

NMDAR ve LGI1 Antikorlarının Absans Nöbetleri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması: Genetik Absans Epilepsi Sıçanları ve Akut Farmakolojik Absans Nöbet Modelinden Elde Edilen Bulgular

Investigating the Effects of NMDAR and LGI1 Antibodies on Absence Seizures: Insights from Genetic Absence Epilepsy Rats and Acute Pharmacological Model of Absence Seizures

¹Nihan ÇARÇAK¹, ²Hande YÜCEER KORKMAZ^{2#}, ³Şura Akat PİŞKİN^{1,3#}, ⁴Beyzanur YALÇIN², ⁵Selen ÇIRAK², ⁶Canan ULUSOY⁴, ⁷Elif ŞANLI², ⁸Cem İsmail KÜÇÜKALİ², ⁹Filiz ONAT⁴, ¹⁰Erdem TÜZÜN²

¹İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneyel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Giriş ve Amaç: Çocukluk Çağı Absans Epilepsisi genetik jeneralize epilepsiler arasında önemli bir yere sahip olup, ani ve kısa süreli bilinç kayıplarıyla karakterizedir. Merkezi sinir sisteminde nöronal uyarılabilirliği düzenleyen lösin-zengin gliom inaktive protein 1 (LGI1) ve N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR) proteinleri, anti-LGI1 ve anti-NMDAR ensefalitinde otoantikorlar tarafından hedef alınarak epileptik nöbetler, davranış bozuklukları ve hafıza sorunlarına neden olur. Ancak, bu antikorların absans nöbetlerindeki rolleri net değildir. Bu çalışmada, anti-LGI1 ve anti-NMDAR antikorlarının absans nöbetlerine etkileri, Strasburg kökenli genetik absans epilepsili sıçan (GAERS) ve farmakolojik pentilentetrazol (PTZ) sıçan modelleri kullanılarak araştırılmıştır.

Yöntem: Anti-NMDAR, anti-LGI1 ve sağlıklı bireylerden elde edilen IgG, GAERS ve Wistar sıçanlarının lateral ventriküllerine gün aşırı olmak üzere 11 gün boyunca uygulandı. GAERS'lerde antikor uygulamasından önce ve sonra EEG kaydı alınarak spontan diken-dalga deşarjları (DDD) değerlendirildi. Wistar sıçanlara antikor infüzyonları sonrasında 12. gün 35 mg/kg PTZ uygulanarak absans nöbetler indüklendi ve 120 dakika boyunca EEG kaydı alındı.

Bulgular: GAERS'lere NMDAR IgG uygulaması, DDD süresi ve sayısını anlamlı derecede artırırken, LGI1 IgG anlamlı bir etki göstermedi. Pentilentetrazol modeliyle de benzer sonuçlar elde edildi; NMDAR IgG, nöbet duyarlılığını artırırken, LGI1 IgG anlamlı bir değişiklik yaratmadı.

Sonuç: Bu çalışma, NMDAR ve LGI1 antikorlarının absans nöbetleri üzerindeki etkilerini ilk kez karşılaştırmalı olarak göstermektedir. N-metil-D-aspartat reseptörü antikorları, absans nöbetlerini artırıcı etkiye sahipken, LGI1 antikorlarının bu nöbetler üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. Bulgular, NMDAR antikorlarının absans epilepsisi patofizyolojisindeki rolüne işaret etmekte ve antikor aracılı nöbet mekanizmalarına dair yeni araştırmalara zemin hazırlamaktadır.

Anahtar Sözcükler: Absans epilepsi, genetik absans epilepsi sıçan modeli, LGI1, NMDAR, otoantikor, PTZ, DDD.

ABSTRACT

Introduction: Childhood Absence Epilepsy, a subtype of genetic generalised epilepsy, is characterised by sudden and brief episodes of impaired consciousness. The Leucine-rich glioma-inactivated protein 1 (LGI1) and N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) are key proteins involved in regulating neuronal excitability. In conditions like anti-LGI1 encephalitis and anti-NMDAR encephalitis, autoantibodies target and disrupt these proteins, causing memory deficits, behavioural changes, sleep disturbances, and epileptic seizures. However, the roles of LGI1 and NMDAR dysfunction in the pathophysiology of absence of seizures remain unclear. This study aims to investigate the effects of LGI1 and NMDAR antibodies on absence seizures using two experimental models: Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg (GAERS) and a low-dose pentylenetetrazol (PTZ) model of absence seizures.

Methods: IgG purified from the peripheral blood of healthy controls (HC IgG), and patients with anti-NMDAR, and anti-LGI1 encephalitis, was administered intracerebroventricularly into GAERS and Wistar rats every other day for 11 days. Before and after antibody administration, electroencephalography (EEG) recordings were performed to analyse spontaneous spike-and-wave discharges

(SWDs) in GAERS. In Wistar rats, after the completion of antibody infusions, PTZ was administered (35 mg/kg) on the 12 th day to induce absence seizures. The occurrence of PTZ-induced SWDs was quantified.

Results: NMDAR IgG significantly increased the duration and number of SWDs in GAERS compared to HC IgG. LGI1 IgG had no significant effect, suggesting a differential role of NMDAR and LGI1 antibodies in modulating SWD activity. Similarly, NMDAR IgG-treated Wistar rats showed increased susceptibility to PTZ-induced absence seizures, while LGI1 IgG did not cause significant changes in PTZ-induced SWDs.

Conclusion: These results reveal a distinct pro-epileptogenic effect of NMDAR antibodies in both genetic and pharmacological models of absence epilepsy, while LGI1 antibodies appear to have a negligible effect. These findings suggest a specific role for NMDAR dysfunction in absence seizure pathophysiology and support further investigation into antibody-mediated seizure mechanisms.

Keywords: Autoantibodies, childhood absence epilepsy, genetic absence epilepsy rat model, LGI1, NMDAR, PTZ, SWDs

Cite this article as: Çarçak N, Yüceer Korkmaz H, Pişkin ŞA, Yalçın B, Çırak S, Ulusoy C, ve ark. NMDAR ve LGI1 Antikorlarının Absans Nöbetleri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması: Genetik Absans Epilepsi Sıçanları ve Akut Farmakolojik Absans Nöbet Modelinden Elde Edilen Bulgular. Arch Neuropsychiatry 2025;62:279–285. doi: 10.29399/npa.29110

Yazışma Adresi: Nihan Çarçak, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye • **E-posta:** nihan.carcak@istanbul.edu.tr; Erdem Tüzün, İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneyel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye. • **E-posta:** drerdem@yahoo.com

Geliş Tarihi: 14.04.2025, **Kabul Tarihi:** 20.05.2025, **Çevrimiçi Yayın Tarihi:** 28.06.2025

©Telif Hakkı 2025 Türk Nöropsikiyatri Derneği • Makale metnine www.noropsikiyatriarsivi.com web sayfasından ulaşılabilir

Öne Çıkan Noktalar

- NMDAR IgG infüzyonu, GAERS modelinde DDD süresini ve sıklığını artırdı.
- NMDAR IgG infüzyonu, PTZ ile indüklenen absans nöbetlerine duyarlılığı artırdı.
- LGI1 antikorları, DDD aktivitesi üzerinde sınırlı bir etki gösterdi.
- NMDAR ve LGI1 antikorları, absans nöbetlerinin patafizyolojisinde farklı rol oynamaktadır.

