



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OREKSİN-2 RESEPTÖR AGONİSTİ YNT-185
UYGULAMASININ ABSANS EPİLEPSİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

AYLİN TOPLU
DOKTORA TEZİ

SİNİR BİLİMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. FİLİZ ONAT

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. NİHAN ÇARÇAK YILMAZ

İSTANBUL-2025



ACIBADEM MEHMET ALİ AYDINLAR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OREKSİN-2 RESEPTÖR AGONİSTİ
YNT-185 UYGULAMASININ
ABSANS EPİLEPSİSİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

AYLİN TOPLU
DOKTORA TEZİ

SİNİR BİLİMİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. FİLİZ ONAT

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. NİHAN ÇARÇAK YILMAZ

İSTANBUL-2025

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

12.06.2025

Aylin Toplu

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bilime ve insanlığa katkı sunma tutkum, sinirbilimin karmaşık dünyasını keşfetme merakım ve sinir bilimin sınırsız potansiyeli, bu akademik yolculuğumda bana her daim ilham verdi. GEMSTONE Horizon-Europe ortak projesi kapsamında Prof. Dr. Filiz Onat ile Prof. Dr. Deniz Kırık'ın işbirliği sayesinde açılan yolda Lund Üniversitesi'ndeki (İsveç) TÜBİTAK-2214 destekli araştırma deneyimim, bilimsel ufku genişleten dönüm noktalarından biri oldu.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve vizyonumu genişleten, özellikle epilepsi alanındaki değerli rehberlikleri için hocalarım Prof. Dr. Filiz Onat ve Doç. Dr. Nihan Çarçak'a; biyofizik ve sinirbilim alanında bizlere çok farklı kapılar açan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Beki Kan ve Prof. Dr. Devrim Öz Arslan'a; nöroanatomi alanında verdikleri eğitimle ufku genişleten kıymetli hocalarım Prof. Dr. Alp Bayramoğlu, Prof. Dr. Mustafa Aktekin ve Dr. Öğr. Üyesi Elif Nedret Keskinöz'e; ufku açan değerli hocalarım Prof. Dr. Güldal Süyen, Prof. Dr. Rezzan Gülhan, Prof. Dr. Koray Özdoğan, Prof. Dr. Meltem Kolgazi ve Prof. Dr. Hande Yayırlar'a en derin şükranlarımı sunarım.

Doktora yolculuğumda yanımda olan sevgili arkadaşlarım Uzm. Dr. Nazlı Büşra Açıkgöz, Prof. Dr. Aslıhan Günel, Nursema Mut, Uzm. Dr. Ece Uysal, Dr. Evrim Zeren, Uzm. Dr. Ayça Şahin, Dr. Özge Sarıyıldız, Uzm. Psk. Merve Akyıldız, Dr. Talat Taygun Turan ve Merve Çavuş'a; çok kıymetli dostlarım Dr. Burcu Diriöz'e, Hakim Merve Keleş'e ve her koşulda desteğini esirgemeyen babam Ali Toplu'ya, annem Fatma Toplu'ya, canım kardeşim Aygül Toplu'ya ve sevgili nişanlım Tunahan Hocaoglu'na minnettarım.

Bu çalışmanın finansal desteği için Acıbadem Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (ABAPKO; Proje No: 2022/02-26) ve GEMSTONE Horizon-Europe (Proje No: 101078981) programına teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
1 GİRİŞ VE AMAÇ	3
1.1 Giriş	3
1.2 Amaç.....	4
2 GENEL BİLGİLER.....	5
2.1 Epilepsi: Güncel Tanımlar, Sınıflandırmalar ve Epidemiyolojik Veriler ...	5
2.1.1 Tanı kriterleri ve epidemiyoloji	5
2.1.2 Epilepsi sınıflandırması	5
2.1.2.1 Epilepsinin tarihçesi.....	7
2.2 Epilepside Nöronal Uyarılabilirlik Mekanizmaları ve Modern Tedavi Yaklaşımları.....	9
2.3 Epileptogenez.....	10
2.3.1 Nöronal kayıplar ve aksonal yeniden yapılanma	11
2.3.2 Glial hücre aktivasyonu ve nöroinflamasyon	11
2.3.3 İyon kanalı ekspresyonundaki değişiklikler	11
2.3.4 Hücre içi sinyal iletim yollarının bozulması	11
2.4 DeneySEL Modeller	13
2.4.1 Akut ve kronik nöbet modelleri	14
2.4.1.1 Akut nöbet modelleri	14
2.4.1.1.1 Kimyasal uyarıcılarla oluşturulan bazı modeller.....	14
2.4.1.1.2 Elektriksel uyarım yöntemleri	14
2.4.1.1.3 Metabolik modeller	14
2.4.1.2 Kronik epilepsi modelleri	14
2.4.1.2.1 Temporal lob epilepsi modelleri	14
2.4.1.2.2 Post-travmatik epilepsi modelleri.....	14
2.4.1.2.3 Genetik modeller	15
2.4.2 İdeal epilepsi modelinin özellikleri	15
2.4.2.1 Klinik benzerlik.....	15
2.4.2.2 Farmakolojik yanıt uyumu.....	15

2.4.2.3	Teknik standartlar	15
2.4.2.4	Ölçülebilirlik kriterleri	16
2.5	Absans Epilepsisi	17
2.5.1	Absans epilepsisi patogenezinde yer alan ana mekanizmalar.....	17
2.5.1.1	Talamus ve korteks arasındaki iletişim bozukluğu.....	17
2.5.1.2	Nöronlardaki kalsiyum kanallarının düzensiz çalışması.....	17
2.5.1.3	Beyindeki inhibitör sistemin yetersizliği	18
2.5.2	Absans epilepsisi patogenezi.....	18
2.5.3	Absans epilepsisi deneysel modelleri	20
2.6	Oreksinler	21
2.6.1	Oreksinerjik sistemin absans epilepsi üzerine etkisi.....	23
2.6.2	Oreksin-2 agonisti olarak YNT-185	24
2.7	Tez Çalışmasının Amacı	25
3	GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1	Deney Tasarımı.....	26
3.2	Deney Hayvanlarının Kullanımı.....	27
3.3	Stereotaktik Cerrahi İşlemleri.....	28
3.3.1	İntraserebroventriküler (İSV) kanül yerleştirilmesi	29
3.3.2	İntraparankimal (VB veya S1) kanül yerleştirilmesi.....	29
3.4	Mikroenjeksiyon Protokolü.....	31
3.5	EEG Analizi	32
3.6	İstatistiksel Yöntemler	33
3.7	Histolojik Doğrulama.....	33
3.7.1	İntraserebroventriküler (İSV) uygulama grubu	33
3.7.2	Parenkimal (VB veya S1) uygulama grupları	34
4	BULGULAR.....	38
4.1	EEG Bulguları	38
4.1.1	İSV uygulamasına ait EEG bulguları.....	38
4.1.2	VB uygulamasına ait EEG bulguları.....	42
4.1.3	S1 uygulamasına ait EEG bulguları.....	46
5	TARTIŞMA	50
5.1	Doza Bağımlı Etkilerin Moleküler Temelleri	50
5.2	Bölgesel Spesifite ve Nöral Devre Dinamikleri	51
5.3	Nöral Devreler ve Sistem Düzeyinde Etkileşimler	52
5.4	Uyku-Uyanıklık Döngüsü ve Nöbet Kontrolü	52
5.6	Metodolojik Gelişmeler ve Sınırlılıklar.....	53
5.7	Nöroinflamasyon ve Oksidatif Stres İlişkisi	54
6	SONUÇ.....	55
7	KAYNAKLAR.....	57
	ÖZGEÇMİŞ.....	70

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

$\pm$	Artı-Eksi
μ l	Mikrolitre
%	Yüzde
AS	Adenilat siklaz
BDNF	Brain-derived neurotrophic factor
DDD	Diken-ve-yavaş dalga deşarjları
DREADDs	Designer Receptors Activated Only by Designer Drugs
EEG	Elektroensefalografi
gr	gram
GABA	Gama aminobütirik asit
GAERS	Strasbourg kökenli genetik absans epilepsili sıçanlar
GHB	γ -hidroksibütirik asit
ILAE	International League Against Epilepsy
ISV	Intraserebroventriküler
ml	Mililitre
MÖ	Milattan önce
MRG	Manyetik rezonans görüntüleme
LH	Lateral Hipotalamus
OX1R	Oreksin reseptörü-1

OX2R	Oreksin reseptörü-2
PET	Pozitron Emisyon Tomografisi
PTZ	Pentilenetetrazol
SF	Serum fizyolojik
SSS	Santral sinir sistemi



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Epilepsi hastalığının sınıflandırması.....	7
Şekil 2. Epileptogenez süreci	13
Şekil 3. Absans epilepsisi patogenezinde kortiko-talamo-kortikal döngü	20
Şekil 4. Oreksin sisteminin beyinde geniş projeksiyonu	22
Şekil 5. Deney tasarımı	27
Şekil 6. GAERS modelinde ventrobazal talamusa yerleştirilen rehber kanüllerin anatomik konumu.....	36
Şekil 7. GAERS modelinde <i>primer</i> somatosensoriyel kortekse yerleştirilen rehber kanüllerin anatomik konumu.....	37
Şekil 8. YNT-185'in GAERS'e intraserebroventiküler uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları süresi üzerine etkisi.....	39
Şekil 9. YNT-185'in GAERS'e intraserebroventiküler uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları sayısı üzerine etkisi	40
Şekil 10. YNT-185'in GAERS'e intraserebroventiküler uygulamasının her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjları ortalama süresi üzerine etkisi	41
Şekil 11. YNT-185'in GAERS'e talamusun ventrobazal çekirdeğine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları süresi üzerindeki etkisi	43
Şekil 12. YNT-185'in GAERS'e talamusun ventrobazal çekirdeğine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları sayısı üzerindeki etkisi.....	44
Şekil 13. YNT-185'in GAERS'e talamusun ventrobazal çekirdeğine uygulamasının her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjları ortalama süresi üzerine etkisi	45
Şekil 14. YNT-185'in GAERS'e <i>primer</i> somatosensoriyel korteksine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları süresine üzerindeki etkisi.....	47
Şekil 15. YNT-185'in GAERS'e <i>primer</i> somatosensoriyel korteksine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları sayısı üzerindeki etkisi.....	48
Şekil 16. YNT-185'in GAERS'e <i>primer</i> somatosensoriyel korteksine uygulamasının her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarj ortalama süresi üzerindeki etkisi	49

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Deney grupları	28
Tablo 2. Tiyonin boyama protokolü.....	35



ÖZET

Oreksin-2 Reseptör Agonisti YNT-185 Uygulamasının Absans Epilepsisi Üzerindeki Etkisi

Absans epilepsisi, genellikle çocukluk ve adölesan dönemde görülen, elektroensefalografide (EEG) 2,5–4 Hz diken-yavaş dalga deşarjları (DDD) ile seyreden bir epilepsi alt tipidir. Patogeneizde kortiko-talamo-kortikal şebeke disfonksiyonu rol oynar. *Lateral* hipotalamusta sentezlenen oreksinler kortiko-talamo-kortikal ağlardan kaynaklanan uyku içciklerini düzenler. Bu çalışmada YNT-185'in absans epilepsili sıçanlara *intrasterebroventriküler* (İSV), talamus (VB) ve korteks (S1) bölgelerine farklı dozlarda uygulanmasıyla DDD'lere etkileri incelenmiştir. *Strasbourg* kökenli genetik absans epilepsili sıçanların (GAERS) kafatasına, stereotaksik cerrahi yöntem ile İSV, VB veya S1 hedeflerine rehber kanüller ve EEG kayıt elektrotları yerleştirilmiştir. Bir hafta sonra 3 saatlik bazal EEG kaydı alınmıştır. Bir gün sonra farklı dozlarda YNT-185 İSV, VB veya S1 bölgelerine uygulanarak devamında 3 saatlik EEG kaydı alınmıştır. 3 saatlik bazal ve enjeksiyon sonrası EEG kayıtları değerlendirilip, istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. GAERS'lerde YNT-185'in absans nöbetleri üzerindeki etkileri incelendiğinde, İSV uygulanan 600 nmol dozun nöbet süresini 40–140. dakikalar arasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı gözlemlendi. 100 veya 300 nmol uygulamalarında bu etki sınırlı idi. VB'ye 40 nmol uygulamasında, 60. dakikada geçici bir etki gözlenirken S1 uygulamasında ise anlamlı bir değişiklik saptanmadı. GAERS'lerde, oreksin-2 agonisti YNT-185'in İSV uygulaması sonrası ortaya çıkan DDD süre ve sayısını azaltıcı etkinin VB veya S1 bölgelerine enjeksiyon sonrası görülmemesi; bu etkinin farklı bir bölgeden veya farklı reseptör aktivitelerinden kaynaklanıyor olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız, YNT-185'in GAERS'lerde DDD üzerine etkisini değerlendiren ilk çalışmadır.

Anahtar Sözcükler: Absans epilepsisi, YNT-185, İntraserebroventriküler, Somatosensoriyel korteks, Ventrobazal kompleks.

ABSTRACT

The Effect of Orexin-2 Receptor Agonist YNT-185 Application on Absence Epilepsy

Absence epilepsy is a subtype characterized by 2.5–4 Hz spike-and-slow-wave discharges (SWDs) on EEG, typically occurring in childhood/adolescence. Pathogenesis involves cortico-thalamo-cortical network dysfunction which region also manage the sleep spindles. Orexins, synthesized in the lateral hypothalamus, regulate sleep spindles. This study investigated the effects of intracerebroventricular (ICV), thalamic (VB), or cortical (S1) YNT-185 different doses administration on SWDs in rats. Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) underwent stereotaxic surgery to implant ICV, VB, or S1 guide cannulae and EEG electrodes. After one week, baseline EEG was recorded for 3 hours. YNT-185 was administered at varying doses (ICV/VB/S1), followed by 3-hour post-injection EEG. SWD duration/frequency was statistically compared. ICV YNT-185 (600 nmol) significantly reduced SWD duration at 40–140 min ($p < 0.05$), while 100 and 300 nmol doses showed limited effects. VB injection (40 nmol) induced transient suppression at 60 min, whereas S1 administration had no significant effect. Efficacy was dose- and region-dependent. The anti-seizure effects of the orexin-2 agonist YNT-185 were dose- and region-dependent, with the most pronounced results observed after high-dose ICV administration. The lack of effects in VB or S1 suggests that the observed effects may originate from a different region or target area within the same tissues. This study is the first to evaluate the effects of YNT-185 on SWDs in GAERS rats.

Keywords: Absence epilepsy, YNT-185, Intracerebroventricular, Somatosensory cortex, Ventrobasal complex.

1 GİRİŞ VE AMAÇ

1.1 Giriş

Absans epilepsisi, genellikle çocukluk döneminde başlayıp yetişkinliğe kadar devam edebilen, bilinç kaybı, donakalma ve kısa süreli farkındalık kayıpları ile karakterize nöbetlerle seyreden epilepsi türüdür. Nöbetler, birkaç saniye sürer ve motor belirtiler genellikle minimaldir. EEG’de 2,5-4 Hz frekansında düzenli diken-veyavaş-dalga deşarjları (DDD) görülmesi tipiktir. Bu deşarjlar, frontal beyin bölgesinde belirgindir ve kortiko-talamo-kortikal döngüdeki senkronize osilasyonlarla ilişkilidir. Hastalığın kökeninde genetik yatkınlık, metabolik bozukluklar ve nörotransmitter dengesizlikleri gibi çeşitli faktörler rol oynar.

Absans nöbetleri için güncel tedaviler mevcut olsa da, hem yan etkileri hem hasta gruplarının klinik bulgularındaki heterojenite yeni terapötik yaklaşımların ihtiyacını ortaya koymaktadır. Oreksin (hipokretin) sistemi, uyku-uyanıklık döngüsünü düzenlemesinin yanı sıra epileptik aktiviteyi de modüle edebilmektedir. Bu nedenle, oreksin reseptör agonistleri ve antagonistleri potansiyel tedavi seçenekleri olarak araştırılmaktadır.

Absans epilepsisi çalışmalarında sıklıkla kullanılan Strasbourg kökenli genetik absans epilepsili sıçanlar (GAERS), patogenezi incelemek ve yeni ilaç aday molekülerini değerlendirmek için ideal bir deneysel sistem sunar.

Yapılan çalışmalar, oreksin sisteminin absans epilepsisinde anti-nöbet etkiler gösterebileceğine işaret etmektedir.

Bu araştırma kapsamında, GAERS modelinde YNT-185’in farklı beyin bölgelerindeki etkilerinin incelenmesi, absans epilepsi ve oreksin sistemi arasındaki karmaşık ilişkiyi aydınlatmayı hedeflemektedir. Bu bulguların, özellikle dirençli absans nöbetleri için yeni terapötik seçeneklerin geliştirilmesine katkı sağlaması beklenmektedir.

1.2 Amaç

Bu doktora tezi çalışması, nörolojik bozukluklar arasında önemli bir yer tutan absans epilepsisinin henüz tam olarak aydınlatılamamış mekanizmalarına ışık tutmayı hedeflemektedir. Özellikle son yıllarda yapılan klinik ve deneysel çalışmalar, absans epilepsisi ile uyku-uyanıklık döngüsü arasında dikkat çekici bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu bağlamda çalışmamız, sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde kilit rol oynayan oreksinerjik sistemin absans epileptogenezdeki olası etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemeyi amaçlamaktadır.

Bu çalışma, GAERS'te oreksinerjik sistemin absans epilepsisi patogenezindeki rolünü sistematik olarak değerlendiren öncü çalışmalardan biridir. Literatürde nöropeptitler ve absans epilepsisi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların sınırlı sayıda olması, bu araştırmanın önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızın özgün değeri, birkaç kritik noktada yoğunlaşmaktadır:

1. Absans epilepsisinde oreksinerjik sistemin rolünün deneysel olarak gösterilmesi,
2. Selektif oreksin-2 reseptör agonistlerinin nöbet kontrolündeki potansiyel etkilerinin belirlenmesi,
3. Absans epilepsisi aktiviteleri ile oreksin arasındaki karmaşık etkileşimlerin değerlendirilmesidir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Epilepsi: Güncel Tanımlar, Sınıflandırmalar ve Epidemiyolojik Veriler

Epilepsi, santral sinir sisteminde (SSS) nöronal ağların anormal senkronizasyonu sonucu ortaya çıkan, tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize kompleks bir nörolojik bozukluktur (1). Bu durum sadece nörobiyolojik değil, aynı zamanda bilişsel işlevler, psikolojik durum ve sosyal yaşam üzerinde önemli etkileri olan kronik bir hastalıktır (1-4). Patofizyolojik olarak, kortikal ve subkortikal nöron gruplarında ani elektriksel deşarjların ortaya çıkmasıyla karakterizedir.

2.1.1 Tanı kriterleri ve epidemiyoloji

2014 yılında Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliği (*International League Against Epilepsy*; ILAE) tarafından güncellenen tanı kriterlerine göre epilepsi (3):

- 1- En az 24 saat arayla iki uyarılmamış nöbet geçirmesi,
- 2- Bir nöbet sonrası %60'ın üzerinde tekrarlama riski taşıması,
- 3- Spesifik bir epilepsi sendromunun varlığı ile tanımlanır.

Dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişiyi etkileyen bu hastalık, her yaşta ve her iki cinsiyette eşit oranda görülebilmektedir(2-5). Özellikle çocukluk çağı ve ileri yaşlarda insidans artışı gözlenmektedir (5).

2.1.2 Epilepsi sınıflandırması

Epilepsi bilgileri antik çağlara kadar uzanmakla birlikte, modern tıptaki sınıflandırmalar:

- a) 1981 ILAE Sınıflandırması: Temel olarak fokal ve jeneralize nöbet ayrımı yapmıştır (6).
- b) 2017 ILAE Revizyonu: Daha kapsamlı bir yaklaşım getirerek epilepsi tiplerini; nöbet başlangıç tipi, bilinç durumu ve motor/non-motor özellikler temelinde sınıflandırmıştır (2).

- c) 2025 ILAE Revizyonu: 2025'te güncellenen ILAE nöbet sınıflandırması, 2017 versiyonunun klinik uygulamadaki zorlukları ve çeviri sorunlarını gidermek için revize edilmiştir. Temel yapı korunmuş, ancak odak nöbet terminolojisi ve bilinç değerlendirmesi gibi detaylar, hem birinci basamak hem de uzmanlık düzeyinde kullanımı kolaylaştıracak şekilde iyileştirilmiştir (7).

