



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA PENİSİLİNLE OLUŞTURULAN
EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE HEMOPRESSİNİN
ROLÜ**

DOKTORA TEZİ

Hatice AYGÜN

**Samsun
Mart-2017**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA PENİSİLİNLE OLUŞTURULAN
EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE HEMOPRESSİNİN
ROLÜ**

DOKTORA TEZİ

Hatice AYGÜN

Danışman

Prof. Dr. Erdal AĞAR

Samsun

Mart-2017

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Hatice AYGÜN tarafından Prof. Dr. Erdal AĞAR Danışmanlığında hazırlanan Sıçanlarda Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite Üzerine Hemopressinin Rolü başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından /..... /..... tarihinde yapılan sınav ile Fizyoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Erdal AĞAR,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Niyazi TAŞCI
Ordu Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Şerif DEMİR
Düzce Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Aydın HİM
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..... / /.....

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim tüm aşamasında bilgisinden sınırsızca yararlandığım, desteğini ve yakın ilgisini her zaman yanımda hissettiğim, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum tez danışmanım, değerli hocam ve Fizyoloji Anabilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Erdal Ağar'a gönülden teşekkür ederim.

Mesleki ve bilimsel açıdan çok şeyler öğrendiğim, ilgi ve desteğini her zaman hissettiğim, çalışmalarım sırasında ümit verdiği ve destek olduğu için, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Cafer Marangoz'a,

Hayata bakış açısı, hoşgörü, engin tecrübesi ve bilgisinden yararlandığım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Niyazi Taşçı'ya,

Doktora eğitimim süresince ve tez çalışmalarım sırasında bilgileri ve deneyimleriyle bana büyük katkıları olan, hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlanma imkanı sunan ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa Ayyıldız'a,

Sorgulayıcı bilimsel anlayışımın gelişmesine büyük katkısı olan, laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan Bozkurt'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Hem bilimsel titizliği öğrenmeme yardımcı olan hem de anlayışı ve hoşgörüsüyle her zaman yanımda olan hocam Sayın Doç. Dr. Aydın HİM'e teşekkür ediyorum.

Tez çalışmalarım sırasında bana yardım eden Dr. Elif Şen ve Yrd. Doç. Dr. Gökhan Arslan'a teşekkür ederim.

Anabilim dalı içerisinde her türlü desteklerini ve dostluklarını hiç esirgemeyen ve beraber çalışmaktan keyif aldığım değerli çalışma arkadaşlarım Dr. Fırat Ayçık, doktora öğr. Özge Darakcı, doktora öğr. Süleyman Emre Kocacan, doktora öğr. F. Banu Şen, yüksek lisans öğr. Çiğdem Ergün'e, doktora öğr. Ali Zaher Kamel Al Khaleel ve doktora öğr. Lubna Adil Kamil Kamil, anabilim dalı sekreterimiz Ayşe Köse'ye, personellerimiz Mehmet Özlan ve Mehmet Kanar'a teşekkür ederim.

Bana hayatım boyunca verdikleri destek ve sevgiyle yanımda olan canım babam Mustafa AYGÜN, canım annem Asiye AYGÜN' e ve sevgili AİLEM'e çok teşekkür ediyorum.

ÖZET

SIÇANLARDA PENİSİLİNLE OLUŞTURULAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE HEMOPRESSİNİN ROLÜ

Amaç: Kanabinoid sistemin CB1 reseptör aracılığıyla epileptik nöbetlerin modülasyonunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Hemopressin CB₁ kanabinoid reseptörü için tanımlanan ilk peptit ligandır. Bu amaçla sunulan çalışmada, hemopressin, CB1 reseptör agonisti ACEA ve antagonisti AM-251'in etkileşimlerinin penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine etkileri araştırıldı.

Materyal ve Metod: Deneylerde 200-240 gramlık 144 adet albino Wistar erkek sıçan kullanıldı. Penisilin (500 IU) ile epileptiform aktivite oluşturulduktan 30 dakika sonra hemopressinin 0,025; 0,075; 0,15; 0,3; 0,6; 1,2; 2,4 µg; ACEA'nın 2,5; 7,5 µg; AM-251'in 0,125 ; 0,25 µg'lık dozları intraserebraventriküler olarak enjekte edildi.

Bulgular: Hemopressinin 0,6 µg'lık dozunun en etkili ve en erken şekilde epileptiform aktiviteyi arttırdığı 0,025 µg'lık dozunun ise etkisiz olduğu belirlendi. Penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivite üzerine ACEA (7,5 µg) antikonvülsan, etki gösterirken AM-251 (0,25 µg) prokonvülsan etki gösterdi. Etkin hemopressin (0,6 µg)+etkin ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında hemopressinin prokonvülsan etkisi bloklandı. Etkin hemopressin (0,6 µg)+etkin AM-251(0,25 µg) birlikte uygulandığında prokonvülsan etki ayrı ayrı uygulanan gruplara göre daha geç ortaya çıktı. Hemopressin (0,6 µg)+AM-251(0,25 µg)+ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında ACEA (7,5 µg)'nin antikonvülsan etkisi baskılandı. Etkisiz hemopressin (0,025 µg) ve etkisiz AM-251 (0,0125 µg) birlikte uygulandığında prokonvülsan etki gösterdi. Etkisiz hemopressin (0,025 µg)+etkisiz AM-251 (0,0125 µg) etkin ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında ACEA'nın (7,5 µg) antikonvülsan etkisi baskılandı.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitenin modülasyonunda hemopressinin rolü (CB1 reseptör antagonisti olarak) için elektrofizyolojik kanıt sağlamaktadır ancak mekanizmasının açıklanabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Hemopressin; penisilin; ACEA; AM-251

Hatice AYGÜN, Doktora Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Mart-2017

ABSTRACT
THE ROLE OF HEMOPRESSIN ON PENICILLIN INDUCED
EPILEPTIFORM ACTIVITY IN RATS

Aim: Cannabinoid system plays a pivotal role in generation of epileptic seizures modulation which is mainly mediated through the cannabinoid CB₁ receptor. Hemopressin is the first peptide ligand described for the CB₁ cannabinoid receptor. For this purpose, the effects of hemopressin, CB₁ receptor agonist (ACEA) and antagonist (AM-251) and their interaction on the penicillin induced epileptiform activity were studied in this thesis.

Material and Method: In experiments, 144 male Wistar albino rats, weighing 200-240 g were used. Hemopressin, at doses of 0.025; 0.075; 0.15; 0.3; 0.6; 1.2 and 2.4 µg intracerebroventricularly (i.c.v.); ACEA, at doses of 2.5 and 7.5 (i.c.v.); AM-251, at doses of 0.125 and 0.25 µg (i.c.v) were administered 30 min after penicillin (500 IU).

Results: The 0,6 µg dose of hemopressin was the most effective to increase the epileptiform activity; 0.025 µg dose of hemopressin was the non-effective dose. ACEA (7.5 µg) showed anticonvulsant effect whereas AM-251 (0.25 µg) showed proconvulsant effect on the penicillin induced epileptiform activity. The administration of effective dose of hemopressin (0.6 µg)+effective dose of ACEA (7.5 µg) blocked the proconvulsant effect of hemopressin. The administration of effective dose of hemopressin (0.6 µg)+ effective dose of AM-251 (0.25 µg) caused delayed proconvulsant activity compared to their own effects. The administration of hemopressin (0.6 µg)+AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg) blocked the anticonvulsant action of ACEA (7.5 µg). The co-administration of non-effective dose of hemopressin (0.025 µg)+non-effective dose of AM-251 (0.0125 µg) caused proconvulsant effect. The administration of non-effective hemopressin (0.025 µg)+non-effective AM-251 (0.0125 µg)+effective ACEA (7.5 µg) blocked the anticonvulsant action of ACEA.

Conclusion: The results of the present study provide electrophysiologic evidence for the role of hemopressin (as CB₁ receptor antagonist) in modulation of epileptiform activity in the model of penicillin-induced epilepsy. Further studies are required to elucidate mechanism.

Keywords: Hemopressin; penicillin; ACEA; AM-251

Hatice AYGÜN, Ph. D. Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, March-2017

SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT 3	: 5-hidroksitriptamin 3
ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ACEA	: Araşidonyl-2- chloroethylamide hydrate
ACPA	: Arachidonylcyclopropylamide
AEA	: Anandamid
AEİ	: Antiepileptik ilaçlar
AG	: Araşidonil gliserol
AM-251	: 1-(2,4-Dichlorophenyl)-5-(4-iodophenyl)-4-methyl-N-1-piperidinyl-1Hpyrazole-3-carboxamide
AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5metil-4izoazolepropionik asit
AP	: Aksiyon potansiyeli
ATP	: Adenozin trifosfat
cAMP	: Siklik adenosin monofosfat
CB1	: Kanabinoid reseptör tip 1
CB2	: Kanabinoid reseptör tip 2
CBD	: Kanabidiol
CD	: Dairesel dikroizm
Ca⁺²	: Kalsiyum iyonu
Cl⁻	: Klor iyonu
COOH	: Karboksilik asit
CP 55940	: Kanabinoid reseptör agonisti
CPZ	: Kapazepinin
DAG	: Diaçil gliserol
DDD	: Toplam diken dalga
DGL-α	: Diaçilgliserol lipaz- α enzimi

DHP	: Dihidropiridin
dk.	: Dakika
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DSE	: Depolarizasyon kaynaklı uyarım
DSI	: Depolarizasyon kaynaklı inhibisyon
ECoG	: Elektrokortikografi
EEG	: Elektroensefalografi
EGFP	: Yeşil floresan protein
EPSP	: Eksitator postsinaptik potansiyel
ERK ½	: Fosfo hücre dışı sinyal düzenleyici kinazlar
FAAH	: Yağ asidi amid hidrolaz enzimi
GABA	: Gama amino butirik asit
GABA_A	: GABA A reseptörü
GABA_B	: GABA B reseptörü
Gi	: İnhibitör G protein
GPCR	: G-protein kenetli reseptör;
GPR55	: G protein kenetli reseptör 55;
Hp	: Hemopressin
Hz	: Hertz
ILAE	: Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği
IP3	: İnozitol trifosfat
IPSP	: İnhibitör postsinaptik potansiyel
IU	: International unit
i.k.	: İntrakortikal
i.m.	: İntramuskuler
i.p.	: İntraperitonal

i.s.v.	: İntraserebroventriküler
iGluR	: İyonotropik glutamat reseptörleri
K⁺	: Potasyum iyonu
K_{+A}	: A-tipi potasyum kanalı
K_{ATP}	: Potasyum ATPaz ile aktive olan potasyum kanalı
KCa	: Kalsiyumun aktivasyonu ile aktive olan potasyum kanalı
Kv	: Voltaj kapılı potasyum kanalı
MAP	: Mitojenle aktive olan protein kinaz
MES	: Maksimal elektroşok
mg	: Miligram
Mg⁺²	: Magnezyum iyonu
MGL	: Monoaçil gliserol lipaz
mGluR	: Metabotropik glutamat reseptörleri
ml	: Mililitre
MR	: Manyetik rezonans
ms	: Milisaniye
mtCB1R	: Mitokondriyal membranlarda CB1 reseptör
mV	: Milivolt
Na⁺	: Sodyum iyonu
nAC	: Nükleus akumbens
NAPE	: N-araşidonik fosfatidiletanolaminden
NArPE	: N- araşidonoil fosfatidiletanolamin
NE	: Norepinefrin
ng	: Nanogram
NH₂	: Amonyum
NMDA	: N-metil-D aspartat

NMDAR	: NMDA reseptörleri
nmol	: Nanomol
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
NO	: Nitrik oksit
OLDA	: TRPV1 reseptör agonisti
PDK	: Paroksizmal depolarizasyon kayması
PDS	: Paroksizmal depolarizasyon şiftini
pg	: Pikogram
PGC1α	: Peroksizom proliferatör aktive reseptör γ koaktivatör 1 α
pHMRI	: Kan oksijen seviyesine bağılı manyetik rezonans
PI3K	: Fosfatidil inositol 3 kinaz
PIP2	: Fosfatidilinositol bifosfat
PKA	: Protein kinaz A
PKC	: Protein kinaz C
PLC	: Fosfolipaz C
PLCβ1	: Fosfolipaz β 1
PMSF	: Fenilmetilsülfonil florit
PPAR	: Peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör
PSD	: Postsinaptik yoğunluk
PTZ	: Pentilentetrazol
PVNFKFLSH	: Hemopressin
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri
SEM	: Standart hata
SF	: Serum fizyolojik
SN	: Substantia nigra
THC	: Tetrahidrokanabinol

- TRP** : Geçici reseptör potansiyeli
- TRPM8** : Melastatin tip 8 TRP kanal
- TRPV1** : Vanilloid tip 1 TRP kanal
- WAG/Rij** : Wistar Albino Glaxo from Rijswijk
- µg** : Mikrogram
- µl** : Mikrolitre
- µV** : Mikrovolt



İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Beyin Korteksi.....	6
2.1.1. Beyin Korteksinin Tabakaları.....	6
2.1.2. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri.....	8
2.2. Nöbet ve Epilepsi.....	10
2.2.1. Nöbet.....	10
2.2.2. Epilepsi.....	10
2.2.3. EEG ve ECoG.....	18
2.2.4. Deneysel Epilepsi Modelleri.....	20
2.3. Kanabinoidler.....	22
2.3.1. Kanabinoid Reseptörler (CB1 ve CB2).....	23
2.3.2. Fitokanabinoidler.....	27
2.3.3. Sentetik Kanabinoidler.....	27
2.3.4. Endokanabinoidler ve Endokanabinoid Sistem.....	29
2.3.5. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri.....	32
2.3.6. Kanabinoidlerin Antikonvülsan Özelliği.....	35
2.3.7. Non-Kanabinoid Reseptör ve Kanalların Endokanabinoid Reseptörlerle Olan İlişkisi.....	39
2.4. Hemopressin.....	44
2.4.1. Hemopressinin Sistemik Uygulamasına Yanıt Veren Beyin Bölgeleri.....	45
2.4.2. Hemopressin Peptidinin N-terminal Uzantısı	45
2.4.3. Hemopressin peptidlerinin üretimi ve düzenlenmesi.....	46
2.4.4. Hemopressinin Fizyolojik Etkileri	47
3. MATERYAL VE METOT	49
3.1. Deney Hayvanları.....	49

3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri.....	49
3.3. Cerrahi İşlem.....	50
3.4. Deney Grupları.....	54
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtların Alınması ve Değerlendirilmesi.....	57
3.6. İstatistiksel Analizler.....	60
4. BULGULAR.....	61
4.1. Penisilin İle Oluşturulan Epileptiform Aktivite.....	61
4.2. Kanabinoid CB1 Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	63
4.2.1. Hemopressinin (Hp) Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	63
4.2.2. Kanabinoid CB1 Reseptör Agonisti ACEA'nın Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	70
4.2.3. Kanabinoid CB1 Reseptör Antagonisti AM-251'in Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	74
4.3. Kanabinoid Agonisti ACEA ve Antagonisti AM251 ile Hemopressin (Hp) Etkileşimlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	78
4.3.1. AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	78
4.3.2. ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	82
4.3.3. Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	86
4.3.4. Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	90
4.3.5. Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	94
4.3.6. Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	98
4.3.7. Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	102
5. TARTIŞMA.....	106
5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite.....	106

5.2. Kanabinoid CB1 Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	107
5.2.1. Hemopressinin Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	108
5.2.2. Kanabinoid CB1 Reseptör Agonisti ACEA ve Antagonisti AM-251' in Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	114
5.3. Hemopressin, Kanabinoid Agonist ve Antagonistlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	116
5.3.1. ACEA (7,5 µg) + Hemopressin (0,6 µg); Hemopressin (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	116
5.3.2. Hemopressin (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	120
5.3.3. Hemopressin (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	122
5.3.4. Kannabinoid CB1 reseptör agonist (ACEA) antagonist (AM-251) ve hemopressin Kombinasyonlarının Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	123
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	124
KAYNAKLAR.....	128
ÖZGEÇMİŞ.....	154

1. GİRİŞ

Epileptik nöbet veya konvülsiyon, beyinde bir nöron grubunun aşırı ve anormal elektriksel deşarjı sonucunda oluşan bir klinik görünümdür. Bu klinik tablo bilinç düzeyinde değişiklik, motor, duyuşal, otonomik veya psişik semptomları içeren ani ve geçici anormal olayları kapsar. Epileptik bir nöbet hayat boyunca tek nöbet olarak kalabileceği gibi tekrarlama eğilimi de gösterebilir. Epilepsi, nörobiyolojik, kognitif, psikolojik ve sosyal sorunlar doğuracak şekilde epileptik nöbet oluşturmaya kalıcı bir yatkınlık ile karakterize olan ciddi kronik nörolojik bozukluklardan birisidir (Bambal ve ark., 2011). Dünya çapında yaklaşık 50 milyon epilepsi hastası bulunduğu ve dünya nüfusunun % 2-3'ünü oluşturduğu öngörülmektedir (Zupec-Kania ve Spellman, 2009). Etiyolojisinde kafa travmaları, merkezi sinir sisteminin enfeksiyöz ve dejeneratif hastalıkları, yer kaplayan kafa içi lezyonlar, metabolik bozukluklar (hipoglisemi, hipokalsemi vs), çeşitli kimyasal maddeler ve endokrin bozukluklar sayılabilir. Epileptik hastaların yaklaşık yarısında bu nedenlerin hiçbiri gözlenmezken başka herhangi bir patolojik neden de saptanamayabilir. Epilepsi insidansı çocukluk çağında genetik kökenli patolojilerin ortaya çıkması nedeniyle ve yaşlılıkta vasküler beyin hastalıkları ve merkezi sinir sistemi tümörlerinin sıklığının artması nedeniyle en yüksek düzeydeyken, erken erişkinlikte daha düşüktür (Zupec-Kania ve Spellman, 2009). Etiyolojisi ne olursa olsun tüm epileptik nöbetlerin oluşumunda nöronal uyarılabilirlikte artış görülmektedir (Engelborgsh ve ark., 2000). Nöronlardaki artmış uyarılabilirliğin sebebi ise glutamat başta olmak üzere eksitator nörotransmitterlerin artması veya Gama amino butirik asit (GABA) başta olmak üzere inhibitör nörotransmitterlerin azalması sonucu dengenin eksitasyon yönünde değişmesi sonucu görülmektedir. Bu dengenin neden bozulduğunu araştıran çok sayıda çalışma olmasına rağmen, epilepsi etiyolojisinde rol oynayan hücreşel ve moleküler mekanizmalar halen belirsizdir (Iannotti ve ark., 2014). Epilepsinin moleküler mekanizması, elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında veri elde ederek daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek amacıyla deneysel epilepsi modelleri üzerinde çalışılmaktadır.

İnsanlar üzerinde yapılabilecek epilepsi çalışmaları etik nedenlerden ötürü sınırlı olduğundan, epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak, epileptogenezin patofizyolojisinde yer alan moleküler

mekanizmaları ortaya koymak ve tedavisine ışık tutmak amacı ile deneysel epilepsi modelleri kullanılmaktadır (Marangoz ve ark., 1997). Mevcut kullanılan antiepileptik ilaçlar, nöbetlerin kısmen kontrolünü sağlamaktadır. Bu nedenle epilepsi tedavisi için yeni antiepileptik (AEİ) ilaçların keşfedilmesi büyük önem taşımaktadır. Deneysel epilepsi modelleri kimyasal maddelerle, elektriksel uyarılarla, genetik olarak yatkın hayvanlarda ışık ve ses gibi uyarılarla oluşturulurken, herhangi bir konvülsan (epilepsi oluşturucu) madde veya uyarı vermeden genetik olarak epileptik nöbet geçiren sıçanlar da bu amaçla kullanılmaktadır (Marangoz ve ark., 1997). Deneysel çalışmalarda, insandaki epilepsi hastalığının patofizyolojik nedenini en iyi derecede yansıtan uygun modelin seçimi son derece önemlidir.

Penisilin fokal veya jeneralize epileptik nöbetler oluşturduğu bilinen konvülsan bir kimyasal maddedir. Penisilin epilepsi modeli, epilepsinin nöronal temeli hakkındaki soruları cevaplamaya yarayan ve epileptiform aktivitenin yayılmasının analizi için imkan tanıyan uygun bir modeldir. Epileptiform aktivite penisilinin kortekse verilmesi veya sistemik yoldan uygulanmasıyla oluşturulmaktadır. Deneysel penisilin epilepsi modelinde, GABA aracılı inhibisyon ve glutamata bağlı eksitasyon sonucu fokal olarak başlayıp, jeneralize nöbetle devam eden epileptiform aktivite oluşmaktadır. Penisilinin modeli epilepsi fokal olarak başlayıp yayılarak jeneralize olması nedeniyle klinikteki grand mal epilepsiye benzetilmektedir. Uyarılan epileptik odaklarda spontan interikal deşarjlar kaydedilir, ilk önce sinaptik girişlerde başlatılır, daha sonra senkron hale gelir ve yüzeyden kaydedilen interiktal elektrokortikogram (ECoG) spike (diken) dalgalarını oluştururlar (Purpura ve ark., 1972; Fisher, 1989; Lindsay ve ark., 1997; Schwartzkroin ve Mody, 1997) ve böylece deneysel penisilin epilepsi modeli klinik epilepsi vakalarıyla aynı olmamakla birlikte, temel mekanizma açısından benzerlikler taşımaktadır (Walden ve ark., 1992).

