azalttı. Benzodiazepin gibi GABA'nın etkinliğini arttıran ilaçlar konvulsif epilepsilerde etkin rol oynarken absans epilepsinin durumunu kötüleştirmektedir (5, 94). Bu durum absans epilepside inhibitör bir fenomen olduğunu düşündürmektedir. Glutamatın NMDA reseptörünün antagonize edilmesinin absans epilepsiye antikonvulsan yönde etki etmesi ilginçtir. Ancak son çalışmalar absans epilepsinin başlangıç odak noktasının somatosensoriyel korteksin perioral alanında, korteksin V. ve VI. tabakalarında bulunduğunu göstermektedir (5, 6). Bu alanda NMDA reseptörü aracılı glutamaterjik piramidal nöronların bulunduğunu gösterilmiştir (175). Absans epilepsinin başlangıç noktasının bu alandaki glutamaterjik nöronlar olması, memantin bu bölgenin aktivitesinin azaltmasına ve nöbeti oluşturan devrelerin, KTK döngüye girmeden, önlenmesine yol açtığı düşündürülebilir.

Memantin, WAG/Rij sıçanlarda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'yı her iki hemisferde, serebellumda, beyin sapında ve plazmada anlamlı derecede azalttı. Ayrıca GSH ve GSR'yi de her iki hemisfer ve plazmada azalttı. CAT'ı ise her iki hemisferde ve plazmada arttı. Memantin, WAG/Rij sıçanlarda beyin tüm bölgelerinde ve plazmada lipid peroksidasyonunu azaltarak, antioksidan etki gösterdi. GSH ve GSR'nin azalması memantin antioksidan etkisini bu yolla üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir. CAT'ın korteks ve plazmada artması yine memantin antioksidan etkiyi gerçekleştirirken CAT'ı kullanması ve buna bağlı fazla üretimin uyarılması olabilir.

Memantin en çok Alzheimer tedavisinde kullanılmaktadır ve özellikle Alzheimer modellerinde olmak üzere memantin antioksidan etkisi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (162, 176-178). Primer kortikal nöron kültüründe yapılan çalışmalarda NMDA'nın başka bir antagonistle inhibisyonunun hücre içi ERK fosforilasyonunu ve ardından CREB fosforilasyonunu arttırdığı ve bu etkisinin MEK inhibitörü tarafından geri çevrildiği gösterilmiştir (10, 14, 143, 163, 165). Bu NMDA antagonizmasının

antioksidan etkinliğini ERK ve CREB fosforilasyonu üstünden gerçekleştirdiğini göstermiştir (162). Aynı çalışmada memantin etkileri daha zayıf bulunmuştur. Ancak çalışma *in vitro* ortamda yapılmıştır ve *in vivo* ortamda memantin de bu yolları harekete geçirerek antioksidan etki göstermesi mümkün olabilir. Bu şekilde transkripsiyon faktörlerinin artması CAT düzeyinin fazla artışının açıklaması olabilir.

Daha önce yapılan çalışmalarda, nöronal uyarılabilirliğin artmış olduğu penisilin, PTZ, pikrotoksin gibi kimyasallarla ve elektriksel uyarılarla oluşturulan çeşitli epilepsi modellerinde farklı dozlarda memantin antikonvulsan etkinliği kanıtlanmıştır (94, 95, 158, 179). Ancak uyarılabilirliğin artmış olduğu epilepsi modellerinde antikonvulsan etki yapan çoğu madde absans epilepsiyi kötüleştirmektedir. Beyindeki en önemli uyarıcı nörotransmitter olan glutamatın NMDA reseptörünün antagonisti memantin, sunulan çalışmada absans epilepsi üzerine antikonvulsan etki etti. Bunun nedeni kortikal odağın glutamaterjik nöronlarla etkileşim içinde olması olabilir. Daha önce absans epilepsi üzerine yapılan çalışmalar da memantin antikonvulsan yönde etki ettiğini ortaya koymuştur, ancak o deneylerde kullanılan absans benzeri epileptik nöbet geçirdiği belirtilen hayvanların doğruluğu ve güvenilirliği kanıtlanmamıştır (95).

5.4. P2X7 Reseptörleri ile NMDA Reseptörlerinin Etkileşiminin WAG/Rij Sıçanlarda Görülen Epileptik Aktiviteye Etkisi

P2X7 reseptörünün aktivasyonun glutamatın nöronlardan ve astrositik hücrelerden saliverilmesini veziküler ve veziküler olmayan yollardan tetiklediği gösterilmiştir (180, 181). NMDA reseptörlerinin uyarılması da ATP saliverilmesini arttırmaktadır (10, 14, 181). Ayrıca her iki reseptörün de hücre içi kalsiyumu arttırdığı göz önünde bulundurulduğunda bu etkileşimin beyinde uyarılabilirliği arttırabileceği ROS'u arttırarak nörotoksisiteye sebep olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca P2X7 reseptörlerinin de glutamaterjik piramidal nöronlarda presinaptik olarak bulunduğu gösterilmiştir (175, 180). Bu da absans epilepsinin başlangıç odak noktasının olduğu kabul edilen,

somatosensoriyel korteksin perioral bölgesinde bulunan piramidal hücrelerde P2X7-NMDA etkileşiminin söz konusu olduğunu düşündürmektedir.

Sunulan çalışmada P2X7R agonisti BzATP'nin WAG/Rij sıçanlarda absans epilepsiye etkisi olmadığı görüldü. P2X7R ve NMDA etkileşimini değerlendirmek için laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada bulunan etkin BzATP dozu olan 100 µg i.s.v. kullanıldı (11). Memantin ise 20. dakikadan itibaren antikonvulsan etki gösterdi. BzATP-memantin etkileşimini değerlendirmek için bazal kaydın ardından BzATP, 10 dakika sonrasında da memantin uygulandı. BzATP-memantin etkileşimi nöbet sayısını, süresini, DDD sayısını 20. dakikadan itibaren anlamlı derecede azalttı. Ancak memantin tek başına etki ettiğinden farklı bir sonuç ortaya çıkmadı. Bu noktada BzATP memantin nöbet aktivitesi üzerine etkilerini değiştirebilecek nitelikte bir etkiye yol açmadığı görüldü. P2X7R'nin genellikle eksitator presinaptik nöronda bulunup, aktivasyonunun, glutamat salıverilmesini veziküler ve veziküler olmayan yollardan arttırdığı bilinmektedir (12, 180). Ancak memantin NMDA reseptörlerini antagonize etmesinin BzATP'nin glutamat salgısını arttırsa dahi memantin etkisi geçecek düzeye ulaşmadığını ve glutamatın AMPA, kainat gibi reseptörlere bağlanarak WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etki edemediğini düşündürmektedir.

