



Ursodeoksikolik Asit'in Farelerde Pentilentetrazol ile Oluşturulan Akut Epileptik Nöbetler Üzerine Etkisinin Araştırılması

Sebahattin KARABULUT^{1*}, Ahmet Şevki TAŞKIRAN²

¹ Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi ve Teknik Hizmetler Bölümü, Sivas, Türkiye

² Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Bölümü, Sivas, Türkiye

Sebahattin KARABULUT ORCID No: 0000-0002-3261-4125

Ahmet Şevki TAŞKIRAN ORCID No: 0000-0002-5810-8415

*Sorumlu yazar: sbkarabulut@cumhuriyet.edu.tr

(Alınış: 01.07.2020, Kabul: 18.12.2020, Online Yayınlanma: 30.12.2020)

Anahtar Kelimeler

Ursodeoksikolik asit,
Pentilentetrazol,
Nöbet,
Oksidatif stres

Öz: Bu çalışmanın amacı, Ursodeoksikolik asit (UDKA) ön tedavisinin pentilentetrazol (PTZ) ile indüklenen akut epilepsi fare modelinde nöbet davranışına ve hipokampal total oksidan status (TOS) ve kaspaz-3 düzeylerine etkisini araştırmaktır. Çalışmada BALB-c türü 24 hayvan rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol grubu, PTZ; PTZ ile nöbet indüklenen grup, UDKA-100; 5 gün boyunca UDKA 100 mg kg⁻¹ verilen ve PTZ uygulanan grup, UDKA-200; 5 gün boyunca UDKA 200 mg kg⁻¹ verilen ve PTZ uygulanan grup. UDKA ön tedavisinin nöbet davranışı üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmadı. UDKA-200 grubunda daha belirgin olmak üzere, UDKA ön tedavisi hipokampal TOS düzeyini anlamlı olarak azalttı. Benzer şekilde, hipokampal kaspaz-3 düzeyi UDKA alan gruplarda daha düşük bulundu. Sonuç olarak, UDKA antioksidatif ve antiapoptotik özellikleriyle epilepsi tedavisi için faydalı bir terapötik ajan olabilir.

170

Investigation of the Effect of Ursodeoxycholic Acid on Pentylentetrazole-induced Acute Epileptic Seizures in Mice

Keywords

Ursodeoxycholic acid,
Pentylentetrazole,
Seizure,
Oxidative stress

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of the pretreatment of UDKA on seizure behavior, hippocampal total oxidant status (TOS), and caspase-3 expressions in the PTZ-induced acute epilepsy mouse model. This experimental study was performed on 24 male BALB-c mice randomly divided into 4 groups: Control group, PTZ; PTZ injected, UDKA-100; mice pre-treated with UDKA 100 mg kg⁻¹ for 5 days and PTZ injected, UDKA-200; mice pre-treated with UDKA 200 mg kg⁻¹ for 5 days and PTZ injected. No significant effect of UDKA pretreatment on seizure behavior was found. We found out the hippocampal TOS level was significantly decreased upon UDKA treatment, but this effect was more pronounced in the UDKA-200 group. Similarly, the expression of hippocampal caspase-3 was lower in the pretreatment of UDKA. In conclusion, our results suggest UDKA administration may be a useful therapeutic drug for the treatment of epilepsy with its antioxidative and antiapoptotic properties.

1. GİRİŞ

Epilepsi dünyada 50 milyondan fazla insanı etkileyen, spontane gelişen nöbetlerle karakterize en yaygın ve ciddi nörolojik hastalıklardan biridir [1]. Mevcut antiepileptik ilaçlar hastaların yaklaşık olarak üçte birinde etkisiz kalır, ayrıca bunlar yalnızca nöbetleri baskılamaya yönelik olup hastalık sürecini etkilemezler. Dahası, epilepsinin etyopatogenezinin altında yatan temel hücrel ve moleküler mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılammıştır. Beyindeki uyarıcı (eksitator) ve baskılayıcı (inhibitör) nöral aktiviteler arasındaki

dengenin, eksitasyon lehine kayması sonucu nöbetlerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Oksidatif stres, artmış hücrel reaktif oksijen türleri ile karakterize edilen oldukça zararlı bir metabolik süreçtir [2]. Bu olay sonunda oksidanlar ve antioksidan moleküller arasında bir denge sızlık meydana gelir. Dolayısıyla oksidatif stresi azaltabilen antioksidatif yaklaşımlar, başta epilepsi olmak üzere birçok nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde yeni bir seçenek olarak yer almaktadır. Bunun yanında, epileptik nöbetler apoptotik mekanizmayı harekete geçirerek nöronlarda ölüme yol açar. Kaspazlar, apoptozun aracı moleküllerinden biri olarak hizmet ederler. Kaspaz-3, nöbetlerin neden