Yapılan çalışmalar, epilepsiyle ilişkili sistemlerin, reseptörlerin, peptidlerin nöbet sırasında ve sonrasında beyin hücrelerini korumak veya var olan hasarı en aza indirmek amacıyla kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Hint keneviri bitkisinin (*Cannabis sativa*)'nın majör aktif bileşeni, delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) ve türevlerinin (kanabinoidler) birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreçte önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (Pertwee, 2012; Ağar, 2015). Son yıllarda yapılan çalışmalarda epileptik nöbetlerin kontrolünde ve önlenmesinde de kanabinoid sistemin önemli rolleri

olduğu bildirilmiştir (Pacher ve ark., 2006; Katona ve Freund, 2008; Katona, 2015). Kanabinoid sistem G proteinle eşleşmiş tip 1 (CB1) ve tip 2 (CB2) kanabinoid reseptörleri ve endojen lipid ligandları (endokanabinoid) ve sentezleri ile yıkımlarında görev alan enzimlerden oluşur. CB1 reseptörü merkezi sinir sisteminde en fazla bulunan G proteinle eşleşmiş reseptördür (Herkenham ve ark., 1990; Kano ve ark., 2009). CB1 reseptörünün fizyolojik etkilerine aracılık eden nöronal devreleri çözmek için çeşitli deneysel modeller kullanılarak, CB1 reseptörüne yanıt veren beyin bölgelerinin dağılımları gösterilmiştir (Mailleux ve Vanderhaeghen, 1992; Glass ve ark., 1997; Dodd ve ark., 2013). Merkezi sinir sisteminin (MSS) CB1 reseptör dağılımlarının kortekste, hipokampus, bazal ganglionlarda, hipotalamus, talamus, orta beyinde özellikle periaquaduktal gri maddede olduğu gösterilmiştir. Eskiden sadece immün sistemde var olduğu zannedilen CB2 reseptörleri beyin sapında ve olası başka beyin bölgelerinde düşük seviyelerde bulunmuş fakat MSS rolleri henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Van ve ark., 2005; Onaivi ve ark., 2006; Dodd ve ark., 2013). Farmakolojik kanıtlar henüz gruplandırılmayan başka bir nöronal kanabinoid reseptör alt tipinin varlığını da göstermektedir (Freund ve ark., 2003).

Kanabinoid sistem üzerine yapılan çalışmalarda, kanabinoidlerin davranışsal ve nöronal etkilerini CB1 reseptör aracılığı ile gösterdiği ispatlanmıştır (Herkenham ve ark., 1990, Wilson ve Nicoll, 2001; Ohno-Shosaku ve ark., 2002; Kawamura ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda, araşidonoiletanolamin (anandamide) ve 2-araşidonoilgliserol (2-AG) gibi endokanabinoidlerin CB1 reseptör aktivasyonu yoluyla, hipokampusta nöron koruyucu etkiye neden olduğu gösterilmiştir (Romigi ve ark., 2010; Citraro ve ark., 2012). Endokanabinoidler uzamış nöronal depolarizasyon ve artmış hücre içi kalsiyum seviyelerine yanıt olarak ihtiyaç halinde membran lipidlerinden sentezlenirler ve nörotransmitter serbestlenmesinin retrograde inhibisyonunu ve nöronal uyarının kontrolünü bu sayede sağladığı bilinmektedir (Stella ve ark., 1997; Wilson ve Nicoll, 2001; Ohno-Shosaku ve ark., 2002; Kawamura ve ark., 2006). Bu olayların nöbet sırasında gerçekteleğiği bildirilmiştir (Raza ve ark., 2001). Endokanabinoidlerin CB1 reseptör bağımlı bir mekanizma ile nöbeti engellediği bilinmektedir (Wallace ve ark., 2001, 2002). CB1 reseptör antagonistlerinin nöbet eşiğinin azaltılarak epileptogenezi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2002). Daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda kanabinoid CB1 reseptör agonisti

araşidonyl-2- chloroethylamide hydrate (ACEA)' nın antikonvülsan antagonisti 1-(2,4-Dichlorophenyl)-5-(4-iodophenyl)-4-methyl-N-1-piperidinyl-1Hpyrazole-3carboxamide (AM-251)' in ise prokonvülsan etki gösterdiği bulunmuştur (Kozan ve ark., 2009, Arslan ve ark., 2013). Ayrıca temporal lob epilepsisi nedeniyle cerrahi olarak çıkarılan hipokampus bölgelerinde CB1 reseptör ve ilişkili moleküllerde down regülasyon olduğu gösterilmiştir (Lud ve ark., 2008). Birlikte değerlendirildiğinde bu bulgular CB1 reseptörlerinin konvülsif nöbetlerin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Bugüne kadar kanabinoid reseptörleri için tanımlanan endojen ligandlar membran lipidlerinden türemiştir. Hemopressin, CB1 kanabinoid reseptörü için tanımlanan ilk peptid ligandır (Heimann ve ark., 2007). Hemopressin (PVNFKFLSH) önce sıçan beyin homojenatlarından izole edilmiş ve anestezili sıçanlarda hipotansiyona neden olduğu gösterilmiştir (Rioli ve ark., 2003). Daha sonra Heimann ve ark. (2007), CB1 kanabinoid reseptör peptid ligandını tanımlamak için konformasyon-durum duyarlı antikoları kullanarak (fare beyni veya yağ dokusundan endojen peptid paneli taradıkları çalışmada) CB1 kanabinoid reseptörleri selektif olarak bağlayan bir peptid ligandı olan hemopressini keşfettiler. Scrima ve ark. (2010), nükleer manyetik rezonans spektroskopisi ve dairesel dikroizm metodu kullanarak hemopressinin CB1 reseptör ligandı olduğunu doğruladılar. Hemopressinin beslenme davranışı üzerindeki etkisini inceleyen Dodd ve ark. (2010), CB1 reseptörleri bulunmayan farelerde hemopressinin farmakolojik etkilerinin gözlenmediğini kanıtladılar. Hemopressinin CB1 kanabinoid reseptörlerine selektif olarak bağlandığı ve CB2 reseptörü de dahil olmak üzere diğer G-protein ile ilişkili reseptör ailesini etkilemediği bildirilmiştir (Heimann ve ark., 2007; Dodd ve ark., 2010). Hemopressinin kanabinoid CB1 reseptör ligandı olduğu kesin olmakla birlikte kanabinoid CB1 reseptör agonisti ya da antagonisti olduğu hala tartışmalıdır. Heimann ve ark. (2007), hemopressinin, antikor tanıma seviyesinde CB1 agonisti tarafından indüklenen artışı hafiflettiğini ve bu azalmanın CB1 reseptör antagonisti SR141716 (rimonabant) ile aynı olduğunu göstermişlerdir. Serebral iskemi / reperfüzyon fare modelinde kanabinoid agonist ve antagonistlerinin nöron koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada hemopressinin, kanabinoid reseptör agonisti ACEA'nın oluşturduğu nöron koruyucu etkiyi kısmende olsa baskıladığı görülmüştür (Ma ve ark., 2014). Hemopressinin *in vivo/in vitro* çalışmalarda kanabinoid

reseptörlerinin ters agonisti gibi görev yaptığı ve kan-beyin bariyerini geçerek hem iştahı baskıladığı hem de antinosisepsiyona neden olduğu bildirilmiştir (Dodd ve ark., 2010; Dale ve ark., 2005; Hama ve Sagen, 2011). Yapılan birkaç çalışmada da hemopressinin CB1 reseptör agonisti gibi davrandığı gösterilmiştir. Hemopressinin gastrointestinal motilite üzerine etkisinin kanabinoid reseptör agonistleriyle aynı olduğu gösterilmiştir (Li ve ark., 2016). Pan ve ark. (2014), hemopressinin doz bağımlı olarak CB1 reseptör agonistleriyle benzer antinosiseptif etki gösterdiğini buldular.

Hemopressinin CB1 reseptörünün yeni endojen peptid ligandı olduğu ve endokanabinoid sistemin çalışması veya kanabinoidlerle ilişkili hastalıkların tedavisi için peptid bazlı araştırma alanları ile terapötik ajanların gelişimi için potansiyel olabileceğini düşündürmektedir. Ancak son yıllarda hemopressinin kanabinoid CB1 reseptör sistemiyle yakın ilişkisinin bulunmasına ve epilepside kanabinoid CB1 reseptör sisteminin rol aldığı açık bir biçimde bilinmesine rağmen, hemopressinin epilepsideki rolü bugüne kadar araştırılmamıştır. Kanabinoid CB1 reseptör agonistlerinin epileptik aktiviteyi tamamen ortadan kaldırmadığı bilinmektedir (Kozan ve ark., 2009). Hemopressinin epileptik aktivite üzerine olan etkisinin ortaya çıkarılması muhtemelen epilepside kanabinoid sistemin önemini artıracaktır. Bu ayrıca CB1 reseptör agonizminin ve antagonizminin daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılmasını sağlayacaktır. Bu yüzden sunulan çalışma ile önce hemopressinin etkisi insandaki epilepsiye benzeyen penisilin modeli deneysel epilepside çalışılacak ve etkin dozu bulunacaktır. Daha sonra da hemopressinin CB1 reseptör agonisti ACEA ve antagonisti AM-251 ile etkileşiminin epileptiform aktivite üzerine olan etkisi ortaya konacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beyin Korteksi

İnsanı diğer omurgalı canlılardan ayıran en önemli yapısal özelliklerden bir tanesi olan geniş beyin korteksi (neokorteks), duyguların algılanması ve değerlendirilmesinde, bellek oluşumunda, hareketlerin planlanması ve eş güdümlü yürütülmesinde, iç dengenin korunmasında (homeostazis) en üst kontrol noktası olarak işlev görür (Shepherd, 1974). Yetişkin bir insanın beyni yaklaşık 1350-1400 gram ağırlığındadır. İnsanda beyin korteksinin alanı 2000-2200 cm², hacmi ise ortalama 600 cm³'tür (Schmidt, 1989). Memelilerin hepsinde beyin korteksi 2 mm kalınlığında bir hücre tabakası içermektedir. Genel olarak 6 tabakaya ayrılmakla birlikte birçok bölgede tabaka sayısı daha fazladır. Her milimetreküplük hacim yaklaşık 50000 nöron içermektedir (Shepherd, 1998).

2.1.1. Beyin Korteksinin Tabakaları

Korteksin dış yüzeyinden (pia mater) ak maddeye doğru sıralanan altı tabaka bulunmaktadır (Shepherd, 1998). Bu tabakaların bazıları alt tabakalara da bölünmektedir (Barr ve Kiernan 1988; Schmidt, 1989). Korteksi oluşturan altı tabaka intrauterin hayatın yaklaşık yedinci ayından itibaren ayırt edilebilir ve pia materden alta doğru şu şekilde sıralanırlar (Şekil 1), (Barr ve Kiernan, 1988):

I. Moleküler tabaka

Pia mater'in hemen altından başlayan bu tabakanın ortalama kalınlığı 250 µm kadardır. Hücreleri küçüktür ve diğer tabakalara göre daha gevşek bir düzenlenme gösterir. II, III ve IV. tabakalardaki piramidal hücrelerin dikey dendritleri ve bazı akson uçları bu tabakada sonlanır. Cajal'in horizontal hücreleri ve dağınık yıldız hücreleri de nadiren bu tabakada bulunabilir. Bu tabaka esas olarak korteksin sinaptik bir alanıdır (Marangoz, 1978; Barr ve Kiernan, 1988; Schmidt, 1989).

II. Dış granüler tabaka

Moleküler tabakaya göre daha kalın bir tabakadır ve daha yoğun hücre içerir. Hücrelerin şekli piramidal olduğundan buraya "küçük piramidal hücre tabakası" da denir. Yıldız hücreleri de çoğunlukla bu tabakadadır. Bu bölgeden çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanırlar. Aksonlar hücrelerin taban bölümlerinden

çıkarm ve genellikle V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Az da olsa bazı aksonlar beyin kabuğunu terk ederek ak maddeye geçebilirler. IV. tabakada bulunan granüler hücrelerin ve bazı piramidal hücrelerin aksonları ile geriye dönen yan dallar (recurrent collaterals) ve birleştirici lifler (asosiyasyon lifleri) bu tabakada sonlanırlar (Barr ve Kiernan, 1988).

III. Dış piramidal tabaka

Bu tabaka aslında dış granüler tabakanın devamı niteliğindedir. Bu yüzden ilk bakışta ayırt edilmesi güçtür. En önemli ayırt edici özellik bu tabakadaki piramidal hücrelerin daha büyük çaplı olmasıdır. Hücrelerin tepe (apikal) bölgeleri beyin kabuğu yüzeyine doğru yönelmiştir ve tepe (apikal) dendritleri, I. tabakanın sinaptik alanına doğru ilerler. Yatay dendritler ise aynı tabaka içinde kolonlar arasında bir uzanım gösterirler. Bu tabakanın alt kısmında bulunan hücreler talamustan gelen özgül girişleri alır. Alt tabakalardan gelen bazı aksonlar da bu tabakada sinaps yaparlar. III. tabakadan çıkan götürücü liflerin bir kısmı V. ve VI. tabakalarda sonlanırken, diğerleri korteks altı yapılara ve diğer beyin korteksi bölgelerine kadar uzanmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988)

IV. İç granüler tabaka

Bu tabaka küçük çaplı ve yoğun olarak paketlenmiş çok kutuplu hücrelerden oluşur. Bu hücrelere granül hücreleri adı verilir. Aksonları kısadır ve büyük bir çoğunlukla beyin kabuğu içinde sonlanırlar. Üst kısımlara gidenler I. ve II. tabakalarda sonlanırken, alt kısımlara doğru gidenler V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Dendritleri aynı tabakada dallanarak dağılır. Özgül talamo-kortikal getirici bağlantıların büyük bir çoğunluğu bu hücrelerin üzerinde sonlanır. Bu tabakada bulunan bir diğer hücre tipi yıldızlı hücrelerdir ve onların dendritleri de aynı tabaka içinde dallanma gösterir. Aksonları ise III. tabakaya çıkarak burada sonlanırlar. Yıldızlı hücrelerin kısa olan aksonları V. ve VI. tabakalardaki hücrelerin bu tabakaya uzattığı dendritlerle sinaps yaparlar. Beyin kabuğunun girişlerini alan esas bölgesi bu IV. tabakadır. Bu tabaka beyin kabuğunun bazı bölgelerinde iyi gelişmemiştir ve bundan dolayı bu bölgelere “agranüler korteks” adı verilmektedir (Barr ve Kiernan, 1988).

V. İç (dev) piramidal hücre tabakası

Bu tabakadaki hücreler esas olarak büyük piramidal hücrelerdir. Tabaka içindeki tüm hücreler büyük değildirler fakat en büyük piramidal hücreler (Betz’in dev piramidal hücreleri de dahil olmak üzere) bu tabakada bulunduğundan, bu bölge “dev piramidal

hücre tabakası” adıyla anılır. Büyük piramidal hücrelerin dendritik dalları I. tabakaya kadar yükselerek orada geniş bir dallanma gösterirler (Barr ve Kiernan, 1988). Hücrenin taban bölümünde çıkan uzun akson ya korteks altı merkezlere uzanır ya da aynı ve karşı taraf beyin korteksinde bulunan asosiyasyon ve komissural merkezlere gider. Omuriliğe inen liflerin önemli bir kısmı V. tabakada bulunmaktadır ve bunların büyük bir çoğunluğu medulladaki piramis bölgesinden geçer (Rapisarda ve ark., 1985; Miller, 1987; Nudo ve Masterton, 1990). Bu aksonların oluşturduğu rekurrent kollaterallar geriye doğru dönüp III, II ve I. tabakalarda sonlanırlar. V ve VI. tabakalar korteksin ana çıkış tabakalarıdır. Piramidal yolu oluşturan aksonların hücre gövdeleri daha çok bu tabakada bulunur. Bu tabakada ayrıca yıldız ve Martinotti hücreleri de bulunmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988).

VI. İğsi (fusiform) hücre tabakası

Hücrelerin iğ şeklinde olmasından dolayı bu ad verilir. Dendritler hücrenin bir veya her iki ucundan da çıkarak, hücreyi terk ettikten sonra dallanırlar. Bazıları hiç dallanmadan birinci tabakaya kadar uzanır. Diğerleri genellikle V. tabakaya geçmez. Akson çoğunlukla korteksi terk eder ve ayrılmadan önce dönücü yan dallar (recurrent collaterals) verir. Bu tabakanın içte kalan VIb kısmı ak madde ile kaynaşmış durumdadır (Marangoz, 1978). V ve VI. tabakaların filogenetik olarak yüzeysel tabakalardan daha eski oldukları kabul edilir. V ve VI. tabakalara intragranüler, I. - IV. tabakalara ise supragranüler tabakalar denir. V ve VI. tabakalar ontogenik olarak da eskidirler. Bunlar telensefalonun nöral tüpünün germinal epitelinden göç eden ilk kortikal nöroblastlardan oluşmuşlardır. II, III ve IV. tabakaları oluşturmaya yönelik nöroblastlar intragranüler tabakaların içinden geçerler (Barr ve Kiernan, 1988).

2.1.2. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri

Beyin korteksi, hücre gövdelerinin şekilsel özelliklerine, dendritlerin uzunluk ve dağılımları ile akson dallanma ve sonlanma bölgelerine göre birçok kez sınıflandırılmıştır (Colonnier, 1968; Barr ve Kiernan, 1988). En çok kabul gören sınıflandırmaya göre beyin korteksinde; yıldızsı (granüler) hücreler, iğsi (fusiform) hücreler, Martinotti hücreleri, Cajal’in horizontal hücreleri ve piramidal hücreler bulunmaktadır.

Yıldız hücreleri

Küçük gövdeli, çok kutuplu (multipolar) hücrelerdir. Dendritler hücreden ayrılır ayrılmaz dallanma yaparlar. Akson genellikle büyük bir dendritten çıkarak uzanır ve komşu hücre gövdeleri ile yüzeysel dendrit tabakalarında sonlanır. Az bir kısmı da beyin kabuğu dışındaki bölgelere uzantılar gönderirler. Bu hücrelerin bazıları eksitator, bazıları ise inhibitör etki gösterir. Eksitator olanların aksonları genellikle piramidal hücrelerin tepe dendritlerine paralel ve çok sayıda sinaps yaparak ilerlerken korteks yüzeyine dik bir seyir izlerler. Eksitator olanlar transmitter olarak daha çok nöropeptidleri (kolesistokinin, vazointestinal peptid) kullanırken, inhibitör olanlar GABA salgırlarlar (Barr ve Kiernan, 1988).

Martinotti Hücreleri

Dendritleri kısa, küçük, multipolar nöronlardır. Bu hücrelerin en önemli özelliği aksonlarının doğrudan beyin korteksi yüzeyine doğru yönelmiş olmasıdır (Barr ve Kiernan, 1988).

Cajal'ın Horizontal Hücreleri

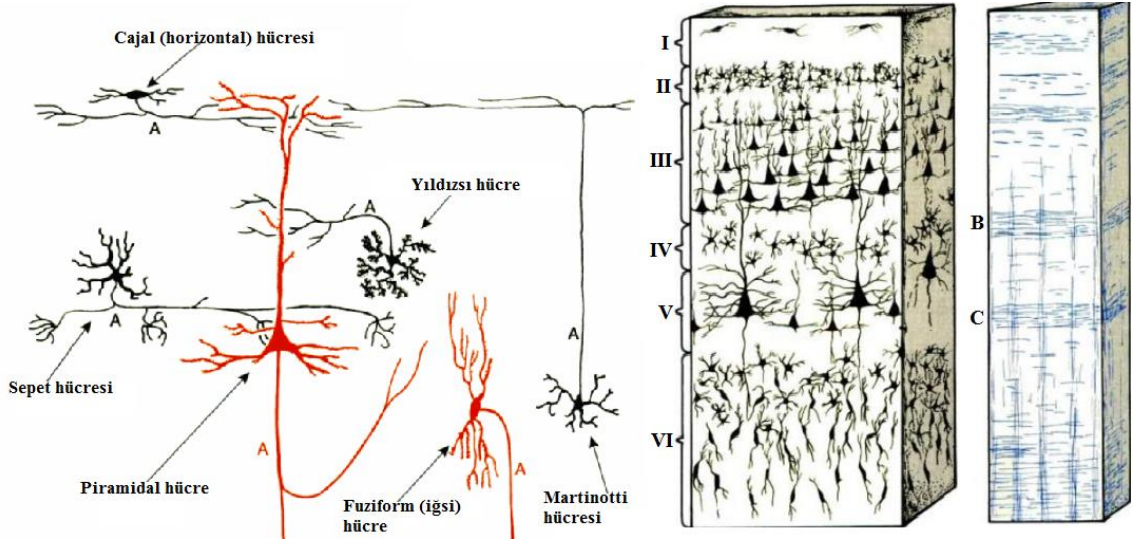
Beyin korteksinin en dış ve yüzeysel tabakasında bulunurlar ve hücrelerin aksonları beyin korteksi yüzeyine paralel olarak seyreder (Barr ve Kiernan, 1988).

