

# Apoptosis ve Epilepsi

## APOPTOSIS AND EPILEPSY: MEDICAL EDUCATION

Dr. Selma YAZAR,<sup>a</sup> Dr. Ayşe TUNCA<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Farmakoloji ve Toksikoloji ABD, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,

<sup>b</sup>Nöroloji Kliniği, Dirimsel Tıp Merkezi, ANKARA

### Özet

Hücre ölümünün başlıca apoptosis (programlı hücre ölümü olarak da bilinir) ve nekrozis olmak üzere 2 formu vardır. Apoptosis ve nekrozis biyokimyasal ve yapısal olarak birbirlerinden farklı olmaları sebebiyle hücre ölümü 2 farklı formda sınıflandırılmaktadır. Yunanca ağaç yapraklarının gövdeden ayrılması anlamına gelen apoptosis kelimesi, ilk kez 1972'de, nekrozdan daha farklı ve yeni hücre ölüm formlarının tanımlanması için kullanılmıştır. Apoptosis ekstrinsek (ölüm reseptörleri) ve intrinsek (mitokondrial) yollarla gerçekleşir. Apoptosis hücre ölümünde fizyolojik bir süreç olup, multisellüler organizmaların fonksiyonunda ve normal gelişiminde önemlidir. Bcl-2 ailesi ve kaspazlar (sistein aspartat-spesifik proteinaz) programlı hücre ölümünde oldukça önemli rol oynamaktadır. Bcl-2 ailesinin üyeleri pro-apoptotik ve anti-apoptotiktir. Kaspaz ailesinin üyeleri Bcl-2 ailesinden gelen sinyallerle pro-apoptotik ve anti-apoptotik dengeyi etkilemektedir. Apoptotik hücre ölümü hem akut hem de kronik nörolojik hastalıkların özelliğidir. Bu tür hastalıkların sebepleri farklı olmasına karşın, hücre ölüm mekanizmasının benzer özellikler gösterdiği saptanmıştır. Epilepsi tekrarlayan nöbetlerle karakterize olan yaygın, kronik nörolojik bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda, uzun süreli nöbetler ve status epileptikus beyinde nöronal ölüme sebep olduğunu doğrulamaktadır. Akut ve kronik nörodejeneratif hastalıklar yüksek mortalite ve morbiditeyle seyrederek ve bu hastalıkların sağaltım seçenekleri ya birkaç tanedir ya da yoktur. Bu makalede, biz nöronal hücre ölümünün mekanizmasını, sebeplerini ve onun epilepsideki rolünü ele aldık.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptosis; epilepsi; kaspaz; nöron; TUNEL

**Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27:889-893**

### Abstract

There are two principal forms of cell death: apoptosis, also known as programmed cell death, and necrosis. Since necrosis and apoptosis differ both biochemically and structurally from each other, they were classified as two separate forms of cell death. The word 'apoptosis' is derived from Greek word meaning 'falling leaves' and was first used to describe new form of cell death distinct from necrosis in 1972. Apoptosis occurs via extrinsic (death receptors) and intrinsic (mitochondria) pathways. Apoptosis is a physiologic process for cell death that is critical for the normal development and function of multicellular organisms. The Bcl-2 family and caspases (cysteinyll aspartate-specific proteinases) play a prominent role in programmed cell death. Members of the Bcl-2 family are pro-apoptotic or anti-apoptotic. Members of the caspase family can influence the balance of proapoptotic and antiapoptotic signals from the Bcl-2 family. Apoptotic cell death can a feature of both acute and chronic neurologic diseases. Despite the various causes of such disorders, the mechanism of cell death is similar. Epilepsy is a common, chronic neurologic disorder characterized by recurrent seizures. Experimental studies have confirmed that a prolonged seizure or status epilepticus (SE) can cause neuronal death in the brain. Acute and chronic neurodegenerative diseases are illnesses associated with high mortality and morbidity, and few or no effective options are available for their treatment. In this article, we examine the causes and mechanisms of neuronal-cell death, concentrating on its possible roles in epilepsy.