Biyokimyasal veriler incelendiğinde BzATP-memantin grubu her iki hemisferde GSH düzeyini düşürdü, CAT düzeyini ise her iki hemisferde ve plazmada yükseltti; GSR düzeyini her iki kortekste düşürdü. Bu sonuç BzATP-memantin etkileşiminin oksidan mekanizmaları harekete geçirdiği ve bu durumun GSH, GSR ve CAT'ın kullanılarak kompanse edildiğini düşündürmektedir. MDA ve AOPP düzeylerinde bir değişiklik olmaması oksidan durumun henüz hasar vermediğini göstermektedir. BzATP-memantin grubu memantin grubuyla karşılaştırıldığında memantin yaygın MDA'yu düşürücü etkisini ve plazmadaki GSR'yi düşürücü etkisini kontrol seviyesine getirdi. BzATP-memantin grubu BzATP grubuyla karşılaştırıldığında BzATP'nin SOD düzeyini arttırıcı etkisini kontrol grubunun olduğu seviyeye getirdi ve her iki kortekste artmış olan GSR'yi kontrol seviyesinin de altına

düşürdü ve plazmada artmış olan GSH'ı normal seviyeye getirdi. Buna göre memantin her ne kadar WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye etkisini korumuş olsa da antioksidan etkinliğini BzATP varlığında sürdürmedi. Bunun nedeni BzATP sayesinde artan glutamatın AMPA kainat gibi diğer glutamat reseptörleri üzerinden sitotoksik etkilere yol açması olabilir (182, 183). Ayrıca bu etkinin P2X7 ve NMDA reseptörünün hücre içi yollarda etkileşime girmesiyle mümkün görünmektedir. Ancak yaygın görüşe göre P2X7R presinaptik, NMDA reseptörü ise postsinaptik uçta bulunmaktadır (181). O halde astrositler üzerinde hem P2X7 hem NMDA reseptörlerin olması ve antioksidan etkinin astrositler üzerinden gerçekleşmesi daha olasıdır (84). Bu durumda memantin elektrofizyolojik etkinliği değişmeden oksidan mekanizmalara etkinliğinde değişim söz konusu olabilir. P2X7 ve NMDA reseptörleri her ikisi de hücre içine kalsiyum girişini arttırmaktadır. Ancak NMDA reseptör antagonisti daha fazla antioksidan etki göstermiştir. İki reseptörün etkilerinin kesiştiği bazı hücre içi yollar vardır: Her ikisi de fosfokinaz C üzerinden glikojen sentaz kinazı etkilediği gösterilmiştir (184). Pannexin-1 nöroinflamatuvar cevapta önemli rolü olan hemikanaldır ve ATP saliverilmesinde rol alır ayrıca P2X7R ile birleşerek por oluşumunda görev aldığı gösteren çalışmalar da vardır ve NMDA reseptör etkinliğini patolojik nöronal uyarımda arttırması da önem taşımaktadır (185). Bunun dışında her iki reseptör de hücre içi MAPK yollarını etkilemektedir. P2X7R süperoksit radikali oluşturan etkilerini daha çok p38 MAPK üzerinden gösterirken ve ERK, JNK ve CREB yollarına da etkilidir; NMDA sitotoksik etkilerini özellikle p 38 MAPK, ERK CREB ve JNK üzerinden gösterir (162, 166-168, 186). Her iki reseptörün de etkileri bu yollar üzerinde kesiştiğinde birbirlerinin oksidan ve antioksidan etkilerini değiştirmeleri mümkün olabilir. Ancak sunulan çalışmada bu etkileşimin nerede hangi yollarda olduğunu ayırt etmek mümkün değildir. Bununla birlikte NMDA reseptörlerinin presinaptik uçta da bulunabileceği son yıllarda yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (187). Benzer mekanizmaların presinaptik uçta gerçekleşmiş olması da muhtemeldir.

P2X7R antagonisti A-438079'un WAG/Rij sıçanlarda görülen absans epilepsiye etkisinin olmadığı görüldü. P2X7R-NMDA etkileşimini

değerlendirmek için laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada bulunan en etkin en küçük doz olan 20 µg i.s.v. kullanıldı (11). Bazal kaydın ardından A-438079, 10 dakika sonrasında da memantin uygulandı. A-438079-memantin etkileşimi nöbet sayısını, süresini, DDD sayısını 20. dakikadan itibaren anlamlı derecede azalttı. Ancak A-438079-memantin grubunun, memantin grubuna kıyasla nöbet sayısı, süresi ve DDD sayısı bakımından antikonvulsan etkisinin daha az olduğu, DDD amplitüdü bakımından farksız olduğu görüldü. P2X7R'nin A-438079'la antagonize edilmesi durumunda glutamat salgısı azalması beklenir. Bu durumda memantine benzer şekilde antikonvulsan etkinliği arttırması beklenirdi ancak sunulan çalışmada A-438079, memantin etkisini azaltmıştır. Bu da P2X7 ve NMDA reseptörleri arasında sadece glutamat salgısını arttırmaktan başka yolları da etkileyen mekanizmalar olduğunu doğrulamaktadır. Aynı zamanda memantin ve A-438079'un farmakokinetik olaylarda etkileşime girmiş olması da mümkün olabilir.

A-438079-memantin grubunun, alınan bütün örneklerde, MDA'yı memantine benzer şekilde azalttığı hatta beyin sapında bu etkiyi arttırdığı görüldü. A-438079-memantin grubu beyin sapı CAT düzeyini anlamlı derecede düşürdü ve plazma CAT düzeyini tek başına memantin etkilediğinden daha fazla düşürdü. Diğer etkiler tek başına memantin etkilerinden farklı değildi. A-438079-memantin grubunun özellikle beyin sapı bölgesinde oksidan etkili olduğunu göstermektedir A-438079 tek başına oksidan parametrelere etki etmediğinden beyin sapı bölgesinde NMDA reseptörlerinin P2X7R'ye bağımlı etkiler ortaya çıkardığını göstermektedir. Beyin sapında mezensefalon bölgesinde bulunan Retiküler Formasyon bölgesinin özellikle miyoklonik ve göz kapağı miyoklonisi tipi absans epilepside etkin olduğu gösterilmiştir (188). A-438079-memantin grubunun bu bölgeyi etkileyerek memantin antikonvulsan etkisini azaltmış olabilir.

6. SONUÇLAR

Sunulan çalışmadan elde edilen sonuçlar şöyledir:

- I. WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktivite, kendiliğinden oluşmaktadır. Hayvanların kontrol kayıtları kayda başlandıktan sonra alınan ilk üç saatlik bazal kayıtlarıdır. Bundan sonra diğer ilaçları çözmek için kullanılan distile su 2 µl i.s.v. verilerek sham grubu oluşturuldu. Kontrol ve sham grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı.
- II. P2X7 reseptör agonisti BzATP, 50 µg i.s.v. ve 100 µg i.s.v. dozlarında uygulandı. Bazal kayıtlarıyla karşılaştırıldığına BzATP her iki dozda da WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye anlamlı bir etki göstermedi.
- III. BzATP, her iki hemisferde SOD ve GSR düzeylerinin arttırdığı; plazmada da GSH düzeyini arttırdığı bulundu. İki hemisferin birbirine üstünlüğü yoktu.
- IV. P2X7 reseptör antagonisti A-438079, 20 µg i.s.v. ve 40 µg i.s.v. dozlarında uygulandı. Bazal kayıtlarıyla karşılaştırıldığına A-438079 her iki dozda da WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye anlamlı bir etki göstermedi.
- V. A-438079'un oksidan ya da antioksidan parametreleri etkilemediği görüldü.
- VI. NMDA reseptör antagonisti memantin 5 mg/kg dozunda uygulandı. Memantin, bazal kayıtlarıyla karşılaştırıldığına WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve DDD sayısını 20. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde azalttı, DDD amplitüd ortalamasına anlamlı bir etki etmedi.
- VII. Memantin MDA düzeyini korteks, serebellum beyin sapı ve plazmada azaltarak lipid peroksidasyonuna yaygın antioksidan yönde etki gösterdi. Aynı zamanda GSH ve GSR düzeylerini korteks ve plazmada düşürürken CAT'ı da arttırdı.
- VIII. P2X7R ve NMDA etkileşimini değerlendirmek için önce BzATP 100 µg i.s.v. 10 dakika sonrasında da memantin 5 mg/kg uygulandı. BzATP-memantin grubu bazal kayıtlarıyla karşılaştırıldığına WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve DDD sayısını 20. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde azalttı, DDD amplitüdlere anlamlı bir etki etmedi. BzATP-memantin grubu, memantin grubuyla karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu.

- IX. BzATP-memantin grubu her iki hemisferde GSH düzeyini düşürdü, CAT düzeyini ise her iki hemisferde ve plazmada yükseltti; GSR düzeyini her iki kortekste düşürdü. BzATP-memantin grubu memantin grubuyla karşılaştırıldığında memantin yaygın MDA'yı düşürücü etkisini ve plazmadaki GSR'yi düşürücü etkisini kontrol seviyesine getirdi. BzATP-memantin grubu BzATP grubuyla karşılaştırıldığında BzATP'nin SOD düzeyini arttırıcı etkisini kontrol grubunun olduğu seviyeye getirdi ve her iki kortekste artmış olan GSR'yi kontrol seviyesinin de altına düşürdü ve plazmada artmış olan GSH'ı normal seviyeye getirdi.
- X. P2X7R ve NMDA etkileşimini değerlendirmek için önce A-438079 20 µg i.s.v. 10 dakika sonrasında da memantin 5 mg/kg uygulandı. A-438079-memantin grubu bazal kayıtlarıyla karşılaştırıldığına WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve DDD sayısını 20. dakikadan itibaren azalttı, DDD amplitüdlere anlamlı bir etki etmedi. A-438079-memantin grubu memantin grubuyla karşılaştırıldığında WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısı, süresi ve DDD sayısı bakımından memantine göre antikonvulsan etkisinin daha az olduğu görüldü.
- XI. A-438079-memantin grubu MDA'yı memantine benzer şekilde azalttığı hatta beyin sapında bu etkiyi arttırdığı görüldü. A-438079-memantin grubu beyin sapı CAT düzeyini anlamlı derecede düşürdü ve plazma CAT düzeyini tek başına memantin etkilediğinden daha fazla düşürdü.

Bu çalışmada elde edilen elektrofizyolojik ve biyokimyasal sonuçlar, P2X7R'ler ve NMDA reseptörleri arasında moleküler düzeyde etkileşim olduğunu doğrulamaktadır. Bu tür bir etkileşimi beklemek mantıklı görünmektedir çünkü P2X7R'ler ve NMDA reseptörleri benzer şekilde hücre içine kalsiyum girişini sağlamakta ve benzer yolları kullanmaktadırlar. Ancak P2X7R presinaptik NMDA reseptörleri postsinaptik bölgede yoğun olarak bulduklarından moleküler etkileşimin astrositler üzerinde gerçekleşmesi olasıdır. Aynı zamanda presinaptik bölgede NMDA reseptörlerinin varlığını gösteren çalışmalar da vardır. P2X7 reseptörlerinin WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik aktiviteye doğrudan bir etkisi yoktur. Bunun nedeni reseptör sayısı, yoğunluğu ve yerleşimi olabilir. Talamusta

P2X7R varlığını ve yoğunluğunu gösteren çalışma yoktur ancak burada da NMDA reseptörlerinin etkili olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda Retiküler Formasyon üzerinde A-438079-memantin etkileşiminin oksidan etkinliği artırması buradaki reseptör etkinliğinin P2X7 ile daha ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Talamus çekirdekleri ve Retiküler Formasyon üzerine P2X7R aktivitesinin incelenmesi önemli sonraki çalışmaların konusu olabilir.



7. KAYNAKLAR

1. Zupec-Kania BA, Spellman E. An overview of the ketogenic diet for pediatric epilepsy. *Nutr Clin Pract*. 2008;23(6):589-96.
2. Panayiotopoulos CP, Koutroumanidis M, Giannakodimos S, Agathonikou A. Idiopathic generalised epilepsy in adults manifested by phantom absences, generalised tonic-clonic seizures, and frequent absence status. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997;63(5):622-7.
3. Olsson I. Epidemiology of absence epilepsy. I. Concept and incidence. *Acta Paediatr Scand*. 1988;77(6):860-6.
4. Coenen AM, Van Luijtelaar EL. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav Genet*. 2003;33(6):635-55.
5. Russo E, Citraro R, Constanti A, Leo A, Luttjohann A, van Luijtelaar G, et al. Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: Hidden mechanisms and a new theory on seizure development. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016;71:388-408.
6. Scicchitano F, van Rijn CM, van Luijtelaar G. Unilateral and Bilateral Cortical Resection: Effects on Spike-Wave Discharges in a Genetic Absence Epilepsy Model. *PLoS One*. 2015;10(8):e0133594.
7. Chessell IP, Hatcher JP, Bountra C, Michel AD, Hughes JP, Green P, et al. Disruption of the P2X7 purinoceptor gene abolishes chronic inflammatory and neuropathic pain. *Pain*. 2005;114(3):386-96.
8. Diaz-Hernandez M, Diez-Zaera M, Sanchez-Nogueiro J, Gomez-Villafuertes R, Canals JM, Alberch J, et al. Altered P2X7-receptor level and function in mouse models of Huntington's disease and therapeutic efficacy of antagonist administration. *FASEB J*. 2009;23(6):1893-906.
9. Diaz-Hernandez JI, Gomez-Villafuertes R, Leon-Otegui M, Hontecillas-Prieto L, Del Puerto A, Trejo JL, et al. In vivo P2X7 inhibition reduces amyloid plaques in Alzheimer's disease through GSK3beta and secretases. *Neurobiol Aging*. 2012;33(8):1816-28.

