



Deneyisel epilepsi modelinde böbrekte bulunan Aquaporin4 ve Aquaporin2 kanallarının gen ekspresyonları

Gene expressions of the Aquaporin4 and Aquaporin2 channels in the kidney in experimental epilepsy model

Çağla Yıldız,¹ Fahri Akbaş,² Enes Akyüz³

¹Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstanbul, Turkey

²Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Turkey

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, Turkey

Özet

Amaç: Epilepsinin temel oluşum mekanizmasında, beyinde bulunan çeşitli iyon kanallarının genlerindeki değişikliğin yer aldığı bilinmektedir. Potasyum kanallarındaki fonksiyonel değişikliklerin yanı sıra, bir su kanalı olan ve hücre içi/hücre dışı suyun hareketine yön veren aquaporin4 (AQP4) kanalındaki fonksiyon kaybının epilepsiye neden olabileceği gösterilmiştir. Böbrekte de eksprese olan ve toplayıcı kanalların basolateral hücre membranında bulunan AQP4 kanalları bu dokuda suyun hücre dışına çıkışını sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, AQP2'nin böbrekte en çok eksprese olan su kanalı olması ve toplayıcı tübüllerin ana hücrelerinin apikal membranında suyun tübüllerden hücre içine geçişini sağlamasından dolayı epilepside araştırmaya dahil edilmiştir.

Gereç ve Yöntem: Otonom sinir sisteminin de etkilendiği göz önüne alınarak; Pentilentetrazol (PTZ) kimyasal maddesi, sıçanlarda bir aylık sürede iki günde bir 35 mg/kg intraperitoneal olarak verilerek "PTZ tutuşma modeli" (kronik epilepsi) oluşturuldu. Çalışmada; dişi/erkek kontrol ve epilepsi grupları olmak üzere dört grupta Wistar albino [250–350 gr, 28 adet (n=7)] sıçan kullanıldı. Böbrek dokularından elde edilen mRNA, cDNA'ya çevrilerek AQP2 ve AQP4 genlerinin gerçek zamanlı PCR (qRT-PCR) yöntemiyle gen düzeyleri araştırıldı.

Bulgular: Erkek epileptik sıçanlarda yalnızca sol böbrekte bulunan AQP2 kanalı mRNA seviyesinde azalma görülürken, dişi sıçanların sol ve sağ böbreklerinde bulunan AQP2 ve AQP4 kanallarının mRNA seviyelerinde anlamlı azalma görüldü.

Sonuç: Bu sonuçlar, epilepside beyinde merkezi rol üstlenen AQP4 ve AQP2 kanallarının böbrekteki fonksiyonun dişi ve erkeklerde farklılık gösterebileceğini ve bu kanalların daha detaylı olarak araştırılmasını öne çıkardı.

Anahtar Sözcükler: Aquaporin; böbrek; epilepsi; pentilentetrazol; sıçan.

Abstract

Introduction: It is known that the basic mechanism of epilepsy involves the changes in the genes of various ion channels in the brain. It has been shown that functional loss in potassium channels, as well as loss of function in aquaporin4 (AQP4) channel, which is a water channel and directs the movement of intracellular / extracellular water, may cause epilepsy. The AQP4 channels present in the kidney and located in the basolateral cell membrane of the collecting ducts provide extracellular water excretion in this tissue. In addition, because AQP2 is the most prominent water channel in the kidney and the passage of water from the tubules into the cell at the apical membrane of the parent cells of the collecting tubules, this channel included in the epilepsy-study.

Methods: Considering that the autonomic nervous system is also affected; the "Pentilentetrazole (PTZ) kindling model" (chronic epilepsy) was generated by administering PTZ chemical substance in rats intraperitoneally at 35 mg / kg every two days for one month. Wistar albino [250–350 gr, 28 (n=7)] rats were used in four groups as female / male control and epilepsy groups. The gene levels of AQP2 and AQP4 genes were investigated by real-time PCR (qRT-PCR) method by converting mRNA into cDNA obtained from kidney tissues.

Results: Female epileptic rats showed significant decreases in mRNA levels of AQP2 and AQP4 channels in the left and right kidneys while only a decrease in the level of AQP2 channel mRNA in the left kidney of male rats was observed.

Discussion and Conclusion: These results suggested that the AQP4 and AQP2 channels, which play a central role in the epileptic brain, may differ in the female and male functions of the kidney and that these channels should be investigated in more detail. A detailed study of these channels will help identify epilepsy-associated kidney diseases and illuminate the mechanism.

Keywords: Aquaporin; kidney; epilepsy pentilentetrazole; rat.