Piramidal Hücreler

Korteksin esas hücreleridir. Beyin korteksinde en yaygın hücre tipidir. Piramidal hücreler moleküler tabaka (tabaka I) 'in dışında korteksin tüm tabakalarında bulunur, özellikle II, III ve V. tabakalarda daha yaygındır (Şek 1). Piramidal hücreler beyin korteksinin ana giriş ve çıkış terminalleridir. Hücre gövdeleri şekil olarak piramide benzediğinden bu isimle anılırlar. Dendritler yatay veya dikey olarak seyredebilir. Piramidal hücrelerin taban kısmı ise korteks tabanına doğrudur ve bu kısımdan hücrenin aksonu çıkar. Akson beyin ve omuriliğın değişik bölgelerine uzanabilir (Goldman ve Bennet, 2000).

Sepet Hücreleri

Beyin korteksi, serebellumun moleküler tabakası ve hipokampusta bulunan inhibitör GABAerjik ara nöronlardır (Şekil 1), (Barr ve Kiernan, 1988).



Şekil 1. Serebral korteksin hücreleri ve tabakaları (A: Akson, B: Baillarger'ın dış bantı, C: Baillarger'ın iç bantı.) (* Esas hücreler kırmızı renkle, ara nöronlar siyah renkle gösterilmiştir) (Goldman ve Bennet, 2000)

2.2. Nöbet ve Epilepsi

2.2.1. Nöbet

Epileptik nöbet (iktus), beyinde bir grup nöronun ani, beklenmedik ve geçici bir şekilde elektriksel deşarjlara yol açması ve bunun sonucunda klinik olarak bilinç, psişik, motor, duyuşal, otonom belirtilerin ortaya çıkması halidir. Primer olarak beyinin tespit edilebilen bir hasarı veya risk faktörü olmadan ortaya çıkabildiği gibi, altta yatan başka nörolojik, sistemik, metabolik, toksik veya travmatik nedenlere sekonder olarak da gelişebilir (Altay ve Bilir, 1999). Epileptik nöbet hastanın hayatı boyunca tek nöbet olarak kalabileceği gibi farklı sıklıklarda tekrarlayabilir.

2.2.2. Epilepsi

Epilepsi; nöbetlerin herhangi bir provoke eden koşul olmaksızın tekrarlaması durumuna denir (Yeni ve Karaağaç, 2005). Epilepsinin hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde 5-8/1000 arasında prevalansa sahip olduğu öngörülmektedir (Annegers, 2001). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2,9 milyon ve dünyada yaklaşık olarak 50 milyon insanın epilepsi hastalığından etkilendiği bilinmektedir (Fisher ve ark., 2005). En yüksek oranda çocukluk çağında ve yaşlılıkta gözlenirken, bunu erken erişkinlik dönemi takip etmektedir (Zupec-Kania ve Spellman, 2009). Epilepsi tüm yaş gruplarında görülebilirken çocuklarda, yaşlılarda ve sosyoekonomisi düşük olan

ülkelerde insidansının yüksek olduğu bildirilmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda epilepsi riskinin 20 yaşına kadar yaklaşık % 1, 75 yaşına kadar ise % 3 olduğu rapor edilmiştir (Balogh ve ark., 2004).

Uygulanan tedaviler semptomları gidermeye yönelik olup, hastaların yaklaşık %30'unda epileptik nöbetler ilaçlarla kontrol altına alınamamaktadır. Epilepsinin çoğu zaman belirsiz olan doğası, hastaların pek çoğunda duyumotor, bilişsel, psikolojik, psikiyatrik ve sosyal bozuklukların yanı sıra yaşam kalitesinin bozulmasına ve erken ölüm riskinin artmasına sebep olmaktadır (Fisher ve ark., 2005).

Her epileptik sendromun kendi hikâyesi, prognozu ve özel tedavilere cevabı vardır (Shneker ve Fountain, 2003). Bu farklılıklar dikkate alındığında yalnızca nöbet tipi ve elektroensefalografi (EEG) ile oluşturulan nöbet sınıflamasının yetersiz kaldığı düşünülmüştür. 2010 yılında Elektroklinik Sendromlar ve Diğer Epilepsiler adı altında epileptik sendromların sınıflaması yeniden düzenlenmiştir (Berg ve ark., 2010), (Tablo 1).

Tablo 1. Epilepsi ve epileptik sendromların sınıflaması (ILAE, 2010)

Başlangıç yaşına göre sıralanmış elektroklinik sendromlar
Yenidoğan dönemi
*İyi huylu ailesel yenidoğan epilepsisi
*Erken miyoklonik ensefalopati
*Ohtahara sendromu
Süt çocukluğu
*Süt çocuğunun yer değiştiren fokal nöbetli epilepsisi
*West sendromu
*Süt çocuğunun miyoklonik epilepsisi
*İyi huylu süt çocukluğu epilepsisi
*Dravet sendromu
*İlerleyici olmayan hastalıklardaki miyoklonik ensefalopati
Çocukluk çağı
*Febril nöbet (süt çocukluğu döneminde başlayabilir)
*Panayiotopoulos sendromu
*Miyoklonik atonik (önceden astatik) nöbetli epilepsi
*Çocukluk çağının iyi huylu santrotemporal dikenli epilepsisi
*Otozomal dominant nokturnal frontal lob epilepsisi
*Geç bağılangıçlı çocukluk çağı oksipital epilepsisi (Gastaut sendromu)
*Miyoklonik absanslı epilepsi
*Lennox-Gastaut Sendromu

*Uykuda sürekli diken dalgalı epileptik ensefalopati

*Landau-Kleffner Sendromu

*Çocukluk çağı absans epilepsisi

Ergenlik çağı- Erişkinlik

*Juvenil absans epilepsisi

*Juvenil miyoklonik epilepsi

*Sadece jeneralize tonik klonik nöbetler olan epilepsi

*Progresif miyoklonik epilepsiler

*İşitsel özellikleri olan otozomal dominant epilepsi

*Diğer ailevi temporal lob epilepsileri

Yaşla ilişkisi daha az olan

*Değişken odaklı ailesel fokal epilepsiler

*Refleks epilepsiler

Karakteristik özellik kümeleri

*Hipokampal sklerozlu mezyal temporal lob epilepsisi

*Rasmussen sendromu

*Hipotalamik hamartomlu jelastik nöbetler

*Hemikonvüziyon-hemipleji-epilepsi

Yapısal- metabolik nedenlere bağlı epilepsiler

*Kortikal gelişim anormallikleri

*Nörokütanöz sendromlar

*Tümör

*Enfeksiyon

*Travma

*Anjiyoma

*Perinatal hasarlanma

*İnme

Nedeni bilinmeyen epilepsiler

Geleneksel olarak epilepsinin bir formu olarak kabul edilmeyen epileptik nöbet durumları

*Yenidoğanın iyi huylu nöbetleri

*Febril nöbetler

Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği'nin (Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği, ILAE) 1981 yılında yayınladığı sınıflandırma sistemine göre epileptik nöbetler parsiyel (fokal), jeneralize ve sınıflandırılmayan olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır:

1) Parsiyel (fokal) nöbetler: ‘Nöbet odağı’ adı verilen beynin belli bir bölgesinden kaynaklanırlar.

A) Basit parsiyel nöbetler: Bilinç durumu bozulmaz.

- a. Motor semptomlu
- b. Somatosensoriyal veya özel duyuşsal semptomlu
- c. Otonomik semptomlu
- d. Psişik semptomlu

B) Kompleks parsiyel nöbetler: Bilinç bozukluğu ile ortaya çıkar.

- a. Basit parsiyel başlangıcı izleyen bilinç bozukluğu
- b. Bilinç durumunun başlangıçtan itibaren bozulması

C) Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler

2) Jeneralize nöbetler: Nöbetin başlangıcından itibaren her iki beyin hemisferi de etkilenmiştir, sıklıkla tonik-klonik konvulsiyonlarla karakterize nöbetlerdir.

A) Absans nöbetler (Petit-mal) (tipik ve atipik)

B) Tonik-klonik nöbetler (Grand-mal)

C) Klonik nöbetler

D) Tonik nöbetler

E) Myoklonik nöbetler

F) Atonik nöbetler (astatik)

3) Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler

Hastaların pek çoğunda nöbetin başlangıcında koku veya ses ya da ani ruh hali değişimleri oluşur. Aura olarak bilinen ve genellikle kısa olan bu duyum nöbetin kaynaklandığı yerde veya yakınında paroksizmal nöronal bir ateşlemeyi ifade eder. Aura, nöbetin hastanın hatırladığı tek bölümü olabilir. Devamında gelen iktal dönem nöbet anını ifade eder. İktal dönem, nöbetin özel türüyle ilgili olarak anormal EEG yapılarıyla ortaya çıkar. Hemen nöbetin ardından gelen dönem postiktal dönem olarak bilinir. Bu dönemde EEG normale dönmüştür. İnteriktal dönem; nöbetler arasındaki zamandır. İnteriktal dönemde hastalarda nöbet oluşmamasına rağmen, EEG'de yine de bir miktar paroksizmal aktivite görülebilir.

Epileptik tek nöbet aktivitesinin 30 dakikadan daha uzun sürmesi veya iki ve daha fazla nöbetin aralarında hasta bilinci açılmadan seriler halinde gelmesine “status epileptikus” adı verilir. Yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sahiptir. Konvülfif

status epileptikusta statusun nöbet tipine (tonik, klonik veya myoklonik) göre kasılmalara ilave olarak taşikardi, hiperpne, midriyasis ve hipersekresyon gibi önemli otonomik belirtiler vardır. Nöbet devam edecek olursa hastada ateş, hipotansiyon, asidoz ve solunum depresyonu görülebilir (Okan, 2004).

Epilepside Etyolojik Faktörler

Epilepsinin etyolojisinde birçok faktör rol oynamakla birlikte bazen altta herhangi bir neden olmamasına rağmen nöbet görülmektedir. Epilepsinin etyolojisinde rol oynayan bazı faktörler;

a. Kalıtım: Kalıtımın epileptik nöbete etkisi olduğu kesin olmamakla beraber, genetik bir yatkınlığın varlığını düşündüren kanıtlar vardır. İkizler üzerinde yapılan araştırmalarda tek yumurta ikizlerindeki epilepsi olasılığının, çift yumurta ikizlerine göre üç kat daha fazla olduğu görülmüştür. Kalıtım, idiyopatik epilepsi için önemli bir belirleyicidir (Gardineer, 1996).

b. Konjenital bozukluklar: Girus anomalileri (makrogiri, mikrogiri, polimikrogiri), korpus kallosum agenezisi, heterotopi (kortikal disgenezis)

c. Enfeksiyonlar: İntrauterin enfeksiyonlar, her yaşta geçirilen menenjit ve ensefalitler, kronik ve ağır otitis media, mastoidit vs. (Fisher ve Saul, 2010).

d. Metabolik bozukluklar: Hipoglisemi, hiperglisemi, hipokalsemi, hiponatremi veya diğer elektrolit bozuklukları. Kronik böbrek yetmezliği, hepatik ensefalopati (Apak,1989; Oun ve ark., 2003).

e. Sistemik hastalıklar : Malign hipertansiyon, kollagen doku hastalıkları, kalp ve merkezi sinir sisteminden kaynaklanan hastalıklar, eklampsi, alkol yoksunluğu, santral sinir sistemde inhibisyon yapan maddelerin (alkol, morfin, hipnotik ilaçlar vs.) ve antiepileptik ilaçların aniden kesilmesi, yüksek doz fenotiazin kullanımı epileptik nöbetlerin oluşumunu tetiklemektedir (Oun ve ark., 2003).

Epilepsinin Patofizyolojisi

Epileptogenezden sorumlu hücrel mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemektedir. Farklı nöbet tiplerinde farklı hücrel mekanizmalar rol alabilmekle birlikte, tüm nöbetlerde artmış nöronal uyarılabilirlik ve senkronite söz konusudur. Anormal hücre deşarjı; travma, oksijen yoksunluğu, tümör, enfeksiyon, metabolik bozukluklar gibi nedensel faktörlerle ilişkili olabilir. Bununla birlikte epilepsi hastalarının yaklaşık yarısında açıklanmış herhangi bir faktör yoktur (Engelborgsh ve

ark., 2000). Nöronlardaki artmış uyarılabilirliğin sebebi ise eksitator nörotransmitterlerin artması veya inhibitör nörotransmitterlerin azalması sonucu dengenin eksitasyon yönünde değişmesi, voltaj kapılı iyon kanalı değişimleri, eksitasyondan sorumlu iyonların ekstrasellüler ya da intrasellüler dağılımındaki değişimlerdir (Reem Al Qdah, 2009). Anormal ateşlenme özelliğine sahip hücreler etraflarındaki hücreleri de uyararak ateşlenmeye ortak ederler.

Glutamat

Beynin temel uyarıcı nörotransmitteridir (Moldric ve ark., 2003). Glutamat reseptörleri iyonotropik olarak N-metil-D aspartat (NMDA), α -amino-3-hidroksi-5metil-4izoozolepropionik asit (AMPA), kainate üzerinden sodyum (Na^+) ve kalsiyum (Ca^{+2}) kanallarını modüle ederek hızlı sinaptik iletiden, metabotropik olarak inositol ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) ikincil habercileri üzerinden yavaş sinaptik iletiden sorumludur (Reem Al Qdah, 2009). Hem iyonotropik hem de metabotropik postsinaptik glutamat reseptörlerinin aktivasyonunun konvulsiyonlara neden olduğu bildirilmiştir (Reem Al Qdah, 2009). Yapılan çeşitli hayvan deneyi çalışmalarında NMDA reseptörlerinin uyarılmasının güçlü konvülzan, inhibe edilmesinin ise antikonvülzan etki oluşturduğu kanıtlanmıştır (Hwa ve Avoli, 1992; Louvel ve Pumain, 1992). Epileptik hastalarda ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda glutamat ve aspartat düzeylerinde artış gözlemlenmiştir (Alexsander ve Godwin, 2006). Metabotropik glutamat reseptörleri de epileptogenez oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır (Chapman,1998).

GABA

GABA; merkezi sinir sisteminin temel inhibitör nörotransmitteridir. Pre ve postsinaptik nöronal plazma membranındaki spesifik reseptörlerine GABA-A ve GABA-B reseptörüne (GABA_A ve GABA_B) bağlanarak etki gösterir. GABA_A presinaptik olarak Cl^- kanalı aracılığıyla, GABA_B postsinaptik olarak potasyum (K^+) aracılığıyla etki eder (Reem Al Qdah, 2009). GABA'nın GABA_A reseptörüne bağlanmasıyla iyon kanalları açılır, klor (Cl^-) hücre içerisine girer ve presinaptik inhibisyon başlar. GABA'nın GABA_B reseptörüne bağlanmasıyla birlikte K^+ akımı artar Ca^{+2} akımı azalır ve postsinaptik inhibisyon başlar (Wallace ve ark., 2003). Sonuç olarak GABAerjik inhibitör postsinaptik potansiyel (IPSP) oluşumu sağlanmış olur. Beynin serebellum, hipokampus, talamus gibi belli bölgelerinde GABA'nın çok

düşük konsantrasyonları bile GABA_A reseptör aracılığıyla membran iletimini hemen başlatabilir (Cope ve ark., 2005; Jia ve ark., 2005; Belelli ve ark., 2005). Substantia nigra (SN)'da GABA metabolizmasının azalmasının status epileptikus oluşumuna sebep olduğu ve GABA agonistlerinin antiepileptik etki gösterdiği yapılan birçok çalışmada kanıtlanmıştır (Wasterlain ve ark., 1993).

İyon Kanalları

İyon kanalları Na⁺, K⁺, Ca⁺² veya Cl⁻ iyonlarının selektif geçişini sağlayan özelleşmiş membran proteinleridir. Merkezi sinir sisteminde uyarılabilirliğin temelini oluştururlar. Aksonal iletimden sorumlu aksiyon potansiyeli (AP) oluşumu ve hücrelerarası sinyal iletiminden sorumlu sinaptik transmisyon bu kanalların aktivitesi ile sağlanır. Voltaj kapılı Na⁺ kanalları AP'nin başlatılması için önemlidir, patolojik durumlarda tekrarlayan AP oluşumuna yol açar. Ca⁺² kanalları nörotransmitter salınımı ve depolarizasyonun başlatılmasında rol alır. K⁺ kanalları AP sonlandırılması ve refrakter periyodun devamından, Cl⁻ kanalları da hiperpolarizasyondan ve istirahat membran potansiyelinden sorumludur. Bu kanalların yapısındaki veya çalışmasındaki herhangi bir defekt beynin uyarılabilirliğini büyük ölçüde değiştirebilir, anormal iletimlere ve sonuç olarak epileptik nöbet oluşumuna yol açabilir.

Tablo 2. Normalde ve epileptik durumda iyon kanallarının rolleri (Reem Al Qdah, 2009)

Kanal veya reseptör	Nöronal fonksiyonu	Epilepsideki olası rolü
Voltaj kapılı Na ⁺ kanalı	EPSP, AP başlaması	Tekrarlanan AP ateşlemesi
Voltaj kapılı K ⁺ kanalı	AP durması	Anormal AP, repolarizasyon
Ca ⁺² bağımlı K ⁺ kanalı	AP takiben refrakter periyod	Ateşlemenin tekrarlamasını sınırlandırır
Voltaj kapılı Ca ⁺² kanalı	Transmitter salınımı: Dentritten somayadepolarizasyonun taşınması	Aşırı transmitter salınımı: patofizyolojik intrasellüler süreci aktive eder
Non-NMDA reseptör (AMPA)	Hızlı EPSP	Paroksizmal depolarizasyon şiftini (PDS) başlatır
NMDA reseptör	Uzun süreli, yavaş EPSP	PDS'yi devam ettirir: patofizyolojik süreçte Ca ⁺² aktive eder
GABA _A reseptörü	IPS	Uyarımı sınırlandırır
GABA _B reseptörü	Uzamiş IPSP	Uyarımı sınırlandırır
Na ⁺ - K ⁺ Pompası	İyonik dengenin sağlanması	K ⁺ indüklenen depolarizasyonu önler

Epilepsinin Tanısı ve Tedavisi

Hastalığın tanısı için nöbetin gözlenmesi ve bu gözlemlerin doktora aktarılması çok değerlidir. Geçirilmiş bir atağın epilepsi olup olmadığına karar vermek için hastanın veya o atağa şahit olan kişinin gözlemlerini nöroloji hekimine doğru şekilde aktarabilmesi çok önemlidir. Epilepsi hastalarının tanısında en önemli belirleyici EEG (Elektroensefalografi) ve beyin görüntüleme (manyetik rezonans-MR) tetkikleridir. EEG’de gözlemlenen hem iktal hemde interiktal anormallikler, epileptik nöbetlerin ayırıcı tanısında kullanılır (Baykan ve ark., 2004).

Epilepsi tedavisinde ilk basamak, tanının doğru konması ve ilaç gereksiniminin olup olmadığının belirlenmesidir. Nöbeti takiben antiepileptik ilaç (AEİ) seçimi ve devam etme konusundaki kararlar kolay anlaşılır değildir ve net bir rehber bulunmamaktadır. AEİ’lerin nöbetleri tamamen ortadan kaldırmadığı, ancak semptomları ve nöbet sıklığını azalttığı bilinmektedir. Tedavi yönetiminin önceliği, altta yatan patolojinin tedavisidir. AEİ’lerin geçici kullanımı, altta yatan etyoloji hala aktif iken atakları bastırmaya yardımcı olur, ayrıca bunun epilepsi gelişimi riskini azalttığı yönünde az da olsa kanıtlar da mevcuttur (Yeni ve Gürses, 2015)

Epileptik nöbetlerde tedaviye başlama kararı verirken başlıca nöbet riskini artıran nedenler göz önünde bulundurulmalı ve nöbetler tetiklenen (akut semptomatik) veya tetiklenmeyen olarak iki gruba ayrılmalıdır. On üç çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analizde, tetiklenmeyen ilk nöbet sonrasında, ikinci nöbetin tekrarlama riski, yaklaşık iki yıllık bir sürede prospektif çalışmalarda %36, retrospektif çalışmalarda %47 oranında saptanmıştır. Tedaviye başlanırken, antiepileptik ilaçların farmakolojik (idiyosenkratik ve akut yan etkileri, uzun kullanımda nöropati, osteoporoz ve kognitif yan etkiler, doğum çağındaki kadınlarda teratojenite riski) ve psikolojik (sosyal yaşamda kısıtlamalar) yan etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Çalışmalarda, başlanan antiepileptik tedavinin (fenitoin, fenobarbital, karbamazepin, valproik asit, lamotrijin) görülebilecek yan etkileri (%7-31 arasında değişir) hafif ve geri dönüşlü olduğu bildirilmiştir. Genç yaşlardaki bireylerde nöbet önlemek önemlidir. Çünkü gelişebilecek ikinci nöbet sonrası sosyal ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilmekte ve iş imkanında zorluklar yaşanabilmektedir. Tedaviye başlama durumunda, hasta karar sürecinde yer almalıdır (Yeni ve Gürses, 2015).

