



**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
SİNİR BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**PENTİLENTETRAZOL İLE SIÇANLARDA  
OLUŞTURULAN  
DENEYSEL EPİLEPSİYE TOFASİTİNİB'İN ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Elif ASAN**

Danışman  
**Doç. Dr. Gökhan ARSLAN**

SAMSUN  
2022



**T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ  
SİNİR BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**



**PENTİLENTETRAZOL İLE SIÇANLARDA  
OLUŞTURULAN DENEYSSEL EPİLEPSİYE  
TOFASİTİNİB'İN ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Elif ASAN**

Danışman

**Doç. Dr. Gökhan ARSLAN**

SAMSUN  
2022

## TEZ KABUL VE ONAYI

Elif ASAN tarafından, Doç. Dr. Gökhan ARSLAN danışmanlığında hazırlanan “Pentilentetrazol ile Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Epilepsiye Tofasitinib'in Etkisi” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından .2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sinir Bilimleri Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/>
			Kabul
Üye (Danışman)	Doç. Dr. Gökhan ARSLAN Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı		<input type="checkbox"/>
			Kabul
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Kemal FİLİZ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi		<input type="checkbox"/>
			Kabul
			<input type="checkbox"/>
			Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY  
... / ... / ...  
Prof. Dr. Ali BOLAT  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Dönem Projesi tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

İmza  
... / ... / 20...  
Elif ASAN

## TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

**TezBaşlığı:**PENTİLENTETRAZOL İLE SIÇANLARDA

OLUŞTURULAN DENEYSEL EPİLEPSİYE TOFASİTİNİB'İN ETKİSİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 11.01.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 10

Tek kaynak oranı : % 2 çıkmıştır.

İmza  
... / ... / 20...  
Doç. Dr. Gökhan ARSLAN

## ÖZET

### PENTİLENTETRAZOL İLE SIÇANLARDA OLUŞTURULAN DENEYSSEL EPİLEPSİYE TOFASİTİNİB'İN ETKİSİ

Elif ASAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Sinir Bilimleri Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Ocak/2022

Danışman: Doç. Dr. Gökhan ARSLAN

Epilepsi, tüm yaş gruplarını etkileyebilen nöbetlerle karakterize kronik bir hastalıktır. Bu çalışmada, romatolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan TOFA'nın epilepsi gelişimine olan etkisini ve kronik epilepsi oluşturulmuş sıçanlarda tedavi edici etkisini araştırmayı amaçladık.

7-8 aylık erkek Wistar sıçanlar ( $337\pm 18$  gr) rastgele 2 gruba ( $n=24$ ) ayrıldı (Kontrol ve TOFA-tutuşma). Kronik epilepsi tutuşma skalasına göre PTZ enjeksiyonları haftanın 3 günü düzenli olarak 35 mg/kg dozda yapıldı. Tutuşma esnasında TOFA tutuşma grubuna PTZ enjeksiyonlarından 1 saat önce 5 mg/kg TOFA, kontrol grubuna ise TOFA'nın çözücüsü %1'lik metilselüloz enjekte edildi. TOFA enjekte edilen grup ile diğer gruplar nöbet evresi ve tutuşma enjeksiyon sayısı açısından karşılaştırıldı. Kontrol grubunda tutuşma meydana geldikten sonra sıçanların kafalarına elektrokortikogram (ECoG) kaydı için tripolar elektrot takıldı ve rastgele olarak iki gruba ayrıldı (Sham grubu ve TOFA-tedavi grubu). TOFA-tedavi grubuna 1 hafta boyunca her gün 5 mg/kg TOFA enjeksiyonları yapıldıktan sonra ECoG kayıtları elde edilerek Labchart-7 programında analiz edildi. Sham grubu ve TOFA-tedavi grubu nöbet evresi, ilk myoklonik jerk latansı, toplam diken sayısı ve jeneralize tonik-klonik nöbet süresi parametreleri açısından karşılaştırıldı. Normal dağılıma uyan verilerin analizinde bağı ve bağımsız değişkenli t-testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayanlar için ise, Mann-Whitney U testi ve Wilcoxon bağımlı iki örnek testi kullanıldı.  $p<0,05$  anlamlı kabul edildi.

Enjeksiyonlar esnasında TOFA tutuşma grubunun ortalama nöbet evresi PTZ grubuna göre anlamlı olarak daha azdı ( $p<0,05$ ). Tutaşan gruplarda 1 hafta TOFA enjeksiyonu sonrası ilk myoklonik jerk latansı artarken, nöbet evresi, toplam diken sayısı ve jeneralize tonik-klonik nöbet süresinde anlamlı bir azalma tespit edildi ( $p<0,05$ ).

TOFA'nın jeneralize epilepsisi olan hastalarda güvenle kullanılabileceğini, ayrıca epilepsi tedavisinde alternatif bir ilaç olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Sözcükler:** Epilepsi, JAK/STAT, Janus kinaz, PTZ, TOFA

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF TOFACITINIB IN EXPERIMENTAL PENTYLENTETRAZOL EPILEPSY

Elif ASAN

Ondokuz Mayıs University  
Institute of Graduate Studies  
Department of Neuroscience

Master, January/2022

Supervisor: Associated Prof. Gökhan ARSLAN

Epilepsy is a chronic disease characterized by seizures that can affect all age groups. In this study, we aimed to investigate the effect of tofacitinib, a drug used in the treatment of rheumatological diseases, on the development of epilepsy and its therapeutic effect on chronic epilepsy in rats.

7-8 months old male Wistar rats ( $337\pm 18$  g) were randomly divided into 2 groups ( $n=24$ ) (Control and TOFA-kindling). According to the chronic epilepsy kindling scale, PTZ injections were regularly (3 days a week) administered at a dose of 35 mg/kg. During kindling procedure, 5 mg/kg TOFA was injected into the TOFA-kindling group 1 hour before the PTZ injections, and 1% methylcellulose which is the solvent of TOFA, was injected into the control group. The group injected with TOFA and the other groups were compared in terms of seizure stage and number of kindling injections. After kindling occurred in the control group, tripolar electrodes were attached to the rats' heads for electrocorticogram (ECoG) recordings and randomly divided into two groups (Sham group and TOFA-treatment group). After the TOFA-treatment group was injected with 5 mg/kg TOFA every day for 1 week, ECoG records were obtained and analyzed in Labchart-7 program. The sham group and the TOFA-treatment group were compared in terms of seizure stage, first myoclonic jerk latency, total spike number, and generalized tonic-clonic seizure duration parameters. Dependent and independent t-tests were used for the analysis of data with normal distribution. Mann-Whitney U test and Wilcoxon dependent two-sample tests were used for the data with normal distribution.  $p<0.05$  was considered significant.

During injections, the mean seizure stage of the TOFA-kindling group was significantly lower compared to the PTZ group ( $p<0.05$ ). In kindled groups, after 1 week of TOFA injection, first myoclonic jerk latency increased, while a significant decrease was observed in seizure stage, total spike number and generalized tonic-clonic seizure duration ( $p<0.05$ ).

We suggest that TOFA can be used safely in patients with generalized epilepsy, and it can also be an alternative drug in the treatment of epilepsy.

**Keywords:** Epilepsy, JAK/STAT, Janus Kinase, PTZ, Tofacitinib

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez sürecinde bilgi ve desteğini esirgemeyen, değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Gökhan ARSLAN;

Tez sürecimin her aşamasında her konuda desteğini aldığım Emre Soner TİRYAKİ' ye ve Özge Darakçı SALTIK 'a;

Yaşamım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmayarak, her zaman yanımda olan canım annem Ümmügül YETGİN'e ve babam Yusuf YEGİN'e, değerli eşim Özgür ASAN'a , kız kardeşlerim Esra YETGİN ve Gülsüme ZENGİN'e , erkek kardeşim Sinan YETGİN' e ve canım dostum Burcu NİGİZ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif ASAN

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>III</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>IV</b>
<b>ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR</b> .....	<b>V</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>VI</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>VIII</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>4</b>
2.1.Epilepsi.....	4
2.1.1Patafizyolojisi .....	4
2.1.2.Epidemiyolojisi .....	4
2.1.3.Nöbet Sınıflandırması .....	6
2.1.3.1. Temel Nöbet Sınıflandırması.....	6
2.1.3.2. Genişletilmiş Nöbet Sınıflandırması.....	7
2.1.4.Epilepsi Sınıflandırması.....	8
2.2.Pentilentetrazol (PTZ) Modeli Deneysel Epilepsi .....	11
2.3.JAK/STAT Yolu.....	13
2.3.1.JAK-STAT Aktivasyon Mekanizmasına Genel Bakış .....	14
2.3.2. JAK Aracılığıyla Sinyal Veren Reseptörler .....	15
2.3.3. Hücre Tipine Özgü STAT sinyali.....	15
2.3.4.JAK-STAT Sinyalinin Negatif Düzenlenmesi .....	16
2.4.Tofasitinib (TOFA) .....	17
2.4.1.Kimya.....	18
2.4.2.Farmakodinamik .....	18
2.4.3.Farmakokinetik ve Metabolizması .....	19
<b>3.GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>22</b>
3.1.Deney Hayvanları .....	22
3.2. Deney Grupları .....	22
3.3.İlaçlar ve Uygulama Yolları .....	22
3.4.ECoG Kaydı .....	23
3.4.1.ECoG Kaydı için Elektrotların Yerleştirilmesi.....	23
3.4.2.İlaç Enjeksiyonu ve ECoG Kaydı .....	24
3.5.Davranışsal Analiz .....	25
3.6.Elektrokortigram Analizi .....	26
3.7. İstatistiksel Analiz .....	26

<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>27</b>
4.1. TOFA`nın (5 mg/kg) Tutuşmaya Etkisi.....	27
4.2. Tutuşan Sıçanlara Uygulanan 5 mg/kg TOFAin Akut Etkisi .....	30
4.3. Tutuşan Sıçanlara 1 Hafta Boyunca Uygulanan 5 mg/kg TOFA`nın Etkisi.....	30
<b>5.TARTIşMA.....</b>	<b>35</b>
<b>6.SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>39</b>

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

<b>AMPAR</b>	:İzoksazolepropionik asit reseptörü
<b>ANNA</b>	:Antinöronal Nükleer Antikor
<b>ASD</b>	:Nöbet önleyici İlaç
<b>DMARD</b>	:Hastalığı Modifiye Eden Antiromatizmal Hasta
<b>EEG</b>	:Elektroensefalogram
<b>FAS</b>	:Odak bilinçli nöbet
<b>FIAS</b>	:Odak bozulmuş farkındalık nöbetleri
<b>GABA</b>	:Gama aminobitürik asit
<b>Gabra1</b>	:GABA a1 alt birimini kodlayan gen
<b>ICER</b>	:Klinik Ve ekonomik İnceleme enstitüsü
<b>IFN</b>	:İnterferon
<b>İLAE</b>	:Uluslararası Epilepsiyle Savaş Derneği
<b>JAK</b>	:Janus Kinaz
<b>mGluR5</b>	:Metabotropik Glutamat Reseptörü 5
<b>NMDAR</b>	:N- metil-D- aspartat
<b>PTZ</b>	:Pentilentetrazol
<b>Pro-Long</b>	:Uzun Vaadeli Prognoz
<b>RANKL</b>	:Nükleer-kB ligand
<b>SE</b>	:Status Epileptikus
<b>SH2</b>	:Statların SRC homoloji 2
<b>SOCS</b>	:Sitokin Sinyallemesi proteinleri baskılayıcısı
<b>STAT</b>	:Sinyal İletici ve Transkripsiyon Aktive Edici
<b>TLR</b>	:Toll benzeri reseptör
<b>TOFA</b>	:Tofasitinib

# 1.GİRİŞ

Nöbetler dünya nüfusunun %10'unun yaşamını etkilemektedir ve nöbet gelişen insanların %1 ila %2' sinde epilepsi hastalığı meydana gelmektedir. Yapılan çalışmalar sayesinde, epilepsi hakkındaki güncel bilgiler, tanısı ve tedavileri sürekli gelişmektedir. Nöbetler ve epilepsi için güncellenmiş tanımlar ve sınıflandırma sistemleri oldukça önemlidir çünkü uygun tanımlamalar ve sınıflandırmalar olmadan, birçok kişiye yanlış teşhis konulabilir ve yanlış tedavi uygulanabilir. Kesin olmayan tanımlar, kabul edilen terminolojinin kullanılmaması veya terminolojinin uygunsuz kullanımı epilepsi alanını inceleme ve ilerletme yeteneğimizi engellemektedir.

Epileptik bir nöbet, beyindeki anormal aşırı veya senkron nöronal aktiviteden dolayı oluşan geçici semptomlara verilen addır. Epilepsi nörobiyolojik, kognitif, psikolojik ve sosyal sonuçlar ile epileptik nöbet oluşturmaya kalıcı bir yatkınlık ile karakterize olan beyin hastalığıdır. Epilepsi tanımı ise en az bir epileptik nöbetin ortaya çıkmasını gerektirmektedir (Fisher et al., 2015).

Epileptogenezis, spontan nöbetlerin oluşmasına neden olan moleküler ve hücrel değişiklikler kaskadının etiklenmesi ile sonuçlanan beyin hasarı sürecini ifade etmektedir (Pitkanen and Lukasiuk, 2009).

Epilepsinin henüz tam olarak açıklanamayan mekanizmasını araştırmak ve tedavisi için daha etkili olabilecek ilaçlar ortaya çıkarmak için deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir. İnsandaki farklı epilepsi tipleri ile benzer görünümde olan, gerek genetik gerekse kimyasal ajanlar kullanılarak ve lezyon oluşturularak çok sayıda farklı deneysel model geliştirilmiştir (Garcia et al., 2010).

Epilepsinin hayvan modelleri, sıklıkla hem normal hem de anormal beyin fonksiyonunun temel nöronal mekanizmalarını araştırmak amacıyla kullanılmaktadır. (Engel and Schwartzkroin, 2006). Epilepsinin hücrel mekanizmalarını araştıran çalışmalar hipersenkronizasyonun mekanizmasının anlaşılmasına, hücrel ve ağ uyarılabilirliğinin değerlendirilmesine odaklanmıştır (Contreras, 2000). Bunlardan yaygın olarak kullanılan modellerden biri de tutuşma modelidir.

Tutuşma, nöbet oluşturmeyen uyarının tekrarlanması ve aralıklı olarak verilmesi sonucu zamanla nöbet gelişimidir. Tutuşma modeli ilk defa Goddard tarafından sıçan amigdalasına elektriksel uyarın verilmesiyle oluşturulmuştur.

Bundan sonra tutuşma modelleri kronik temporal lob epilepsisi oluşturmak için sıklıkla kullanılmıştır (Gilbert and Goodman, 2006; Goddard et al., 1969).

Tutuşma modelleri iki farklı uyarıyla oluşturulabilir. Bunlardan birincisi elektriksel tutuşma modeli ikincisi ise kimyasal tutuşma modelidir. Elektriksel tutuşma sürecinde elektrik uyarısı verildiğinde önce kısa süreli lokal art deşarjlar görülür. Sonra aşamalı olarak bu art deşarjların süresinin uzadığı ve diğer beyin bölgelerine de yayıldığı ve en sonunda tüm 2 beyni kapladığı görülür (Goddard, 1967). Elektriksel tutuşma modeli oluşturmak için amigdala, piriform korteks, perihinal korteks, dorsal hipokampus ve frontal korteks gibi beyin bölgeleri elektriksel uyarıyla uyarılır. İlk elektriksel uyarılarda epileptik nöbetler belirli bir alana sınırlı (fokal) iken, sonraki uyarılarda nöbetler diğer beyin bölgelerine de yayılır (jeneralizasyon).

Pentilentetrazol (PTZ), kimyasal tutuşma modeli oluşturmak için en çok tercih edilen kimyasal maddedir. PTZ'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, klor kanalları ile bağlantılı GABA-A reseptörlerini selektif olarak bloke ettiği ve GABA ve diğer inhibitör nörotransmitterlerin etkisini azaltarak nöronların depolarizasyonunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (Hansen et al., 2004; Sejima et al., 1997).

Sitokin reseptörü sinyallemesi için gerekli olan Jak / Stat yolu, en iyi anlaşılan sinyal iletim basamaklarından biridir. JAK olarak bilinen Janus kinaz ailesi yedi tane JAK homolog (JH) domaini ile karakterize edilmiş JAK1, JAK2, JAK3 ve non-reseptör tirozin kinaz 2 (TYK2) tirozin kinazlarından oluşur. JAK ailesi kinazları STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B ve STAT6 transkripsiyon faktörlerini içeren STAT'larla (signal transducer and activator of transcription) birlikte JAK-STAT sinyal iletim yolağını oluşturur. JAK-STAT sinyal iletim yolağı gen ekspresyonunu düzenleyen etkili ve karmaşık bir sistemdir. Sitokinler, hormonlar ya da büyüme faktörleri gibi çeşitli etkenlerle reseptörün uyarılması JAK aktivasyonuna, bu da STAT'ların seçici olarak fosforillenmesine neden olur. Fosforilenen STAT'lar dimerize olarak nükleusa yönelir ve gen regülasyonunu düzenlemek üzere hedef genin promotör bölgesine bağlanırlar. JAK-STAT yolağının aktivasyonu aracılığıyla hücre bölünmesi, hücre göçü ve apoptozun uyarılması gibi olaylar meydana gelmektedir.

Yapılan çalışmalar Jak/Stat yolunun aktivasyonu, Stat 3 aracılı gen düzenlemesi yoluyla indüklenabilir cAMP erken baskılayıcının (ICER) ekspresyonu ile sonuçlandığını göstermiştir. Ayrıca ICER' in beyindeki başlıca inhibitör nörotransmitter reseptörü olan A tipi gama aminobitürik asit (GABA) reseptörünün (GABAR) a1 alt birimini kodlayan geni (Gaba1/ GABRA1) baskıladığı ve bu tür baskıların nöronlardaki a1 içeren GABAR' ların sayısını azalttığı gösterilmiştir (Lavoie et al., 1997). En önemlisi, azalmış a1 alt birim gen ekspresyonu epilepsi hastalarında (Brooks-Kayal et al., 1998) ve sinir sisteminin diğer bozukluklarında meydana gelir (Petryshen et al., 2005; Bossers et al., 2010). Ek olarak, JAK/STAT inhibitörünün kullanımı PILO rat epilepsi modelinde latent dönemden sonraki spontan nöbetlerin sayısını azaltır (Grabenstatter et al., 2014).

Jak/Stat yolağı inhibitörlerinden biri olan TOFA ise romatoid artrit hastalarında yaygın kullanımı olan ve tedavi de olumlu sonuçlar açığa çıkaran bir kimyasal maddedir. Sitokinlerin reseptörlere bağlanması JAK yolaklarını aktive eder. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanan sitokin, reseptör polimerizasyonuna yol açar. TOFA'nın Jak/Stat yolağını modüle etmesiyle birlikte JAK'lar reseptörleri fosforile edemez ve böylece STAT'lar bağlanamaz. JAK'lar STAT'ları fosforile edemediğinden STAT dimerizasyonu oluşmaz ve hücre çekirdeğine gen transkripsiyonu için sinyal gitmez. Böylelikle, TOFA JAK'ın otofosforilasyonunu ve aktivasyonunu inhibe etmiş olur.

Çalışmamızda romatolojik hastalıklarda kullanılan ve JAK/STAT yolağı üzerinden antiinflamatuvar etki gösteren TOFA'nın PTZ ile indüklenen tutuşmaya etkisine ve tutuşan sıçanlarda akut ve 1 hafta süresince uygulanan TOFA'nın nöbet parametrelerine etkisini bulmayı amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Epilepsi**

#### **2.1.1 Patofizyolojisi**

Nöbetler; beyinde ağlar düzensiz bir şekilde oluşturulduğunda veya yapısal, bulaşıcı, metabolik bir bozukluk tarafından beyinin bir bölümünde veya tamamında anormal senkron nöronal ateşleme ile meydana gelir. Çocuklarda nöbetlerin en yaygın nedenleri genetik, perinatal hasarlara bağlı yaralanma ve kortikal gelişim malformasyonlarıdır (Aaberg et al., 2017). Epilepsiye genetik yatkınlığı olmayan erişkinlerde, nöbetlerin yaygın etiyojileri arasında ensefalit/menenjit, travmatik beyin yaralanma ve beyin tümörleri bulunur (Bosak et al., 2019). Yaşlı hastalarda ise epilepsi genellikle birincil nörodejeneratif bozuklukların sonucudur (Liu et al., 2016).

#### **2.1.2 Epidemiyoloji**

Birinin tek bir epileptik nöbet geçirme olasılığı %10 olarak analiz edilmiştir ancak tek nöbet geçiren kişilerin büyük çoğunluğunda tekrar nöbet gelişmez. Epilepsi dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişiyi etkileyen en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir (WHO Epilepsy, 2019). Epilepsi insidansı yılda 100.000 kişide 50,4 ila 81,7 arasındadır (Beghi et al., 2019). Epilepsinin prevalansının artması muhtemeldir çünkü daha fazla insan ciddi şekilde kafa travması, felç ve kafa içi enfeksiyonlardan kurtulur ve yanı sıra birincil ve ikincil beyin tümörleriyle daha uzun süre hayatta kalır. Tıptaki son gelişmelerden önce (örneğin doku-plazminojen aktivatörü, antiparaziter ilaçlar, antibiyotikler, antiviral ilaçlar, manyetik rezonans görüntüleme, odaklanmış radyasyon ve intratekal kemoterapi) bu bireylerin çoğu epilepsi geliştirecek kadar uzun süre hayatta kalamayacağı bu yüzden de prevalansının arttığı düşünülmektedir.