Epilepsi, fonksiyonel ve yapısal değişikliklerden dolayı beyin eksitator ve inhibitör dengesinin bozulması sonucu meydana gelen nöronal deşarjlarla karakterizedir^[1] ve dünya nüfusunun yaklaşık %2'sinin epilepsi hastası olduğu bilinmektedir.^[2] Sinir sisteminde uyarılmanın oluşturulmasına ve modülasyonuna katkıda bulunan iyon kanalları epilepsi mekanizmasında rol almaktadır.^[3] Ayrıca epilepside hücre dışı alanın boyutu ve ozmolarite, beyin dokusu uyarılmasını oldukça hassas bir şekilde etkilemektedir.^[4] Böylece, su ve potasyum (K+) dengesindeki değişiklikler nöbet duyarlılığını dramatik olarak etkilemektedir. Buna göre, beyinde en yaygın su kanalı olarak bulunan aquaporin-4 (AQP4) kanalları, ekstraselüler sıvı ozmolaritesinin ve alan hacminin düzenlenmesindeki fonksiyonundan dolayı epilepsinin patogenezinde yer almaktadır.^[5] Ultra-yapısal analizler, Kir4.1'in astroglial ayakucunda lokasyon olarak AQP4 su kanalı ile örtüştüğünü göstermiştir.^[6] Buna göre, Kir kanalları vasıtasıyla dış uzayda potasyum temizlenmesinin; potasyum yeniden dağıtılması nedeniyle oluşan ozmotik dengesizliğin suyun dağılımında transmembran akışına bağlı olarak değişebileceği önerilmektedir.^[7] Bu bilgiler ışığında, epilepside aquaporin kanallarının yalnızca beyinde değil, aynı zamanda suyun anahtar rol oynadığı periferik sinir sisteminde de etkilerinin olduğu düşünülmektedir.^[8]

Parsiyel ve jeneralize epileptik nöbetlerin iktal, postiktal ve interiktal dönemlerde otonomik sinir sistemini etkilediği bilinmektedir.^[9] Santral otonomik bağlantılarda gerçekleşen aktivasyon ya da inhibisyon; kardiyovasküler, respiratuar ve genitoüriner belirtilere neden olmaktadır. Buna göre, idrar kaçırma, idrar yapmada tereddüt etme, damlatma ve idrar sıklığında artış gibi genitoüriner komplikasyonlar parasempatik sinir sistemi aracılığıyla oluşmaktadır.^[10] Ek olarak, hipotalamusta oluşan ve böbreklerde su depolanma miktarını belirleyen antidiüretik hormon (ADH) sayesinde, epilepside olası genitoüriner komplikasyonların, idrar formasyonunda ADH uyarılmasıyla su emilimini sağlayan renal aquaporin kanallarındaki sekonder değişiklikleri açısından yorumlanması hedeflenmiştir.^[11]

ADH uyarılmasında hızla apikal membrana taşınarak idrar konsantrasyonunda su kanalı görevi gören AQP2kanalı, böbrekte ağırlıklı olarak esas hücrelerin subapikal vezikülleri ile apikal plazma zarında lokalizedir.^[10] Böbrekte yoğunluklu olarak iç medüller toplama kanalında bulunan AQP4 kanalı ise, toplayıcı tübül içindeki esas hücrelerin bazolateral membranında lokalizedir, bu bölgeden su çıkışını sağlar ve ürün konsantrasyonu belirlenmesinde rol oynar.^[12,13]

Renal aquaporin kanallarının epilepside sekonder olarak rolü haberci RNA (messenger RNA; mRNA) seviyelerinin değişebileceği hipotezi; Kir4.1 kanalını kodlayan KCNJ10 mutasyonuna bağlı olarak oluşan EAST sendromu (epilepsi, ataksi, sensoröral sağırılık, tübülöpati ve renal tuz kaybı) en önemli kaynak görülerek oluşturulmuştur. Kir4.1 kanalı, böbrekte distal nefronların bazolateral yüzeyinde yer alan ve kanalının fonksiyon bozukluğunun distal tuz reabsorpsiyonunda bozulmaya yol açtığı bir içeri doğrultucu potasyum kanalıdır.^[14]

Kir4.1 kanalı ile AQP4 kanalının aynı lokalizasyonda oldukları ve beyinde epileptik nöbetlerin oluşmasında beraber rol almaları sebebiyle otonom sinir sisteminin etkisine bağlı olarak renal AQP4 kanalının ve böbrekte en çok bulunan AQP2 kanalının araştırılması hedeflenmiştir.