GİRİŞ

Absans epilepsisi, genellikle ani ve kısa süreli bilinç kayıpları ile birlikte elektroensefalografi (EEG) üzerinde gözlenen diken-dalga deşarjları (DDD'ler) ile karakterize edilir. Kortiko-talamokortikal (KTK) ağ içinde meydana gelen anormal nörofizyolojik etkileşimler sonucu ortaya çıkan DDDler, tipik olarak 3-4 Hz salınımlar şeklindedir (1). Son yıllarda yapılan klinik ve preklinik çalışmalar, immün yanıt ve nöroenflamasyonun epilepsi ve epileptogenez, özellikle çocukluk çağı absans epilepsisi patofizyolojisinde potansiyel bir rolü olabileceğini öne sürmektedir (2-4). Özellikle, hem çocuk hem de yetişkin epilepsi hastalarında nöronal yüzey antijenlerini hedef alan otoantikorların tespit edilmesi (5), bu otoimmün yanıtın tedavi açısından önemli etkileri olabileceğini düşündürmektedir (6).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR) ve lösin-zengin glioma inaktive edici protein 1 (LGI1) gibi nöronal yüzey antijenlerine karşı gelişen otoantikorların, nöbetler ve nöro-davranışsal komorbiditeler dâhil olmak üzere çeşitli nörolojik sendromlarla karakterize edilen otoimmün ensefalitte önemli rol oynadıklarını düşündürmektedir (6). Otoimmün ensefalitte nöbetler oldukça yaygın ve farklı formlarda görülebilen, absans nöbetler son derece nadirdir ve bu durumun altında yatan mekanizmalar henüz yeterince anlaşılmamıştır.

Bu antikorların nöbet başlangıcındaki spesifik katkısı hâlâ araştırılmaktadır. Hem in vivo hem de in vitro çalışmalar, otoantikorların patojenitesini destekleyen giderek artan kanıtlar sunmaktadır. Örneğin, nöronal yüzey antijenlerini hedefleyen ilk tanımlanan otoantikordardan biri olan NMDAR'ye karşı gelişen otoantikorlar, in vitro ortamda reseptörlerin çapraz bağlanması ve internalizasyonu yoluyla nöron membranındaki NMDAR ekspresyonunun seçici olarak azalmasına neden olmaktadır (7,8). In vivo çalışmalarda ise, bu antikorların, NMDAR'lerin inhibitör sinapslardaki lokalizasyonunu, EphrinB2 ile olan etkileşimini bozarak engellediği gösterilmiştir (9). Mekanistik olarak, anti-LGI1 antikorlarının LGI1 ile ADAM22 (bir disintegrin ve metalloproteinaz domeni içeren protein 22) arasındaki etkileşimi bozarak hem presinaptik voltaj kapılı potasyum kanal kompleksinin (VGKCC) hem de postsinaptik α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionik asit (AMPA) reseptörlerinin sinyal iletimini bozduğu düşünülmektedir. Bu durum, nöbet gelişimine yakınlığı artırılabilir (10-12). LGI1 mutasyonları ve LGI1 otoantikorları, otoimmün limbik ensefalit (13) ve çeşitli epilepsi sendromları (14,15) ile ilişkilendirilmiştir. Preklinik çalışmalar, limbik ensefalitli hastalardan izole edilen LGI1 antikorlarının nöronal hipereksitabilitiyi artırdığını (16) ve in vivo ortamda nöbetleri tetiklediğini göstermiştir (17). Alta yatan olası moleküler mekanizma, hipokampusta Kv1,1 kanallarının yanı sıra total ve sinaptik AMPA reseptör alt birimlerinin azalmasını içermektedir (12).

LGI1 mutasyonları ve LGI1 otoantikorları, otoimmün limbik ensefalit (13) ve çeşitli epilepsi sendromları (14,15) ile ilişkilendirilmiştir. Preklinik çalışmalar, limbik ensefalitli hastalardan izole edilen LGI1 antikorlarının nöronal hipereksitabilitiyi artırdığını (16), ve in vivo ortamda nöbetleri

tetiklediğini göstermiştir (17). Alta yatan olası moleküler mekanizma, hipokampusta Kv1,1 kanallarının yanı sıra total ve sinaptik AMPA reseptör alt birimlerinin azalması olarak düşünülebilir (12).

Her ne kadar nöronal antikorlar ile epileptik aktivite arasındaki ilişki iyi bilise de, otoimmün ensefalit hastalarında absans nöbetler son derece nadirdir (18) ve bu düşük görülme sıklığının altında yatan nedenler hâlâ araştırılmamıştır. Bu çalışma, insan poliklonal NMDAR ve LGI1 otoantikorlarının iki farklı absans epilepsi hayvan modelinde: i) Strasbourg kökenli Genetik Absans Epilepsili Sıçanlar (GAERS) absans nöbetlerinin klinik, nörofizyolojik ve farmakolojik özellikleri iyi taklit eden, spontan DDD'ler içeren ve yaygın biçimde kullanılan genetik bir sıçan modelidir (19); ii) Düşük doz pentilentetrazol (PTZ) sıçan modeli absans epilepsisi için kabul gören kriterleri karşılayan, akut farmakolojik bir modeldir (20). DDD'ler üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır. Otoantikorların, genetik altyapı varlığı ya da yokluğu durumunda DDD'leri nasıl etkilediğinin anlaşılması, absans epilepside otoimmün mekanizmaların rolüne dair değerli bilgiler sağlayabilir ve geliştirilecek immünomodülatör tedaviler için potansiyel moleküler hedefleri ortaya koyabilir. Bu çalışmanın temel amacı, insan poliklonal NMDAR ve LGI1 otoantikorlarının iki farklı absans epilepsi hayvan modelinde absans nöbetler üzerindeki etkisini belirlemektir. Bu araştırma, absans epilepsinin patofizyolojisinde immün mekanizmaların rolünü anlamayı ve bu mekanizmaların terapötik hedef olarak potansiyelini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

YÖNTEM

Hayvanlar

Çalışma Acıbadem Mehmet Ali Aydınlar Üniversitesi, Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yetiştirilen yetişkin (3-4 aylık), 250-300 g erkek GAERS ve Wistar sıçanlarda gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar, 12/12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü altında, ad libitum gıda ve su erişimiyle standart laboratuvar koşullarında tutulmuştur. Çalışma, hayvan deneyleri ile ilgili AB Direktifi 2010/63/EU'ya uygun olarak İstanbul Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Etik numarası: 1107593). Deneylerde kullanılan hayvan sayısını azaltmak ve hayvanların acı ve stresi en aza indirmek için her türlü çaba gösterilmiştir.

Hasta özellikleri ve IgG saflaştırılması

Anti-LGI1 ensefaliti olan hastaların (n=4) ve sağlıklı kontrol grubunun (HC) (n=4) periferik kanından eldilen IgG, daha önceki çalışmalarda tarif edildiği gibi saflaştırılmıştır (11,21). Serum örnekleri semptomların ortaya çıkmasından sonraki ilk hafta içinde alınmış ve -80°C'de saklanmıştır. IgG, toplanan serum örneklerinden protein A-Sepharose kolonları aracılığıyla izole edilmiş, ardından fosfat tamponlu tuzlu su çözeltisi (PBS) ile diyalize edilmiş ve filtrelenerek sterilize edilmiştir. Saflaştırılmış IgG, jel elektroforezi ile doğrulanmış ve konsantrasyonları Bradford yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. LGI1 antikorlarının immünoaktivitesi, önceki çalışmalarda bildirildiği gibi hücre bazlı testler ve immünohistokimya ile doğrulanmıştır (22,23). Bu aşamalar için İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden alınan etik kurul onayı doğrultusunda (Etik numarası: 408/2013) ve tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Stereotaksik Cerrahi

Sıçanlar, ketamin (100 mg/kg, Ketazol %10, RichterPharma ag, Wels, Avusturya) ve ksilazin (10 mg/kg, Rompun 20 mg/ml, Bayer, Almanya) intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonu ile anestezi altına alındıktan sonra stereotaksik cerrahi alete yerleştirilmiştir. Bir kılavuz kanül (C313G, Plastic's One Inc., Roanoke, VA, ABD), lateral ventriküle (koordinatlar: AP: -0,8, ML: -1,5, V: -4,1 mm) (24), ayrıca, kayıt elektrotları sol frontal korteks (koordinatlar: AP: +2, ML: $\pm$ 3,5 mm) ve oksipital korteks (koordinatlar: AP: -6, ML: $\pm$ 4 mm) üzerine yerleştirilmiştir. İmplantlar dental akrilik ile kafatasına sabitlendikten sonra, antikor infüzyonlarına başlanmadan önce sıçanlara bir haftalık iyileşme süresi tanınmıştır.