Epilepsinin prevalansında önemli bir farklılık vardır, yüksek gelirli ülkelere göre epilepsi insidansı, düşük gelirli ülkeler de çok daha azdır (Ngugi et al., 2010; Hauser et al., 1993). Bu tutarsızlığa neden olan birçok faktör vardır; daha yüksek paraziter enfeksiyonlar (örn. kafa travması ve mevcut tedavi eksikliği) ve genetik farklılıklar gibi. Ancak, bu tutarsızlığı yönlendiren ve prevalansın artmasına neden olan en büyük faktör gelişmekte olan milletlerde nöbet önleyici ilaçların (ASD'ler) eksikliğidir (WHO Epilepsy, 2019). Her ne kadar birçok yeni ASD son birkaç on yılda

piyasaya sunulsa da, en ucuz ASD' ler bile gelişmekte olan milletlerde genellikle mevcut değildir.

Epilepsi tüm yaşları eşit şekilde etkilemez, ancak çift modludur. Dağılımı, 5 ila 9 yaş civarında zirve yapar, ikinci zirve ise 80 yaş civarındadır (Cloyd et al., 2006; Neligan et al., 2012). Cinsiyete göre epilepsi prevalansında ise bir fark yoktur.

24 saatten daha uzun bir sürede iki veya daha fazla provoke edilmemiş veya refleks nöbetler geçiren kişiler, tek bir provoke edilmemiş veya refleks nöbet geçiren ve önümüzdeki 10 yıl içinde başka bir nöbet geçirme riski %60 olan kişiler veya epilepsi sendromu olan kişiler epilepsi hastası olarak tanımlanır (Aaberg et al., 2017; Bosak et al., 2019; Liu et al., 2016; Fisher et al., 2014). Bu "epilepsi" tanımı 2014'te kodlanmıştır. Önceki "epilepsi" tanımı (2005'ten itibaren) bu tanımda belirtilen yalnızca ilk kriteri içermektedir. Bu sınıflandırmanın ikinci kriteri; önümüzdeki 10 yıl içinde ikinci kez nöbet geçirme riski %60 olan kişinin beyin görüntüleme bulgularında epileptojenik potansiyeli veya elektroensefalogramda (EEG) epileptiform aktivitesi bulgularının olmasını içermektedir (Aaberg et al., 2017; Bosak et al., 2019). Beyin görüntülemeye anormal olan ancak epileptiform potansiyele sahip olmayan (ör. araknoid kist, yaygın atrofi) tek bir provoke edilmemiş nöbetle birleşen bir bulgu, epilepsi tanısı kriterlerini karşılamamaktadır. %60'lık eşik değeri seçilmiştir çünkü bu, provoke edilmemiş iki nöbeti olan birinin üçüncü bir nöbet geçirmesi için güven aralığının alt sınırıdır (Hauser et al., 1982).

Epilepsi tanımı klinik uygulama ile uyumlu hale getirilebilmek için değiştirilmiştir. Epileptologlar, tek bir nöbet geçiren ve epileptiform potansiyeller gösteren bir EEG'si olan biri için rutin olarak ASM'leri reçete etmişlerdi, ancak teknik olarak (henüz) epilepsisi olmadığı için hastaya da danışmaları gerekti. Bu tutarsızlık göz önüne alındığında, tanımın modifiye edilmesi gerektiği hissedildi. Bu "epilepsi" tanımındaki değişiklik de epilepsiye daha az yatkın olanlar için nöbetlerin ne zaman ilaçlarla tedavi edileceği hakkındaki kafa karışıklığını azalttı ve bir hastanın tek bir nöbetten sonra daha fazla nöbet geçirme riskinin yüksek olduğu bilindiğinde nöbet önleme tedavisi almasını daha olası hale getirdi. Epilepsinin Uzun Vadeli Prognozu (PRO-LONG) çalışması 2014 tanımını kullanarak epilepsi teşhisi konan hastaları ve eski tanım kullanılarak epilepsi tanısı konan hastaları karşılaştırdı. Bu çalışma, yeni tanım kullanılarak teşhis konanlar için 10 yılda nöbetlerin tekrarlama riskinin % 83.6 olduğunu göstermiştir (Beretta et al., 2017). Hauser et al. tarafından yayınlanan

bir makaleye göre eski tanım kullanılarak nöbetlerin tekrarlama riski 1 yılda %57 idi ve 4 yılda %73 dü (Hauser et al., 1998). Beretta ve arkadaşlarının çalışmasının sonuçlarına dayanarak, Anormal bir çalışma geçiren ilk nöbetlerinden sonra epilepsili bireylere tanı koymamanın onlara zarar verdiği açıktır. Epilepsi tanısının gecikmesi hastanın nöbet ilaçlarına uyumsuzluk, başka bir nöbet geçirme olasılığı ve klinisyenin tedavi edememesi olasılıkları ile sonuçlanır (Aaberg et al., 2017; Bosak et al., 2019).

2014 yılında “epilepsi” tanımına ek bir değişiklik ise “epilepsiyi” bir bozukluk değil, önceden tanımlandığı gibi bir hastalık olarak adlandırmaktır. Bu değişiklik hastaların bir “hastalığı” bir “bozukluk” tan daha iyi anlayabileceği ve hastalık tanısını daha ciddiye alacakları düşünüldüğü için yapılmıştır. Kalp hastalığı, diyabet hipotiroidizm vb. gibi tanımlar hastalıklardır, bozukluklar değildir ve epilepsi de benzer bir ciddiyetle düşünülmesi gerektiği için bir hastalık olarak yeniden adlandırılmıştır.

### **2.1.3 Nöbet Sınıflandırması**

Temel sınıflandırma ve genişletilmiş sınıflandırma olmak üzere; daha titiz çalışmaları gerektirenler ve ayrıntıya boğulmadan sınıflandırmayı anlayıp pratik yapanlar için çok yönlülüğe izin verecek şekilde iki şekilde dizayn edilmiştir.

#### **2.1.3.1 Temel Nöbet Sınıflandırması**

Verilen tabloda ILAE sınıflandırmasının temel versiyonunu özetlemektedir (Şekil 2.1.). Nöbetin başlangıcı ilk olarak fokal, jeneralize, bilinmeyen veya sınıflandırılmayan olarak tanımlanmaktadır. Fokal nöbet, belirli bir odaktan başlayan nöbettir. "Fokal" terimi, eski "kısmi" teriminin yerine kullanılmaktadır. “Fokal” teriminin kullanmak daha doğru tanımladığı düşünüldüğü için bu değişiklik yapılmıştır. Her iki hemisfer nöbet başlangıcında aynı anda aktive olduğunda ise de bunu “jeneralize” nöbet olarak tanımlarız. Bu nöbette her iki hemisferin asimetrik aktivasyonu sorun değildir ancak, nöbet başlangıcına her iki hemisfer de dahil olmalıdır. Eğer nöbet tipi ile ilgili hastanın öykü ve sonuçlarında (örneğin, MRI, CT ve EEG) yeterli veri yoksa bu bilinmeyen başlangıçlı nöbet olarak sınıflandırılır. Sınıflandırılmayan tanımı nöbetlerin sınıflandırılmasının bir parçası olarak devam etmekte, ancak bir nöbet başlangıcında bilinmezlik yaratması nedeniyle diğerlerinden daha az kullanılmaktadır.

Bu sınıflandırmanın sonraki aşamasında farkındalık veya bozulmuş farkındalık seçenekleri vardır. Bilinç bozulursa, nöbet “bozulmuş farkındalık nöbetidir”. Değilse, o zaman “farkında bir nöbet” olur. Bu terimler başlangıç terimiyle birleşerek "odak bilinçli nöbetler (FAS'ler)" ile "odak bozulmuş farkındalık nöbetleri (FIAS)" arasındaki ayrımı yapmamızı sağlar. FAS' lar daha önce basit kısmi nöbetler olarak ve FIAS' lar da daha önce karmaşık kısmi nöbetler olarak adlandırılırdı. Bu terminoloji de farkındalık bozukluğu olmayan bir nöbeti basit ve farkındalık bozukluğu olan bir nöbeti de karmaşık olarak tanımlamak hastaları yanılttığı düşünüldüğü için değiştirildi. Birbirlerinden farklı olmalarına rağmen ve nöbet esnasında farklı etkileri olmasına rağmen biri diğerinden daha karmaşık veya basit değildir. “Farkında” ve “farkında olmayan”ın sezgiselliği, “basit” ve “karmaşık”tan çok daha anlaşılır olduğu, dolayısıyla bu değişikliğin hastanın daha iyi kavramasını sağlayacağı düşünülmektedir.

Jeneralize nöbetler için, “Jeneralize” terimi bilincin bozulduğunu ima ettiği için farkındalık tanımı yoktur.

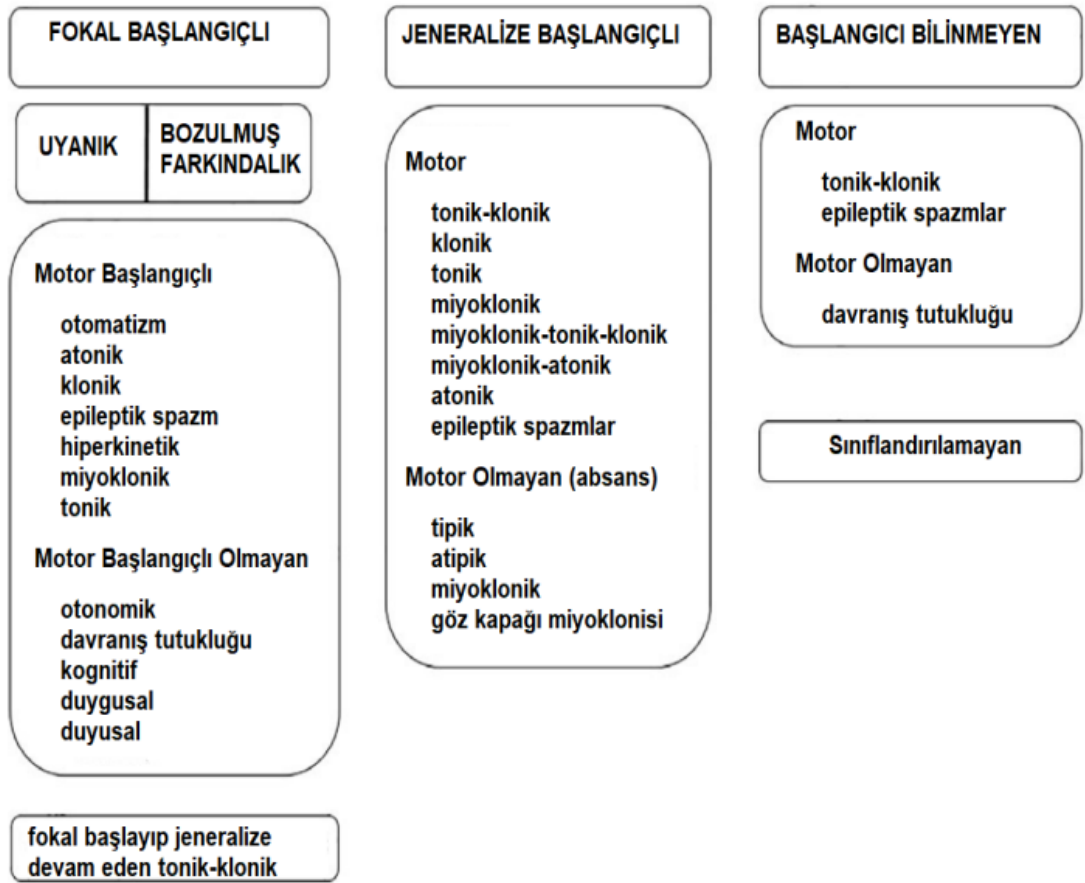
Temel nöbet sınıflandırmasındaki son tanım, fokal veya jeneralize bir nöbetin motor bir bileşene sahip olup olmadığı belirler. “Motor” terimi, önceden tanımlanan terimlere eklenerek “fokal bozulmuş farkındalık motor nöbeti”, “jeneralize motor olmayan nöbet” ve “bilinmeyen motor nöbet” gibi terimlerle sonuçlanmıştı. Jeneralize ve bilinmeyen başlangıçlı nöbetler için motor bileşen "tonik-klonik" veya "diğer motor" olarak tanımlanabilir. Fokal nöbetler için “motor” terimi sadece motor başlangıç varsa kullanılmalıdır; bir fokal nöbetin odaktan bilateral hemisferleri kapsayacak şekilde yayıldığı zamanlarda bu terimi kullanmak uygun değildir, bu durumlarda tanım "fokalden bilateral tonik-kloniğe" şeklinde olmalıdır.

Sınıflandırılmayan nöbetlere ise başka tanımlamalar eklenmez. Nöbetin fokal başlangıçlı olduğundan %80 eminseniz, o zaman bu şekilde sınıflandırılmalıdır. Eğer %80 den daha az eminseniz o zaman ise nöbet “bilinmeyen başlangıç” lı olarak sınıflandırılmalıdır. Bu %80'lik ayırım, tipik olarak klinik istatistikler için kullanılan yanlış negatif oranı olduğu için seçilmiştir.

### **2.1.3.2 Genişletilmiş Nöbet Sınıflandırması**

Genişletilmiş nöbet sınıflandırması, sınıflandırma motor ve motor olmayan tanımlamaları içererek daha ayrıntılı sınıflandırıcılar sağlar ve temel sınıflandırma

üzerine inşa edilir. Eğer mümkünse bu daha açıklayıcı olan sınıflandırmalar kullanılmalıdır. Bu tanımlamalar ilk semptom tarafından ya da nöbet geçiren kişi tarafından belirlenir. Bunun mutlaka en belirgin işaret olmadığına dikkat etmek önemlidir. Bunun tek istisnası, tüm nöbet boyunca davranışsal tutuklamanın baskın işaret olması gereken “davranışsal durma tipi” içindir. Belirli bir nöbet bu tanımlamalardan birine açıkça uymuyorsa, mümkün olan en iyi sınıflandırıcı kullanılmalı veya nöbet hakkında daha fazla ayrıntı sağlamak için başka bir tanımlayıcı kullanılmalıdır. Nöbet tiplerinin ILAE 2017 operasyonel sınıflandırması için olan tanımlama kılavuzu çok fazla tanımlayıcı içerir (Fisher et al., 2017). Bu tanımlayıcılar sınıflandırmanın bir parçası olmasa da, nöbeti daha iyi tanımlayabilmek için dahil edilebilirler.



Şekil 2.1. ILAE 2017 nöbet sınıflandırması (Scheffer et al., 2017)

#### 2.1.4 Epilepsi sınıflandırması

Bir nöbet sınıflandırıldıktan sonra, bir kişinin epilepsi olduğu tespit edilmişse, epilepsi sınıflandırılmalıdır. Epilepsi türleri şunlardır: Fokal, Jeneralize, Fokal ve Jeneralize kombinasyonu ve Bilinmeyen.

Bir hastanın bunlardan hangisine sahip olduğunu belirlemek için hastanın sahip olduğu tüm nöbet tipleri tanımlanmalı ve daha sonra epilepsi tipini belirlemek için veriler birleştirilmelidir (Scheffer et al., 2017). Bir hastada sol ve sağ temporal loblardan kaynaklanan iki taraflı tonik-klonik nöbetlere karşı fokal farkında kognitif nöbetler varsa, bu hasta fokal epilepsidir. Hem fokal hem de jeneralize nöbetleri varsa (örneğin Lennox-Gastaut sendromunda olduğu gibi), fokal ve jeneralize kombine epilepsidir. Epilepsi tipi tanımlandıktan sonra etiyoloji belirlenmelidir.

Epilepsi sınıflandırmasının bir parçası olarak epilepsi etiyolojileri için tanımlanan kategoriler yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immün ve bilinmeyen şeklindedir. Bir hastanın birden fazla etiyolojisi olabilir ve bunlar hiyerarşik değildir (Scheffer et al., 2017). Epilepsiyi yapısal bir etiyolojiye sahip olarak tanımlamak, epilepsilerinin muhtemel nedeni olan yapısal bir bulgunun tanımlanmasını gerektirir (Lapalme-Remis et al., 2016). Sol frontal lobda glioblastoma ve sol frontal lobdan kaynaklanan nöbetleri olan bir hasta, yapısal bir etiyoloji nedeniyle epilepsili olarak sınıflandırılır. Buna karşılık, sağ temporal lobdan gelen nöbetleri olan ve oksipital lobda küçük kalsifiye menenjiyoma sahip bir hasta, meningiom muhtemelen epilepsi ile alakasız olduğundan, yapısal olmaz. Ancak daha sonra bu hastanın meningiom bölgesinde ve hipokampusu yayılan nöbetleri olduğu tespit edilirse, bu epilepsi yapısal olacaktır.

Epilepsi ile sonuçlanan bir gen veya kopya numarasında hastalığa neden olan spesifik bir varyant olduğunda, epilepsi genetik bir etiyolojiye sahip olarak sınıflandırılır. Özellikle, bir hastanın aile öyküsü, EEG'si ve nöbet semiyolojisi, genetik epilepsi teşhisi ile uyumluysa, genetik test yapılmasına gerek yoktur. Örneğin, sağ lateral temporal nöbetlerin EEG bulguları ile fokal bilinçli işitsel-bilateral tonik-klonik nöbetleri olan bir hasta ve aynı semiyolojiye sahip birden fazla aile üyesi bu tabloya göre ailesel otozomal dominant lateral temporal lob epilepsisi tanısı konulabilir. Bunun yaklaşık %80 penetrasyona sahip olduğu ve kromozom 10q üzerindeki lōsin açısından zengin glioma inaktive protein 1'deki (LGI-1) bir mutasyona bağlı olduğu bilinmektedir. Genetik epilepsiler de novo mutasyonların sonucu olabileceğinden, genetik epilepsi tanısını koymak için ailede genetik epilepsi

öyküsüne sahip olmanın gerekli olmadığını anlamak önemlidir. Ek olarak, genetik anormallikler her zaman nedensel değildir (Hildebrand et al., 2013).

Epilepsinin bulaşıcı etiyojileri, daha önce beyin enfeksiyonu geçirmiş bir hasta epilepsi geliştirdiğinde ortaya çıkar (bu tanı bir hasta akut enfeksiyon nedeniyle nöbet geçirdiğinde yapılmaz). Epilepsinin bulaşıcı nedenlerine örnek olarak nörosistiserkoz, insan immün yetmezlik virüsü, sitomegalovirüs ve serebral toksoplazmoz dahildir. Bu enfeksiyonların birçoğu yapısal anormalliklere neden olabilirken, ilk neden enfeksiyon olduğu için epilepsinin etiyojisi en iyi enfeksiyona bağlı olarak tanımlanabilir. Enfeksiyöz epilepsi, menenjit veya ensefalitin enfeksiyöz ajanlara bağlı olduğu hastalarda enfeksiyonun akut fazından sonra nöbet geçirmeye devam ettiğinde de teşhis edilir. Çoğu durumda, beyin yapısal olarak normal görünür ve görüntülemelerde herhangi bir kalıntı yapısal değişiklik olmaksızın sadece menenjit öyküsü vardır (Vezzani et al., 2006).

Epilepsi, nöbetlerin ana kaynağı metabolik bir düzensizlik olduğunda, metabolik bir nedene bağlanır. Geçici metabolik anormallikler hipoglisemi kadar şiddetli olduğunda bile bu kategoriye yerleştirmek uygun değildir. Epilepsi için metabolik etiyojiler örnekleri piridoksine bağımlı nöbetler ve serebral folat eksikliğidir (Parikh et al., 2015). Piridoksine bağımlı nöbetlerde, uygun tedaviyi belirlediğinden etiyojinin bilinmesi son derece önemlidir.

Epilepsinin immünolojik nedenleri arasında otoimmün hastalıklarda yer alır. Antikor aracılı limbik ensefalit, sıklıkla epilepsiye neden olan, giderek daha fazla teşhis edilen tanı haline gelmiştir. Ek olarak, epilepsiye neden olabilecek birçok antikor tanımlanmıştır, en yaygın olanları N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR), LGI-1, antinöronal nükleer antikor tip 1 (ANNA-1), Ma,  $\alpha$ 'dır. -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolepropionik asit reseptörü (AMPA),  $\gamma$ -aminobütirik asit-B (GABA-B) ve metabotropik glutamat reseptörü 5 (mGluR5)' dir ( Toledano et al., 2015 ). Limbik ensefalite bağlı nöbetler ASD'lere çok kötü yanıt verdiği için, epilepsinin immünolojik bir nedenini tanımak tedavi için son derece önemlidir. Bu nöbetlerin iyileşmesi tipik olarak immünolojik ajanlar (steroidler, immün nöglobulinler, plazmaferez, rituksimab) verilene kadar değildir (de Bruijn et al., 2019). Epilepsi için net bir etiyojiler belirlenemediğinde etiyojiler bilinmeyen olarak kategorize edilmelidir.

Epilepsinin nedeninin belirlenememesi çok yaygındır. Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, epilepsinin etiolojisini çocuk ve yetişkin kohortlarında sınıflandırmaya çalışmış ve yaklaşık %50'sinde etiolojinin bilinmediğini bulmuştur (Aaberg et al., 2017; Bosak et al., 2019). Nöbetleri olan birçok hastanın bilinen bir aile epilepsi öyküsü, normal bir MRI/CT taraması, normal tam metabolik paneller, bilinen herhangi bir genetik sendromla korele olmayan bir klinik öykü ve bilinen hiçbir bulaşıcı veya otoimmün hastalığı olmadığı için bu şaşırtıcı değildir. Epilepsi sınıflandırması ile ilgili bir konu da epilepsi tipinden özellikle farklı olan epilepsi sendromlarıdır.

