

DOI: 10.4274/tpa.45.319

Hipoksik iskemik beyin hasarı oluşturulan yenidoğan sıçanlarda ABT-491 uygulamasının görsel uyarılma potansiyelleri üzerine etkileri

The effects of ABT-491 administration on visual evoked potentials in rat model of hypoxic ischemic brain injury

Tolgay Ergenoğlu, Aytuğ Atıcı*, Zekeriya Büyükdere*, Bora Reşitoğlu, Ali Haydar Turhan*, Hüseyin Beydağı

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

*Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmada, hipoksik iskemik beyin hasarı (HİBH) oluşturulan sıçanlara ABT-491 uygulanmasının görsel uyarılma potansiyelleri (GUP) üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 57 tane Wistar cinsi yenidoğan erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele olarak üç gruba ayrıldıktan sonra, 1. (n=18) ve 2. grupta (n=20) doğum sonrası yedinci günde değiştirilmiş Levine-Rice örneğine göre HİBH oluşturuldu. Üçüncü grup (n=19), sham grubu olarak ayrıldı. Hipoksik iskemik beyin hasarı sonrasında 1. gruptaki sıçanlara periton içine ABT-491, 2. gruptakilere ise serum fizyolojik (SF) uygulandı. Sıçanlar 16 haftalık olduklarında, oksipital bölgeye yerleştirilen Ag-AgCl disk elektrot aracılığıyla GUP'ları kaydedildi.

Bulgular: ABT grubunda P3 dalga süreleri SF grubuna göre daha kısa bulundu ($p<0,05$). Sham grubu ile karşılaştırıldığında, ABT ve SF gruplarında tepeden-tepeye P2-N2 ve N2-P3 dalga genlikleri daha küçüktü (tüm ikili karşılaştırmalar için $p<0,001$).

Çıkarımlar: Hipoksik iskemik beyin hasarının GUP yanıtlarının genliklerinde azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın ABT-491 ile düzeltilemediği; buna karşılık, HİBH sonrası ABT-491 uygulamasının P3 dalga sürelerindeki kısalmayı düzelttiği söylenebilir. (*Türk Ped Arş 2010; 45: 319-23*)

Anahtar sözcükler: ABT-491, apoptoz, hipoksik iskemik beyin hasarı, görsel uyarılma potansiyeli, PAF

Summary

Aim: In the present study, we aimed to investigate the effects of ABT-491 on visual evoked potentials (VEP) in rat model of hypoxic ischemic brain injury (HIBI).

Material and Method: Fifty-seven male Wistar newborn rats were used in this study. Animals were divided into three groups randomly. HIBI was formed on postnatal seventh day according to modified Levine-Rice model in 1st (n=18) and 2nd (n=20) groups. Third group (n=19) served as sham group. After HIBI, ABT-491 was applied intraperitoneally to rats in the 1st group (ABT group) and saline was administered to the rats in the 2nd group (saline group). On postnatal 16th weeks, VEPs were recorded from Ag-AgCl disc electrode placed on the occipital region.

Results: The latencies of P3 wave were shorter in the ABT group than the saline group ($p<0,05$). Peak-to-peak amplitudes of P2-N2 and N2-P3 were smaller in the ABT and saline groups compared to the sham group (for all pairwise comparisons $p<0,001$).

Conclusions: It was concluded that HIBI caused a decrement in amplitudes of VEP responses and this change could not be ameliorated with ABT-491. However, shortening in latencies of P3 wave could be ameliorated with ABT-491 treatment after HIBI was formed. (*Türk Arch Ped 2010; 45: 319-23*)

Key words: ABT-491, apoptosis, hypoxic ischemic brain injury, PAF, visual evoked potential

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Tolgay Ergenoğlu, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

E-posta: tergen@mersin.edu.tr **Geliş Tarihi/Received:** 22.02.2010 **Kabul Tarihi/Accepted:** 01.06.2010