2.2.3. EEG ve ECoG

Anestezi altında olmayan hayvanlarda beynin zemin elektriksel aktivitesi ilk kez 19. yüzyılda, Alman psikiyatrist Hans Berger tarafından sistemli şekilde analiz edilmiştir. Bu şekilde beyindeki potansiyel değişikliklerin kaydedilmesi işlemine EEG adı verilmiştir. EEG kayıtları kafatası açılmadan kafa derisi üzerine yerleştirilmiş elektrotlar yoluyla alınır. Elektrotların korteksin pia yüzüne konulmasıyla elde edilen kayıtlara ise ECoG adı verilir (Baret ve ark., 2011). EEG üzerindeki her bir çizgi veya kanal, bir çift elektrodun altında kalan serebral korteks alanları arasında zaman içinde ölçülen potansiyel farkını yansıtmaktadır. Potansiyellerin amplitüdü (genliği) senkron şekilde ateşlenen nöronların sayısını göstermektedir. Potansiyellerin süresi ise ritm frekansı ile gösterilir, birim zamandaki pozitif veya negatif defleksiyon sayısını ifade eder.

Beyin dalgaları, eksitator ve inhibitör postsinaptik potansiyellerin cebirsel toplamı sonucu elde edilen sinaptik aktiviteyi ifade eder. Frekans ve amplitüdüne göre EEG de başlıca 5 tip dalga ayırt edilir (Pfurtscheller ve ark., 1999; Cahn ve Polich, 2006). Bunlar düşük frekanslıdan yüksek frekanslıya doğru delta, teta, alfa, beta ve gama dalgalarıdır.

Delta Dalgası

Frekansı en fazla saniyede 4'e kadar olan yüksek amplitüdü, yavaş dalgalarıdır. Yetişkinlerde frontal lobda, çocuklarda korteksin posterior bölgesinde gözlemlenir. Bebeklik çağındaki baskın dalga tipidir. Erişkinlerde yavaş dalga uykusu esnasında (Non-REM 3-4) görülür. Bunun dışında erişkinde gözlenmesi metabolik ensefalopati, hidrosefali, derin orta hat lezyonları gibi ciddi organik beyin hastalıklarına bağlı olmaktadır. Yine genel anestezi ve stuporda da gözlemlenebilmektedir.

Teta Dalgası

Saniyede 4- 7 arası frekansa sahip, yüksek amplitüdü dalgalarıdır. Çocuklarda pariyetal ve temporal bölgelerde gözlemlenir. Yetişkinlerde uyusukluk, uykunun Non-REM 2-3 fazlarında ortaya çıkar. Rüya görme ile ilişkili bulunmuştur. Erişkinlerde uyanırken görülmesi patolojiktir, ciddi organik beyin lezyonlarını düşündürür.

Alfa Dalgası

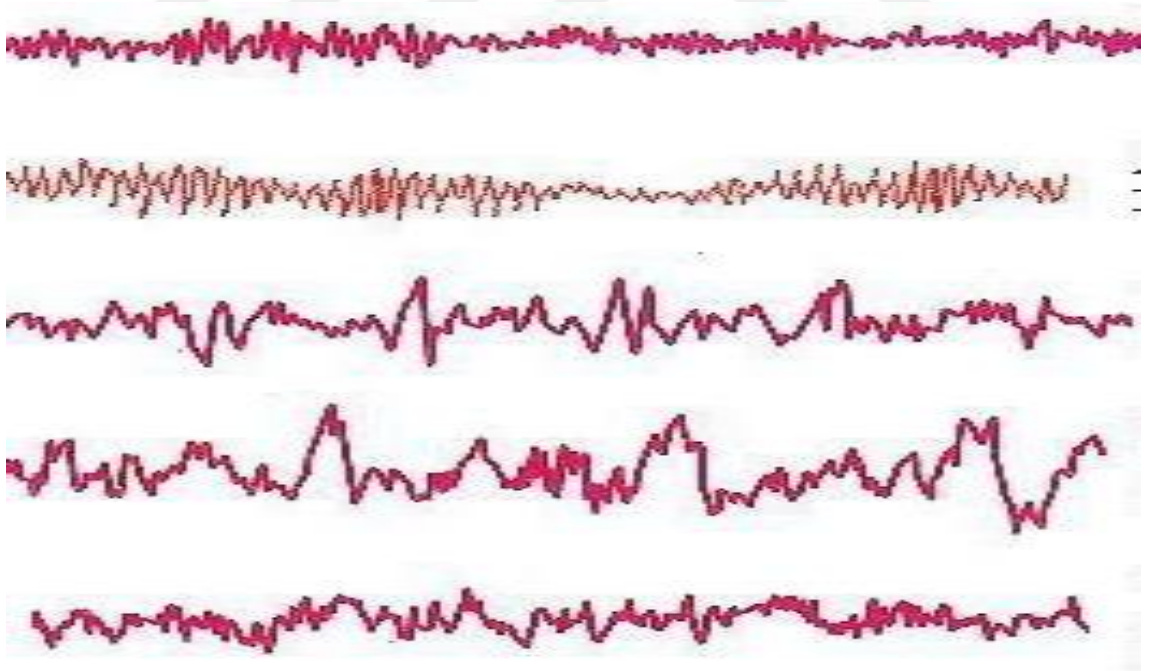
Saniyede 8 -12 arası frekansa sahip yüksek amplitüdü dalgalarıdır. Oksipital bölgede en güçlü olmakla birlikte parietal ve frontal bölgede de gözlenirler. Dinlenme durumunda ve düşünme esnasında gözler kapalıyken görülür. Gözler açıldığında, duyuşsal uyarılar alındığında zihin bir problemle meşgul olduğunda veya derin uykuya geçildiğinde kaybolur. Patolojik olarak koma durumunda görülür.

Beta Dalgası

Saniyede 12-60 arası frekansa sahip düşük amplitüdü (10-20 mikrovolt- μ V) dalgalarıdır. Her iki tarafta da simetrik dağılım vardır, en belirgin frontal bölgede görülür. Çoklu ve değişik frekanslara sahiptir. Dikkat odaklanması, zihinsel iş, endişeli durumlar, hızlı göz hareketleri esnasında ortaya çıkar.

Gama Dalgası

Saniyede 30-100 arası frekansa sahiptir. Somatosensoryel kortekste görülür. Ses, görme gibi farklı duyuların birlikte algılandığı ve bilgilerin kısa süreli hafızaya atıldığı durumlarda görülür. Stres, anksiyete ve depresyonda ortadan kalkar. Yüksek entellektüel düşünce ile alakalı bulunmuştur.



Şekil 2. Sırasıyla beta, alfa, teta, delta, gama dalgaları (Erkan, 2009)

2.2.4. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsi; en yaygın nörolojik hastalıklardan biridir. Herhangi bir epileptik gösterinin merkezi sinir sistemiyle ilgili olduğu Hipokrat'tan beri bilinmektedir. Ancak bu hastalığın sinir sistemi gibi karmaşık ve araştırılması güç bir sistemin hastalığı olması, hastalığın medikal yönde incelenmesini daha da zorlaştırmaktadır (Yeni ve Karaağaç, 2005). Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirebilmek için deneysel modeller üzerinde çalışılır. Çünkü insan beyninde hücre içi kayıtlar, mikrokimyasal analizler yapmak etik açıdan mümkün değildir. Bu sebeple antiepileptik ilaçların geliştirilmesi ve hastalığın temelinde yatan mekanizmaların aydınlatılabilmesi için uygun deneysel epilepsi modellerine ihtiyaç vardır.

İyi bir epilepsi modeli şu özelliklere sahip olmalıdır;

1-Spontan olarak tekrarlayan nöbetler olmalıdır.

2-Nöbetler insan epilepsisine benzer olmalıdır.

3-Modeldeki EEG'nin biçimi ilgili epilepsi çeşidindekine benzemelidir.

4-Nöbetlerin frekansı ilaçların etkisini akut ve kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır.

5-Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandaki ile aynı olmalıdır.

6-Antiepileptik ilaçların etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri insanda ilgili nöbeti önleyebilen seviyedeki gibi olmalıdır (Marangoz, 1997).

Basit Parsiyel Epilepsinin Modelleri

Bu gruptaki modellerin, insanda travmatik durumlar veya hematom sonucu görülen epileptik deşarjlarla aynı temel mekanizmaya sahip olduğu kabul edilmektedir.

a) İnhibitör amino asit blokerlerinin lokal ya da bölgesel olarak uygulanması: Penisilin (Walker ve ark., 1946), bikukullin (Campbell ve Holmes, 1984), pikrotoksin (Usunoff ve ark., 1969), striknin (Fisher, 1989)

b) Akut odaksal elektriksel uyarım (Fisher, 1989)

c) GABA'nın baskılanması (Brailowsky ve ark., 1987; Brailowsky ve ark., 1988)

d) Neokorteks ve hipokampus dilimleri (Schwartzkroin ve ark., 1983; McCormick ve ark., 1985)

e) Eksitator (glutamat agonistleri; kainat, domoik asit, quisqualat, NMDA, asetilkolin agonistleri, lityum pilokarpin) ajanların bölgesel veya odaksal olarak uygulanması (Pitkänen ve ark., 2006)

f) Sıcaklık (temperature) modeli (Hanna ve Stalmaster, 1973)

g) Sistemik fokal model: Beyin dokusunun bir bölümüne ışınım verilmesi yoluyla oluşturulabilir (Remler ve Marcussen, 1986).

Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri

Kompleks parsiyel nöbetler genel olarak amigdaller, hipokampus, temporal neokorteks gibi yapıları kapsayan limbik lobdan kaynaklanır.

a) Kainik asit modeli (Faingold ve Browning, 1987)

b) Tetanos toksini modeli (Carrea ve Lanari, 1962)

c) Tutuşma (kindling) modeli (Alonso-Deflorida ve Delgado, 1958)

d) Sistemik pilokarpin veya soman uygulanımı (Garcia ve ark., 2010).

Petit Mal Epilepsi Modelleri

a) Talamusun uyarılması (Hunter ve Jasper, 1949)

b) Absans modellerinden düşük doz pentilentetrazol (PTZ) modeli (Onat, 2008)

c) Sistemik penisilin modeli (Prince ve Farrell, 1969)

d) Gama-Hidroksi Bütirat Modeli (Snead, 1988)

e) Opioid peptid modeli (Snead ve Bearden, 1980)

f) Genetik model: Wistar ve Sprague-Dawley sıçanların absans benzeri nöbet geçirenlerin inbred eşleştirilmesi sonucu oluşturulan Wistar Albino Glaxo from Rijswijk (WAG/Rij) sıçanlar (Coenen ve Van Luijtelaar, 1987).

Grand Mal (Jeneralize Tonik Klonik) Epilepsi Modelleri

a) Genetik Modeller: Işığa duyarlı babun modeli (Meldrum, 1984); Farelerde sesle oluşturulan (odyojenik) epilepsi modeli (Fisher, 1989); Paytak fare modeli (Seyfried ve Glaser, 1985); Epileptik fare (E1) modeli (Suzuki, 1976); Genetik olarak epilepsiye yatkın sıçan modeli (Fisher, 1989); Tek gen mutasyonları ile oluşturulan fare modelleri (letharjik, stargezer, tottering, leaner, mocha, ducky) (Fisher, 1989).

b) Maksimal elektroşok (MES) modeli (Fisher, 1989)

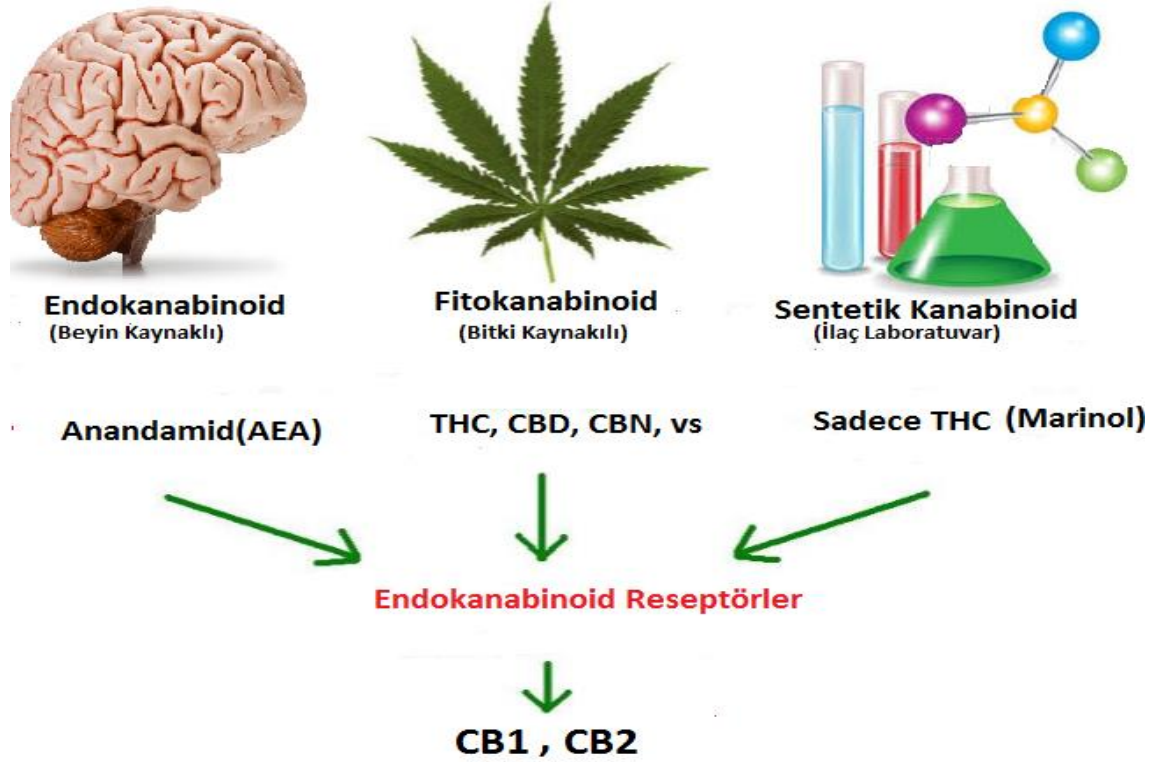
c) Sistemik konvulsanlarla oluşturulan modeller: Pentilentetrazol, penisilin (Bo ve ark., 1984; Kozan ve ark., 2008), Glutamik asit dekarboksilaz inhibitörleri

(tiosemikarbazid, 3-merkaptopropionik asit, alliglisin) ve diğerk ajanlar (flurotil, oubain, risinin), (Fisher, 1989)

2.3. Kanabinoidler

Hint keneviri bitkisinin (*Cannabis sativa*) fizyolojik ve psikolojik etkileri eski çağlardan beri bilinmektedir. Tedavi edici özelliklerine Çin Farmakolojisinde milattan önce yaklaşık 200'lü yıllarda değinilmesine rağmen, esrar kökenli kimyasal etken maddelerin (kanabinoidlerin) yapılarının ve farmakolojik etki mekanizmalarının aydınlatılmasına özellikle son 100 yılı kapsayan zaman diliminde yapılan yoğun çalışmalar ışık tutmuştur.

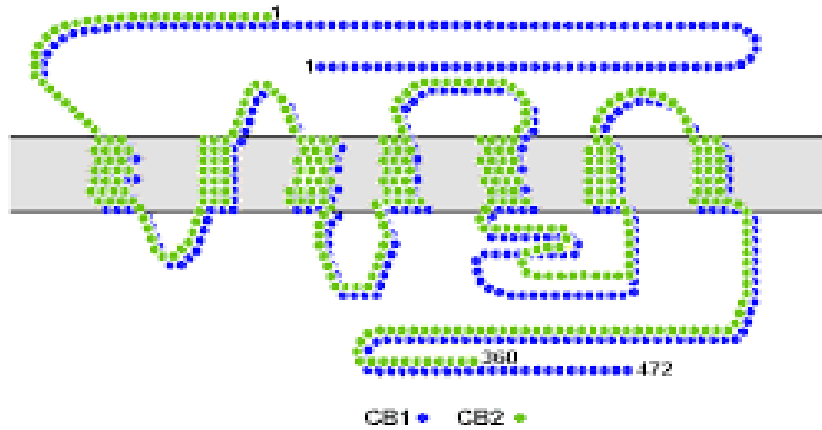
Esrarla ilgili araştırmalar, bitkisel kaynaklı kimyasal etken maddelerin yani fitokanabinoidlerin izolasyonları ve kimyasal yapılarının aydınlatılmasıyla başlamıştır. 1988 yılında esrarın ana etken maddelerinden olan tetrahidrokanabinol'ün (Gaoni ve Mechoulam, 1971) sıçan beyinde bir bağlanma bölgesinin olduğunun keşfedilmesi (Devane ve ark., 1988), beyindeki muhtemel bir reseptör proteininin varlığını işaret etmiştir ve bunu takiben 1990' larda fare beyinde ilk kanabinoid reseptörü olan CB1 klonlanmıştır (Felder ve ark., 1992; Matsuda ve ark., 1990). Üç yıl sonra da bağışıklık sisteminde CB2 reseptörleri klonlanmıştır (Munro ve ark, 1993). Bu bulgular ışığında THC'nin etki mekanizması ve beyin türevli kanabinoid reseptörler araştırmaya başlanılmıştır. Bu reseptör proteinleri endokanabinoidler (insan ve hayvanlarda doğal olarak üretilirler), fitokanabinoidler (kanabis ve diğerk bitki çeşitlerinde bulunur) ve sentetik kanabinoidler (kimyasal olarak üretilirler) olarak sınıflandırılırlar (Şekil 3).



Şekil 3. CB1 ve CB2 reseptörü ve bu reseptöre bağlanan kanabinoidler (Ross, 2007)

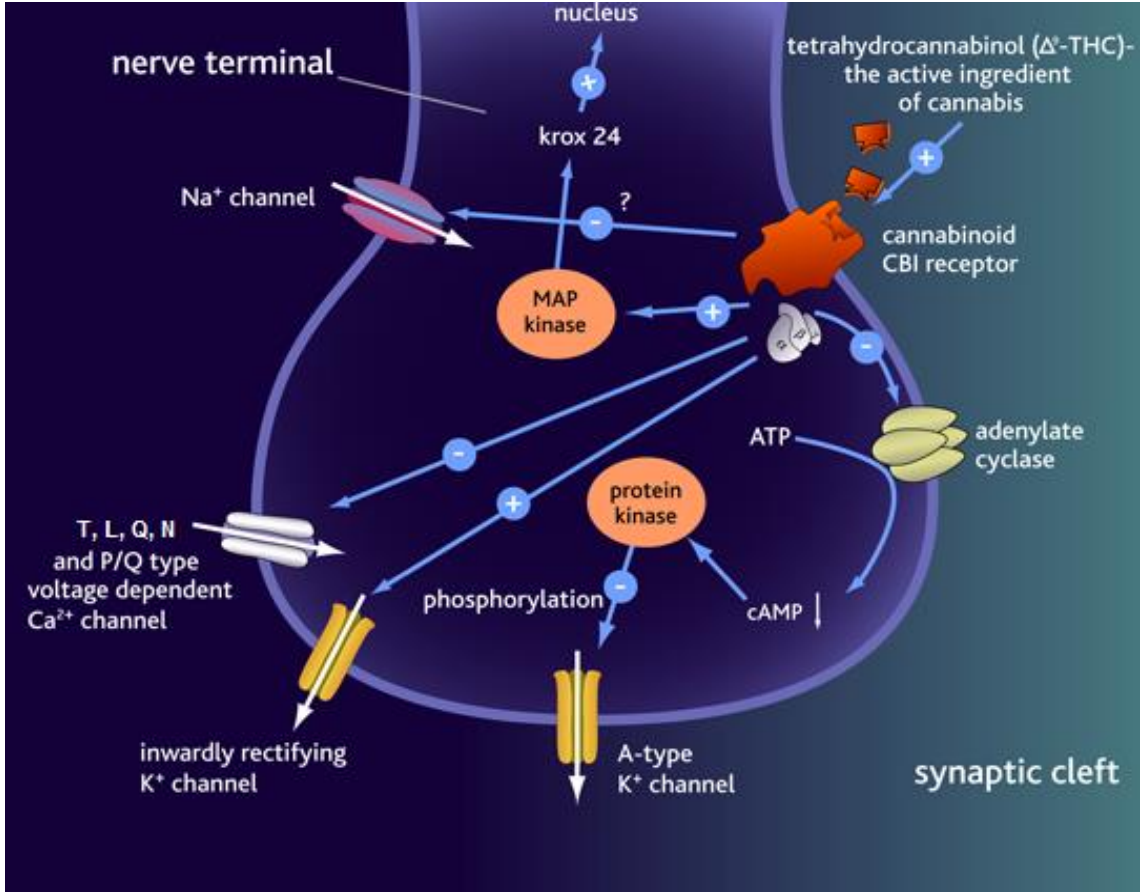
2.3.1. Kanabinoid Reseptörler (CB1 ve CB2)

İnsanların da dahil olduğu çeşitli hayvan türlerinde CB1 ve CB2 olmak üzere iki tip kanabinoid reseptör klonlanmıştır (Matsuda ve ark, 1990; Munro ve ark, 1993). Kanabinoid reseptörler G-proteiniyle kenetlenmiş reseptör (GPCR) ailesi grubundandır (Pertwee ve Ross, 2002; Iversen, 2003; Howlett ve ark, 2002). Bu reseptörlerinin özelliği membranı 7 kez dolanmaları, ekstrasellüler uçta amonyum (NH₂) ve intrasellüler uçta karboksilik asit (COOH) terminal ucunun bulunmasıdır (Şekil 4).