olduğu nöronal ölümlerde en çok çalışılan apoptotik düzenleyici moleküller arasında yer almaktadır. Nöbetlerden sonra kaspaz-3 aktivitesi, spektrin ve kaspaz ile aktive edilmiş DNaz inhibitörü gibi yapısal ve fonksiyonel proteinlerin parçalanmasıyla ilişkilidir [3].

Safra asitlerinin ana işlevi lipitlerin emülsifikasyonunu, emilimini ve sindirimini sağlamaktır. Bunun yanında, steroid bir hormon olarak safra asitlerinin hepatik glikoz metabolizması, hepatositlerin sağ kalımı gibi çeşitli metabolik süreçleri modüle eden ikincil bir rolü de vardır [4]. Primer safra asitleri, kolik asit (CA) ve kenodeoksikolik asit (CDCA), karaciğerde kolesterolden sentezlenerek safra kesesinde depolanır ve gıda alımını takiben ince bağırsağa salgılanır. İkincil safra asitleri ise bağırsak mikrobiyotası tarafından primer safra asitlerinin modifikasyonlarıyla üretilir. Örneğin Deoksikolik asit (DCA), CA'dan oluşturulurken, Litokolik asit (LCA) ve Ursodeoksikolik asit (UDCA) ise CDCA'dan meydana getirilir [5]. Safra asitlerinin yaklaşık % 95'i ileumda yeniden emilir ve % 5'i dışkıyla atılır. Enterositler tarafından emilen safra asitleri portal vene salınır ve geri dönüşüm için karaciğere yönlendirilir. Sadece küçük bir kısmı (% 10) enterohepatik dolaşımdan uzaklaşarak sistemik dolaşıma ulaşır [4]. Dolaşıma sızan bu safra asitleri, mililitrede nanogram (ng ml^{-1}) konsantrasyon aralığında hem plazmada ve hem de beyin omurilik sıvısında (BOS) tespit edilmiştir [6].

UDCA, CDCA'nın hidroksil gruplarının bağırsak bakterilerinin hidroksisteroid dehidrojenazları tarafından epimerizasyonu ile oluşur. Hidrofilik bir safra asidi olan UDKA, kolesterol kaynaklı safra taşları oluşumuyla ilişkili kolestatik sendromların çeşitli formlarının tedavisinde ilk tercih edilen ajan olarak öne çıkmaktadır [7]. Bu molekülün hücre koruyucu etkileri kısmen apoptozu azaltma yeteneğine atfedilmiş ve antiapoptotik etkileri insan hepatositleri ve rat karaciğerinde gösterilmiştir [8]. Bunun yanında, çok sayıda çalışma UDCA'nın Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıkların hayvan modellerinde nöroprotektif etkileri olduğunu göstermiştir [9,10]. UDKA'nın nörolojik hastalıklar üzerindeki olası koruyucu etkisi klinik araştırmaların da konusu olmuş ve Amyotrofik lateral skleroz (ALS) hastalarında oral UDKA kullanılması, hastalığın fonksiyonel olarak gerilemesinde yararlı etkilere yol açmıştır [11].

Bu çalışmada amacımız, farelerde PTZ ile oluşturulan deneysel akut epilepsi modelinde iki farklı dozdaki UDKA ön tedavisinin nöbet oluşumu ile hipokampustaki oksidatif ve apoptotik belirteçlerin düzeyleri üzerine etkisini araştırmaktır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Deneysel Hayvanları

Çalışmada, strese maruz kalmamış ve standartlara uygun kafeslerde bakımı yapılan 24 adet, 4-5 aylık, 30-33 gr ağırlığındaki BALB-c albino fare kullanıldı. Fareler 22 ± 1 °C oda sıcaklığında, 12 saatlik aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı, seston yalıtılmış odada ve % 55±6

oranda nemli ortamda tutuldu. Farelerin yem ve su ile beslenmelerinde herhangi bir kısıtlama yapılmadı. Deneyler 9:00-16:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığının onayı ile yapıldı (Karar No: 65202830-050.04.04-386).