Türk Pediatri Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır. / Turkish Archives of Pediatrics, published by Galenos Publishing

Giriş

Hipoksik iskemik beyin hasarı (HİBH), yenidoğan döneminde sık karşılaşılan beyin hasarı ve ani ölüm nedenlerindedir (1). Hipoksi ve iske mi sonucu sinir dokusuna giden oksijen ve glüko z miktarında azalma olur (2). Glüko z metabolizmasındaki de ğişlikler ve özellikle glutamatın hücre dışı klirensindeki bozukluklar, sonuçta sinapslarda glutamat birikimine ve N-methyl-D-aspartate (NMDA) tipi glutamat almaçlarının (reseptörlerinin) aktivasyonuna neden olur (3). N-methyl-D-aspartate almaçlarının kontrolsüz olarak uyarılmaları da eksitotoksiste ile nöronal ölümüne yol açar. N-methyl-D-aspartate almaçlarının uyarılması aynı zamanda nöronlarda kalsiyumun hücre içine akışına neden olur. Hasarın erken safhalarında, hücre içine su girişi sonucu hücrelerde şişme (beyin ödemi) ve toksik serbest radikallerin oluşumu nöronlarda nekroza yol açar. Serbest radikallerin oluşumu aynı zamanda apoptozu da uyarır (4, 5).

Hipoksik iskemik beyin hasarı sonrasında nöronal nekroz ve apoptoz mekanizmaları ile nöronal hücre ölümleri ortaya çıkar. Başlangıçtaki hasar yoğunluğu hücre ölüm şeklini tayin eder. Şiddetli hasarlar nekroza yol açarken, orta şiddetteki hasarlar apoptozu neden olurlar (6,7). Nekroz; hücre şişmesi, sitoplazmik organellerin parçalanması, zar bütünlüğünün bozulması ile sonuçta nöronların kaybı ve enflamatuar bir aktivasyon ile giden durgun süreçtir. Buna karşılık apoptoz; hücre hacminin azalarak hücrenin büzüşmesi, hücre çekirdeğinde küçülme, kromatin yoğunlaşması ve genomik parçalanmalar ile süregiden aktif bir süreçtir. Apoptozda enflamatuar yanıt gözlenmez (8).

Hipoksik iskemik beyin hasarında zarar görmüş membran lipitlerinden açığa çıkan bir lipit türevi olan trombosit aktive edici faktör (PAF), iskemik beyin dokusunda yoğunlaşarak proenflamatuar etki gösterir ve HİBH'nin patojenezinde önemli bir rol oynar (9). PAF (1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine), merkezi sinir sisteminde nöron ve mikroglialarda daha az olmak üzere de astrosit ve damar endotelinde sentezlenebilmektedir (10,11). PAF'in merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisi yoğunluğuna bağlı olarak iki yönlüdür. Yüksek düzeylerde astrositlerin apoptozunu uyarırken, düşük düzeylerde astrositlerden damar kaynaklı endotelial büyüme faktörü (VEGF) salınmasını uyararak astrositlerin nöron ve kan damarlarını destekleyici işlevlerini artıran bir etken olarak görev yapar (12,13).

Yenidoğanın HİBH örneklerinde, gelişen nörodejenerasyonu ve apoptozu önlemek için çeşitli farmakolojik ürünler ve yöntemler kullanılmıştır. Bu amaçla, son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda PAF antagonistlerinin nöroprotektif etkisinin olduğu gösterilmiştir (14,15). ABT-491 (4-etinil-N,N-dimetil-3-[3-floro-4-[(2-metil-1H-imidazo-[4,5c]piridin-1il)metil]benzoil]1H-indol-1-karbok samid

hidroklorid) çok güçlü bir PAF almaç antagonistidir (16). Literatürde ABT-491'in HİBH'de anti-apoptotik etki gösterdiğini ortaya koyan sadece bir çalışma vardır (17).