Güncel sınıflandırma yaklaşımları aşağıdaki gibidir (Şekil 1):

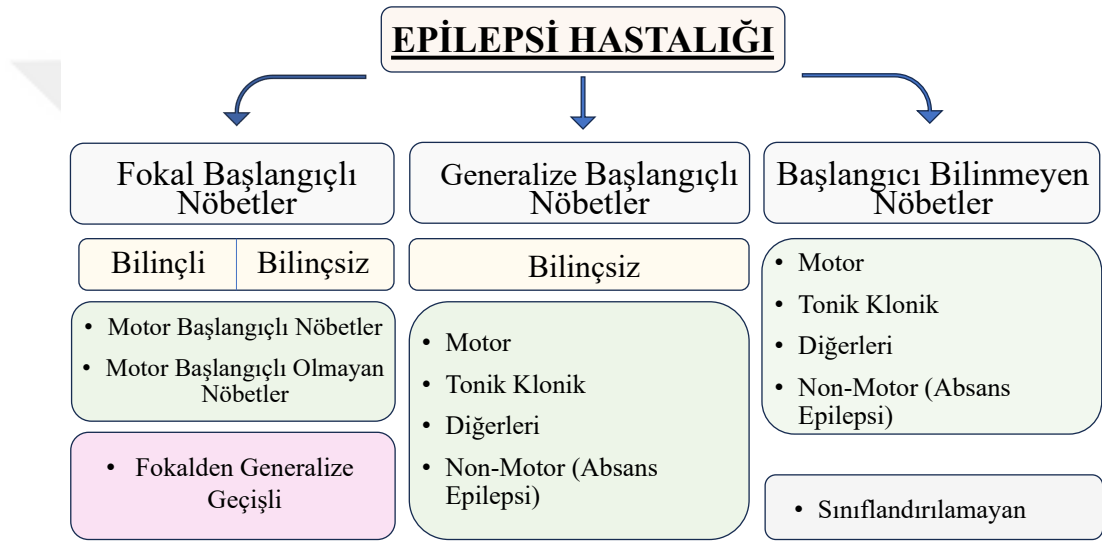
- a. Fokal başlangıçlı nöbetler:
 - a.1. Motor belirtili (klonik, tonik, epileptik spazmlar)
 - a.2. Non-motor belirtili (duysal, otonomik, bilişsel)
 - a.3. Bilinç bozukluğu eşlik eden/etmeyen
- b. Jeneralize nöbetler:
 - b.1. Tonik-klonik
 - b.2. Absans
 - b.3. Miyoklonik
 - b.4. Atipik absans
- c. Bilinmeyen başlangıçlı nöbetler

Epilepsi tanısında kullanılan yöntemler arasında en önemli araç elektroensefalografi (EEG) olarak kabul edilmektedir (8). EEG, beyin dalgalarının kaydını yaparak epileptik aktivitenin tespitine olanak sağlar (8-10). Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ise epilepsiye neden olabilecek yapısal beyin lezyonlarının belirlenmesinde kullanılan bir diğer önemli tanı yöntemidir (11). Özellikle çocukluk çağı epilepsi sendromlarında genetik testler tanısal değer taşımaktadır. Uzun süreli video-EEG monitorizasyonu ise nöbet tipinin kesin olarak belirlenmesi ve epileptik odağın lokalizasyonu açısından kritik öneme sahiptir (12).

Epilepsi tedavisinde en yaygın kullanılan yöntem farmakoterapidir ve uygun ilaç seçimiyle hastaların yaklaşık %70'inde nöbet kontrolü sağlanabilmektedir (13-16). İlaç tedavisine dirençli vakalarda ise cerrahi tedavi seçenekleri değerlendirilmektedir (17). Ketojenik diyet gibi özel beslenme programları, özellikle çocuk hastalarda alternatif tedavi seçeneği olarak uygulanmaktadır (18-21). Son yıllarda gelişen

nöromodülasyon teknikleri arasında vagus sinir stimülasyonu, epilepsi tedavisinde umut verici bir yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır (22-25).

Bu bilgiler ışığında epilepsinin tanı ve tedavisinin nöroloji, radyoloji, genetik, beslenme ve cerrahi gibi farklı disiplinlerin iş birliğini gerektiren karmaşık bir süreç olduğu anlaşılmaktadır. Günümüzde yürütülen araştırmalar, epilepsinin altında yatan mekanizmaların daha iyi anlaşılmasına ve hastaya özel tedavi stratejilerinin geliştirilmesine odaklanmış durumdadır. Bu çabalar, epilepsi hastalarının yaşam kalitesini artırmayı ve tedavi başarısını yükseltmeyi hedeflemektedir.



Şekil 1. Epilepsi hastalığının sınıflandırması

Bu şema, Uluslararası Epilepsi Birliği'nin (ILAE) 2025 sınıflandırmasına göre epileptik nöbet tiplerinin sınıflandırılmasını temsil etmektedir. Nöbetler başlangıç özelliklerine göre üç ana gruba ayrılmıştır.

2.1.2.1 Epilepsinin tarihçesi

Epilepsi, insanlık tarihi kadar eski bir hastalık olarak binlerce yıldır bilinmektedir. Yunanca "tutulma" veya "yakalanma" anlamına gelen bu hastalık, halk arasında "sara" olarak da adlandırılmaktadır (26, 27). Tarih boyunca farklı kültürlerde farklı şekillerde yorumlanan epilepsi, antik çağlarda ilahi bir ceza veya kötü ruhların eseri olarak görülürken, modern tıp sayesinde artık nörolojik bir bozukluk olarak kabul edilmektedir (26, 27).

Epilepsinin yazılı tarihi milattan önce (MÖ) 2000'lere dayanmaktadır (26, 27). Mezopotamya'da bulunan Babil tabletlerinde epilepsi nöbetlerinin ayrıntılı tanımları yer almaktadır. Antik Yunan'da Hipokrat, epilepsinin beyin kaynaklı bir hastalık olduğunu ileri sürmüş ve bu görüşüyle döneminin çok ötesinde bir anlayış sergilemiştir (26, 27).

Orta çağ İslam dünyasında ise İbn-i Sina ve Razi gibi hekimler epilepsiyi detaylı şekilde incelemişlerdir (26, 27).

19. yüzyıl, epilepsi araştırmalarında bir dönüm noktası olmuştur. Bu dönemde epilepsinin beyindeki yapısal bozukluklarla ilişkisi anlaşılmaya başlanmıştır. 20. yüzyılda ise EEG'nin keşfi ve anti-nöbet ilaçların geliştirilmesi, epilepsi tedavisinde devrim niteliğinde gelişmelere yol açmıştır (26, 27).

Günümüzde epilepsi tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Modern tanı yöntemleri sayesinde epilepsi türleri çok daha net şekilde ayırt edilebilmekte ve kişiye özel tedavi planları oluşturulabilmektedir.

MRG, pozitron emisyon tomografisi (PET) ve gelişmiş EEG teknikleri tanıda büyük kolaylık sağlamaktadır. Tedavi alanında ise yeni nesil ilaçlar, cerrahi yöntemler ve nöromodülasyon teknikleri hastalar için umut verici seçenekler sunmaktadır.

Epilepsi araştırmaları günümüzde de hız kesmeden devam etmektedir. Genetik çalışmalar, beyin-bilgisayar arayüzleri ve hedefe yönelik tedaviler, epilepsiyle mücadelede yeni ufuklar açmaktadır.

Tarih boyunca yanlış anlaşılan ve damgalanan bu hastalık, artık modern tıbbın ışığında çok daha iyi anlaşılmakta ve kontrol altına alınabilmektedir. Özellikle nöroplastisite ve ilaç direnci üzerine yapılan ve ileride yapılabilecek çalışmalar, epilepsi nöbetlerinin önlenmesinde umut verici tedavi yaklaşımlarına hizmet edecektir.

2.2 Epilepside Nöronal Uyarılabilirlik Mekanizmaları ve Modern Tedavi Yaklaşımları

Epilepsi, beyindeki nöronların anormal ve aşırı elektriksel aktivitesi sonucu ortaya çıkan bir nörolojik bozukluktur (1-4). Bu durumun temelinde yatan mekanizmalar, son yıllarda yapılan araştırmalarla giderek daha iyi anlaşılmaktadır.

19. yüzyılda John Hughlings Jackson'ın yaptığı çalışmalar, epileptik nöbetlerin beyinde belirli bir odaktan başlayarak yayıldığını göstermiştir (28-30). Günümüzde bu görüş, moleküler düzeydeki bulgularla desteklenmektedir (31-35). Epilepsi oluşumunda en önemli faktörlerden biri, nöronlar arası iletişimi sağlayan sinapslardaki dengesizliktir (28-30, 32-35). Bu durum, eksitator ve inhibitör sistem arasındaki dengenin bozulduğuna işaret etmektedir.

Beyinde bulunan ana nörotransmitterlerden Gama amino bütirik asit (GABA) ve adenosin, inhibitör sistemin parçasıdır (36, 37). Glutamat ise uyarıcı sistemin temel taşıdır (38, 39).

Dopamin, serotonin, oreksin, noradrenalin ve asetilkolin gibi diğer nörotransmitterler de bu dengenin sağlanmasında yardımcı rol oynarlar (40-42). Yapılan deneyler, genellikle GABAerjik sistemi baskılayan veya glutamaterjik sistemi aşırı uyaran maddelerin nöbetleri tetiklediğini göstermiştir (36, 37). Tam tersine, GABA sistemini güçlendiren maddeler ise nöbetleri engelleyebilmektedir (36, 37).

Nöronların uyarılabilirliğindeki artış, hücre zarındaki iyon kanallarındaki değişikliklerle yakından ilişkilidir (43). Sodyum ve kalsiyum iyonlarının hücre içine aşırı girişi, nöronları daha kolay uyarılabilir hale getirir (43-46). Potasyum ve klor iyonlarındaki değişimler ise inhibisyon mekanizmalarını etkiler (47-49). Özellikle sodyum kanallarındaki genetik mutasyonların bazı epilepsi türlerine yol açtığı bilinmektedir (50-53).

Bu temel bilgiler ışığında geliştirilen modern anti-nöbet ilaçlar, çeşitli mekanizmalarla etki gösterir. Karbamazepin, fenitoin ve lamotrijin gibi ilaçlar sodyum kanallarını bloke ederek nöronların aşırı uyarılmasını engeller (54-56).

Benzodiazepinler ve barbitüratlar gibi ilaçlar ise GABA sistemini güçlendirerek inhibisyonu artırır (54-56).

Son yıllarda epilepsi tedavisinde önemli gelişmeler yaşanmaktadır. Genetik araştırmalar sayesinde bazı epilepsi türlerinin altında yatan genetik nedenler belirlenebilmekte ve buna yönelik kişiselleştirilmiş tedaviler geliştirilebilmektedir. Ayrıca beyin pili (nörostimülasyon) gibi yöntemler, ilaç tedavisine yanıt vermeyen hastalar için umut verici seçenekler sunmaktadır.

Epilepsi araştırmalarındaki bu hızlı gelişme, hastalığın daha iyi anlaşılmasını ve daha etkili tedavilerin geliştirilmesini sağlamaktadır (57-59). Önümüzdeki yıllarda, epilepsi tedavisinde çığır açacak yeni yaklaşımların ortaya çıkması beklenmektedir (60-62).

2.3 Epileptogenez

Epilepsi oluşum süreci (epileptogenez), klinik nöbetler başlamadan önce beyinde meydana gelen karmaşık biyolojik değişiklikleri kapsar (63-66).

Bu süreç, saatlerden yıllara kadar değişen bir latent dönemi içerir ve sonunda spontan nöbetlerle karakterize epilepsi hastalığı ortaya çıkar (63-66). Günümüzde epilepsi tanısı ancak nöbetler başladıktan sonra konulabilmekte, bu da tedaviye başlamada gecikmelere yol açmaktadır (63-66).

Deneyisel modeller, epileptogenezin gelişimsel temellerini açığa çıkarmıştır. Örneğin, absans epilepsi modeli GAERS’lerde, tipik EEG deşarjları doğumdan sonraki 30-90 gün içinde kademeli olarak ortaya çıkar (67-69). Bu bulgu, kortiko-talamo-kortikal devrelerin olgunlaşmasıyla paralellik gösterir (67-69).

Postnatal dönemde tamamlanan sinaptik bağlantılar ve nöronal ağların olgunlaşması, epileptik aktivitenin ortaya çıkışında kritik rol oynar (67-69).

Bu süreç, beyin gelişimindeki bu kritik “pencere” dönemlerinin epileptik aktivitenin başlangıcı üzerindeki belirleyici rolünü ortaya koymaktadır.

2.3.1 Nöronal kayıplar ve aksonal yeniden yapılanma

Epileptogenez sırasında belirli nöron popülasyonlarında kayıplar meydana gelir. Aynı zamanda, aksonlar yeniden yapılanarak anormal bağlantılar oluşturur ve bu da nöral ağlarda aşırı uyarılabilirliğe yol açar.

2.3.2 Glial hücre aktivasyonu ve nöroinflamasyon

Mikroglia ve astrositler gibi glial hücreler aktive olarak inflamatuvar sitokinler salgılar. Bu süreç, nöronal hipereksitabilitiyi artırarak epileptik aktiviteyi tetikleyebilir.

2.3.3 İyon kanalı ekspresyonundaki değişiklikler

Nöronal membranlardaki sodyum, potasyum ve kalsiyum kanallarının ekspresyonu bozulur. Bu değişiklikler, hücrenin elektrofizyolojik özelliklerini etkileyerek anormal elektriksel deşarjlara neden olur.

2.3.4 Hücre içi sinyal iletim yollarının bozulması

Hücre içi kalsiyum sinyalleme, protein kinaz aktiviteleri ve diğer sinyal yollarındaki anormallikler, nöronal uyarılabilirliği artırarak epileptik süreçleri destekler.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, epileptogenezde öne çıkan ana mekanizmalar üzerinde durmaktadır:

- a) Nöroinflamasyon; mikroglia aktivasyonu ve sitokin salınımı, temporal lob epilepsisinde nöron kaybı ve gliozis (35, 70-74),
- b) İyon Kanalları; sodyum, potasyum ve kalsiyum kanal mutasyonları epileptogenezin ana mekanizmaları arasında yer almaktadır (75, 76).

Mevcut anti-nöbet ilaçların çoğu, nöbet semptomlarını baskılamaya yöneliktir ve epileptogenez sürecini durduramaz. Bu nedenle, araştırmacılar "antiepileptojenik" tedaviler geliştirmeye odaklanmıştır. Epilepsi tedavisinde geleneksel antiepileptik

ilaçların ötesinde, patojenik mekanizmaları hedef alan yeni terapötik stratejiler geliştirilmektedir. Bu yaklaşımlar şunları içerir:

- a) İnflamatuvar kaskadı hedefleyen biyolojik ajanlar; nöroinflamasyon, epileptogenezde kritik bir rol oynar. Sitokinleri veya mikroglial aktivasyonu baskılayan monoklonal antikolar ve küçük moleküller, nöbet oluşumunu engelleyebilir (70, 77, 78).
- b) Hücre ölümünü engelleyen nöroprotektif maddeler; apoptoz ve nekroptozu inhibe eden bileşikler (örn. kaspaz inhibitörleri), epilepsiye bağlı nöronal kayıpları azaltarak hastalığın progresyonunu yavaşlatabilir (48, 79).
- c) Aksonal yeniden yapılanmayı düzenleyen moleküller; anormal sinaptik plastisiteyi düzelter veya aksonal rejenerasyonu teşvik eden faktörler (örn. BDNF), nöral devrelerin işlevsel yeniden yapılanmasını sağlayabilir (80, 81).
- d) Epigenetik modifikasyonları hedef alan tedaviler; DNA metilasyonu veya histon modifikasyonlarını düzenleyen ajanlar, epilepsiyle ilişkili gen ekspresyon değişikliklerini tersine çevirebilir (58, 59, 82).

Biyobelirteç araştırmaları, epileptogenezin erken teşhisi için umut vaat etmektedir (83-85). Kan-beyin bariyeri proteinleri, inflamatuvar belirteçler ve ekzozomal mikroRNA'lar gibi potansiyel biyobelirteç adayları üzerinde çalışmalar devam etmektedir (83-88).

Epileptogenezin anlaşılması, sadece epilepsi tedavisi için değil, aynı zamanda beyin hasarı sonrası nöroproteksiyon stratejileri geliştirmek için de kritik öneme sahiptir. Bu alandaki gelişmeler, epilepsi önleyici tedavilerin klinik uygulamaya girmesiyle sonuçlanabilir ve milyonlarca hastanın yaşam kalitesini iyileştirebilir.

2.4.1 Akut ve kronik nöbet modelleri

2.4.1.1 Akut nöbet modelleri

2.4.1.1.1 Kimyasal uyarıcılarla oluşturulan bazı modeller

Pentilenetetrazol (PTZ) GABA-A reseptör antagonizması yoluyla yaygın nöbet aktivitesi oluşturur.

Pilokarpin; muskarinik reseptör aktivasyonu ile status epileptikus ve temporal lob epilepsisi benzeri tablo oluşturur.

2.4.1.1.2 Elektriksel uyarım yöntemleri

Maksimal elektroşok (MES); tonik-klonik nöbetleri tetiklerken, kindling; tekrarlı düşük şiddetli uyarımla progresif nöbet duyarlılığını artırır. Bu iki model, epileptogenezin farklı mekanizmalarını incelemek için kullanılarak epileptik süreçleri modellemektedir. Kindling nöbet modeli ayrıca kronik nöbetlerin oluşturulmasında da ayrıca kullanılabilmektedir.

2.4.1.1.3 Metabolik modeller

Hipoksi/hipoglisemi; enerji metabolizması bozukluklarının nöbet tetikleme mekanizmalarını inceler. Yenidoğan epilepsisi ve metabolik ensefalopati çalışmalarında kullanılır.

2.4.1.2 Kronik epilepsi modelleri

2.4.1.2.1 Temporal lob epilepsi modelleri

Kainik asit/pilokarpin; status epileptikus sonrası spontan rekürren nöbetlerle karakterizedir. Hipokampal skleroz ve nöronal kayıp gibi insan epilepsisini taklit eder.

2.4.1.2.2 Post-travmatik epilepsi modelleri

Kafa travması veya kortikal yaralanma sonrası gelişen geç başlangıçlı nöbetler; travmatik beyin hasarına bağlı epilepside patomekanizmaları aydınlatır.

2.4.1.2.3 Genetik modeller

GAERS/WAG/Rij; spontan absans nöbetleri gösterir. İdiyopatik epilepsinin genetik temelini araştırmada kritik rol oynar.

2.4.2 İdeal epilepsi modelinin özellikleri

İdeal bir epilepsi modeli belirlemek, epilepsi araştırmalarının temel taşlarından biridir. Çünkü doğru bir model, hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasına, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine ve nöbet mekanizmalarının daha iyi incelenmesine olanak sağlar. İyi tanımlanmış bir epilepsi modeli, klinik bulgularla uyumlu olmalı, tekrarlanabilir sonuçlar vermeli ve farklı araştırma grupları tarafından kullanılabilir olmalıdır. Ayrıca, epileptogenez sürecini (nöbetlerin ortaya çıkışı, gelişimi ve kronikleşmesi) yansıtmalı, farmakolojik direnç gibi klinik özellikleri taklit edebilmesi ve translasyonel (klinik öncesinden klinik çalışmalara) geçişi kolaylaştırması da büyük önem taşır. Bu nedenle, ideal bir epilepsi modelinin seçimi, araştırmanın güvenilirliği ve sonuçların klinik uygulanabilirliği açısından kritik bir rol oynar.

2.4.2.1 Klinik benzerlik

İnsanda görülen epileptik nöbetlerin semiyolojik, elektrografik ve patolojik özelliklerini yansıtmalıdır.

2.4.2.2 Farmakolojik yanıt uyumu

İnsanda etkili ilaçların (örn. valproat) modelde de etkili olmalıdır. Farmakorezistans modellerinde ilaç direncinin gösterilebilmelidir.

2.4.2.3 Teknik standartlar

Yüksek tekrarlanabilirliğe, deneyler arası minimal varyasyona sahip olmalıdır. Uygulama dozları ve zamanlamaların optimize edilebilmesi standart bir model elde edilmesi adına önem taşımaktadır.

2.4.2.4 Ölçülebilirlik kriterleri

Nöbet şiddeti skorlamalar yapılabilir. Örneğin, *Racine* skalası gibi objektif skalalar kullanılabilir. Bazı parametrelerle ölçeklendirmeler yapılabilir. Örneğin, EEG’de diken-ve-yavaş-dalga deşarjları (DDD) sıklığı ve süresi belirlenebilir.

Akut modeller ilaç taraması için pratik olsa da, kronik modeller epileptogenezin uzun vadeli dinamiklerini daha iyi yansıtır. Genetik modeller ise kişiselleştirilmiş tedavi stratejileri geliştirmede öne çıkar. İdeal model seçimi, araştırma sorusuna göre şekillenir.

Son yıllarda deneysel modellerde önemli gelişmeler yaşanmaktadır. Bunlar arasında genetik mühendisliği uygulamaları, CRISPR-Cas9 teknolojisi kullanılarak spesifik mutasyon modellerinin oluşturulması yer almaktadır (93). Ayrıca, optogenetik yaklaşımlarla belirli nöron popülasyonlarının hedeflenmesi mümkün hale gelmiştir (94-97). İnsan kaynaklı organoid modelleri sayesinde hastalara özgü epilepsi modelleri geliştirilmekte, yapay zeka destekli davranış analizleriyle de nöbetlerin otomatik olarak tespiti sağlanmaktadır (98, 99).

Yeni anti-nöbet ilaçların keşfi, ilaç direncinin aydınlatılması, epileptogenez sürecinin önlenmesinin hedeflenmesi ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi, deneysel modellerin klinik uygulamalara katkıları arasındadır.

Günümüzde özellikle genetik epilepsi modelleri, insan epilepsisinin patofizyolojisini anlamada ve hastalık modifiye edici tedaviler geliştirmede kritik rol oynamaktadır. Bu modeller sayesinde, sadece nöbetleri baskılamakla kalmayıp, epilepsi gelişimini önleyebilecek yeni terapötik stratejiler üzerinde çalışılmaktadır.

Deneysel epilepsi modellerindeki bu ilerlemeler, yakın gelecekte daha etkili ve güvenli tedavi seçeneklerinin klinik kullanıma girmesine olanak sağlayacaktır. Özellikle genetik temelli kişiselleştirilmiş tedaviler ve hastalık modifikasyonu yaklaşımları, epilepsi tedavisinde yeni bir çağ açma potansiyeli taşımaktadır.

2.5 Absans Epilepsisi

Absans epilepsisi, çocukluk ve ergenlik döneminde görülen bir epilepsi türüdür. Bu hastalık, kısa süreli dalma nöbetleriyle kendini gösterir. Hastalar nöbet sırasında çevrelerinin farkında olmazlar, ancak nöbet bitiminde normal aktivitelerine devam ederler (100, 101).

Tarihsel olarak bakıldığında, bu hastalık ilk kez 1700'lü yıllarda tanımlanmıştır. Fransız hekimler tarafından "absans" (yokluk) ve "*petit mal*" (küçük hastalık) terimleri kullanılmıştır (102). Günümüzde ise ILAE tarafından daha detaylı bir sınıflandırma yapılmaktadır (2, 7).