Şekil 4. CB1 ve CB2 reseptörlerinin yapısı (Ross, 2007)

G proteini trimerik bir proteindir, α ve β alt birimleri bulunur ve enerji kaynağı olarak guanozin trifosfatı kullanır. CB1 reseptörünün uyarılmasıyla oluşan sirkülasyon aşağıda gösterilmiştir. α alt birimi adenil siklaz aktivitesini düzenlerken, β alt birimi mitojen tarafından aktive edilen protein kinazı (MAPK) ve fosfatidylinositol- 3-kinaz (PI3K) gibi enzimlerin ya da doğrudan iyon kanallarının aktivitesini düzenler. Gi proteini, aktive edildiği zaman, bir enzim, adenilat siklazı inhibe eder. Adenil siklaz adenzin trifosfatı (ATP) cAMP' ye dönüştüremez. Sonuç olarak kanabinoid reseptörler uyarıldığı zaman hücre içi cAMP konsantrasyonu azalır. CB1 ve CB2 reseptörlerinin bulunduğu hücrelerde cAMP' nin azalması inhibisyona neden olur. CB1 reseptörünün uyarılmasının en hızlı etkisi A tipi potasyum kanallarının açılmasıdır (Childers ve Deadwyler, 1996). A tipi potasyum kanallarının açılmasıyla birlikte hücre içerisindeki pozitif yüklerin azalmasına bağlı olarak hiperpolarizasyon görülür. Aynı mekanizmayla nöronlarda N tipi kalsiyum kanalları kapatılır (Caulfield ve Brown, 1992). CB1 reseptörleri çoğunlukla presinaptik nöronlarda bulunur, presinaptik inhibisyon aracılığıyla nörotransmitter salınımını düzenlerler. CB1 reseptörlerinin uyarılmasıyla hipokampus, serebellum ve neokortekste glutamat, GABA, norepinefrin, dopamin, serotonin, asetilkolin salınımının azaltıldığı yapılan elektrofizyolojik çalışmalarla gösterilmiştir (Schlicker ve Kathmann, 2001). Kanabinoid reseptörler diğer önemli özelliği proteinleri sinyal iletimi yoluyla düzenlemeleridir. Adenzin kinazın fosforilasyonuna yol açarak, sinaptik plastisitede önemli bir rol oynarlar. Gi' nin $\beta\gamma$ kompleksi PI3K aktive eder ve bu durum Raf-1 ve MAPK fosforilasyonu ile sonuçlanır. MAPK aktive olduğu zaman fosfolipaz A2 aktive eder ve araşidonik asit kaskadını uyararak prostaglandin üretimini artırır (Wartmann ve ark, 1995) ve belli dokularda büyüme faktörü reseptörünün sentezini azaltabilir (De Petrocellis ve ark, 1998). PI3K de biyokimyasal olarak insülin benzeri etkileri aracılığı glikoz taşıyıcısı 4' ün up-regülasyonuna (insülin bağımlı glikoz girişi olan iskelet ve yağ dokusunda) sebep olur ve karaciğer hücrelerinde glikojen sentezini ve glikolizi uyarır.



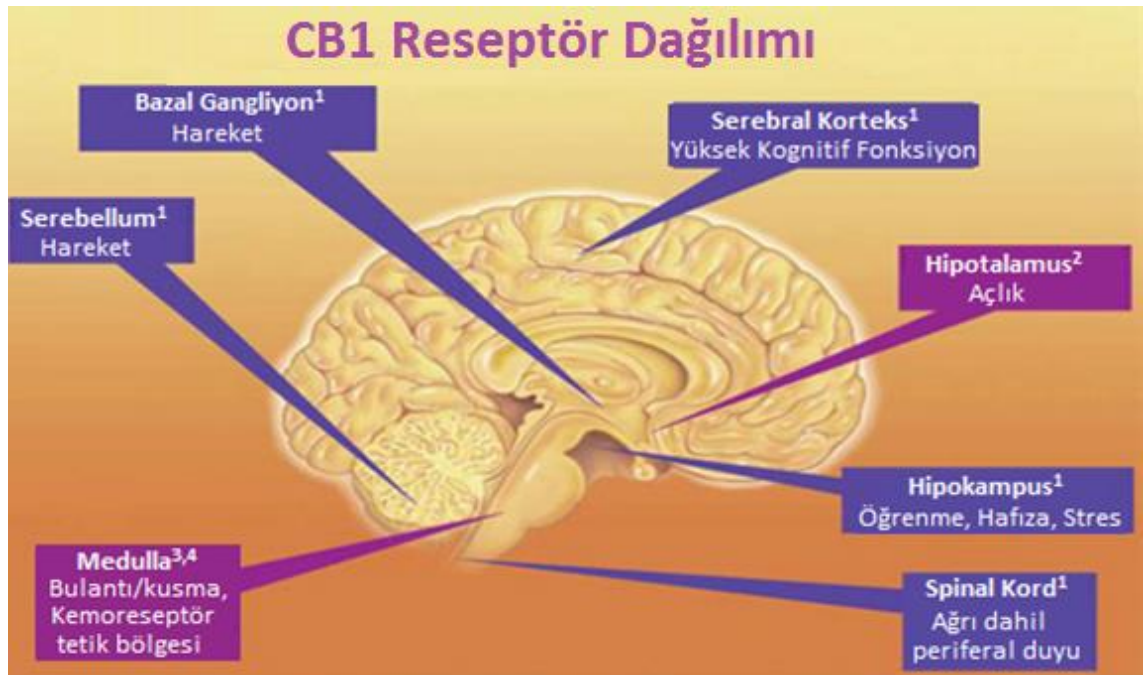
Şekil 5. CB1 reseptörünün hücre içi sinyal yolağı (Ameri, 1999; Yamamoto ve Takada, 2000)

Kanabinoid Reseptörlerinin Vücuttaki Dağılımları

Santral Sinir Sistemi

CB1 ve endokanabinoidlerin beyindeki varlıkları santral sinir sisteminde, özellikle de beyinde CB1 reseptörlerinin dağılımları üzerine kapsamlı araştırmaların yapılmasına sebep olmuştur. Yapılan otoradyografi, in-situ hibridizasyon ve immunositokimya çalışmaları CB1 reseptörlerin beyinde özellikle serebral korteks, hipokampus, bazal ganglia (kaudat nükleus ve putamen, substantia nigra pars reticulata, globus pallidus), serebellumun moleküler tabakası, beyin ve spinal kordun omuriliğin ağrı yolağında yoğun dağılımını göstermiştir (Herkenham ve ark., 1990; Irving ve ark., 2002). Hipotalamus, talamus ve omurilikteki dağılım düzeylerinin ise daha düşük olduğu bilinmektedir (Herkenham ve ark., 1990; 1991). İnsan da dahil olmak üzere sıçan ve maymun gibi diğer hayvan türlerinde yapılan otoradyografi çalışmaları genelde CB1 reseptörlerinin farklı türlerde benzer dağılımlar göstermesinin yanında (Herkenham ve ark., 1990; Glass ve ark., 1997) özellikle insanlarda amigdala ve singulat kortekste daha yoğun bulunduğunu göstermiştir (Herkenham ve ark., 1990).

CB1 reseptörlerinin beyindeki dağılımları ve reseptör yoğunluğu konusunda önemli bir nokta da kantitatif otoradyografi yöntemiyle elde edilmiş ölçümlerdeki reseptör yoğunluğunun yaklaşık 1 pmol/mg'ın üzerinde olduğudur ki bu miktar birçok iyonotropik ve G-proteini ile kenetlenmiş reseptörlerin miktarından çok fazladır (Bowery ve ark., 1987, Greenamyre ve ark., 1984). Bu durum kanabinoid reseptörlerinin sinir sistemindeki önemine işaret etmektedir. CB1 reseptörlerin beyin birçok bölgesinde inhibitor (GABAerjik) ve eksitator (glutamaterjik) terminallerdeki sinapslarda nörotransmitter salınımını ters yönde (retrograde) sinyal iletimi ile düzenlemesi de normal fizyolojik fonksiyonlardaki rolünü vurgulamaktadır.



Şekil 6. Beyinde CB1 reseptör dağılımı (Pertwee, 1997)

Periferik Organlar

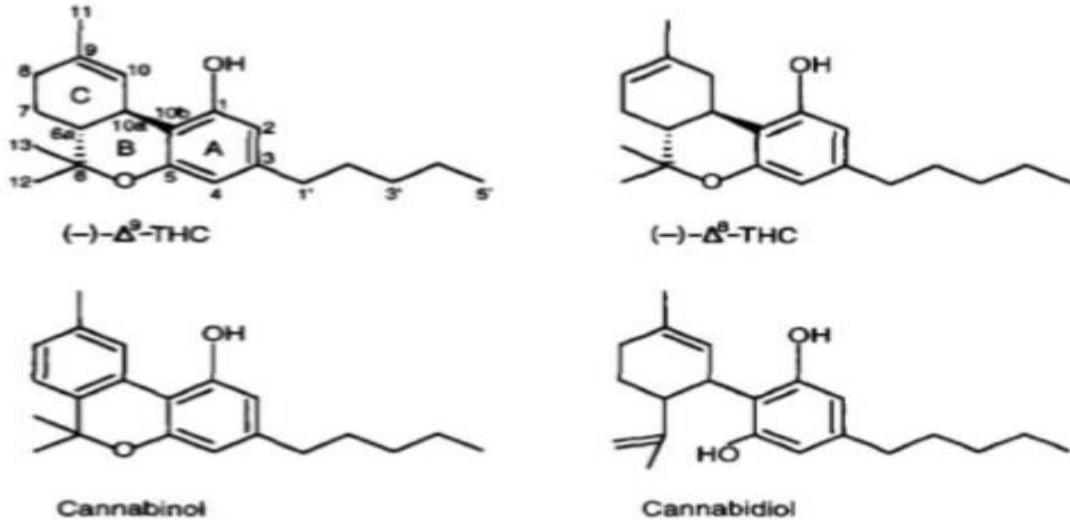
Tip 1 kanabinoid reseptör mesajcı ribonükleik asit (mRNA)' ları ve lokalizasyonları öncelikli ve yoğun şekilde santral sinir sisteminde ve periferik sinir sisteminde olmasına rağmen kalp, akciğer, prostat, testis, böbrek, böbreküstü bezleri, timus bezi, tonsiller, kemik iliği, dalak gibi periferdeki organlarda beyne göre daha az düzeylerde bulunmaktadır (Kaminski ve ark., 1992; Noe ve ark., 2000). Ayrıca kanabinoidlerin enerji metabolizmasını kontrolündeki etkilerinden sorumlu CB1 reseptörleri; karaciğer, iskelet kasları, pankreas ve yağ dokularında da bulunur (Bacci ve ark., 2004; Vilches ve ark., 2010). CB2 reseptörleri ise çoğunlukla bağışıklık sistemi

hücrelerinde (Munro ve ark., 1993) , kısmen de B hücreleri ve doğal katil hücrelerinde bulunmuştur (Pertwee, 1997).

2.3.2. Fitokanabinoidler

Fitokanabinoidler, hint keneviri (kanabis, esrar) bitkisinden elde edilen, kanabinoid reseptörlerine bağlanabilen bitkisel bileşiklerdir. Kanabis bitkisinden izole edilen ve çeşitli etkilere sahip olan en az 85 çeşit kanabinoid mevcuttur (Uzbay, 2009). En iyi bilinen fitokanabinoidler THC, kanabiol ve kanabidioldir (ElSohly ve Slade, 2005). THC, CB1 reseptör agonistidir ve psikoaktif etkiden sorumludur (Kayaalp ve Uzbay, 2012).

Fitokanabinoidlerin birkaç prelinik ve bazı klinik çalışmalarda antikonvulsan etkisi olduğu gösterilmiştir. Ancak psikoaktif yan etkileri hakkındaki bilgilerin eksik olması ve fitokanabinoidlerin hepsinin seçici CB1 kanabinoid reseptör agonisti gibi çalışmayıp diğer reseptör ve kanallarla etkileşime girerek etki göstermesi bu alanda yapılan çalışmaları zorlaştırmaktadır.

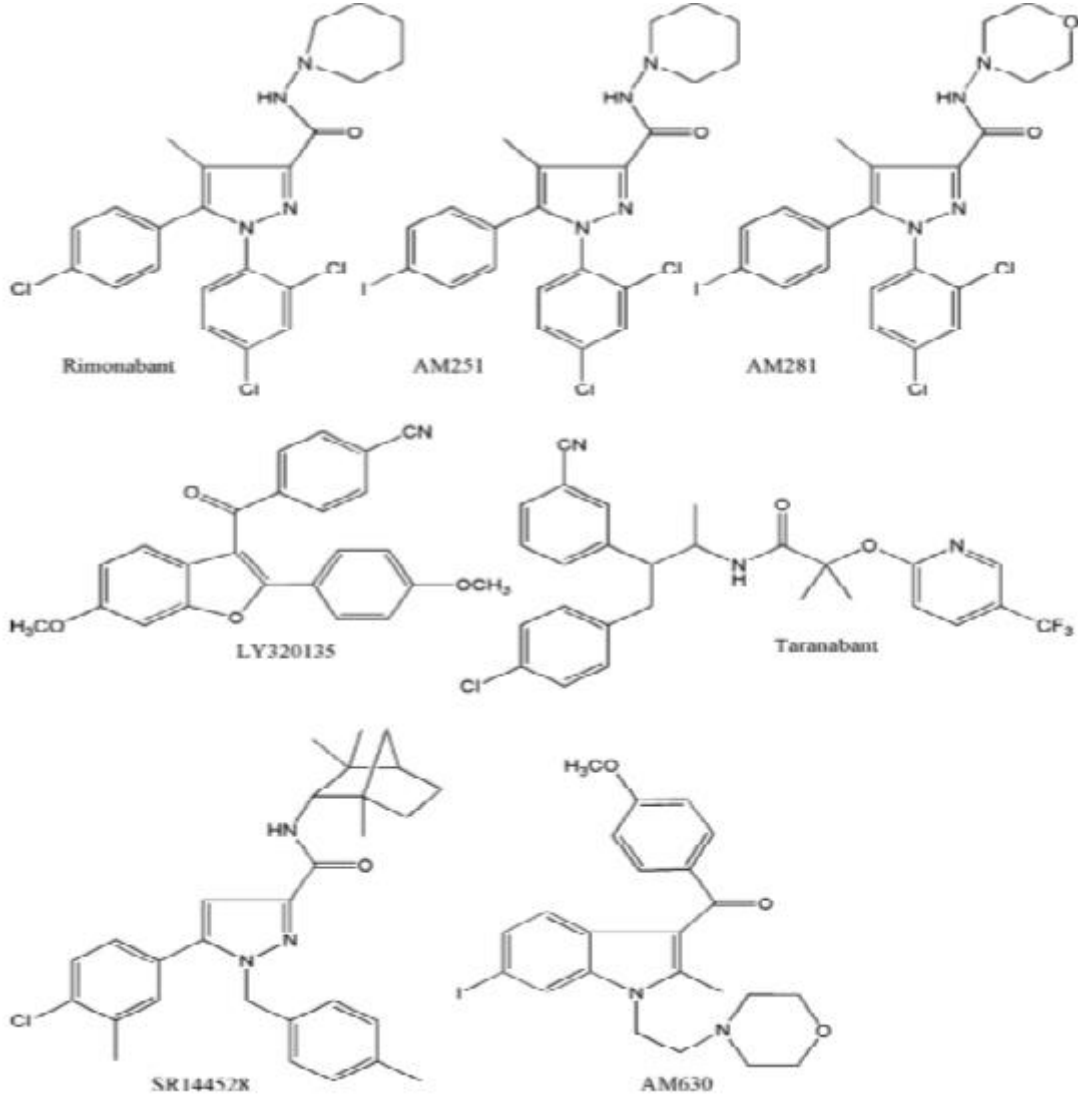


Şekil 7: Kanabinoid bileşenleri (Pertwee,1997)

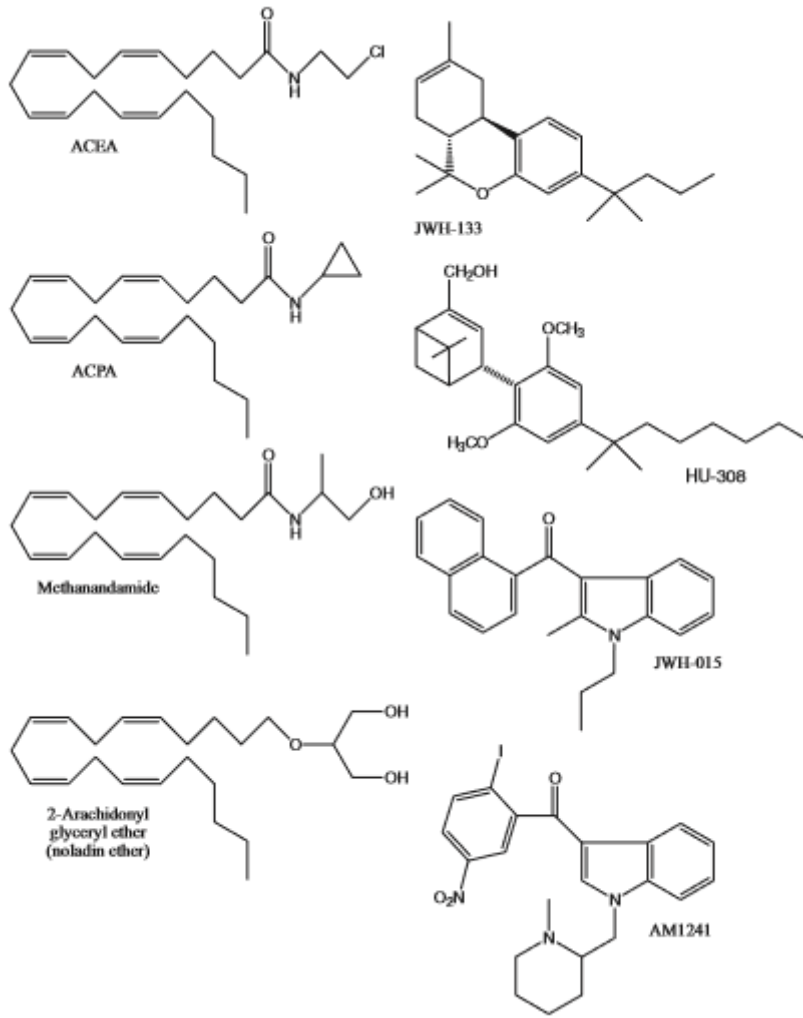
2.3.3. Sentetik Kanabinoidler

Sentetik kanabinoid, laboratuvar ortamında ot ve benzeri maddelerin kimyasal sıvılarla spreylenece sonuce oluşturulan bir uyuşturucu türüdür. Bonzai olarak da anılan bu maddeler, CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinden etki gösterirler. Çok geniş bir madde grubu oluştururlar (Seely ve ark., 2011). Etkileri THC benzetilse de CB1

reseptörüne bağlanma afinitesi çok yüksek olduğu için, etkileri THC' ye göre daha şiddetli ve olumsuzdur. Sempatomimetik etkiler, duygusal süreç, algının bozulması, kardiyovasküler ve psikoza kadar geniş komplikasyonları mevcuttur (Seely ve ark., 2011; Harris ve Brown, 2013).



Şekil 8. Seçici CB1 reseptör antagonistleri / ters agonistler yapıları, rimonabant , AM-251 , AM281 , LY320135 ve taranabant ; Seçici CB2 antagonistlerin / ters agonistlerinin yapısı SR144528 ve AM630 (Pertwee,1997)



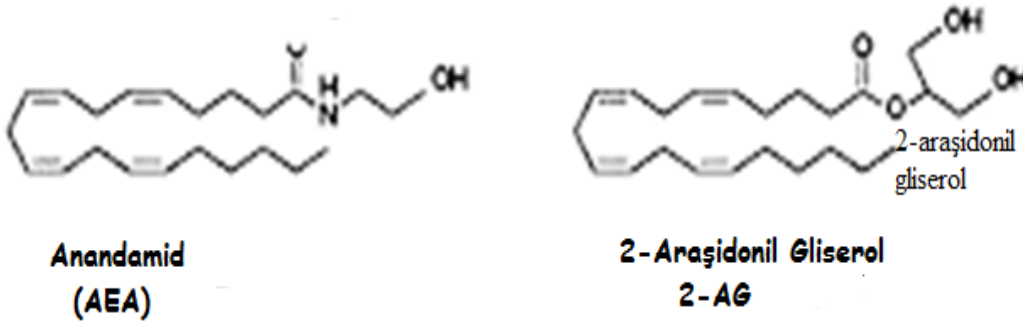
Şekil 9. Seçici CB1 reseptörlerinin yapısı; arachidonylcyclopropylamide (ACEA), methanandamide ve noladin eter; seçici CB2 reseptör agonistlerinin yapısı JWH -133, HU -308, JWH -015 ve AM1241 (Pertwee,1997)

2.3.4. Endokanabinoidler ve Endokanabinoid Sistem

İnsan ve hayvanlarda doğal olarak üretilen kanabinoidlere endokanabinoid denir. Endokanabinoid sistemi ise çeşitli fizyolojik işlevlerde görev alan gerekli bir nöromodulator sistemdir (Freund ve ark., 2003; Piomelli, 2003). CB1 ve CB2 kanabinoid reseptörleri ve endojen lipid ligandları (endokanabinoid) ve sentezleri ile yıkımlarında görev alan enzimlerden oluşur.