Dışardan verilen duysal uyarılara yanıt olarak süregiden elektroansefalogram (EEG) aktivitesinde ortaya çıkan özgün yanıtlar uyarılma potansiyelleri (UP) olarak bilinirler. Ortalama alma işlemi ile arka plandaki EEG aktivitesinden ayrıştırılan UP'leri, yüksek zamansal çözümüme özellikleri sayesinde beyindeki olayları neredeyse zihinsel işlemlerin hızına yakın bir hızda yansıtırlar (18).

Gözlerden oksipital kortekse kadar uzanan tüm görme yollarının işlevini yansıtan görsel uyarılma potansiyelleri (GUP), görsel nöral işlevleri etkileyen çok sayıda nörolojik bozukluğun tanısında, izleminde ve değerlendirilmesinde nesnel bulgular verirler (19). Bu çalışmada, HİBH oluşturulan sıçanlara ABT-491 uygulanmasının GUP'lar üzerine olan etkilerini araştırmak amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Helsinki bildirgesine uygun olarak ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayı doğrultusunda Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Fizyoloji Anabilim Dalı Beyin Dinamiği Araştırma Laboratuvarlarında gerçekteştirildi.

Dene y grubu ve hipoksik iskemik beyin hasarının oluşturulması

Çalışmada 57 tane Wistar cinsi yenidoğan erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele olarak üç gruba ayrıldı. Doğum sonrası yedinci günde 1. (n=18) ve 2. gruptaki (n=20) sıçanlarda değiştirilmiş Levine-Rice örneğine (20) göre HİBH oluşturuldu. İzofluran anestezisi altında, boyunda orta hatta kesi yapıldı ve mikroskop altında sağ ana karotis arteri bulunarak 6.0 ipek sütür ile bağlandı. Operasyonu takiben yavru sıçanlar derlenme ve beslenmeleri için bir saat anne yanında bırakıldılar. Ardından, bir saat süreyle içerisinde %8 oksijen-%92 azot içeren gaz karışımı bulunan hipoksi odacığına konuldular. Odacığın içindeki oksijen yoğunluğu oksimetre ile sürekli izleniyordu. Sıçanların beden ısılarının korunması için hipoksi odacıkları 33±1 °C'lik su banyosu içeresine yerleştirildi.

Bu süreçlerin ardından deneysel olarak HİBH oluşturulmuş olan 1. gruptaki (ABT Grubu) sıçanlara her 1 g ağırlık için 2 ünite serum fizyolojik (SF) içinde 0.4 mg/kg dozunda ABT-491, 2. gruptaki sıçanlara (SF Grubu) ise her 1 g ağırlık için 2 ünite SF periton içine uygulandı. Üçüncü gruptaki (Sham Grubu) sıçanlara (n=19) anesteziyi takiben izleyerek yalnız boyun diseksiyonu yapılarak ana karotis arteri bulundu, ancak arter bağlanmadan diseksiyon alanı dikiş ile kapatıldı ve hipoksi uygulaması da yapılmadı.

Görsel uyarılma potansiyellerinin kaydedilmesi

Sıçanların, 16 haftalık olduklarında, ketamin (80 mg/kg) ve ksilazin (8 mg/kg) anestezisi altında, Paxinos ve ark.'larının (21) önerisine uygun olarak, görme korteksi üzerindeki

okspital bölgeye yerleştirilen Ag-AgCl disk elektrot aracılığıyla, ses ve elektromanyetik yalıtımı olan bir odada flaş uyarılara karşı iki taraflı görsel uyarılma potansiyelleri kaydedildi. Referans ve toprak elektrotlar kulaklara yerleştirildi. Tüm elektrot dirençleri 10 kOhm'un altında tutuldu. Bilgisayar programı aracılığıyla tetiklenen flaş uyarılar, LED (light-emitting diode) tabanlı bir "fotostimülatör" ile uygulandı. Uyarıların süresi 30 ms ve uyarılar arası süre 1,100 ms idi. Her bir kayıt dönemi 100 adet uyarıdan oluşuyordu.