Epilepsi sendromları, birlikte ortaya çıkan spesifik bulguların (klinik, EEG, görüntüleme, tetikleyiciler, genetik ve yaşa bağlı özellikler) kombinasyonları olarak tanımlanır. Birçoğunun iyi tanınan isimleri olmasına rağmen, bunlar ILAE tarafından hiçbir zaman resmi olarak tanımlanmamıştır.

## **2.2 Pentilentetrazol (PTZ) Modeli Deneysel Epilepsi**

Epilepsi hastalarında epileptogenez ve nöbet oluşumunun altında yatan mekanizmalar klinik çalışmalarda tam olarak aydınlatılamamaktadır. Bu nedenle, epilepsi çalışması için uygun bir hayvan modeli gereklidir (Löscher and Brandt, 2010). Epilepsi fiziolojisini araştırmak ve anti-epileptik ilaçları belirlemek için çeşitli epilepsi hayvan modelleri kullanılmıştır (Loscher, 2017; Löscher, 2011). Bu modeller arasında farmakolojik nöbet indüksiyonu, epilepsi patolojisinin araştırılması için bir hayvan modeli oluşturmak için kullanılan yaygın bir yöntemdir (Kandratavicius, 2014). Bu yöntem ucuz ve basittir. Elektrot aracılı tutuşturma da yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir, ancak bu prosedürün maliyeti daha yüksektir ve yöntem, tekrarlayan nöbetleri indüklemek için cerrahi ve elektriksel beceriler gerektirir (Pitkänen et al., 2006). Nöbetlerin zamanlaması ve sayısı kolayca kontrol edildiğinden farmakolojik indüksiyon da avantajlıdır. Spontan nöbetler sergileyen genetik fare modelleri de epilepsi çalışmasında kullanılmaktadır. Ancak bu genetik modellerde nöbetlerin ne zaman ve ne sıklıkla ortaya çıktığını tahmin etmek imkânsız olabilir (Yang and Frankel, 2004). Bir hayvana intraperitoneal pentilentetrazol (PTZ) enjeksiyonu, yüksek dozda akut, şiddetli bir nöbete neden olurken, bir epilepsi modeli olan kimyasal tutuşmanın geliştirilmesi için subkonvülsif bir dozun ardışık enjeksiyonları kullanılmıştır.

PTZ, bir GABA-A reseptör antagonistidir. Tek bir düşük doz PTZ enjeksiyonu, konvülsiyon olmaksızın hafif bir nöbete neden olur. Bununla birlikte, tekrarlayan düşük doz PTZ enjeksiyonları, konvülsif bir nöbet uyandırmak için eşiği düşürür. Son olarak, sürekli düşük dozda PTZ uygulaması ciddi bir tonik-klonik nöbeti indükler. Bu yöntem, tekrarlayan nöbetler içeren kronik bir hastalık olarak tanımlanan epilepsinin patofizyolojisini araştırmak için basit ve yaygın olarak uygulanabilir. Bu kimyasal tutuşma protokolü hayvanlarda tekrarlayan nöbetlere neden olur. Bu yöntemle, PTZ aracılı nöbetlere karşı güvenlik açığı veya epileptik nöbetlerin şiddetlenme derecesi tahmin edildi. Bu avantajlar, anti-epileptik ilaçların ve epilepsi ile ilgili genlerin taranması için bu yöntemin kullanılmasına yol açmıştır. Ek olarak, bu yöntem epileptik nöbetlerden sonra nöronal hasarı araştırmak için kullanılmıştır, çünkü epileptik hastaların beyinlerinde gözlenen histolojik değişiklikler kimyasalla tutuşan hayvanların beyinlerinde de görülmektedir. Bu nedenle, bu protokol, epilepsi hayvan modellerinin uygun şekilde üretilmesi için yararlıdır.

Genetiği değiştirilmiş farelerin epileptik davranışını gözlemlemek için bir izleme sistemi gereklidir (Yang and Frankel, 2004). Kainik asit, pilokarpin ve pentilentetrazol (PTZ) nöbet indükleyici ilaçlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Leite et al., 2002). Kainik asit, glutamat reseptörleri için bir agonisttir ve pilokarpin, kolinerjik reseptörleri aktive eder. PTZ, bir gama aminobütirik asit (GABA)-A reseptör antagonistidir (Squires, 1984). PTZ, inhibitör sinapsların işlevini baskılayarak nöronal aktivitenin artmasına neden olur. Bu düzenleme, hayvanlarda genelleştirilmiş nöbetlere neden olur (Tourov, 1996). Bir tek kainik asit ve pilokarpin enjeksiyonu, özellikle status epileptikus (SE) (Furtado, 2002; Hosford, 1999) olmak üzere akut nöbetleri indükleyebilir ve kainik asit veya pilokarpin aracılı SE, konik spontan ve tekrarlayan nöbetleri teşvik eder (Medina-Ceja et al., 2014; Bragin et al., 2005). Elektroensefalografik (EEG) kayıtları ve davranış analizi, tek bir enjeksiyondan bir ay sonra spontan tekrarlayan nöbetlerin gözlemlendiğini göstermiştir (Medina-Ceja et al., 2014; Bragin et al., 2005).

Konvülsif bir PTZ dozunun tek bir enjeksiyonu da akut nöbeti indükler. Bununla birlikte, tek bir PTZ enjeksiyonundan sonra kronik spontan nöbetleri teşvik etmek zordur. Tekrarlayan nöbetleri indüklemek için kronik PTZ uygulaması gereklidir (Schmidt, 1987). Her iki yöntemde de tekrarlayan nöbetlerin oluşumu, insan epilepsisine akut nöbetlerin oluşumundan daha benzer bir patolojiyi

indükleyebilir. PTZ durumunda, her enjeksiyon bir nöbeti uyandırır ve nöbet şiddeti, her enjeksiyonla aşamalı olarak daha şiddetli hale gelir. Son olarak, tek bir düşük doz PTZ enjeksiyonu ciddi bir tonik-klonik nöbeti indükler. Bu aşamada, her enjeksiyon şiddetli nöbetler uyandırır. Ek olarak, nöbet gecikmesi ve süresi de enjeksiyonların seyri boyunca değişir. Tonik nöbetin gecikmesi, tutuşmanın ikinci aşamasında genellikle kısalmır (Angelatou, 1991). Ayrıca, nöbet şiddetlenmesine, uzun süreli bir nöbet süresi eşlik eder (Löscher, 2002). Nöbet şiddetini, gecikmesini ve süresini düzenleyen moleküler mekanizmanın araştırılması, anti-epileptik ilaçların taranması için yararlıdır (Ilhan et al., 2006; Emami, 2001; Klitgaard, 2001). Nöbetler genellikle tek bir sistemik PTZ uygulaması ile indüklenir ve iyileşme 30 dakika içinde çok hızlıdır (Kandratavicius et al., 2014; Pitkänen et al., 2006). Böylece, PTZ tutuşma modelinde nöbet sayısı daha kontrol edilebilir. Bununla birlikte, EEG izleme, PTZ aracılı nöbetten sonra 12 saate kadar jeneralize ani yükselmelerin görülebileceğini göstermiştir (Kellinghaus et al., 2007). Bu nedenle, tutuşma mekanizmalarının daha kesin analizi için hayvanlar tercihen miyoklonik veya tonik nöbet sonrasında 24 saat boyunca gözlem altında kalmalıdır (Koutroumanidou et al., 2013)

### **2.3 JAK-STAT Yolu**

Sitokin reseptör sinyalleme için gerekli olan JAK-STAT yolu, en iyi çözümlenen sinyal iletim basamaklarından biridir. Yaklaşık 40 sitokin reseptörü, dört JAK ve yedi STAT ailesi üyesinin kombinasyonları yoluyla sinyal verir. Yoğun çalışmalara rağmen, kaskadların nasıl aktive edildiğini ve düzenlendiğini anlamada önemli boşluklar vardır. IL-6 ve IL-10 reseptörlerinin örneklerini kullanarak, gen ekspresyonundaki çeşitli sonuçların, her iki reseptör için ortak olan JAK1-STAT3 yolunu etkileyerek, bu yol vasıtasıyla düzenleyici etkiler gösterir. Çalışmalar, Sitokin sinyalleme (SOCS) proteinlerinin baskılayıcısının, sitokin reseptörlerinden gelen STAT sinyallerinin kalitesini ve miktarını nasıl düzenlediğini araştırmaktadır. Yeni veriler, SOCS proteinlerinin, aşağı akış gen aktivasyonunu değiştiren aktive edilmiş STAT'lerin çıkışını ayarlayarak JAK-STAT yoluna ek çeşitlilik kattığını göstermektedir.

Memeli JAK ve STAT ailesi üyeleri, fare ve insan sistemlerinde kapsamlı ve ayrıntılı bir şekilde analiz edilmiştir. İnsanlarda, mutant Jak veya Stat taşıyan kişilerde ayrıntılı genetik çalışmalar yapılmıştır. Her proteinin fosfo-formlarına özgü Ab'leri, JAK-STAT kademesinin sitokin reseptörleri tarafından nasıl aktive edildiğini

incelemek için kullanılmıştır. Kristalografik çalışmalar, farklı biçimlerde birden fazla STAT ailesi üyesi için yapısal bilgileri aydınlatmıştır. Farmakolojik inhibitörler, JAK-STAT sinyalinin hastalık patolojisi ve ilerlemesinde rol oynadığı klinik kullanım için geliştirilmiştir. Son olarak, her sitokin reseptörü ile belirli bir JAK-STAT kombinasyonu eşleştirilmiştir ve bu bilgi, hücre tipine özgü sitokin tepkisi ve gen ekspresyonu modellerine çevrilmiştir.

JAK-STAT kademesinin spesifik gen ekspresyon modellerini kontrol etmek için nasıl işlev gördüğü ve kademelerin nasıl düzenlendiği ile ilgili önemli sorular devam etmektedir. Her ne kadar sitokin sinyallesinin (SOCS) baskılayıcısı olsa da proteinler, JAK-STAT yolunun en iyi anlaşılan negatif düzenleyicileridir. Ayrıca, aktive edilmiş STAT'ların üretimini bloke etmek için ilave inhibitör yollar da bulunmuştur. Toplu olarak, sitokin reseptöründen gen ekspresyonuna giden yola ilişkin bilinenler çok az olduğu ancak sinyal iletimini incelemek için en iyi yöntemlerden biri olmaya devam ettiği düşünülmektedir.

### **2.3.1 JAK-STAT Aktivasyon Mekanizmasına Genel Bakış**

JAK-STAT sinyallesinin mevcut modeli, sitokin reseptör angajmanının ilişkili JAK kombinasyonunu aktive eder, bu da sırasıyla fosforile olan, dimerize olan ve spesifik dizileri bağlamak için çekirdeğe hareket eden bir STAT'ın alımına izin vermek için reseptör sitoplazmik alanını tutar ve gen ekspresyonunu aktive eder. Sitokin reseptörlerinin sitoplazmik alanları, zara yakın konumlanmış JAK bağlanma bölgeleri aracılığıyla JAK'lar ile birleşir (Behrmann et al., 2004). Reseptörlerin hücre yüzeyine taşınmasında veya refakatinde JAK'ların varsayılan rolü tartışılmaktadır. Sitokin reseptörlerinin ve JAK'ların ne zaman ve nerede birleştiğine bakılmaksızın, sitokin bağlanmasını takiben JAK'ın kinaz aktivitesini uyarmak için zara yakın konumlanmaları gerekir. Yolun aktivasyonunun bu aşamasında, JAK-reseptör etkileşiminin yapısal temeli, reseptör hücre içi alanlarının sitokin bağlanması üzerine nasıl yeniden yönlendiği ve fosforilasyon modifikasyonunu almak için JAK ile fiziksel olarak nasıl temas kurduğu hakkında aydınlatıcı bir bilgi yoktur.

Reseptörün JAK aracılı fosforilasyonu, STAT'lerin Src homoloji 2 (SH2) alanları için bağlanma bölgeleri yaratır. STAT alımını tirozin ve bazı durumlarda çekirdeğe geçişe yol açan anahtar kalıntılar (JAK'lar ve diğer yakından ilişkili kinazlar tarafından) üzerindeki fosforilasyonu takip eder (O'Shea et al., 2002). Ayrıca, sitokin

uyarımı öncesinde, sırasında ve sonrasında hücrelerde STAT homo ve heterokomplekslerinin kaç konfigürasyonunun mevcut olduğu açık değildir (Mao et al., 2005; Ndubuisi et al., 1999; Zhong et al., 2005). Belirli bir reseptör için bir SH2 alanının tercih edilmesinin ayrıntılı yapısal temeli henüz anlaşılmamıştır ve diğer JAK olmayan kinazların reseptörlere nasıl alındığı ve STAT'ları fosforile ettiği konusunda da çok az bilgi vardır.

### **2.3.2 JAK Aracılığıyla Sinyal Veren reseptörler**

Sitokin reseptörleri iki tip yoldan sinyal verir: JAK-STAT yolu ve MAP kinaz kaskadı aktivasyonunu içeren diğer yollar ile (Berenson et al., 2006; Judd et al., 2004; Lee et al., 2006; Tebbutt et al., 2002). Toplamda 38 sitokine yanıt veren 36 sitokin reseptör kombinasyonu vardır (tümü IFN- $\alpha\beta$ R yoluyla sinyal verdiği için tip I IFN'leri tek olarak sayar). Farklı hücreler ve dokular, organizmanın mikro-çevresine veya sistemik yanıtına özgü sitokin kombinasyonlarına yanıt veren farklı reseptör kombinasyonlarını ifade eder. Bu nedenle, herhangi bir zamanda, tek bir hücre, çoklu sitokin reseptörlerinden gelen sinyalleri entegre edebilir. Genetik çalışmalar, sitokin reseptör sisteminin, farklı reseptör sınıflarının tercihen bir JAK veya JAK kombinasyonu kullanması nedeniyle kısıtlayıcı olduğunu belirlemiştir (O'Shea et al., 2002). Hemopoietik hücre gelişimi ve proliferasyonu için gerekli reseptörler JAK2'yi kullanır, yaygın  $\gamma$ -zincir reseptörleri JAK1 ve JAK3'ü kullanır, oysa diğer reseptörler sadece JAK1'i kullanır. Buna karşılık, insan TYK2' si, daha geniş bir sitokin reseptörü yelpazesi aracılığıyla sinyal vermek için gerekli görünmektedir (Minegishi et al., 2006). Sitokin reseptörlerinin çoğu, üç JAK kombinasyonu kullanır. Her sitokin reseptörü tarafından JAK kullanımının genetik ve biyokimyasal çalışmalarla belirlendiği vakalar gösterilmiştir.

### **2.3.3 Hücre Tipine Özgü STAT Sinyali**

JAK-STAT sinyal tarafından uyarılan gen ekspresyonunda bazı değişikliklerle tasarlanmış olan mikrodizi deneyleri, hücre tipi özel transkripsiyon ve çekirdek ya da stereotipik mRNA profilleri ve farklı hücre tiplerinde aktif sitokin reseptör çalışmalarını bulunmaktadır.

IFN- $\gamma$ , STAT1 aracılığıyla, test edilen hücre tipinden bağımsız olarak benzer bir gen kohortunun ekspresyonunu indükler (van Boxel-Dezaire et al., 2006). Bu genler genellikle "IFN imzası" olarak adlandırılır ve STAT2 ve IRF9 ile iş birliği

içinde STAT1'i de içeren IFN- $\alpha\beta$  sinyalleme tarafından indüklenen gen ekspresyon paterni ile örtüşür. IFN imzası, mikrodizi deneylerinde kolayca gözlenir ve bu da STAT1 aktivitesinin göstergesidir. IL-4 veya IL-13 tarafından aktive edilen STAT6 yolu, hücre tipine özgü bir yanıtın örneğini sağlar. T hücrelerinde IL-4 ile düzenlenen genler, makrofajlarda veya diğer lenfosit olmayanlarda IL-4/IL-13 sinyalleşmesine kıyasla belirgin bir imzaya sahiptir (Chen et al., 2003; Chtanova et al., 2001; Lund et al., 2005; Lund et al., 2003). Toplu olarak bu veriler, STAT'lerin, genomik erişilebilirliklerine ve gen ekspresyon profillerini daha da iyileştiren kofaktörlere bağlı olarak tanımlanmış gen gruplarını aktive ettiğini iddia eder.

#### **2.3.4 JAK-STAT Sinyalinin Negatif Düzenlenmesi**

JAK'ların FERM bölgesinin fosforilasyon aracılı otoinaktivasyonu, yüzeydeki reseptör sayılarının kaybı, JAK'ların bir reseptörden ayrılması, heterodimer rekabeti ve STAT'ların çekirdekte taşınması dahil olmak üzere birçok biyokimyasal süreç JAK-STAT yolunu düzenlemek için bir araya gelir.

SOCS proteinleri, sitokinler ve diğer uyarıcılar tarafından indüklenir ve sitokin reseptörü sinyalleşmesinin negatif geri besleme inhibitörleri olarak işlev görür. SOCS işlevi için geçerli olan hipotez, SOCS proteininin SH2 alanının aracılık ettiği bir ilk reseptör bağlanma aşamasına, ardından ubiquitin E3 ligaz etkinliğinde yer alan proteinlerle bir kompleks oluşturan SOCS proteinlerinin etkinliğini içeren ikinci bir aşamaya odaklanmıştır (Kile, 2002). SOCS1, SOCS2 ve SOCS3'ün sitokin sinyalleşmesini düzenlemede seçici temel fonksiyonlara sahip olduğu bulunmuştur (Alexander and D. J. Hilton, 2004). Genetik çalışmalar, işlev kaybı araştırmalarının yalnızca her bir SOCS proteininin gereksiz olmayan işlevlerini tanımlayabildiği bir sorunu gündeme getirmektedir. Bu etkileşimlerin işlevleri genetik tarafından kolayca belirlenemez ve normal hücrel fizyolojideki rolleri henüz kesin olarak belirlenmemiştir.

SH2 alanının ve SOCS bölümünün işlevleri ayrılabilir. SOCS1; IFN- $\gamma$ R'nin (ve ayrıca IFN- $\alpha\beta$ R) (Fenner et al., 2006; Gingras et al., 2004), IL-12R, IL-1'nin ana inhibitörüdür. SOCS1'den yoksun fareler, aşırı IFN- $\gamma$  sinyalleşmesinden hızla ölür: ancak IFN- $\gamma$  veya IFN- $\gamma$  sinyalleme miktarlarını azaltan birçok yolla kurtarılabilir (Alexander and D. J. Hilton, 2004). Bununla birlikte, SOCS1'in SOCS alanına sahip olmayan ancak IFN- $\gamma$ R'ye bağlanan SH2 alanını tutan fareler, düzenlenmemiş IFN-

y sinyalinin toksik etkilerinden kısmen korunur (Zhang et al., 2001). Bu hem SH2 hem de SOCS alanlarının sitokin sinyallemesine karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğunu gösterir. Bir SOCS proteini tarafından iletilen iki inhibitör sinyal, sitokin reseptörü sinyallemesini bloke etmek için diğer negatif sinyallerle nasıl entegre edildiği bilinmemektedir.

SOCS proteinlerinin genel biyokimyasal aktivitesi, aktive edilmiş sitokin sinyallemesini azaltmak olduğundan, SOCS proteinleri, fosforile edilmiş STAT'ların her yerde bulunmasını ve dolayısıyla onların bozulmasını, STAT sinyalinin genliğini azaltarak yönlendirir. Böyle bir mekanizma, dinamik bir şekilde meydana gelir, çünkü STAT'lar, sinyalleme sırasında sürekli olarak aktive edilmiş reseptörlere alınırken, seçilen SOCS proteinleri, STAT aktivasyonuna yanıt olarak sürekli olarak aktive olur. SOCS proteinlerinin keşfinden önceki erken çalışmalar, proteazom inhibisyonunun sitokin reseptör sinyalini arttırdığını ve JAK-STAT yolunu bloke etmede ubiquitin aracılı bozulmayı işaret ettiğini kaydetmiştir (Kim and Maniatis, 1996; Yu and Burakoff, 1997). Bu fikrin doğrulanması, ubiquitin tarafından modifiye edilen STAT proteinlerinin yüzdelerini ölçmek için hassas testler gerektirmektedir.

Birkaç araştırmacı, STAT DNA bağlama aktivitesinin (SOCS proteinlerinin indüklenmesinden önce) diğer reseptör sinyalizasyon sistemleri tarafından hızla inhibe edilebileceğini gözlemlemiştir. Örneğin, STAT3 DNA bağlama aktivitesi, JAK-STAT sistemini kullanmayan IL-1R veya TLR4 üzerinden ortak sinyal gönderilerek bloke edilir (Ahmed and Ivashkiv, 2000; Ahmed et al., 2002; Niemand et al., 2003). Bu veriler, kinazlar, fosfatazlar ve diğer enzimlerin sitokin reseptörlerinin yakınında toplanabileceğini ve işlevlerini etkileyebileceğini iddia eder. Bu yeterince anlaşılmamış yolların, çakışan TLR, TNF- $\alpha$  ve IL-1R sinyallemesinin etkili olduğu inflamatuvar tepkiler sırasında önemli etkileri olabileceği düşünülmektedir.