İntraserebroventriküler (ISV) infüzyonlar

Bir haftalık iyileşme sürecinin ardından, her sıçan pleksiglas kafeslere yerleştirilmiş ve 20 dakika boyunca ortama alışmasına izin verilmiştir. Ardından, stereotaksik cerrahiden sonra GAERS sıçanlarında tipik absans nöbetlerinin varlığını doğrulamak amacıyla sabah 09,00–11,00 saatleri arasında 120 dakikalık bazal EEG kaydı alınmıştır. Benzer şekilde Wistar sıçanlardan da herhangi bir epileptik aktivite göstermediklerini (kontrol olduklarını) doğrulamak amacıyla EEG kaydı alınmıştır. Ertesi gün, intraserebroventriküler (ISV) uygulama için, kılavuz kanülün ucundan 1 mm daha uzun olan bir internal kılavuz kanül içerisine yerleştirilmiştir. NMDAR, LGI1 antikor-pozitif hastalardan veya sağlıklı kontrollerden (HC) izole edilen toplam 5 µL saflaştırılmış IgG, bir mikro infüzyon pompası (Legato® Dual syringe pump, KD Scientific, MA, ABD) kullanılarak sağ lateral ventriküle 20 dakika boyunca yavaşça enjekte edilmiştir. Antikorların ventriküle tam olarak ulaştırıldığından emin olmak için internal enjeksiyon bölgesinde en az 10 dakika süreyle yerinde bırakılmıştır. Bu infüzyonlar, toplam on gün boyunca iki günde bir tekrarlanmıştır (Şekil 1a ve 2a). Onuncu günün sonunda, her sıçana toplamda yaklaşık 25 µL antikor havuzu (yaklaşık 150–225 µg antikor) uygulanmıştır. Ventriküler yerleşimin doğruluğunu teyit etmek amacıyla, rastgele seçilen bazı sıçanlara prosedürlerin bitiminde 5 µL %1 metilen mavisi enjekte edilmiş ve boyanın ventriküler sistem içerisindeki dağılımı incelenerek enjeksiyon bölgelerinin doğruluğu kontrol edilmiştir.

Düşük doz PTZ modeli

Düşük doz (subkonvülsif doz) PTZ modeli insan absans epilepsisinin valide modellerinden biridir (20). Sistemik olarak uygulanan 20–35 mg/kg dozlarındaki PTZ, insanlardaki absans nöbetlerine benzer şekilde, EEG’de bilateral, senkronize DDD’ler ve davranışsal değişiklikler oluşturur. (25). Wistar sıçanlara, antikor infüzyonlarının tamamlanmasının ardından, 12. günde subkutan (s. c.) yolla PTZ (35 mg/kg, Sigma, MA, ABD) uygulanarak EEG’de bilateral senkronize DDD’ler ile karakterize akut absans nöbetler indüklenmiştir. Pentilentetrazol ile indüklenen DDD’lerin sayısı ve süresi uygulamadan sonraki 120 dakika boyunca EEG kaydı alınarak değerlendirilmiştir.

Elektroensefalografi kaydı ve nöbet paternlerinin analizi

Her infüzyonun ardından 120 dakika boyunca EEG kayıtları alınmıştır. Kümülatif nöbet süresi, nöbet sayısı ve her bir nöbetin ortalama süresi analiz edilerek gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Elektroensefalografi sinyalleri, 1–40 Hz bant geçişli filtre aralığına sahip BioAmp ML 136 amplifikatörü kullanılarak yükseltilmiş ve veriler Chart v. 8.1 yazılımı (PowerLab8S ADI Instruments, Oxfordshire, İngiltere) ile kaydedilip analiz edilmiştir. Toplam nöbet süresi, latans süresi, nöbet sayısı ve her bir nöbetin ortalama süresi değerlendirilmiştir. Hem bazal hem de uygulama sonrası kayıtlarda, yalnızca DDD aktivitesinden oluşan trenler şeklinde gözlenen, arka plan EEG’sinin en az iki katı genlikte olan ve 1 saniyeden uzun süren DDD kompleksleri analiz kapsamına alınmıştır (GAERS için 7–11 Hz, PTZ modeli için 3–4 Hz). Kümülatif nöbet süresi, nöbet sayısı ve her bir DDD’nin süresi, 120 dakikalık EEG kayıtları üzerinden değerlendirilmiştir.

Histolojik Doğrulama

Yerleştirilen kanülün yerleşimini teyit etmek amacıyla histolojik doğrulama yapılmıştır. EEG kayıtlarının tamamlanmasının ardından, sıçanlar anestezi altına alınmış, kılavuz kanül içerisine yerleştirilen internal aracılığı ile ve lateral ventriküle 10 µL %1’lik metilen mavisi (Sigma, MA, ABD) enjekte edilerek ISV kanülünün doğru konumlandırıldığı teyit edilmiştir. İğne çıkarılmadan önce en az 60 saniye boyunca yerinde tutulmuştur. İntraserebroventriküler enjeksiyon bölgelerinin kesin konumunu doğrulamak amacıyla, sıçanlar dekapite edildikten sonra beyin çıkarılmış ve metilen mavisinin yayılımı incelenmiştir.

Data Analizi

İstatistiksel analizler GraphPad Prism sürüm 10.4.2 (GraphPad Software LLC) kullanılarak yapılmıştır. IgG’nin DDD’ler üzerindeki etkileri şu parametreler değerlendirilerek incelenmiştir: 1) kümülatif nöbet süresi, 2) nöbet sayısı, 3) ortalama nöbet süresi, 4) ilk nöbete kadar geçen süre

(PTZ modeli için) ve 5) nöbet sırasında geçirilen süre (PTZ modeli için). Bu parametreler, iki faktörlü “tedavi” ve “zaman” değişkenleri ile iki yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak karşılaştırılmış ve ardından Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. İlk nöbete kadar geçen süre ve nöbet süresi için veriler, bir yönlü ANOVA ve *Bonferroni post hoc* test ile analiz edilmiştir. Tüm veriler ortalama $\pm$ S. E. M. olarak sunulmuş ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR

İnsan Poliklonal Otoantikorlarının GAERS Sıçanlarında Absans Nöbetleri Üzerindeki Farklı Etkileri

İnsan otoantikorlarının absans nöbetleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için, GAERS sıçanlarına sağlıklı kontrol (SK) bireylerden ($n=5$), NMDAR antikor pozitif hastalardan ($n=6$) veya LGI1 antikor pozitif hastalardan ($n=5$) alınan insan IgG’nin tekrarlayan ISV infüzyonları yapılmıştır. Elektroensefalografi kayıtları infüzyonlar sırasında ve her infüzyondan sonraki gün olmak üzere 11 günlük bir süre boyunca alınmıştır (Şekil 1a). Ardından, kümülatif süre, nöbet sayısı ve ortalama DDD süresi analiz edilmiştir.