Bu amaca uygun olarak, aquaporin kanallarının renal fonksiyondaki önemi ve epileptik beyindeki ekspresyonel değişiklikleri bildirilmesine rağmen, epilepside olası-sekonder üriner sistem bozuklukları için aday mekanizma olarak ilk kez önerilmektedir. Bu çalışmada, epilepsi kaynaklı tonik-klonik nöbetleri taklit eden PTZ tutuşma modeli uygulanarak, sıçanlarda renal aquaporin kanallarının gen ekspresyonunu araştırdık ve bu kanalların ekspresyonlarında değişiklikler elde ettik. Renal aquaporin kanallarının ekspresyonundaki değişiklikler, epilepside üriner riskte bu kanalların rolü olabileceğini göstermektedir.

Gereç ve Yöntem

Etik durum

Hayvanlara NIH Hayvan Bakımı ve Kullanım Kılavuzuna göre uygulama yapıldı. Sıçanlar üzerindeki tüm işlemler Bezmialem Vakıf Üniversitesi Hayvan Etiği Komitesi tarafından onaylandı. Ayrıca, tüm operasyonlar ve işlemler ketamin ve ksilazin kullanılarak anestezide yapıldı.

Hayvanlar

Deney, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Araştırma Merkezi'nden alınan 250–350 g erkek/dişi Wistar albino sıçanlar kullanılarak gerçekleştirildi. Sıçanlar, kontrollü sıcaklıklarda (24°C±2°C) kafeslere yerleştirildi, su ve yiyeceklere serbestçe erişti ve 12 saatlik aydınlık-karanlık bir çevrimde tutuldu. Hayvanlar rastgele dört gruba ayrıldı; tüm erkek/dişi PTZ tutuşma epilepsi grupları ve kontrol grupları (n=28). Hayvanlara, %0,9 NaCl içinde çözülmüş 35 mg/kg PTZ uygulandı ve kontrol gruplarına %0.09 salin enjekte edildi.

Pentilentetrazol (PTZ) tutuşma epilepsi modeli

Bir GABAA reseptörü antagonisti olan PTZ (P6500, Sigma, St. Louis, MO, ABD) %0,9 NaCl çözeltisi içinde eritildi ve intrapeitoneal olarak 35 mg/kg'lık bir doz olarak hazırlandı. Enjeksiyonlar haftada üç gün (pazartesi, çarşamba ve cuma), bir ay süreyle sıçanlara yapıldı ve epileptik nöbet skorlaması bakımından aşağıdaki sisteme göre ayrı ayrı 30 dakika boyunca davranışları gözlemlendi.^[15]

- Faz 0: Tepkisiz
- Faz 1: Kulak ve yüz seğirmesi
- Faz 2: Miyoklonik vücut sarsıntıları
- Faz 3: Klonikön-ayak konvülsiyonları
- Faz 4: Tonik-klonik nöbetler
- Faz 5: Jeneralize tonik-klonik nöbetler

Hem dişi hem de erkek epilepsi gruplarında nöbet duyarlılığının geliştiğini göstermek için sıçanlara son PTZ enjeksiyonu 50 mg/kg olarak verildi. Faz 4 veya Faz 5'te nöbet geçiren hayvanlar tamamen epilepsi-tutuşma modeline uygun kabul edildi.

Tablo 1. Kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu metoduyla aquaporin2 ve aquaporin4 kanallarına ait genlerin analizi için kullanılan primerler

Genler	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
AQP2	TTGCAGGAACCAGACACTTG	GCGGAGACGAGCACTTTTC
AQP4	CATGGGAAACTGGGAAACCAC	GCGACGTTTGAGCTCCACGTC

Doku hazırlama süreci

Deneyin sonunda, sıçanlar sonlandırıldı ve böbrekler hemen aseptik koşullar altında kullanıma kadar -80 °C'de saklandı.

Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Sıçanlardan alınan böbrek dokuları parçalandı, sıvı azotla donduruldu ve -80 °C'de kullanıma kadar saklandı. Protokole göre, Trizol reaktif maddesi ile yüksek saflıkta RNA İzolasyon Kiti (#11828665001, Roche) kullanılarak dondurulmuş dokulardan toplam RNA izole edildi. RNA, bir Nanodrop ND-1000 (Thermo Fischer Scientific) kullanılarak hesap edildi.

cDNA, üretim şirketi protokolüne göre nicel gerçek zamanlı PCR için yüksek kapasiteli cDNA kiti (Applied Biosystems #4368814) kullanılarak sentezlenmiştir. İlgili genler, gerçek zamanlı floresan kantitatif PCR analiz cihazında (cfx Biorad, ABD) SYBR Green PCR kiti (iTaQ™ Universal SYBR® Green Biorad, 10032048) kullanılarak şu şekilde tespit edildi: 95 °C, 30 s; 95 °C, 5 s; 60 °C, 30 s ve 40 devir. Aquaporin kanallarının (Aquaporin kanalları; AQP2 ve AQP4) rölatif ekspresyon seviyeleri, 2-ΔΔCt yöntemi kullanılarak Ct değerlerinden hesaplandı. Her bir gen için primer dizileri Tablo 1'de gösterildi.