#### **2.4 Tofasitinib (TOFA)**

Sitokinler, farklı tipte reseptörler ve farklı sinyal modları kullanır (O'Shea et al., 2013). Büyük bir alt grup, tip I ve tip II sitokin-reseptör süper ailesi, çeşitli sitokinleri bağlayan reseptörleri kapsar (O'Shea et al., 2013). Sitokin bağlanması, JAK1, JAK2, JAK3 ve tirozin kinaz 2 (TYK2) olmak üzere dört sitoplazmik tirozin kinazdan oluşan JAK'ları aktive eder. Aktive edilmiş JAK'lar sırayla fosforile eder ve böylece sinyal

transdüseri ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) ailesinin üyelerini aktive eder. Aktive edilmiş STAT'lar çekirdeğe yer değiştirir ve genlerin ekspresyonunu düzenler (Vaddi et al., 2012; O'Shea et al., 2013). Bu nedenle JAK'lar, immün hücre aktivasyonu, proinflamatuvar sitokin üretimi ve sitokin sinyalleme için kritik öneme sahiptir (Vaddi et al., 2012; O'Shea et al., 2013). Sonuç olarak, JAK-STAT yolu ve bu yolu kullanan sitokinler, immün aracılı hastalıktan kansere kadar çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde kritik roller oynamaktadır (O'Shea et al., 2013). CP-690,550 olarak da bilinen ve başlangıçta tasocitinib olarak adlandırılan TOFA, JAK'ları inhibe eden yeni bir oral moleküldür (Vaddi et al., 2012). İlaç, organ allogreft reddinin önlenmesi ve inflamatuvar otoimmün hastalıkların tedavisi için bir immünosupresif ajan olarak geliştirilmiştir (Vaddi et al., 2012). İkinci açıdan, TOFA, RA için sınıfının ilk JAK inhibitörüdür (O'Shea et al., 2013).

#### **2.4.1 Kimya**

TOFA, piperidin içeren bir baş grubu ve bir siyanoasetamid yan zinciri olan pirolopirimidin bazlı bir moleküldür (Vaddi et al., 2012). Kimyasal adı 3-(3R,4R)-4-metil-3- [metil (7H-pirrololo[2,3-d] pirimidin-4-il) amino] piperidin-1-il)-3 oksopropionitril'dir (Flanagan et al., 2010). Biyolojik DMARD'lardan farklı olarak TOFA, oral doza izin veren düşük moleküler ağırlıklı bir kimyasal bileşiktir (Vaddi et al., 2012).

#### **2.4.2 Farmakodinamik**

TOFA, JAK ailesinin seçici bir inhibitörü olarak kabul edilir, çünkü diğer kinazlar üzerinde hemen hemen hiçbir etkisi yoktur (Vaddi et al., 2012; O'Shea et al., 2013). İnsan tahlillerinde TOFA, JAK'lara karşı nanomolar etki göstermiştir ve güçlü bir şekilde JAK3 ve JAK1'i ve daha az bir ölçüde JAK2'yi inhibe etmiştir. JAK3, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 ve IL-21 için ortak bir reseptör alt birimi olan ortak IL-2R $\gamma$  zincirine (g-zinciri) yapısal olarak bağlanır (Vaddi et al., 2012; O'Shea et al., 2013). Bu nedenle JAK3, öncelikle immün yanıtlar için önemlidir (O'Shea et al., 2013). Tersine, JAK1 ve JAK2, konak savunması ve hematopoezden büyüme ve nöral gelişime kadar değişen rollerle geniş işlevlere sahiptir (O'Shea et al., 2013).

JAK1, G zinciri sitokinleri, IL-6 ailesi, IL-10, IL-13, IL-22, granülosit koloni uyarıcı faktör ve interferonlar (INF'ler) ile ilişkilidir (O'Shea et al., 2013). Özetle, TOFA, RA patogeneğinde önemli bir rol oynayan çoklu sitokinlerle etkileşime girer

(Vaddi et al., 2012). Bu bulgularla uyumlu olarak, TOFA, RA'nın hayvan modellerinde enflamasyon ve eklem hasarında doza bağılı olarak önemli bir azalmaya yol açmıştır (Ghoreschi et al., 2011; Milici et al., 2008; LaBranche et al., 2012). Fare kollajeninin neden olduğu artritteki etkinlik hem JAK1 hem de JAK3 sinyal yollarının inhibisyonu ile koreledir, bu da TOFA'nın anti-inflamatuar aktivitesi için sadece JAK1 ve JAK3 inhibisyonunun gerekli olduğunu düşündürür (Ghoreschi et al., 2011). Sıçan adjuvanının neden olduğu artrit, TOFA, osteoklast aracılı artritlik eklem yapısal hasarını baskıladı: bu etki, insan osteoklastları ve T lenfositleri kullanılarak daha fazla araştırıldığında, nükleer faktör-kB ligand (RANKL) üretiminin azalmış reseptör aktivatörüne ikincil olarak ortaya çıktı (LaBranche et al., 2012). İlginç bir şekilde, JAK-STAT yolunun, sağlıklı deneklerin ve osteoartrit veya spondiloartriti olan hastaların sinoviyumu ile karşılaştırıldığında aktif artritli hastaların sinoviyumunda yüksek oranda eksprese edildiği bulunmuştur (Walker et al., 2006). Aktif RA'lı hastaların sinoviyum ve periferik kanından kaynaklanan aktive CD4+ T hücrelerinin TOFA tedavisi, doza bağımlı bir şekilde IL-17 ve INF-g üretimini ve bu hücrelerin proliferasyonunu doğrudan baskılamıştır (Maeshima et al., 2012). Ayrıca TOFA, CD4+ T hücrelerinin inhibisyonu yoluyla dolaylı bir şekilde sinovyal fibroblastlar tarafından IL-6 üretimini ve CD14+ monositleri tarafından IL-8 üretimini inhibe etti (Maeshima et al., 2012). Başka bir deyişle, TOFA'nın esas olarak CD4+ T hücreleri üzerinde etki gösterdiği ve ardından hücre proliferasyonunu ve inflammatuar sitokinlerin üretimini baskıladığı görülmüştür (Maeshima et al., 2012). Ayrıca, TOFA, RA sinovyal dokusundan izole edilen TNF ile uyarılan fibroblast benzeri sinoviyositler tarafından lenfosit çeken birkaç kemokinin ekspresyonunu inhibe ederek, T hücrelerinin ve diğer infiltratör lökositlerin toplanmasını sınırladı (Rosengren et al., 2012). Son olarak, TOFA diğer bağışıklık hücrelerini, özellikle de JAK'ları eksprese eden ve RA patogeneğinde rol oynayan B hücreleri ve mast hücrelerini hedef alabilir (Maeshima et al., 2012). Birlikte ele alındığında, bu veriler TOFA'nın RA'lı hastalarda sinovyal inflamasyonu azaltma ve eklemlerin yapısal hasarını önleme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan, JAK'ların inhibisyonu, enfeksiyonlar, anemi ve nötropeni ve lipid düzeylerindeki artışlar dahil olmak üzere ilaca bağılı AE'lerin olası bir nedenidir (O'Shea et al., 2013).

### **2.4.3. Farmakokinetik ve Metabolizma**

TOFA, pik konsantrasyonuna (Tmax) 0,5 -1 saatlik bir süre ve %74'lük bir oral mutlak biyoyararlanım ile gastrointestinal kanaldan hızlı ve iyi bir şekilde emilir (Advisory Committee Briefing Document, 2012; FDA's Center for Drug Evaluation and Research, 2013; Lawendy et al., 2009; Cohen et al., 2010). TOFA'nın yüksek yağlı bir yemekle birlikte oral uygulaması, açlık koşullarında elde edilenden yaklaşık %30 daha düşük bir maksimum plazma konsantrasyonu (Cmax) ile sonuçlanmıştır (Advisory Committee Briefing Document, 2012). Bununla birlikte, plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi (AUC) altındaki alanda hiçbir değişiklik olmamıştır, bu da gıda varlığının TOFA absorpsiyonunun kapsamı üzerinde hiçbir etkisi olmadığını gösterir (Advisory Committee Briefing Document, 2012). Buna göre, klinik çalışmalarda TOFA yemekten bağımsız olarak uygulandı (Advisory Committee Briefing Document, 2012). Plazma proteinlerine yaklaşık %40 bağlanması göz önüne alındığında, TOFA'nın, protein bağlanma bölgelerinden ilaç yer değiştirmeleri nedeniyle farmakokinetik etkileşimler için herhangi bir tehlike oluşturması olası değildir (Advisory Committee Briefing Document, 2012; FDA's Center for Drug Evaluation and Research, 2013). İntravenöz uygulamadan sonra dağılım hacmi % 87 'dir. TOFA, plazma ve kırmızı kan hücreleri arasında eşit olarak dağılır. Ortalama eliminasyon yarı ömrü (T1/2) ~ 3 saat ve görünen oral klerensi (Cl/F) ~ 22 l/h'dir (Advisory Committee Briefing Document, 2012; FDA's Center for Drug Evaluation and Research, 2013; Lawendy et al., 2009; Cohen et al., 2010). Metabolizma, TOFA'nın toplam klerensinin %70'ini oluşturur; kalan %30'u renal filtrasyon ve ana ilacın salgılanmasından sonra idrarla atılır (Advisory Committee Briefing Document, 2012; FDA's Center for Drug Evaluation and Research, 2013). Kararlı durum konsantrasyonları, TOFA tabletlerinin günde iki kez uygulanmasından sonra minimum birikim 24-48 saat içinde elde edilir. Genel olarak, TOFA'nın farmakokinetiği doğrusaldır ve sistemik maruziyette dozla orantılı artışlara yol açar (Advisory Committee Briefing Document, 2012). RA'lı hastalarda, EAA'daki denekler arası değişkenlik orta düzeydedir (yüzde değişkenlik katsayısı %27) (Advisory Committee Briefing Document, 2012). Vücut ağırlığı, cinsiyet, etnik köken ve yaş, TOFA'nın farmakokinetiğini etkilemez (Advisory Committee Briefing Document, 2012; FDA's Center for Drug Evaluation and Research, 2013). Öte yandan, böbrek yetmezliği TOFA maruziyetinde klinik olarak anlamlı artışlara neden olabilir (Advisory Committee Briefing Document, 2012; FDA's Center for Drug Evaluation and Research, 2013; Lawendy et al., 2009; Cohen et al., 2010; Chow et

al., 2009). Bu nedenle, orta veya şiddetli böbrek yetmezliği olan hastalarda önerilen günlük dozu yarıya indirmek gerekir (yani, tahmini kreatinin klerensi  $\leq 50$  ml/dak). Bununla birlikte, başlangıçta kreatinin klerensi  $<40$  ml/dk olan RA hastalarında TOFA'nın çalışılmadığı vurgulanmalıdır (Advisory Committee Briefing Document, 2012; FDA's Center for Drug Evaluation and Research, 2013).

TOFA (6.2 mg/kg) ile günde bir kez ve 29 gün boyunca tedavi edilen adjuvan kaynaklı artritli sıçanlarda tedavi sonrası ölçülen ortalama pençe çapında tedavi edilmeyen sıçanlara göre anlamlı bir azalma olduğu bulundu ve çalışma sonunda serum CRP seviyelerinde TOFA ile tedavi edilen grupta tedavi edilmeyen gruba göre önemli bir düşüş olduğu bulunmuştur. Tedavi edilmeyen sıçanlar daha yüksek bir histolojik inflamatuvar skora ( $3,83 \pm 0,11$ ) sahipken, TOFA ile tedavi edilen sıçanların inflamasyon skoru anlamlı ölçüde daha düşük ( $0,66 \pm 0,27$ ) olduğu görülmüştür (Gertel et al., 2017).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2018/47 sayılı izni ile yapılan yüksek lisans tez çalışmamıza, ağırlıkları  $337\pm 18$  gr olan Wistar albino cinsi 24 adet erkek sıçan ile başlandı ancak daha sonra kontrol grubunda aşırı nöbete bağlı olarak ölen 7 hayvanın yerine istatistiksel analizi bozmayacak şekilde 5 yeni hayvan daha tutuşturularak kontrol grubuna eklendi. Sıçanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden (OMÜ-DEHAM) alınarak kayıtların alınacağı OMÜ-DEHAM'a bağlı Tıp Fakültesi Farmakoloji-Fizyoloji Anabilim dalı hayvan bekletme odasına getirildi. Hayvanların 1 hafta boyunca ortama alışmaları sağlandı.

#### 3.2. Deney Grupları

Hayvanlar ortama alıştıktan sonra rastgele iki gruba ayrıldı.

**1. Kontrol (n=16):** Hayvanlar tutuşana kadar her gün sabah saat 12:00 da TOFA'nın çözücüsü %1'lik metilselüloz enjekte edildi. Bir saat sonrasında 35 mg/kg i.p. PTZ enjekte edildi.

**2. TOFA-tutuşma grubu (n=8):** Hayvanlar tutuşana kadar her gün sabah saat 12:00 da %1'lik metilselüloz içinde 5 mg/kg i.p. TOFA enjekte edildi. Bir saat sonrasında 35 mg/kg i.p. PTZ enjekte edildi.

Tutuşma prosedürü tamamlandıktan ve ECoG kayıtları için elektrotlar yerleştirildikten sonra kontrol grubu rastgele sham grubu (n=7) ve TOFA-tedavi (n=7) olmak üzere 2 gruba ayrıldı.

**3. Sham grubu (n=7):** Tutuşma oluşan hayvanlarda 0. Gün %1'lik metilselüloz uygulandıktan sonra PTZ ile akut epilepsi oluşturuldu ve 7 gün boyunca %1'lik metilselüloz uygulandı; 7. Gün PTZ ile epileptik nöbet oluşturuldu.

**4. TOFA-tedavi grubu (n=7):** Tutuşma sağlanan hayvanlarda 0. Gün 5mg/kg TOFA enjekte edildikten bir saat sonra PTZ ile akut epilepsi oluşturuldu ve 7 gün boyunca 13:00 da 5 mg/kg TOFA i.p. olarak enjekte edildikten bir gün sonra tekrar PTZ ile epileptik nöbet oluşturuldu.

### 3.3. İlaçlar ve Uygulama Yolları

Pentilentetrazol (PTZ)

Formül: C<sub>6</sub> H<sub>10</sub> N<sub>4</sub> (P6500 Sigma-Aldrich)

Molekül Ağırlığı: 138,17 g/mol

Uygulama şekli: 35 mg/kg dozda, 0.1 mL hacimde intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Steril izotonik solüsyonda (SF) çözüldü.

TOFA

Formül: C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>N<sub>6</sub>O•C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>

Molekül Ağırlığı: 504,5 Da

Uygulama şekli: 5 mg/kg dozda %1'lik metilselüloz da çözülerek i.p. olarak uygulandı.

### 3.4. Elektrokortikogram (ECoG) Kaydı

#### 3.4.1. ECoG Kaydı İçin Elektrotların Yerleştirilmesi

Operasyondan 1 gün önce aç bırakılan hayvanlar ketamin/ksilazin (90/10 mg/kg) ile anestezi altına alındılar. Kornea ve pençe refleksleri ile anestezinin derinliği kontrol edildi. Anestezi uygulanan sıçanların kafa derileri tıraş edilerek, stereotaksi cihazına sabitlendi. Sonra kafa derisi rostrocaudal doğrultuda 3 cm'lik bir insizyonla açıldı ve deri katlanarak kafatası ortaya çıkarıldı. Kemik üzerindeki zar temizlendikten sonra bregma saptandı. Bregma referans noktası kabul edilerek belirlenen koordinatlara (pozitif: anterior; 4 mm, sol lateral; +3 mm; negatif: posterior; 4 mm, sol lateral; +3 mm; toprak: posterior; 4 mm, sağ lateral; +3 mm) el drilli kullanılarak, 1 mm genişliğinde matkap ucu ile 3 delik açıldı. Bu deliklere ECoG kaydı için, beyin zarlarına temas edecek şekilde paslanmaz çelikten 3 adet vida yerleştirildi (Şekil 3.1.a) Hazırlanan tripolar elektrot, bu vidalara sarılarak dental akrilik ile kafatasına sabitlendi.

Cerrahiden sonra enfeksiyonu önlemek için hayvanlara 3 gün boyunca günde 2 kez olmak üzere sultamisilin (50 mg/kg; i.p.) enjekte edildi. Uygulanan bu cerrahi işlemten sonra sıçanlar tekli kafeslerde 1 hafta dinlenmeye bırakıldı.



Şekil 3.1. a) Tripolar elektrodun sabitlenmesi için vida takılması işlemi. b) Elektrot takılmış hayvandan EEG kaydı alınması esnasında çekilen görüntü.

### 3.4.2. İlaç Enjeksiyonu ve ECoG Kaydı

İlk aşamada 24 sıçan rastgele olarak 2 gruba ayrılmıştır [Kontrol (n:16), TOFA tutuşma grubu(n:8)].

Kontrol grubuna sıçanlar tutuşana kadar haftada 3 kez (Pazartesi, Çarşamba, Cuma) 20 enjeksiyon boyunca (tutuşanlara devam edilmemek koşuluyla) 12:00 da %1'lik metilselüloz i.p. olarak, 13:00'da 35 mg/kg PTZ i.p. olarak enjekte edildi. Tutuşma tamamlandıktan sonra tutuşan sıçanların kafatasına elektrot takıldı. Elektrot takılması işleminden 1 hafta sonra, hayvanlara rastgele olarak iki ayrı gruba ayrılmıştır (Sham grubu ve TOFA-tedavi grubu).

TOFA-tutuşma grubuna sıçanlar tutuşana kadar haftada 3 kez (Pazartesi, Çarşamba, Cuma) 20 enjeksiyon boyunca (tutuşanlara devam edilmemek koşuluyla) 12:00 da %1'lik metilselülozda çözünen 5 mg/ kg TOFA i.p. olarak, 13:00 `da 35 mg/kg PTZ i.p. olarak enjekte edildi.

Kontrol grubu ve TOFA-tutuşma gruplarında PTZ enjeksiyonları sonrasında nöbet davranışları evrelendi. Aynı zamanda tutuşma sayıları birbirleriyle karşılaştırıldı.

Sham grubuna (n:7) 1 hafta iyileşme periyodundan sonra (0. Gün) 12:00 da %1`lik metilselüloz ve 13:00`da i.p. olarak PTZ verilerek 30 dakika ECoG kaydı alınmıştır ve 7 gün boyunca günde bir defa olmak üzere saat 12:00 da %1`lik metilselüloz verilip 7. Gün 13:00`da PTZ verilerek hayvanlara yerleştirilmiş jak çıkışına, jak girişi takıldı ve bu giriş PowerLab veri kazanım sistemine bağlanarak beyinden 30 dakika bazal ECoG kaydı alındı (Şekil 3.1.b).

TOFA-tedavi grubuna (n:7) 1 hafta iyileşme periyodundan sonra (0. Gün) 12:00 da %1`lik metilselülozda çözünen 5 mg/kg i.p. olarak TOFA verildi ve 13:00`da PTZ verilerek 30 dakika ECoG kaydı alınmıştır ve 7 gün boyunca günde bir defa olmak üzere saat 12:00 da %1`lik metilselülozda çözünen 5 mg/kg i.p. olarak TOFA verilip 8. Gün 13:00`da PTZ verilerek hayvanlara yerleştirilmiş jak çıkışına, jak girişi takıldı ve bu giriş PowerLab veri kazanım sistemine bağlanarak beyinden 30 dakika bazal ECoG kaydı alındı.

PTZ enjeksiyonları sonrasında nöbet davranışları evrelendi. Elde edilen spike dalgaları bilgisayara kaydedildi ve off-line olarak analiz edildi.

### **3.5. Davranışsal Analiz**

PTZ enjeksiyonundan itibaren 30 dakika hayvanlar aşağıda verilen Fischer ve Kittner'in (Fischer ve Kittner, 1998) nöbet skalasına göre değerlendirildi.