**Key Words:** Apoptosis; epilepsy; caspases; neurons; in situ nick-end labeling

**A**ğaç yapraklarının gövdeden ayrılması anlamına gelen 'apoptosis' kelimesi, Yunanca'dan köken almıştır ve çok hücreli organizmalarda görülen programlı hücre ölümü

"Programmed cell death (PCD)" anlamına gelir.<sup>1</sup> Fizyolojik hücre ölümü, hücre intiharı, hücre kaybı terimleri de eş anlamlı olarak kullanılabilen ve literatürde yer alan ifadelerdir.

Hücre ölümüyle ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boya yöntemlerinin keşfiyle başlamış ve ilk tanımlanan terim nekroz olmuştur. 1970'lerin başında, iskemiye maruz kalan dokunun etrafında nekrozdan daha farklı, yeni hücre ölüm formları olduğu gözlenmiş ve buna

**Geliş Tarihi/Received:** 17.01.2007 **Kabul Tarihi/Accepted:** 16.06.2007

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr. Selma YAZAR  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi,  
Farmakoloji ve Toksikoloji ABD, ANKARA  
selmayazar@hotmail.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2007, 27

889

programlanmış hücre ölümü diye de tanımlanan apoptosis denilmiştir.<sup>1,2</sup> Bu tarihten itibaren de farklı disiplinlerdeki bilim adamları hücre ölümü araştırmalarıyla ilgilenmeye başlamışlardır.

Hücre ölümü genellikle apoptosis ve nekroz olarak iki kategoride sınıflandırılır. Nekroz; pasif, katabolik bir süreç ve her zaman patolojik bir olaydır. Histolojik bulguları mitokondrial ve nükleer şişme, organellerin bozulması, nükleus etrafındaki kromatinin yoğunlaşması şeklinde devam ederek, DNA'nın nükleer ve sitoplazmik membranında bozulma ile giden bir süreçtir.<sup>3,4</sup>

Apoptosis ise nekrozun tersine, multisellüler organizmalarda fizyolojik şartlar altında oluşur. Gelişimin normal bir parçasıdır ve enerji gerektiren aktif bir sürece sahiptir.<sup>3,5,6</sup> Apoptosis değişik doku ve hücre tiplerinde oluşabilecek morfolojik ve biyokimyasal seyri ile kompleks bir olgudur.<sup>7,8</sup> Bununla ilişkili biyokimyasal yollarda, protein faktörlerinin, nöronal yaşam ve ölüm arasındaki dengenin düzenlenmesinde önemli rol oynadıkları gözlenmiştir.<sup>9</sup>

Apoptosisin indüklenmesi birçok hücrenin sitoplazmasında inaktif olarak bulunan kaspaz (cysteinyl aspartate-specific proteinases) adı verilen sitozolik enzimlerin aktivasyonu ile oluşmaktadır. Lenfositlerde ve diğer pek çok hücrelerde kaspaz aktivasyonu ve sonuçta oluşan apoptosis iki farklı yolak izler. Bunların birisi (intrinsek yolak) mitokondrial değişiklikler ile ilişkilidir ve programlanmış hücre ölümü olarak da adlandırılır. Mitokondrial intermembran boşluğundan serbestlenen sitokrom c intrinsek yolağın başlaması için tetikleyici mekanizmayı oluşturmaktadır. Sitolitik sitokrom c, dATP varlığında, apoptosis proteaz aktifleyen faktör-1 (APAF-1)'e bağlanır ve sonuçta kaspaz-9 aktivasyonu oluşur. Kaspaz-9 intrinsek yol için ilk aktive olan kaspazdır ve bunun aktivasyonu ile kaspaz-3 gibi diğer efektör prosesler aktive olur. Endoplazmik retikulum (ER) fonksiyonlarındaki değişikliklerin intrinsek apoptotik yolağın başlaması için ikinci majör etkiye sahip olduğu bilinmektedir. ER'un protein sentezini, protein trafiğini, strese cevabı ve intrasellüler kal-