Opticon Monitor Version 3.1 (BioRad) ile Chromo 4 gerçek zamanlı PCR analiz sistemi kullanılarak PCR gerçekleştirildi. GFAP; AQP2 ve AQP4, GAPDH gen primerleri kullanıldı. 3-4 böbrekten elde edilen veriler, kontrol ortalamasının fold-değişimi±SEM olarak sunulmuştur.

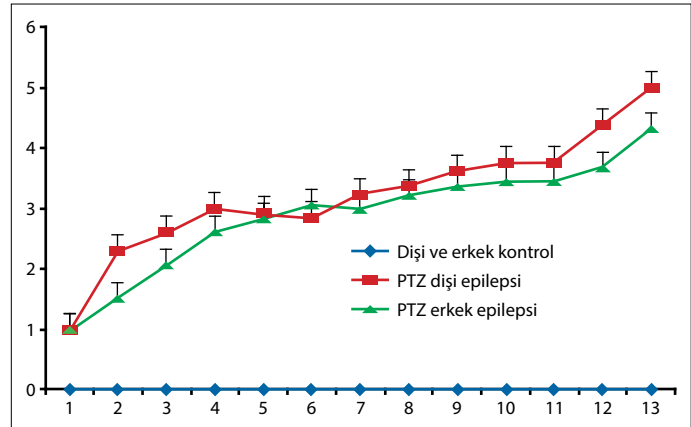
İstatistiksel analiz

Verilerin ortalama ve standart sapmaları hesaplandıktan sonra one way Anova, Mann-Whitney-U Testi uygulanarak istatistiksel analiz yapıldı. p değeri 0.05'den küçük olan karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

PTZ-tutuşma modeli epilepsi nöbetlerinin gelişim süreci

1 ay boyunca haftada üç gün subkonvulsif 35 mg/kg PTZ uygulanan dişi ve erkek sıçanlarda kronik epileptik nöbetler, tutuşturularak üretildi (Şekil 1). Racine skorlama sisteminin son fazı olan jeneralize tonik-klonik nöbetler tüm hayvanlarda görüldü. Şekil 1'e göre, PTZ-tutuşmuş dişi sıçanlarda 13. enjeksiyon sonunda tüm hayvanlarda 5. fazda (jeneralize tonik-klonik) nöbetler görülürken, erkek sıçanlarda ise ortalama 4.33 (±0.62) faz değerinde kalmıştır. Epilepsi gruplarında 10 hayvanla başlandı fakat erken ölüm ve/veya yeterli epileptik faza çıkılmaması (Faz 3'ün altında kalan hayvanlar) sebebiyle her iki gruptan da üç sıçan çıkarıldı. PTZ enjeksiyonu prosesi



Şekil 1. İnterperitoneal olarak verilen pentilentetrazolün sıçanlarda oluşturduğu epileptik konvülsiyon şiddetleri. Sırasıyla yeşil ve kırmızıyla gösterilen PTZ tutuşmalı epileptik erkek ve PTZ tutuşmalı epileptik dişi sıçanlar son enjeksiyonda maksimum nöbet seviyesine (ortalama±SEM) ulaştı. Mavi ile temsil edilen kontrol gruplarında ise epileptik ajan verilmediğinden dolayı herhangi bir epileptik nöbet görülmedi.

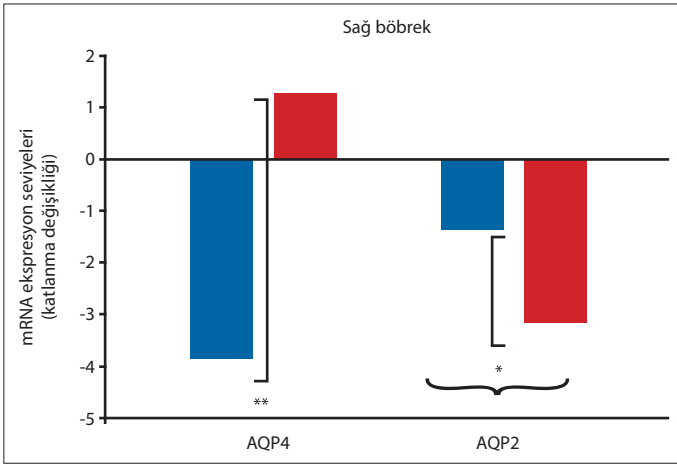
boyunca hayvanların ağırlıkları ölçüldü ve anlamlı derecede bir değişiklik gözlenmedi.