Absans nöbetlerinin en önemli özelliği EEG'de görülen 2,5-4 Hz'lik DDD aktivitesidir (100, 101). Bu elektriksel aktivite, beyinde normal çalışmayan bir devrenin varlığını gösterir (100, 101). Özellikle korteks ile talamus arasındaki bağlantıların bu nöbetlerde önemli rol oynadığı bilinmektedir (101, 103-106).

Absans epilepsisinin patofizyolojik nöronal devrelerin işlev bozukluğu rol oynarken, bu bulgu hem tanı kriterlerini (DDD paterni) hem de tedavi hedeflerini (nöronal senkronizasyon modülasyonu) şekillendirmektedir.

2.5.1 Absans epilepsisi patogenezinde yer alan ana mekanizmalar

2.5.1.1 Talamus ve korteks arasındaki iletişim bozukluğu

Absans nöbetlerinde EEG'de karakteristik olarak gözlenen 2,5-4 Hz DDD, kortiko-talamo-kortikal devrelerin anormal senkronizasyonu sonucu ortaya çıkar.

Talamustaki retiküler nükleus nöronlarının aşırı aktivitesi, kortikal bölgelerle olan ritmik etkileşim, nöbetlere yol açar. Bu durum, özellikle GAERS gibi genetik modellerde belirgindir.

2.5.1.2 Nöronlardaki kalsiyum kanallarının düzensiz çalışması

T-tipi kalsiyum kanalları (Cav3.1/Cav3.2), talamik nöronlarda düşük eşikli kalsiyum akımını sağlar. Bu kanalların aşırı ekspresyonu veya disfonksiyonu, talamik

osilatör aktiviteyi artırarak DDD oluşumunu tetikler. Etosüksimid gibi ilaçlar, T-tipi kanalları bloke ederek nöbetleri baskılar.

2.5.1.3 Beyindeki inhibitör sistemin yetersizliği

GABAerjik inhibisyonun azalması, özellikle talamik retiküler nükleustaki GABA-B reseptör fonksiyon bozukluğu, nöronal hipereksitabiliteye katkıda bulunur. Glutamaterjik sinyalin aşırı artışı, eksitasyon/inhibisyon dengesini bozar.

Bu üç ana faktör, kortiko-talamo-kortikal devrelerde anormal ritmik aktiviteye neden olarak, tipik donakalma nöbetlerine ve EEG'de DDD paternine yol açar. Mekanizmaların kesişimi, tedavide çoklu hedef yaklaşımını gerekli kılar.

Tedavide genellikle etosüksimid veya valproik asit gibi ilaçlar kullanılır (107-109). Bu ilaçlar, beyindeki anormal elektriksel aktiviteyi düzenleyerek nöbetleri kontrol altına alır (107-109). Son yıllarda yapılan araştırmalar, özellikle genetik faktörler üzerinde yoğunlaşmıştır (110, 111). Bazı ailelerde bu hastalığın daha sık görülmesi, genetik yatkınlığın önemini göstermektedir (112, 113).

Bazı hastalarda ergenlik döneminde nöbetlerin azalması veya kaybolması mümkün olsa da, tedaviye dirençli vakalar da görülebilmektedir (114). Mevcut ilaç tedavileri, bazı hastalarda yan etkilere sebep olabilir veya nöbetler üzerinde yetersiz kontrol sağlayabilir. Bu nedenle, daha etkili ve güvenli tedavi stratejileri geliştirmek için yeni araştırmalara ihtiyaç vardır.

2.5.2 Absans epilepsisi patogenezi

Absans epilepsisi, özellikle kortiko-talamo-kortikal döngünün bozukluğundan kaynaklanır (Şekil 3) (101, 104-106, 115-117). Normalde bu bölgeler arasında dengeli bir elektriksel aktivite varken, absans epilepsisinde bu sistem bozulur ve tipik DDD ortaya çıkar. Bu dalgalar sırasında hasta kısa süreli bilinç kaybı yaşar ve çevresine tepkisiz kalır.

Bu hastalığın ortaya çıkmasında genetik faktörler önemli rol oynar. Bazı ailelerde daha sık görülmesi, kalıtsal yönü olduğunu gösterir (110-113). Özellikle

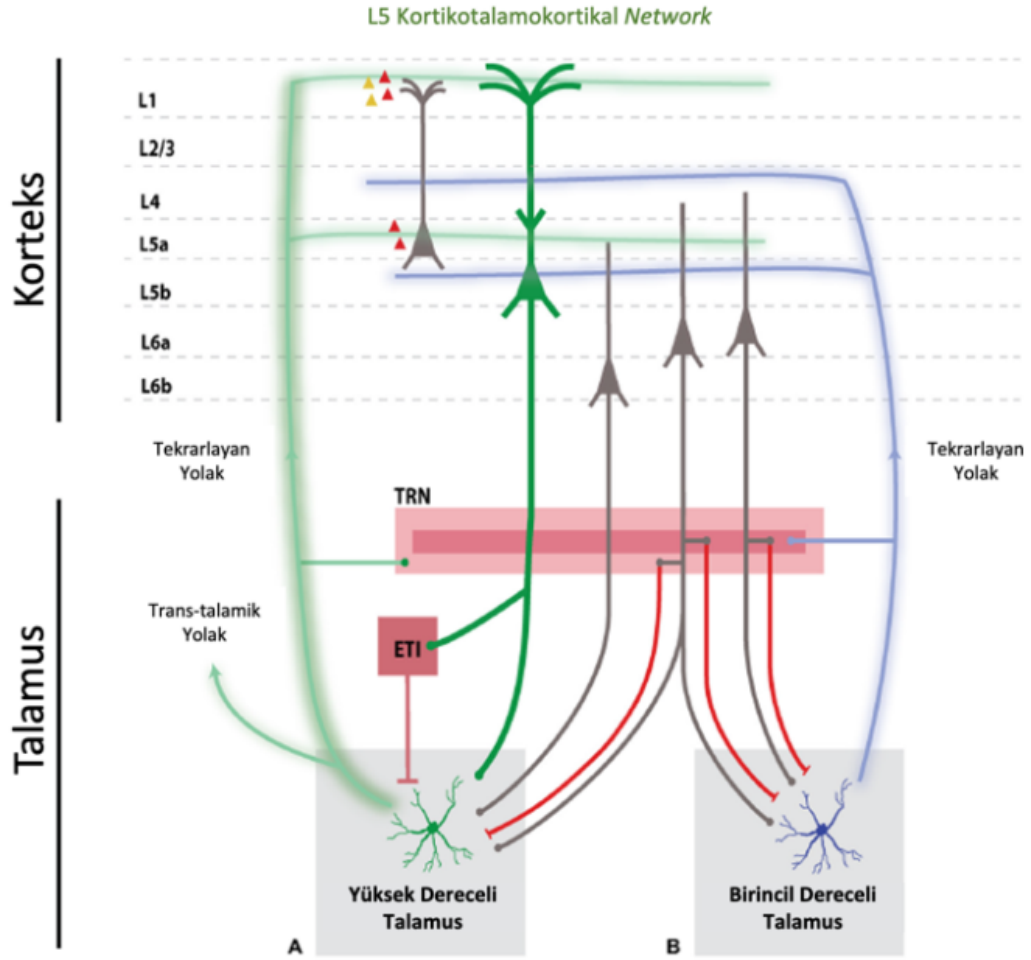
nöronlardaki hücrelerindeki kalsiyum ve sodyum kanallarını kontrol eden genlerdeki bozukluklar, sinir hücrelerinin aşırı uyarılmasına yol açar (118-121). Ayrıca absans epilepsisi patogeneğinde GABAerjik sistemin de önemli rol aldığı ifade edilmektedir.

Beyindeki nöromodülatör dengenin bozulması da absans nöbetlerini tetikleyebilir (122-124). Normalde eksitator ve inhibitör sistemler arasında hassas bir denge vardır (122-124). Ancak bu dengenin bozulması, özellikle talamus bölgesindeki nöronların kontrolsüz şekilde ateşlenmesine neden olur (122-124). Bu durum, bir elektrik devresindeki kısa devreye benzetilebilir. Sonuç olarak beyin normal işlevlerini yerine getiremez ve nöbetler ortaya çıkar.

Bu hastalığın mekanizmalarını anlamak için bilim insanları çeşitli hayvan modelleri kullanır (68, 125-127). Örneğin, genetik olarak absans epilepsisi geliştiren rodentler üzerinde yapılan çalışmalar, hastalığın temelindeki bozuklukları aydınlatmaya yardımcı olur (68, 125-127).

Bu deneysel modeller (MES ve kindling), mevcut antiepileptik ilaçların etki mekanizmalarının aydınlatılmasında ve yeni terapötik moleküllerin keşfinde kritik rol oynamaktadır.

Ancak klinik uygulamada, farmakorezistan hastalarda ilaçların etkinliğini kaybetmesi, uzun dönem kullanımda ortaya çıkan kognitif yan etkiler ve refrakter nöbetlerin kontrol altına alınamaması gibi sınırlamalar, hedefe yönelik kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Özellikle dirençli vakalarda, mevcut tedavi seçeneklerinin yetersiz kalması ve hastaların yaşam kalitesinin ciddi şekilde düşmesi, yeni terapötik yaklaşımların acilen geliştirilmesini gerektirmektedir. Bu nedenle, bireyselleştirilmiş tedavi protokolleri ve nöromodülasyon teknikleri gibi yenilikçi yöntemlerin klinik kullanıma entegre edilmesi, yeni tedavi adaylarının değerlendirilmesi; hem tedavi başarısını artırmak hem de yan etki profilini minimize etmek açısından büyük önem taşımaktadır.



Şekil 3. Absans epilepsisi patogenezinde kortiko-talamo-kortikal döngü
 Bu şema, korteks ve talamus arasındaki ana bağlantı yollarını ve yapısal organizasyonu göstermektedir. Korteksin katmanları (L1-L6b), talamik çekirdekler ve bunlar arasındaki bağlantı yolları detaylı olarak işaretlenmiştir.

Bu mekanizmaların daha iyi anlaşılması, gelecekte daha hedefe yönelik ve kişiselleştirilmiş tedavilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Özellikle genetik araştırmalar ve nöral mekanizmaların detaylı incelenmesi, yeni tedavi seçeneklerinin önünü açabilir.

2.5.3 Absans epilepsisi deneysel modelleri

Absans epilepsi araştırmalarında, patofizyolojik mekanizmaları incelemek için genetik ve farmakolojik modeller yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modeller arasında en sık tercih edilenler, GAERS (68, 69, 128-130) ve Rijswijk kökenli WAG/Rij (*Wistar Albino Glaxo from Rijswijk*) (131, 132) sıçanlarıdır. Bu hayvan modelleri, insanlardaki absans nöbetlerinin elektrofizyolojik ve davranışsal

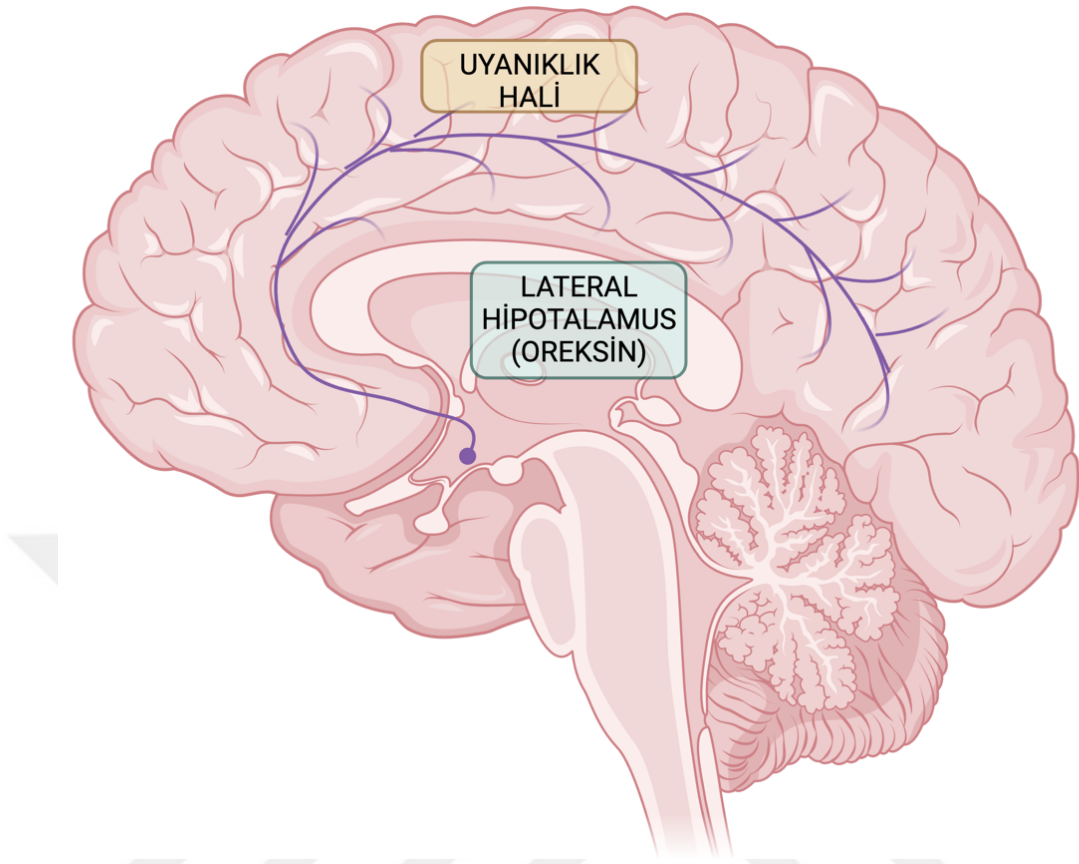
özelliklerini büyük ölçüde taklit eder (68, 69, 128-133). EEG kayıtlarında 7-11 Hz aralığında spontan DDD gözlenir ve bu sırada hayvanlarda hareketsizlik, dalma nöbetleri ve bıyık hareketleri gibi klinik bulgular ortaya çıkar (68, 69, 128-133). Bu deşarjların diken komponenti eksitator, dalga komponenti ise inhibitör postsinaptik potansiyelleri yansıtır, bu da talamokortikal devrelerdeki anormal senkronizasyonu gösterir (68, 69, 128-133).

Kimyasal olarak indüklenen absans modelleri de yaygın şekilde kullanılmaktadır. Penisilin, düşük doz pentilenetetrazol (PTZ), kolesterol sentez inhibitörü AY9944 ve gama hidroksibutirat (GHB) gibi maddeler, absans benzeri nöbetler oluşturmak için kullanılır (125, 134-136). Özellikle GHB, bir GABA metaboliti olarak, insandaki jeneralize absans nöbetlerine benzer elektrografik ve davranışsal özellikler üretir (137). Bu modeller, ilaç keşfi ve patofizyolojik mekanizmaların aydınlatılması açısından önemli bir araçtır.

Son yıllarda, voltaj kapılı kalsiyum kanallarındaki mutasyonları içeren genetik fare modelleri de geliştirilmiştir. Bu modellerde, spontan DDD aktivitesi ve buna eşlik eden davranışsal değişiklikler gözlenir. Özellikle Cav3.1 ve Cav3.2 T-tipi kalsiyum kanal genlerindeki mutasyonlar, kortiko-talamo-kortikal devrelerdeki bozuklukları anlamada kritik rol oynar (138-140). GAERS'lerde, nöbetler postnatal 40. günden itibaren ortaya çıkar ve 3 aylıkken tüm hayvanlarda gözlenir. Bu progresif gidişat, insanlardaki absans epilepsinin latent dönemine benzerlik gösterir.

2.6 Oreksinler

Oreksinler (hipokretinler), *lateral* hipotalamusta sentezlenen ve merkezi sinir sisteminde yaygın projeksiyonları olan nöropeptidlerdir (Şekil 4) (141-146). Son araştırmalar, bu sistemin uyku-uyanıklık döngüsü, enerji homeostazisi, bilişsel fonksiyonlar ve duygudurum regülasyonunda kritik roller oynadığını ortaya koymaktadır (141-143, 145, 147-149). İki ana izoform olan oreksin-A ve oreksin-B, farklı yapısal özellikleri ve reseptör afiniteleriyle çeşitli fizyolojik süreçleri modüle eder (150-153).



Şekil 4. Oreksin sisteminin beyinde geniş projeksiyonu

Bu şematik diyagram, uyanıklık halinin düzenlenmesinde lateral hipotalamus ve oreksin (hipokretin) nöronlarının beyinde farklı bölgelere olan projeksiyonlarını göstermektedir.

Oreksin-A, 33 amino asitli bir peptid olup iki disülfid köprüsü içerir ve bu yapısal özellikleri onun biyolojik yarı ömrünü uzatır (150-153). Oreksin-B ise 28 amino asitli lineer bir peptiddir (150-153). Her iki peptid de G proteinine bağlı reseptörler olan oreksin 1 reseptörü (OX1R) ve oreksin 2 reseptörüne (OX2R) bağlanarak etkilerini gösterir (141, 143, 152, 154-156).

Güncel çalışmalar, oreksin sisteminin narkolepsi, obezite, bağımlılık ve anksiyete bozuklukları gibi çeşitli patolojilerle ilişkisini detaylandırmaktadır (141, 143, 157-161). Özellikle narkolepside, oreksin üreten nöronların selektif kaybıyla karakterize olduğu artık kesin olarak bilinmektedir (162-164). Bu bulgu, oreksin sisteminin uyku regülasyonundaki merkezi rolünü vurgulamaktadır.

Oreksin reseptör antagonistleri (örneğin suvoreksant, lemboreksant) günümüzde insomnia tedavisinde kullanılmaktadır (165, 166). Ancak son dönemde bu

bileşiklerin depresyon, madde bağımlılığı ve yeme bozukluklarındaki potansiyel terapötik etkileri üzerine yoğun araştırmalar yapılmaktadır.

Oreksin sisteminin farmakolojik manipülasyonu, nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisinde yeni perspektifler sunmaktadır. Oreksinerjik sistemin bilişsel fonksiyonlar üzerindeki olumlu etkileri, Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif durumlarda terapötik stratejiler geliştirilmesine yol açabilir. Bu alandaki çalışmalar, oreksin sisteminin kompleks regülasyon mekanizmalarını aydınlatmayı ve hedefe yönelik tedaviler geliştirmeyi amaçlamaktadır.

2.6.1 Oreksinerjik sistemin absans epilepsi üzerine etkisi

Son yıllarda yapılan araştırmalar, oreksin sisteminin epilepsi patogenezinde ve ayrıca absans nöbetlerin oluşum mekanizmalarında önemli bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır (133, 155, 167-170). Bu hipotez, oreksinerjik projeksiyonların talamus ve serebral korteks gibi absans epilepside kritik öneme sahip beyin bölgelerinde yoğun şekilde bulunmasıyla desteklenmektedir.

Deneyisel çalışmalar, absans epilepsisi modellerinde oreksin sisteminde önemli değişiklikler olduğunu göstermektedir (133, 170). Özellikle, talamik retiküler çekirdekteki oreksin reseptör ekspresyonundaki değişimlerin, nöbet eşliğini etkileyebileceği düşünülmektedir (167, 171, 172).

Oreksin sisteminin absans epilepsisindeki kesin rolü henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da birkaç potansiyel mekanizma öne sürülmektedir:

- a) Kortiko-talamo-kortikal devrelerin modülasyonu: Oreksinlerin, absans nöbetlerinin oluşumunda kritik rol oynayan kortiko-talamo-kortikal osilasyonları etkileyebileceği düşünülmektedir.
- b) GABAerjik inhibisyon üzerindeki etkiler: Oreksin-A'nın talamik retiküler nükleustaki GABAerjik nöronların aktivitesini artırarak nöbet eşliğini değiştirebileceği gösterilmiştir.
- c) Glutamaterjik transmisyonun düzenlenmesi: Kortikal eksitabilite üzerindeki oreksin etkilerinin nöbet yayılımını etkileyebileceği öne sürülmektedir.

Özellikle, oreksin-A'nın talamik T-tipi kalsiyum kanallarını modüle ederek nöbet aktivitesini etkileyebileceği hipotezi giderek daha fazla dikkat çekmektedir (173, 174). Bu mekanizma, absans epilepsinin temel patofizyolojisiyle doğrudan ilişkilidir ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine yol açabilir.

Sonuç olarak, oreksinerjik sistem ile absans epilepsi arasındaki ilişkiye dair kanıtlar giderek artmaktadır.

Bu alandaki gelecek çalışmalar, hem hastalığın patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacak hem de yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine olanak tanıyacaktır.

2.6.2 Oreksin-2 agonisti olarak YNT-185

YNT-185, OX2R'yi seçici olarak aktive eden deneysel bir bileşiktir. Özellikle uyku-uyanıklık düzenlemesi, bilişsel fonksiyonlar ve metabolik kontrol üzerindeki etkileri nedeniyle araştırmalara konu olmuştur (175, 176). Yapısal olarak küçük bir molekül olan YNT-185, kan-beyin bariyerini geçer ve merkezi sinir sisteminde hedef reseptörleri etkiler (175, 176).

Bu bileşik, adenilat siklaz (AS) aktivasyonu ve hücre içi sinyal yollarını uyararak etki gösterir. Preklinik çalışmalar, YNT-185'in uyanıklığı artırdığını ve bilişsel performansı iyileştirdiğini göstermiştir. Özellikle narkolepsi gibi oreksin sisteminin bozulduğu durumlarda, OX2R aktivasyonunun semptomları hafifletebileceği düşünülmektedir (175, 176).

YNT-185'in en önemli potansiyel kullanım alanı narkolepsi tedavisidir (175, 176). Oreksin nöronlarının kaybıyla karakterize bu hastalıkta, YNT-185'in uyku ataklarını ve katapleksiye azaltabileceği öngörülmektedir (175, 176). Ayrıca Alzheimer ve dikkat eksikliği gibi durumlarda da terapötik fayda sağlayabilir.