siyum seviyelerini düzenlemede rol oynadığı bildirilmektedir.<sup>10-12</sup>

İkinci yolak olan ekstrinsek yolak, plazma membranındaki ölüm reseptörlerinin sinyalleriyle ilişkilidir ve aktivasyonun indüklediği hücre ölümü olarak da isimlendirilir. Küçük molekül ağırlıklı ligandların, bir veya daha fazla membrandan eksprese olan ölüm reseptörlerine bağlanması ile tetiklenir. Bu reseptörler için gerekli olan ligandlar; TNF- $\alpha$ , Fas ligand ve TNF apoptosisi indükleyen reseptör ligand (TRIAL)'dır. Aktivasyon sonucu ligandlar ilgili reseptörlere bağlanmaktadır ve bu reseptörler kaspaz-8'i aktive eden bir adaptör protein ile ilişkilidir. Kaspaz-8 aktivasyonu yolağı başlatıp kaspaz-3 gibi efektör proteazları aktiflemesi sonucu ölümü indükleyen sinyal kompleksini (DISC) oluşturmaktadır.<sup>12</sup>

Pasif hücre ölümü, spesifik antijenin tanınması, interlökin-2 (IL-2) gibi büyüme faktörleri ve ko-sitimülasyonların devreye girmesi ile engellenebilir. Tüm bu uyarılar Bcl ailesinin anti-apoptotik proteinlerinin ekspresyonunu indükler. Bcl ailesi kompleks bir aile olup; pro-apoptotik (Bax, Bid ve Bim) ve anti-apoptotik (Bcl-2, Bcl-x1 ve Bcl-w) üyeleri bilinmektedir. Bax, Bid, Bad ve Bim gibi hücre ölümünü ilerleten üyelerin aktive edilmesi sonucu apoptosisin başlatıldığı, Bcl-2 ve onun homoloğu olan Bcl-x'in pro-apoptotik proteinlerin serbestlenmesini bloke ederek apoptosisi inhibe ettiği araştırmalar sonucunda gösterilmiştir.<sup>13-15</sup>

Apoptosis, deri, bağırsak mukozası ve immün sistem gibi dokulardaki çoğalan hücrelerin sayısını ve sürekliliğini devam ettirmekle kalmayıp aynı zamanda periferik ve merkezi sinir sisteminin gelişiminde de önemli rol oynamaktadır.<sup>16</sup> Gelişim esnasında oluşan programlanmış hücre ölümü ilk kez sinir sistemi için tanımlanmıştır.<sup>17</sup> Apoptotik hücre ölümü hem akut hem de kronik nörolojik hastalıkların bir özelliğidir.<sup>18</sup>

Yaygın olarak görülen nörodejeneratif hastalıklardan birisi olan epilepsi, beyinde çeşitli mekanizma ve tipte nöbetlerle kendini göstermektedir.<sup>19</sup> Bir epileptik nöbet, nöronların hipersenkronizasyonla boşalması ve bunun sebep olduğu

beynin geçici fizyolojik disfonksiyonu olarak tarif edilebilir.<sup>12,19</sup>

1990'lı yılların ortalarında nöbetlerin indüklediği beyin hasarı konusu araştırmacıların ilgi odağı olmuş, apoptosis ve biyokimyasal mekanizmaları üzerinde durulmuştur. Yapılan ilk çalışmalarda, uzayan nöbetlerden sonra sıçan beyninden alınan doku örneklerinde TUNEL tekniği ve agaroz jel yöntemi kullanılmıştır.<sup>20-22</sup> Son zamanlarda epilepside apoptosisin belirlenmesinde en yaygın kullanılan teknikler; DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlayan, TUNEL (DNA fragmentlerinin in situ terminal deoxynucleotidyl-transferaz- aracılı dUTP nick-end labelling) ve "in situ end labelling (ISEL)" yöntemi ile DNA kırıklarının gösterilebildiği agaroz jel elektroferez yöntemi ve kaspaz-3 seviyesinin belirlenmesine yönelik tekniklerdir.