10. Engel T, Gomez-Villafuertes R, Tanaka K, Mesuret G, Sanz-Rodriguez A, Garcia-Huerta P, et al. Seizure suppression and neuroprotection by targeting the purinergic P2X7 receptor during status epilepticus in mice. *FASEB J.* 2012;26(4):1616-28.
11. Arslan G, Avci B, Kocacan SE, Rzayev E, Ayyildiz M, Agar E. The interaction between P2X7Rs and T-type calcium ion channels in penicillin-induced epileptiform activity. *Neuropharmacology.* 2019;149:1-12.
12. Barros-Barbosa AR, Oliveira A, Lobo MG, Cordeiro JM, Correia-de-Sa P. Under stressful conditions activation of the ionotropic P2X7 receptor differentially regulates GABA and glutamate release from nerve terminals of the rat cerebral cortex. *Neurochem Int.* 2018;112:81-95.
13. Patti L, Raiteri L, Grilli M, Parodi M, Raiteri M, Marchi M. P2X(7) receptors exert a permissive role on the activation of release-enhancing presynaptic alpha7 nicotinic receptors co-existing on rat neocortex glutamatergic terminals. *Neuropharmacology.* 2006;50(6):705-13.
14. Engel T, Jimenez-Pacheco A, Miras-Portugal MT, Diaz-Hernandez M, Henshall DC. P2X7 receptor in epilepsy; role in pathophysiology and potential targeting for seizure control. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2012;4(4):174-87.
15. Ermak G, Davies KJ. Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. *Mol Immunol.* 2002;38(10):713-21.
16. Davidson SM, Duchen MR. Calcium microdomains and oxidative stress. *Cell Calcium.* 2006;40(5-6):561-74.
17. Schachter SC. A brief history of Epilepsy & Behavior. *Epilepsy Behav.* 2014;40C:4-7.
18. Schachter SC. Seizure disorders. *Med Clin North Am.* 2009;93(2):343-51, viii.
19. Leonardi M, Ustun TB. The global burden of epilepsy. *Epilepsia.* 2002;43 Suppl 6:21-5.
20. Thurman DJ, Beghi E, Begley CE, Berg AT, Buchhalter JR, Ding D, et al. Standards for epidemiologic studies and surveillance of epilepsy. *Epilepsia.* 2011;52 Suppl 7:2-26.

21. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-82.
22. McNamara JO. Emerging insights into the genesis of epilepsy. *Nature*. 1999;399(6738 Suppl):A15-22.
23. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):512-21.
24. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):522-30.
25. Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia*. 2017;58(4):531-42.
26. Corey LA, Pellock JM, Kjeldsen MJ, Nakken KO. Importance of genetic factors in the occurrence of epilepsy syndrome type: a twin study. *Epilepsy Res*. 2011;97(1-2):103-11.
27. Hauser WA, Annegers JF, Kurland LT. Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984. *Epilepsia*. 1993;34(3):453-68.
28. Proposal for Revised Clinical and Electroencephalographic Classification of Epileptic Seizures. *Epilepsia*. 1981;22(4):489-501.
29. Fisher RS. An overview of the 2017 ILAE operational classification of seizure types. *Epilepsy Behav*. 2017;70(Pt A):271-3.
30. Tudor M, Tudor L, Tudor KI. [Hans Berger (1873-1941)--the history of electroencephalography]. *Acta Med Croatica*. 2005;59(4):307-13.
31. Haas LF. Hans Berger (1873–1941), Richard Caton (1842–1926), and electroencephalography. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2003;74(1):9-.
32. Plummer GS, Ibala R, Hahm E, An J, Gitlin J, Deng H, et al. Electroencephalogram dynamics during general anesthesia predict the later

incidence and duration of burst-suppression during cardiopulmonary bypass. *Clin Neurophysiol.* 2019;130(1):55-60.

33. Timofeeva OA, Gordon CJ. Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to the acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine. *Brain Res.* 2001;893(1-2):165-77.

34. Brigo F, Trinka E, Lattanzi S, Bragazzi NL, Nardone R, Martini M. A brief history of typical absence seizures - Petit mal revisited. *Epilepsy Behav.* 2018;80:346-53.

35. Temkin O. *The Falling Sickness. A History of Epilepsy from the Greeks to the Beginnings of Modern Neurology*, second ed Johns Hopkins Press, Baltimore 1971. p. 424-5.

36. Penry JK. Diagnosis and treatment of absence seizures. *Cleve Clin Q.* 1984;51(2):283-6.

37. Gibbs FA, Davis H., Lennox W. G. THE ELECTRO ENCEPHALOGRAM IN EPILEPSY AND IN CONDITIONS OF IMPAIRED CONSCIOUSNESS. *American Journal of Electro Encephalography Technology.* 1968;8:59-73.

38. Shouse MN, Staba RJ, Saquib SF, Farber PR. Long-lasting effects of feline amygdala kindling on monoamines, seizures and sleep. *Brain Res.* 2001;892(1):147-65.

39. Blume WT, Lemieux JF. Morphology of spikes in spike-and-wave complexes. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1988;69(6):508-15.

40. Crunelli V, Leresche N. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci.* 2002;3(5):371-82.

41. Destexhe A, Sejnowski TJ. The initiation of bursts in thalamic neurons and the cortical control of thalamic sensitivity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2002;357(1428):1649-57.

42. Striano S, Capovilla G, Sofia V, Romeo A, Rubboli G, Striano P, et al. Eyelid myoclonia with absences (Jeavons syndrome): a well-defined idiopathic generalized epilepsy syndrome or a spectrum of photosensitive conditions? *Epilepsia.* 2009;50 Suppl 5:15-9.

43. Berg AT, Shinnar S, Levy SR, Testa FM, Smith-Rapaport S, Beckerman B. How well can epilepsy syndromes be identified at diagnosis? A reassessment 2 years after initial diagnosis. *Epilepsia*. 2000;41(10):1269-75.
44. Berg AT, Levy SR, Testa FM, Shinnar S. Classification of childhood epilepsy syndromes in newly diagnosed epilepsy: interrater agreement and reasons for disagreement. *Epilepsia*. 1999;40(4):439-44.
45. Loiseau J, Loiseau P, Guyot M, Duche B, Dartigues JF, Aublet B. Survey of seizure disorders in the French southwest. I. Incidence of epileptic syndromes. *Epilepsia*. 1990;31(4):391-6.
46. Larsson K, Eeg-Olofsson O. A population based study of epilepsy in children from a Swedish county. *Eur J Paediatr Neurol*. 2006;10(3):107-13.
47. Loiseau P, Duche B, Pedespan JM. Absence epilepsies. *Epilepsia*. 1995;36(12):1182-6.
48. Hirose S. Mutant GABA(A) receptor subunits in genetic (idiopathic) epilepsy. *Prog Brain Res*. 2014;213:55-85.
49. Robinson R, Taske N, Sander T, Heils A, Whitehouse W, Goutieres F, et al. Linkage analysis between childhood absence epilepsy and genes encoding GABAA and GABAB receptors, voltage-dependent calcium channels, and the ECA1 region on chromosome 8q. *Epilepsy Res*. 2002;48(3):169-79.
50. Yalcin O. Genes and molecular mechanisms involved in the epileptogenesis of idiopathic absence epilepsies. *Seizure*. 2012;21(2):79-86.
51. Chen Y, Lu J, Pan H, Zhang Y, Wu H, Xu K, et al. Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy. *Ann Neurol*. 2003;54(2):239-43.
52. Haug K, Warnstedt M, Alekov AK, Sander T, Ramirez A, Poser B, et al. Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies. *Nat Genet*. 2003;33(4):527-32.
53. Everett K, Chioza B, Aicardi J, Aschauer H, Brouwer O, Callenbach P, et al. Linkage and mutational analysis of CLCN2 in childhood absence epilepsy. *Epilepsy Res*. 2007;75(2-3):145-53.