İlk olarak 1992’de domuz beyinde endojen bir lipid olan araşidoniletanolamin (AEA) (Devane ve ark., 1992) keşfedilmiştir. Bu endojen lipide Sanskritçede keyif ve mutluluk verici anlamına gelen “Ananda” ile kimyasal yapısındaki “amid”in birleşimi olarak Anandamid (AEA) ismi verilmiştir. Anandamid’in ilk endokanabinoid olarak tanımlanmasından sonra 1995 yılında yine bir araşidonik asit türevi olan ester

yapısındaki 2-AG keşfedilmiştir (Mechoulam ve ark., 1995; Sugiura ve ark., 1995). Bu iki ligand tanımlandıktan sonra sentez ve enzim basamakları açıklanmıştır. Anandamidin *in vivo* sentezi bir membran fosfolipid prekürsörü olan N-araşidonik fosfotidiletanolamidden (NAPE) fosfolipaz D tarafından enzimatik olarak katalizlenmesi sonucunda oluşur (Okamoto ve ark., 2004); 2-AG ise diaçilgliserolden diaçilgliserol lipaz- α enzimi (DGL- α) ile sentezlenir (Bisogno ve ark., 2003). İhtiyaca göre sentezlenip yıkılma özelliğine sahip olan endokanabinoidlerden anandamid yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından yağ asidi ve etanolamine hidrolize edilir (Egertova ve ark., 1998). FAAH enzimi hipokampus, serebellum ve amigdala postsinaptik terminallerde bulunmaktadır. Bu sentetik yol cAMP/protein kinaz A tarafından dolaylı yoldan uyarılır. Anandamidin beyin dokularındaki yaklaşık miktarı 10–50 pmol/g' dır (Di Marzo ve ark., 1994). 2-AG ise monoaçilgliserol lipaz tarafından araşidonik asit ve gliserole hidrolize edilir (Dinh ve ark., 2002). Beyindeki miktarı anandamidden çok daha fazladır, 2 - 10 nmol/g kadardır (Stella ve ark., 1997).



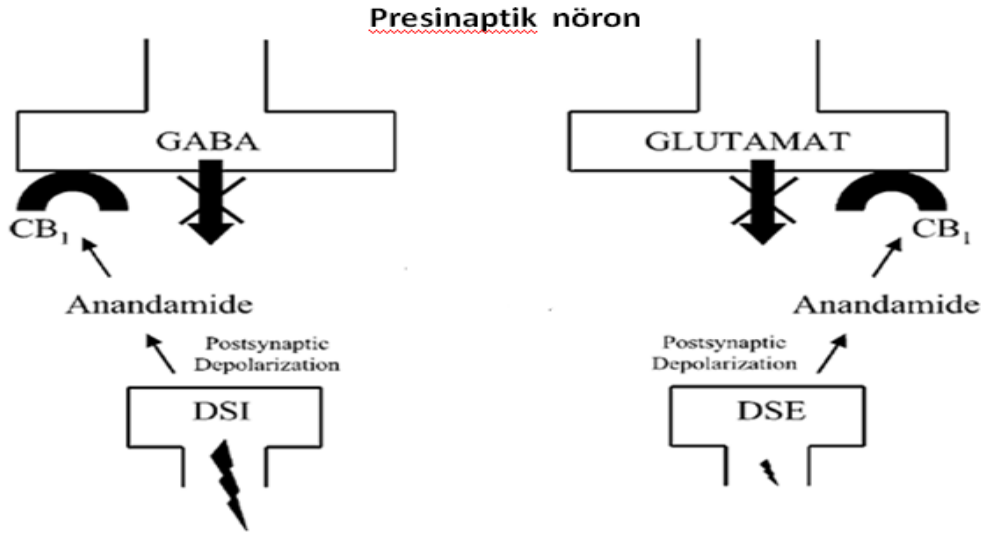
Şeki 10. Ana (temel) endokanabinoidler ve kimyasal yapıları (Pertwee,1997)

Endokanabinoid Sistemin Nörofizyolojik Özellikleri

Endokanabinoidler sentezlenip veziküllerde saklanmadıkları ve ihtiyaca göre membran lipitlerinden sentezlendikleri için ne nörotransmitter ne de nöromodülatör olarak kabul edilir. Sentetik yolağı farklıdır; hücre içerisinde depolarizasyonun başlaması ve hücre içerisine kalsiyumun girişiyle salınımı başlar; sinaptik aktivite intrasellüler enzimatik yıkım ve geri alım ile hızlı bir şekilde sonlandırılır.

Endokanabinoid sistem CB1 aracılığıyla retrograd sinaptik sinyalizasyonu gerçekleştirir (Freund ve ark., 2003; Mackie, 2005; Mackie ve Stella, 2006). Endokanabinoidler aktivitenin durumuna bağlı olarak postsinaptik nörondan salınır ve presinaptik CB1 reseptörüne bağlanır. Böylece presinaptik bölgede nörotransmitter salınımını baskılanır (hem eksitator hem de inhibitör sinapsın), (Misner ve Sullivan,

1999; Sullivan, 1999; Kathmann ve ark., 1999; Katona ve ark., 1999; Hajos ve ark., 2000; Hajos ve ark., 2001; Varma ve ark., 2001; Ohno-Shosaku ve ark., 2002; Mackie, 2005). Presinaptik nöronun kimyasal yapısı önemlidir. Eğer GABA gibi inhibitör bir nörotransmitterin salınımı baskılanıyor ise buna depolarizasyon kaynaklı inhibisyonun bastırılması (DSI) denir ve sonuç olarak postsinaptik aksiyon potansiyeli artar. Eğer glutamat gibi eksitator bir nörotransmitterin salınımı baskılanıyor ise buna depolarizasyon kaynaklı uyarımın bastırılması (DSE) denir ve sonuç olarak postsinaptik aksiyon potansiyeli azalır (Şekil 11).



Şekil 11. Kanabinoid sinaps: Endokanabinoidler retrograd sinapsı CB1 reseptörleri ile aracılığıyla yaparlar. GABA , γ -aminobütirik asit; DSI, depolarizasyon kaynaklı inhibisyonun bastırılması; DSE, depolarizasyon kaynaklı uyarımın bastırılması. Endokanabinoidlerin biyosentezi, parçalanma ve sinyal. (A) presinaptik kanabinoid tip 1 reseptör (CB1R) sinyal. (B) postsinaptik endokanabinoid biyosentezi / sinyal. NArPE = N- araşidonoil fosfatidiletanolamin; DAG = 1 - asil, 2 - araşidonoil diaçilgliserol; VGCC = voltaj bağımlı kalsiyum kanalları; PEA = palmitoiletanolamidi; ACPA = arachidonylcyclopropylamide; ACEA = arakidonil -2'-chloroethylamide; PMSF = fenilmetilsülfonil florit (Katona ve ark., 1999)

2.3.5. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri

Endokanabinoid sistemin aktivasyonu gıda alımı, ağrı hissi, hafıza süreçlerinin işleyişi gibi sayısız fizyolojik işlevden sorumludur.

Akut Etkiler

Kanabinoid reseptörlerinin (CB1) uyarılmasına bağlı olarak iştah artışı, yüzde kızarıklık, az da olsa kalp atımında artma, fikir uçuşması, zaman ve mekan kavramının bozulması gibi birtakım fizyolojik etkiler ortaya çıkar. Ayrıca davranışsal ve bellek işlevlerinde bozulmalar görülmektedir. Dikkat ve motor fonksiyonlar daha az etkilenmektedir (Hollister, 1983; Karch, 2007). Yapılan hayvan çalışmalarında spontan aktivite, analjezi, azalmış rektal ısı ve rijit immobilitiyi (katalepsi) içeren bazı davranış parametrelerini değiştirmektedir (Ameri, 1999).

Kronik Etkiler

Kardiyovasküler etkileri

Sentetik ev endojen kanabinoidlerin periferdeki etkisi çok iyi tanımlanmamakla birlikte, kan basıncı ve vasküler tonus üzerine kanabinoidlerin etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Kardiyovasküler merkezde CB1 reseptörlerinin bulunduğu gösterilmiştir (Tsou ve ark., 1998). Kanabinoidlerin akut uygulaması, taşikardi ve kan basıncında küçük bir artışa, kronik kullanımlarda ise hipotansiyon ve bradikardiye neden olduğu rapor edilmiştir (Benowitz ve ark., 1979). Glass ve ark. (1997), beyin sapında vagusun dorsal motor nükleuslarında (parasempatik merkez) CB1 reseptörlerinin yoğunluğunun yüksek olduğunu göstermişlerdir ve bu merkezin CB1 reseptörleri aracılığıyla inhibe edilmesinin parasempatik çıkışta azalmaya neden olabileceğini bildirmişlerdir. Bu durum kanabinoidlerin kardiyovasküler sistem üzerindeki akut etkisini ayrıca midriazis ve kusmayı önleyici etkisini de açıklamaktadır. CB1 reseptörü ortadan kaldırılan farelerde, parasempatik çıkışın arttığı ve sempatik çıkışlarının azaldığı gösterilmiştir. CB1 reseptör aracılığıyla görülen bu durum kanabinoidlerin kardiyovasküler sistem üzerine olan kronik etkisini açıklamaktadır. Endokanabinoidler ateroskleroz ilerlemesi üzerine olumlu etkilerinin CB2 ve olumsuz etkilerinin CB1 aracılığıyla olduğu bildirilmiştir (Stanley ve ark., 2014).

edilmesi de kanabinoidlerin analjezik etkilerini açıklamaktadır. Şekil 12' de bu mekanizma kısaca açıklanmıştır. Omurilik, beyin sapı, hatta talamusa THC ve kanabinoidler doğrudan enjekte edildiğinde ağrı iletiminin inhibe edildiği gösterilmiştir (Pertwee, 2001).

Amigdala ve Davranışsal Etkileri

Hayvanlarda amigdalanın uyarılması sonucu saldırgan ve savunmacı davranışlar görüldüğü bilinmektedir. CB1 reseptörleri amigdalanın GABA nöronları üzerinde bulunur (Katona ve ark., 2001). CB1 reseptörlerinin uyarımıyla birlikte görülen GABA seviyesindeki azalmaya bağlı olarak saldırgan davranışların ortaya çıktığı gösterilmiştir (Hall ve ark., 2000; Johns, 2001). Sağlıklı bireylerde aşırı dozda esrar ve THC kullanımından sonra psikotik semptomların (delüzyon, halüsinasyon, bilişsel bozukluklar) geliştiği ve şizofrenlerde esrar kullanımıyla birlikte psikotik semptomların görüldüğü bilinmektedir (Rabbin ve ark., 2016) .

Hipotalamus ve Nöroendokrin Etkileri

Merkezi sinir sisteminde endokanabinoid sistem aktivasyonunun oreksijenik etkileri hipotalamus ve limbik sistemdeki yemek yeme motivasyonunu artırması sonucunda gerçekleşmektedir (Johns, 2001). Hipotalamus, besin alımının düzenlenmesi ve vücut ağırlığının kontrolünü sağlayan en önemli beyin bölgesidir. Endojen kanabinoidler leptin ile etkileşim yoluyla kısmende olsa gıda alımının kontrol edilmesinden sorumludur. Leptin sinyalizasyonu defektli olan hayvanların hem obez hemde anandamidin ve 2-AG' nin normal hayvanlara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Di Marzo ve ark., 2001). Leptin uygulanan normal sıçanlarda endojen kanabinoid seviyesinin azaldığı görülmüştür. Rimonabant obez farelerde hiperinsülinemiye azaltarak ve adiponektin gen ekspresyonunu artırarak gıda alımını azalttığı ve kilo kaybına yol açtığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Colombo ve ark., 1998)

THC' nin CB1 reseptörünün uyarılmasıyla norepinefrin, gonadotropin serbestletici hormon, luteinizan hormon ve folikül stimüle edici hormon serbestlenmesinin baskılandığı gösterilmiştir (Murphy ve ark., 1990). Ayrıca büyüme hormonu ve prolaktin hormon serbestlenmesinin durduğu bilinmektedir (Rettori ve ark., 1988; Jung ve ark., 2016)

Bağımlılık

Bağımlılık mezolimbik dopaminerjik ödül yolağını aktive olması ve nükleus akumbensteki (nAC) dopamin miktarının artmasıyla ortaya çıktığına inanılmaktadır (Koob, 1992). Aktif fitokanabinoid olan THC' nin CB1 reseptörlerinin aktivasyonu aracılığıyla nAC'deki dopamin miktarını arttırdığı bulunmuştur (Tanda ve ark., 1999). Sentetik CB1 antagonistlerinin santral ödül yollarının aşırı baskıladığı gösterilmiştir (Nedaei ve ark., 2016). Tüm bunlar endokanabinoid sistemin ilaç bağımlılığının mekanizmasındaki düzenleyici rolü olabileceğine işaret etmektedir.

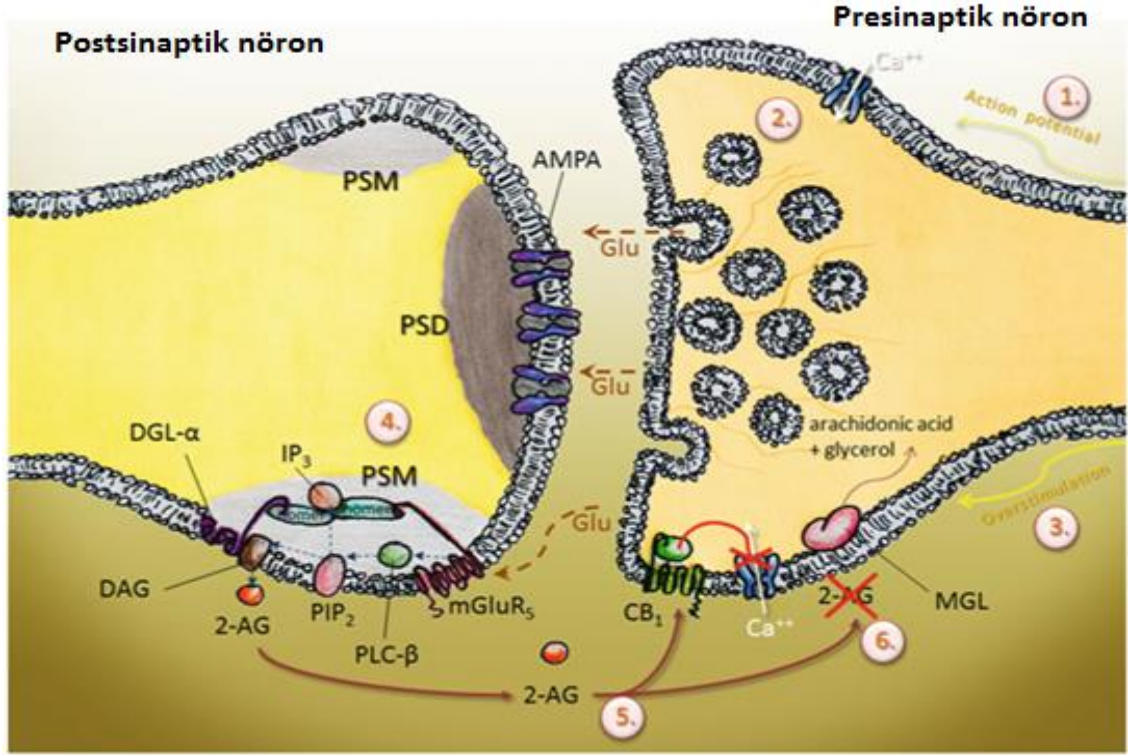
2.3.6. Kanabinoidlerin Antikonvülsan Özelliği

Endokanabinoid sistem, fizyolojik etkilerinin yanı sıra merkezi sinir sisteminde ve periferdeki homeostazisi sağlayıcı rollerinden dolayı patofizyolojik durumlarda da oldukça önemlidirler.

Kanabinoidlerin antiepileptik özellikleri yüzyıllardır bilinmektedir. Bunlardan en ünlü anekdot örneği; 15. yüzyılda Bağdat Halifesi Chamberlain'in oğlunun nöbetlerinin esrar (marjuana) ile kontrol altına alındığının bilinmesidir (Mechoulam ve Lichtman, 2003). 19. yüzyılda da William Brooke O'Shaughnessey (1843), yazdığı 49 sayfalık kitabında kanabinoidlerin antiepileptik özelliklerinden bahsetmektedir. Son yirmi yılda THC ve sentetik kanabinoidler ile CB1 ve CB2 kanabinoid reseptörlerinin farmakolojik etkinliğinin terapötik önemi bilinmektedir. Detaylı araştırmalar ile çeşitli patofizyolojik süreçte endokanabinoid sistemin rolü olduğu açıkça ortaya konulmuştur, ancak tedavi amaçlı endokanabinoid sistemin sinyalizasyon aktivitesinin geliştirilmesini (manipülasyonunu) amaçlayan yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır (Pertwee, 2012).

Sinir sisteminde, CB1 reseptörleri çok yaygındır ve nörotransmitter salınımının en önemli düzenleyicileri olduğu gösterilmiştir (Kano ve ark., 2009). Akson terminalindeki presinaptik CB1 reseptörlerinin retrograd aktivasyonu, postsinaptik nöronun sinyal modunu değiştirerek aferent potansiyelin gücünü geçici veya sürekli olarak sınırlandırabileceği yaygın olarak kabul edilmektedir (Castillo ve ark., 2012). Bu negatif geri besleme sinyal yolu nöron uyarılabilirliğinin eşik değerinin belirlenmesinde düzenleyici bir rol oynar ve bu yüzden epilepsinin de dahil olduğu birçok nörolojik bozukluğun tedavisi için oldukça önemli olduğu gösterilmiştir (Katona ve Freund, 2008).

Katona ve Freund (2008), epileptik nöbetlerin önlenmesinde endokanabinoid sinyalizasyonun moleküler mekanizmasının önemini açıklamak amacıyla 'sinaptik devre kesici' modelini önermişler. Bu sinyalizasyon yolunda pek çok önemli protein vardır. Bunlardan perisinaptik bölgede lokalize olan G proteini alt birimi Gq/11'in metabotropik glutamat reseptör 5 (mGluR₅) sinyalizasyonu için gerekli olduğu bildirilmiştir (Tanaka ve ark., 2000). Gq ve G₁₁ ortadan kaldırılmış farelerde endokanabinoid üretim bozuklukları ve nöbetlere duyarlılık olduğu gösterilmiştir (Wettschureck ve ark., 2006). Fosfolipaz β1 (PLCβ1)' in eksitator sinapslardan zengin perisinaptik uçlarda bol bulunduğu bilinmektedir (Fukaya ve ark., 2008), PLCβ1 ortadan kaldırılmış farelerde de spontan epileptik nöbetlerin olduğu gözlemlenmiştir (Kim ve ark., 1997). PLCβ1' in bir ürünü olan diaçil gliserol (DAG), endokanabinoid molekülü 2-araşidonil gliserolun sentezi için ön maddedir. DAG diaçilgliserol lipaz (DGL-α) enzimiyle 2-AG' ye dönüştürülür (Bisogno ve ark., 2003). Kemirgenlerin ve insanların neokorteksinde, hipokampuslarında, omurilikte yoğunluğu fazla olduğu gösterilmiştir (Katona ve ark., 2006; Yoshida ve ark., 2006; Lafourcade ve ark., 2007; Nyilas ve ark., 2009; Ludanyi ve ark., 2011). DGL-α enzimi ortadan kaldırılan farelerde epileptik nöbetlere duyarlılığın arttığı görülmüştür (Sugaya ve ark., 2014). DGL-α'nın 2-AG üreterek negatif feedback sinyalizasyonu başlattığı bilinmektedir. 2-AG'nin eksitator sinapslardaki glutaminerjik akson terminallerinde bulunan CB1 reseptörünü aktive ederek glutamat salınımını baskıladığı bulunmuştur, aynı zamanda mGluR reseptörü aktivasyonu aracılığıyla uyarılan epileptiform aktivitenin CB1 reseptör antagonistleri tarafından önlendiği gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2003; Wettschureck ve ark., 2006; Fezza ve ark., 2014). Birçok epilepsi türünde epileptik nöbetleri tetikleyen nöronal bozukluklarda daima 2-AG seviyesinin yükseldiği bilinmektedir (Katona ve ark., 2006; Kawamura ve ark., 2006). Presinaptik CB1 reseptörlerinin aktive olmasıyla birlikte monoaçilgliserol lipaz (MGL) ile 2-AG'nin inaktive edildiği gösterilmiştir. (Dinh ve ark., 2002).