Sonuç olarak, oreksin-2 selektif reseptör agonisti olan YNT-185, oreksinerjik sistemi hedefleyen ve patogenez araştırmalarına yeni bir bakış açısı katan, ayrıca tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli bir yaklaşım sunan terapötik aday moleküldür.

2.7 Tez Çalışmasının Amacı

Bu çalışmanın temel amacı, selektif OX2R agonisti YNT-185'in, genetik absans epilepsisi modeli olan GAERS sıçanlarındaki DDD üzerindeki etkilerini sistematik olarak incelemektir. YNT-185'in OX2R üzerindeki yüksek selektivitesi, bu çalışmayı özellikle önemli kılmaktadır, çünkü bu özellik, oreksin sisteminin kortiko-talamo-kortikal devreler üzerindeki modülatör etkilerini net bir şekilde araştırmak için ideal bir farmakolojik araç sunmaktadır.

Araştırmamızda, YNT-185'in etki mekanizmasını daha detaylı anlamak amacıyla, farklı beyin bölgelerine (intraserebroventriküler (İSV), talamus ventro-bazal kompleks (VB) ve primer somatosensoriyel korteks (S1) mikroenjeksiyon yöntemleriyle uygulanması planlanmıştır. Bu çoklu enjeksiyon yaklaşımı, YNT-185'in anti-nöbet etkilerinin anatomik ve nörofizyolojik temellerini ortaya çıkarmayı hedeflemektedir. EEG kayıtlarıyla, DDD üzerindeki potansiyel baskılayıcı veya modüle edici etkiler kantitatif olarak analiz edilmiş ve bu veriler, davranışsal nöbet parametreleriyle korelasyonlu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmanın özgün değeri, oreksin sisteminin absans epilepsi patogenezindeki rolünü deneysel olarak aydınlatmayı ve bu alanda yeni tedavi stratejileri geliştirilmesine yönelik bilimsel kanıt sağlamayı amaçlamasıdır. Mevcut antiepileptik ilaçların önemli bir kısmı, refrakter vakalarda yetersiz kalmakta veya uzun vadede kognitif yan etkilere yol açmaktadır. Bu nedenle, oreksin sisteminin nöromodülatör potansiyelini hedef alan YNT-185 gibi yeni moleküllerin keşfi, refrakter absans epilepsisi olan hastalar için umut vaat edici bir yaklaşım olabilir.

Elde edilecek sonuçlar, özellikle, YNT-185'in absans epilepsisi için anti-nöbet etkinliğinin kanıtlanması durumunda, bu molekülün klinik öncesi ve klinik çalışmalarda daha detaylı incelenmesi ve yeni terapötik molekülün klinikte kullanımı söz konusu olabilir. Bu kapsamda, çalışmanın bulguları, gelecekte hedefe yönelik ve yan etki profili daha düşük antiepileptik ilaçların geliştirilmesine öncülük edebilir.

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Tasarımı

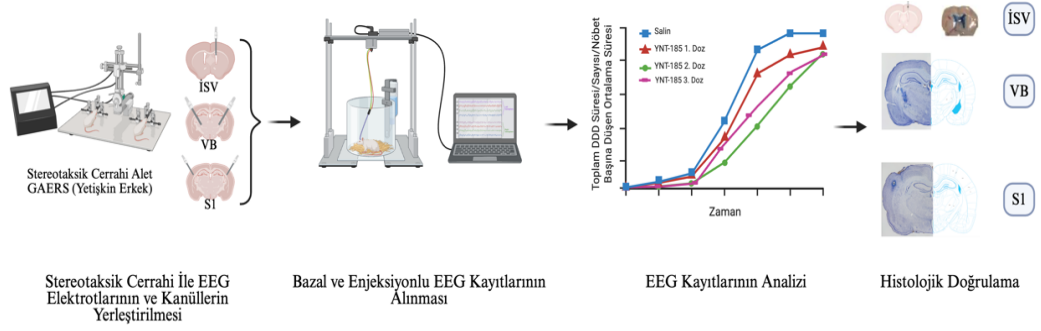
Çalışmada 200-300 gram ağırlığındaki erkek GAERS'ler kullanıldı. Tüm hayvanlara stereotaksik cerrahi işlemi uygulanarak sağ *lateral* ventriküle (İSV) tek taraflı olacak şekilde; VB veya S1 bölgelerine ise iki taraflı olmak üzere rehber kanüller yerleştirildi. Ayrıca EEG kayıtları için elektrotlar implante edildi.

Cerrahi sonrası hayvanlara 1 haftalık iyileşme süresi verildi. İyileşme döneminin ardından tüm hayvanlardan 3 saatlik bazal EEG kayıtları alındı. Ertesi gün, farklı dozlarda YNT-185, İSV'ye tek taraflı; VB veya S1 bölgelerine iki taraflı olarak uygulandı ve uygulamayı takiben 3 saatlik EEG kayıtları yapıldı. Son aşamada, bazal ve enjeksiyon sonrası elde edilen EEG verileri analiz edilerek istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Bu yöntem sayesinde ilacın farklı beyin bölgelerindeki etkileri sistematik bir şekilde incelenebildi.

Tüm cerrahi işlemlerde kanüllerin hedef noktaya ulaşması için tüm aşamalar birçok kez kontrol edildi ve standart stereotaksik protokoller uygulandı.

Enjeksiyon bölgeleri şu şekildedir:

- 1- Sağ *lateral* ventrikül (İSV)
- 2- Talamusun ventrobazal kompleksi (VB)
- 3- *Primer* somatosensoriyel Korteks



Şekil 5. Deney tasarımı

Genetik absans epilepsili sıçanlara (GAERS) stereotaksik cerrahi işlem sırasında intraserebroventriküler (İSV), ventrobazal talamus (VB) ve primer somatosensoriyel korteks (S1) bölgelerine yerleştirilen kanüller ve EEG elektrotlarının anatomik konumları en solda şematik olarak gösterilmektedir. Onun sağ tarafında ise bazal ve bir gün sonra yapılan YNT-185 enjeksiyonu sonrası alınan EEG kayıtlarını temsil edilmektedir. Diyagramın devamında EEG kayıtlarında diken-ve-yavaş dalga deşarjlarının (DDD) süre ve sıklık parametreleri analiz edilmektedir, çalışmanın temel veri toplama ve değerlendirme metodolojisini yansıtmaktadır. Diagramın en sağındaki histolojik doğrulama aşaması ise kanül yerleşimlerinin anatomik doğruluğunu teyit etmek amacıyla gerçekleştirilen mikroskopik incelemeleri içermektedir.

3.2 Deney Hayvanlarının Kullanımı

Çalışmada 3-4 aylık, 300-350 g ağırlığındaki erkek GAERS kullanıldı. Deneyler Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (ACU-DEHAM), 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü ve 22-24°C oda sıcaklığı kontrollü ortamda gerçekleştirildi. Çalışma protokolü Acıbadem Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (ACU-HADYEK) tarafından onaylandı (HDK-2022/36) ve AB Direktifi 2010/63/EU'ya uygun olarak yürütüldü. Hayvanların barınma koşullarına herhangi bir özel uygulama yapılmadı.

Tablo 1. Deney grupları

Deney Grubu	Hayvan Sayısı
1. Grup: Intrasterebroventriküler Uygulama	
a) GAERS (Serum fizyolojik (SF) %0,09)	10
b) GAERS 100 nmol/ 10 µL	9
c) GAERS 300 nmol/ 10 µL	8
d) GAERS 600 nmol/ 10 µL	7
2. Grup: Talamus Ventrobazal Kompleks Uygulama	
a) GAERS SF	7
b) GAERS 30 nmol/ 500 nL	6
c) GAERS 40 nmol/ 500 nL	7
3. Grup: Primer Somatosensoriyel Korteks Uygulama	
a) GAERS SF	6
b) GAERS 40 nmol/ 500 nL	6

3.3 Stereotaktik Cerrahi İşlemleri

Hayvanlara inhalasyon yoluyla izofluran anestezisi (İsoflurane %100 İnhalasyon Çözeltisi) (%2.5-3, O₂ akış hızı ~0.8 L/dk) uygulandı. Hayvanın ağırlı uyaranlara tepki vermemesi ve kas tonusunun tamamen gevşemiş olmasıyla anestezinin yeterli düzeyde olduğu teyit edildi.

Operasyon bölgesi hazırlığında ilk olarak kafa bölgesindeki tüyler tıraş makinesiyle alındı. Ardından cerrahi alan önce %70'lik alkol, sonra povidon iyot solüsyonu ile temizlendi. Hayvanın başı stereotaktik cerrahi alete (Stoelting Model 51600) sabitlendi. Bunun için cihazın kulak çubukları hayvanın kulak deliklerine yerleştirildi. Başın tam olarak ortalanması ve düzgün pozisyon alması sağlandı.

Cerrahi işlemler için bistüri yardımıyla kafa derisinde 2 cm'lik bir kesi yapıldı. Kesinin orta hatta ve düzgün olmasına dikkat edildi. Kafa derisi ve altındaki bağ dokusu kenara itilerek kafatası kemikleri ortaya çıkarıldı. Kanama olmaması için gerekli önlemler alındı. Son olarak kafatası yüzeyi temizlendi ve bregma noktası

belirlendi. Bu nokta, beyin yapılarının koordinatlarının hesaplanmasında referans olarak kullanıldı.

Tüm bu hazırlık işlemleri steril koşullarda ve dikkatle gerçekleştirildi. Her iki hemisferden EEG kaydı alabilmek için toplam 4 adet kayıt elektrodu (Plastics One, Roanoke, VA, USA) sıçan kafatasına yerleştirildi. Hem kayıt elektrotlarını hem de enjeksiyonların yapılacağı rehber (kılavuz) kanülleri yerleştirmek için Paxinos ve Watson sıçan beyin atlası (177, 178) kullanılarak atlasta belirlenen koordinatlara bregma referans alınarak 3 eksende ulaşıldı. Buradan itibaren İSV ve intraparakimalar enjeksiyonlar için farklı cerrahi işlemlere devam edildi.

3.3.1 İntraserebroventriküler (İSV) kanül yerleştirilmesi

Paxinos ve Watson atlasına (177) göre *bregmadan* koordinata ilerlenerek (*Antero posterior*; AP: -1.0 mm, *Medyo lateral*; ML: -1.4 mm, *Dorso ventral*; DV: 4.1 mm) paslanmaz çelik rehber kanül (C313G; Plastics One, Roanoke, VA, USA) yerleştirildi. Sağ *lateral* ventriküle ulaşılmış oldu. Kanül, belirlenen koordinatlara stereotaktik mikromanipülatörle yavaşça ilerletildi. Kanüllerin sabitlenebilmesi için hedef koordinata yerleştirilmesinin ardından cerrahi alana dental akrilik uygulandı. Kuruyunca sertleşen dental akrilik sayesinde hem kanüller hem kayıt elektrotları sabit ve sağlam şekilde sıçan kafatasında durmasına yardımcı olur.

İSV deney grupları aşağıdaki şekilde ayrılmaktadır:

1. GAERS (Serum fizyolojik (SF) %0,09) (n=10)
2. GAERS 100 nmol/ 10 µL (n=9)
3. GAERS 300 nmol/ 10 µL (n=8)
4. GAERS 600 nmol/ 10 µL (n=7)

3.3.2 İntraparakimal (VB veya S1) kanül yerleştirilmesi

Bu çalışmada, GAERS beyinde iki önemli bölgeye mikroenjeksiyonlar yapılması hedeflendi. VB'ye ulaşmak için bregma noktası referans alınarak, 16 derecelik bir açıyla her iki hemisfer tarafına da (*bilateral*) hedeflere ulaşıldı (AP: -3.2 mm, ML: ± 4.8 mm, DV: 5.5 mm). Bu özel açılı yaklaşım, beyin dokusuna zarar

vermeden hedef bölgeye ulaşmayı sağladı. Paslanmaz çelik rehber kanül (26 gauge C315G; Plastics One, Roanoke, VA, USA), belirlenen koordinatlara stereotaktik mikromanipülatörle yavaşça ilerletildi.

VB deney grupları aşağıdaki şekilde ayrılmaktadır:

1. GAERS SF (n=7)
2. GAERS 30 nmol/ 500 nL (n=6)
3. GAERS 40 nmol/ 500 nL (n=7)

Diğer uygulama alanı olan S1 bölgesine ise dikey olarak yaklaşıldı. Sıçan beyin atlasından belirlenen koordinatlara (AP: -2.1 mm, ML: ± 5.5 mm, DV: 3.5 mm) bregma referans alınarak *bilateral* ulaşıldı.

S1 deney grupları aşağıdaki şekilde ayrılmaktadır:

1. GAERS SF (n=6)
2. GAERS 40 nmol/ 500 nL (n=6)

Ayrı ayrı her iki beyin bölgesine (VB veya S1) yapılan uygulamalarda standart stereotaksik cerrahi protokoller uygulanmıştır. İşlemlerde, paslanmaz çelik rehber kanül 26 gauge kullanılmıştır. Cerrahi öncesinde, tüm koordinatlar Paxinos & Watson yetişkin sıçan beyin atlasının (7. baskı) referans alınarak (177) milimetrik düzeyde ayarlanmıştır.

Hedeflenen beyin bölgelerine ulaşımın doğruluğunu teyit etmek amacıyla, cerrahi öncesinde ön denemeler yapılmış ve optimal giriş açıları belirlenmiştir. Kanüllerin yerleştirilmesi sonrasında, uzun dönemli stabiliteyi sağlamak için dental akrilik (*Imicyrl Self Cure*, Sıvı ve Katı) ile sağlam bir şekilde fiks edilmiştir. Bu yöntem, deneysel süreç boyunca kanüllerin yer değiştirmesini önleyecek şekilde tasarlanmıştır.

Çalışmanın metodolojik güvenilirliğini artırmak amacıyla, tüm deney hayvanlarına işlem sonrası histolojik doğrulama planlanmıştır. Bu kapsamda, İSV grubundaki beyin dokularına metilen mavisi, intrakortikal deney gruplarındaki beyin dokularına ise tiyonin boyaması yapılarak kanül yerleşimleri mikroskopik düzeyde

kontrol edilmiştir. Histolojik doğrulama ile ilgili ayrıntılı bilgi 3.7’de verilmiştir. Bu veriler mevcut çalışmanın kapsamı dışında tutulmuştur.

Tüm cerrahi işlemlerin ardından hem İSV hem intraparankimal rehber kanül yerleştirilen hayvanlar, bakım kafeslerine yerleştirilmiştir.

3.4 Mikroenjeksiyon Protokolü

Operasyondan sonra tüm hayvanlara 1 hafta dinlenme süresi verildi. Bu süre boyunca hayvanların genel sağlık durumu ve iyileşme süreci düzenli olarak kontrol edildi. İyileşme döneminin ardından sıçanlar, deneyler için özel hazırlanmış saydam plastik silindirler içine alındılar. Hayvanların bu yeni ortama alışmaları için 40 dakika beklenildi.

Bazal EEG kaydı öncesi hayvanlar EEG kayıt ortamına alıştırıldı. Bazal EEG kaydı sabah 9:00-12:00 saatleri arasında EEG kayıt cihazı (PowerLab/8SP, ADInstruments, Oxford, Birleşik Krallık) ve EEG kayıt bilgisayar programı (Labchart 81.30 (2015) (ADInstruments, Oxford, Birleşik Krallık) aracılığı ile alındı. Bu 3 saatlik kayıtlar sayesinde, ameliyat sonrasında hayvanlarda tipik absans nöbetlerinin devam edip etmediği kontrol edildi. Bu kayıtlar aynı zamanda her hayvanın bireysel nöbet özelliklerini belirlemek için kullanıldı.

Ertesi gün hayvanlar EEG kayıt ortamına alıştırıldıktan sonra sabah 08:40-09:00 arası bazal EEG kaydı alındı. Böylelikle DDD nöbetlerinde anormallik olmadığını teyit edilmiştir. Tüm deney grupları için YNT-185 enjeksiyonları sabah 09:00’da mikroenjeksiyon pompası yardımıyla (KDS 100 automated syringe pump, KD scientific) son derece yavaş ve kontrollü gerçekleştirildi.

İlk olarak, daha önce yerleştirilmiş olan rehber kanüllerin içine, hedef bölgeye ulaşacak şekilde uygulama kanülleri takıldı.

İnce kanüller, rehber kanüllerin ucundan 1 mm daha uzun olacak şekilde tasarlandı ve bu sayede ilacın tam olarak hedeflenen beyin bölgesine ulaşması sağlandı.

Uygulama sırasında iki farklı grup oluşturuldu:

- a) Deney grubuna farklı dozlarda YNT-185 çözeltisi enjekte edildi.
- b) Kontrol grubuna ise aynı hacimde steril SF solüsyonu (%0.9 Sodyum Klorür, NaCl) verildi.

Enjeksiyon hızları uygulama bölgesine göre farklılık gösterdi: İSV uygulamalarda 5 dakikada 10 mikrolitre; intraparenkimal (VB veya S1 bölgelerine) uygulamalarda ise 5 dakikada 500 nanolitre hızında enjeksiyon yapıldı.

Bu yavaş enjeksiyon protokolü, ilacın hedef bölgede homojen dağılımını sağlamak ve olası mekanik hasarı en aza indirmek amacıyla özellikle tercih edildi. Uygulama sonrasında, nöbet aktivitesindeki değişiklikleri izlemek amacıyla 09:00-12:00 arasında 3 saat (180 dakika) boyunca sürekli EEG kaydı alındı. Bu kayıtlar, bazal EEG verileriyle karşılaştırılarak YNT-185'in nöbet aktivitesi üzerindeki etkilerinin objektif olarak değerlendirilmesine olanak sağladı.

3.5 EEG Analizi

Çalışmada elektrofizyolojik analizler için belirli kriterler belirlenmiştir. Bunun için DDD benzeri aktivitelerin nöbetlerden ayırt edilebilmesi için belli parametreler üzerinden analizler yapılmıştır.

Bir aktivitenin DDD olarak kabul edilebilmesi için en az 1 saniye sürmesi, GAERS'lerde 7-11 Hz frekans aralığında olması, tipik diken-ve-yavaş dalga kompleksi göstermesi, ilk izlenen DDD aktivitesinin bazal EEG aktivitesinin en az iki katı olması ve *bilateral* senkronize bir patern sergilemesi gerekmektedir.

Çalışmada kantitatif analiz için üç temel parametre kullanılmıştır:

1. Toplam DDD süresi - 3 saatlik kayıt boyunca gözlenen tüm nöbetlerin toplam süresi (saniye cinsinden),
2. Toplam DDD sayısı - kayıt süresince tespit edilen nöbet epizodlarının sayısı,

3. Bir DDD başına ortalama süre - tek bir nöbetin ortalama süresi (toplam sürenin nöbet sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır).

Elde edilen tüm veriler, YNT-185'in farmakolojik etkilerini detaylı şekilde değerlendirebilmek amacıyla farklı deney grupları arasında 20'şer dakikalık zaman dilimleri halinde karşılaştırılmıştır. Bu analiz yöntemi, ilacın zaman bağımlı etki profilinin ortaya konulmasına olanak sağlamıştır.

3.6 İstatistiksel Yöntemler

Çalışmada kullanılan veriler GraphPad Prism 9.0.1 (2021) programı ile analiz edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmelerde iki yönlü ANOVA testi uygulanmıştır. Uygulanan bölgeye göre farklı grafikler oluşturulmuştur. Karşılaştırılan parametreler toplam nöbet süresi, toplam nöbet sayısı ve bir nöbet başına düşen ortalama süre olarak belirlenmiştir. Gruplar arası farkların ileri değerlendirilmesinde Tukey testi kullanılmıştır. Veriler, ortalama $\pm$ standart hata olarak sunulmuş ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Anlamlı sonuçlar * işareti ile belirtilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğu kontrol edildikten sonra istatistiksel testler uygulanmış, böylece elde edilen bulguların güvenilirliği sağlanmıştır. Bu analiz yöntemiyle YNT-185'in nöbetler üzerindeki etkisi hem farklı dozlar açısından hem de zaman içindeki değişimler yönünden değerlendirilmiştir.

3.7 Histolojik Doğrulama

Çalışmada kullanılan tüm hayvanlarda kanül yerleşimlerinin doğruluğu histolojik yöntemlerle teyit edilmiştir. Bu süreç farklı uygulama gruplarına göre ayrı protokollerle gerçekleştirilmiştir.

3.7.1 İntraserebroventriküler (İSV) uygulama grubu

EEG kayıtları tamamlandıktan sonra, hayvanlar izofluran derin anestezisi altına alındı. Rehber kanül içine yerleştirilen 33 gauge ölçekli Hamilton mikroenjeksiyon pompası kullanılarak *lateral* ventriküle %1'lik metilen mavisi solüsyonu (PBS içinde, pH 7.4) enjekte edildi. Enjeksiyon, mikroenjeksiyon pompası ile 5 dakikada 10 μ L olacak

şekilde (2 µL/dakika hızında) gerçekleştirildi. Enjeksiyon sonrası enjektör 60 saniye süreyle yerinde bırakılarak boyanın yayılımı sağlandı. Ardından hayvanlar derin anestezi altındayken dekapite edildi (kafanın bedenden ayrılması). Beyin dokusu izole edildi. Serebral *lateral* ventrikülden diğer serebral ventriküllere metilen mavisi yayılımı, beyin dokusu bir bistüri yardımıyla koronal kesilerek gözlemlendi. Koronal kesiler, *lateral* ventrikül, üçüncü ventrikül ve dördüncü ventrikül hizasından ayrı ayrı yapıldı. Boya dağılımı makroskopik olarak değerlendirildi. Başarılı bir enjeksiyon için boyanın *lateral* ventrikülün tamamında ve üçüncü ventriküle kadar yayılım göstermesi gerekmektedir. Bu şartları karşılamayan deney hayvanları deneyden çıkarıldı. Ayrıca beyinde herhangi bir odakta kanama görülen deney hayvanları da deneyden çıkarıldı.