TUNEL yöntemi, DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlar. Parafin bloklar, donmuş kesitler, kültürü yapılmış solüsyon halindeki veya 'plate'lere eklenmiş ya da lameller üzerinde büyütülmüş hücrelerde apoptosisin varlığını saptayan bir yöntemdir. Bu tekniğin sonuçları hem floresan mikroskopla hem de flow sitometri ile değerlendirilebilir. Birçok araştırmacı tarafından TUNEL tekniği apoptosisin belirlenmesinde en çok tercih edilen ve kullanılan yöntemdir.<sup>3,23</sup>

ISEL yöntemiyle de DNA fragmentasyonları gösterilebilmektedir.<sup>24</sup> Bu teknik karyotik hücreleri morfolojik olarak belirleyen bir tekniktir. DNA fragmentları yeni DNA iplikçiklerinin sentezine kalıp in situ olarak hizmet eder ve böylece histokimyasal prosesten sonra ışık mikroskopunda görüntülenmelerini sağlar.<sup>25,26</sup>

Agaroz jel yöntemi ile DNA kırıkları gösterilebilir. Apoptosiste DNA kırıkları merdiven görüntüsü şeklindedir. Bu bulgu apoptosisin karakteristik özelliği olup nekrozda görülmez. Bu yüzden bu yöntem apoptosisin nekrozisten ayrılmasında faydalı bir yöntemdir. Bu yöntem tipik DNA alt ünitelerinin gösterilmesinde de kullanılabilir. Tekniğin dezavantajı ise, bir hücre topluluğu için kullanılabilmesi, tek hücrede proteaz aktivitesinin ölçümü için kullanılamamasıdır.<sup>2</sup>

Kaspaz-3 aktivitesi kaspaz substratlarına karşı spesifik antikor kullanılarak 'Western blotting' yöntemiyle belirlenebilir.<sup>11</sup>

Epilepside, kısa nöbetlerden sonra çok az da olsa ölen nöron hücrelerinde özellikle hipokampusta 'apoptotik' DNA fragmentasyonu gözlenmiştir.<sup>27-29</sup> Status epileptikus (SE) beyin çeşitli bölgelerine özellikle de hipokampusta nöronların ölümüne sebep olmaktadır. SE'den sonraki hücre ölüm mekanizması hakkında epilepsi araştırmalarında hala çelişkiler bulunmaktadır.<sup>30</sup> 30 dk.dan daha uzun süren SE nöbetlerinin hem deney hayvanlarında hem de insanlarda nöronal ölüme sebep olduğu bildirilmektedir.<sup>27,31,32</sup>

SE'nin indüklediği nöronal ölüm morfolojik olarak nekrotiktir. Nöronal ölümü başlatan mekanizma; aşırı glutamat salınımının postsinaptik N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini aktive edip reseptör aracılı kalsiyum girişini başlatması, serbest radikallerin üretilmesi, hücrel membranların, yapısal proteinlerin ve temel enzimlerin hasarı ile birlikte intrasellüler proteaz ve nöronal nitrik oksit sentetazın aktivasyonu şeklinde belirtilmiştir.<sup>10</sup> Yapılan araştırmalarda hem NMDA hem de non-NMDA reseptör antagonistlerinin çeşitli nöbet türlerinde nöron koruyucu etkilerinin olduğu bildirilmektedir.<sup>33-35</sup>

Epilepsi konusunda geçmişte en çok tartışılan sorulardan birisi de beyin hasarının nöbetlerin sebebi mi yoksa sonucu mu olduğudur. Hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda, beyin hasarı sonucu nöbetlerin oluşabileceği gibi nöbetlerin kendisinin de beyin hasarına sebep olabileceği bildirilmiştir. Hayvan deneylerine göre nöbetlerin beyin hasarına neden olabilmesi için yaş, nöbetin tipi ve süresi, nöbetin etiolojisi ve nöbete neden olan genetik faktörler gibi çeşitli faktörler etken olarak bildirilmektedir.<sup>36</sup> Oluşturulan deneysel modeller ve klinik çalışmalar uzayan nöbetlerin beyinde nöronal ölüme sebep olabileceğini de doğrulamaktadır.<sup>22,31,32,37</sup>