#### **FISCHER & KITTNER NÖBET SKALASI**

Evre 0: Nöbet aktivitesi yok

Evre 0.5: Zayıf baş sallama

Evre 1: Kulak, yüz ve göz kapağı seğirmeleri

Evre 1.5: Ön ekstremitelerde ılımlı klonik aktivite

Evre 2: Miyoklonik vücut jerkleri, yükselme olmaksızın klonik ön ekstremitte konvülsiyonları

Evre 2.5: Sık klonik ön ekstremitte konvülsiyonları, kısa süreli (tam olmayan) yükselme

Evre 3: Tam yükselme ile birlikte ciddi bilateral ön ekstremitte klonusu ( $\geq 10$  sn)

(Kanguru pozisyonu) Evre 3.5: Ciddi bilateral ön ekstremitte klonusuna ek olarak yükselme ve düşme

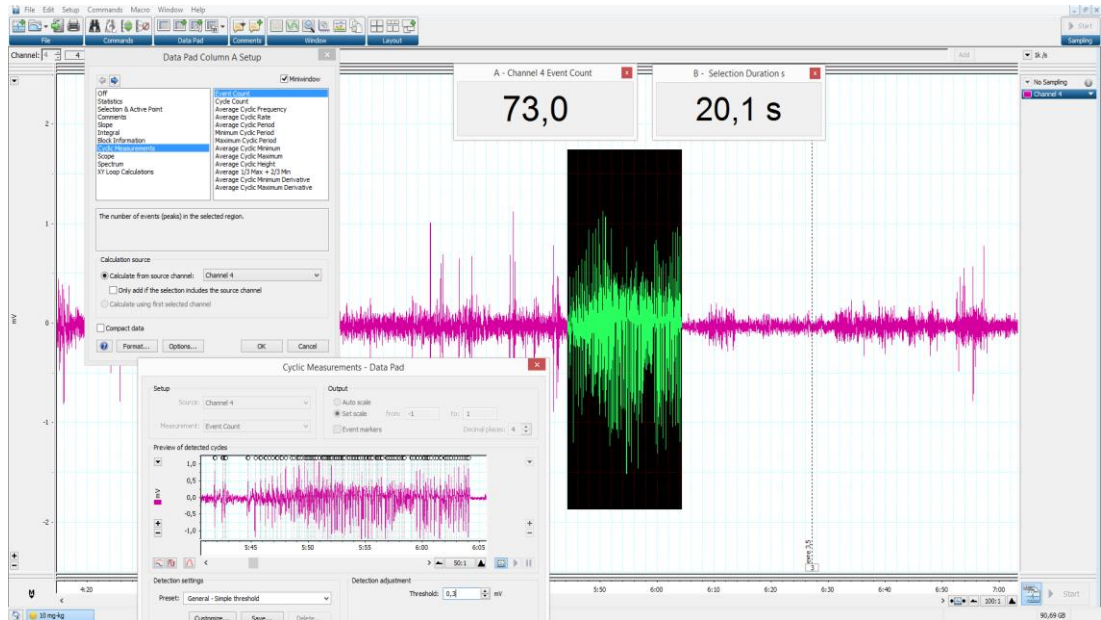
Evre 4: Yükselme-düşme epizotları veya sıçramalarla birlikte jeneralize klonik konvülsiyonlar

Evre 4.5: Düzeltme refleksinin kaybı ile birlikte jeneralize klonik-tonik nöbetler (ön ekstremitenin tonik ekstensiyonu)

Evre 5: Generalize klonik-tonik nöbetler ve status epilepticus ( $\geq 2$  dakika)

### 3.6. Elektrokortikogram Analizi

Powerlab veri kazanım sistemi aracılığıyla bilgisayara kaydedilmiş olan epileptiform aktivite (ECoG kayıtları) offline olarak ilk myoklonik jerk latansı, toplam spike sayısı ve jeneralize tonik-klonik nöbet süresi parametreleri açısından LabChart v 7.0.3 (Powerlab, ADInstruments, Avustralya) programı yardımıyla analiz edildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Labchart-7 programında analiz görüntüsü

### 3.7. İstatistiksel Analiz

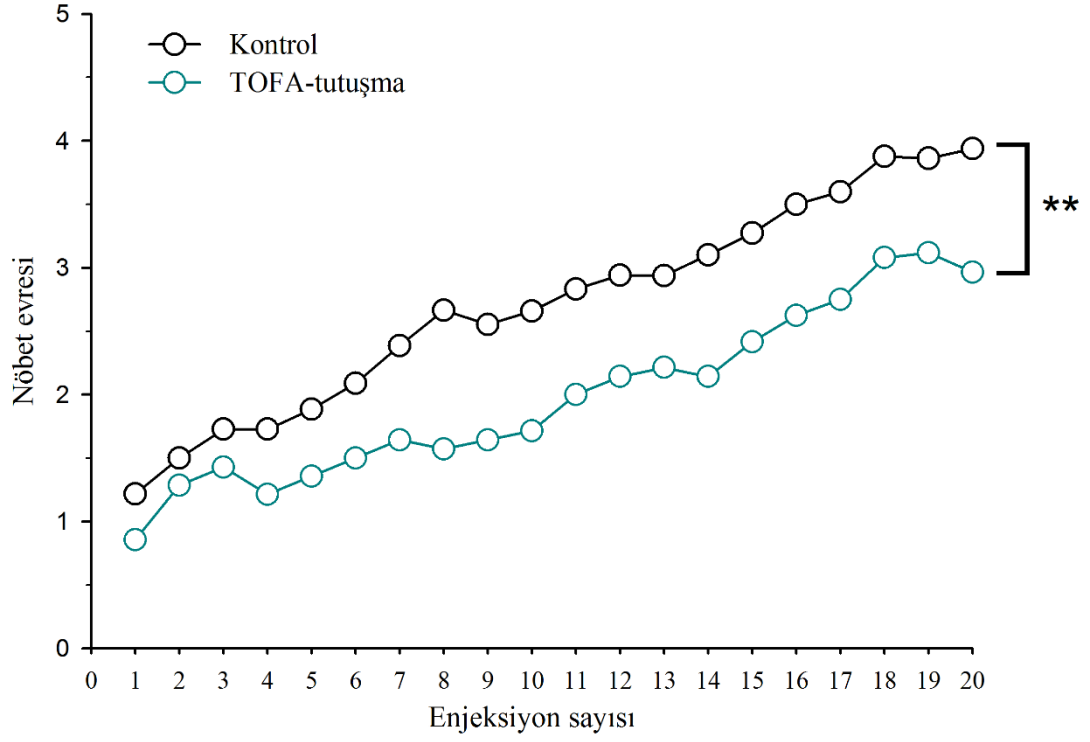
Elektrofizyolojik analizlerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde Graphpad prism-8 programı kullanıldı (Graphpad software, Inc, California). İlk olarak elde edilen verilerinin normal dağılıma uyup-uyumadığını belirlemek için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Normal dağılıma uyan verilerin analizinde bağılı ve bağımsız değişkenli t-testi kullanıldı. Normal dağılıma uymayanlar için ise, Mann-Whitney U testi ve Wilcoxon bağımlı iki örnek testi kullanıldı.  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

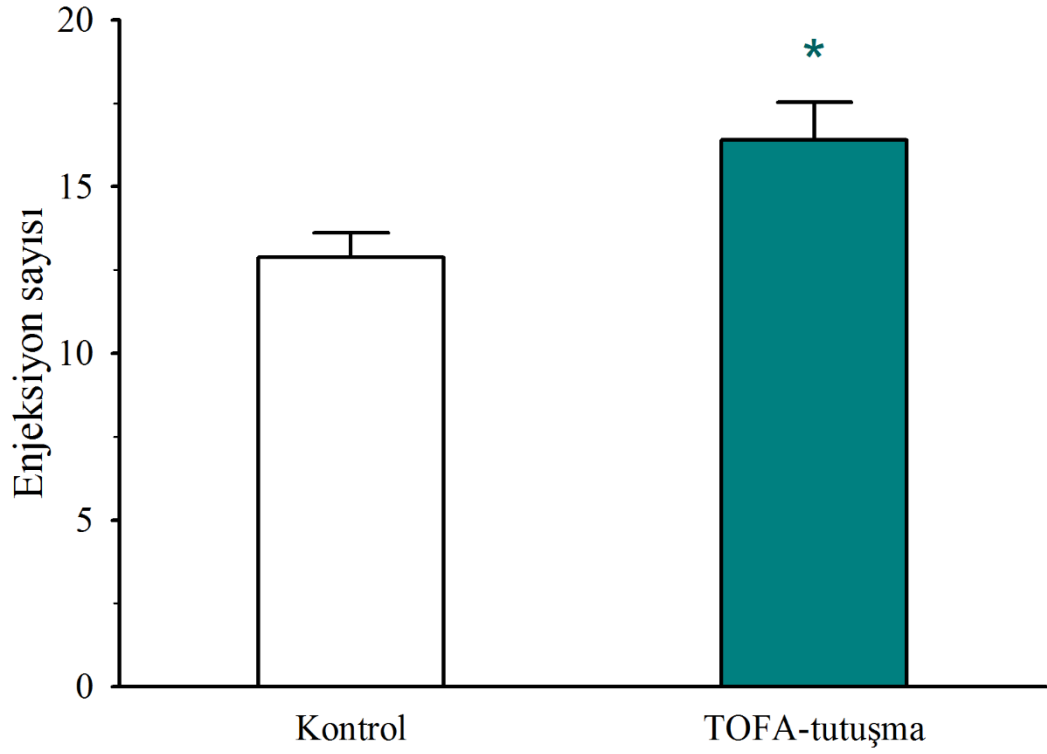
### 4.1. TOFA'nın (5 mg/kg) Tutuşmaya Etkisi

Deneyde kullanılan hayvanlar bir hafta boyunca ortama alışmaları için OMÜ-DEHAM'a bağlı Tıp Fakóltesi Fizyoloji Anabilim dalı hayvan odasında bekletildi. Deneyin ilk aşamasında toplamda 24 hayvan 2 gruba ayrıldı. Bütün hayvanlar tutuşana kadar 20 enjeksiyon yapıldı. 1. Grup Kontrol grubuna (n=16) ise tutuşturma esnasında 35 mg /kg PTZ verilmeden bir saat önce TOFAin çözücüsü olan %1`lik metilselüloz verildi ve PTZ verildikten sonra 30 dakika boyunca cam kafeslerde gözlemlendi, nöbet geçiren hayvanların nöbet evreleri not edildi. 2. Grup TOFA tutuşma grubuna (n=8) tutuşturma esnasında 35mg/kg PTZ verilmeden bir saat önce 5 mg/kg TOFA verildi ve PTZ verildikten sonra 30 dakika boyunca cam kafeslerde gözlemlendi, bu esnada nöbet geçiren hayvanların nöbet evreleri not edildi. TOFA-tutuşma grubundan 3 hayvanda tutuşma meydana gelmezken ölen hayvan olmadı. Kontrol grubundan tutuşturma esnasında tutuşmayan 3 hayvan ve ölen 4 hayvan yerine tutuşturma protokolü uygulanan 5 hayvan daha çalışmaya dahil edilerek tutuşma grubu 14 hayvana tamamlandı.

TOFA-tutuşma grubu ve kontrol grubu nöbet evreleri ve tutuşma enjeksiyon sayısı açısından karşılaştırılarak analiz edildi (şekil 4.1). Nöbet evreleri karşılaştırıldığında TOFA-tutuşma grubunun 20 enjeksiyon sonrasındaki ortalama nöbet evresi kontrol grubundan daha düşük olarak bulundu ( $p<0,05$ ). TOFA-tutuşma grubunun ortalama nöbet evresi  $1,98 \pm 0,15$  iken, kontrol grubunda  $2,71 \pm 0,19$  olarak saptandı (şekil 4.1). PTZ uygulamasından bir saat önce uygulanan TOFA tutuşma için gerekli olan enjeksiyon sayısını anlamlı olarak azalttı ( $p<0,05$ ). Tofa tutuşma grubunda tutuşma için gerekli enjeksiyon sayısı  $16,4 \pm 1,1$  iken kontrol grubunda enjeksiyon sayısı  $12,8 \pm 0,73$  olarak bulundu (şekil 4.2).

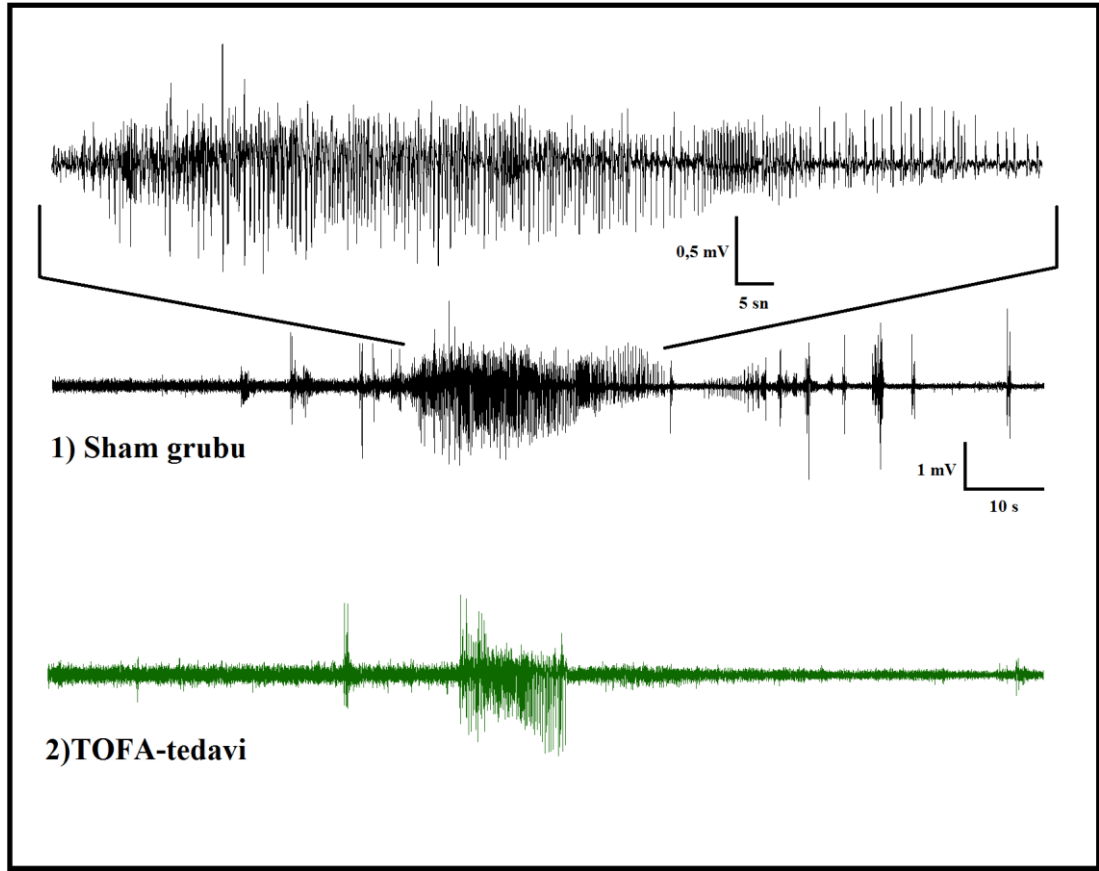


Şekil 4.1. Kontrol grubunun ve TOFA-tutuşma grubunun tutuşma esnasındaki nöbet evreleri.  
\*\*p<0,01 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında.



Şekil 4.2. Kontrol grubunun ve TOFA-tutuşma grubunun tutuşma için gereken enjeksiyon sayıları  
\*p<0,05 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında.

Deneyin ikinci aşamasında tutuşan 14 hayvan cerrahi işleme alınarak kafalarına tripolar elektrotlar takıldı. Hayvanlar rastgele olarak iki gruba ayrıldı (Sham grubu ve TOFA-tedavi grubu). Sham grubundaki veya TOFA-tedavi grubundaki hayvanlara 0. gün TOFa'nın çözücüsü veya 5 mg/kg TOFA uygulandıktan 1 saat sonra PTZ uygulandı ve ECoG kayıtları elde edildi. Daha sonra aynı hayvanlara 6 enjeksiyon daha uygulandı. Yedinci enjeksiyondan 24 saat sonra her iki gruba da PTZ uygulanarak nöbet davranışı ve ECoG parametreleri (Şekil 4.3) analiz edildi.



Şekil 4.3. Nöbet esnasında sham grubu ve TOFA-tedavi gruplarından elde edilen ECoG kayıt görüntüsü

#### **4.2. Tutuşan Sıçanlara Uygulanan 5 mg/kg TOFA'nın Akut Etkisi**

Akut uygulanan TOFA (5 mg/kg) sham grubuyla karşılaştırıldığında nöbet evresi anlamlı olarak değiştirmede (şekil 4.4). TOFA-tedavi grubunun ortalama akut nöbet evresi  $3,38 \pm 0,16$  iken, sham grubundaki ortalama akut nöbet evresi  $3,75 \pm 0,13$  olarak bulundu.

İlk myoklonik jerk latansı incelendiğinde akut uygulanan 5 mg/kg TOFA, sham grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmadı (şekil 4.5). TOFA-tedavi grubunun ilk myoklonik jerk latansı  $113,13 \pm 11,16$  iken, sham grubunun ilk myoklonik jerk latansı  $98,5 \pm 8,84$  olarak saptandı.

Otuz dakika boyunca elde edilen toplam spike sayısı incelendiğinde akut uygulanan 5 mg/kg TOFA uygulaması sham grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmadı (şekil 4.6). TOFA-tedavi grubunun toplam spike sayısı  $503,13 \pm 48,35$  iken, sham grubunun toplam spike sayısı  $596,63 \pm 36,41$  olarak hesaplandı.

Jeneralize tonik-klonik nöbet süresi incelendiğinde akut uygulanan 5 mg/kg TOFA uygulaması sham grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmadı (şekil 4.7). TOFA-tedavi grubunun Jeneralize tonik-klonik nöbet süresi  $55,63 \pm 6,55$  iken, sham grubunun ilk myoklonik jerk latansı  $69,13 \pm 8,72$  olarak hesaplandı.

#### **4.3. Tutuşan Sıçanlara 1 Hafta Boyunca Uygulanan 5 mg/kg TOFA'nın Etkisi**

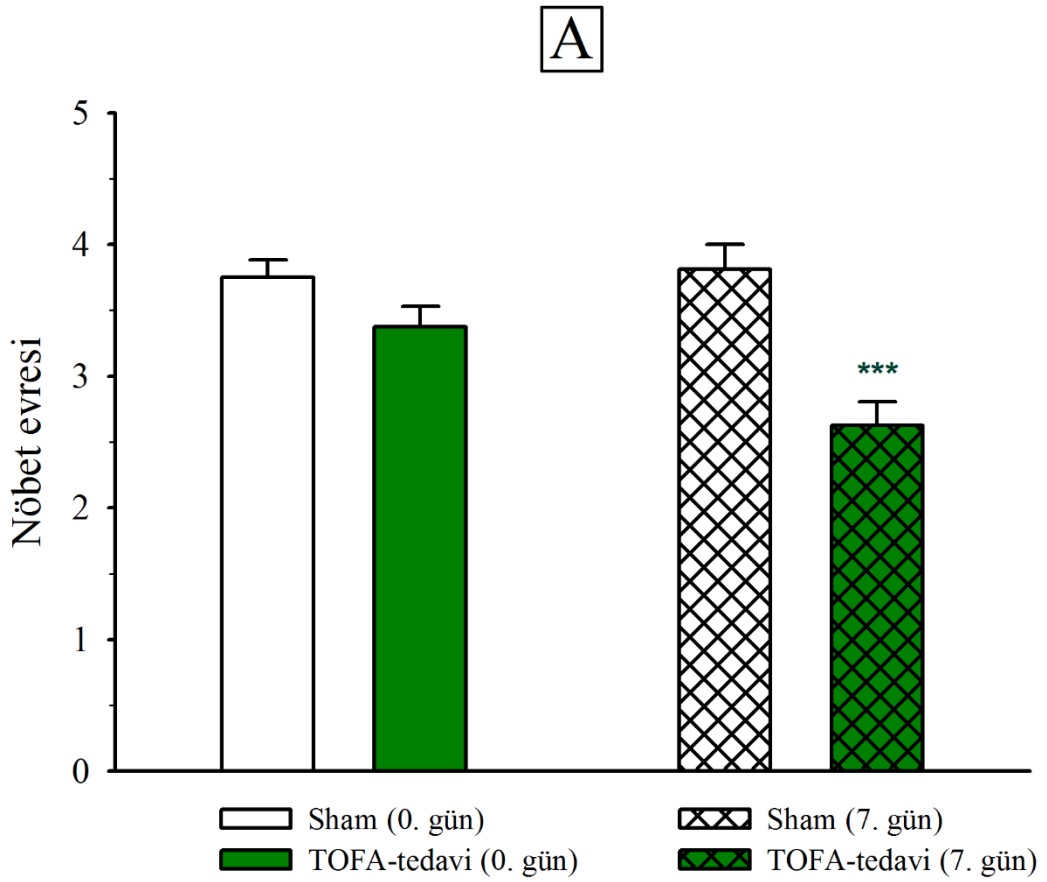
Bir hafta boyunca uygulanan TOFA (5 mg/kg) sham grubuyla karşılaştırıldığında nöbet evresi anlamlı olarak azaldı ( $p < 0,001$ ; şekil 4.4). TOFA-tedavi grubunun ortalama akut nöbet evresi  $2,63 \pm 0,18$  iken, Sham grubundaki ortalama akut nöbet evresi  $3,81 \pm 0,19$  olarak tespit edildi.

Bir hafta boyunca 5 mg/kg TOFA uygulaması ilk myoklonik jerk latansını sham grubuna göre anlamlı olarak artırdı ( $p < 0,05$ ; şekil 4.5). TOFA-tedavi grubunun ilk myoklonik jerk latansı  $148,12 \pm 23,64$  iken, sham grubunun ilk myoklonik jerk latansı  $93,12 \pm 8,81$  olarak saptandı.

Yedi enjeksiyondan sonra toplam spike sayısı incelendiğinde TOFA-tedavi grubunun toplam spike sayısı sham grubuna göre daha az olarak saptandı ( $p < 0,01$ ; şekil 4.6). TOFA-tedavi grubunun toplam spike sayısı  $386,00 \pm 37,66$  iken, sham grubunun toplam spike sayısı  $644,38 \pm 37,66$  olarak hesaplandı.