2.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

PTZ ve UDKA (URSOFALK, 250 mg 5ml-1 çözelti) üretici firmadan temin edildi. Kimyasallar serum fizyolojik içinde çözülerek farelere intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı.

2.3. Deneysel Protokol

Çalışmada, hayvanlar her grupta 6 fare olarak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı:

1. Kontrol; 5 gün boyunca serum fizyolojik uygulanan grup,
2. PTZ; 5. gün PTZ (60 mg kg^{-1}) uygulanan grup,
3. UDKA-200; 5 gün boyunca 100 mg kg^{-1} UDKA uygulanan grup,
4. UDKA-400; 5 gün boyunca 200 mg kg^{-1} UDKA uygulanan grup.

UDKA-100 ve UDKA-200 grubundaki farelere 5 gün boyunca yukarıda belirtilen dozlarda UDKA verildikten sonra, 5. gün PTZ uygulanarak nöbet oluşturuldu. PTZ grubundaki farelere ise 5. gün PTZ uygulanarak nöbet indüklendi. PTZ ile epileptik nöbet oluşturulan farelerin nöbet davranışları kaydedildi.

Nöbet indüklemek için, farelere 60 mg kg^{-1} tek doz PTZ i.p. olarak enjekte edildi. Her enjeksiyondan sonra, fareler 30 dakika boyunca izleneceği ayrı bir pleksiglas kafese konularak ilk miyoklonik sarsıntı (FMJ) latansı (sn) ve Racine Konvülsiyon Skalası (RCS) değerleri kaydedildi. RCS skoru belirlemede kullanılan kriterler şu şekildedir [12]:

- 0 = konvülsiyon yok;
- 1 = bıyıkların seğirmesi;
- 2 = daha belirgin seğirme ile motor hareketlerde duraksama;
- 3 = generalize motor sarsıntı ile birlikte motor duraksama;
- 4 = bilateral ön ekstremitelerde tonik-klonik nöbet;
- 5 = düzelme refleksinin kaybı ile tonik-klonik nöbet;
- 6 = ölümcül nöbet.

Tüm hayvanlar 5. günün sonunda öldürülerek, aseptik cerrahi koşullarda hipokampusları çıkarıldı ve ileri biyokimyasal analizler için uygun koşullarda saklandı.

2.4. Biyokimyasal Analizler

Hipokampal doku örnekleri soğuk Phosphate-Buffered Saline (PBS) çözeltisi (pH 7.4) içinde homojenize edildi ve $12000 \text{ g}'de$ 10 dakika boyunca $4 \text{ }^\circ\text{C}'de$ santrifüje edildi. Daha sonra üst faz TOS ve kaspaz-3 düzeylerinin ölçülmesinde kullanıldı. TOS düzeylerinin belirlenmesinde Erel [13] tarafından geliştirilen deney kiti (Rel Assay Diagnostics® Mega Tıp Ltd., Gaziantep,

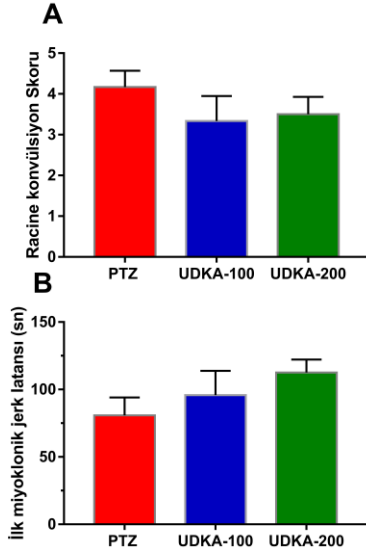
Türkiye) ve kaspaz-3 düzeylerinin belirlenmesinde ise ELISA ticari kiti (YL Biont, Shanghai, Çin) kullanıldı.

2.5. İstatistiksel Analiz

Veriler “ortalamanın standart hatası (SEM)” olarak sunuldu. İstatistiksel analiz için SPSS istatistik programı (IBM SPSS Statistical Software Version 22.0 [IBM, Armonk, NY, ABD]) kullanıldı. Verilerin gruplar arası karşılaştırılması “tek yönlü varyans analizi ile (One way ANOVA)” gerçekleştirildi. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak tanımlandı.