N-metil-D-aspartat reseptörü Antikorları GAERS modelinde DDD Aktivitesini Anlamlı Derecede Artırmaktadır

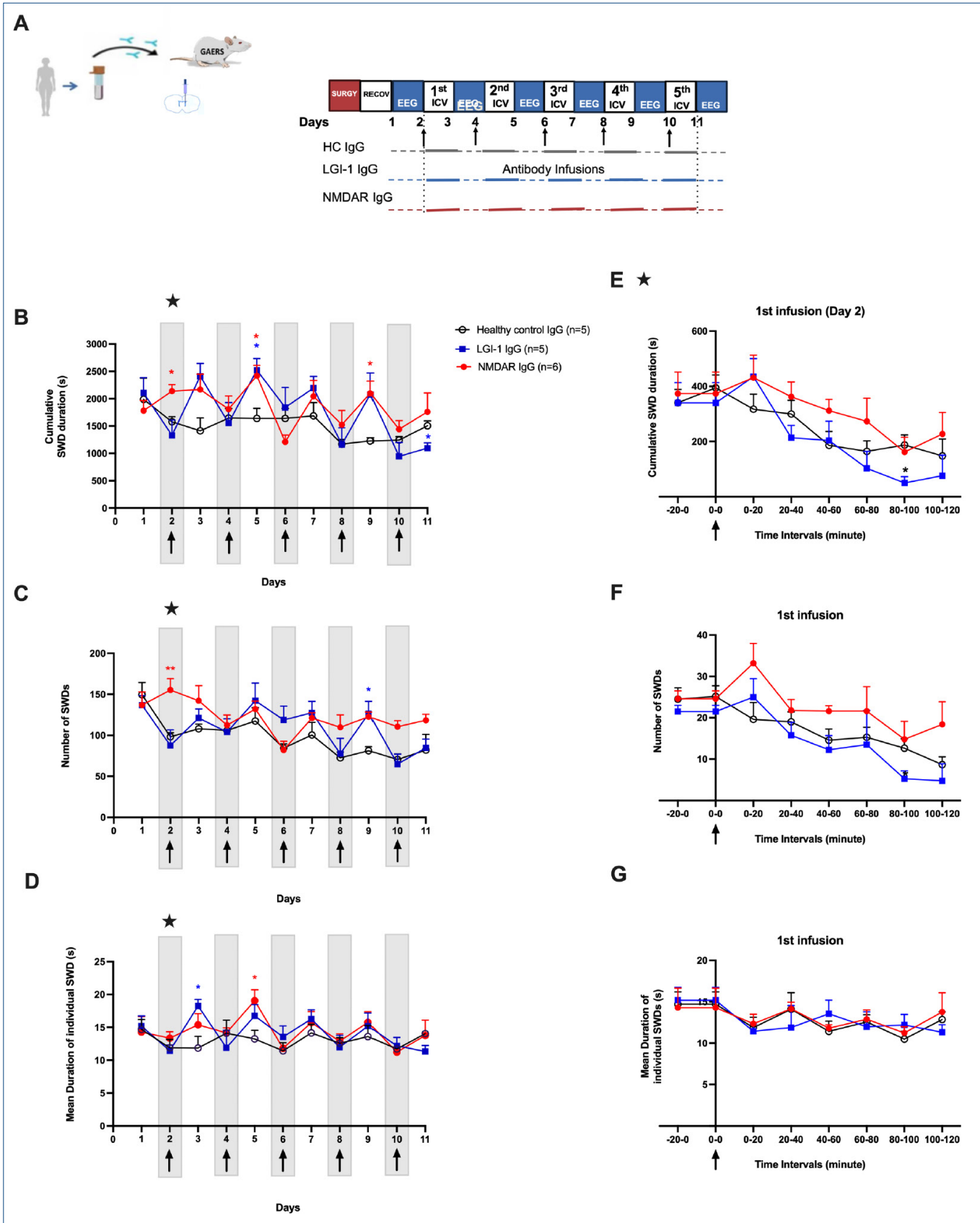
Genetik absans epilepsili sıçanlarda, NMDAR IgG infüzyonu, SK IgG infüzyonu yapılan grupla karşılaştırıldığında, NMDAR antikor infüzyonundan sonra kümülatif DDD süresini anlamlı şekilde artırmış ve DDD aktivitesi üzerinde akut bir etki göstermiştir (Şekil 1b ve c). İki yönlü ANOVA, kümülatif DDD süresi için tedavi grubu ile zaman arasında anlamlı bir etkileşim olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 1b; $F(20,130)=2,361$, $p < 0,01$). Tukey çoklu karşılaştırma testi ile yapılan post-hoc analiz, NMDAR IgG’nin SK IgG’ye kıyasla 2., 5. ve 9. günlerde kümülatif DDD süresini anlamlı şekilde artırdığını göstermiştir ($p < 0,05$). Benzer şekilde, DDD sayısı da NMDAR IgG grubunda 2. günde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (Şekil 1c; iki yönlü ANOVA $F(20,138)=1,717$, $p < 0,05$; Tukey çoklu karşılaştırma testi $p < 0,01$). Her DDD’nin ortalama süresi ise 4. günkü ikinci infüzyondan sonraki 5. günde NMDAR IgG grubunda artmış (Şekil 1d, $p < 0,05$) ancak bu etki sonraki günlerde devam etmemiştir.