Şekil 13. Sinaptik devre kesici modeli. Normal koşullarda, aksiyon potansiyeli(1) voltaj kapılı kalsiyum kanallarını açar ve sinaptik veziküllerden sinaptik boşluğa glutamat salınır(2). Salınan glutamat ilk olarak sinaps içerisine yerleşmiş olan AMPA tip glutamat reseptörlerini aktive eder. Nöbet esnasında olduğu gibi aşırı presinaptik aktivite sinaptik boşluktaki glutamat konsantrasyonunu artırarak, perisinaptik alanda lokalize olan mGluR₅ gibi metabotropik glutamat reseptörlerini uyarır. Bu olay Gq / 11 sinyalizasyonu uyarır ve daha sonra PLC-β aktive olur(4). Her ikisinde perisinaptik bölgede lokalizedir ve bu iç içe büyük moleküllü protein kompleksi perisinaptik makine olarak isimlendirilir(PSM). İyonotropik reseptörleri içeren postsinaptik membranın iyonotropik reseptörlerden yoğun olan bölgesine postsinaptik yoğunluk (PSD) denilmektedir. PLC - β , fosfatidilinositol bifosfat (PIP₂)'i inositol trifosfat (IP₃) ve DAG böler. Üretilen DAG'ın büyük bir miktarı, perisinaptik alanda bulunan DGL- α enzimiye 2-AG ye dönüştürülür. Bu endokanabinoid daha sonra presinaptik alana doğru hareket eder (5) ve presinaptik CB₁ kanabinoid reseptörlerinin aktivasyonu ve voltaj bağımlı kalsiyum kanalları kapatılır (6) ve glutamat salınımının feedback mekanizmayla önlenmiş olur (Katona ve Freund, 2008)

Günümüzde de kanabinoidlerin antiepileptik etkinliğine yönelik vaka sunumları, deneysel çalışmalar oldukça yaygındır (Szaflarski ve Bebin 2014; Agar, 2015).

Epileptik Hastalarda Kanabinoid Kullanımının Etkisi

Tekrarlayan nöbeti olan hastalarda yapılan çalışmalarda endokanabinoid sistemin ve pozitif koruyucu etkisinin bozulduğu görülmüştür (Ludanyi ve ark, 2008; Goffin ve ark., 2011); bunun da dentat striatumun iç moleküler tabakasındaki eksitator sinapslarda lokalize olan CB₁ reseptörünün down regülasyon sebebiyle olabileceği ileri sürülmüştür (Ludanyi ve ark., 2008). Yapılan başka çalışmalarda yetişkin bireylerden, çocukluk dönemi epilepsi ve nöbet bozukluklarının sıklığı fazla olan seçili bir

popülasyonda cannabis'in potansiyel antiepileptik etki gösterdiği belirtilmektedir (Russ ve ark., 2012). Hegde ve ark. (2012), daha önce fokal epilepsi tanısıyla gelmiş olan iki hastada tıbbi marihuana kullanımı sonrasında nöbetlerin azaldığını gözlemlemişlerdir. Jeneralize çocukluk epilepsisi olan ancak en az 2 yıldır nöbet geçirmediği bilinen obez bir hastanın, obezite tedavisi için CB1 reseptör antagonisti rimonabant kullanımıyla birlikte paroksizmal epileptik EEG aktivitesinde ve gece parsiyel nöbetlerinde artış olduğu bildirilmiştir (Braakman ve ark., 2009). Oral cannabis kullanan 18 yaşın altındaki 75 epileptik hastanın % 50'sinin nöbetlerinin azaldığı bildirilmiştir (Press ve ark.,2015).

Kanabinoidlerin Deneysel Epilepsi Modellerindeki Etkisi

Epilepside kanabinoidlerin etkilerine dair çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır. Temporal lop epilepsi modeli hayvanlarda CB1 reseptörü agonistlerinin antiepileptik etki gösterdiği (Wallace ve ark., 2003); başka bir çalışmada ise glutaminerjik akson terminallerinde CB1 reseptörü aracılığıyla glutamatın salınımı azaltılarak antikonvülsan etki gösterdiği bulunmuştur (Azad ve ark., 2003; Monory ve ark., 2006). Diğer taraftan bazı araştırmacılar ise CB1 reseptörü agonistlerinin prokonvulsan etki gösterdiğini bildirdi (Keeler ve Reifler, 1967; Gordon ve Devinsky, 2001; Lutz, 2004). Dahası CB1 reseptör antagonistlerinin uzun dönem kullanıldığında nöbete olan duyarlılıktaki artışı önlediği de görülmüştür (Chen ve ark., 2007; Echegoyen ve ark., 2009). Düşük doz THC uygulanması, endokanabinoidlerin uygulanması ve sentetik kanabinoidlerin uygulanması *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda antikonvülsan etki ettiği ve bu etkinin CB1 antagonistleri tarafından bloklandığı çeşitli epileptik hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2001, 2003; Blair ve ark., 2006; Deshpande ve ark., 2007a; Rudenko ve ark., 2012). CB1 reseptör agonisti gibi davranan THC' nin; düşük dozlarda presinaptik eksitator akson terminallerindeki CB1 reseptörlerini uyardığı ve glutamat salınımını azaltarak antikonvülsan etki gösterdiği bulunmuştur (Katona ve ark., 2006; Kawamura ve ark., 2006). Ancak yüksek dozlarda THC uygulanmasının GABAerjik akson terminallerindeki CB1 reseptörlerini uyararak nöbet eşik değerini düşürerek prokonvulsan etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Katona ve ark., 1999; Hoffman ve Lupica, 2000).

Tek başına uygulandığı zaman CB1 antagonistlerinin kimyasal ve elektriksel epilepsi modellerinde nöbet frekansını ve süresini arttırdığı (Wallace ve ark., 2003;

Deshpande ve ark., 2007; Vinogradova ve ark., 2011; Arslan ve ark., 2014; Kow ve ark., 2014) , hatta epileptik olmayan sağlıklı sıçanlarda kriptonenik nöbet duyarlılığını artırdığı bildirilmiştir (van Rijn ve ark., 2011). CB1 reseptörünün tüm hücrelerde bloklandığı ve glutaminerjik nöronlarda spesifik olarak sadece CB1 reseptörünün bloklandığı her iki deneysel hayvan modelinde de nöbetlerin şiddetinin arttığı gösterilmiştir (Marsicano ve ark.,2003; Monory ve ark., 2006; Kow ve ark., 2014; von Ru "den ve ark., 2015). Sıçanlarda oluşturulan pilokarpin modeli epilepside Δ9-THC'in (10 mg/kg), CB1 reseptör agonisti WIN55,212'nin (5 mg/kg) epileptik deşarjları tam olarak ortadan kaldırdığı, CB1 reseptör antagonisti SR141716A'nın ise hem nöbetin süresini hem de frekansını önemli oranda artırdığı bildirilmektedir (Wallace ve ark., 2003).

2.3.7. Non-Kanabinoid Reseptör ve Kanalların Endokanabinoid Reseptörlerle Olan İlişkisi

Farmakolojik kanıtlar henüz gruplandırılmayan başka bir nöronal kanabinoid reseptör alt tipinin varlığını göstermektedir (Freund et al., 2003). CB1/CB2 reseptör agonistleri ve antagonistleri, kendine özgü bir farkla endokanabinoid sistem için "farmakolojik parmak izi" gibidir. Ancak en azından şu ana kadar tarif edilen bazı ligandların CB1 ve CB2 reseptörlerinden bağımsız hareket ettiği yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bu durum bizlere üçüncü bir kanabinoid reseptör grubunun (CB3) var olabileceğini göstermektedir.

Non Kanabinoid G Protein Bağlı Reseptörler

GRP55

Guanosin, G proteini bağlanma bölgelerinin keşfi için kullanılan bir metottur. 5 - O- (3- thio) trifosfat (GTPγS) bağlama deneylerinde, HEK-293 hücrelerinden elde edilen membranlarda, G protein bağlı reseptör 55 (GRP55) keşfedilmiştir. Yapılan çalışmalarda anandamid, 2-AG, noladin eter ve virodhamin gibi endokanabinoidlerin GRP55' i aktive ettiği gösterilmiştir (Ryberg ve ark., 2007). Bu bileşiklerin EC₅₀ değerleri sırasıyla 18,3,10,12 nm'dur. Bunlardan her birinin GRP55 reseptörünü aktive etmesi CB1 ve CB2 reseptörünü aktive etmesinden daha zor olduğu görülmektedir. Ayrıca insan göbek bağı ven endotelinde ve HEK-293 hücre memebanında yapılan

çalışmalarda anandamidin GRP55'e bağlanmasıyla düşük miktarlarla da olsa Ca^{+2} mobilizasyonunu uyardığı da gösterilmiştir (Waldeck-Weiermair ve ark., 2008).

Tablo 3. a: Agonist b: Antagonist, c: Negatif allosterik modülasyonu d: Potentiation GPCR, G-protein kenetli reseptör; 2 AG, 2 arşidonil gliserol; AEA, anandamid; TRP, geçici reseptör potansiyeli; TRPM8, melastatin tip 8 TRP kanal; TRPV1, Vanilloid tip 1 TRP kanal; NMDA, N-metil -D-aspartat; 5-HT₃, 5-hidroksitriptamin 3; GPR55, G protein bağlı reseptör 55; Cav, Voltaj kapılı kalsiyum kanalı; K_{ATP}, potasyum ATPaz ile aktive olan K kanalı; K_{Ca}, kalsiyumun aktivasyonu ile aktive olan potasyum kanalı; K_v, voltaj kapılı potasyum kanalı

Reseptörün bulunduğu grup	Reseptörün adı	Endojen bileşik	Kaynaklar
GPCR	GPR55(a)	AEA, 2-AG, noladin ether, virodhamine	(Waldeck-Weiermair ve ark., 2008).
	5HT-3(b,c)	AEA	(Xiong ve ark., 2012)
Ligand kapılı iyon kanalı	Nikotinik asetilkolin(b)	AEA, 2-AG	(Oz ve ark., 2003, 2005)
	Glisin(d)	AEA, 2-AG	(Yang ve ark., 2008). (Lozovaya ve ark., 2005).
	Glutamat NMDA(d)	AEA	(Hampson ve ark.,1998)
TRP kanalları	TRPV1(a)	AEA, 2-AG	(De Petrocellis ve ark., 2001;Toth ve ark., 2011).
	TRPM8(b)	AEA	(De Petrocellis ve ark., 2007, 2012)
Voltaj kapılı iyon kanalı	T tipi Cav3 kanalları(b)	AEA	(Chemin ve ark., 2007; (Ross ve ark., 2009
	potasyum K _{ATP} (b)	AEA, 2-AG	(Oz ve ark., 2007)
	potasyum K _v (b)	AEA, 2-AG	(Vignali ve ark., 2009).
	potasyum K _{Ca} (a)	AEA	(White ve ark., 2001)

Ligand Kapılı İyon Kanalı

5-HT₃ Receptors

5-hidroksitriptamin 3 (5-HT₃/5-HT_{3A}) reseptörleri doğrudan anandamid tarafından antagonize edildiği gösterilmiştir (Xiong ve ark., 2012). Araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre bu antagonistik etki allosterik dolayısıyla rekabetçi olmayan bir etkidir.

Tablo 4. a:Radyoligandın bir bağlama bölgesinin bulunması, b:Negatif allosterik modülasyonu, c: Agonist ,d: γ - amino butirik asit potansiyelizasyonu, e: Antagonist GPCR, G-protein kenetli reseptör; TRP, geçici reseptör potansiyel; PPAR, peroksizom proliferatör ile aktive olan reseptör.

Reseptörün grup	bulunduğu	Reseptörün adı	Endojen bileşik	Kaynaklar
GPCR		Muskarinik M1 & M4 (a)	AEA	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
		Adenosine A3(b)	AEAb, 2-AGb	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
		5-HT1 & 5-HT2(a)	AEA	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
İyon Kanalları		Ligand-kapılı GABAA(d)	AEAb, 2-AG, noladin ether	(Sigel ve ark., 2011)
		TRPA1(c)	AEA	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
		L-type calcium Cav1(a)	AEA, 2-AG	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
		P-type calcium Cav2.1(e)	AEAb, 2-AG	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
		N-type calcium Cav2.2(e)	AEA	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
		Sodium Nav(a,b)	AEAc, 2-AG, NADA,	(Pertwee ve ark., 2010,derleme)
		Sodium Nav(e)	AEA, 2-AG	(Duan ve ark., 2008)
Nükler reseptör		PPAR α (a,c)	AEA	(Sun ve ark., 2007)
		PPAR γ (a)	AEAb, 2-AG	(Bouaboula ve ark., 2005)
		PAR γ (c)	AEAb, 2-AG	Bouaboula ve ark., 2005;Rockwell ve ark., 2006)
		PPAR δ (c)	AEAb, 2-AG	(Ghosh ve ark.,2007)

Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri

Anandamid ve 2-araşidonoilgliserolün hem rekabetçi olmayan hem de kanabinoid reseptör bağımsız bir şekilde, $\alpha 7$ nikotinik asetilkolin reseptörlerinin aktivasyonunu antagonize ettiği gösterilmiştir (Oz ve ark., 2003, 2005). Anandamidin bir metaboliti olan araşidonik asit, $\alpha 7$ nikotinik asetilkolin reseptörlerinin aktivasyonunu bloke ettiği bulunmuştur ancak bu etki anandamidin gösterdiği etkiden daha düşüktür. Anandamidin kanabinoid reseptöründen bağımsız bir şekilde, $\alpha 4\beta 2$ nikotinik asetilkolin reseptörlerinin aktivasyonunu antagonize ettiği gösterilmiştir (Butt ve ark., 2008).

Glisin reseptörleri

HEK-293 hücrelerinde anandamidin kanabinoid CB1 reseptöründen-bağımsız bir mekanizma ile glisin reseptör aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Yang ve ark., 2008). Sıçan omurilik nöronlarında yapılan çalışmalarda anandamidin CB1, CB2 ve vanilloid reseptörden bağımsız bir şekilde glisin reseptör aktivasyonunu artırdığı bulunmuştur (Xiong et al. 2012). Sıçanlardan izole edilen hipokampal nöronlarda anandamid ve 2- araşidonoilgliserolün glisin reseptörlerinin aktivasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Lozovaya et al. 2005).

İyonotropik glutamat NMDA reseptörleri

Anandamidin fare beyni korteksinin hipokampal dilimlerinde CB1 reseptör bağımsız bir şekilde iyonotropik glutamat, NMDA reseptör aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Hampson ve ark.,1998).

Geçici Reseptör Potansiyel Kanallar

TRPV1

Sıçanlarda yapılan çalışmalarda TRPV1 reseptörünün intrasellüler Ca^{+2} akımını artırdığı gösterilmiştir (Ross et al.. 2001). İnsan TRPV1 - transfekte edilmiş HEK -293 hücrelerinde hücre içi kalsiyum seviyeleri artar, benzer etkiyi kapsaisin de gösterir, kanabinoid reseptör antagonisti (SR141716A) ve TRPV1 reseptör antagonisti (kapsazepin) tarafından tamamen antagonize edilir (De Petrocelli ve ark., 2000, 2001). Anandamidin TRPV1 reseptör aktivasyonunu artırıcı etkisi CB1 reseptör antagonistleri AM251 ve SR141716A tarafından inhibe edilmiştir; bu inhibisyon muhtemelen CB1

reseptöründen bağımsız bir mekanizma ile gerçekleşmektedir (De Petrocellis ve ark., 2001;Toth ve ark., 2011).

Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları

T Tipi Cav3 Kalsiyum Kanalları

Anandamid T tipi Ca^{+2} kanallarını hedef almaktadır. Düşük voltajla aktive olan T tipi Ca^{+2} kanalları sinir sisteminde hücre gövdesi ve dendritlerde yoğun olarak bulunmaktadır. İnsanlarda klonlanan Cav3.1 ($\alpha 1G$), Cav3.2 ($\alpha 1H$) ve Cav3.3 ($\alpha 1I$) olmak üzere üç tip T tipi Ca^{+2} kanal alt tipi vardır. Endokanabinoidlerin Ca^{+2} akımını inhibe ederler. Anandamid türevi araşidonik asidin (AA) $\alpha 1H$ akımını inhibe ettiği raporlanmıştır (Chemin et al., 2007). Tüm hücre yama kısıkaçı yöntemi kullanarak HEK 293 (insan emriyonik böbrek) hücrelerinde ve fare duyu nöronlarında fitokanabinoidlerden; THC, kanabidiolün (CBD), N- araşidonoyldopamine Cav3 kanal alt tiplerine olan etkileri araştırılmış ve hem THC'nin hem de CBD'nin Cav3'ün her üç alt tipini inhibe ettiği ortaya konulmuştur (Ross et al., 2009).

Potasyum Kanalları

Metanandamid ve anandamidin kalsiyum ile aktive olan potasyum (KCa) kanallarını aktive ettiği, anandamidin K_{ATP} kanallarını inhibe ettiği (Oz ve ark., 2007), anandamid ve araşidonik asit tarafından voltaj kapılı potasyum kanallarının KV1.2 (Poling ve ark.,1996), KV1.5 (Barana ve ark., 2010), KV3.1 (Oliver ve ark., 2004) ve KV4.3 kanallarının ise anandamid ve metanandamid tarafından inhibe edildiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Amoros ve ark., 2010).

Sodyum Kanalları

Nicholson ve ark. (2003) , R -(+) WIN55212'in, Kim ve ark.,(2005) ise anandamidin voltaj kapılı Na^{+} kanallarını inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

2.4. Hemopressin

Hemoglobinin α zincirinden türeyen 9 aminoasitli bir nanopeptid olan hemopressin (PVNFKFLSH), 2003 yılında endopeptidaz 24.15 (thimet oligopeptidase), endopeptidaz 24.16 (neurolysin) ve anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) bir substrat (alt katman) olarak fare beyni homojenatından izole edilmiştir (Rioli ve ark., 2003). Heiman ve ark. (2007), konformasyon-durum duyarlı antikorları kullanarak fare beyinde ve adipoz dokusunda endojen peptid paneli taradıkları çalışmalarında, CB1 kanabinoid reseptörlerini selektif olarak bağlayan bir peptid ligandı olan hemopressini keşfettiler. Daha sonra Scrima ve ark. (2010), CD (dairesel dikroizm) ve NMR (nükleer manyetik rezonans) yöntemi kullanarak, hemopressinin yapısal analizini çalışmışlardır. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre enerji değerleri ve bağlanma ve kenetleme sabitlerine bakıldığında hemopressinin kanabinoid CB1 reseptörüyle etkileşime girdiğini ve CB1 reseptörüne bağlandığını kanıtlamışlardır. Hemopressinin beslenme davranışı üzerindeki etkisini inceleyen Dodd ve ark. (2010), CB1 reseptörleri bulunmayan farelerde hemopressinin farmakolojik etkileri gözlenmediğini buldular.

Hemopressinin, CB1 kanabinoid reseptörlerine selektif olarak bağlandığı ve CB2 reseptöründe dahil olmak üzere diğer G-protein ile ilişkili reseptör ailesini etkilemediği kesin olarak bilinmesine rağmen CB1 reseptör agonisti ya da antagonisti olduğu hala tartışmalıdır (Heimann ve ark., 2007, Dodd ve ark., 2010; Li ve ark., 2016). Heimann ve ark. (2007), yaptıkları çalışma da hemopressinin seçici CB1 reseptör antagonisti olarak bilinen SR141716 (rimonabant) ile karşılaştırmışlardır. Agonistin antikor tanıma artışında, hemopressinin SR141716' nin benzer bir şekilde davrandığını ve hemopressinin CB1 reseptörünün antagonisti olarak işlev görebilen doğal bir peptid ligandı olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Yapılan başka bir çalışma da hemopressin rimonabant gibi hem normal hem de obez fare modellerinde yemek alımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Dodd ve ark., 2010). Hemopressinin is.v uygulandığında anksiyojenik benzeri etkiler gösterdiği, CB1 reseptörü antagonisti AM251' in önlemediği görülmüştür. Pan ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada hemopressin CB1 reseptör ntagonisti WIN55,212-2 (7,5 benzer şekilde antinosiseptif etki gösterdiğini bulmuşlar ve hemopressinin CB1 reseptör agonisti gibi davrandığı ileri sürülmüştür.