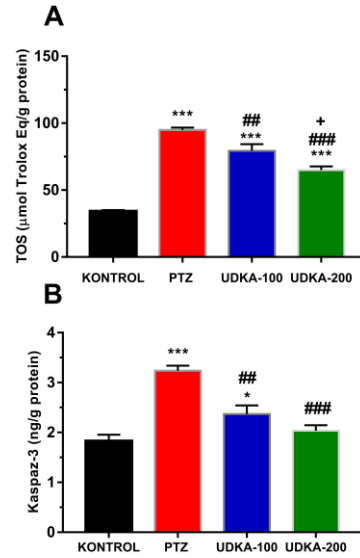
3. BULGULAR

UDKA ön tedavisinin PTZ ile akut nöbet oluşumu davranışına etkisi Şekil 1’de gösterilmiştir. UDKA ön tedavisi, RCS açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılığa yol açmamıştır ($p > 0.05$). Aynı şekilde, FMJ latansları UDKA ön tedavisi alan hayvanlarda PTZ grubuna kıyasla yüksek olsa da, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 1. UDKA ön tedavisinin PTZ ile indüklenen nöbet davranışına etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak verilmiştir. (n=6)

UDKA ön tedavisinin hipokampal TOS ve kaspaz-3 düzeylerine etkisi Şekil 2’de ifade edilmiştir. TOS düzeyindeki artış, PTZ ile nöbet indüklenen tüm gruplarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Bununla birlikte, PTZ uygulamasının yol açtığı bu artış, UDKA-200 grubunda daha belirgin olmak üzere ($p < 0.01$) UDKA ön tedavisi alan hayvanlarda sınırlı olmuştur. Ayrıca UDKA-200 grubunda elde edilen TOS düzeylerinin, UDKA-100 grubundaki hayvanlarınkine göre daha düşük olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Hipokampal kaspaz-3 düzeyi PTZ ve UDKA-100 gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.05$). UDKA-100 ve UDKA-200 gruplarında hipokampal kaspaz-3 düzeyleri PTZ grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük elde edilmiştir (sırasıyla $p < 0.01$ ve $p < 0.001$).



Şekil 2. . UDKA ön tedavisinin PTZ ile oluşturulan nöbet sonrası hipokampal TOS (A) ve kaspaz-3 (B) düzeylerine etkisi. Veriler ortalama \pm SEM olarak verilmiştir. (n=6). * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ PTZ grubuyla karşılaştırıldığında; + $p < 0.05$, UDKA-100 grubuyla karşılaştırıldığında.

4. SONUÇ

Oksidatif stres ve bununla ilişkili apoptotik süreçler, hipereksitabl beyin dokusuyla yakından ilişkilidir ve son yıllarda epilepsi gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde antioksidatif ve antiapoptotik yaklaşımlar ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmada, antiapoptotik ve nöroprotektif özellikleri olduğu gösterilmiş olan UDKA’nın ön tedavisinin, PTZ ile indüklenen nöbet davranışına ve nöbet sonrası hipokampal TOS ve kaspaz-3 düzeylerine etkisi araştırıldı.

Reaktif oksijen türleri (ROS) normal hücrel metabolizma sırasında üretilen zararlı bileşikler olup, endojen antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilirler [14]. Bununla birlikte, aşırı ROS üretimi ya da azalmış antioksidan aktivite oksidatif strese yol açar. Beyin hem yüksek aerobik metabolizmaya, hem de daha yoğun bir perfüzyona sahip olması nedeniyle aşırı ROS üretimiyle karşı karşıyadır. Dahası, ironik olarak bu yüksek ROS üretimine karşılık zayıf bir antioksidan kapasiteyle karakterizedir ve bu durum beyni oksidatif strese karşı daha savunmasız yapar [15]. Nöbet aktivitesi, nöronlarda voltaj-kapılı iyon kanalları aracılığıyla hücre içi Ca^{2+} düzeyini artırarak ROS üretiminin tetikleyen bir takım hücrel olayları başlatmaktadır [16]. Patsoukis ve ark., tek doz PTZ ile indüklenen nöbet sonrası hipokampusta oksidatif stresin arttığını göstermişlerdir [17]. Bu sonuçlarla uyumlu olarak, çalışmamızda PTZ ile nöbete maruz bırakılan hayvanların hipokampuslarında TOS düzeylerinin yüksek olduğunu gözlemledik. Bununla birlikte, 100 mg kg^{-1} uygulanan dozda daha belirgin olmak üzere UDKA ön tedavisi oksidatif stresteki bu artışı sınırlamıştır. Bununla uyumlu olarak, UDKA’nın ROS üretimini inhibe ettiği ve böylece apoptozun mitokondriyal yolağını modüle ettiği gösterilmiştir [18]. Epileptik