LGI1 antikorları DDD aktivitesi üzerinde belirgin bir etki göstermedi

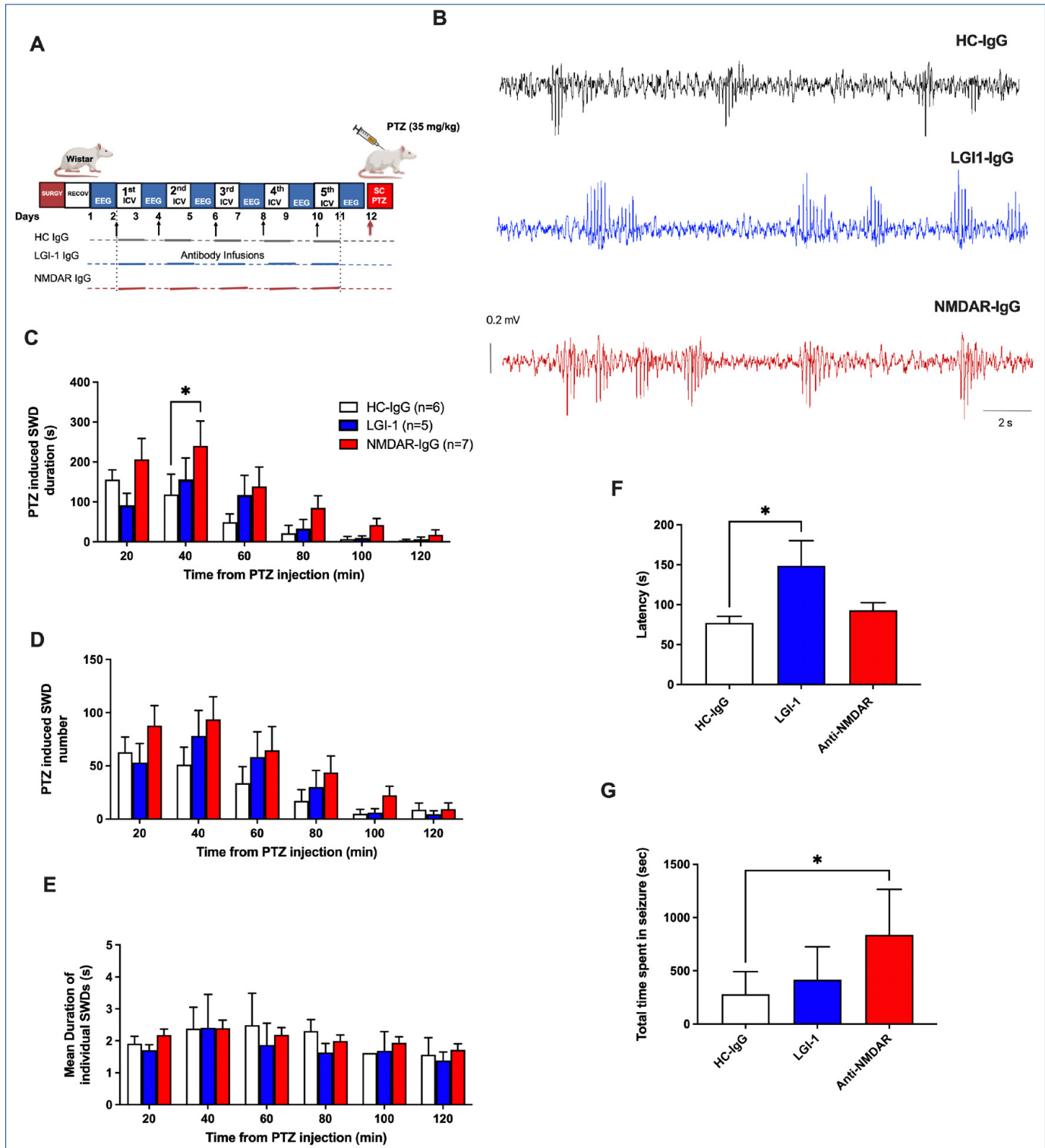
Buna karşılık, LGI1 IgG, SK IgG ile karşılaştırıldığında kümülatif DDD süresinde hafif bir azalma oluşturmuş; ancak bu farklılıklar çoğu günde istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (Şekil 1b ve c, $p > 0,05$). Bununla birlikte, 11. günde kümülatif DDD süresinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Şekil 1b, $p < 0,05$, Tukey çoklu karşılaştırma testi). Diken-dalga deşarjları sayısı çoğu günde anlamlı bir fark göstermemiş, ancak 4. antikor infüzyonunun ertesi günü olan 9. günde belirgin bir artış gözlenmiştir (Şekil 1b; $p < 0,05$). İlginç bir şekilde, LGI1 IgG enjeksiyonu yapılan GAERS’lerde DDD’lerin ortalama süresi, ilk infüzyondan sonraki gün olan 3. günde anlamlı şekilde artmış (Şekil 1d, $p < 0,05$); ancak bu etki sonraki günlerde devam etmemiştir.

İntraserebroventriküler infüzyon sonrası akut etkiler

GAERS’lerde ilk ISV infüzyonu (2. Gün) takip eden 120 dakikalık süre boyunca yapılan analiz, DDD’ler üzerinde hızlı ve farklı etkilerin oluştuğunu ortaya koymuştur (Şekil 1e–g). İlk antikor infüzyonunu takiben yapılan analiz, LGI1 ve NMDAR otoantikorlarının GAERS sıçanlarında kümülatif DDD süresi üzerindeki farklı etkilerini ortaya koymuştur (Şekil 1e). İki yönlü ANOVA ve ardından uygulanan Tukey çoklu karşılaştırma testi, LGI1 IgG grubunda DDD süresinin zamanla anlamlı şekilde azaldığını göstermiştir. Bu azalma, infüzyondan 40 dakika sonra belirginleşmiş ve 80. dakikada istatistiksel olarak anlamlı hale gelmiştir (Şekil 1e, $p < 0,05$). Buna karşılık, NMDAR IgG grubu, hem LGI1 IgG hem de SK IgG gruplarına kıyasla daha yüksek DDD aktivitesi göstermiştir, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, LGI1 otoantikorlarının GAERS modelinde absans nöbetlerini akut olarak baskılayabileceğini, ancak NMDAR otoantikorlarının aynı zaman



Şekil 1. a-g. LGI1 ve NMDAR otoantikorlarının GAERS absans epilepsi modelinde DDD'ler üzerindeki etkisi. Deneysel zaman çizelgesi ve protokol (**a**). GAERS sıçanlara EEG kayıtları için kayıt elektrotları yerleştirilmiş ve sağlıklı kontrol bireylerinden (siyah), LGI1-pozitif (mavi) veya NMDAR-pozitif (kırmızı) hastalardan elde edilen insan IgG'si, açık kutularla belirtilen günlerde (Gün 2, 4, 6, 8, 10) beş kez ISV yolla infüze edilmiştir. EEG kayıtları her infüzyondan önce 120 dakika, hemen sonra ve ertesi gün (Gün 1, 3, 5, 7, 9 ve 11'de mavi kutularla gösterilmiştir) alınmıştır. DDD'lerin kümülatif süresi (**b**), DDD sayısı (**c**) DDD ortalama süresi (**d**) 120 dakikalık kayıt süresi boyunca gösterilmiştir. Gri gölgeli alanlar infüzyon günlerini belirtmektedir. Siyah yıldız, E-G panellerinde 20 dakikalık zaman dilimlerine ait verilerin gösterildiği zaman noktasını işaret etmektedir. İlk antikor infüzyonunu takiben akut etkiler: DDD'lerin kümülatif süresi (**e**), DDD sayısı (**f**) ve DDD'lerin ortalama süresi (**f**). Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur. İstatistiksel analiz, Tukey çoklu karşılaştırma testi ile birlikte iki yönlü ANOVA kullanılarak yapılmıştır. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ (sağlıklı kontrol IgG ile karşılaştırıldığında anlamlı fark).



Şekil 2. a-g. LGI1 ve NMDAR otoantikorlarının PTZ ile indüklenen DDD'ler üzerindeki etkisi (Wistar sıçanları). Deneyel protokol (a). Non-epileptik Wistar sıçanlara açık kutularla belirtilen günlerde (Gün 2, 4, 6, 8, 10) sağlıklı kontrol (siyah), LGI1-pozitif (mavi) veya NMDAR-pozitif (kırmızı) hastalardan elde edilen insan IgG'si beş kez ISV yolla infüze edilmiştir. EEG kayıtları her infüzyondan önce 120 dakika, hemen sonra ve ertesi gün (Gün 1, 3, 5, 7, 9 ve 11'de mavi kutularla gösterilmiştir) alınmıştır. 12. günde, subkutan PTZ (35 mg/kg) enjeksiyonunu takiben EEG kaydı alınmıştır. Her grupta PTZ enjeksiyonundan sonra 10. dakikada alınan EEG örnekleri, tipik 2-3 saniyelik DDD'leri göstermektedir (b). Kümülatif DDD süresi (c), DDD sayısı (d) ve ortalama DDD süresi (e), 120 dakikalık periyotta 20 dakikalık dilimlere bölünerek sunulmuştur. İlk nöbete kadar geçen süre LGI1 grubunda anlamlı şekilde uzamıştır (f). Yüz yirmi dakikalık kayıt boyunca geçirilen toplam nöbet süresi NMDAR grubunda anlamlı şekilde artmıştır (g). Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak sunulmuştur (*p < 0,05 sağlıklı kontrol IgG ile karşılaştırıldığında anlamlı fark).

diliminde benzer bir düzenleyici etki göstermediğini düşündürmektedir. Diken-dalga deşarj sayısı üzerinde de benzer bir etki gözlenmiş; LGI1 IgG erken post-infüzyon dönemde DDD sayısını azaltırken, NMDAR IgG, DDD sayısını artırmıştır (Şekil 1f). Ortalama DDD süresi ise gruplar arasında genel olarak sabit kalmış ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 1g).