Elektroensefalogram kayıtları La Mont Medical Inc. şirketinin 32 kanallı EEG yükselticisi ile sürekli ve dijital olarak alındı. 0,1 Hz yüksek geçiren ve 70 Hz alçak geçiren filtre uygulanarak 256 nokta/sn örnekleme hızıyla kaydedici bilgisayarın hard diskine "off-line" analiz için aktarıldı. Parazit temizliğinin ardından, kayıtlar 100 ms uyarı öncesi ve 400 ms uyarı sonrası olmak üzere EEG dilimlerine ayrıldı ve bu dilimlerin ortalamaları alındı. Görsel uyarılma potansiyelleri yanıtlarındaki potansiyellerin süre ve tepeden-tepeye genlik değerleri ölçüldü.

İstatistiksel değerlendirme

Çalışma öncesinde, deney gruplarının büyüklüğünü saptamak için sıçanlarda flaş GUP yanıtlarının kaydedildiği araştırmalar temel alınarak MedCalc Ver. 9.2 paket programı ile güç analizi yapıldı. 0,80 güç ve 0,05 I. tip hata koşulları altında N2, P2 ve P3 potansiyellerinde meydana gelebilecek 1 standart sapmalılık değişimlerin gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiğinin tespit edilebilmesi için gerekli en küçük örneklem büyüklüğü, her grupta 16 sıçan olarak hesaplandı.

Deney gruplarından (Sham, SF ve ABT) elde edilen GUP yanıtlarının süre ve tepeden-tepeye genlik değerlerinin istatistiksel değerlendirmesi tek yönlü varyans analizi ile yapıldı. Deney grupları arasında ortaya çıkan farkın kaynağını belirlemek amacıyla post hoc Tukey testi uygulandı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS 11,5 programı ile yapıldı.

Bulgular

Sham, SF ve ABT gruplarında kaydedilen flaş GUP yanıtlarında; P2, N2 ve P3 dalga bileşenlerinin süreleri ile tepeden tepeye P2-N2 ve N2-P3 dalga genlikleri ölçüldü (22). Elde edilen değerler Tablo 1'de ortalama±standart

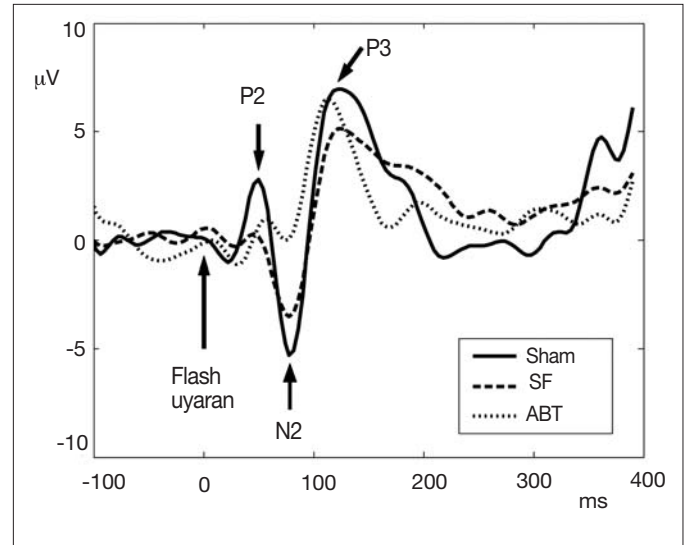
sapma (ort.±SS) olarak verildi. Şekil 1'de her üç deney grubundaki sıçanlardan; flaş uyarıdan önceki 100 ms ile sonraki 400 ms arasındaki zaman süreci içerisinde orta hat oksipital elektrot bölgesinden (Oz) elde edilen flaş GUP yanıtlarının büyük ortalamaları görülmektedir.