Daha önce epilepsiye eşlik eden böbrekle alakalı gözlemlenmiş değişiklikleri açıklayan olası bir moleküler mekanizmayı araştırmak için AQP2 ve AQP4 mRNA ekspresyonları böbrek dokusunda analiz edildi.

mRNA ekspresyonu

PTZ-tutuşmuş dişi epileptik sıçanlarda sağ böbrekte AQP4 kanalı rölatif mRNA seviyesinde yaklaşık 4 katlık anlamlı derecede bir azalma görüldü (Şekil 2, **p<0.01). Dişi epileptik sıçanların sağ böbreğinde bulunan AQP2 kanalı rölatif mRNA seviyesinde ise yaklaşık 2 kat anlamlı azalma belirlendi (Şekil 2, *p<0.05). PTZ-tutuşmuş erkek epileptik sıçanlarda ise kontrol grubuna kıyasla AQP4 kanalı rölatif mRNA seviyesinde bir değişiklik görülmezken, AQP2 kanalı rölatif mRNA değerinde yaklaşık 3 kat anlamlı derecede azalma görüldü (Şekil 2, *p<0.05).

PTZ-tutuşmuş dişi epileptik sıçanlarda sol böbrekte AQP4 kanalı rölatif mRNA seviyesinde yaklaşık 30 katlık anlamlı derecede bir azalma görüldü (Şekil 3, ***p<0.001). Dişi epileptik sıçanların sol böbreğinde bulunan AQP2 kanalı rölatif mRNA seviyesinde ise yaklaşık 26 kat anlamlı azalma belirlendi (Şekil 3, **p<0.01). PTZ-tutuşmuş erkek epileptik sıçanlarda ise kontrol grubuna kıyasla sol böbrekte bulunan AQP4 ve AQP2 kanalları rölatif mRNA değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi (Şekil 3, p>0.05).



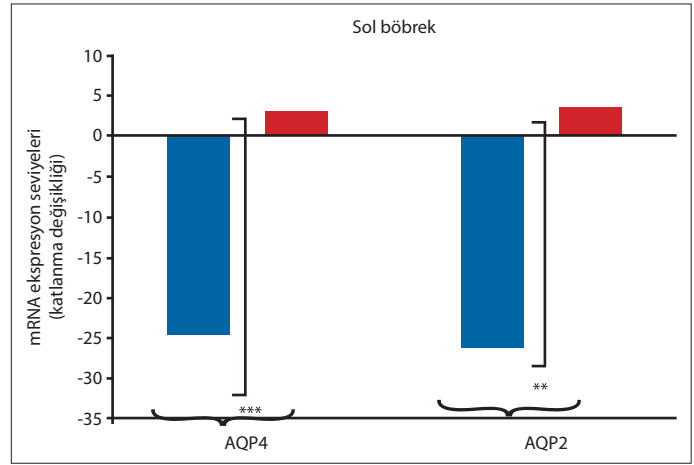
Şekil 2. Mavi renkli barla gösterilen dişi epileptik sıçanlarda, sağ böbrekte hem AQP2 hem de AQP4 kanalı mRNA seviyesinde anlamlı azalma görüldü (sırasıyla ** $p < 0.01$ ve * $p < 0.05$). Kırmızı barla gösterilen erkek epileptik sıçanlarda ise, AQP4 kanalı mRNA seviyesi değişmezken, AQP2 mRNA seviyesinde anlamlı derecede azalma görüldü (* $p < 0.05$).

Tartışma

Epilepsi, nöronlar arasında senkronize aktiviteyi geciktiren nöbetlerin periyodik ve öngörülemez anormal olayları ile karakterize bir hastalıktır. Epilepside ekstraselüler potasyum iyon konsantrasyonunun $[K^+]$ arttığı bilinmektedir. Bu nedenle, K^+ alımı ve uzaysal K^+ buffering (tamponlama) önem kazanmaktadır. Epileptik durumda K^+ alımı hücreyi şişirir. Ekstraselüler ortamda artan K^+ iyon konsantrasyonu karşılıksız kalırsa, dinlenim potansiyeli daha pozitif değerlerde olur ve transmembran iyon kanalları kapılarını etkiler. Na^+-K^+ ATPaz pompası epileptik aktiviteden sonra $[K^+]$ miktarını düşük seviyeye çeker. Buna bağlı olarak, uzaysal tamponlama olayı; astrositik içeri doğrultucu K^+ kanalları (Kir kanalları) ve su kanallarının (aquaporin kanalları; AQP) dağılım/fonksiyonuna bağlıdır. Epilepside rolü olduğu bilinen kanallardan ikisi, Kir4.1 ve birlikte fonksiyonel rolü olan AQP4 kanallarıdır.