Nöbetleri takiben apoptosisin oluşumunda kaspaz ve Bcl-2 gibi düzenleyici proteinlerin oldukça önemli role sahip olduğu bildirilmektedir.<sup>10</sup> Deneysel olarak yapılan bir çalışmada SE indük-

lendikten sonra kaspaz inhibitörleri verilmiş ve bu inhibitörlerin verilmesinden önce ve sonraki apoptotik hücre ölümü değerlendirildiğinde hücre ölümünün azaldığı ve nöbetlerin engellendiği görülmüştür. Sonuçta, nöronal dejenerasyonda kaspazların özellikle de kaspaz-3'ün oldukça önemli bir rol oynadığı tespit edilmiştir.<sup>22,38</sup> Nöbetleri takiben beyindeki hasar PCD ile sonuçlandırıldığından kaspaz inhibitörleri ile hücre dejenerasyonunu engellemek gibi alternatif yeni bir sağaltım seçeneği olabileceği düşünülmektedir.<sup>22</sup>

Epileptik ilaçlarda apoptosis ile ilgili veriler sınırlıdır. Son yapılan çalışmalarda *Gastrodia elata* (Orchidaceae) adı verilen bir Çin bitkisinin, Kainik asit (KA) verilmiş ratlarda; apoptosisi, mikroglia aktivasyonunu, serbest oksijen radikallerini ve SE'yi azalttığı ve zarara karşı koruyucu bir etkisi olduğu bildirilmiştir.<sup>39</sup> Geleneksel Çin bitki ilaçlarının nöbetlerde nöronları koruduğu ve antiepileptogenetik özelliklere sahip olduğu da bildirilmektedir.<sup>40</sup> Geleneksel antiepileptik ilaçlardan valproik asidin (sınıf 1 seçici histon diasetilaz inhibitörü) epilepsinin sağaltımında geniş çapta kullanıldığı fakat bu ilacın etki şeklinin tam olarak açıklanamadığı bildirilmektedir.<sup>41-43</sup> Minosiklin, tetrasiklin ailesinden, geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Minosiklinin nöron koruyucu etkisi bilinmesine rağmen epilepsili hayvan modellerinde minosiklinin nöron koruyucu etkisi araştırılmamıştır. Farelerde yapılan bir çalışmada, KA'nın indüklediği hücre ölümüne karşı minosiklinin kaspaza bağlı olan veya bağlı olmayan yolaklar üzerine etkisi araştırıldığında, minosiklinin hem kaspaza bağlı hem de bağlı olmayan apoptotik yollarını inhibe ettiği ve farelerde KA'nın uygulamasından sonra hipokampal hasara karşı nöron koruyucu etkisi olabileceği düşünülmektedir.<sup>44</sup>

Hem akut hem de kronik nörolojik hastalıklar yüksek mortalite ve morbiditeyle seyreden ve sağaltım seçenekleri oldukça az olan hastalıklardır. Apoptotik hücre ölümü oldukça geç gelişmektedir ve nöronal apoptosise sebep olan stres ve sinyaller sinir sisteminin fonksiyonlarında dönüşümsüz hasara sebep olabilmektedir. Fakat hücre ölümünü içeren hücre yolları konusunda yapılacak olan araştırmalar hücre ölüm mekanizmasını anlamamı-