GUP yanıtlarının süreleri

Flaş GUP yanıtlarının P2 ve N2 bileşenlerinin süre değerleri, sham, SF ve ABT grupları arasında farklılık göstermiyordu (sırasıyla $F(2,54)=3,05$; $p=0,055$ ve $F(2,54)=2,86$; $p=0,066$). Buna karşılık, P3 dalgasının süre değerleri her üç deney grubu arasında anlamlı olarak farklıydı ($F(2,54)=3,73$; $p=0,030$). İkili karşılaştırmalar ile bu farklılığın kaynağı incelendiğinde: ABT grubundan elde edilen P3 dalga sürelerinin SF grubuna oranla anlamlı oranda daha kısa olduğu gözlemlendi ($p=0,049$), (Tablo 1, Şekil 2).

GUP yanıtlarının genlikleri

Tepeden tepeye P2-N2 dalga genlik değerleri her üç deney grubu arasında anlamlı farklılık gösteriyordu ($F(2,54)=44,99$; $p=0,001$). İkili karşılaştırmalarda her üç gruptan elde edilen P2-N2 dalga genliklerinin birbirinden farklı olduğu görüldü.



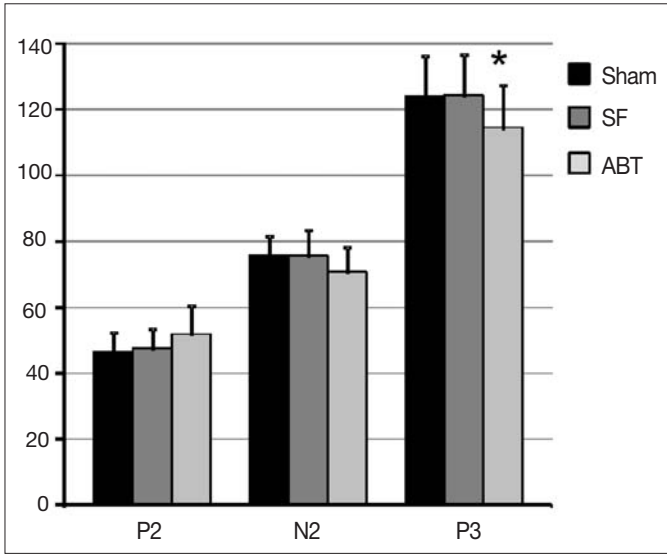
Şekil 1. Sham (n=19), SF (n=20) ve ABT (n=18) gruplarındaki sıçanlardan; flaş uyarıdan önceki 100 ms ile sonraki 400 ms arasındaki zaman süreci içerisinde orta hat oksipital elektrot bölgesinden elde edilen flaş GUP yanıtlarının büyük ortalamaları (Flaş uyarının uygulanma anı ile P2, N2 ve P3 potansiyelleri ok ile gösterilmiştir)

Tablo 1. Sham (n=19), SF (n=20) ve ABT (n=18) gruplarındaki sıçanlardan; orta hat oksipital elektrot bölgesinden kaydedilen GUP yanıtlarının süre ve genlik değerleri (Ort±SS)					
Grup	P2 (ms)	N2 (ms)	P3 (ms)	P2-N2 (µV)	N2-P3 (µV)
Sham	46,58±5,75	75,58±5,92	124,16±12,03	9,59±2,97	12,94±2,28
SF	47,70±5,76	75,60±7,76	124,35±12,40	5,36±2,40**	8,82±2,75**
ABT	51,83±8,64	70,72±7,58	114,61±12,75*	2,26±1,39***	7,11±3,25**