54. van Luijtelaar G, Zobeiri M. Progress and outlooks in a genetic absence epilepsy model (WAG/Rij). *Curr Med Chem*. 2014;21(6):704-21.
55. van Luijtelaar G, Sitnikova E. Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev*. 2006;30(7):983-1003.
56. Gauguier D, van Luijtelaar G, Bihoreau MT, Wilder SP, Godfrey RF, Vossen J, et al. Chromosomal mapping of genetic loci controlling absence epilepsy phenotypes in the WAG/Rij rat. *Epilepsia*. 2004;45(8):908-15.
57. Vierck E, Cauley R, Kugler SL, Mandelbaum DE, Pal DK, Durner M. Polyspike and waves do not predict generalized tonic-clonic seizures in childhood absence epilepsy. *J Child Neurol*. 2010;25(4):475-81.
58. Meeren HK, Pijn JP, Van Luijtelaar EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci*. 2002;22(4):1480-95.
59. Pinault D, O'Brien TJ. Cellular and network mechanisms of genetically-determined absence seizures. *Thalamus Relat Syst*. 2005;3(3):181-203.
60. Huguenard JR, McCormick DA. Thalamic synchrony and dynamic regulation of global forebrain oscillations. *Trends Neurosci*. 2007;30(7):350-6.
61. Nersesyan H, Hyder F, Rothman DL, Blumenfeld H. Dynamic fMRI and EEG recordings during spike-wave seizures and generalized tonic-clonic seizures in WAG/Rij rats. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004;24(6):589-99.
62. Luttjohann A, Zhang S, de Peijper R, van Luijtelaar G. Electrical stimulation of the epileptic focus in absence epileptic WAG/Rij rats: assessment of local and network excitability. *Neuroscience*. 2011;188:125-34.
63. Zheng TW, O'Brien TJ, Morris MJ, Reid CA, Jovanovska V, O'Brien P, et al. Rhythmic neuronal activity in S2 somatosensory and insular cortices contribute to the initiation of absence-related spike-and-wave discharges. *Epilepsia*. 2012;53(11):1948-58.
64. Westmijse I, Ossenblok P, Gunning B, van Luijtelaar G. Onset and propagation of spike and slow wave discharges in human absence epilepsy: A MEG study. *Epilepsia*. 2009;50(12):2538-48.

65. Moeller F, Siebner HR, Wolff S, Muhle H, Granert O, Jansen O, et al. Simultaneous EEG-fMRI in drug-naive children with newly diagnosed absence epilepsy. *Epilepsia*. 2008;49(9):1510-9.
66. Holmes MD, Brown M, Tucker DM. Are "generalized" seizures truly generalized? Evidence of localized mesial frontal and frontopolar discharges in absence. *Epilepsia*. 2004;45(12):1568-79.
67. David O, Guillemain I, SAILLET S, Reyt S, Deransart C, Segebarth C, et al. Identifying neural drivers with functional MRI: an electrophysiological validation. *PLoS Biol*. 2008;6(12):2683-97.
68. Celli R, Santolini, I., Guiducci, M., van Luijtelaar, G., Parisi, P., Striano, P., Gradini, R., Battaglia, G., Ngomba, R.T., Nicoletti, N. **The $\alpha 2\delta$ Subunit and Absence Epilepsy: Beyond Calcium Channels?** *Current Neuropharmacology*. 2017;15:918-25.
69. Luttjohann A, Schoffelen JM, van Luijtelaar G. Peri-ictal network dynamics of spike-wave discharges: phase and spectral characteristics. *Exp Neurol*. 2013;239:235-47.
70. Luttjohann A, van Luijtelaar G. The dynamics of cortico-thalamo-cortical interactions at the transition from pre-ictal to ictal LFPs in absence epilepsy. *Neurobiol Dis*. 2012;47(1):49-60.
71. Sherman SM. Thalamic relay functions. *Prog Brain Res*. 2001;134:51-69.
72. D'Amore V, von Randow C, Nicoletti F, Ngomba RT, van Luijtelaar G. Anti-absence activity of mGlu1 and mGlu5 receptor enhancers and their interaction with a GABA reuptake inhibitor: Effect of local infusions in the somatosensory cortex and thalamus. *Epilepsia*. 2015;56(7):1141-51.
73. Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orban G, Errington AC, Lorincz ML, et al. Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat Med*. 2009;15(12):1392-8.
74. Smyk MK, Coenen A, Lewandowski MH, van Luijtelaar G. Internal desynchronization facilitates seizures. *Epilepsia*. 2012;53(9):1511-8.

75. Tolmacheva EA, van Luijtelaar G. Absence seizures are reduced by the enhancement of GABA-ergic inhibition in the hippocampus in WAG/Rij rats. *Neurosci Lett.* 2007;416(1):17-21.
76. Feddersen B, Vercueil L, Noachtar S, David O, Depaulis A, Deransart C. Controlling seizures is not controlling epilepsy: a parametric study of deep brain stimulation for epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2007;27(3):292-300.
77. Kaminski RM, Van Rijn CM, Turski WA, Czuczwar SJ, Van Luijtelaar G. AMPA and GABA(B) receptor antagonists and their interaction in rats with a genetic form of absence epilepsy. *Eur J Pharmacol.* 2001;430(2-3):251-9.
78. Staak R, Pape HC. Contribution of GABA(A) and GABA(B) receptors to thalamic neuronal activity during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci.* 2001;21(4):1378-84.
79. D'Antuono M, Inaba Y, Biagini G, D'Arcangelo G, Tancredi V, Avoli M. Synaptic hyperexcitability of deep layer neocortical cells in a genetic model of absence seizures. *Genes Brain Behav.* 2006;5(1):73-84.
80. Aker RG, Yananli HR, Gurbanova AA, Ozkaynakci AE, Ates N, van Luijtelaar G, et al. Amygdala kindling in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Epilepsia.* 2006;47(1):33-40.
81. Citraro R, Russo E, Di Paola ED, Ibbadu GF, Gratteri S, Marra R, et al. Effects of some neurosteroids injected into some brain areas of WAG/Rij rats, an animal model of generalized absence epilepsy. *Neuropharmacology.* 2006;50(8):1059-71.
82. Glauser T, Ben-Menachem E, Bourgeois B, Cnaan A, Guerreiro C, Kalviainen R, et al. Updated ILAE evidence review of antiepileptic drug efficacy and effectiveness as initial monotherapy for epileptic seizures and syndromes. *Epilepsia.* 2013;54(3):551-63.
83. Purves D, Augustine, G.J., Fitzpatrick, D., Hall, W.C., LaMantia A.S., White L.E. *Neurotransmitters and Their Receptors.* 5.th ed. Massachusetts U.S.A.: Sunderland; 2012. 118-9 p.
84. Verkhratsky A, Chvatal A. NMDA Receptors in Astrocytes. *Neurochem Res.* 2019.