Wistar sıçanlarda PTZ ile indüklenen Absans Benzeri Nöbetler Üzerine Otoantikor Etkileri

LGI1 ve NMDAR otoantikorlarının GAERS sıçanlarındaki etkilerinin genetik altyapı ile bağlantılı olup olmadığını değerlendirmek amacıyla, epileptik olmayan Wistar sıçanlarda düşük doz PTZ ile indüklenen akut absans nöbet modeli kullanılmıştır. Wistar sıçanlarına SK bireylerden (n=6), LGI1-pozitif

(n=5) veya NMDAR-pozitif hastalardan (n=7) elde edilen insan IgG'si infüze edilmiştir. 12. günde düşük doz PTZ (35 mg/kg, s. c.) uygulanarak deney hayvanlarında akut DDD'ler indüklenmiştir (Şekil 2a). Elektroensefalografi kayıtları, hem LGI1 hem de NMDAR IgG ile tedavi edilen Wistar sıçanların, PTZ'ye yanıt olarak bilateral senkronize DDD'ler gösterdiğini ve bu durumun bıyık ve yüz kaslarında seğirme ile birlikte davranışsal donakalma ile seyrettiğini ortaya koymuştur (Şekil 2b). On günlük poliklonal antikor infüzyonları süresince, Wistar sıçanlarında spontan nöbet aktivitesi gözlenmemiştir; bu bulgu, önceki çalışmalarla tutarlıdır (11). 12. günde uygulanan düşük doz PTZ (35 mg/kg, s.c.), enjeksiyondan 2–5 dakika sonra başlayan, 20–40 dakikada zirveye ulaşan ve 80–120 dakika içinde sona eren 2–3 saniyelik DDD'ler oluşturmıştır (Şekil 2c).

Elektroensefalografi kayıtlarının analizi, PTZ enjeksiyonundan 40 dakika sonra NMDAR IgG grubunda kümülatif DDD süresinin SK IgG grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığını göstermiştir ($p < 0,05$, iki yönlü ANOVA ve Tukey post-test; Şekil 2c). Diken-dalga deşarj sayısı (Şekil 2d) ve DDD'lerin ortalama süresi (Şekil 2e) gruplar arasında anlamlı bir fark göstermese de, NMDAR grubunda nöbet sayısında artış eğilimi gözlemlendi. EEG'de ilk DDD gözlenmesine kadar geçen süre (latans), LGI1 IgG grubunda ($148,8 \pm 29,31$ saniye, n=5), SK IgG alan sıçanlara kıyasla ($77 \pm 30,12$ saniye, n=6) anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur (tek yönlü ANOVA ve Bonferroni sonrası test; Şekil 2f, $p < 0,05$) ve bu da nöbet başlangıcını geciktirici veya koruyucu bir etkiyi düşündürmektedir.

Buna karşılık, PTZ enjeksiyonunu izleyen 120 dakikalık EEG kayıt süresi boyunca nöbette geçirilen toplam süre, NMDAR IgG grubunda SK IgG grubuna kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olarak bulunmuştur ($p < 0,05$, tek yönlü ANOVA, tedavi etkisi $F(2,13)=4,168$; Bonferroni post hoc test; Şekil 2g). Bu bulgular, NMDAR otoantikorlarının düşük doz PTZ modelinde nöbet hassasiyetini ve şiddetini artırdığını, LGI1 otoantikorlarının ise nöbet başlangıcını geciktirici hafif bir etki gösterdiğini, ancak toplam nöbet sayısını anlamlı şekilde değiştirmediğini göstermektedir.

TARTIŞMA

Bu çalışmada, hastalardan elde edilen poliklonal LGI1 ve NMDAR IgG'nin absans nöbetler üzerindeki etkileri iki farklı kemirgen modelinde incelenmiştir: GAERS modeli ve Wistar sıçanlarında düşük doz PTZ modeli. Otoimmün ensefalit ve çeşitli nöbet tipleriyle ilişkili olduğu bilinen bu otoantikorların DDD'ler üzerindeki etkileri ve genetik yatkınlığın bu etkileri değiştirip değiştirmediği belirlenmeye çalışılmıştır.

NMDAR otoantikorlarının, hem GAERS hem de düşük doz PTZ modellerinde nöbetlere yatkınlığı ve nöbet şiddetini artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, NMDAR otoantikorlarının tedavi sürecinin erken dönemlerinde absans nöbetlerin oluşumundan sorumlu KTK döngünün uyarılabilirliğini modüle edebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, GAERS modelinde antikor infüzyonlarına rağmen etkinin kademeli olarak güçlenmediği tespit edilmiştir. Gözlenen bu etkinin geçici nitelikte olması, ilerlememesi ağ içinde gelişen kompanse edici mekanizmaları veya her ISV enjeksiyonundan sonra antikorun dokuya sınırlı penetrasyonu veya stabilitesi ile ilişkili olabilir.

Gözlemlenen bulgular, NMDAR aracılı retiküler talamik çekirdek (RTN) uyarılabilirliğinin absans nöbetlerinin dinamiklerini etkileyebileceği hipoteziyle örtüşmektedir. (26). GABAerjik inhibitör ara nöronlardan oluşan RTN, kortikal ve talamik girdilerle uyarılmakta olup, DDD aktivitesinin düzenlenmesinde temel bir rol oynamaktadır (27). RTN'nin AMPAR ve NMDAR yoluyla korteks ve/veya talamus tarafından uyarılması, senkronize talamik osilasyonların sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır (27,28). RTN'nin inhibitör ara nöronları, talamustan çıkış yapmadan talamik röle nöronlarına ileri beslemeli inhibisyon sağlamaktadır; bu yüzden RTN, talamik role (relay) nöronlarının uyarılabilirliğini kontrol etmekte kilit bir yapı olarak öne çıkmaktadır (28,29). Önceki çalışmalar, özellikle AMPAR işlev bozukluğuyla ilişkili absans epilepsi modeli olan stargazer (stg) farelerinde (30,31) KTK

döngüdeki glutamaterjik sinapslardaki bozulmanın absans nöbetlerin gelişimindeki etkisini vurgulamaktadır (28). Yapılan çalışmalar, hasta kaynaklı anti-NMDAR antikorlarının yüzeyde bulunan NMDAR'ların hücre içine alınmasını (internalizasyon) özel olarak sağladığını, bunun sonucunda glutamaterjik sinaps işlevinde azalma ve sinaptik NMDAR kümelerinin yüzey yoğunluğunda azalma meydana geldiğini ortaya koymuştur. (7). Bu sonuçların tamamı, KTK döngüde inhibitör RTN nöronlarına yönelik NMDAR kaynaklı uyarının zayıflamasıyla ortaya çıkan talamik ileri beslemeli inhibisyonla ilişkili bozukluğun absans nöbetlerin oluşumuna katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

N-metil-D-aspartat reseptörü otoantikorları, hem GAERS hem de PTZ modellerinde absans nöbet duyarlılığını belirgin şekilde artırırken, LGI1 IgG daha hafif ve farklı bir profil sergilemiştir. Genetik absans epilepsili sıçanlar modelinde, LGI1 antikorları DDD'leri anlamlı şekilde değiştirmemiştir; bu durum, bu genetik absans epilepsi modelinde sınırlı veya gecikmiş bir modülatör etkiye işaret etmektedir. Pentilentetrazol modelinde ise LGI1 IgG, toplam nöbet yükünü önemli ölçüde etkilemeden nöbet başlangıcını hafifçe geciktirmiştir; bu da nöbet şiddeti veya süresi yerine nöbet eşik değerinde potansiyel bir modülatör rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu farklı etkiler, LGI1'in nöronal ağlardaki özgün biyolojik işlevlerine dayanmaktadır. LGI1, Kv1,1 potasyum kanalları ve AMPAR ekspresyonu üzerindeki etkisi yoluyla nöronal uyarılabilirliğin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Nöral gelişim sürecinde ve yetişkinlikte, LGI1, transmembran partnerleri ADAM22 ve ADAM23 ile etkileşime girerek sinaptik stabilizasyon ve uyarılabilirlik modülasyonuna katkı sağlamaktadır (10,12,14). Genetik absans epilepsili sıçanlar modelinde belirgin bir etkinin olmaması, genetik olarak yüksek uyarılabilirliğe sahip bir ağda aynı şekilde etki oluşturmaması ya da LGI1 kaynaklı mekanizmaların DDD oluşumu veya yayılımında temel rol oynamamasından kaynaklanabilir.