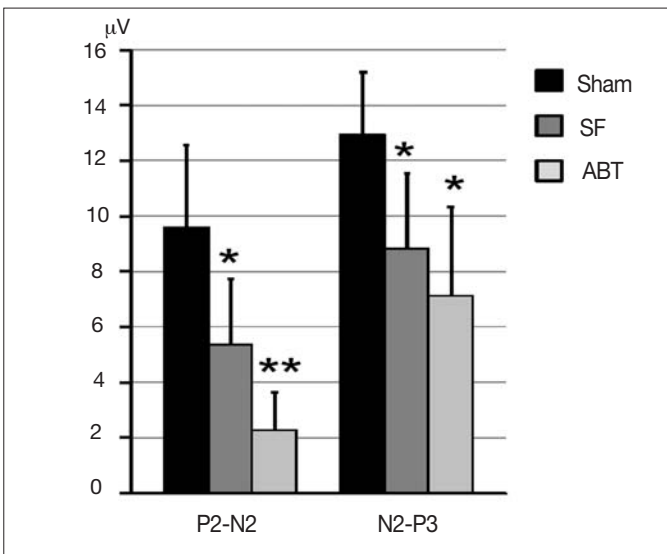
* : SF grubuna göre $p < 0,05$, ** : Sham grubuna göre $p < 0,001$, *** : Sham ve SF gruplarına göre $p < 0,001$

Tepeden tepeye P2-N2 dalga genlikleri; ABT grubunda SF ve sham grubuna oranla (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,001$) ve SF grubunda ise sham grubuna oranla ($p=0,001$) anlamlı olarak daha küçük bulundu.

Tepeden tepeye N2-P3 dalga genlik değerleri de her üç deney grubu arasında anlamlı oranda farklıydı ($F(2,54)=21,68$; $p=0,001$). İkili karşılaştırmalarda; SF ve ABT gruplarından elde edilen N2-P3 dalga genliklerinin sham grubundan anlamlı olarak daha küçük olduğu saptandı (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,001$), (Tablo 1, Şekil 3).



Şekil 2. Sham (n=19), SF (n=20) ve ABT (n=18) gruplarında kaydedilen flaş GUP yanıtlarında; P2, N2 ve P3 dalga bileşenlerinin süre değerleri (*: SF grubuna göre $p<0,05$)



Şekil 3. Sham (n=19), SF (n=20) ve ABT (n=18) gruplarında kaydedilen flaş GUP yanıtlarında; tepeden tepeye P2-N2 ve N2-P3 dalga genlik değerleri (*: Sham grubuna göre $p<0,001$, **: Sham ve SF gruplarına göre $p<0,001$)

Tartışma

Hipoksik iskemik beyin hasarında iskemi daha önemli bir rol oynar. Hipoksi ve iskemiye izleyerek başlayan reperfüzyon dönemi hasarın olduğu evredir. Hipoksinin başlangıçta oluşturduğu hasarın yanı sıra; reperfüzyonun, glutamat ve nitrik oksit nörotoksitesinin, serbest radikal oluşumunun ve kalsiyum birikiminin etkisiyle gelişen apoptoz beyinde geri dönüşümsüz hasara yol açar (3-5). Bu döneme geçmeden verilecek tedaviler ile hasarın önlenmesi ya da azaltılması mümkün olabilir (23, 24). PAF'ın HİBH oluşumunda önemli bir aracı olması, PAF antagonistlerinin tedavide etkili olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuda literatürde az sayıda çalışma bulunmaktadır (17).