85. D'Arcangelo G, D'Antuono M, Biagini G, Warren R, Tancredi V, Avoli M. Thalamocortical oscillations in a genetic model of absence seizures. *Eur J Neurosci.* 2002;16(12):2383-93.
86. Ghasemi M, Schachter SC. The NMDA receptor complex as a therapeutic target in epilepsy: a review. *Epilepsy Behav.* 2011;22(4):617-40.
87. Schneggenburger R, Tempia F, Konnerth A. Glutamate- and AMPA-mediated calcium influx through glutamate receptor channels in medial septal neurons. *Neuropharmacology.* 1993;32(11):1221-8.
88. van de Bovenkamp-Janssen MC, van der Kloet JC, van Luijtelaar G, Roubos EW. NMDA-NR1 and AMPA-GluR4 receptor subunit immunoreactivities in the absence epileptic WAG/Rij rat. *Epilepsy Res.* 2006;69(2):119-28.
89. Lipton SA. NMDA receptors, glial cells, and clinical medicine. *Neuron.* 2006;50(1):9-11.
90. Kaufman AM, Milnerwood AJ, Sepers MD, Coquinco A, She K, Wang L, et al. Opposing roles of synaptic and extrasynaptic NMDA receptor signaling in cocultured striatal and cortical neurons. *J Neurosci.* 2012;32(12):3992-4003.
91. van de Bovenkamp M, Groothuis GM, Meijer DK, Olinga P. Precision-cut fibrotic rat liver slices as a new model to test the effects of anti-fibrotic drugs in vitro. *J Hepatol.* 2006;45(5):696-703.
92. Karimzadeh F, Soleimani M, Mehdizadeh M, Jafarian M, Mohamadpour M, Kazemi H, et al. Diminution of the NMDA receptor NR2B subunit in cortical and subcortical areas of WAG/Rij rats. *Synapse.* 2013;67(12):839-46.
93. Peeters BW, Ramakers GM, Ellenbroek BA, Vossen JM, Coenen AM. Interactions between NMDA and nonNMDA receptors in nonconvulsive epilepsy in the WAG/Rij inbred strain. *Brain Res Bull.* 1994;33(6):715-8.
94. Peeters BW, van Rijn CM, Vossen JM, Coenen AM. Involvement of NMDA receptors in non-convulsive epilepsy in WAG/Rij rats. *Life Sci.* 1990;47(6):523-9.
95. Frey HH, Voits M. Effect of psychotropic agents on a model of absence epilepsy in rats. *Neuropharmacology.* 1991;30(6):651-6.

96. Citraro R, Chimirri S, Aiello R, Gallelli L, Trimboli F, Britti D, et al. Protective effects of some statins on epileptogenesis and depressive-like behavior in WAG/Rij rats, a genetic animal model of absence epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(8):1284-91.
97. Burnstock G. Purinergic Signalling: Therapeutic Developments. *Front Pharmacol*. 2017;8:661.
98. Abbracchio MP, Burnstock G, Verkhratsky A, Zimmermann H. Purinergic signalling in the nervous system: an overview. *Trends Neurosci*. 2009;32(1):19-29.
99. Sawada K, Echigo N, Juge N, Miyaji T, Otsuka M, Omote H, et al. Identification of a vesicular nucleotide transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(15):5683-6.
100. Rudnick G. Vesicular ATP transport is a hard (V)NUT to crack. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(16):5949-50.
101. Burnstock G. Purinergic signalling and disorders of the central nervous system. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7(7):575-90.
102. Mayhew J, Graham BA, Biber K, Nilsson M, Walker FR. Purinergic modulation of glutamate transmission: An expanding role in stress-linked neuropathology. *Neurosci Biobehav Rev*. 2018;93:26-37.
103. Prince DA, Stevens CF. Adenosine decreases neurotransmitter release at central synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(18):8586-90.
104. Boison D. Adenosine dysfunction in epilepsy. *Glia*. 2012;60(8):1234-43.
105. Boison D. Adenosine-based modulation of brain activity. *Curr Neuropharmacol*. 2009;7(3):158-9.
106. Cunha RA, Johansson B, van der Ploeg I, Sebastiao AM, Ribeiro JA, Fredholm BB. Evidence for functionally important adenosine A2a receptors in the rat hippocampus. *Brain Res*. 1994;649(1-2):208-16.
107. Murthy KS, McHenry L, Grider JR, Makhoulouf GM. Adenosine A1 and A2b receptors coupled to distinct interactive signaling pathways in intestinal muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995;274(1):300-6.
108. Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol Rev*. 1998;50(3):413-92.

109. Weisman GA, Woods LT, Erb L, Seye CI. P2Y receptors in the mammalian nervous system: pharmacology, ligands and therapeutic potential. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 2012;11(6):722-38.
110. Burnstock G, Verkhratsky A. Long-term (trophic) purinergic signalling: purinoceptors control cell proliferation, differentiation and death. *Cell Death Dis*. 2010;1:e9.
111. Fischer W, Krugel U. P2Y receptors: focus on structural, pharmacological and functional aspects in the brain. *Curr Med Chem*. 2007;14(23):2429-55.
112. North RA. Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol Rev*. 2002;82(4):1013-67.
113. Coddou C, Yan Z, Obsil T, Huidobro-Toro JP, Stojilkovic SS. Activation and regulation of purinergic P2X receptor channels. *Pharmacol Rev*. 2011;63(3):641-83.
114. Surprenant A, North RA. Signaling at purinergic P2X receptors. *Annu Rev Physiol*. 2009;71:333-59.
115. North RA, Jarvis MF. P2X receptors as drug targets. *Mol Pharmacol*. 2013;83(4):759-69.
116. Rappold PM, Lynd-Balta E, Joseph SA. P2X7 receptor immunoreactive profile confined to resting and activated microglia in the epileptic brain. *Brain Res*. 2006;1089(1):171-8.
117. Sperlagh B, Vizi ES, Wirkner K, Illes P. P2X7 receptors in the nervous system. *Prog Neurobiol*. 2006;78(6):327-46.
118. Burnstock G, Knight GE. The potential of P2X7 receptors as a therapeutic target, including inflammation and tumour progression. *Purinergic Signal*. 2018;14(1):1-18.
119. Burnstock G, Krugel U, Abbracchio MP, Illes P. Purinergic signalling: from normal behaviour to pathological brain function. *Prog Neurobiol*. 2011;95(2):229-74.
120. Dale N, Frenguelli BG. Release of adenosine and ATP during ischemia and epilepsy. *Curr Neuropharmacol*. 2009;7(3):160-79.