za ve sonuçta da sağaltım seçeneklerinin artmasına katkı sağlayacaktır. Bununla ilişkili çalışmaların sayısının artırılması gerekmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Curtin JF, Cotter TG. Live and let die: Regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal* 2003;15:983-92.
2. Van Cruchten S, Van Den Broeck W. Morphological and biochemical aspects of apoptosis, oncosis and necrosis. *Anat Histol Embryol* 2002;31:214-23.
3. Renvoize C, Biola A, Pallardy M, Breard J. Apoptosis: Identification of dying cells. *Cell Biol Toxicol* 1998;14:111-20.
4. Honig LS, Rosenberg RN. Apoptosis and neurologic disease. *Am J Med* 2000;108:317-30.
5. Strasser A, O'Connor L, Dixit VM. Apoptosis signaling. *Annu Rev Biochem* 2000;69:217-45.
6. Ribble D, Goldstein NB, Norris DA, Shellman YG. A simple technique for quantifying apoptosis in 96-well plates. *BMC Biotechnol* 2005;5:12.
7. Zakeri Z, Bursch W, Tenniswood M, Lockshin RA. Cell death: Programmed, apoptosis, necrosis, or other? *Cell Death Differ* 1995;2:87-96.
8. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: The significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980;68:251-306.
9. Nijhawan D, Honarpour N, Wang X. Apoptosis in neural development and disease. *Annu Rev Neurosci* 2000;23:73-87.
10. Fujikawa DG. Prolonged seizures and cellular injury: Understanding the connection. *Epilepsy Behav* 2005;7 (Suppl 3):S3-11.
11. Li T, Fan Y, Luo Y, Xiao B, Lu C. In vivo delivery of a XIAP (BIR3-RING) fusion protein containing the protein transduction domain protects against neuronal death induced by seizures. *Exp Neurol* 2006;197:301-8.
12. Henshall DC, Simon RP. Epilepsy and apoptosis pathways. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25:1557-72.
13. Takano J, Tomioka M, Tsubuki S, Higuchi M, Iwata N, Itohara S, et al. Calpain mediates excitotoxic DNA fragmentation via mitochondrial pathways in adult brains: Evidence from calpastatin mutant mice. *J Biol Chem* 2005;280:16175-84.
14. Ananth C, Thameem Dheen S, Gopalakrishnakone P, Kaur C. Domoic acid-induced neuronal damage in the rat hippocampus: Changes in apoptosis related genes (bcl-2, bax, caspase-3) and microglial response. *J Neurosci Res* 2001;66:177-90.
15. Henshall DC, Araki T, Schindler CK, Lan JQ, Tiekoter KL, Taki W, et al. Activation of Bcl-2-associated death protein and counter-response of Akt within cell populations during seizure-induced neuronal death. *J Neurosci* 2002;22:8458-65.
16. Mattson MP. Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000;1:120-9.
17. Oppenheim RW. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1991;14:453-501.