Alternatif olarak, PTZ modelinde gözlemlenen nöbet başlangıcındaki hafif gecikme, LGI1 IgG'nin erken uyarılabilirlik dinamikleri üzerinde daha düşük düzeyde bir etkisi olabileceğine işaret edebilir; bu etki muhtemelen AMPAR aracılı uyarıcı sinyalizasyonun modülasyonu yoluyla gerçekleşmektedir. LGI1'in sinaptik homeostazın korunmasındaki rolü göz önüne alındığında, bu etkiler doğrudan nöbet artırıcı veya azaltıcı bir etkiden ziyade uyarılabilirlik eşiklerinde bir değişikliği temsil ediyor olabilir. Bu bulgular birarada değerlendirildiğinde, LGI1 otoantikorlarının etkisinin durumlara bağlı olarak değişebileceğini ve genelleştirilebilir absans epilepsisi yerine fokal epilepsilerde ya da sinaptik plastisiteyi etkileyen durumlarda daha önemli bir rol üstlenebileceğini ortaya koymaktadır.

Özellikle, absans epilepsisi ile ilişkili *Kcna1* ve *Cacna1a* genlerindeki mutasyonlar kemirgenlerde güçlü nöbetlere yol açarken, bu iki mutasyonun bir arada bulunması nöbetlerin şiddetini azaltıcı bir etki göstermektedir. (33). Bir çalışmada, LGI1 antikor pozitif ensefalit hastalarından elde edilen serum IgG'sinin, primer hipokampal nöron kültürlerinde kalsiyum akımlarını azalttığı bildirilmiştir (34) bu da voltaj bağımlı kalsiyum ve potasyum kanalları arasındaki karmaşık etkileşimi daha da vurgulamaktadır.

LGI1 IgG'nin daha belirgin nörofizyolojik etkiler sergileyebileceği koşulların belirlenmesi ve bu yolla olası tedavi stratejilerinin araştırılması adına ileri deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. LGI1'in absans nöbetlerinin oluşum ve sürdürülmesindeki olası rolünü açığa çıkarmak adına, gelecekteki araştırmaların KTK döngü özelinde, bölgeye özgü genetik veya farmakolojik manipülasyonlar, elektrofizyolojik kayıt teknikleri ile AMPAR, Kv1,1 ve ADAM22/23 gibi hedef proteinlerin birbirleri ile etkileşimlerini içeren moleküler düzeyde analizlerine odaklanması önerilebilir.

Bu çalışma, NMDAR ve LGI1 antikorlarının absans nöbetler üzerindeki farklı etkilerine dair yeni bulgular sunmakla birlikte, bazı sınırlılıkların da göz önünde bulundurulması gerekmektedir. İlk olarak, antikor saflaştırma ve stereotaksik uygulamanın karmaşıklığı nedeniyle

örneklem büyüklüğü sınırlı kalmıştır; bu durum, özellikle LGI1 IgG için gözlenen sınırlı etkilerinde yatan bir neden olabilir. İkinci olarak, çalışmada hastaya ait IgG'lerin pasif transferi gerçekleştirilmiş olup, beyin dokusunda hedef reseptörlere bağlanma veya reseptör internalizasyonu doğrulanmamıştır. Bu eksiklik, gelecekte beyin dokusu üzerinde yapılacak immünohistokimya veya Western blot gibi yöntemlerle giderilebilir. Ayrıca, LGI1'in KTK döngü içerisindeki moleküler düzeydeki etkilerinin daha ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması için bölgeye özgü müdahaleler, elektrofizyolojik kayıtlar ile AMPA reseptörleri, Kv1,1 kanalları ve ADAM22/23 etkileşimlerini içeren moleküler analizlerin yapılması önem arz etmektedir. Üçüncü olarak, EEG verileri dışında deney hayvanlarında davranışsal değerlendirmeler çalışmaya dâhil edilmemiştir; dolayısıyla antikor maruziyetinin olası bilişsel veya motor yan etkileri henüz bilinmemektedir. Son olarak, iki farklı absans epilepsi modeli (GAERS ve düşük doz PTZ) kullanılmış olsa da, bu modellerin insan absans epilepsisi ya da ensefalit kaynaklı nöbet fenotiplerinin karmaşıklığını tam olarak yansıtamayabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu sınırlamaların aşılması için, gelecekte kronik antikor maruziyetini sağlayacak osmotik pompa sistemleri, monoklonal antikorların kullanımı ve hücre düzeyinde ileri analizlerin yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma NMDAR otoantikorlarının, ancak LGI1 otoantikorlarının, hem genetik (GAERS) hem de farmakolojik (PTZ) absans nöbet modellerinde nöbet aktivitesini artırdığını göstermektedir. Bu bulgular, NMDAR disfonksiyonunun absans nöbetlerin patofizyolojisi üzerindeki rolünü vurgulamakta ve antikor aracılı sinaptik değişikliklerin nöbet duyarlılığı üzerindeki etkisini desteklemektedir. Bu mekanizmaların anlaşılması, otoimmün süreçlerin genelleştirilmiş epilepsilere katkısını aydınlatılabilir ve hedefe yönelik yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Etik Kurul No: 1107593).

Çıkar Çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Yazar katkısı: Kavramsal tasarım- N.Ç., E.T., C.İ.K., F.O.; Çalışma tasarımı- N.Ç., F.O., E.T.; Veri Toplama ve/veya Süreç Yönetimi- Ş.A.P., H.Y.K., B.Y., C.U., S.Ç., E.Ş.; İstatistiksel Analiz ve Veri Yorumlama- Ş.A.P., H.Y.K., N.Ç.; Literatür taraması- N.Ç., E.T.; Yazım- N.Ç., E.T.; Eleştirilse değerlendirme- E.T., F.O., C.İ.K. *H.Y.K. ve Ş.A.P. çalışmaya eşit katkı sunmuşlardır.