121. Wu PH, Phillis JW. Distribution and release of adenosine triphosphate in rat brain. *Neurochem Res.* 1978;3(5):563-71.
122. Wieraszko A, Seyfried TN. ATP-induced synaptic potentiation in hippocampal slices. *Brain Res.* 1989;491(2):356-9.
123. Virginio C, Church D, North RA, Surprenant A. Effects of divalent cations, protons and calmidazolium at the rat P2X7 receptor. *Neuropharmacology.* 1997;36(9):1285-94.
124. Surprenant A, Rassendren F, Kawashima E, North RA, Buell G. The cytolytic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). *Science.* 1996;272(5262):735-8.
125. Jindrichova M, Bhattacharya A, Rupert M, Skopek P, Obsil T, Zemkova H. Functional characterization of mutants in the transmembrane domains of the rat P2X7 receptor that regulate pore conductivity and agonist sensitivity. *J Neurochem.* 2015;133(6):815-27.
126. Pelegrin P, Surprenant A. Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1 β release by the ATP-gated P2X7 receptor. *EMBO J.* 2006;25(21):5071-82.
127. Skaper SD, Debetto P, Giusti P. P2X(7) Receptors in Neurological and Cardiovascular Disorders. *Cardiovasc Psychiatry Neurol.* 2009;2009:861324.
128. Humphreys BD, Rice J, Kertesy SB, Dubyak GR. Stress-activated protein kinase/JNK activation and apoptotic induction by the macrophage P2X7 nucleotide receptor. *J Biol Chem.* 2000;275(35):26792-8.
129. Aga M, Johnson CJ, Hart AP, Guadarrama AG, Suresh M, Svaren J, et al. Modulation of monocyte signaling and pore formation in response to agonists of the nucleotide receptor P2X(7). *J Leukoc Biol.* 2002;72(1):222-32.
130. Potucek YD, Crain JM, Watters JJ. Purinergic receptors modulate MAP kinases and transcription factors that control microglial inflammatory gene expression. *Neurochem Int.* 2006;49(2):204-14.
131. Pfeiffer ZA, Aga M, Prabhu U, Watters JJ, Hall DJ, Bertics PJ. The nucleotide receptor P2X7 mediates actin reorganization and membrane blebbing in RAW 264.7 macrophages via p38 MAP kinase and Rho. *J Leukoc Biol.* 2004;75(6):1173-82.

132. Parvathenani LK, Tertysnikova S, Greco CR, Roberts SB, Robertson B, Posmantur R. P2X7 mediates superoxide production in primary microglia and is up-regulated in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Biol Chem.* 2003;278(15):13309-17.
133. Marcellino D, Suarez-Boomgaard D, Sanchez-Reina MD, Aguirre JA, Yoshitake T, Yoshitake S, et al. On the role of P2X(7) receptors in dopamine nerve cell degeneration in a rat model of Parkinson's disease: studies with the P2X(7) receptor antagonist A-438079. *J Neural Transm (Vienna).* 2010;117(6):681-7.
134. Carmo MR, Menezes AP, Nunes AC, Pliassova A, Rolo AP, Palmeira CM, et al. The P2X7 receptor antagonist Brilliant Blue G attenuates contralateral rotations in a rat model of Parkinsonism through a combined control of synaptotoxicity, neurotoxicity and gliosis. *Neuropharmacology.* 2014;81:142-52.
135. Kimbler DE, Shields J, Yanasak N, Vender JR, Dhandapani KM. Activation of P2X7 promotes cerebral edema and neurological injury after traumatic brain injury in mice. *PLoS One.* 2012;7(7):e41229.
136. Arbeloa J, Perez-Samartin A, Gottlieb M, Matute C. P2X7 receptor blockade prevents ATP excitotoxicity in neurons and reduces brain damage after ischemia. *Neurobiol Dis.* 2012;45(3):954-61.
137. Peng W, Cotrina ML, Han X, Yu H, Bekar L, Blum L, et al. Systemic administration of an antagonist of the ATP-sensitive receptor P2X7 improves recovery after spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(30):12489-93.
138. Cervetto C, Alloisio S, Frattaroli D, Mazzotta MC, Milanese M, Gavazzo P, et al. The P2X7 receptor as a route for non-exocytotic glutamate release: dependence on the carboxyl tail. *J Neurochem.* 2013;124(6):821-31.
139. Franke H, Grosche J, Schadlich H, Krugel U, Allgaier C, Illes P. P2X receptor expression on astrocytes in the nucleus accumbens of rats. *Neuroscience.* 2001;108(3):421-9.

140. Cavaliere F, Amadio S, Sancesario G, Bernardi G, Volonte C. Synaptic P2X7 and oxygen/glucose deprivation in organotypic hippocampal cultures. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004;24(4):392-8.
141. Narcisse L, Scemes E, Zhao Y, Lee SC, Brosnan CF. The cytokine IL-1beta transiently enhances P2X7 receptor expression and function in human astrocytes. *Glia.* 2005;49(2):245-58.
142. Sperlagh B, Illes P. P2X7 receptor: an emerging target in central nervous system diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 2014;35(10):537-47.
143. Vianna EP, Ferreira AT, Naffah-Mazzacoratti MG, Sanabria ER, Funke M, Cavalheiro EA, et al. Evidence that ATP participates in the pathophysiology of pilocarpine-induced temporal lobe epilepsy: fluorimetric, immunohistochemical, and Western blot studies. *Epilepsia.* 2002;43 Suppl 5:227-9.
144. Avignone E, Ulmann L, Levavasseur F, Rassendren F, Audinat E. Status epilepticus induces a particular microglial activation state characterized by enhanced purinergic signaling. *J Neurosci.* 2008;28(37):9133-44.
145. Kim JE, Kang TC. The P2X7 receptor-pannexin-1 complex decreases muscarinic acetylcholine receptor-mediated seizure susceptibility in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(5):2037-47.
146. Gever JR, Cockayne DA, Dillon MP, Burnstock G, Ford AP. Pharmacology of P2X channels. *Pflugers Arch.* 2006;452(5):513-37.
147. Donnelly-Roberts DL, Namovic MT, Han P, Jarvis MF. Mammalian P2X7 receptor pharmacology: comparison of recombinant mouse, rat and human P2X7 receptors. *Br J Pharmacol.* 2009;157(7):1203-14.
148. Nelson DW, Gregg RJ, Kort ME, Perez-Medrano A, Voight EA, Wang Y, et al. Structure-activity relationship studies on a series of novel, substituted 1-benzyl-5-phenyltetrazole P2X7 antagonists. *J Med Chem.* 2006;49(12):3659-66.
149. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *Int J Food Sci Tech.* 2001;36(7):703-25.
150. Diplock AT. Defense against reactive oxygen species. *Free Radic Res.* 1998;29(6):463-7.

151. Jain SK. The accumulation of malonyldialdehyde, a product of fatty acid peroxidation, can disturb aminophospholipid organization in the membrane bilayer of human erythrocytes. *J Biol Chem.* 1984;259(6):3391-4.
152. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney Int.* 1996;49(5):1304-13.
153. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82(1):47-95.
154. Cnubben NH, Rietjens IM, Wortelboer H, van Zanden J, van Bladeren PJ. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2001;10(4):141-52.
155. Valle A, Oliver J, Roca P. Role of uncoupling proteins in cancer. *Cancers (Basel).* 2010;2(2):567-91.
156. Przewlocka B, Lason W, Turchan J, de Bruin N, van Luijtelaar G, Przewlocki R, et al. Anatomical and functional aspects of mu opioid receptors in epileptic WAG/Rij rats. *Epilepsy Res.* 1998;29(2):167-73.
157. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.
158. Cakil D, Yildirim M, Ayyildiz M, Agar E. The effect of co-administration of the NMDA blocker with agonist and antagonist of CB1-receptor on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Res.* 2011;93(2-3):128-37.
159. Meeren H, van Luijtelaar G, Lopes da Silva F, Coenen A. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch Neurol.* 2005;62(3):371-6.
160. Akman O, Demiralp T, Ates N, Onat FY. Electroencephalographic differences between WAG/Rij and GAERS rat models of absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 2010;89(2-3):185-93.
161. Polack PO, Guillemain I, Hu E, Deransart C, Depaulis A, Charpier S. Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures. *J Neurosci.* 2007;27(24):6590-9.