nöbetle birlikte artan ROS üretimi, nöral hücre zarı, mitokondri, DNA gibi yapılarda hasara yol açarak pro-apoptotik bir protein olan kaspaz-3'ün aktivasyonu ile apoptozu başlatabilmektedir [19]. Çalışmamızda, PTZ ile nöbet oluşumunun hipokampusta kaspaz-3 düzeyini artırdığını gösterdik. Önceki çalışmalar, epilepsinin farklı hayvan modellerinde nöbet sonrası beyinde kaspaz-3 gibi apoptozla ilişkili proteinlerin düzeylerinde artış olduğunu rapor etmiştir [20,21]. Çalışmamızda düşük dozda UDKA ön tedavisinin (100 mg kg⁻¹) kaspaz-3 düzeyindeki bu artışı sınırladığını, 200 mg kg⁻¹ dozda uygulanan UDKA ön tedavisinin ise bu artışı engellediğini gözlemledik. Önceki çalışmalarda, UDKA'nın rat hepatositlerinde nükleer steroid reseptörler aracılığıyla nükleusa transloke olduğu ve burada E2F-1/p53/Bax yolağını modüle ederek apoptozu önlediği rapor edilmiştir [22,23]. Bunun yanında, Abdelkader ve ark., Parkinson hastalığının bir hayvan modelinde UDKA'nın mitokondriyal disfonksiyonu iyileştirdiğini ve kaspaz 8, 9 ve 3'ün aktivitelerini azalttığını göstermişlerdir [10]. Bütün bu sonuçlar, UDKA'nın antioksidan ve antiapoptotik özellikleriyle nörodejeneratif hastalıkların tedavisi için bir potansiyel olabileceğine işaret etmektedir.

Öte yandan çalışmamızda, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, UDKA ön tedavisinin PTZ'nin yol açtığı nöbet davranışı üzerine kısmen iyileştirici bir etkisi olduğunu gözlemledik. UDKA'nın epileptogenez üzerine etkisinin araştırıldığı tek çalışmada, Naderi ve ark. kronik bir epilepsi modeli olarak PTZ ile kindling yapılan sıçanlarda UDKA (50 mg kg⁻¹) tedavisinin epilepsi oluşum sürecini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir [24]. Aynı çalışmada, 3 kez uygulanan UDKA enjeksiyonu epileptogenez üzerine herhangi bir etki göstermezken, 15 kez uygulanan UDKA tedavisi bu süreci baskılamıştır. Daha yüksek bir dozda UDKA ön tedavisi uygulamamıza rağmen aynı sonucun ortaya çıkmaması, akut ve kronik epilepsi modellerinde farklı hücresel ve moleküler yolların yer alabilmesiyle açıklanabilir. Ayrıca daha fazla hayvanların bulunduğu gruplarla çalışmak, istatistiksel olarak daha gerçekçi ve anlamlı sonuçlar verebilir.

Son yıllarda epilepsinin de aralarında bulunduğu nörodejeneratif hastalıkların etyopatogenezinde oksidatif, inflamatuvar ve apoptotik süreçlerin yer aldığının belirlenmesi, araştırmacıların dikkatini adı geçen süreçleri modüle ederek bu tür hastalıkları tedavi edebilme potansiyeline sahip yeni ajanlara yöneltmektedir. Antioksidatif ve antiapoptotik özellikleriyle UDKA, bu anlamda umut vaat eden bir aday olarak gözükmektedir. UDKA'nın epilepsi tedavisindeki rolünün pekiştirilmesi için, elektriksel ve kimyasal diğer epileptik nöbet hayvan modellerindeki etkisinin araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Fisher RS, van Emde BW, 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; 46:470-72.