Yapılan çalışmalarda, Kir4.1 kanalındaki fonksiyon bozukluğuyla birlikte nöbet aktivitesinde artış (upregülasyon); astrositlerdeki Kir kanalında ise hem insan hem de hayvan epilepsisinde azalış (downregülasyon) olduğu görülmüştür. Buna ek olarak, aquaporin kanallarının yanlış lokalizasyonunun ekstraselüler ortamdaki K^+ tamponlamayı bozduğu bilinmektedir. Kir4.1 ve AQP4 kanallarının upregülasyonu, ekstraselüler uzayın azalmasına sebep olur. Böylece, fazla potasyum iyon konsantrasyonunun dış uzaydan temizlenmesi aquaporin kanallarına bağlıdır.^[16] AQP4^{-/-} fareler kullanılarak yapılan çalışmalarda ise, nöbet üretimi ve yayılmasında AQP4'ün rolü aydınlatılmıştır. Buna göre, AQP4^{-/-} farelerin, pentilenetetrazol^[17] ve elektriksel uyarı^[11] epilepsi modellerinde daha büyük bir nöbet eşiğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Aquaporinler ve potasyum kanalları hücrelerin en hızlı taşıma kapasitesine sahip kanallar olmaları ve organizmada suyun dengesini böbreklerin sağlaması epilepside otonom sinir sisteminin etkilenmesine bağlı olarak böbrekte bulunan su ka-



Şekil 3. Mavi renkli barla gösterilen dişi epileptik sıçanlarda, sol böbrekte hem AQP2 hem de AQP4 kanalı mRNA seviyesinde anlamlı azalma görüldü (sırasıyla *** $p < 0.001$ ve ** $p < 0.01$). Kırmızı barla gösterilen erkek epileptik sıçanlarda ise, AQP4 ve AQP2 kanalı mRNA seviyelerinde bir değişiklik gözlenmedi.

nallarının nasıl değiştiği sorusunu akıllara getirmektedir.

Merkezi sinir sisteminden otonomik ağdaki alanlara yayılan nöbetlerin otonomik aferentlerin uyarılmasını taklit edebileceği veya otonomik ifadeleri değiştirebileceği gösterilmiştir. Buna ek olarak, otonomik ağdaki alanların aktivasyonu veya inhibisyonu; kardiyovasküler, gastrointestinal ve genitoüriner semptomlara yol açabileceğine dair çalışmalar yapılan bir derlemede toplanmıştır. Nöbetlerin tipik olarak sempatik sinir sistemini aktive edeceği ve sonuç olarak kalp hızını ve kan basıncını arttıracığı bilinmektedir.

Epilepside otonom sinir sisteminin etkilenmesiyle genitoüriner semptomların oluşturmasını öngören bir derlemede ele alınan bulgulara göre, idrar semptomlarının bir nöbet döneminden önce veya sonra ortaya çıkabileceği gösterilmiştir. İdrar fonksiyon bozuklukları arasında üriner inkontinans (idrar kaçıma), genelleşmiş tonik-klonik nöbetlerde sık görülen bir semptomdur.^[18] İdrar kaçıma semptomundan evvel, normal şartlar altında su böbreklerden süzülükten sonra büyük bir kısmı tekrar geri alındığı söylenmelidir. Bu işlemi gerçekleştiren toplayıcı kanallardaki aquaporinler ihtiyaç duyulmadığı zaman hücre zarında bulunmazlar. Bunlar hücre içinde veziküllerde depolanır. Vücuttaki su miktarı azalmaya başladığı zaman beyinde sentezlenen antidiüretik hormon (ADH) kana karışarak böbreklere gelir ve toplayıcı kanallarındaki hücreleri uyarır.^[19-21] Buna göre, epilepside rolü literatürde kabul görmüş, uyarılmadan dolayı ADH miktarıyla böbrekte bulunan aquaporin kanallarına ulaşan miktarda değişiklik olabileceği ve bu kanalların epilepside ekspresyonlarının (AQP2 ve AQP4) değiştiği bu çalışmada öngörülmüş ve sonuçlar elde edilmiştir.