Ogden ve ark.'ları (25) 1998 yılında sıçanların hipokampal nöron kültürlerinde yaptıkları bir çalışmada, PAF'ı inaktive eden PAF asetil hidrolazın, NMDA ile uyarılmış apoptozu azalttığını ve nöroprotektif etki sağladığını bildirmişlerdir. Viswanath ve ark.'ları (14), 2000 yılında iki farklı PAF antagonisti kullanarak Wistar cinsi sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, WEB 2710'un sadece hipoksi öncesinde etkili olduğunu, hipoksi sonrası uygulanmasının hasarı engelleyemediğini ve BN 52021'in hipoksi öncesi ya da sonrası uygulanmasının hasar üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Liu ve ark.'ları (15), 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada hipoksiden hemen önce ve hemen sonra, nöronlardaki sinaptik PAF almaçları için seçici bir antagonist olan BN 50730'u kullanmışlar ve bu PAF antagonistin hem doku kaybını azalttığını, hem de öğrenme ve hafıza yetisini koruduğunu bildirmişlerdir. 2006 yılında Bozlu ve ark.'ları (17), ABT-491'in, HİBH örneği oluşturulan yenidoğan sıçanlarda; PAF'ın, hücreler üzerindeki istenmeyen etkilerini almaç düzeyinde engelleyerek anti-apoptotik etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Hipoksik iskemik beyin hasarı, kortikal görsel bozuklukların önemli nedenlerinden biridir (26). Görsel uyarılma potansiyelleri, görsel yollar ve oksipital korteksteki işlevsel bozuklukları yüksek zamansal çözünürlükle ve nesnel olarak yansıtan EEG temelli elektrofizyolojik bir tanı yöntemidir (19). Akson hasarında olduğu gibi nöronal iletimde kesintiye neden olan patolojiler GUP yanıtlarının genliğinde azalmaya neden olurken, demiyelinizasyon gibi iletim hızında azalma yapan bozukluklar GUP yanıtlarının sürelerinde anormal uzamalara yol açarlar (27,28).

Çalışmamızda, HİBH oluşturulan sıçanlara ABT-491 uygulanarak GUP'lar üzerine olan etkileri incelendi. Serum fizyolojik ve ABT gruplarında elde edilen GUP yanıtlarında tepeden-tepeye P2-N2 ve N2-P3 dalga genliklerinin sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha küçük bulunması, oluşturulan beyin hasarı ile uyumlu bir bulgu olarak değerlendirildi. ABT-491 uygulanması sonrasında söz konusu dalgaların genliklerinde herhangi bir artış gözlenmedi. Hipoksik iskemik beyin hasarı oluşturulan sıçanlara ABT-491 uygulanması ile P3 dalga süresinde

sham grubuna göre anlamlı olarak kısalma olduğu gözlemlendi. P2 dalga süresindeki değişiklikler de benzerdi. Bu bulgu, istatistiksel olarak anlamlılık derecesine ulaşmasa da anlamlılığa yakın bir eğilim söz konusuydu ($p=0,066$).

Sonuç olarak; elde ettiğimiz GUP verileri ışığında, HİBH sonrası ABT-491 uygulamasının, görme yollarında iletim kesintisi tarzındaki bozukluklar üzerine olumlu bir etkisinin bulunmamasına karşılık, azalmış olan iletim hızı üzerine düzeltici yönde etki ettiği söylenebilir.