3.7.2 Parenkimal (VB veya S1) uygulama grupları

Tiyonin, bazik bir anilin boyasıdır ve asidik yapılarla, özellikle RNA içeren negatif yüklü bölgelerle etkileşerek bu bölgeleri mavi-mor renkte boyar. Bu özelliği sayesinde, granüler endoplazmik retikulum ve ribozomlarla zengin sitoplazmik yapılar olan *nissl* cisimciklerini güçlü şekilde boyar. Bu teknik, özellikle nöronların hücre gövdelerini belirginleştirmek amacıyla yaygın olarak kullanılır.

İntraparankimal kanül yerleştirdiğimiz sıçanlara EEG kaydı alındıktan sonra izofluran derin anestezi altında dekapitasyon uygulanmış ve beyin dokusu izole edilmiştir. Beyin, %30'luk formol içeren sükröz çözeltisinde 4°C'de tüp dibine çökene kadar bekletilmiştir. Bu ön fiksasyonun ardından dokular -20°C'de dondurulmuştur ve kriyostat cihazı (Microm HM 520 Cryostat) ile koronal düzlemde ince kesitler hazırlanmıştır. Hazırlanan kesitler, pozitif yüklü lamlara zarar vermeden aktarılmış, lamlar üzerinde iki gün boyunca kurutulmuştur. Kuruyan kesitler, tiyonin boyama işlemi için hazırlanmıştır.

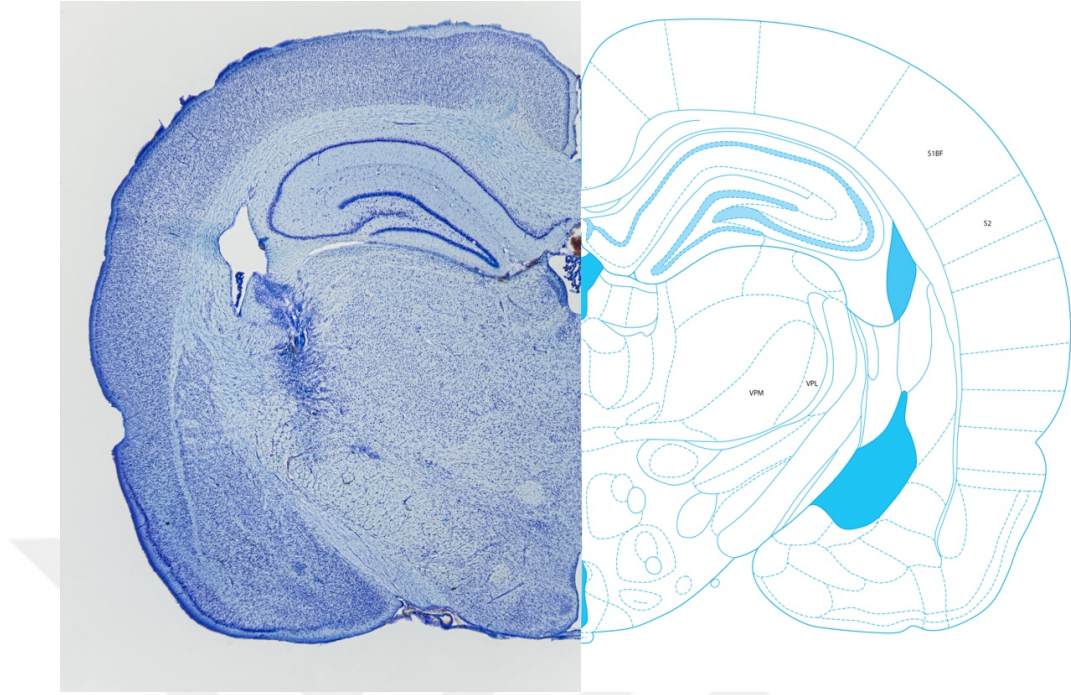
Tiyonin boyama solüsyonu hazırlanırken, 1 gram toz boyar madde 100 mL distile suda çözölmüş ve filtre edilerek stok çözelti elde edilmiştir. Bu stoktan alınan belirli miktar, uygun oranlarda sodyum asetat ve asetik asit ile karıştırılarak çalışma çözeltisi oluşturulmuştur. Kesitler, belirlenen sıralamaya göre çeşitli çözelti

bekletilerek boyanmıştır (Tablo 2). Boyama tamamlandıktan sonra, her lam üzerine uygun montaj ortamı damlatılmış ve lameller ile kapatılmıştır. Nikon SMZ800 mikroskopta 4-40X büyütmede incelenen kesitlerde, Paxinos ve Watson sıçan beyin atlası referans alınarak enjeksiyon bölgelerinin doğruluğu kontrol edildi. Enjeksiyon izinin hedef bölgeden >500 µm sapması veya doku hasarı/kanama belirtileri gösteren örnekler dışlandı. VB uygulamalarda enjeksiyon alanının VB kompleks sınırları içinde olması ve S1 uygulamalarda enjeksiyonun korteksin 4., 5. tabakasında yer alması kabul kriterleri olarak belirlendi.

Tablo 2. Tiyonin boyama protokolü

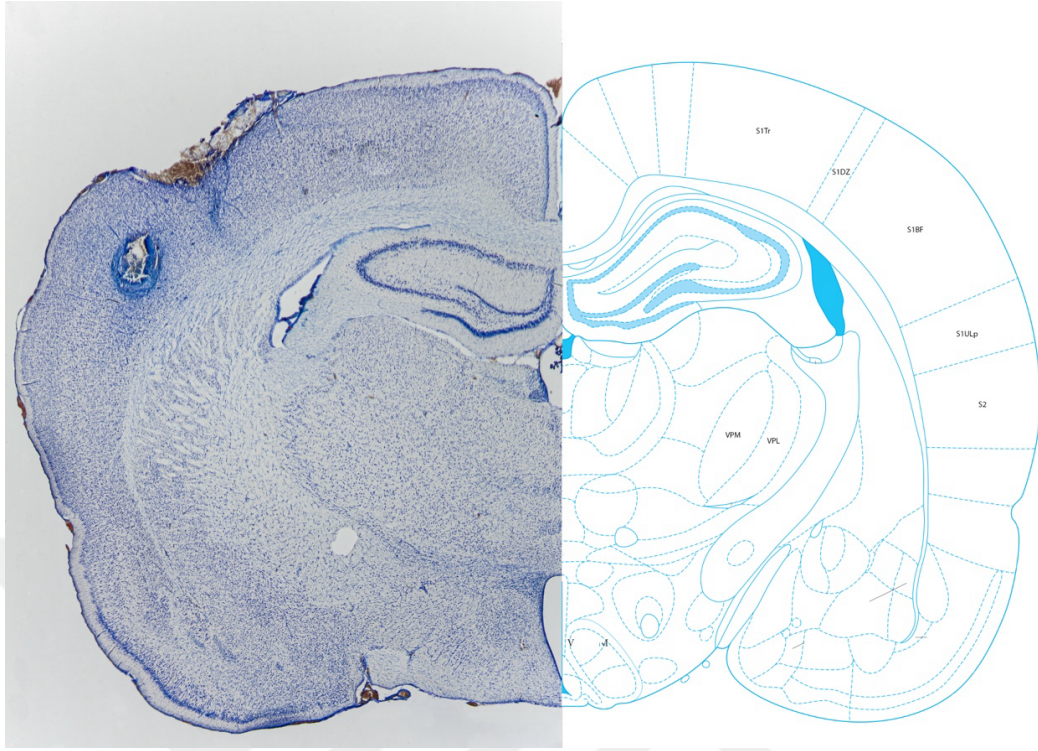
Çözelti	Kesitin çözelti içinde bekleme süresi
Ksilen	2 dakika
%100 Alkol	2 dakika
%95 Alkol	2 dakika
%70 Alkol	2 dakika
%50 Alkol	2 dakika
Distile Su	2 dakika
Tiyonin	3-5 dakika
Distile Su	2 dakika
%50 Alkol	2 dakika
%70 Alkol	2 dakika
%95 Alkol	2 dakika
%100 Alkol	2 dakika

Bu tablo, doku kesitlerinin tiyonin boyamasına yönelik aşamalı protokolü ve her bir çözeltide bekletme sürelerini göstermektedir. İşlem sırasıyla; dokunun dehidrasyonu (ksilen ve dereceli alkoller), hidrasyon (distile su), tiyonin boyama (3-5 dakika) ve rehidrasyon (dereceli alkoller) basamaklarını içerir. Bu protokol, histolojik yapıların optimal şekilde görüntülenmesini sağlar.



Şekil 6. GAERS modelinde ventrobazal talamusa yerleştirilen rehber kanüllerin anatomik konumu

Stereotaksik cerrahi ile *bilateral* olarak ventrobazal talamusa yerleştirilen rehber kanüllerin oluşturduğu doku izi, tiyonin ile boyanmış koronal beyin kesitlerinde ışık mikroskobu altında görüntülenmiştir. Sol tarafta, tiyonin boyasıyla işaretlenmiş gerçek doku kesiti yer almakta olup rehber kanülün talamustaki konumu net şekilde izlenebilmektedir. Sağ tarafta ise, talamusun ventrobazal kompleksine ait anatomik yapılar, Paxinos ve Watson sıçan beyin atlası referans alınarak gösterilmiştir.



Şekil 7. GAERS modelinde *primer* somatosensoriyel kortekse yerleştirilen rehber kanüllerin anatomik konumu

Bilateral olarak *primer* somatosensoriyel kortekse stereotaksik yöntemle yerleştirilen rehber kanüllerin bıraktığı iz, tiyonin ile boyanmış koronal beyin kesitlerinde ışık mikroskobu kullanılarak değerlendirilmiştir. Şeklin solunda, gerçek histolojik görüntü sunulmakta; sağda ise ilgili kortikal bölge, sıçan beyin atlası temel alınarak anatomik olarak tanımlanmaktadır. Bu görseller, cerrahi hedefleme doğruluğunu ve kanül yerleşimlerinin belirlenen beyin bölgeleriyle uyumunu göstermektedir.

4 BULGULAR

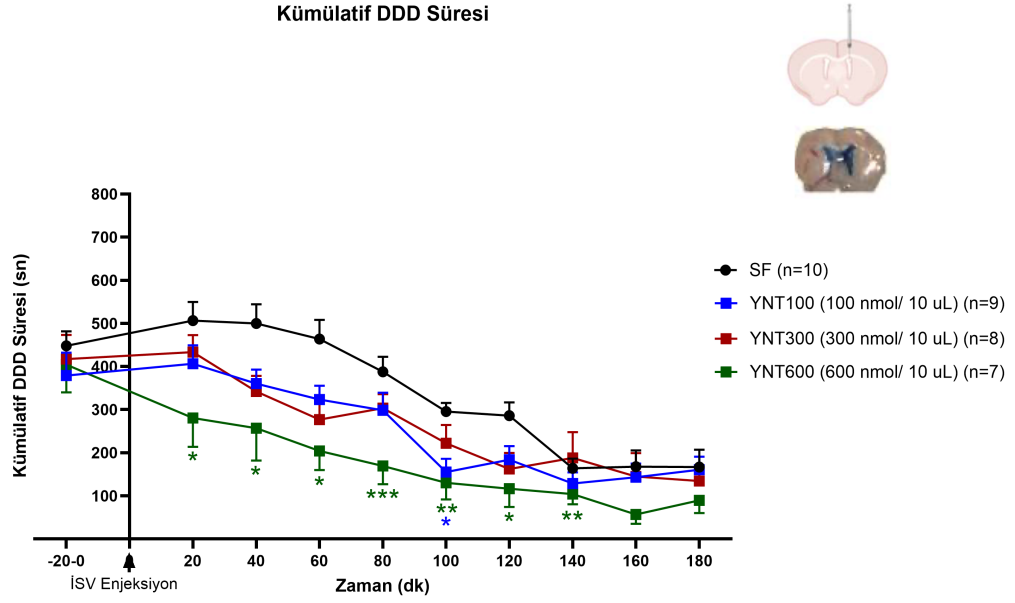
4.1 EEG Bulguları

4.1.1 İSV uygulamasına ait EEG bulguları

İSV YNT-185 uygulamasının absans nöbetleri üzerindeki etkileri doza bağlı olarak değişiklik göstermiştir. En yüksek doz olan 600 nmol uygulandığında, nöbetlerin toplam süresinde belirgin bir azalma gözlenmiştir (Şekil 8). Bu azalma uygulamadan yaklaşık 20 dakika sonra başlamış ve etki 140. dakikaya kadar devamlılığını korumuştur. Daha düşük dozların etkileri incelendiğinde, 100 nmol dozunun yalnızca 100. dakikada sınırlı bir etki oluşturduğu görülmüştür. Nöbet sayısı açısından değerlendirildiğinde, sadece 600 nmol dozunun 80. dakikada toplam nöbet sayısını anlamlı ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 9).

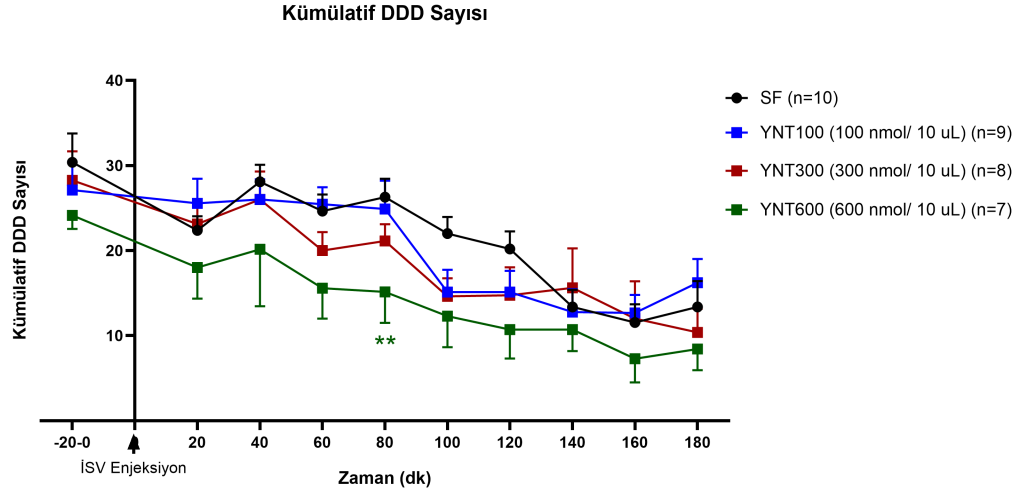
Bir nöbet başına düşen ortalama süre analiz edildiğinde, 100 nmol dozunun 60. dakikada kısa süreli bir etki gösterdiği, buna karşılık 600 nmol dozunun 140-160. dakikalar arasında daha belirgin ve uzun süreli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Şekil 10). 300 nmol dozunun ise EEG kayıtlarında herhangi bir anlamlı değişikliğe yol açmadığı gözlemlenmemiştir. Bu sonuçlar, YNT-185'in absans epilepsisi için anti-nöbet etkisinin belirgin bir doz-yanıt ilişkisi sergilediğini ve en etkin sonuçların yüksek doz uygulamalarda elde edildiğini göstermektedir.

Kümülatif DDD Süresi



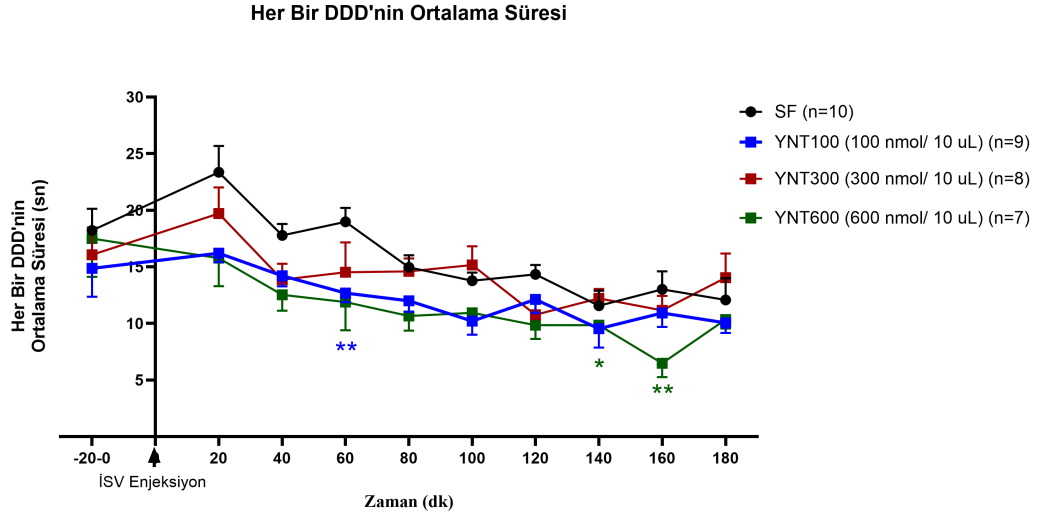
Şekil 8. YNT-185'in GAERS'e intraserebroventriküler uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları süresi üzerine etkisi

GAERS'lerde, SF veya 100, 300 ya da 600 nmol/µL dozlarında intraserebroventriküler YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. 3 saat boyunca alınan EEG kaydında toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları süreleri değerlendirilmiştir. Diken-ve-yavaş-dalga deşarjlarının süreleri, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur. Sağ üst şekilde rehber kanül aracılığıyla metilen mavisi enjeksiyonu yapılan beyin dokusunun koronal kesitlenmesi sonrası metilen mavisinin ventrikül dolumu gösterilmiştir. (İSV: İntraserebroventriküler)



Şekil 9. YNT-185'in GAERS'e intraserebroventriküler uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları sayısı üzerine etkisi

GAERS'lerde, SF veya 100, 300 ya da 600 nmol/µL dozlarında intraserebroventriküler YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. 3 saat boyunca alınan EEG kaydında toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları sayıları değerlendirilmiştir. Diken-ve-yavaş-dalga deşarjlarının sayıları, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur. (İSV: İntraserebroventriküler)



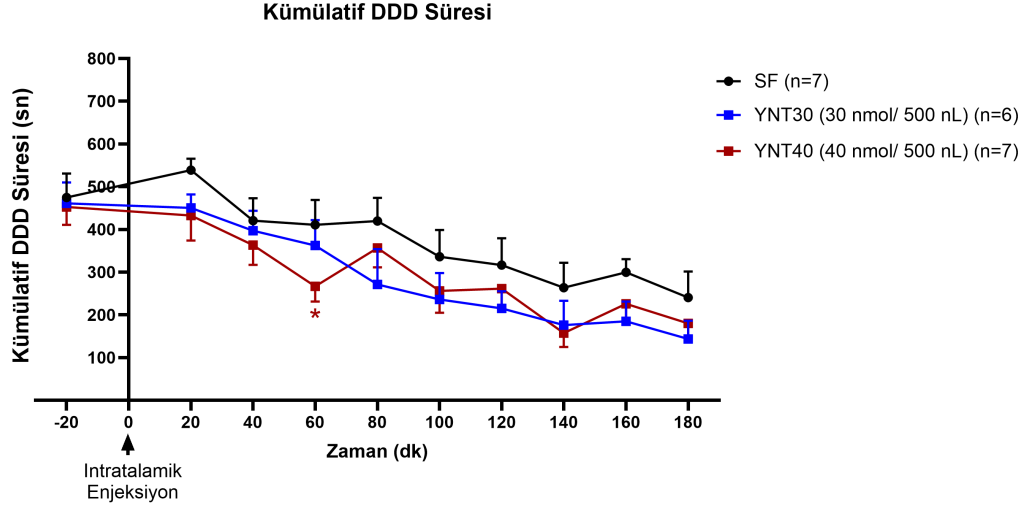
Şekil 10. YNT-185'in GAERS'e intraserebroventriküler uygulamasının her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjları ortalama süresi üzerine etkisi

GAERS'lerde, SF veya 100, 300 ya da 600 nmol/µL dozlarında intraserebroventriküler YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. 3 saat boyunca alınan EEG kaydında her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjları ortalama süresi değerlendirilmiştir. Her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjlarının ortalama süresi, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur. (İSV: İntraserebroventriküler)

4.1.2 VB uygulamasına ait EEG bulguları

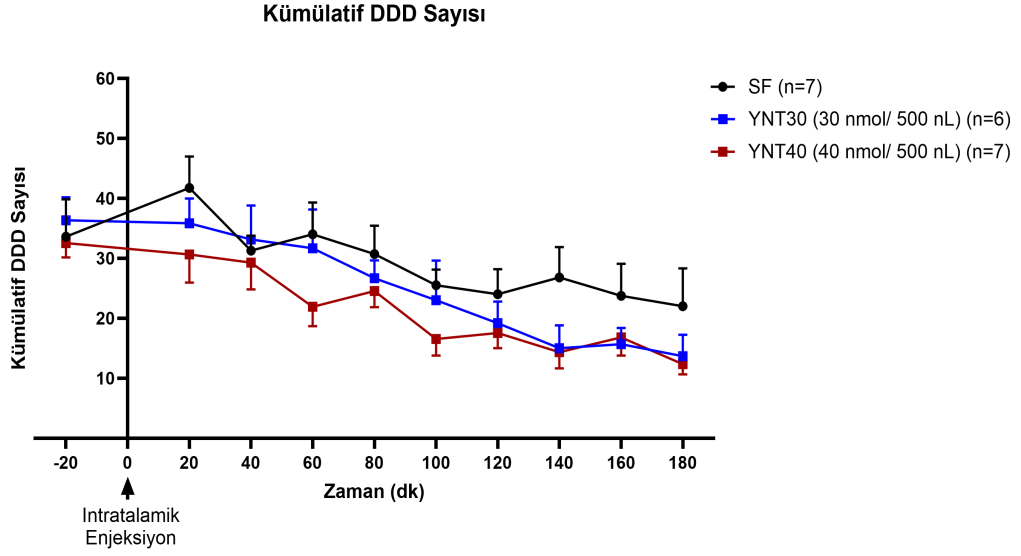
YNT-185'in VB *bilateral* uygulanmasının GAERS'lerde DDD üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, her iki doz grubunda da DDD süresi ve DDD sayısında istatistiksel açıdan anlamlı olmayan bazı azalmalar gözlemlendi.