- [2] Jain S, Webster TJ, Sharma A, Basu B. Intracellular reactive oxidative stress, cell proliferation and apoptosis of Schwann cells on carbon nanofibrous substrates. *Biomaterials* 2013;34(21):4891-901.
- [3] Henshall DC, Simon RP. Epilepsy and apoptosis pathways. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005;25(12):1557-572.
- [4] Monte MJ, Marin JGG, Antelo A, Vazquez-Tato J. Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology. *World J Gastroenterol.* 2009;15:804-16.
- [5] Daruich A, Picard E, Boatright JH, Behar-Cohen F. Review: The bile acids urso- and tauroursodeoxycholic acid as neuroprotective therapies in retinal disease. *Mol Vis.* 2019; 25:610-24.
- [6] Reinicke M, Schröter J, Müller-Klieser D, Helmschrodt C, Ceglarek U. Free oxysterols and bile acids including conjugates - Simultaneous quantification in human plasma and cerebrospinal fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2018;1037:245-55.
- [7] European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of cholestatic liver diseases. *J Hepatol.* 2009;51:237-67.
- [8] Amaral JD, Viana RJS, Ramalho RM, Steer CJ, Rodrigues CMP. Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. *J Lipid Res.* 2009;50:1721-34.
- [9] Bell SM, Barnes K, Clemmens H, et al. Ursodeoxycholic Acid Improves Mitochondrial Function and Redistributes Drp1 in Fibroblasts from Patients with Either Sporadic or Familial Alzheimer's Disease. *J Mol Biol.* 2018;430(21):3942-3953.
- [10] Abdelkader NF, Safar MM, Salem HA. Ursodeoxycholic Acid Ameliorates Apoptotic Cascade in the Rotenone Model of Parkinson's Disease: Modulation of Mitochondrial Perturbations. *Mol Neurobiol.* 2016;53:810-17.
- [11] Min J-H, Hong Y-H, Sung J-J, Kim S-M, Lee JB, Lee K-W. Oral solubilized ursodeoxycholic acid therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a randomized cross-over trial. *J Korean Med Sci.* 2012;27:200-06.
- [12] Racine, RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Neurophysiol.* 1972;32:281-94.
- [13] Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103-1111.
- [14] Beit-Yannai E, Kohen R, Horowitz M, Trembovler V, Shohami E. Changes of biological reducing activity in rat brain following closed head injury: A cyclic voltammetry study in normal and heat-acclimated rats. *J Cereb Blood Flow & Metab.* 1997;17:273-79.
- [15] Naziroglu M. Molecular mechanisms of vitamin E on intracellular signaling pathways in brain. In:

- Goth L, editor. Reactive oxygen species and diseases. Kerala, India: Research Signpost Press; 2007. p. 239-56.
- [16] Shin EJ, Jeong JH, Chung YH, Kim WK, Ko KH et al. Role of oxidative stress in epileptic seizures. *Neurochem Int.* 2011;59(2):122-137.
- [17] Patsoukis N, Zervoudakis G, Panagopoulos NT, Georgiou CD, Angelatou F, Matsokis NA. Thiol redox state (TRS) and oxidative stress in the mouse hippocampus after pentylenetetrazol-induced epileptic seizure. *Neurosci Lett.* 2004;357:83-86.
- [18] Rodrigues CM, Fan G, Ma X, Kren BT, Steer CJ: A novel role for ursodeoxycholic acid in inhibiting apoptosis by modulating mitochondrial membrane perturbation. *J Clin Invest.* 1998;101:2790-99.
- [19] Méndez-Armenta M, Nava-Ruiz C, Juárez-Rebollar D, Rodríguez-Martínez E, Yescas Gómez P. Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. *Oxid Med Cell Long.* 2014;2014:12.
- [20] Ali AE, Mahdy HM, Elsherbiny DM, Azab SS. Rifampicin ameliorates lithium-pilocarpine-induced seizures, consequent hippocampal damage and memory deficit in rats: Impact on oxidative, inflammatory and apoptotic machineries. *Biochem Pharmacol.* 2018;156:431-43.
- [21] Faherty CJ, Xanthoudakis S, Smeyne RJ. Caspase-3-dependent neuronal death in the hippocampus following kainic acid treatment. *Mol Brain Res.* 1999;70(1):159-63.
- [22] Solá S, Amaral JD, Castro RE, Ramalho RM, Borralho PM, Kren BT, et al. Nuclear translocation of UDCA by the glucocorticoid receptor is required to reduce TGF-beta1-induced apoptosis in rat hepatocytes. *Hepatology* 2005;42:925-34.
- [23] Solá S, Castro RE, Kren BT, Steer CJ, Rodrigues CMP. Modulation of nuclear steroid receptors by ursodeoxycholic acid inhibits TGF-beta1-induced E2F-1/p53-mediated apoptosis of rat hepatocytes. *Biochem.* 2004;43:8429-38.
- [24] Naderi M, Jand A, Jand Y, Rahjoo T, Palizvan MR. Effect of ursodeoxycholic acid on pentylenetetrazole kindling and kindling induced memory impairment in rat. *J Babol Univ Medical Sci.* 2018;20(1):50-56.