18. Friedlander RM. Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *N Engl J Med* 2003;348:1365-75.
19. Stafstrom CE. Epilepsy: A review of selected clinical syndromes and advances in basic science. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006;26:983-1004.
20. Filipkowski RK, Hetman M, Kaminska B, Kaczmarek L. DNA fragmentation in rat brain after intraperitoneal administration of kainate. *Neuroreport* 1994;5:1538-40.
21. Pollard H, Charriaut-Marlangue C, Cantagrel S, Represa A, Robain O, Moreau J, et al. Kainate-induced apoptotic cell death in hippocampal neurons. *Neuroscience* 1994;63:7-18.
22. Bengzon J, Kokaia Z, Elmér E, Nanobashvili A, Kokaia M, Lindvall O. Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:10432-7.
23. Li X, Darzynkiewicz Z. Labelling DNA strand breaks with BrdUTP. Detection of apoptosis and cell proliferation. *Cell Prolif* 1995;28:571-9.
24. Fliss H, Gatteringer D. Apoptosis in ischemic and reperfused rat myocardium. *Circ Res* 1996;79:949-56.
25. Hawkins NJ, Lees J, Ward RL. Detection of apoptosis in colorectal carcinoma by light microscopy and in situ end labelling. *Anal Quant Cytol Histol* 1997;19:227-32.
26. Wijsman JH, Jonker RR, Keijzer R, van de Velde CJ, Cornelisse CJ, van Dierendonck JH. A new method to detect apoptosis in paraffin sections: In situ end-labeling of fragmented DNA. *J Histochem Cytochem* 1993;41:7-12.
27. Bengzon J, Mohapel P, Ekdahl CT, Lindvall O. Neuronal apoptosis after brief and prolonged seizures. *Prog Brain Res* 2002;135:111-9.
28. Zhang LX, Smith MA, Li XL, Weiss SR, Post RM. Apoptosis of hippocampal neurons after amygdala kindled seizures. *Brain Res Mol Brain Res* 1998;55:198-208.
29. Shinoda S, Araki T, Lan JQ, Schindler CK, Simon RP, Taki W, et al. Development of a model of seizure-induced hippocampal injury with features of programmed cell death in the BALB/c mouse. *J Neurosci Res* 2004;76:121-8.
30. Mikati MA, Abi-Habib RJ, El Sabban ME, Dbaibo GS, Kurdi RM, Kobeissi M, et al. Hippocampal programmed cell death after status epilepticus: Evidence for NMDA-receptor and ceramide-mediated mechanisms. *Epilepsia* 2003;44:282-91.
31. Meldrum BS, Bruton CJ. Epilepsy. In: Adams JH, Duchon LW, eds. *Greenfield's Neuropathology*. New York: Oxford University Press; 1992. p.1246-83.
32. Hauser WA. Status epilepticus: Frequency, etiology, and neurological sequelae. *Adv Neurol* 1983;34:3-14.
33. Fujikawa DG, Daniels AH, Kim JS. The competitive NMDA receptor antagonist CGP 40116 protects against status epilepticus-induced neuronal damage. *Epilepsy Res* 1994;17:207-19.
34. Penix LP, Wasterlain CG. Selective protection of neuro-peptide containing dentate hilar interneurons by non-NMDA receptor blockade in an animal model of status epilepticus. *Brain Res* 1994;644:19-24.
35. Penix LP, Thompson KW, Wasterlain CG. Selective vulnerability to perforant path stimulation: Role of NMDA and non-NMDA receptors. *Epilepsy Res Suppl* 1996;12:63-73.
36. Holmes GL. Seizure-induced neuronal injury: Animal data. *Neurology* 2002;59(9 Suppl 5):S3-6.
37. Liou AK, Clark RS, Henshall DC, Yin XM, Chen J. To die or not to die for neurons in ischemia, traumatic brain injury and epilepsy: A review on the stress-activated signaling pathways and apoptotic pathways. *Prog Neurobiol* 2003;69:103-42.
38. Kondratyev A, Gale K. Intracerebral injection of caspase-3 inhibitor prevents neuronal apoptosis after kainic acid-evoked status epilepticus. *Brain Res Mol Brain Res* 2000;75:216-24.
39. Hsieh CL, Chen CL, Tang NY, Chuang CM, Hsieh CT, Chiang SY, et al. *Gastrodia elata* BL mediates the suppression of nNOS and microglia activation to protect against neuronal damage in kainic acid-treated rats. *Am J Chin Med* 2005;33:599-611.
40. Sucher NJ. Insights from molecular investigations of traditional Chinese herbal stroke medicines: Implications for neuroprotective epilepsy therapy. *Epilepsy Behav* 2006;8:350-62.
41. Draganow M, Greenwood JM, Cameron RE, Narayan PJ, O'Carroll SJ, Pearson AG, et al. Valproic acid induces caspase 3-mediated apoptosis in microglial cells. *Neuroscience* 2006;140:1149-56.
42. Catalano MG, Fortunati N, Pugliese M, Costantino L, Poli R, Bosco O, et al. Valproic acid induces apoptosis and cell cycle arrest in poorly differentiated thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1383-9.
43. Facchetti F, Previdi S, Ballarini M, Minucci S, Perego P, La Porta CA. Modulation of pro-and anti-apoptotic factors in human melanoma cells exposed to histone deacetylase inhibitors. *Apoptosis* 2004;9:573-82.
44. Heo K, Cho YJ, Cho KJ, Kim HW, Kim HJ, Shin HY, et al. Minocycline inhibits caspase-dependent and -independent cell death pathways and is neuroprotective against hippocampal damage after treatment with kainic acid in mice. *Neurosci Lett* 2006;398:195-200.