Farklı doz uygulamalarına bakıldığında 40 nmol dozunda uygulamadan 60 dakika sonra DDD süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma kaydedildi ($p=0.04$) (Şekil 11), ancak aynı grupta toplam DDD sayısında benzer bir azalma gözlemlenmedi (Şekil 12). 30 nmol dozunun uygulandığı grupta ise hem DDD süresi hem de sayısı açısından belirgin bir değişim tespit edilmedi (Şekil 9 ve 10). Bir nöbet başına düşen ortalama süre analiz edildiğinde, EEG kayıtlarında herhangi bir anlamlı değişikliğe yol açmadığı gözlemlenmemiştir (Şekil 13).

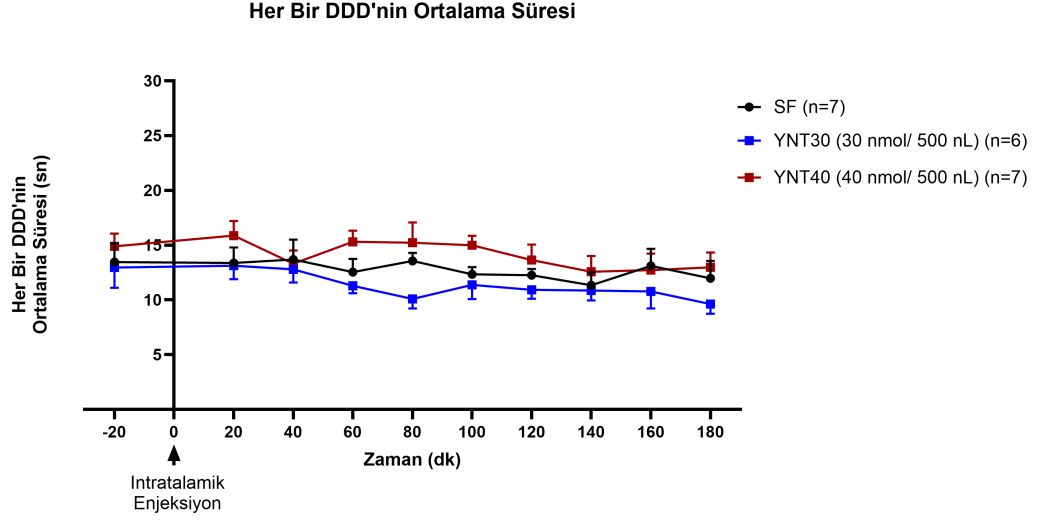


Şekil 11. YNT-185'in GAERS'e talamusun ventrobazal çekirdeğine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları süresi üzerindeki etkisi

GAERS'lerde, SF veya 30 ya da 40 nmol/ μ L dozlarında talamusun ventrobazal çekirdeğine YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. Toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjlarının süreleri, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur.



Şekil 12. YNT-185'in GAERS'e talamusun ventrobazal çekirdeğine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları sayısı üzerindeki etkisi
GAERS'lerde, SF veya 30 ya da 40 nmol/ μ L dozlarında talamusun ventrobazal çekirdeğine YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. Her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjları ortalama süresi değerlendirilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur.



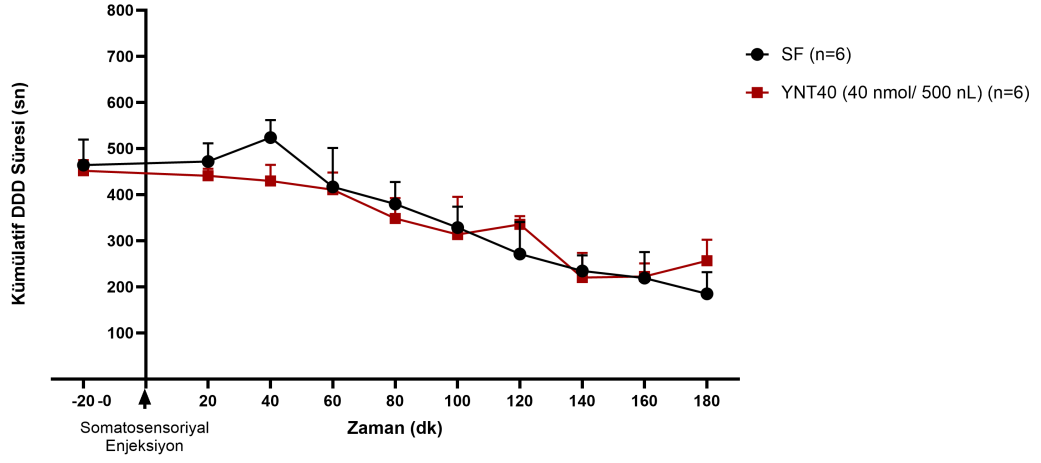
Şekil 13. YNT-185'in GAERS'e talamusun ventrobazal çekirdeğine uygulamasının her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjları ortalama süresi üzerine etkisi
GAERS'lerde, SF veya 30 ya da 40 nmol/ μ L dozlarında talamusun ventrobazal çekirdeğine YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. Toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjlarının sayıları, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur.

4.1.3 S1 uygulamasına ait EEG bulguları

GAERS S1 bölgesine uygulanan YNT-185'in DDD üzerindeki etkileri sistematik olarak değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, YNT-185 uygulanan deney grubunda DDD süresinde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Şekil 14). Benzer şekilde, nöbet sayısı açısından yapılan karşılaştırmalarda da deney ve kontrol grupları arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 15).

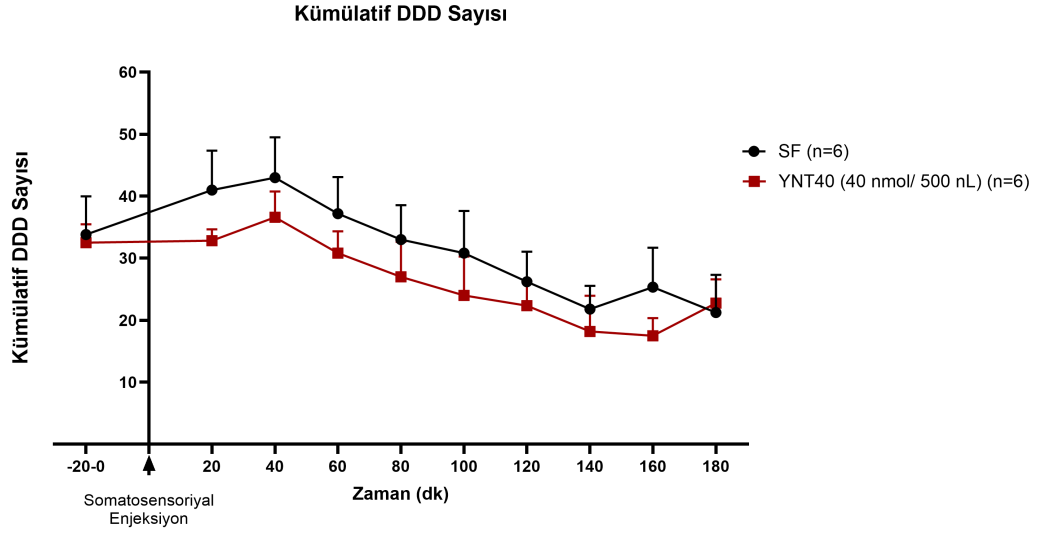
Nöbetlerin ortalama süresi incelendiğinde, YNT-185 uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı bir değişim kaydedilmemiştir (Şekil 16). Farklı dozlarda yapılan uygulamalar sonrasında elde edilen EEG kayıtlarında, S1 bölgesine verilen YNT-185'in DDD parametreleri üzerinde ölçülebilir bir etki oluşturmadığı görülmüştür. Tüm zaman noktalarında yapılan ölçümler, bu bölgeye uygulanan YNT-185'in nöbet aktivitesi üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir modülasyon sağlamadığını göstermiştir. Kontrol grubuyla yapılan tüm karşılaştırmalar, iki grup arasında DDD süresi, sıklığı ve ortalama nöbet süresi açısından benzerlik olduğunu ortaya koymuştur.

Kümülatif DDD Süresi



Şekil 14. YNT-185'in GAERS'e *primer* somatosensoriyal korteksine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları süresine üzerindeki etkisi

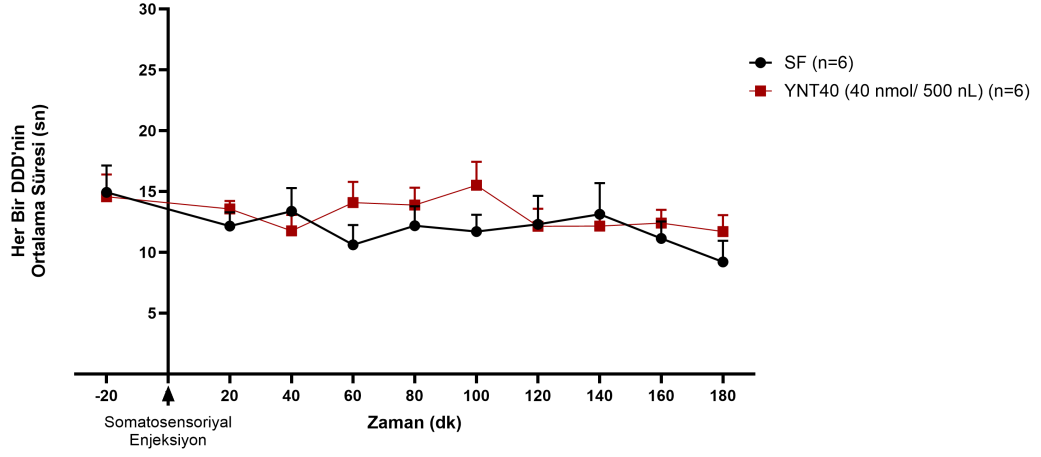
GAERS'lerde, SF veya 30 ya da 40 nmol/ μ L dozlarında *primer* somatosensoriyal korteksine YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. Diken-ve-yavaş-dalga deşarjlarının süreleri, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur.



Şekil 15. YNT-185'in GAERS'e *primer* somatosensoriyal korteksine uygulamasının toplam diken-ve-yavaş-dalga deşarjları sayısı üzerindeki etkisi

GAERS'lerde, SF veya 30 ya da 40 nmol/ μ L dozlarında *primer* somatosensoriyal korteksine YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. Diken-ve-yavaş-dalga deşarjlarının sayıları, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur.

Her Bir DDD'nin Ortalama Süresi



Şekil 16. YNT-185'in GAERS'e *primer* somatosensoriyal korteksine uygulamasının her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarj ortalama süresi üzerindeki etkisi
GAERS'lerde, SF veya 30 ya da 40 nmol/ μ L dozlarında *primer* somatosensoriyal korteksine YNT-185 enjeksiyonunu takiben 3 saat boyunca elektroensefalogram (EEG) kayıtları alınmıştır. Her bir diken-ve-yavaş-dalga deşarjı ortalama süresi, 20 dakikalık periyotlar hâlinde analiz edilmiştir. Veriler, her 20 dakikalık zaman dilimi için ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak sunulmuştur.

5 TARTIŞMA

Bu çalışmada elde edilen bulgular, oreksin-2 reseptör agonisti YNT-185'in GAERS modelinde absans nöbetleri üzerindeki etkilerini ortaya koyarken, bu etkilerin altında yatan nörobiyolojik mekanizmalar ve klinik çıkarımları hakkında derinlemesine bir tartışma gerektirmektedir.

Çalışmamızın sonuçları, özellikle üç temel ekseninde önemli bilgiler sunmaktadır:

1. Oreksinerjik sistemin nöbet modülasyonundaki doza bağımlı etkileri,
2. Bölgesel spesifisite ve nöral devre etkileşimleri,
3. Uyku-uyanıklık döngüsü ile epileptiform aktivite arasındaki kompleks ilişkiler.

5.1 Doza Bağımlı Etkilerin Moleküler Temelleri

YNT-185'in 600 nmol dozunda *lateral* ventriküle uygulamasının ardındangösterdiği belirgin anti-nöbet etkisi, reseptör farmakolojisi açısından kritik öneme sahiptir. Özellikle *lateral* ventriküle yapılan 600 nmol dozundaki uygulamada nöbet süresinin enjeksiyondan 40. dakikadan itibaren belirgin şekilde azaldığı ve bu etkinin 140. dakikaya kadar devam ettiği gözlemlenmiştir. Toplam nöbet sayısında da sadece yüksek dozda anlamlı bir azalma saptanmış olması, YNT-185'in anti-nöbet etkisinin doza bağımlı olan eşik bir etki düzeyi gerektirdiğini göstermektedir. Son dönemde yapılan çalışmalar, OX2R'lerin uyku ile ilişkili hastalıklarda module edici etkisi olduğunu göstermektedir (179, 180). Çalışmamızın bulguları da, bu reseptörlerin ancak belirli bir ligand konsantrasyonunda tam aktivasyon sağlayabildiğini ve bu durumun nöbet kontrolünde eşik bir etki gerektirdiğini desteklemektedir. Daha düşük dozların (100 ve 300 nmol) ise sınırlı ve geçici etkiler göstermesi, OX2R reseptörlerinin nöbet modülasyonundaki rolünün güçlü; fakat eşik düzeyde aktive edildiklerinde belirgin hale geldiğini düşündürmektedir. Bu bulgular, oreksinerjik sistemin sadece uyanıklık düzeyini değil, aynı zamanda kortiko-talamo-kortikal ritimleri ve epileptiform deşarjları da etkileyebileceğini düşündürmesi açısından önemlidir. Nitekim oreksin sisteminin uyanıklığı artırıcı ve uykuyu baskılayıcı etkileri,

absans nöbetlerinin tipik olarak düşük uyarılmışlık hallerinde (örn. dinlenme, uykuya geçiş) ortaya çıkmasıyla çelişmekte değil, aksine bu ilişkiyi açıklamaya yardımcı olmaktadır (181-183). Bu bulgu, son yıllarda geliştirilen yeni nesil oreksin agonistlerinin klinik öncesi çalışmalarda gösterdiği doz-yanıt ilişkisiyle uyumludur (155, 170).

Oreksin-A ve oreksin-B peptidlerinin, hipotalamustan kaynaklanarak başta locus coeruleus, dorsal rafe, tuberomammiller nükleus, substantia nigra, ventral tegmental alan ve talamus gibi birçok yapıya projekte olduğu bilinmektedir (144, 151, 167, 171, 172, 184-187). Bu geniş projeksiyon ağı sayesinde oreksinerjik sistem, kortikal aktiviteyi global olarak düzenleyebilmekte ve dikkatin sürdürülmesi, emosyonel yanıtların entegrasyonu ve homeostatik regülasyon gibi pek çok üst düzey bilişsel işlevi etkileyebilmektedir (143, 145, 149, 151-153, 158, 160, 175, 188-194). GAERS modeli gibi genetik absans epilepsi modellerinde ise, özellikle kortiko-talamo-kortikal devrelerin hipersenkronizasyonu sonucu ortaya çıkan DDD'lerin bu sistem tarafından baskılanabilir olması, oreksin reseptörlerinin epileptik ağ aktivitesi üzerindeki modülatör etkisine işaret etmektedir.

5.2 Bölgesel Spesifisite ve Nöral Devre Dinamikleri

Ventrobazal talamus ve *primer* somatosensoriyel kortekse yapılan uygulamalardaki sınırlı etkiler, oreksinerjik sistemin anatomik organizasyonu hakkında önemli ipuçları sunmaktadır. Oreksin nöronlarının projeksiyon yoğunluğunun bölgesel farklılıklar göstermesi (167, 172), uygulama bölgelerindeki etki farklılıklarını açıklayabilir. Özellikle, S1 korteksinin oreksinerjik innervasyonunun absans epilepsili sıçanlarda nispeten düşük olması (133), bu bölgedeki sınırlı yanıtı açıklayabilir.

Ventrobazal talamus ve *primer* somatosensoriyel korteks bölgelerine yapılan lokal mikroenjeksiyonların DDD süresi ve sıklığı üzerinde anlamlı bir değişiklik yaratmaması ayrıca, OX2R aktivasyonunun tek başına lokal talamik ya da kortikal düzeyde değil, merkezi bir oreksinerjik tonus aracılığıyla işlev gördüğünü veya mikroenjeksiyon bölgesinin nöbetin modüle edilmesindeki rolünün tekrar değerlendirmesi gerektiğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, oreksin sisteminin

epileptiform aktiviteyi dolaylı yollarla, örneğin GABAerjik internöronlar veya monoaminerjik sistemler üzerinden düzenlediği öne sürülmektedir (184, 195, 196).

Diğer bir absans epilepsisi hayvan modeli olan Wag/Rij'larla yapılan bir çalışmada korteks ve talamus bölgelerinde OX2R ekspresyonunun azaldığı gösterilmiş olup, bu bulgu hem epileptogenez sürecine katkı sağlayabilecek bir nörokimyasal mekanizmayı, hem de bu bölgelere yapılan lokal uygulamaların neden sınırlı etki oluşturduğunu açıklamaktadır (133). Oreksin sisteminin farmakolojik aktivasyonu, uyanıklığı artırmakla kalmayıp aynı zamanda absans epileptiform aktiviteyi baskılayıcı yönde etki gösterdiği gözlenmektedir.

5.3 Nöral Devreler ve Sistem Düzeyinde Etkileşimler

Oreksin sisteminin epileptiform aktivite üzerindeki etkileri, muhtemelen çoklu nöral devreler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Son çalışmalar, oreksin nöronlarının talamik üzerinde güçlü kontrol sağladığını göstermiştir (167, 186, 197, 198). Bu bulgu, çalışmamızdaki yüksek doz İSV uygulama sonuçlarımızla uyumludur ve oreksinerjik sistemin talamik osilatörleri doğrudan modüle edebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, oreksinlerin kortikal GABAerjik internöronlar üzerindeki uyarıcı etkisi (199), nöbet aktivitesinin baskılanmasında alternatif bir mekanizma olabilir. Bu bulgular, oreksinerjik sistemin hem talamik hem de kortikal düzeyde nöbet kontrolü sağlayabileceğini göstermektedir.

5.4 Uyku-Uyanıklık Döngüsü ve Nöbet Kontrolü

Absans nöbetlerin uyku-uyanıklık geçişlerinde sıklaşması ile oreksin sisteminin uyanıklığı düzenleme fonksiyonu arasındaki ilişki dikkat çekicidir. Yeni kanıtlar, oreksin nöronlarının teta ve gama osilasyonlarını koordine etmedeki rolünü vurgulamaktadır (200, 201). Çalışmamızdaki bulgularımız, bu osilatuar aktivitenin nöbet eşiği üzerindeki düzenleyici etkisini desteklemektedir. Özellikle, oreksin sisteminin uyanıklığı artırırken aynı zamanda kortiko-talamo-kortikal osilasyonları stabilize edebilmesi, absans nöbetlerin patofizyolojisini anlamada yeni bir perspektif sunmaktadır.

Uykunun absans nöbetlerle olan yakın ilişkisi de dikkate alındığında, YNT-185'in anti-absans etkisinin uyanıklığı artırıcı etkilerle ilişkili olduğu ileri sürülebilir. Absans nöbetlerin çoğunlukla uykulu ya da düşük uyanıklık düzeylerinde ortaya çıktığı, özellikle NREM 1-2 evresine geçişlerde veya dinlenme sırasında görüldüğü bilinmektedir (202-204). Ayrıca, birçok EEG çalışması, absans nöbetlerin yüksek kortikal aktivasyon durumlarında (örn. dikkatli görevler, yüksek dışsal uyarım) bastırıldığını göstermiştir (205, 206). Oreksin agonistlerinin farelerde REM ve NREM uykusunu baskılayarak uyanıklık süresini anlamlı ölçüde artırdığı gösterilmiş, bu etki epileptiform aktivitenin baskılanmasıyla ilişkilendirilmiştir (154, 169, 207, 208). Öte yandan, oreksin sisteminin nöroinflamasyonla ilişkili yolları baskılayabileceği ve oksidatif stresi azaltarak nöroprotektif etkiler gösterebileceği de bildirilmiştir (209-211), bu da sistemin epileptogenez sürecinde bir hedef olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

5.5 Klinik Çıkarımlar ve Gelecek Perspektifi

Bu çalışmanın bulguları, dirençli absans epilepsisi tedavisinde oreksin sisteminin potansiyel bir hedef olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, uyanıklığı artırıcı yan etkilerin yönetimi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Yeni geliştirilecek ilaç adayı moleküllerle bu sorunun aşılabileceği düşünülmektedir.

5.6 Metodolojik Gelişmeler ve Sınırlılıklar

Çalışmamızın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. Özellikle, mikroenjeksiyon hacimlerinin bölgesel yayılımı ve farmakokinetik profili tam olarak karakterize edilmemiştir. Gelecek çalışmalarda bu sınırlılığın aşılması önem taşımaktadır. Ayrıca, kronik uygulama modellerinin eksikliği, uzun vadeli etkilerin değerlendirilmesini kısıtlamaktadır. Farklı dozların denenmesi, optimum etkinin belirlenmesine katkı sunacaktır. Farklı beyin bölgelerine YNT-185 uygulaması, absans epilepsisinde görülen DDD üzerine etki karakterizasyonu açısından önemli bir veri sunabilir, aynı zamanda bu ilişkiye katkı sunan diğer beyin bölgelerinin rolü değerlendirilebilir.

Oreksinin sinerjistik etkiyle fonksiyon gösterdikleri bilinen diğer eksitatör moleküllerle (Glutamat, histamin, serotonin gibi) (172, 185, 188, 199, 212) absans

epilepsisindeki karmaşık ve birlikte etkilerinin ele alınması, literatüre önemli bir katkı sunacaktır. Uyku-uyanıklık yayılımının EEG kaydı boyunca değerlendirilmesi, nöbet dışı zamanlarda, EEG aktivitelerindeki değişimi değerlendirmek için kıymetlidir.