Transgenik fareler üzerinde yapılan çalışmalar, böbrekte suyun kontrolünde AQP2'nin önemli bir rolü olduğunu göstermiştir.^[22] AQP2^{-/-} farelerde yapılan çalışmalarda poliüriya ve büyüme geriliği görülmüştür.^[23] Farelerde yapılan başka bir çalışmada, bağlantı tübüllerinde AQP2'nin spesifik olarak silinmesi, idrar

hacminde 1,5 kat artış ve idrar ozmolaritesinde benzer bir katlanma azalması ile sonuçlanmıştır,^[24] bu sonuçlar bağlantı tübüllerindeki AQP2'nin normal idrar çıkışının korunmasında önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Su dengesi bozukluklarında AQP2 miktarındaki değişiklikler kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. AQP2'nin düzensizliğinin, kalıtsal nefrojenik diyabet insipidus (NDI), elektrolit bozukluğu, akut ve kronik böbrek yetmezliği, üreteral obstrüksiyon dahil olmak üzere, vücut-su dengesi bozukluklarıyla karakterize edilen bir dizi klinik koşul ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiştir.^[25] Kan ozmolalitesindeki artışın ve/veya kan hacminde azalmanın vazopressinin nörohipofizyal salınımını tetiklediği gösterilmiştir.^[7] Ayrıca, apikal membran boyunca hücrenin içine su girişine AQP2'nin aracılık ettiği ve suyun, orada lokalize edilmiş olan AQP3 ve/veya AQP4 aracılığıyla bazolateral membran boyunca hücrede bulunduğu belirtilmiştir. AQP4-/- farelerde yapılan çalışmada, iç medüller toplama kanal hücrelerindeki vazopressin ile uyarılan su geçirgenliğinin vahşi tip farelere göre dört kat daha düşük olması, AQP4 kanalının bazolateral membran su geçirgenliğini açıkça sağladığını göstermiştir.^[10] Buna göre, aquaporinler, böbrekte su tutulmasında önemli rol oynar. AQP2 ve AQP4, proksimal tübül tarafından su emilimi için anahtar role sahiptir. İdrar kaçırma gibi semptomların epilepside görülmesi ve bu kanalların hem epilepsideki hem böbrekteki rolü çalışmamızın önemini vurgulamaktadır.

Kir4.1 kanalının AQP2 ve/veya AQP4 kanalları ile beraber böbrekteki rolüne dair tek bir çalışma bulunmaktadır. Buna göre yapılan çalışmada, Kir4.1 kanalının bozulmasının AQP2 ekspresyonunu arttırdığını ve Kir4.1-/- farelerinin yüksek vazopressin düzeyine sahip olduğu gösterilmiştir.^[26] Dahası, Kir4.1 kanalını kodlayan KCNJ10 geni eksikliğinin, toplama kanalında AQP2 kanalı ekspresyonu artmasına neden olmuştur.^[26] Başka bir çalışmada ise, KCNJ10 geni silinmiş farelerde, normal farelere göre anlamlı derecede daha düşük idrar kreatinin konsantrasyonuna sahip olduğu gösterilmiştir.^[27] Bu çalışmalar doğrultusunda, epilepside otonom sinir sisteminin de etkilenmesi göz önüne alındığında aquaporin kanallarının böbrekte incelenmesi öngörülmüştür. Bu değerlendirmeler sonucunda, pentilenterazol modeli epilepside sıçanlarda yapılan uygulamada hem sol böbrek hem de sağ böbrekte aquaporin2 ve aquaporin4 kanallarının mRNA seviyeleri incelendiğinde, ikisinde de kontrol grubuna kıyasla "down regülasyonlar" görülmüştür. Beyinde AQP4 kanalı silinen farelerde yapılan epilepsi çalışmalarında nöbetlerin şiddetinin arttığının görülmesi; epilepsi hastalarında otonom sinir sistemi dikkate alınarak böbreklerinde bulunan AQP4 kanallarının da etkilenebileceğini öngörmektedir.

Aquaporinlerin düzenlenmesi, osmoregülasyon ve aquaporin homeostazının sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir. Aquaporinin hücrede su taşımacılığındaki önemli rolü göz önüne alındığında, çeşitli su izotoplarının, özellikle de AQP2'nin, su homeostazi ile ilişkili bozukluklarda yer alması şaşırtıcı değildir. Farklı koşullarda aquaporinleri düzenleyen tam moleküler

mekanizmalar büyük ölçüde bilinmemektedir. Çeşitli su dengesi bozukluklarını tam olarak anlamak ve tedavi etmek için gelecekteki temel tıp çalışmalarına ihtiyaç vardır. Bu kanalların daha detaylı çalışılması, epilepsiye ve diğer nörolojik bozukluklara eşlik edebilecek böbrek hastalıklarında hedef olarak belirlenebilmesine ve mekanizmanın aydınlatılmasına yardımcı olacaktır.

Teşekkür: Bu çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Birimi (6.2016/29 numaralı) tarafından desteklenmiştir.

Çıkar çatışması: Hiçbir yazarın çıkar çatışması yoktur.