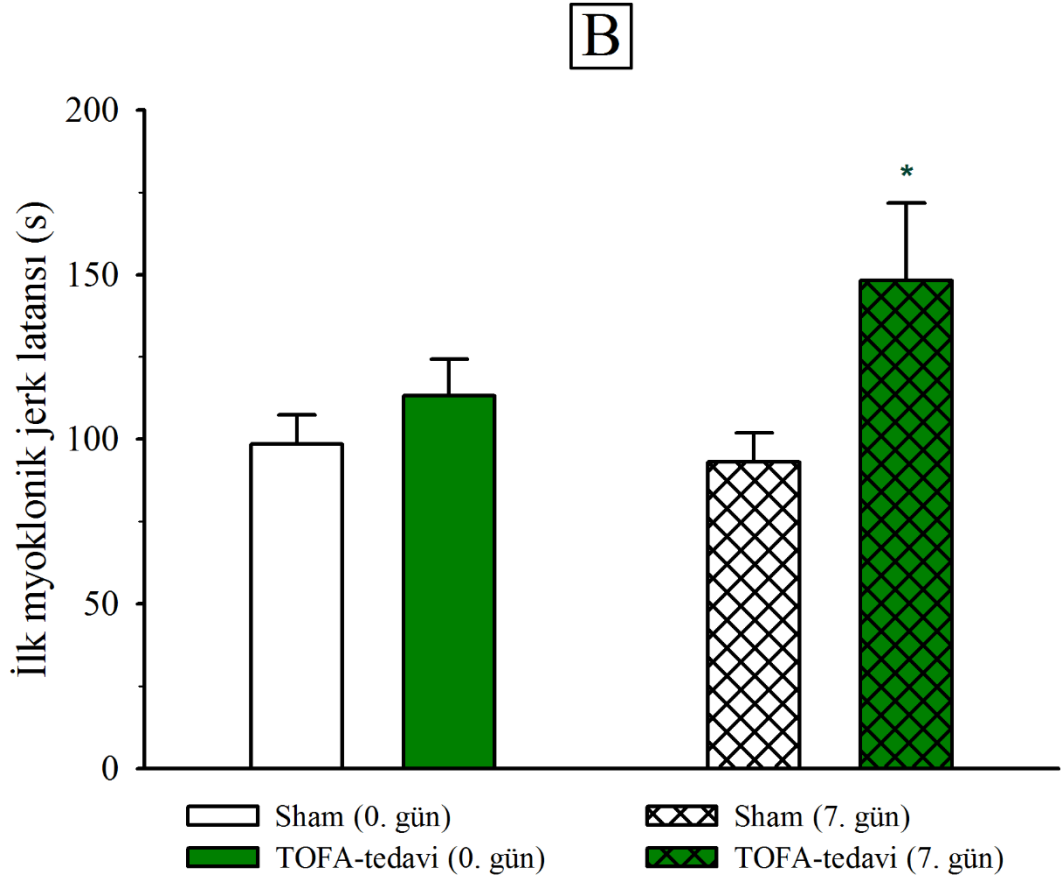
Jeneralize tonik-klonik nöbet süresi incelendiğinde, 1 hafta boyunca uygulanan 5 mg/kg TOFA uygulaması sham grubuna göre jeneralize tonik-klonik nöbet süresini azalttı (Şekil 4.7). TOFA-tedavi grubunun jeneralize tonik-klonik nöbet süresi  $49 \pm 7,33$  iken, sham grubunun ilk myoklonik jerk latansı  $77,75 \pm 10,16$  olarak hesaplandı.

Sham grubunun yedinci günü ile sıfırıncı günü arasında hiçbir parametre açısından fark bulunmadı. Yedi gün TOFA uygulaması ile akut TOFA uygulaması arasında hiçbir parametre açısından anlamlı bir fark yoktu (Şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.7).

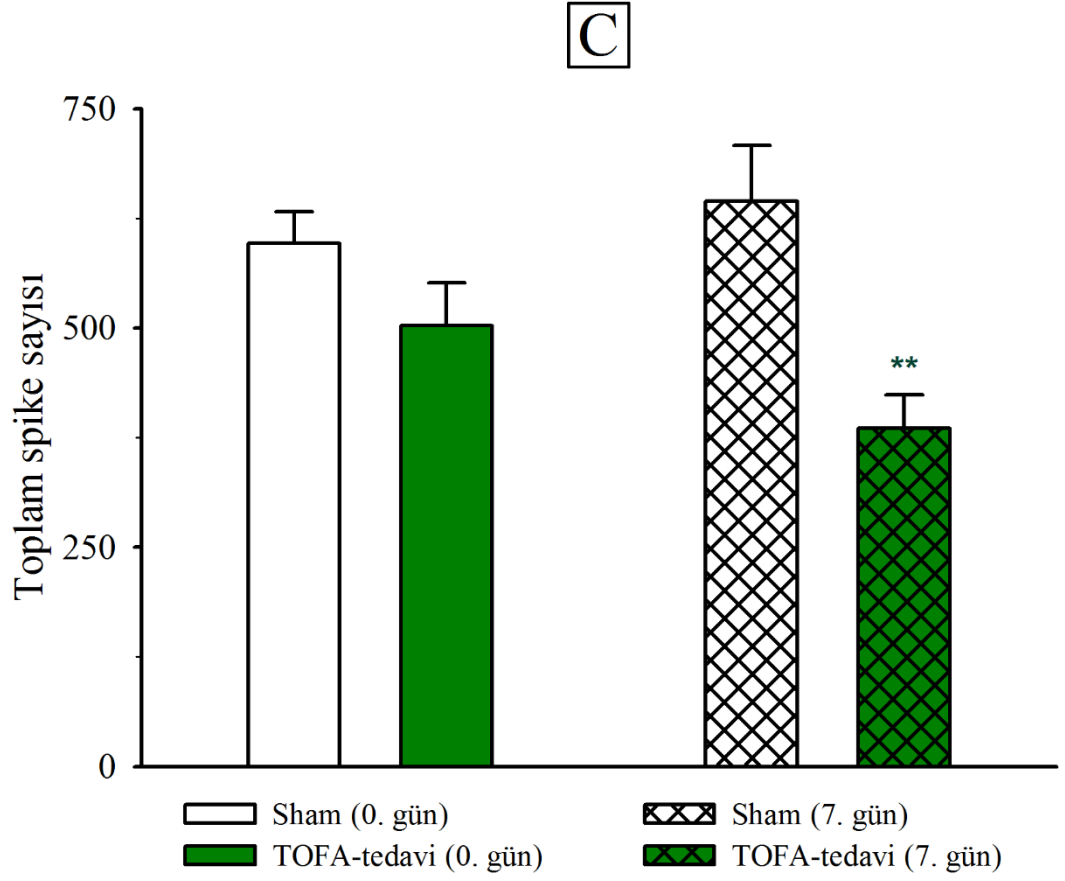


Şekil 4.4. Sham grubu ve TOFA-tedavi gruplarının akut ve 1 hafta ilaç uygulamasından sonra PTZ uygulamasıyla birlikte elde edilen nöbet evreleri.

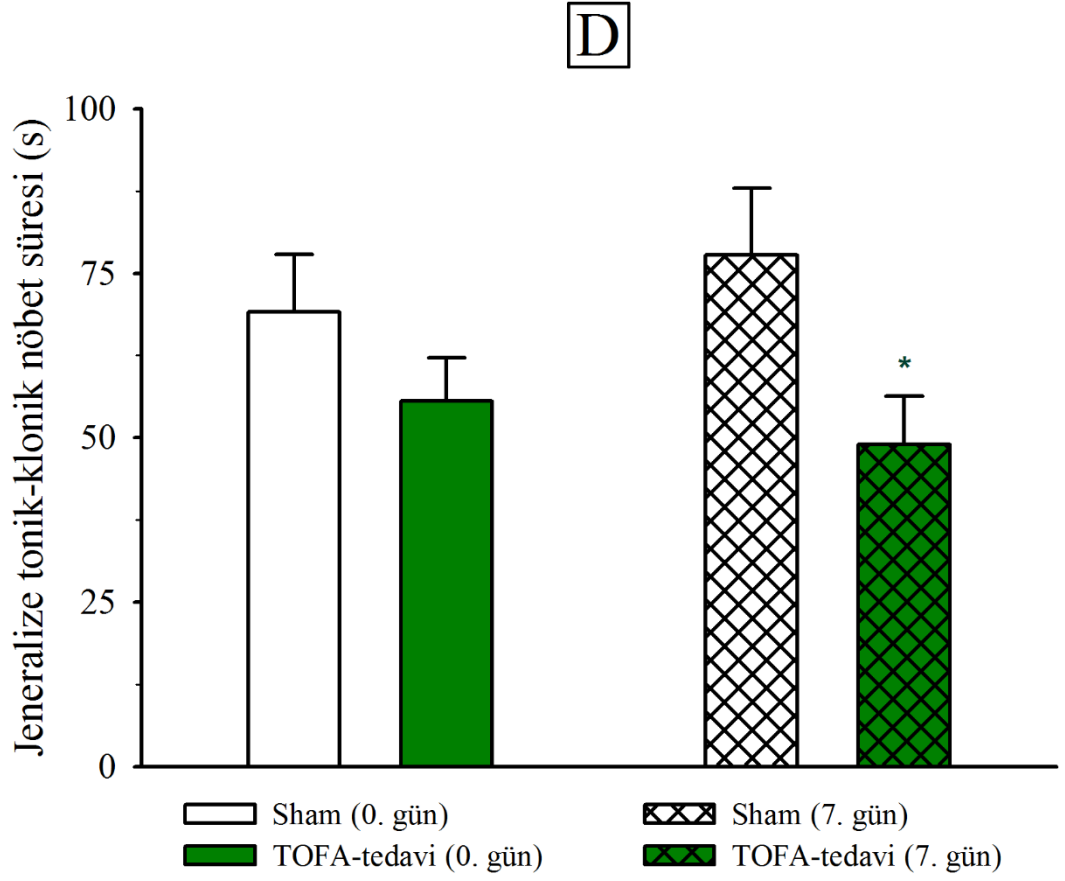
\* $p < 0,001$  sham grubuyla karşılaştırıldığında.



**Şekil 4.5.** Sham grubu ve TOFA-tedavi gruplarının akut ve 1 hafta ilaç uygulamasından sonra PTZ enjeksiyonuyla birlikte elde edilen ilk myoklonik jerk latansı.  
\* $p < 0,05$  sham grubuyla karşılaştırıldığında.



Şekil 4.6. Sham grubu ve TOFA-tedavi gruplarının akut ve 1 hafta ilaç uygulamasından sonra PTZ enjeksiyonuyla birlikte elde edilen toplam spike sayısı.  
\* $p < 0,01$  sham grubuyla karşılaştırıldığında.



Şekil 4.7. Sham grubu ve TOFA-tedavi gruplarının akut ve 1 hafta ilaç uygulamasından sonra PTZ enjeksiyonuyla birlikte elde edilen jeneralize tonik-klonik nöbet süresi.  
\* $p < 0,05$  sham grubuyla karşılaştırıldığında.

## 5. TARTIŞMA

Epilepsi günümüzde henüz patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamayan ve araştırılmaya devam eden yaygın nörolojik hastalıklardan biridir. Epilepsiye yönelik çalışmalar ve tedavi yöntemleri yüzyıllar öncesine kadar uzanmaktadır. Bu hastalığın kimyasal olarak ilk tanımı yapan Thomas Willis; nöbetlerin başlangıcının kaslardan değil beyinden olduğunu keşfederek aynı zamanda nöbet esnasında hafıza kaybı da oluştuğunu açıklamıştır. Yüzyıllar içerisinde epilepsiye dair tanımlamalar ve mekanizmasına ait bilinenler evrim geçirse de, tam olarak tedavi edilemeyen ve çocukluk çağından yaşlılığa kadar her yaş grubundaki insanların yaşam kalitesini ciddi oranda düşüren epilepsi hakkındaki araştırmalar devam etmektedir.

Epileptik bir nöbet esnasında beyinde aşırı anormal veya senkronal bir nöron aktivitesi oluşmaktadır. Bu aşırı nöronal deşarjların nedenlerinden bir tanesi de bizim çalışmamızda epileptik nöbet oluşturmak için kullandığımız (PTZ modeli) GABAerjik sistemin inhibe edilmesidir. GABA-A beyindeki birincil inhibitör nörotransmitter reseptörüdür ve baskılanması ile birlikte nöronlardaki uyarılabilirliğin üzerindeki baskı ortadan kalkarak aşırı deşarj olmalarına ve epileptik nöbetlerin ortaya çıkmasına neden olur (Lavoie et al., 1997; Brooks et al., 1998).

TOFA, JAK3'ün ATP bağlama bölgesine bağlanan ağızdan temin edilebilen bir bileşiktir. Bununla birlikte, son kinom bağlanma haritaları, TOFA'nın sadece JAK3'ü değil aynı zamanda JAK2'yi de inhibe ettiğini ve ayrıca hem JAK1 hem de JAK2'deki ATP bölgesine bağlanabildiğini göstermiştir (Karaman et al., 2008; Williams et al., 2009). Ayrıca, hayvan modellerinde hem JAK1/JAK2'nin IL-6 tarafından hem de JAK1/JAK3'ün IL-15 tarafından aktivasyonu ve ardından ilgili STAT proteinlerinin fosforilasyonu, hayvan modellerinde TOFA tarafından inhibe edildi. Goreschi ve arkadaşları (Ghoreschi et al., 2011) ayrıca TOFA'nın interferon-y (IFN-y) ve IL-6 ve daha az ölçüde IL-12 ve IL-23 tarafından sinyalleme potansiyel olarak inhibe ettiğini bildirdi. Bu nedenle, TOFA şu anda JAK1 ve JAK3'ü ve daha az bir ölçüde TYK2 üzerinde minimum etkiye sahip JAK2'yi tercihen inhibe eden bir pan-JAK inhibitörü olarak kategorize edilmektedir. TOFA'nın *in vivo* etkinlikleri, başlangıçta, bir murin heterotropik kalp transplantasyon modelinde ve TOFA monoterapisi ile greft sağkalımının uzatılmasıyla insan dışı bir primat böbrek transplantasyonu modelinde transplant reddinin önlenmesiyle gösterilmiştir (Changelian et al., 2003). TOFA ile tedavi edilen kemirgen aort transplantasyon modeli ve insan dışı

primat böbrek transplantasyonu modeli ile yapılan ek çalışmalar da greft sağkalımının önemli ölçüde arttığını göstermiştir (Borie et al., 2005; Rousvoal et al., 2006).

TOFA'nın artrit hayvan modeli üzerindeki etkisi *in vivo* olarak murin kollajen kaynaklı artrit (CIA), sıçan adjuvan kaynaklı artrit ve K/BxN serum transfer artritini ile değerlendirilmiştir (Rousvoal et al., 2006). TOFA'nın hastalık başlangıcında uygulanması, inflamatuvar hücre akışını ve eklem hasarını önemli ölçüde azaltmıştır. TOFA, yerleşik bir murin CIA'sına uygulandığında, JAK1 ve JAK3 sinyal yollarının inhibisyonu ve eklemde Stat1'e bağlı gen ekspresyonunun baskılanması yoluyla artrit ve inflamasyon hızla iyileştirilmiştir. Ayrıca, TOFA, IFN- $\gamma$  ve STAT1'e bağlı olduğu bilinen bir model olan *in vivo* LPS'ye akut yanıtı azaltmıştır (Ghoreschi et al., 2011). Bu sonuçlar, TOFA'nın JAK1 ve JAK3'ü, ardından STAT1'i ve TOFA'nın anti-inflamatuvar etkisinin verimli bir şekilde yayılmasına katkıda bulunan Stat1 ile indüklenebilir genlerin ekspresyonunu etkili bir şekilde inhibe ettiğini gösterir. Çalışmamızda tutuşma esnasında TOFA tutuşma grubundan hiç hayvan ölmezken, PTZ grubun tutuşturma esnasında 4 hayvan ölmüş olması bize TOFA'nın antiinflamatuvar etkilerinin epileptik nöbetlerin beyinde meydana getirdiği hasarı azaltabileceğini ve nöroprotektif etki gösterdiğini düşündürmektedir.

JAK/STAT, JAK ve STAT'ın kombinasyonundan oluşan sinyal yolu olarak bilinir. Bu yol, hücresel çoğalma, farklılaşma, hematopoez, apoptoz, bağışıklık hücresi gelişimi, kök hücre çoğalması, homeostatik süreçlerin düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik işlevlerde görev alır (Ghoreschi et al., 2009). JAK/STAT aynı zamanda nöronun hayatta kalması, ölümü ve sinaptik plastisite ile de ilgilidir (Dedoni et al., 2010; Gupta et al., 2011; Mäkelä et al., 2010; Nicolas et al., 2012). Çalışmalar, JAK/STAT yolunun aktivasyonunun, STAT3 aracılı gen düzenlemesi yoluyla indüklenebilir cAMP erken baskılayıcının (ICER) ekspresyonu ile sonuçlandığını göstermiştir (Hixson et al., 2019a, 2019b; Lund et al., 2008; Raible et al., 2014). Ayrıca ICER, gabra1/GABRA1 geni tarafından kodlanan GABA-A reseptörünün  $\alpha 1$  alt biriminin ekspresyonundan sorumlu geni bastırdığı ve böylelikle GABA-A'nın inhibisyonuna neden olduğu bulunmuştur (Lund et al., 2008).

Çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar, JAK/STAT aktivasyonunun temporal lob epilepsisindeki rolünü ortaya koymuştur. Birçok çalışmaya göre, JAK2/STAT3 yolu, deneysel status epileptikus indükledikten 1 saat sonra hipokampüste aktive olur ve burada STAT3 regüleli geninin aktif olduğu gözlemlenmiştir (Raible et al., 2014). Bu

aktive edilmiş STAT3 genleri, GABA-A reseptör alt biriminde yer almaktadır. Grabenstatter ve ark. sıçan pilokarpın paradigmasında status epileptikus sırasında STAT3 fosforilasyonunu bloke etmenin gelecekteki nöbetlerin şiddetini azalttığını keşfetmiştir (Grabenstatter et al., 2014 ). Ek olarak, JAK/STAT inhibitörü WP1066'nın pilokarpın sıçan epilepsi modelinde latent fazdan sonra spontan nöbetlerin sayısını azalttığı bildirilmiştir ( Grabenstatter et al., 2014). Yaptığımız çalışmada da bu bulgulara benzer olarak 1 hafta boyunca uygulanan TOFA'nın nöbet şiddetini azalttığını ortaya koyduk.

JAK/STAT yolunun, epileptikustan sonra STAT3 fosforilasyonunu artırarak hipokampusta GABA-A reseptör (GABAAR) alt birim  $\alpha 1$  ekspresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (Lund et al., 2008a). A1 alt birimi içeren GABA-A reseptörlerindeki azalmanın, nöbetleri takiben hayvanların hipokampusunda artan hipereksitabiliteyi engellediği düşünülmektedir (Brooks-Kayal et al., 1998; Peng et al., 2004; Zhang et al., 2004; Raol et al., 2006). GABA'nın GABA-A reseptörlerine bağlanması hücre içi kanalların açılmasını sağlayarak klor (Cl) iyonunun hücre içine girmesine izin vermektedir. Bu da nöronal elektriksel aktivitenin hızlı bir şekilde inhibisyonunu sağlamaktadır. GABA-A iletimindeki azalmanın in vitro ortamda memeli neokorteksinde epileptiform aktiviteye neden olduğu çeşitli araştırmalarda gösterilmiştir (Dibbens et al. ,2009). Çalışmamızda da TOFA'nın epileptogenezde gözlemlediğimiz antikonvülzan etkilerinin de JAK ların GABA-A'nın inhibisyonuna neden olan STAT ile bağlantısını engelleyerek üretimini baskıladığından dolayısıyla da GABA inhibisyonu üzerindeki baskının kalkmasından kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Yapılan bir çalışmada; TOFA 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg olmak üzere dört farklı doz intravenöz olarak, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg olmak üzere dört farklı doz ise oral olarak verilmiştir ve plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi (EAA) açısından değerlendirilmiştir. İntravenöz olarak verilen dozların plazma konsantrasyon zaman eğrisinin oral olarak verilen dozlara göre çok daha yüksek olduğu bulunmuştur; buna ek olarak ise intagastrik ve intraduedonal arasında anlamlı olarak bir fark bulunamamıştır. Bu çalışma yine TOFA'nın EAA'sının doza bağlı olduğunu da ispatlamıştır (Ji Sang et al., 2019). Ruihong ve arkadaşları çalışmalarında 1,5 mg/kg ve 5 mg/kg olmak üzere iki farklı TOFA dozu kullanmışlar ve bu dozların antiinflamatuvar etkilerini araştırmışlardır. Bu dozlarda pençe ödeminin hafiflemesi incelendiğinde yüksek dozun antiinflamatuvar etkisi çok az da olsa daha

yüksek olduğu ancak anlamlı bir fark yaratmadığı bulunmuştur (Ruihong et al., 2020). Biz de yapılan çalışmalarda da etkin doz olarak gösterilen 5 mg/kg TOFA'yı intraperitoneal olarak kronik epilepsili olan sıçanlara uyguladık ve bu dozun jeneralize epileptik nöbetleri azalttığını saptadık. Buradan hareketle, romatolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan TOFA, akut olarak etki etmese de kronik epilepsili hastaların uzun süreli tekrarlayan nöbetlerinin azaltılmasında etkili olabilir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada PTZ ile tutuşturulan hayvanlarda TOFA'nın hem epilepsi oluşumuna etkisini hem de 1 hafta boyunca uygulanmasının tutuşan sıçanların nöbetleri üzerine olan etkisini araştırdık. Bu aşamada hem gözlemsel verilerden hem de elektrofizyolojik bulgulardan yararlandık. İstatistiksel analiz sonuçlarımızı TOFA tedavi grubu ve kontrol grubuyla kıyasladık. TOFA'nın nöbetler üzerine olumlu etkileri olduğu sonuçlarına ulaştık.