İntrakortikal kayıtlar alınması, bölgeye özgü aktivite değişimlerini ortaya koyarak aktivite odakları daha iyi anlaşılabilir. Moleküler ve histolojik çalışmalar, oreksinerjik sistemin absans epilepsisi patogenezindeki önemli rolünün aydınlatılmasında önemli faydalar sağlayacaktır.

5.7 Nöroinflamasyon ve Oksidatif Stres İlişkisi

Oreksin sisteminin nöroinflamasyon ve oksidatif stres üzerindeki modülatör etkileri, epileptogenez sürecinde önemli bir rol oynayabilir. Son çalışmalar, oreksin-A'nın nöroinflamasyonu azalttığını göstermiştir (209). Ayrıca, oreksinlerin antioksidan mekanizmaları aktive etme yeteneği (209, 213, 214), nöronal hipereksitabilitiyi azaltmada ek bir mekanizma sağlayabilir.

Bu bulgular, oreksin sisteminin epileptogenezin hem akut hem de kronik fazlarında terapötik hedef olabileceğini düşündürmektedir. Oreksin sisteminin nöroinflamasyonu baskılama ve oksidatif stresi azaltma özelliği, epileptogenezde yeni bir tedavi hedefi olabileceğini düşündürmektedir.

YNT-185 gibi selektif OX2R agonistleri, bu mekanizmalar üzerinden nöronal hipereksitabilitiyi direkt veya indirekt olarak düzenleyip mevcut tedavilere alternatif sunabilir.

6 SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışma OX2R agonisti YNT-185'in, genetik absans epilepsi modeli olan GAERS sıçanlarında DDD'leri baskılayıcı etkilerini ortaya koymakta ve bu etkinin intraserebroventriküler uygulamada belirgin, intrakortikal (VB veya S1 bölgeleri) uygulamalarda ise sınırlı olduğunu göstermektedir. Bu bulgular, oreksinin sisteminin epileptik aktivite üzerinde bölgesel olarak farklı etkiler gösterebildiğini ve özellikle merkezi oreksinerjik tonusun epileptiform aktiviteyi düzenleyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, oreksinin sisteminin uykuyu baskılayıcı ve nöromodülatör etkileri yoluyla absans epilepsinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynayabileceği ileri sürülebilir. Özellikle absans epilepsi hayvan modelinde gösterilen OX2R ekspresyonundaki azalma (133), lokal uygulamalarda etkisizliğin bir nedeni olarak değerlendirilebilir.

Gelecekteki araştırmalar açısından, oreksinin sisteminin farklı epilepsi alt tiplerindeki (örn. temporal lob epilepsisi, juvenil miyoklonik epilepsi) rolünün, bölgesel etkilerinin ve moleküler düzeydeki etkileşimlerinin detaylı biçimde ortaya konması büyük önem taşımaktadır. Özellikle talamus, korteks ve striatum gibi farklı hedef bölgelerde OX1R ve OX2R düzeylerinin immünohistokimyasal ve Western blot yöntemleriyle karşılaştırmalı analizi yapılmalı; oreksinin agonistlerinin bu bölgelere lokal uygulanmasının neden farklı etkiler oluşturduğu daha ayrıntılı olarak incelenmelidir. Ayrıca, oreksinin sisteminin GABAerjik ve glutamaterjik devreler üzerindeki etkileri, in vivo elektrofizyolojik kayıtlarla korele edilmeli, optogenetik veya kemogenetik (örneğin DREADD) araçlarla oreksinin nöronlarının seçici aktivasyonu veya inhibisyonu sağlanarak neden-sonuç ilişkisi daha güçlü şekilde ortaya konmalıdır.

Bu çalışmanın sonuçları ayrıca translasyonel araştırmalar için de önemli ipuçları sunmaktadır. YNT-185 gibi OX2R selektif agonistlerinin farmakokinetik profili ve sistemik uygulamadaki etkinlikleri, gelecekte yapılacak prelinik çalışmaların odak noktası olmalıdır. Bu tür ajanların sistemik (intraperitoneal veya oral) yoldan uygulanarak absans epilepsi modeli üzerindeki etkilerinin araştırılması, klinik geçiş için kritik önemdedir. Oreksinin agonistlerinin, uykusuzluk tedavisindeki

olası kullanım alanlarının yanı sıra epileptik nöbetlerin baskılanmasında da kullanılabileceği yönündeki bu veriler, özellikle farmakorezistan hasta gruplarında yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Bunlara ek olarak, gelecekteki deneysel planlamalarda, oreksin sisteminin nöroinflamasyon ve glial aktivite üzerindeki etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır. Son yıllarda, epileptogenezde nöroinflamasyonun kritik bir rol oynadığı gösterilmiş ve oreksinlerin antiinflamatuvar etkiler gösterebildiği ileri sürülmüştür (209-211). Bu nedenle, YNT-185 gibi ajanların mikrogliya ve astrosit aktivitesi üzerindeki etkilerinin immunhistokimyasal belirteçlerle değerlendirilmesi epileptojenik süreçlerde oreksinerjik sistemin rolünü aydınlatılabilir.

Sonuç olarak, oreksin sisteminin merkezi sinir sistemindeki nöromodülatör etkileri yalnızca uyku-uyanıklık döngüsüyle sınırlı olmayıp, epileptik aktivite üzerinde de terapötik potansiyel taşımaktadır. Bu çalışma, OX2R agonistlerinin genetik absans epilepsi modeli üzerindeki etkilerini gösteren literatürdeki az sayıdaki çalışmalardan biridir ve bu alanda yapılacak ileri düzey araştırmalar için güçlü bir temel sunmaktadır. Oreksinerjik sistemin, epilepsinin tedaviye dirençli formlarında yeni hedefler sunabileceği ve nöbet modülasyonuna yönelik alternatif stratejiler geliştirilmesine katkı sağlayabileceği kanaatine varılmıştır.

7 KAYNAKLAR

1. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas W, et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*. 2010;51(4):676-85.
2. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017;58(4):522-30.
3. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, et al. ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-82.
4. Fisher RS, Boas WVE, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, 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(4):470-2.
5. Beghi E. The epidemiology of epilepsy. *Neuroepidemiology*. 2020;54(2):185-91.
6. Angeles D. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*. 1981;22(4):489-501.
7. Beniczky S, Trinka E, Wirrell E, Specchio N, Cendes F, Cross JH. Updating the ILAE seizure classification. *Epilepsia*. 2025.
8. Engel J. A practical guide for routine EEG studies in epilepsy. *Journal of clinical neurophysiology*. 1984;1(2):109-42.
9. Lüders H, Noachtar S. Atlas and classification of electroencephalography. (No Title). 2000.
10. Noachtar S, Binnie C, Ebersole J, Mauguière F, Sakamoto A, Westmoreland B. A glossary of terms most commonly used by clinical electroencephalographers and proposal for the report form for the EEG findings. The International Federation of Clinical Neurophysiology. *Electroencephalography and clinical neurophysiology Supplement*. 1999;52:21-41.
11. Duncan JS. Imaging and epilepsy. *Brain: a journal of neurology*. 1997;120(2):339-77.
12. Cascino GD. Video-EEG monitoring in adults. *Epilepsia*. 2002;43:80-93.
13. Porter RJ, Cereghino JJ, Gladding GD, Hessie B, Kupferberg HJ, Scoville B, et al. Antiepileptic drug development program. *Cleveland Clinic Quarterly*. 1984;51(2):293-305.
14. Krall R, Penry J, White B, Kupferberg H, Swinyard E. Antiepileptic drug development: II. Anticonvulsant drug screening. *Epilepsia*. 1978;19(4):409-28.
15. Löscher W, Klitgaard H, Twyman RE, Schmidt D. New avenues for anti-epileptic drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2013;12(10):757-76.
16. Löscher W, Schmidt D. Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: ways out of the current dilemma. *Epilepsia*. 2011;52(4):657-78.
17. Awad IA, Rosenfeld J, Ahl J, Hahn JF, Lüders H. Intractable epilepsy and structural lesions of the brain: mapping, resection strategies, and seizure outcome. *Epilepsia*. 1991;32(2):179-86.

18. Barborka CJ. Ketogenic diet treatment of epilepsy in adults. *Journal of the American Medical Association*. 1928;91(2):73-8.
19. Liu H, Yang Y, Wang Y, Tang H, Zhang F, Zhang Y, et al. Ketogenic diet for treatment of intractable epilepsy in adults: a meta-analysis of observational studies. *Epilepsia open*. 2018;3(1):9-17.
20. Neal EG, Chaffe H, Schwartz RH, Lawson MS, Edwards N, Fitzsimmons G, et al. The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *The Lancet Neurology*. 2008;7(6):500-6.
21. Kverneland M, Selmer KK, Nakken KO, Iversen PO, Taubøll E. A prospective study of the modified Atkins diet for adults with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2015;53:197-201.
22. Takaya M, Terry WJ, Naritoku DK. Vagus nerve stimulation induces a sustained anticonvulsant effect. *Epilepsia*. 1996;37(11):1111-6.
23. Zabara J. Inhibition of experimental seizures in canines by repetitive vagal stimulation. *Epilepsia*. 1992;33(6):1005-12.
24. Bailey P, Bremer F. A sensory cortical representation of the vagus nerve: with a note on the effects of low blood pressure on the cortical electrogram. *Journal of Neurophysiology*. 1938;1(5):405-12.
25. Zanchetti A, Wang S, Moruzzi G. The effect of vagal afferent stimulation on the EEG pattern of the cat. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*. 1952;4(3):357-61.
26. Ali R, Connolly ID, Feroze AH, Awad AJ, Choudhri OA, Grant GA. Epilepsy: A Disruptive Force in History. *World Neurosurg*. 2016;90:685-90.
27. Kaculini CM, Tate-Looney AJ, Seifi A. The History of Epilepsy: From Ancient Mystery to Modern Misconception. *Cureus*. 2021.
28. Reynolds E. Todd, Hughlings Jackson, and the electrical basis of epilepsy. *The Lancet*. 2001;358(9281):575-7.
29. Jackson JH. On convulsive seizures: JSTOR; 1890.
30. Todd RB. On the pathology and treatment of convulsive diseases. *London Medical Gazette*. 1849;8:661-71; 724-9; 66-72; 815-22; 37-46.
31. Scharfman HE. The neurobiology of epilepsy. *Current neurology and neuroscience reports*. 2007;7(4):348-54.
32. Matsumoto H, Marsan CA. Cellular mechanisms in experimental epileptic seizures. *Science*. 1964;144(3615):193-4.
33. Staley K. Molecular mechanisms of epilepsy. *Nature neuroscience*. 2015;18(3):367-72.
34. Engelborghs S, D'Hooge R, De Deyn PP. Pathophysiology of epilepsy. *Acta Neurol Belg*. 2000;100(4):201-13.
35. Walther H, Lambert J, Jones R, Heinemann U, Hamon B. Epileptiform activity in combined slices of the hippocampus, subiculum and entorhinal cortex during perfusion with low magnesium medium. *Neuroscience letters*. 1986;69(2):156-61.

36. Treiman DM. GABAergic Mechanisms in Epilepsy. *Epilepsia*. 2001;42(s3):8-12.
37. Sperk G, Furtinger S, Schwarzer C, Pirker S. GABA and its receptors in epilepsy. Recent advances in epilepsy research. 2004;92-103.
38. Bradford H. Glutamate, GABA and epilepsy. *Progress in neurobiology*. 1995;47(6):477-511.
39. Chapman AG. Glutamate and epilepsy. *The Journal of nutrition*. 2000;130(4):1043S-5S.
40. Meldrum BS. Neurotransmission in epilepsy. *Epilepsia*. 1995;36:30-5.
41. Akyuz E, Polat AK, Eroglu E, Kullu I, Angelopoulou E, Paudel YN. Revisiting the role of neurotransmitters in epilepsy: An updated review. *Life Sci*. 2021;265:118826.
42. Bagdy G, Kecskemeti V, Riba P, Jakus R. Serotonin and epilepsy. *Journal of neurochemistry*. 2007;100(4):857-73.
43. Armstrong CM, Hille B. Voltage-gated ion channels and electrical excitability. *Neuron*. 1998;20(3):371-80.
44. Kirischuk S, Parpura V, Verkhratsky A. Sodium dynamics: another key to astroglial excitability? *Trends in neurosciences*. 2012;35(8):497-506.
45. Gover T, Moreira T, Weinreich D. Role of calcium in regulating primary sensory neuronal excitability. *Sensory Nerves*. 2009:563-87.
46. Waxman SG, Cummins TR, Dib-Hajj S, Fjell J, Black JA. Sodium channels, excitability of primary sensory neurons, and the molecular basis of pain. *Muscle & nerve*. 1999;22(9):1177-87.
47. Doyon N, Vinay L, Prescott SA, De Koninck Y. Chloride regulation: a dynamic equilibrium crucial for synaptic inhibition. *Neuron*. 2016;89(6):1157-72.
48. Wei L, Xiao AY, Jin C, Yang A, Lu ZY, Yu SP. Effects of chloride and potassium channel blockers on apoptotic cell shrinkage and apoptosis in cortical neurons. *Pflügers Archiv*. 2004;448:325-34.
49. Lesage F. Pharmacology of neuronal background potassium channels. *Neuropharmacology*. 2003;44(1):1-7.
50. Kaplan DI, Isom LL, Petrou S. Role of sodium channels in epilepsy. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2016;6(6):a022814.
51. Brodie MJ. Sodium channel blockers in the treatment of epilepsy. *CNS drugs*. 2017;31(7):527-34.
52. Escayg A, Goldin AL. Sodium channel SCN1A and epilepsy: mutations and mechanisms. *Epilepsia*. 2010;51(9):1650-8.
53. Meisler MH, Kearney JA. Sodium channel mutations in epilepsy and other neurological disorders. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(8):2010-7.
54. Levy RH. *Antiepileptic drugs*: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
55. Perucca E. An introduction to antiepileptic drugs. *Epilepsia*. 2005;46:31-7.
56. Czapinski P, Blaszczyk B, Czuczwar SJ. Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Current topics in medicinal chemistry*. 2005;5(1):3-14.

57. Noebels JL. The biology of epilepsy genes. *Annual review of neuroscience*. 2003;26(1):599-625.
58. Henshall DC, Kobow K. Epigenetics and epilepsy. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2015;5(12):a022731.
59. Chen T, Giri M, Xia Z, Subedi YN, Li Y. Genetic and epigenetic mechanisms of epilepsy: a review. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2017:1841-59.
60. Loddenkemper T, Pan A, Neme S, Baker KB, Rezai AR, Dinner DS, et al. Deep brain stimulation in epilepsy. *Journal of Clinical Neurophysiology*. 2001;18(6):514-32.
61. Halpern CH, Samadani U, Litt B, Jaggi JL, Baltuch GH. Deep brain stimulation for epilepsy. *Neuromodulation: Elsevier*; 2009. p. 639-49.
62. Salanova V. Deep brain stimulation for epilepsy. *Epilepsy & Behavior*. 2018;88:21-4.
63. Pitkänen A, Kharatishvili I, Karhunen H, Lukasiuk K, Immonen R, Nairismägi J, et al. Epileptogenesis in Experimental Models. *Epilepsia*. 2007;48(s2):13-20.
64. Pitkanen A, Loscher W, Vezzani A, Becker AJ, Simonato M, Lukasiuk K, et al. Advances in the development of biomarkers for epilepsy. *Lancet Neurol*. 2016;15(8):843-56.
65. Pitkänen A, Lukasiuk K. Mechanisms of epileptogenesis and potential treatment targets. *The Lancet Neurology*. 2011;10(2):173-86.
66. Pitkänen A, Lukasiuk K, Dudek FE, Staley KJ. Epileptogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2015;5(10):a022822.
67. Marescaux C, Micheletti G, Vergnes M, Depaulis A, Rumbach L, Warter J. A model of chronic spontaneous petit mal-like seizures in the rat: comparison with pentylenetetrazol-induced seizures. *Epilepsia*. 1984;25(3):326-31.
68. Marescaux C, Vergnes M. Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg (GAERS). *The Italian Journal of Neurological Sciences*. 1995;16:113-8.
69. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A. Neurotransmission in rats' spontaneous generalized nonconvulsive epilepsy. *Epilepsy research Supplement*. 1992;8:335-43.
70. Soltani Khaboushan A, Yazdanpanah N, Rezaei N. Neuroinflammation and proinflammatory cytokines in epileptogenesis. *Molecular neurobiology*. 2022;59(3):1724-43.
71. Barker-Haliski ML, Löscher W, White HS, Galanopoulou AS. Neuroinflammation in epileptogenesis: insights and translational perspectives from new models of epilepsy. *Epilepsia*. 2017;58:39-47.
72. Thom M. Hippocampal sclerosis in epilepsy: a neuropathology review. *Neuropathology and applied neurobiology*. 2014;40(5):520-43.
73. Sendrowski K, Sobaniec W. Hippocampus, hippocampal sclerosis and epilepsy. *Pharmacological Reports*. 2013;65(3):555-65.
74. Sloviter RS. Hippocampal epileptogenesis in animal models of mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis: the importance of the “latent period” and other concepts. *Epilepsia*. 2008;49:85-92.

75. Avanzini G, Franceschetti S. Cellular biology of epileptogenesis. *The Lancet Neurology*. 2003;2(1):33-42.
76. D'Ambrosio R. The role of glial membrane ion channels in seizures and epileptogenesis. *Pharmacology & therapeutics*. 2004;103(2):95-108.
77. Li G, Bauer S, Nowak M, Norwood B, Tackenberg B, Rosenow F, et al. Cytokines and epilepsy. *Seizure*. 2011;20(3):249-56.
78. Hofstra WA, de Weerd AW. The circadian rhythm and its interaction with human epilepsy: a review of literature. *Sleep Med Rev*. 2009;13(6):413-20.
79. Acharya M, Hattiangady B, Shetty A. Progress in neuroprotective strategies for preventing epilepsy. *Progress in Neurobiology*. 2008;84(4):363-404.
80. Sutula T. Seizure-Induced Axonal Sprouting: Assessing Connections between Injury, Local Circuits, and Epileptogenesis. *Epilepsy Currents*. 2002;2(3):86-91.
81. Liu Z, Pan C, Huang H. The role of axon guidance molecules in the pathogenesis of epilepsy. *Neural Regeneration Research*. 2025;20(5):1244-57.
82. Kobow KB, Ingmar. Epigenetics in epilepsy. *Neuroscience Letters*. 2018;667:40-6.
83. Engel J, Pitkänen A, Loeb JA, Edward Dudek F, Bertram EH, Cole AJ, et al. Epilepsy biomarkers. *Epilepsia*. 2013;54(s4):61-9.
84. Pitkänen A, Löscher W, Vezzani A, Becker AJ, Simonato M, Lukasiuk K, et al. Advances in the development of biomarkers for epilepsy. *The Lancet Neurology*. 2016;15(8):843-56.
85. Pitkänen A, Nnode-Ekane XE, Lapinlampi N, Puhakka N. Epilepsy biomarkers—toward etiology and pathology specificity. *Neurobiology of disease*. 2019;123:42-58.
86. Oby E, Janigro D. The blood–brain barrier and epilepsy. *Epilepsia*. 2006;47(11):1761-74.
87. Löscher W, Friedman A. Structural, molecular, and functional alterations of the blood-brain barrier during epileptogenesis and epilepsy: a cause, consequence, or both? *International journal of molecular sciences*. 2020;21(2):591.
88. Marchi N, Granata T, Ghosh C, Janigro D. Blood–brain barrier dysfunction and epilepsy: pathophysiologic role and therapeutic approaches. *Epilepsia*. 2012;53(11):1877-86.
89. Merritt HH. Sodium diphenyl hydantoinate in the treatment of convulsive disorders. *Journal of the American Medical Association*. 1938;111(12):1068.
90. Merritt HH, Putnam TJ. Further experiences with the use of sodium diphenyl hydantoinate in the treatment of convulsive disorders. *American Journal of Psychiatry*. 1940;96(5):1023-7.
91. Löscher W. Animal models of seizures and epilepsy: past, present, and future role for the discovery of antiseizure drugs. *Neurochemical research*. 2017;42:1873-88.
92. Kandratavicius L, Balista PA, Lopes-Aguiar C, Ruggiero RN, Umeoka EH, Garcia-Cairasco N, et al. Animal models of epilepsy: use and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment*. 2014:1693-705.
93. Colasante G, Qiu Y, Massimino L, Di Berardino C, Cornford JH, Snowball A, et al. In vivo CRISPRa decreases seizures and rescues cognitive deficits in a rodent model of epilepsy. *Brain*. 2020;143(3):891-905.