Kaynaklar

1. Hauser WA, Kurland LT. The epidemiology of epilepsy in Rochester, Minnesota, 1935 through 1967. *Epilepsia* 1975;16:1–66.
2. Hesdorffer DC, Logroscino G, Benn EK, Katri N, Cascino G, Hauser WA. Estimating risk for developing epilepsy: a population-based study in Rochester, Minnesota. *Neurology* 2011;76:23–7.
3. Wei F, Yan LM, Su T, He N, Lin ZJ, Wang J, et al. Ion Channel Genes and Epilepsy: Functional Alteration, Pathogenic Potential, and Mechanism of Epilepsy. *Neurosci Bull* 2017;33:455–77.
4. Binder DK, Nagelhus EA, Ottersen OP. Aquaporin-4 and epilepsy. *Glia* 2012;60:1203–14.
5. Schwartzkroin PA, Baraban SC, Hochman DW. Osmolarity, ionic flux, and changes in brain excitability. *Epilepsy Res* 1998;32:275–85.
6. Hsu MS, Lee DJ, Binder DK. Potential role of the glial water channel aquaporin-4 in epilepsy. *Neuron Glia Biol* 2007;3:287–97.
7. Coulter DA, Steinhäuser C. Role of astrocytes in epilepsy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;5:a022434.
8. Ma TH, Gao HW, Fang XD, Yang H. Expression and function of aquaporins in peripheral nervous system. *Acta Pharmacol Sin* 2011;32:711–5.
9. Ravindran K, Powell KL, Todaro M, O'Brien TJ. The pathophysiology of cardiac dysfunction in epilepsy. *Epilepsy Res* 2016;127:19–29.
10. Motamedi M, Nikoobakht MR, Aloosh M, Ebrahimi Nasrabady S, Afshin A, et al. Peri-ictal urinary dysfunction in patients with epilepsy: a cross-sectional study. *Urol J* 2011;8:222–6.
11. Agarwal SK, Gupta A. Aquaporins: The renal water channels. *Indian J Nephrol* 2008;18:95–100.
12. Kortenoeven ML, Fenton RA. Renal aquaporins and water balance disorders. *Biochim Biophys Acta* 2014;1840:1533–49.
13. Matsuzaki T, Yaguchi T, Shimizu K, Kita A, Ishibashi K, Takata K. The distribution and function of aquaporins in the kidney: resolved and unresolved questions. *Anat Sci Int* 2017;92:187–99.
14. Abdelhadi O, Iancu D, Stanescu H, Kleta R, Bockenbauer D. EAST syndrome: Clinical, pathophysiological, and genetic aspects of mutations in KCNJ10. *Rare Dis* 2016;4:e1195043.
15. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972;32:281–94.
16. Agre P. The aquaporin water channels. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:5–13.

17. Barret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, editors. *Ganong's Review of Medical Physiology*. New York: McGraw Hill/Lange; 2010.
18. Chou CL, Ma T, Yang B, Knepper MA, Verkman AS. Fourfold reduction of water permeability in inner medullary collecting duct of aquaporin-4 knockout mice. *Am J Physiol* 1998;274:C549–54.
19. Binder DK, Oshio K, Ma T, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure threshold in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Neuroreport* 2004;15:259–62.
20. Binder DK, Yao X, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure duration in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Acta Neurochir Suppl* 2006;96:389–92.
21. Kwon TH, Frøkiær J, Nielsen S. Regulation of aquaporin-2 in the kidney: A molecular mechanism of body-water homeostasis. *Kidney Res Clin Pract* 2013;32:96–102.
22. Dunn FL, Brennan TJ, Nelson AE, Robertson GL. The role of blood osmolality and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. *J Clin Invest* 1973;52:3212–9.
23. Rojek A, Führtbauer EM, Kwon TH, Frøkiær J, Nielsen S. Severe urinary concentrating defect in renal collecting duct-selective AQP2 conditional-knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:6037–42.
24. Yang B, Zhao D, Qian L, Verkman AS. Mouse model of inducible nephrogenic diabetes insipidus produced by floxed aquaporin-2 gene deletion. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;291:F465–72.
25. Kortenoeven ML, Pedersen NB, Miller RL, Rojek A, Fenton RA. Genetic ablation of aquaporin-2 in the mouse connecting tubules results in defective renal water handling. *J Physiol* 2013;591:2205–19.
26. Su XT, Zhang C, Wang L, Gu R, Lin DH, Wang WH. Disruption of KCNJ10 (Kir4.1) stimulates the expression of ENaC in the collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2016;310:F985–93.
27. Bockenhauer D, Feather S, Stanescu HC, Bandulik S, Zdebik AA, Reichold M, et al. Epilepsy, ataxia, sensorineural deafness, tubulopathy, and KCNJ10 mutations. *N Engl J Med* 2009;360:1960–70.