Sonuç olarak, bir JAK/STAT inhibitörü olan TOFA, beyinde nöbetlerin altında yatan mekanizmaları etkileyerek epileptogenezi ve ayrıca oluşmuş olan nöbetleri azaltmaktadır. Yapılan bu ilk çalışma ile birlikte TOFA'nın bu etkisinin ileri moleküler ve biyokimyasal çalışmalar ile desteklenmesi ve etki ettiği yolların aydınlatılması gerektiğini düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

- Aaberg, KM, Surén P, Søråas CL, et al. (2017) *Seizures, syndromes, and etiologies in childhood epilepsy: The International League Against Epilepsy 1981, 1989, and 2017 classifications used in a population-based cohort.* *Epilepsia*;58(11):1880–1891.
- Ahmed, S. T., A. Mayer, J. D. Ji, and L. B. Ivashkiv. (2002). *Inhibition of IL-6 signaling by a p38-dependent pathway occurs in the absence of new protein synthesis.* *J. Leukocyte Biol.* 72: 154 –162.
- Ahmed, S. T., and L. B. Ivashkiv. (2000). *Inhibition of IL-6 and IL-10 signaling and Stat activation by inflammatory and stress pathways.* *J. Immunol.* 165: 5227–5237.
- Alexander, W. S., and D. J. Hilton. (2004). *The role of suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins in regulation of the immune response.* *Annu. Rev. Immunol.* 22: 503–529.
- Angelatou, F., Pagonopoulou, O., & Kostopoulos, G. (1991). *Changes in seizure latency correlate with alterations in A1 adenosine receptor binding during daily repeated pentylentetrazol-induced convulsions in different mouse brain areas.* *Neuroscience Letters.* 132 (2), 203-206 .
- Beghi E, Giussani G, Nichols EGBD 2016 Epilepsy Collaborators. , et al; (2016). *Global, regional, and national burden of epilepsy, 1990- 2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study.* *Lancet Neurol* 2019;18(04):357–375
- Behrmann, I., T. Smyczek, P. C. Heinrich, H. Schmitz-Van de Leur, W. Komyod, B. Giese, G. Muller-Newen, S. Haan, and C. Haan. (2004). *Janus kinase (Jak) subcellular localization revisited: the exclusive membrane localization of endogenous Janus kinase 1 by cytokine receptor interaction uncovers the Jak receptor complex to be equivalent to a receptor tyrosine kinase.* *J. Biol. Chem.* 279: 35486 –35493.

- Berenson, L. S., J. Yang, B. P. Sleckman, T. L. Murphy, and K. M. Murphy. (2006). *Selective requirement of p38 MAPK in cytokine-dependent, but not antigen receptor-dependent, Th1 responses*. J. Immunol. 176: 4616 – 4621.
- Berenson, L. S., M. Gavrieli, J. D. Farrar, T. L. Murphy, and K. M. Murphy. (2006). *Distinct characteristics of murine STAT4 activation in response to IL-12 and IFN- $\gamma$* . J. Immunol. 177: 5195–5203.
- Beretta, S., Carone D, Zanchi CPRO-LONG Study Group, et al. (2017). *Long-term applicability of the new ILAE definition of epilepsy. Results from the PRO-LONG study*. Epilepsia;58(09): 1518–1523 15
- Bonifacino, J. S. (2002). *Quality control of receptor-kinase signaling complexes*. Dev. Cell. 2: 1–2. 3.
- He, K., X. Wang, J. Jiang, R. Guan, K. E. Bernstein, P. P. Sayeski, and S. J. Frank. (2003). *Janus kinase 2 determinants for growth hormone receptor association, surface assembly, and signaling*. Mol. Endocrinol. 17: 2211–2227.
- Borie, D.C., Larson, M.J., Flores, M.G., Campbell, A., Rousvoal, G., Zhang, S., Higgins, J.P., Ball, D.J., Kudlacz, E.M., Brissette, W.H., Elliott, E.A., Reitz, B.A., and Changelian, P.S. (2005) *Combined use of the JAK3 inhibitor CP-690,550 with mycophenolate mofetil to prevent kidney allograft rejection in nonhuman primates*. Transplantation 80, 17561764
- Bosak M, Słowik A, Kacorzyk R, Turaj W. (2019) *Implementation of the new ILAE classification of epilepsies into clinical practice - a cohort study*. Epilepsy Behav;96:28–32
- Bragin, A., Azizyan, A., Almajano, J., Wilson, C. L., & Engel, J., Jr. *Analysis of chronic seizure onsets after intrahippocampal kainic acid injection in freely moving rats*. Epilepsia. 46 (10), 1592-1598 (2005).
- Brooks-Kayal, A.R., Shumate, M.D., Jin, H., Rikhter, T.Y., Coulter, D.A. (1998) *Selective changes in single cell GABA A receptor subunit expression and function in temporal lobe epilepsy*. Nat. Med. 4, 1166–1172.
- Brooks-Kayal, A.R., Shumate, M.D., Jin, H., Rikhter, T.Y., Coulter, D.A., 1998. *Selective changes in single cell GABA A receptor subunit*

*expression and function in temporal lobe epilepsy.* Nat. Med. 4, 1166–1172.

Changelian, P.S., Flanagan, M.E., Ball, D.J., Kent, C.R., Magnuson, K.S., Martin, W.H., Rizzuti, B.J., Sawyer, P.S., Perry, B.D., Brissette, W.H., McCurdy, S.P., Kudlacz, E.M., Conklyn, M.J., Elliott, E.A., Koslov, E.R., Fisher, M.B., Strelevitz, T.J., Yoon, K., Whipple, D.A., Sun, J., Munchhof, M.J., Doty, J.L., Casavant, J.M., Blumenkopf, T.A., Hines, M., Brown, M.F., Lillie, B.M., Subramanyam, C., Shang-Poa, C., Milici, A.J., Beckius, G.E., Moyer, J.D., Su, C., Woodworth, T.G., Gaweco, A.S., Beals, C.R., Littman, B.H., Fisher, D.A., Smith, J.F., Zagouras, P., Magna, H.A., Saltarelli, M.J., Johnson, K.S., Nelms, L.F., Des Etages, S.G., Hayes, L.S., Kawabata, T.T., Finco-Kent, D., Baker, D.L., Larson, M., Si, M.S., Paniagua, R., Higgins, J., Holm, B., Reitz, B., Zhou, Y.J., Morris, R.E., O’Shea, J.J., and Borie, D.C. (2003) *Prevention of organ allograft rejection by a specific Janus kinase 3 inhibitor.* Science 302, 875878

Chen, Z., R. Lund, T. Aittokallio, M. Kosonen, O. Nevalainen, and R. Lahesmaa. (2003). *Identification of novel IL-4/Stat6-regulated genes in T lymphocytes.* J. Immunol. 171: 3627–3635. 20.

Chow V, Krishnaswami S, Chan G, et al. (2009) *Pharmacokinetics of CP-690,550, A Janus kinase inhibitor, in subjects with impaired renal function and end-stage renal disease* [abstract PII-85]. Clin Pharmacol Ther;85(Suppl 1):S63

Chtanova, T., R. A. Kemp, A. P. Sutherland, F. Ronchese, and C. R. Mackay. 2001. *Gene microarrays reveal extensive differential gene expression in both CD4 and CD8 type 1 and type 2 T cells.* J. Immunol. 167: 3057–3063.

Cloyd J, Hauser W, Towne A, et al. *Epidemiological and medical aspects of epilepsy in the elderly.* Epilepsy Res 2006;68(Suppl 1): S39–S48

Cohen S, Zwillich SH, Chow V, et al. *Co-administration of the JAK inhibitor CP-690,550 and methotrexate is well tolerated in patients with*

*rheumatoid arthritis without need for dose adjustment.* Br J Clin Pharmacol 2010;69:143-51

Contreras D. *Experimental models in epilepsy.* Elsevier Academic Press, USA. Revista de Neurologia 2000;30:370-376.

Cornish, A. L., G. M. Davey, D. Metcalf, J. F. Purton, J. E. Corbin, C. J. Greenhalgh, R. Darwiche, L. Wu, N. A. Nicola, D. I. Godfrey, et al. 2003. *Suppressor of cytokine signaling-1 has IFN-independent actions in T cell homeostasis.* J. Immunol. 170: 878 – 886.

Cornish, A. L., M. M. Chong, G. M. Davey, R. Darwiche, N. A. Nicola, D. J. Hilton, T. W. Kay, R. Starr, and W. S. Alexander. 2003. *Suppressor of cytokine signaling-1 regulates signaling in response to interleukin-2 and other c-dependent cytokines in peripheral T cells.* J. Biol. Chem. 278: 22755–22761.

Costa-Pereira, A. P., S. Tininini, B. Strobl, T. Alonzi, J. F. Schlaak, H. Is'harc, I. Gesualdo, S. J. Newman, I. M. Kerr, and V. Poli. 2002. *Mutational switch of an IL-6 response to an interferon--like response.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 8043– 8047.

Croker, B. A., D. L. Krebs, J. G. Zhang, S. Wormald, T. A. Willson, E. G. Stanley, L. Robb, C. J. Greenhalgh, I. Forster, B. E. Clausen, et al. 2003. *SOCS3 negatively regulates IL-6 signaling in vivo.* Nat. Immunol. 4: 540–545.

Croker, B. A., D. Metcalf, L. Robb, W. Wei, S. Mifsud, L. DiRago, L. A. Cluse, K. D. Sutherland, L. Hartley, E. Williams, et al. 2004. *SOCS3 is a critical physiological negative regulator of G-CSF signaling and emergency granulopoiesis.* Immunity 20: 153–165.

de Bruijn MAAM, van Sonderen A, van Coevorden-Hameete MH, et al. *Evaluation of seizure treatment in anti-LGII, anti-NMDAR, and anti-GABABR encephalitis.* Neurology 2019;92(19):e2185–e2196

Dedoni, S., Olianias, M.C., Onali, P., 2010. *Interferon-β induces apoptosis in human SHSY5Y neuroblastoma cells through activation of JAK–STAT*

*signaling and downregulation of PI3K/Akt pathway.* J. Neurochem. 115, 1421–1433.

Dickensheets, H., N. Vazquez, F. Sheikh, S. Gingras, P. J. Murray, J. J. Ryan, and R. P. Donnelly. (2007). *Suppressor of cytokine signaling-1 is an IL-4-inducible gene in macrophages and feedback inhibits IL-4 signaling.* Genes Immun. 8:21–27. 2628 BRIEF REVIEW by guest on November 17, 2021.

Edwards, J. P., X. Zhang, K. A. Frauwirth, and D. M. Mosser. (2006). *Biochemical and functional characterization of three activated macrophage populations.* J. Leukocyte Biol. 80: 1298 –1307.

El Kasmi, C., J. Holst, M. Coffre, L. Mielke, A. de Pauw, N. Lhocine, A. M. Smith, R. Rutschman, D. Kaushal, Y. Shen, et al. (2006). *General nature of the STAT3-activated anti-inflammatory response.* J. Immunol. 177: 7880 –7888

Emami, S., Kebriaeezadeh, A., Ahangar, N., & Khorasani, R. (2011). *Imidazolylchromanone oxime ethers as potential anticonvulsant agents: Anticonvulsive evaluation in PTZ-kindling model of epilepsy and SAR study.* Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 21 (2), 655-659

Engel JJ, Schwartzkroin PA. *What Should Be Modeled? In: Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL, (eds): Models of Seizures and Epilepsy.* San Diego, Elsevier Academic Press, 2006;1-14.

Eyles, J. L., D. Metcalf, M. J. Grusby, D. J. Hilton, and R. Starr. 2002. *Negative regulation of interleukin-12 signaling by suppressor of cytokine signaling-1.* J. Biol. Chem. 277: 43735– 43740.

Fenner, J. E., R. Starr, A. L. Cornish, J. G. Zhang, D. Metcalf, R. D. Schreiber, K. Sheehan, D. J. Hilton, W. S. Alexander, and P. J. Hertzog. 2006. *Suppressor of cytokine signaling 1 regulates the immune response to infection by a unique inhibition of type I interferon activity.* Nat. Immunol. 7: 33–39.

Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, et al. *ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy.* Epilepsia 2014;55(04): 475–482

- Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, et al. *Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types*. *Epilepsia* 2017;58(04):531–542
- Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, et al. *Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE)*. *Epilepsia* 2005;46(04):470–472
- Flanagan ME, Blumenkopf TA, Brissette WH, et al. *Discovery of CP-690,550: a potent and selective Janus kinase (JAK) inhibitor for the treatment of autoimmune diseases and organ transplant rejection*. *J Med Chem* 2010;53:8468-84 . The identification of tofacitinib.
- Furtado Mde, A., Braga, G. K., Oliveira, J. A., Del Vecchio, F., & Garcia-Cairasco, N. *Behavioral, morphologic, and electroencephalographic evaluation of seizures induced by intrahippocampal microinjection of pilocarpine*. *Epilepsia*. 43 Suppl 5 37-39 (2002).
- Galanopoulou AS, Moshé SL. *The epileptic hypothesis: developmentally related arguments based on animal models*. *Epilepsia* 2009;50(Suppl 7):37-42.
- Garcia Garcia ME, Garcia Morales I, Matías Guiu J. *Experimental models in epilepsy*. *Neurologia* 2010;25:181-8.
- Gertel, S., Mahagna H., Karmon G., Watad A., Amital H. 2017. *Tofacitinib attenuates arthritis manifestations and reduces the pathogenic CD4 T cells in adjuvant arthritis rats*. Zabludowicz Center For Autoimmune Diseases, Sheba Medical Center, Tel-Hashomer 5262100, Israel.
- Ghoreschi K, Jesson MI, Li X, et al. *Modulation of innate and adaptive immune responses by tofacitinib (CP690,550)*. *J Immunol* 2011;186:4234-43. A comprehensive review of preclinical characteristics of tofacitinib.
- Ghoreschi, K., Laurence, A., O'Shea, J.J., 2009. *Janus kinases in immune cell signaling*. *Immunol. Rev.* 228, 273–287.
- Gil, M. P., E. Bohn, A. K. O'Guin, C. V. Ramana, B. Levine, G. R. Stark, H. W. Virgin, and R. D. Schreiber. 2001. *Biologic consequences of Stat1-independent IFN signaling*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 6680 – 6685.

- Gingras, S., E. Parganas, A. de Pauw, J. N. Ihle, and P. J. Murray. 2004. *Re-examination of the role of suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) in the regulation of toll-like receptor signaling*. J. Biol. Chem. 279: 54702–54707.
- Grabenstatter, H.L., Del Angel, Y.C., Carlsen, J., Wempe, M.F., White, A.M., Cogswell, M., Russek, S.J., Brooks-Kayal, A.R., 2014. *The effect of STAT3 inhibition on status epilepticus and subsequent spontaneous seizures in the pilocarpine model of acquired epilepsy*. Neurobiol. Dis. 62, 73–85.
- Hauser WA, Anderson VE, Loewenson RB, McRoberts SM. *Seizure recurrence after a first unprovoked seizure*. N Engl J Med 1982; 307(09):522–528
- Hauser WA, Annegers JF, Kurland LT. *Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984*. Epilepsia 1993;34(03):453–468
- Hauser WA, Rich SS, Lee JR, Annegers JF, Anderson VE. *Risk of recurrent seizures after two unprovoked seizures*. N Engl J Med 1998;338(07):429–434
- Hildebrand MS, Dahl HH, Damiano JA, Smith RJ, Scheffer IE, Berkovic SF. *Recent advances in the molecular genetics of epilepsy*. J Med Genet 2013;50(05):271–279
- Hixson, K.M., Cogswell, M., Brooks-Kayal, A.R., Russek, S.J., 2019a. *Transcriptomic Analysis of the BDNF-Induced JAK/STAT Pathway in Neurons: a Window into Epilepsy-Associated Gene Expression* BioRxiv, p. 577627.
- Hixson, K.M., Cogswell, M., Brooks-Kayal, A.R., Russek, S.J., 2019b. *Evidence for a noncanonical JAK/STAT signaling pathway in the synthesis of the brain's major ion channels and neurotransmitter receptors*. BMC Genom. 20, 1–16.
- Hofmann, S. R., A. Q. Lam, S. Frank, Y. J. Zhou, H. L. Ramos, Y. Kanno, D. Agnello, R. J. Youle, and J. J. O'Shea. 2004. *Jak3-independent trafficking of the common chain receptor subunit: chaperone function of Jaks revisited*. Mol. Cell. Biol. 24: 5039–5049.

- Hosford, D. A. *Animal models of nonconvulsive status epilepticus*. J Clin Neurophysiol. 16 (4), 306-313; discussion 353 (1999).
- Huang, L. J., S. N. Constantinescu, and H. F. Lodish. 2001. *The N-terminal domain of Janus kinase 2 is required for Golgi processing and cell surface expression of erythropoietin receptor*. Mol. Cell. 8: 1327–1338.
- Ilhan, A., Iraz, M., Kamisli, S., & Yigitoglu, R. *Pentylentetrazol-induced kindling seizure attenuated by Ginkgo biloba extract (EGb 761) in mice*. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 30 (8), 1504-1510 (2006).
- Judd, L. M., B. M. Alderman, M. Howlett, A. Shulkes, C. Dow, J. Moverley, D. Grail, B. J. Jenkins, M. Ernst, and A. S. Giraud. 2004. *Gastric cancer development in mice lacking the SHP2 binding site on the IL-6 family co-receptor gp130*. Gastroenterology 126: 196–207.
- Kandratavicius, L. et al. *Animal models of epilepsy: use and limitations*. Neuropsychiatr Dis Treat. 10 1693-1705 (2014).
- Karaghiosoff, M., H. Neubauer, C. Lassnig, P. Kovarik, H. Schindler, H. Pircher, B. McCoy, C. Bogdan, T. Decker, G. Brem, et al. 2000. *Partial impairment of cytokine responses in Tyk2-deficient mice*. Immunity 13: 549–560.
- Karaman, M.W., Herrgard, S., Treiber, D.K., Gallant, P., Atteridge, C.E., Campbell, B.T., Chan, K.W., Ciceri, P., Davis, M.I., Edeen, P.T., Faraoni, R., Floyd, M., Hunt, J.P., Lockhart, D.J., Milanov, Z.V., Morrison, M.J., Pallares, G., Patel, H.K., Pritchard, S., Wodicka, L.M., and Zarrinkar, P.P. (2008) *A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity*. Nat. Biotechnol. 26, 127132
- Kellinghaus, C. et al. *Dissociation between in vitro and in vivo epileptogenicity in a rat model of cortical dysplasia*. Epileptic Disord. 9 (1), 11-19 (2007).
- Kieslinger, M., I. Woldman, R. Moriggl, J. Hofmann, J. C. Marine, J. N. Ihle, H. Beug, and T. Decker. 2000. *Antiapoptotic activity of Stat5 required*

during terminal stages of myeloid differentiation. *Genes Dev.* 14: 232–244.

Kile, B. T., B. A. Schulman, W. S. Alexander, N. A. Nicola, H. M. Martin, and D. J. Hilton. 2002. *The SOCS box: a tale of destruction and degradation.* *Trends Biochem. Sci.* 27: 235–241.

Kim, T. K., and T. Maniatis. 1996. *Regulation of interferon-activated STAT1 by the ubiquitin-proteasome pathway.* *Science* 273: 1717–1719.

Klitgaard, H. *Levetiracetam: The Preclinical Profile of a New Class of Antiepileptic Drugs?* *Epilepsia.* 42 13-18 (2001).

Koutroumanidou, E. et al. *Increased seizure latency and decreased severity of pentylenetetrazol-induced seizures in mice after essential oil administration.* *Epilepsy Res Treat.* 2013 532657 (2013).

LaBranche, T.P., Jesson MI, Radi ZA, et al. *JAK inhibition with tofacitinib suppresses arthritic joint structural damage through decreased RANKL production.* *Arthritis Rheum* 2012;64:3531-42

Lang, R., A. L. Pauleau, E. Parganas, Y. Takahashi, J. Mages, J. N. Ihle, R. Rutschman, and P. J. Murray. 2003. *SOCS3 regulates the plasticity of gp130 signaling.* *Nat. Immunol.* 4: 546–550.

Lapalme-Remis, S., Cascino GD. *Imaging for adults with seizures and epilepsy.* *Continuum (Minneapolis)* 2016;22 (Suppl 5)Neuroimaging1451–1479

Lavoie, A.M., Tingey, J.J., Harrison, N.L., Pritchett, D.B., Twyman, R.E., 1997. *Activation and deactivation rates of recombinant GABA (A) receptor channels are dependent on alpha-subunit isoform.* *Biophys. J.* 73, 2518–2526.

Lavoie, A.M., Tingey, J.J., Harrison, N.L., Pritchett, D.B., Twyman, R.E., 1997. *Activation and deactivation rates of recombinant GABA (A) receptor channels are dependent on alpha-subunit isoform.* *Biophys. J.* 73, 2518–2526.