94. Sukhotinsky I, Chan AM, Ahmed OJ, Rao VR, Gradinaru V, Ramakrishnan C, et al. Optogenetic delay of status epilepticus onset in an in vivo rodent epilepsy model. *PloS one*. 2013;8(4):e62013.
95. Cela E, McFarlan AR, Chung AJ, Wang T, Chierzi S, Murai KK, et al. An optogenetic kindling model of neocortical epilepsy. *Scientific Reports*. 2019;9(1):5236.
96. Cela E, Sjöström PJ. Novel optogenetic approaches in epilepsy research. *Frontiers in neuroscience*. 2019;13:947.
97. Chiang C-C, Ladas TP, Gonzalez-Reyes LE, Durand DM. Seizure suppression by high frequency optogenetic stimulation using in vitro and in vivo animal models of epilepsy. *Brain stimulation*. 2014;7(6):890-9.
98. Steinberg DJ, Repudi S, Saleem A, Kustanovich I, Viukov S, Abudiab B, et al. Modeling genetic epileptic encephalopathies using brain organoids. *EMBO Molecular Medicine*. 2021;13(8):e13610.
99. Nieto-Estévez V, Hsieh J. Human brain organoid models of developmental epilepsies. *Epilepsy Currents*. 2020;20(5):282-90.
100. Crunelli V, Leresche N. Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci*. 2002;3(5):371-82.
101. Danober L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C. Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Progress in neurobiology*. 1998;55(1):27-57.
102. Lennox WG. The petit mal epilepsies: their treatment with tridione. *Journal of the American Medical Association*. 1945;129(16):1069-74.
103. Kostopoulos GK. Involvement of the thalamocortical system in epileptic loss of consciousness. *Epilepsia*. 2001;42:13-9.
104. Sitnikova E. Thalamo-cortical mechanisms of sleep spindles and spike-wave discharges in rat model of absence epilepsy (a review). *Epilepsy Research*. 2010;89(1):17-26.
105. Sitnikova E, Kulikova S, Birioukova L, Raevsky V. Cellular neuropathology of absence epilepsy in the neocortex: a population of glial cells rather than neurons is impaired in genetic rat model. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. 2011;71(2):263-8.
106. Lüttjohann A, van Luijckelaar G. The dynamics of cortico-thalamo-cortical interactions at the transition from pre-ictal to ictal LFPs in absence epilepsy. *Neurobiology of disease*. 2012;47(1):49-60.
107. Glauser TA, Cnaan A, Shinnar S, Hirtz DG, Dlugos D, Masur D, et al. Ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy: initial monotherapy outcomes at 12 months. *Epilepsia*. 2013;54(1):141-55.
108. Glauser TA, Cnaan A, Shinnar S, Hirtz DG, Dlugos D, Masur D, et al. Ethosuximide, valproic acid, and lamotrigine in childhood absence epilepsy. *New England Journal of Medicine*. 2010;362(9):790-9.

109. Sato S, White BG, Penry JK, Dreifuss FE, Sackellares JC, Kupferberg HJ. Valproic acid versus ethosuximide in the treatment of absence seizures. *Neurology*. 1982;32(2):157-.
110. Glauser TA, Holland K, O'Brien VP, Keddache M, Martin LJ, Clark PO, et al. Pharmacogenetics of antiepileptic drug efficacy in childhood absence epilepsy. *Annals of neurology*. 2017;81(3):444-53.
111. Myers KA, Bennett MF, Grinton BE, Dabscheck G, Chan EK, Bello-Espinosa LE, et al. Contribution of rare genetic variants to drug response in absence epilepsy. *Epilepsy research*. 2021;170:106537.
112. Doose H. Absence epilepsy of early childhood—genetic aspects. *European journal of pediatrics*. 1994;153(5):372-7.
113. Marini C, Harkin LA, Wallace RH, Mulley JC, Scheffer IE, Berkovic SF. Childhood absence epilepsy and febrile seizures: a family with a GABAA receptor mutation. *Brain*. 2003;126(1):230-40.
114. Ollivier ML, Dubois MF, Krajcinovic M, Cossette P, Carmant L. Risk factors for valproic acid resistance in childhood absence epilepsy. *Seizure*. 2009;18(10):690-4.
115. Daniş Ö, Demir S, Günel A, Aker RG, Gülçebi M, Onat F, et al. Changes in intracellular protein expression in cortex, thalamus and hippocampus in a genetic rat model of absence epilepsy. *Brain research bulletin*. 2011;84(6):381-8.
116. Papp P, Kovács Z, Szocsics P, Juhász G, Maglóczy Z. Alterations in hippocampal and cortical densities of functionally different interneurons in rat models of absence epilepsy. *Epilepsy Research*. 2018;145:40-50.
117. Snead III OC. Basic mechanisms of generalized absence seizures. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*. 1995;37(2):146-57.
118. Stafstrom CE. Persistent sodium current and its role in epilepsy. *Epilepsy Currents*. 2007;7(1):15-22.
119. Klein JP, Khera DS, Nersesyan H, Kimchi EY, Waxman SG, Blumenfeld H. Dysregulation of sodium channel expression in cortical neurons in a rodent model of absence epilepsy. *Brain research*. 2004;1000(1-2):102-9.
120. Rajakulendran S, Hanna MG. The role of calcium channels in epilepsy. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2016;6(1):a022723.
121. Weiergräber M, Stephani U, Köhling R. Voltage-gated calcium channels in the etiopathogenesis and treatment of absence epilepsy. *Brain research reviews*. 2010;62(2):245-71.
122. Richards D, Lemos T, Whitton P, Bowery N. Extracellular GABA in the ventrolateral thalamus of rats exhibiting spontaneous absence epilepsy: a microdialysis study. *Journal of neurochemistry*. 1995;65(4):1674-80.
123. Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orbán G, Errington AC, Lőrincz ML, et al. Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nature medicine*. 2009;15(12):1392-8.

124. Crunelli V, Leresche N, Cope DW. GABA-A receptor function in typical absence seizures. 2012.
125. Coenen A, Van Luijtelaar E. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behavior genetics*. 2003;33:635-55.
126. Burgess DL, Noebels JL. Single gene defects in mice: the role of voltage-dependent calcium channels in absence models. *Epilepsy Res*. 1999;36(2-3):111-22.
127. Coenen AM, Drinkenburg WH, Peeters BW, Vossen JM, van Luijtelaar EL. Absence epilepsy and the level of vigilance in rats of the WAG/Rij strain. *Neurosci Biobehav Rev*. 1991;15(2):259-63.
128. Vergnes M, Marescaux C, Boehrer A, Depaulis A. Are rats with genetic absence epilepsy behaviorally impaired? *Epilepsy research*. 1991;9(2):97-104.
129. Vergnes M, Marescaux C, Depaulis A, Micheletti G, Warter J-M. Ontogeny of spontaneous petit mal-like seizures in Wistar rats. *Developmental Brain Research*. 1986;30(1):85-7.
130. Vergnes M, Marescaux C, Micheletti G, Reis J, Depaulis A, Rumbach L, et al. Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-convulsive epilepsy. *Neuroscience letters*. 1982;33(1):97-101.
131. Van Luijtelaar E. The WAG/Rij model of generalized absence seizures. *Adv Epileptol*. 1989;17:78-83.
132. Van Luijtelaar E, Coenen A. Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neuroscience letters*. 1986;70(3):393-7.
133. Celli R, Van Luijtelaar G. The orexin system: a potential player in the pathophysiology of absence epilepsy. *Current Neuropharmacology*. 2022;20(7):1254.
134. Snead III OC. Pharmacological models of generalized absence seizures in rodents. *Generalized Non-Convulsive Epilepsy: Focus on GABA-B Receptors*. 1992:7-19.
135. Jung S, Jeong Y, Jeon D. Epileptic activity during early postnatal life in the AY-9944 model of atypical absence epilepsy. *Cell Calcium*. 2015;57(5-6):376-84.
136. Aker RG, Onat FY, Kinay D. Chemically induced experimental models of absence epilepsy. *Chemical-induced Seizures: Mechanisms, Consequences and Treatment: Bentham Science Publishers*; 2011. p. 67-79.
137. III OCS. γ -Hydroxybutyrate model of generalized absence seizures: further characterization and comparison with other absence models. *Epilepsia*. 1988;29(4):361-8.
138. Chen Y, Parker WD, Wang K. The role of T-type calcium channel genes in absence seizures. *Frontiers in neurology*. 2014;5:45.
139. Sharop BR, Boldyriev OI, Batiuk MY, Shtefan NL, Shuba YM. Compensatory reduction of Cav3. 1 expression in thalamocortical neurons of juvenile rats of WAG/Rij model of absence epilepsy. *Epilepsy Research*. 2016;119:10-2.
140. Lory P, Nicole S, Monteil A. Neuronal Cav3 channelopathies: recent progress and perspectives. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*. 2020;472(7):831-44.

141. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, et al. Orexins and Orexin Receptors: A Family of Hypothalamic Neuropeptides and G Protein-Coupled Receptors that Regulate Feeding Behavior. *Cell*. 1998;92(4):573-85.
142. Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, et al. Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell*. 1998;92(4):573-85.
143. Sakurai T. Orexins and orexin receptors: implication in feeding behavior. *Regulatory peptides*. 1999;85(1):25-30.
144. Muraki Y, Yamanaka A, Tsujino N, Kilduff TS, Goto K, Sakurai T. Serotonergic regulation of the orexin/hypocretin neurons through the 5-HT1A receptor. *Journal of Neuroscience*. 2004;24(32):7159-66.
145. Sakurai T. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nature Reviews Neuroscience*. 2007;8(3):171-81.
146. de Lecea L, Kilduff T, Peyron C, Gao X-B, Foye P, Danielson P, et al. The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(1):322-7.
147. Samson WK, Resch ZT. The hypocretin/orexin story. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2000;11(7):257-62.
148. Samson WK, Taylor MM, Follwell M, Ferguson AV. Orexin actions in hypothalamic paraventricular nucleus: physiological consequences and cellular correlates. *Regulatory peptides*. 2002;104(1-3):97-103.
149. Sakurai T, Mieda M, Tsujino N. The orexin system: roles in sleep/wake regulation. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010;1200(1):149-61.
150. Kuru M, Ueta Y, Serino R, Nakazato M, Yamamoto Y, Shibuya I, et al. Centrally administered orexin/hypocretin activates HPA axis in rats. *Neuroreport*. 2000;11(9):1977-80.
151. Brown RE, Sergeeva O, Eriksson KS, Haas HL. Orexin A excites serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat. *Neuropharmacology*. 2001;40(3):457-9.
152. Saitoh T, Sakurai T. The present and future of synthetic orexin receptor agonists. *Peptides*. 2023;171051.
153. Hung C, Yamanaka A. The role of orexin neuron activity in sleep/wakefulness regulation. *Peptides*. 2023;165:171007.
154. Mieda M, Tsujino N, Sakurai T. Differential Roles of Orexin Receptors in the Regulation of Sleep/Wakefulness. *Frontiers in Endocrinology*. 2013;4.
155. Berteotti C, Calvello C, Liguori C. Role of the orexin system in the bidirectional relation between sleep and epilepsy: New chances for patients with epilepsy by the antagonism to orexin receptors? *Epilepsia*. 2023;64(8):1991-2005.
156. Iio K, Hashimoto K, Nagumo Y, Amezawa M, Hasegawa T, Yamamoto N, et al. Design and synthesis of orexin 1 receptor-selective agonists. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2023;66(8):5453-64.

157. Bray G, Inoue S, Nishizawa Y. Hypothalamic obesity: the autonomic hypothesis and the lateral hypothalamus. *Diabetologia*. 1981;20:366-77.
158. Kotz C, Nixon J, Butterick T, Perez-Leighton C, Teske J, Billington C. Brain orexin promotes obesity resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2012;1264(1):72-86.
159. Kukkonen JP, Jacobson LH, Hoyer D, Rinne MK, Borgland SL. International Union of Basic and Clinical Pharmacology CXIV: Orexin Receptor Function, Nomenclature and Pharmacology. *Pharmacological Reviews*. 2024:PHARMREV-INR-2023-000953.
160. Ohno K, Sakurai T. Orexin neuronal circuitry: role in the regulation of sleep and wakefulness. *Front Neuroendocrinol*. 2008;29(1):70-87.
161. Choi D, Davis J, Fitzgerald M, Benoit S. The role of orexin-A in food motivation, reward-based feeding behavior and food-induced neuronal activation in rats. *Neuroscience*. 2010;167(1):11-20.
162. Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell*. 1999;98(4):437-51.
163. Nishino S, Ripley B, Overeem S, Lammers GJ, Mignot E. Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *The Lancet*. 2000;355(9197):39-40.
164. 164. Liblau RS, Vassalli A, Seifinejad A, Tafti M. Hypocretin (orexin) biology and the pathophysiology of narcolepsy with cataplexy. *The Lancet Neurology*. 2015;14(3):318-28.
165. 165. Coleman PJ, Gotter AL, Herring WJ, Winrow CJ, Renger JJ. The discovery of suvorexant, the first orexin receptor drug for insomnia. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2017;57(1):509-33.
166. Herring WJ, Snyder E, Budd K, Hutzelmann J, Snavely D, Liu K, et al. Orexin receptor antagonism for treatment of insomnia: a randomized clinical trial of suvorexant. *Neurology*. 2012;79(23):2265-74.
167. Bayer L, Eggermann E, Saint-Mieux B, Machard D, Jones BE, Mühlethaler M, et al. Selective action of orexin (hypocretin) on nonspecific thalamocortical projection neurons. *Journal of Neuroscience*. 2002;22(18):7835-9.
168. Erken HA, Erken G, Genç O, Kortunay S, Şahiner M, Turgut G, et al. Orexins cause epileptic activity. *Peptides*. 2012;37(1):161-4.
169. Ng MC. Orexin and epilepsy: potential role of REM sleep. *Sleep*. 2017;40(3):zsw061.
170. Toplu A, Mutlu N, Erdeve ET, Sariyildiz Ö, Çelik M, Öz-Arslan D, et al. Involvement of orexin type-2 receptors in genetic absence epilepsy rats. *Frontiers in Neurology*. 2023;14:1282494.
171. Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, et al. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology*. 2001;435(1):6-25.
172. Tsuneoka Y, Funato H. Whole Brain Mapping of Orexin Receptor mRNA Expression Visualized by Branched In Situ Hybridization Chain Reaction. *eNeuro*. 2024;11(2).

173. Ishibashi M, Takano S, Yanagida H, Takatsuna M, Nakajima K, Oomura Y, et al. Effects of orexins/hypocretins on neuronal activity in the paraventricular nucleus of the thalamus in rats in vitro. *Peptides*. 2005;26(3):471-81.
174. Lambe EK, Aghajanian GK. Hypocretin (orexin) induces calcium transients in single spines postsynaptic to identified thalamocortical boutons in prefrontal slice. *Neuron*. 2003;40(1):139-50.
175. Irukayama-Tomobe Y, Ogawa Y, Tominaga H, Ishikawa Y, Hosokawa N, Ambai S, et al. Nonpeptide orexin type-2 receptor agonist ameliorates narcolepsy-cataplexy symptoms in mouse models. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(22):5731-6.
176. Toyama S, Shimoyama N, Tagaito Y, Nagase H, Saitoh T, Yanagisawa M, et al. Nonpeptide orexin-2 receptor agonist attenuates morphine-induced sedative effects in rats. *Anesthesiology*. 2018;128(5):992-1003.
177. Paxinos GW, Charles. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 7th Edition ed2013 October 24, 2013.
178. Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*: Elsevier; 2006.
179. Smith MI, Piper DC, Duxon MS, Upton N. Evidence implicating a role for orexin-1 receptor modulation of paradoxical sleep in the rat. *Neurosci Lett*. 2003;341(3):256-8.
180. Yin J, Mobarec JC, Kolb P, Rosenbaum DM. Crystal structure of the human OX2 orexin receptor bound to the insomnia drug suvorexant. *Nature*. 2015;519(7542):247-50.
181. Wu Y, Chan KF, Eubanks JH, Wong CGT, Cortez MA, Shen L, et al. Transgenic mice over-expressing GABABR1a receptors acquire an atypical absence epilepsy-like phenotype. *Neurobiology of disease*. 2007;26(2):439-51.
182. Han HA, Cortez MA, Snead III OC. GABAB receptor and absence epilepsy. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* [Internet] 4th edition. 2012.
183. Stewart LS, Wu Y, Eubanks JH, Han H, Leschenko Y, Velazquez JLP, et al. Severity of atypical absence phenotype in GABAB transgenic mice is subunit specific. *Epilepsy & Behavior*. 2009;14(4):577-81.
184. Eriksson KS, Sergeeva OA, Haas HL, Selbach O. Orexins/hypocretins and aminergic systems. *Acta Physiologica*. 2010;198(3):263-75.
185. Hasegawa E, Maejima T, Yoshida T, Maseck OA, Herlitze S, Yoshioka M, et al. Serotonin neurons in the dorsal raphe mediate the anticataplectic action of orexin neurons by reducing amygdala activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(17):E3526-E35.
186. Kirouac GJ, Parsons MP, Li S. Orexin (hypocretin) innervation of the paraventricular nucleus of the thalamus. *Brain research*. 2005;1059(2):179-88.
187. Tsujino N, Tsunematsu T, Uchigashima M, Konno K, Yamanaka A, Kobayashi K, et al. Chronic alterations in monoaminergic cells in the locus coeruleus in orexin neuron-ablated narcoleptic mice. *PloS one*. 2013;8(7):e70012.

188. Mavanji V, Pomonis B, Kotz CM. Orexin, serotonin, and energy balance. *WIREs mechanisms of disease*. 2022;14(1):e1536.
189. Winsky-Sommerer R, Yamanaka A, Diano S, Borok E, Roberts AJ, Sakurai T, et al. Interaction between the corticotropin-releasing factor system and hypocretins (orexins): a novel circuit mediating stress response. *Journal of Neuroscience*. 2004;24(50):11439-48.
190. Sakurai T. The role of orexin in motivated behaviours. *Nature Reviews Neuroscience*. 2014;15(11):719-31.
191. Mahler SV, Smith RJ, Moorman DE, Sartor GC, Aston-Jones G. Multiple roles for orexin/hypocretin in addiction. *Progress in brain research*. 2012;198:79-121.
192. España RA, Melchior JR, Roberts DC, Jones SR. Hypocretin 1/orexin A in the ventral tegmental area enhances dopamine responses to cocaine and promotes cocaine self-administration. *Psychopharmacology*. 2011;214:415-26.
193. Blouin AM, Fried I, Wilson CL, Staba RJ, Behnke EJ, Lam HA, et al. Human hypocretin and melanin-concentrating hormone levels are linked to emotion and social interaction. *Nature communications*. 2013;4(1):1547.
194. Di Sebastiano AR, Wilson-Pérez HE, Lehman MN, Coolen LM. Lesions of orexin neurons block conditioned place preference for sexual behavior in male rats. *Hormones and Behavior*. 2011;59(1):1-8.
195. Burdakov D, Liss B, Ashcroft FM. Orexin excites GABAergic neurons of the arcuate nucleus by activating the sodium—calcium exchanger. *Journal of Neuroscience*. 2003;23(12):4951-7.
196. Ferrari LL, Park D, Zhu L, Palmer MR, Broadhurst RY, Arrigoni E. Regulation of lateral hypothalamic orexin activity by local GABAergic neurons. *Journal of Neuroscience*. 2018;38(6):1588-99.
197. Matzeu A, Martin-Fardon R. Drug seeking and relapse: new evidence of a role for orexin and dynorphin co-transmission in the paraventricular nucleus of the thalamus. *Frontiers in neurology*. 2018;9:720.
198. Meffre J, Sicre M, Diarra M, Marchessaux F, Paleressompoulle D, Ambroggi F. Orexin in the posterior paraventricular thalamus mediates hunger-related signals in the nucleus accumbens core. *Current Biology*. 2019;29(19):3298-306. e4.
199. Aracri P, Banfi D, Pasini ME, Amadeo A, Becchetti A. Hypocretin (Orexin) Regulates Glutamate Input to Fast-Spiking Interneurons in Layer V of the Fr2 Region of the Murine Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex*. 2013;25(5):1330-47.
200. Li S, Franken P, Vassalli A. Bidirectional and context-dependent changes in theta and gamma oscillatory brain activity in noradrenergic cell-specific Hypocretin/Orexin receptor 1-KO mice. *Scientific Reports*. 2018;8(1).
201. Vassalli A, Franken P. Hypocretin (orexin) is critical in sustaining theta/gamma-rich waking behaviors that drive sleep need. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114(27):E5464-E73.

202. Yoshinaga H, Ohtsuka Y, Tamai K, Tamura I, Ito M, Ohmori I, et al. EEG in childhood absence epilepsy. *Seizure*. 2004;13(5):296-302.
203. Halász P. Are absence epilepsy and nocturnal frontal lobe epilepsy system epilepsies of the sleep/wake system? *Behavioural Neurology*. 2015;2015(1):231676.
204. Halász P, Kelemen A, Szűcs A. The role of NREM sleep micro-arousals in absence epilepsy and in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsy research*. 2013;107(1-2):9-19.
205. Meeren H, van Luijckelaar G, da Silva FL, Coenen A. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Archives of neurology*. 2005;62(3):371-6.
206. Meeren HK, Pijn JPM, Van Luijckelaar EL, Coenen AM, da Silva FHL. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *Journal of Neuroscience*. 2002;22(4):1480-95.
207. Mieda M, Hasegawa E, Kisanuki YY, Sinton CM, Yanagisawa M, Sakurai T. Differential roles of orexin receptor-1 and-2 in the regulation of non-REM and REM sleep. *Journal of Neuroscience*. 2011;31(17):6518-26.
208. Kantor S, Mochizuki T, Janisiewicz AM, Clark E, Nishino S, Scammell TE. Orexin neurons are necessary for the circadian control of REM sleep. *Sleep*. 2009;32(9):1127-34.
209. Li T, Xu W, Ouyang J, Lu X, Sherchan P, Lenahan C, et al. Orexin A alleviates neuroinflammation via OX2/CaMKK β /AMPK signaling pathway after ICH in mice. *Journal of neuroinflammation*. 2020;17:1-15.
210. Xiong X, White RE, Xu L, Yang L, Sun X, Zou B, et al. Mitigation of murine focal cerebral ischemia by the hypocretin/orexin system is associated with reduced inflammation. *Stroke*. 2013;44(3):764-70.
211. Couvineau A, Voisin T, Nicole P, Gratio V, Abad C, Tan Y-V. Orexins as novel therapeutic targets in inflammatory and neurodegenerative diseases. *Frontiers in endocrinology*. 2019;10:709.
212. Tao R, Ma Z, McKenna JT, Thakkar MM, Winston S, Strecker RE, et al. Differential effect of orexins (hypocretins) on serotonin release in the dorsal and median raphe nuclei of freely behaving rats. *Neuroscience*. 2006;141(3):1101-5.
213. Zawilska J. A new face of orexins action - neuroprotection. *SpringerPlus*. 2015;4(S1):L59.
214. Kukkonen J. Multiple signaling pathways of orexin receptors. *SpringerPlus*. 2015;4(S1):L17.

ÖZGEÇMİŞ