162. Lee K, Park C, Oh Y, Lee H, Cho J. Antioxidant and Neuroprotective Effects of N-((3,4-Dihydro-2H-benzo[h]chromen-2-yl)methyl)-4-methoxyaniline in Primary Cultured Rat Cortical Cells: Involvement of ERK-CREB Signaling. *Molecules*. 2018;23(3).
163. Fischer W, Franke H, Krugel U, Muller H, Dinkel K, Lord B, et al. Critical Evaluation of P2X7 Receptor Antagonists in Selected Seizure Models. *PLoS One*. 2016;11(6):e0156468.
164. Zeng X, Chen L, Zhou L, Luo W, Hu K, Ouyang D. [Expression and spatial distribution of P2X7 receptor in pilocarpine-induced epileptic rat hippocampus]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2017;42(9):997-1002.
165. Beamer E, Fischer W, Engel T. The ATP-Gated P2X7 Receptor As a Target for the Treatment of Drug-Resistant Epilepsy. *Front Neurosci*. 2017;11:21.
166. Gandelman M, Levy M, Cassina P, Barbeito L, Beckman JS. P2X7 receptor-induced death of motor neurons by a peroxynitrite/FAS-dependent pathway. *J Neurochem*. 2013;126(3):382-8.
167. Fabbriozio P, Amadio S, Apolloni S, Volonte C. P2X7 Receptor Activation Modulates Autophagy in SOD1-G93A Mouse Microglia. *Front Cell Neurosci*. 2017;11:249.
168. Chen HB, Lin YH, Sun SH. Oxidized ATP decreases beta-actin expression and intracellular superoxide concentrations in RBA-2 type-2 astrocytes independently of P2X7 receptor. *Eur J Pharmacol*. 2006;550(1-3):1-7.
169. Marangoz C. Deneysel Epilepsi Modelleri. *OMÜ Tıp Dergisi*. 1997;14:147-86.
170. Kozan R, Ayyildiz M, Agar E. The effects of intracerebroventricular AM-251, a CB1-receptor antagonist, and ACEA, a CB1-receptor agonist, on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsia*. 2009;50(7):1760-7.
171. Rodriguez-Alvarez N, Jimenez-Mateos EM, Engel T, Quinlan S, Reschke CR, Conroy RM, et al. Effects of P2X7 receptor antagonists on hypoxia-induced neonatal seizures in mice. *Neuropharmacology*. 2017;116:351-63.

172. Terrone G, Frigerio F, Balosso S, Ravizza T, Vezzani A. Inflammation and reactive oxygen species in status epilepticus: Biomarkers and implications for therapy. *Epilepsy Behav.* 2019.
173. Freitas HR, Reis RA. Glutathione induces GABA release through P2X7R activation on Muller glia. *Neurogenesis (Austin)*. 2017;4(1):e1283188.
174. Parsons CG, Gruner R, Rozental J, Millar J, Lodge D. Patch clamp studies on the kinetics and selectivity of N-methyl-D-aspartate receptor antagonism by memantine (1-amino-3,5-dimethyladamantan). *Neuropharmacology*. 1993;32(12):1337-50.
175. Miras-Portugal MT, Diaz-Hernandez M, Giraldez L, Hervas C, Gomez-Villafuertes R, Sen RP, et al. P2X7 receptors in rat brain: presence in synaptic terminals and granule cells. *Neurochem Res*. 2003;28(10):1597-605.
176. Flores EM, Cappelari SE, Pereira P, Picada JN. Effects of memantine, a non-competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, on genomic stability. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2011;109(5):413-7.
177. Annweiler C, Beauchet O. Possibility of a new anti-alzheimer's disease pharmaceutical composition combining memantine and vitamin D. *Drugs Aging*. 2012;29(2):81-91.
178. Gubandru M, Margina D, Tsitsimpikou C, Goutzourelas N, Tsarouhas K, Ilie M, et al. Alzheimer's disease treated patients showed different patterns for oxidative stress and inflammation markers. *Food Chem Toxicol*. 2013;61:209-14.
179. Zaitsev AV, Kim K, Vasilev DS, Lukomskaya NY, Lavrentyeva VV, Tumanova NL, et al. N-methyl-D-aspartate receptor channel blockers prevent pentylentetrazole-induced convulsions and morphological changes in rat brain neurons. *J Neurosci Res*. 2015;93(3):454-65.
180. Sperlagh B, Kofalvi A, Deuchars J, Atkinson L, Milligan CJ, Buckley NJ, et al. Involvement of P2X7 receptors in the regulation of neurotransmitter release in the rat hippocampus. *J Neurochem*. 2002;81(6):1196-211.
181. Cho JH, Choi IS, Jang IS. P2X7 receptors enhance glutamate release in hippocampal hilar neurons. *Neuroreport*. 2010;21(13):865-70.

182. Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. *Science*. 1993;262(5134):689-95.
183. Quincozes-Santos A, Bobermin LD, Tramontina AC, Wartchow KM, Tagliari B, Souza DO, et al. Oxidative stress mediated by NMDA, AMPA/KA channels in acute hippocampal slices: neuroprotective effect of resveratrol. *Toxicol In Vitro*. 2014;28(4):544-51.
184. Ortega F, Perez-Sen R, Morente V, Delicado EG, Miras-Portugal MT. P2X7, NMDA and BDNF receptors converge on GSK3 phosphorylation and cooperate to promote survival in cerebellar granule neurons. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67(10):1723-33.
185. Bravo D, Maturana CJ, Pelissier T, Hernandez A, Constandil L. Interactions of pannexin 1 with NMDA and P2X7 receptors in central nervous system pathologies: Possible role on chronic pain. *Pharmacol Res*. 2015;101:86-93.
186. Martel MA, Soriano FX, Baxter P, Rickman C, Duncan R, Wyllie DJ, et al. Inhibiting pro-death NMDA receptor signaling dependent on the NR2 PDZ ligand may not affect synaptic function or synaptic NMDA receptor signaling to gene expression. *Channels (Austin)*. 2009;3(1):12-5.
187. Bouvier G, Bidoret C, Casado M, Paoletti P. Presynaptic NMDA receptors: Roles and rules. *Neuroscience*. 2015;311:322-40.
188. Fromm GH. The role of the reticular formation in the pathogenesis of seizures. *Jpn J Psychiatry Neurol*. 1991;45(2):229-34.