Lawendy, N., Krishnaswami S, Wang R, et al. *Effect of CP-690,550, an orally active Janus kinase inhibitor, on renal function in healthy adult volunteers.* *J Clin Pharmacol* 2009;49:423-9

- Lee, C. K., R. Raz, R. Gimeno, R. Gertner, B. Wistinghausen, K. Takeshita, R. A. DePinho, and D. E. Levy. 2002. *STAT3 is a negative regulator of granulopoiesis but is not required for G-CSF-dependent differentiation*. *Immunity* 17: 63–72.
- Lee, P. J., X. Zhang, P. Shan, B. Ma, C. G. Lee, R. J. Homer, Z. Zhu, M. Rincon, B. T. Mossman, and J. A. Elias. 2006. *ERK1/2 mitogen-activated protein kinase selectively mediates IL-13-induced lung inflammation and remodeling in vivo*. *J. Clin. Invest.* 116: 163–173.
- Leite, J. P., Garcia Cairasco, N., & Cavalheiro, E. A. *New insights from the use of pilocarpine and kainate models*. *Epilepsy Res.* 50 (1-2), 93-103 (2002).
- Liu, S., Yu W, Lü Y. *The causes of new-onset epilepsy and seizures in the elderly*. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2016;12:1425–1434
- Loke, P., M. G. Nair, J. Parkinson, D. Guiliano, M. Blaxter, and J. E. Allen. 2002. *IL-4 dependent alternatively activated macrophages have a distinctive in vivo gene expression phenotype*. *BMC Immunol.*
- Loscher, W., 2017. *Animal Models of Seizures and Epilepsy: Past, Present, and Future Role for the Discovery of Antiseizure Drugs*. *Neurochem Res.*
- Löscher, W. *Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy*. *Epilepsy Research.* 50 (1), 105-123 (2002).
- Löscher, W. *Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs*. *Seizure.* 20 (5), 359-368 (2011).
- Löscher, W., & Brandt, C. *Prevention or Modification of Epileptogenesis after Brain Insults: Experimental Approaches and Translational Research*. *Pharmacological Reviews.* 62 (4), 668-700 (2010).
- Lund, I.V., Hu, Y., Raol, Y.H., Benham, R.S., Faris, R., Russek, S.J., Brooks-Kayal, A.R., 2008. *BDNF selectively regulates GABAA receptor transcription by activation of the JAK/STAT pathway*. *Sci. Signal.* 1

- Lund, R., H. Ahlfors, E. Kainonen, A. M. Lahesmaa, C. Dixon, and R. Lahesmaa. 2005. *Identification of genes involved in the initiation of human Th1 or Th2 cell commitment*. Eur. J. Immunol. 35: 3307–3319.
- Lund, R., T. Aittokallio, O. Nevalainen, and R. Lahesmaa. 2003. *Identification of novel genes regulated by IL-12, IL-4, or TGF- during the early polarization of CD4 lymphocytes*. J. Immunol. 171: 5328–5336.
- Mäkelä, J., Koivuniemi, R., Korhonen, L., Lindholm, D., 2010. *Interferon- $\gamma$  produced by microglia and the neuropeptide PACAP have opposite effects on the viability of neural progenitor cells*. PLoS One 5, e11091.
- Maeshima, K, Yamaoka K, Kubo S, et al. *The JAK inhibitor tofacitinib regulates synovitis through inhibition of interferon- $\gamma$  and interleukin-17 production by human CD4<sup>+</sup> T cells*. Arthritis Rheum 2012;64:1790-8
- Mao, X., Z. Ren, G. N. Parker, H. Sonderrmann, M. A. Pastorello, W. Wang, J. S. McMurray, B. Demeler, J. E. Darnell, Jr., and X. Chen. 2005. *Structural bases of unphosphorylated STAT1 association and receptor binding*. Mol. Cell. 17: 761–771.
- McLemore, M. L., S. Grewal, F. Liu, A. Archambault, J. Poursine-Laurent, J. Haug, and D. C. Link. 2001. *STAT-3 activation is required for normal G-CSF-dependent proliferation and granulocytic differentiation*. Immunity 14: 193–204.
- Medina-Ceja, L., Pardo-Pena, K., & Ventura-Mejia, C. *Evaluation of behavioral parameters and mortality in a model of temporal lobe epilepsy induced by intracerebroventricular pilocarpine administration*. Neuroreport. (2014).
- Menon, M. P., J. Fang, and D. M. Wojchowski. 2006. *Core erythropoietin receptor signals for late erythroblast development*. Blood 107: 2662–2672.
- Milici, A. J., Kudlacz EM, Audoly L, et al. *Cartilage preservation by inhibition of Janus kinase 3 in two rodent models of rheumatoid arthritis*. Arthritis Res Ther 2008;10:R14

- Minegishi, Y., M. Saito, T. Morio, K. Watanabe, K. Agematsu, S. Tsuchiya, H. Takada, T. Hara, N. Kawamura, T. Ariga, et al. 2006. *Human tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity*. *Immunity* 25: 745–755.
- Murray, P. J. 2005. *The primary mechanism of the IL-10-regulated antiinflammatory response is to selectively inhibit transcription*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 8686 – 8691.
- Murray, P. J. 2006. *Understanding and exploiting the endogenous interleukin-10/ STAT3-mediated anti-inflammatory response*. *Curr. Opin. Pharmacol.* 6: 379 –386.
- Ndubuisi, M. I., G. G. Guo, V. A. Fried, J. D. Etlinger, and P. B. Sehgal. 1999. *Cellular physiology of STAT3: where's the cytoplasmic monomer?* *J. Biol. Chem.* 274: 25499 –25509.
- Neligan, A, Hauser WA, Sander JW. *Chapter 6: The epidemiology of the epilepsies*. In: Stefan H, Theodore WH, eds. *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 107. Amsterdam: Elsevier; 2012: 113–133
- Ngugi, A. K., Bottomley C, Kleinschmidt I, Sander JW, Newton CR. *Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: a metaanalytic approach*. *Epilepsia* 2010;51(05):883–890
- Nguyen, K. B., L. P. Cousens, L. A. Doughty, G. C. Pien, J. E. Durbin, and C. A. Biron. 2000. *Interferon  $\gamma$ -mediated inhibition and promotion of interferon: STAT1 resolves a paradox*. *Nat. Immunol.* 1: 70 –76.
- Nguyen, K. B., W. T. Watford, R. Salomon, S. R. Hofmann, G. C. Pien, A. Morinobu, M. Gadina, J. J. O'Shea, and C. A. Biron. 2002. *Critical role for STAT4 activation by type I interferons in the interferon- response to viral infection*. *Science* 297: 2063–2066.
- Nicolas, C.S., Peineau, S., Amici, M., Csaba, Z., Fafouri, A., Javalet, C., Collett, V.J., Hildebrandt, L., Seaton, G., Choi, S.-L., 2012. *The Jak/STAT pathway is involved in synaptic plasticity*. *Neuron* 73, 374–390.
- Niemand, C., A. Nimmesgern, S. Haan, P. Fischer, F. Schaper, R. Rossaint, P. C. Heinrich, and G. Muller-Newen. 2003. *Activation of STAT3 by IL-6*

*and IL-10 in primary human macrophages is differentially modulated by suppressor of cytokine signaling 3.* J. Immunol. 170: 3263–3272.

O’Shea, J.J., Holland SM, Staudt LM. *JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer.* N Engl J Med 2013;368:161-70

O’Shea, J. J., M. Gadina, and R. D. Schreiber. 2002. *Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway.* Cell 109: S121–S131.

Panopoulos, A. D., L. Zhang, J. W. Snow, D. M. Jones, A. M. Smith, K. C. El Kasmi, F. Liu, M. A. Goldsmith, D. C. Link, P. J. Murray, and S. S. Watowich. 2006. *STAT3 governs distinct pathways in emergency granulopoiesis and mature neutrophils.* Blood 108: 3682–3690.

Parikh, S., Nordi DR Jr, De Vivo DC. Chapter 31: *Epilepsy in the setting of inherited metabolic and mitochondrial disorders.* In: Wyllie E, ed. *Wyllie’s Treatment of Epilepsy: Principles and Practice.* Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2015:388–407

Pelletier, S., S. Gingras, M. Funakoshi-Tago, S. Howell, and J. N. Ihle. 2006. *Two domains of the erythropoietin receptor are sufficient for jak2 binding/activation and function.* Mol. Cell. Biol. 26: 8527– 8538.

Pitkänen, A., Schwartzkroin, P. A., & Moshé, S. L. in *Models of Seizures and Epilepsy.* xvii Academic Press (2006).

Qing, Y., and G. R. Stark. 2004. *Alternative activation of STAT1 and STAT3 in response to interferon- $\gamma$ .* J. Biol. Chem. 279: 41679 – 41685.

Raible, D.J., Frey, L.C., Brooks-Kayal, A.R., 2014. *Effects of JAK2-STAT3 signaling after cerebral insults.* JAK-STAT 3, e29510.

Ramana, C. V., M. P. Gil, Y. Han, R. M. Ransohoff, R. D. Schreiber, and G. R. Stark. 2001. *Stat1-independent regulation of gene expression in response to IFN- $\gamma$ .* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 6674 – 6679.

Rosengren, S, Corr M, Firestein GS, et al. *The JAK inhibitor CP-690,550 (tofacitinib) inhibits TNF-induced chemokine expression in fibroblast-like synoviocytes: autocrine role of type I interferon.* Ann Rheum Dis 2012;71:440-7

- Rousvoal, G., Si, M.S., Lau, M., Zhang, S., Berry, G.J., Flores, M.G., Changelian, P.S., Reitz, B.A., and Borie, D.C. (2006) *Janus kinase 3 inhibition with CP-690,550 prevents allograft vasculopathy*. *Transpl. Int.* 19, 10141021
- Sandler, N. G., M. M. Mentink-Kane, A. W. Cheever, and T. A. Wynn. 2003. *Global gene expression profiles during acute pathogen-induced pulmonary inflammation reveal divergent roles for Th1 and Th2 responses in tissue repair*. *J. Immunol.* 171: 3655–3667.
- Scheffer, I.E., Berkovic S, Capovilla G, et al. *ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology*. *Epilepsia* 2017;58(04):512–521
- Schmidt, J. *Changes in seizure susceptibility in rats following chronic administration of pentylenetetrazol*. *Biomed Biochim Acta.* 46 (4), 267-270 (1987).
- Schmitz, J., M. Weissenbach, S. Haan, P. C. Heinrich, and F. Schaper. 2000. *SOCS3 exerts its inhibitory function on interleukin-6 signal transduction through the SHP2 recruitment site of gp130*. *J. Biol. Chem.* 275: 12848 – 12856.
- Semerad, C. L., J. Poursine-Laurent, F. Liu, and D. C. Link. 1999. *A role for G-CSF receptor signaling in the regulation of hematopoietic cell function but not lineage commitment or differentiation*. *Immunity* 11: 153–161.
- Shimoda, K., K. Kato, K. Aoki, T. Matsuda, A. Miyamoto, M. Shibamori, M. Yamashita, A. Numata, K. Takase, S. Kobayashi, et al. 2000. *Tyk2 plays a restricted role in IFN signaling, although it is required for IL-12-mediated T cell function*. *Immunity* 13: 561–571.
- Socolovsky, M., A. E. Fallon, S. Wang, C. Brugnara, and H. F. Lodish. 1999. *Fetal anemia and apoptosis of red cell progenitors in Stat5a/5b<sup>-/-</sup> mice: a direct role for Stat5 in Bcl-X(L) induction*. *Cell* 98: 181–191.
- Squires, R. F., Saederup, E., Crawley, J. N., Skolnick, P., & Paul, S. M. *Convulsant potencies of tetrazoles are highly correlated with actions on*

*GABA/benzodiazepine/picrotoxin receptor complexes in brain.* Life Sci. 35 (14), 1439-1444 (1984).

Stross, C., S. Radtke, T. Clahsen, C. Gerlach, R. Volkmer-Engert, F. Schaper, P. C. Heinrich, and H. M. Hermanns. 2006. *Oncostatin M receptor-mediated signal transduction is negatively regulated by SOCS3 through a receptor tyrosine-independent mechanism.* J. Biol. Chem. 281: 8458 – 8468.

Tanaka, A, Akamatsu N, Shouzaki T, et al. (2013). *Clinical characteristics and treatment responses in new-onset epilepsy in the elderly.* Seizure;22(09):772–775

Tebbutt, N. C., A. S. Giraud, M. Inglese, B. Jenkins, P. Waring, F. J. Clay, S. Malki, B. M. Alderman, D. Grail, F. Hollande, et al. (2002). *Reciprocal regulation of gastrointestinal homeostasis by SHP2 and STAT-mediated trefoil gene activation in gp130 mutant mice.* Nat. Med. 8: 1089 –1097.

Tofacitinib citrate. Summary review of regulatory action. (2013). FDA’s Center for Drug Evaluation and Research. Application No. 203214Orig1s000.

Tofacitinib for the treatment of rheumatoid arthritis (NDA 203214) (2012). Advisory Committee Briefing Document.

Toledano, M. and Pittock SJ. (2015). *Autoimmune epilepsy.* Semin Neurol; 35(03):245–258

Tourov, A. et al. (1996). *Spike morphology in PTZ-induced generalized and cobalt-induced partial experimental epilepsy.* Funct Neurol. 11 (5), 237-245 (1996).

Vaddi, K. and Luchi M. (2012). *JAK inhibition for the treatment of rheumatoid arthritis: a new era in oral DMARD therapy.* Expert Opin Investig Drugs;21:961-73

van Boxel-Dezaire, A. H., M. R. Rani, and G. R. Stark. (2006). *Complex modulation of cell type-specific signaling in response to type I interferons.* Immunity 25: 361–372.

Vezzani A, Fujinami RS, White HS, et al. (2016). *Infections, inflammation and epilepsy.* Acta Neuropathol;131(02):211–234

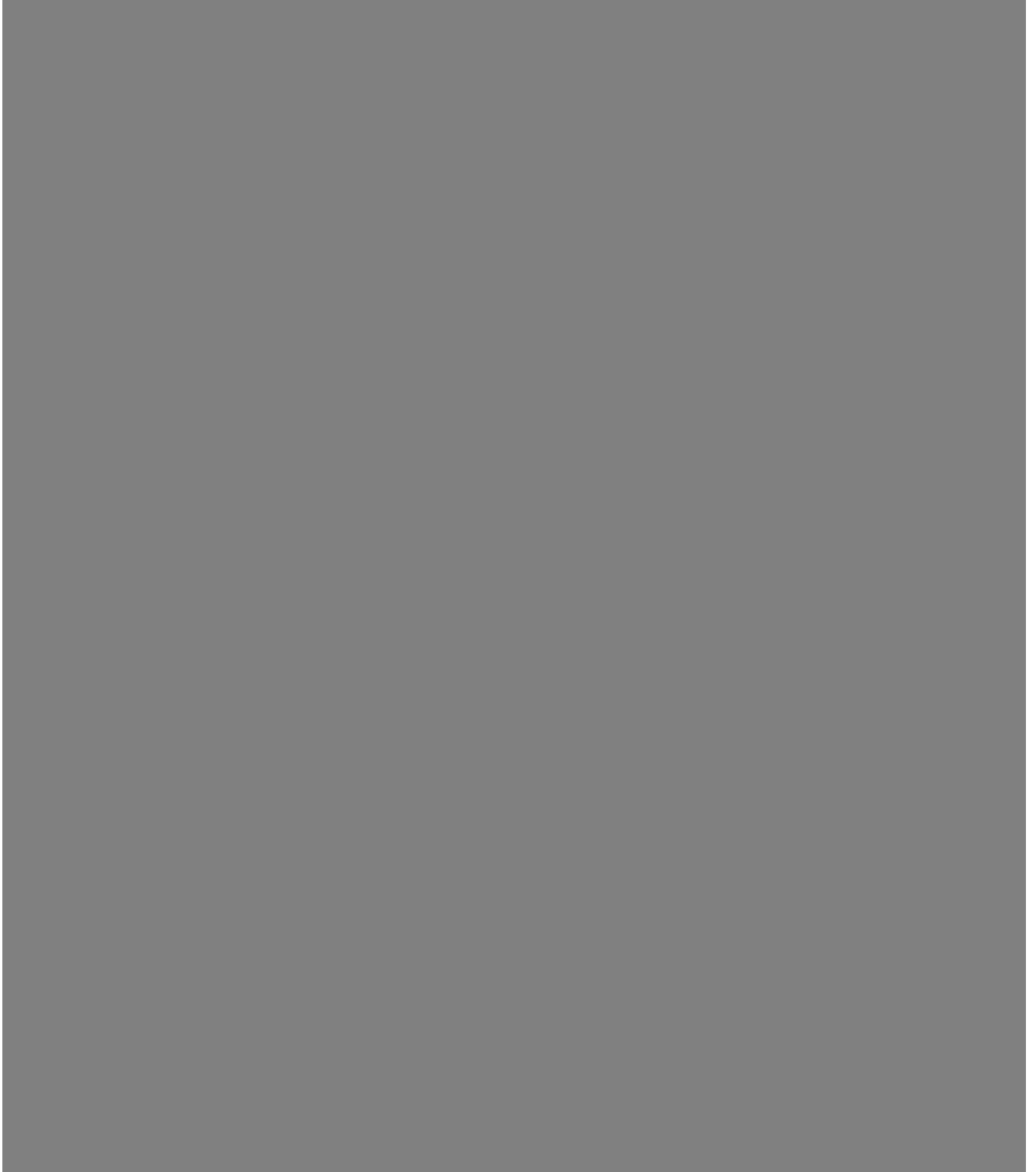
- Walker JG, Ahern MJ, Coleman M, et al. (2006). Expression of Jak3, STAT1, STAT4, and STAT6 in inflammatory arthritis: unique Jak3 and STAT4 expression in dendritic cells in seropositive rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*;65:149-56
- Welch, J. S., L. Escoubet-Lozach, D. B. Sykes, K. Liddiard, D. R. Greaves, and C. K. Glass. (2002). *TH2 cytokines and allergic challenge induce Ym1 expression in macrophages by a STAT6-dependent mechanism*. *J. Biol. Chem.* 277: 42821–42829.
- WHO Epilepsy: *A public Health Initiative*. Geneva. (2019). World Health Organization;
- Williams, L. M., G. Ricchetti, U. Sarma, T. Smallie, and B. M. Foxwell. (2004). *Interleukin-10 suppression of myeloid cell activation—a continuing puzzle*. *Immunology* 113: 281–292.
- Williams, L. M., U. Sarma, K. Willetts, T. Smallie, F. Brennan, and B. M. Foxwell. (2007). *Expression of constitutively active STAT3 can replicate the cytokine suppressive activity of IL-10 in human primary macrophages*. *J. Biol. Chem.* In press.
- Williams, N.K., Bamert, R.S., Patel, O., Wang, C., Walden, P.M., Wilks, A.F., Fantino, E., Rossjohn, J., and Lucet, I.S. (2009). *Dissecting specificity in the Janus kinases: the structures of JAK-specific inhibitors complexed to the JAK1 and JAK2 protein tyrosine kinase domains*. *J. Mol. Biol.* 387, 219232
- Yang, Y., & Frankel, W. N.(2004). *Genetic approaches to studying mouse models of human seizure disorders*. *Adv Exp Med Biol.* 548 1-11.
- Yasukawa, H., H. Misawa, H. Sakamoto, M. Masuhara, A. Sasaki, T. Wakioka, S. Ohtsuka, T. Imaizumi, T. Matsuda, J. N. Ihle, and A. Yoshimura. (1999). *The JAK binding protein JAB inhibits Janus tyrosine kinase activity through binding in the activation loop*. *EMBO J.* 18: 1309–1320.
- Yasukawa, H., M. Ohishi, H. Mori, M. Murakami, T. Chinen, D. Aki, T. Hanada, K. Takeda, S. Akira, M. Hoshijima, et al. (2003). *IL-6 induces*

- an anti-inflammatory response in the absence of SOCS3 in macrophages.* Nat. Immunol. 4: 551–556.
- Yu, C. L. and S. J. Burakoff. (1997). *Involvement of proteasomes in regulating Jak STAT pathways upon interleukin-2 stimulation.* J. Biol. Chem. 272: 14017–14020.
- Zhang, J. G., D. Metcalf, S. Rakar, M. Asimakis, C. J. Greenhalgh, T. A. Willson, R. Starr, S. E. Nicholson, W. Carter, W. S. Alexander, et al. (2001). *The SOCS box of suppressor of cytokine signaling-1 is important for inhibition of cytokine action in vivo.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98: 13261–13265.
- Zhong, M., M. A. Henriksen, K. Takeuchi, O. Schaefer, B. Liu, J. ten Hoeve, Z. Ren, X. Mao, X. Chen, K. Shuai, and J. E. Darnell, Jr. 2005. *Implications of an antiparallel dimeric structure of nonphosphorylated STAT1 for the activation-inactivation cycle.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 3966 – 3971.
- Zimmermann, N., N. E. King, J. Laporte, M. Yang, A. Mishra, S. M. Pope, E. E. Muntel, D. P. Witte, A. A. Pegg, P. S. Foster, et al. 2003. *Dissection of experimental asthma with DNA microarray analysis identifies arginase in asthma pathogenesis.* J. Clin. Invest. 111: 1863–1874.



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-68489742-604.02.03-148699  
Konu : Hadyek izni hk



## ÖZ GEÇMİŞ

Elif ASAN, Samsun Bafra Anadolu Lisesi'ni bitirdikten sonra Hacettepe Üniversitesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Fakültesi'nden 2014 yılında mezun oldum. 2018 yılında OMÜ Sinir Bilimleri Yüksek Lisans programına girdim. Mezuniyetimden bu yana fizyoterapist olarak görev yapmaktayım.

Orcid Numarası: 0000-0002-5586-0716

Mesleki Katılımlar :2021 5. Uluslararası Sağlıkta İnovasyon Kongresi (Sözel Sunum:

Deneysel Pentilentetrazol Epilepside TOFAin Etkisi)

2018 3. MS 'de Nörorehabilitasyon Sempozyumu ( Sözel Sunum: Kognisyon ve Egzersiz )

2016 Gençlik ve Spor Bakanlığı Boccia Etkinliği

24 -26 Nisan 2014 Protez Ortez Kongresi (Ankara)

8-12 Nisan 2014 XV. Fizyoterapide Gelişmeler Kongresi (Ankara)

2013 Lumbal Bölge Problemleri ve Güncel Yaklaşımlar Konferansı (Ankara)

2011 50. yıl Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Kongresi (Ankara)

2010 Fizyoterapi Öğrenci Platformu (Haliç Üniversitesi İstanbul)