Kaynaklar

1. Johnston MV, Trescher WH, Ishida A, Nakajima W. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain. *Pediatr Res* 2001; 49: 735-41.
2. Verklan MT. The chilling details: hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Perinat Neonat Nur* 2009; 23: 59-68.
3. Ferriero DM. Neonatal brain injury. *New Engl J Med* 2004; 351: 1985-95.
4. Volpe J. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Ment Retard Dev D R* 2001; 7: 56-64.
5. Johnston M. Excitotoxicity in perinatal brain injury. *Brain Pathol* 2005; 15: 234-40.
6. Bonfoco E, Krainc D, Ankarcona M, Nicotera P, Lipton SA. Apoptosis and necrosis: Two distinct events induced, respectively, by mild and intense insults with N-methyl-D-aspartate or nitric oxide/superoxide in cortical cell cultures. *P Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7162-6.
7. Perlman JM. Intervention strategies for neonatal hypoxic-ischemic cerebral injury. *Clin Ther* 2006; 28: 1353-65.
8. Grow J, Barks JD. Pathogenesis of hypoxic-ischemic cerebral injury in the term infant: Current concepts. *Clin Perinatol* 2002; 29: 585-602.
9. Akisu M, Kultursay N, Coker I, Huseynov A. Platelet-activating factor is an important mediator in hypoxic ischemic brain injury in the newborn rat: flunarizine and Ginkgo biloba extract reduce PAF concentration in the brain. *Biol Neonate* 1998; 74: 439-44.
10. Mori M, Aihara M, Kume K, Hamanoue M, Kohsaka S, Shimizu T. Predominant expression of platelet-activating factor receptor in the rat brain microglia. *J Neurosci* 1996; 16: 3590-600.
11. Predescu D, Ihida K, Predescu S, Palade GE. The vascular distribution of the platelet-activating factor receptor. *Eur J Cell Biol* 1996; 69: 86-98.
12. Renis M, Cardile V, Russo A, Campisi A, Collova F. Glutamine synthetase activity and HSP70 levels in cultured rat astrocytes: effect of 1-octadecyl-2-methyl-rac-glycero-3-phosphocholine. *Brain Res* 1998; 783: 143-50.
13. Yoshida H, Imaizumi T, Tanji K, et al. Platelet-activating factor enhances the expression of vascular endothelial growth factor in normal human astrocytes. *Brain Res* 2002; 944: 65-72.
14. Viswanath M, Palmer C, Roberts RL. Reduction of hypoxic-ischemic brain swelling in the neonatal rat with PAF antagonist WEB 2170: lack of long-term protection. *Pediatr Res* 2000; 48: 109-13.
15. Liu XH, Eun BL, Barks JDE. Platelet-activating factor antagonist BN 50730 attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatr Res* 2001; 49: 804-11.
16. Albert DH, Magoc TJ, Tapang P, et al. Pharmacology of ABT-491, a highly potent platelet-activating factor receptor antagonist. *Eur J Pharmacol* 1997; 325: 69-80.
17. Bozlu G, Atici A, Turhan AH, et al. Platelet-activating factor antagonist (ABT-491) decreases neuronal apoptosis in neonatal rat model of hypoxic ischemic brain injury. *Brain Res* 2007; 1143: 193-8.
18. Lopes Da Silva FH. Event-related potentials: methodology and quantification. In: Niedermeyer E, Lopes da Silva FH (eds). *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. 5th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 2005: 991-1001.
19. Fahle M, Bach M. Origin of the visual evoked potentials. In: Heckenlively JR, Arden GB (eds). *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*. 2nd Ed. London: The MIT Press, 2006: 207-34.
20. Rice JE, Vanucci RC, Brierley JB. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Ann Neurol* 1981; 9: 131-41.
21. Paxinos G, Watson C, Emson PC. AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates. *J Neurosci Meth* 1980; 3: 129-49.
22. Odom JV, Bach M, Brigell M, et al. ISCEV standard for clinical visual evoked potentials (2009 update). *Doc Ophthalmol* 2010; 120: 111-9.
23. Hossain MA. Molecular mediators of hypoxic-ischemic injury and implications for epilepsy in the developing brain. *Epilepsy Behav* 2005; 7: 204-13.
24. Atici A, Bozlu G, Turhan AH, et al. The role of trapidil on neuronal apoptosis in neonatal rat model of hypoxic ischemic brain injury. *Early Hum Dev* 2008; 84: 243-7.
25. Ogden F, DeCoster MA, Bazan NG. Recombinant plasma-type platelet-activating factor acetylcholinesterase attenuates NMDA-induced hippocampal neuronal apoptosis. *J Neurosci Res* 1998; 53: 677-84.
26. Hoyt CS. Visual function in the brain-damaged child. *Eye* 2003; 17: 369-84.
27. Diem R, Tschirne A, Bahr M. Decreased amplitudes in multiple sclerosis patients with normal visual acuity: a VEP study. *J Clin Neurosci* 2003; 10: 67-70.
28. Trip SA, Schlottmann PG, Jones SJ, et al. Retinal nerve fiber layer axonal loss and visual dysfunction in optic neuritis. *Ann Neurol* 2005; 58: 383-91.