Finansal Destek: Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje No: TOA-2019-33449, TSA-2024-40486) ve Türkiye Yazgı Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) Grup B Ar-Ge Çağrısı (#35809) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science*. 1993;262(5134):679–685. [Crossref]
2. Bauer J, Becker AJ, Elyaman W, Peltola J, Rüegg S, Titulaer MJ, et al. Innate and adaptive immunity in human epilepsies. *Epilepsia*. 2017;58 Suppl 3(Suppl Suppl 3):57–68. [Crossref]
3. Leo A, Nesci V, Tallarico M, Amodio N, Gallo Cantafio EM, De Sarro G, et al. IL-6 receptor blockade by tocilizumab has anti-absence and anti-epileptogenic effects in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy. *Neurotherapeutics*. 2020;17(4):2004–2014. [Crossref]
4. Hong Y, Wang Y, Shu W. Immunocyte phenotypes and childhood disease susceptibility: insights from bidirectional Mendelian randomization and implications for immunomodulatory therapies. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 2025. [Online ahead of print. PMID: 40178601] [Crossref]
5. Tektürk P, Baykan B, Ekizoglu E, Ulusoy C, Aydın-Özemer Z, İçöz S, et al. Calcium channel antibodies in patients with absence epilepsy. *Int J Neurosci*. 2014;124(7):486–490. [Crossref]
6. Wright S, Vincent A. Progress in autoimmune epileptic encephalitis. *Curr Opin Neurol*. 2016;29(2):151–157. [Crossref]
7. Hughes EG, Peng X, Gleichman AJ, Lai M, Zhou L, Tsou R, et al. Cellular and synaptic mechanisms of anti-NMDA receptor encephalitis. *J Neurosci*. 2010;30(17):5866–5875. [Crossref]
8. Moscato EH, Peng X, Jain A, Parsons TD, Dalmau J, Balice-Gordon RJ. Acute mechanisms underlying antibody effects in anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis. *Ann Neurol*. 2014;76(1):108–119. [Crossref]
9. Planagumà J, Haselmann H, Mannara F, Petit-Pedrol M, Grünwald B, Aguilar E, et al. Ephrin-B2 prevents N-methyl-D-aspartate receptor antibody effects on memory and neuroplasticity. *Ann Neurol*. 2016;80(3):388–400. [Crossref]
10. Ohkawa T, Fukata Y, Yamasaki M, Miyazaki T, Yokoi N, Takashima H, et al. Autoantibodies to epilepsy-related LGI1 in limbic encephalitis neutralize LGI1-ADAM22 interaction and reduce synaptic AMPA receptors. *J Neurosci*. 2013;33(46):18161–18174. [Crossref]
11. Pişkin Ş A, Korkmaz HY, Ulusoy CA, Şanlı E, Küçükali Cİ, Onat F, et al. Antibody induced seizure susceptibility and impaired cognitive performance in a passive transfer rat model of autoimmune encephalitis. *Front Immunol*. 2023;14:1268986. [Crossref]
12. Petit-Pedrol M, Sell J, Planagumà J, Mannara F, Radošević M, Haselmann H, et al. LGI1 antibodies alter Kv1.1 and AMPA receptors changing synaptic excitability, plasticity and memory. *Brain*. 2018;141(11):3144–3159. [Crossref]
13. Irani SR, Alexander S, Waters P, Kleopa KA, Pettingill P, Zuliani L, et al. Antibodies to Kv1 potassium channel-complex proteins leucine-rich, glioma inactivated 1 protein and contactin-associated protein-2 in limbic encephalitis, Morvan's syndrome and acquired neuromyotonia. *Brain*. 2010;133(9):2734–2748. [Crossref]
14. Fukata Y, Adesnik H, Iwanaga T, Bredt DS, Nicoll RA, Fukata M. Epilepsy-related ligand/receptor complex LGI1 and ADAM22 regulate synaptic transmission. *Science*. 2006;313(5794):1792–1795. [Crossref]
15. Nobile C, Michelucci R, Andreazza S, Pasini E, Tosatto SC, Striano P. LGI1 mutations in autosomal dominant and sporadic lateral temporal epilepsy. *Hum Mutat*. 2009;30(4):530–536. [Crossref]
16. Kornau HC, Kreye J, Stumpf A, Fukata Y, Parthier D, Sammons RP, et al. Human cerebrospinal fluid monoclonal LGI1 autoantibodies increase neuronal excitability. *Ann Neurol*. 2020;87(3):405–418. [Crossref]
17. Upadhyay M, Kirmann T, Wilson MA, Simon CM, Dhangar D, Geis C, et al. Peripherally-derived LGI1-reactive monoclonal antibodies cause epileptic seizures in vivo. *Brain*. 2024;147(8):2636–2642. [Crossref]
18. Chen S, Ren H, Lin F, Fan S, Cao Y, Zhao W, et al. Anti-metabotropic glutamate receptor 5 encephalitis: five case reports and literature review. *Brain Behav*. 2023;13(5):e3003. [Crossref]
19. Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A. Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg - a review. *J Neural Transm Suppl*. 1992;35:37–69. [Crossref]
20. Snead OC 3rd, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C. Absence epilepsy: advances in experimental animal models. *Adv Neurol*. 1999;79:253–278.
21. Erdağ E, Şahin C, Küçükali C, Bireller S, Küçükerden M, Kürtüncü M, et al. Effects of in vivo and in vitro administration of neuro-Behçet's disease IgG. *Neurol Sci*. 2017;38(5):833–843. [Crossref]
22. Vural B, Sehitoglu E, Cavuş F, Yalçınkaya N, Haytural H, Küçükerden M, et al. Mitochondrial carrier homolog 1 (Mtc1) antibodies in neuro-Behçet's disease. *J Neuroimmunol*. 2013;263(1–2):139–144. [Crossref]
23. Erdağ E, Emekli AS, Gündüz T, Küçükali C, Kürtüncü M, Tüzün E. Serum IgG of patients with relapsing inflammatory optic neuropathy immunoreacts with Sox2-positive glial cells of the optic nerve. *Mult Scler Relat Disord*. 2023;73:104694. [Crossref]
24. George Paxinos CW. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 4th ed. Academic Press; 1998.
25. Snead OC 3rd. Ganaxolone, a selective, high-affinity steroid modulator of the gamma-aminobutyric acid-A receptor, exacerbates seizures in animal models of absence. *Ann Neurol*. 1998;44(4):688–691. [Crossref]
26. Lacey CJ, Bryant A, Brill J, Huguenard JR. Enhanced NMDA receptor-dependent thalamic excitation and network oscillations in stargazer mice. *J Neurosci*. 2012;32(32):11067–11081. [Crossref]
27. Huguenard JR, McCormick DA. Thalamic synchrony and dynamic regulation of global forebrain oscillations. *Trends Neurosci*. 2007;30(7):350–356. [Crossref]
28. Leitch B. The impact of glutamatergic synapse dysfunction in the corticothalamic network on absence seizure generation. *Front Mol Neurosci*. 2022;15:836255. [Crossref]
29. Sohal VS, Huguenard JR. Long-range connections synchronize rather than spread intrathalamic oscillations: computational modeling and in vitro electrophysiology. *J Neurophysiol*. 1998;80(4):1736–1751. [Crossref]
30. Noebels JL, Qiao X, Bronson RT, Spencer C, Davisson MT. Stargazer: a new neurological mutant on chromosome 15 in the mouse with prolonged cortical seizures. *Epilepsy Res*. 1990;7(2):129–135. [Crossref]
31. Letts VA, Felix R, Biddlecome GH, Arikath J, Mahaffey CL, Valenzuela A, et al. The mouse stargazer gene encodes a neuronal Ca²⁺-channel gamma subunit. *Nat Genet*. 1998;19(4):340–347. [Crossref]
32. Tomita S, Adesnik H, Sekiguchi M, Zhang W, Wada K, Howe JR, et al. Stargazin modulates AMPA receptor gating and trafficking by distinct domains. *Nature*. 2005;435(7045):1052–1058. [Crossref]
33. Glasscock E, Qian J, Yoo JW, Noebels JL. Masking epilepsy by combining two epilepsy genes. *Nat Neurosci*. 2007;10(12):1554–1558. [Crossref]
34. Aysit-Altuncu N, Ulusoy C, Öztürk G, Tüzün E. Effect of LGI1 antibody-positive IgG on hippocampal neuron survival: a preliminary study. *Neuroreport*. 2018;29(11):932–938. [Crossref]