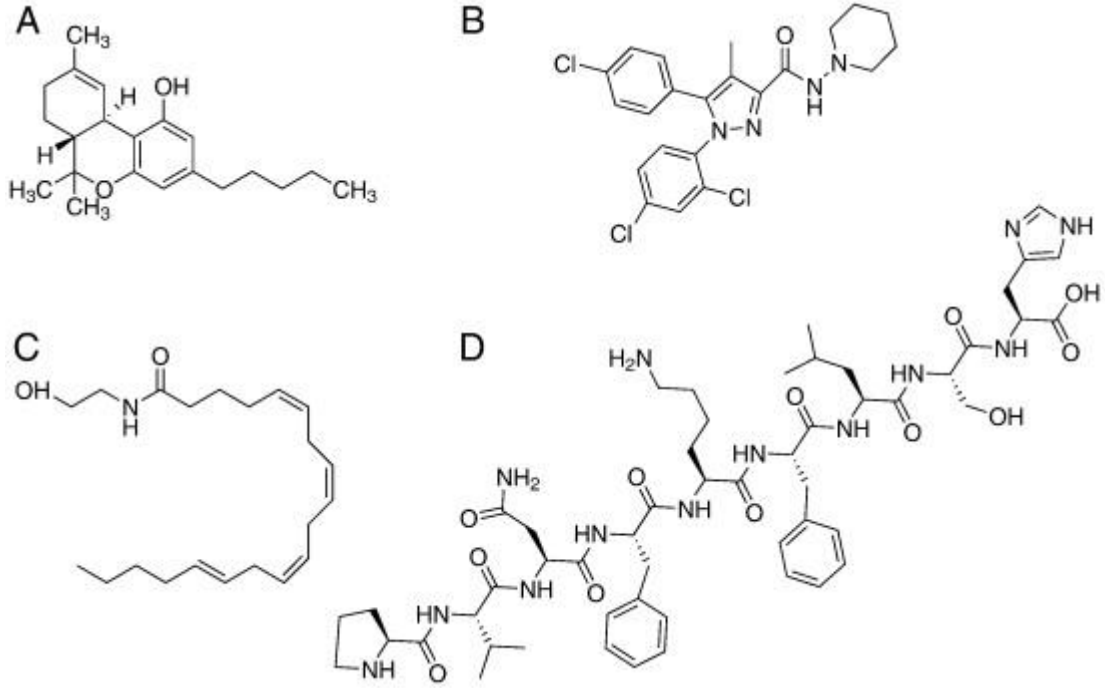
Yine başka bir çalışmada hemopressinin WIN55,212-benzer şekilde gastrointestinal motiliteyi baskıladığı görülmüştür (Li ve ark., 2016).

2.4.1. Hemopressinin Sistemik Uygulamasına Yanıt Veren Beyin Bölgeleri

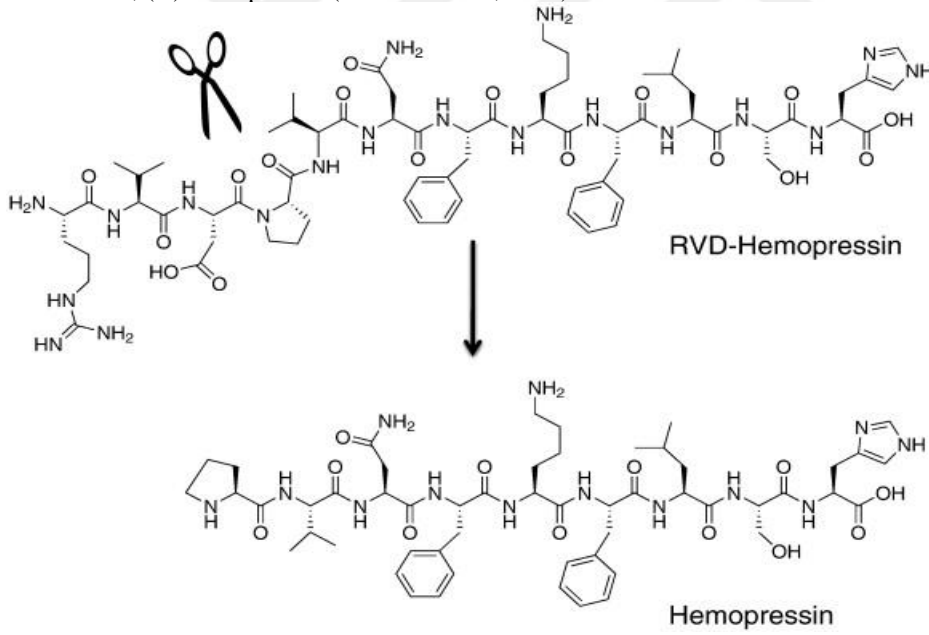
Hemopressinin fizyolojik etkilerine aracılık eden nöronal devreleri çözmek için kan oksijen seviyesine bağlı manyetik rezonans görüntülemeyi (pHMRI) ve c-Fos işlevsel aktivite haritalaması ile kombine ederek, hemopressinin sistemik uygulamasına yanıt veren beyin bölgelerini ve sentetik CB1 antagonisti AM-251 ile karşılaştırarak araştırmışlardır (Dodd ve ark., 2013). Hemopressinin, esasen mediobazal hipotalamusun beslenme ile ilişkili devrelerinde ve periaküduktal gri ve dorsal raphe, santral amigdala, talamus gibi bölgelerinde aktivitesinin olduğu, basal ganglionlarda hiç aktivitesinin olmadığı görülmüştür (Dodd ve ark., 2013).

2.4.2. Hemopressin Peptidinin N-terminal Uzantısı

Başlangıçta, hemopressin, beyin ekstrelerinde alfa hemoglobin zincirinden türeyen bir nanopeptid olarak tanımlanmıştır. Daha sonraki yapılan çalışmalarda dizilim sekansları hemopressine benzeyen 3 tane hemoglobin türevi peptid (RVD-Hpa, VD-Hpa, and VD-Hpb) gösterilmiştir. Hemopressin N-terminali uzatma peptidleri, RVD-hemopressin ve VD-hemopressin, daha sonra CB1 agonistleri olarak tanımlanmış ve rapor edilmiştir (Gomes ve ark., 2009). Sadece iki veya üç kalıntıdaki fark hemopressin peptidlerin antagonist veya agonist olup olmadığını belirlemektedir. Aşağıdaki şekilde gösterilmiştir (Şekil 14). Endojen ve sentetik kanabinoid ligandların ortak bir farmakofor olmaksızın büyük kimyasal farklılık sergilediği gösterilmiştir.



Şekil 14. CB1 ligandları: (A) ⁹-tetrahydrocannabinol (9-THC); (B) rimonabant (SR141716); (C) anandamide; (D) hemopressin (Gomes ve ark., 2009)



Şekil 15. RVD-Hemopressin ve hemopressin kimyasal yapısı (Gomes ve ark., 2009)

2.4.3. Hemopressin peptidlerinin üretimi ve düzenlenmesi

Hemopressin peptidlerinin, keseciklerin içinde depolanan ve hücre stimülasyonu ile salınan klasik nöropeptidlerden farklı olduğu gösterilmiştir. Açıkçası, onların nasıl, ne zaman ve nerede üretildiği, hedeflerine nasıl transfer edildiği ve üretimlerinin nasıl düzenlendiği ile ilgili çok az şey bilinmektedir. Hemopressin

peptidlerin, hemoglobin kaynağı ve lokasyonu bilinmemesine rağmen büyük ihtimalle hemoglobinin proteasomal yıkımı sayesinde üretilmektedir. Hemoglobin α zinciri mRNA ve proteini, non-eritrosit hücrelerde ve nöronlarda bulunduğu gösterilmiştir (Gomes ve ark., 2010). Ayrıca yaygın iskemide hemoglobinden hemopressin peptid üretiminin olduğu gösterilmiştir (Gomes ve ark., 2009).

Hemopressin'in ilk keşfinde rapor edildiği gibi, peptid üç proetazın substratıdır (ep24.15, 24.16 ve ACE), fakat bunların rolleri tam olarak ortaya konulamamıştır. Peptidlerin proteolizi, peptidleri fizyolojik olarak gerekli olan daha küçük peptidlere bölmeye yarar. Hemopressinin ep24.15 ve ep24.16 peptidaz tarafından daha küçük üç parçaya ayrıldığı (PVNF, PVNFK, ve PVNFKF) görülmektedir (Rioli ve ark., 2003). PVNFKFL adı verilen küçük fragmanın farelerde ve tavşanlarda kan basıncının düşürülmesinde başarısız olduğu gösterilmiştir (Blais ve ark., 2005). Ayrıca nanopeptidin PVNFKF CB1 reseptörüne bağlanmak için gerekli olduğu ve C-terminalinde üç kalıntının silinmesinin reseptörün algılanmasını etkilemediği bulunmuştur (Heimann ve ark., 2007). Hemopressinin bu küçük fragmanlarının fizyolojik gerekliliği tam olarak belli değildir.

2.4.4. Hemopressinin Fizyolojik Etkileri

Hemopressin'in farelerde, sıçanlarda ve tavşanlarda zayıf fakat doza bağlı olarak hipotansif etki gösterdiği rapor edilmiştir (Rioli ve ark., 2003; Blais ve ark., 2005). Yapılan başka bir çalışmada; hemopressin izole edilmiş sıçan aort ve pulmoner arter üzerine doğrudan kontraktıl ve gevşetici aktivitesinin olmadığı, hemopressinin vazodilatör etkisinin yaşla değiştiğini göstermişlerdir (Lippton ve ark., 2006).

Yükseltilmiş artı labirent testi kullanılarak wistar sıçanlarda hemopressinin olası davranışsal etkinliğini araştırmışlardır. Hemopressinin anksiyojenik etki gösterdiğini bu etkiyi TRPV1 antagonisti 6-iyodonordihidrokapasazisin' nin (SB366791) önlediği, AM-251' in ise değiştirmedeği görülmüştür. Bu verilere dayanarak hemopressinin i.c.v uygulanmasının TRPV1 reseptörlerini aktive ederek anksiyojenik etki gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (Fogaça ve ark., 2014)

Bir başka çalışmada hemopressinin i.s.v uygulanmasının farelerde gastrointestinal motileyi inhibe ettiğini ve bu etkinin selektif CB1 reseptör antagonisti AM-251 tarafından ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir (Li XH ve ark., 2016).

Yapılan *in vivo* çalışmalarda, hemopressin uygulanmasının farelerde ciddi non-opiyoid antinosiseptif etkilere yol açtığı (Dale ve ark., 2005; Heiman ve ark., 2007) ve hipotermi, katalepsi ve hipoaktivite gibi yan etkiler görülmediği gösterilmiştir (Rahn ve Hohmann, 2009; Hama ve Sagen, 2011;). Oral olarak uygulanan hemopressinin, karajenan ile indüklenen hiperaljezi etkin bir şekilde bloke ettiği gösterilmiştir (Heiman ve ark., 2007). Asetik asit ile indüklenen viseral ağrı modelinde, hemopressinin belirgin bir antinosiseptif etki gösterdiğini bulmuşlardır (Heiman ve ark., 2007). Siyatik sinirin kronik daraltma yaralanmasına maruz bırakılan sıçanlarda hemopressinin nöropatik ağrı üzerine etkisini ve ilgili mekanizmalarını araştırdıkları çalışmada, hemopressinin oral yoldan verilmesi kronik daraltma yaralanma modelinde sıçanlarının mekanik hiperaljezisini 6 saate kadar inhibe ettiği gösterilmiştir (Toniolo ve ark., 2014).

Hemopressin'in normal ve obez hayvan modellerinde ödül yolağını baskılamadan herhangi bir gözle görünen olumsuz yan etkiye yol açmaksızın kan beyin bariyerini geçerek iştahı baskıladığı gösterilmiştir (Dodd ve ark., 2010). MR görüntüleme ile c-Fos işlevsel aktivite haritalandırmasını birleştirerek sistemik uygulanan hemopressine yanıt veren beyin bölgelerini araştırdıkları çalışma da; hemopressin mediobazal hipotalamusun yeme ilişkili beyin nükleusları ile periakvaduktal gri ve dorsal raphe nükleuslarında bulunduğunu göstermişlerdir (Dodd ve ark., 2013). Bu durum hemopressinin iştah ve inen ağrı yollarında etki ederken daha yüksek limbik yapılarda etki etmediğini kanıtlamaktadır (Dodd ve ark., 2013).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. DENEY HAYVANLARI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deneysel Hayvanlar Etik Kurulu'ndan onayı alınan (2014-HAYDEK-16) çalışmamızda, deneyler için ortalama 210 ± 10 gr ağırlığında 144 adet erkek Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar bu merkezde sabit ısı bir odada ($20 \pm 3^\circ\text{C}$), 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsünde, yiyecek ve su alımları serbest bırakılarak kontrol altında tutuldular. Hayvanlar deneysel çalışmalardan yaklaşık 1 hafta önce araştırma merkezinden alınıp Anabilim Dalımızdaki hayvan laboratuvarında aynı şartlar sağlanarak kontrol altında tutuldular. Deneysel araştırma standartlarına uymayan hayvanlar çalışma dışı bırakıldı.

3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

Penisilin G Potasyum: Deneysel epilepsi oluşturmak için kullanılan GABA blokörü antibiyotik.

Moleküler formülü: $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{KN}_2\text{O}_4\text{S}$ (İ.E. Ulagay 1.000.000 Ünite)

Moleküler ağırlığı: 372,48 g/mol

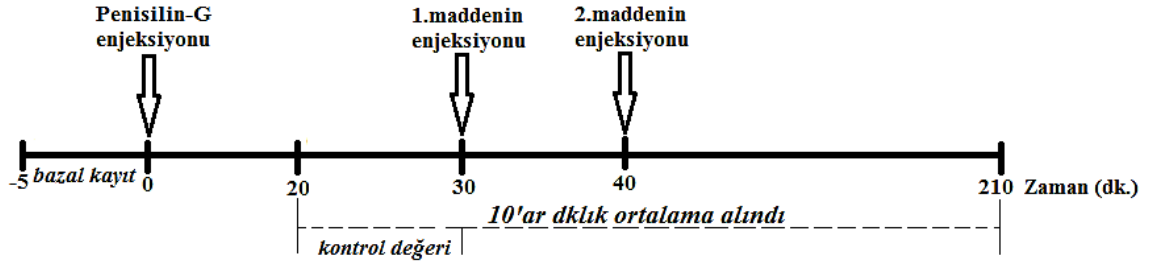
Uygulanma şekli: Epileptiform aktivite oluşturmak üzere deneyden hemen önce 67 mg penisilin G potasyum 0,5 ml distile suda 200 Uluslararası Birim (IU) / μl olacak şekilde çözüldü. Oluşan çözeltiden Hamilton mikroenjektör ile çekilen 2,5 μl hacimdeki (500 IU) penisilin G potasyum beyin korteksine, bregmadan 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 2 mm ventral koordinatlarda olacak şekilde intrakortikal (i.k.) yolla enjekte edildi.

AM251:(1-(2,4-Dichlorophenyl)-5-(4-iodophenyl)-4-methyl-N-1-piperidinyl-1Hpyrazole-3-carboxamide)

Moleküler formülü: $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{OCl}_2\text{I}$

Moleküler ağırlığı: 555,24 g/mol

Uygulanma şekli: Penisilin G potasyumun uygulamasından 30 dk sonra, aşağıdaki şekilde (Şekil 16) görülen protokole göre deney gruplarında ya birinci veya ikinci madde olarak Hamilton mikroenjektörü ile 2 μl hacim içerisinde 0,125 μg ve 0,25 μg dozunda i.s.v. yolla verildi. Çözücü olarak Dimetil Sülfoksit (DMSO) ve serum fizyolojik (SF) kullanıldı, (DMSO /SF 3: 7 hacim / hacim, sırasıyla).



Şekil 16. Deney zaman çizelgesi (Uçar, 2015)

ACEA: (Araşidonyl-2- chloroethylamide hydrate)

Moleküler formülü: C₂₂H₃₆CINO. xH₂O

Moleküler ağırlığı: 365,98 g/mol

Uygulanma şekli: Penisilin G potasyumun uygulamasından 30 dk sonra, yukarıdaki şekilde (Şekil 16) görülen protokole göre deney gruplarında ya birinci veya ikinci madde olarak Hamilton mikroenjektörü ile 1 µl hacim içerisinde 2,5 µg ve 7,5 µg dozunda i.s.v yolla verildi. Çözücü olarak DMSO ve SF kullanıldı (DMSO/SF 3: 7 hacim / hacim, sırasıyla)

Hemopressin: PVNFKFLSH

Moleküler formülü: C₅₃H₇₇N₁₃O₁₂

Moleküler ağırlığı: 1088,25 g/mol

Uygulanma şekli: Etkin doz belirleme çalışmalarında penisilin G potasyumun uygulanmasından 30 dk. sonra 0,025 µg, 0,075 µg, 0,15 µg, 0,3 µg, 0,6 µg, 1,2 µg ve 2,4 µg dozlarında 2 µl hacim içinde i.s.v. olarak enjekte edildi. Etkileşim deneylerinde ise, penisilin G potasyumun uygulanmasından 30.dk sonra yukarıdaki şekilde (Şekil 16) görülen protokole göre deney gruplarında ya birinci veya ikinci madde olarak Hamilton mikroenjektörü ile 0,025 µg/2µl ve 0,6 µg/2µl hacimde i.s.v. yolla enjekte edildi. Çözücü olarak SF kullanıldı. Hemopressin çözeltileri 0,2 ml' lik küçük ependorf tüplere konularak deney gününe kadar -20 °C' de saklandı.

3.3. Cerrahi İşlem

Sıçanlar operasyondan 1 gün önce aç bırakıldı. Anestezi, deneyden hemen önce hazırlanan üretanın (% 25'lik solusyon) 1,25 g/kg dozda intraperitoneal (i.p) yoldan uygulanmasıyla oluşturuldu. Anestezili sıçanlar başı, kulakları ve dişlerinden sabitleştirilerek stereotaksik alete yerleştirildi. Kafa derisi üzerindeki tüyler tıraş edildi. Kafa derisi orta hattan bisturi ile kesilerek yanlara açıldı. Kafa kemiğinin periostu

kazınarak uzaklaştırıldı ve varsa küçük kanama odakları elektrokoter vasıtasıyla koterize edilerek kanama önleildi. Bundan sonra (bregma noktası: frontal kemik ile pariyetal kemiklerin birleşme noktası) belirlendi. Stereotaksik cihaz ile bregma referans alınarak 0,2 mm çapında 4 adet delik mikrodirel yardımıyla açıldı. Bu işlem sırasında kemik dokuda meydana gelebilecek kanamalar bonewax (kemik mumu) (W810, ETHİCON) ile engellendi. Sıçanların vücut ısıları elektrikli battaniye (Harvard 7087) ile sabit tutuldu.

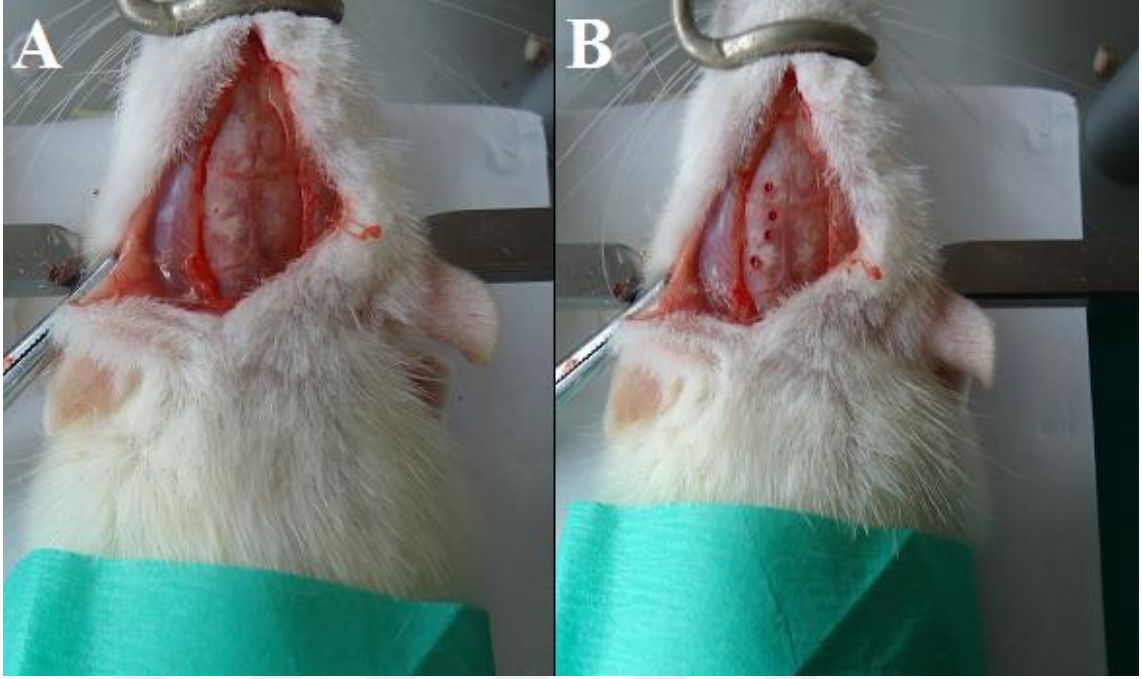
1. Delik: Bregmanın 3 mm lateral, 4 mm rostralinde

2. Delik: Bregmanın 3 mm lateral, 4 mm kaudalinde

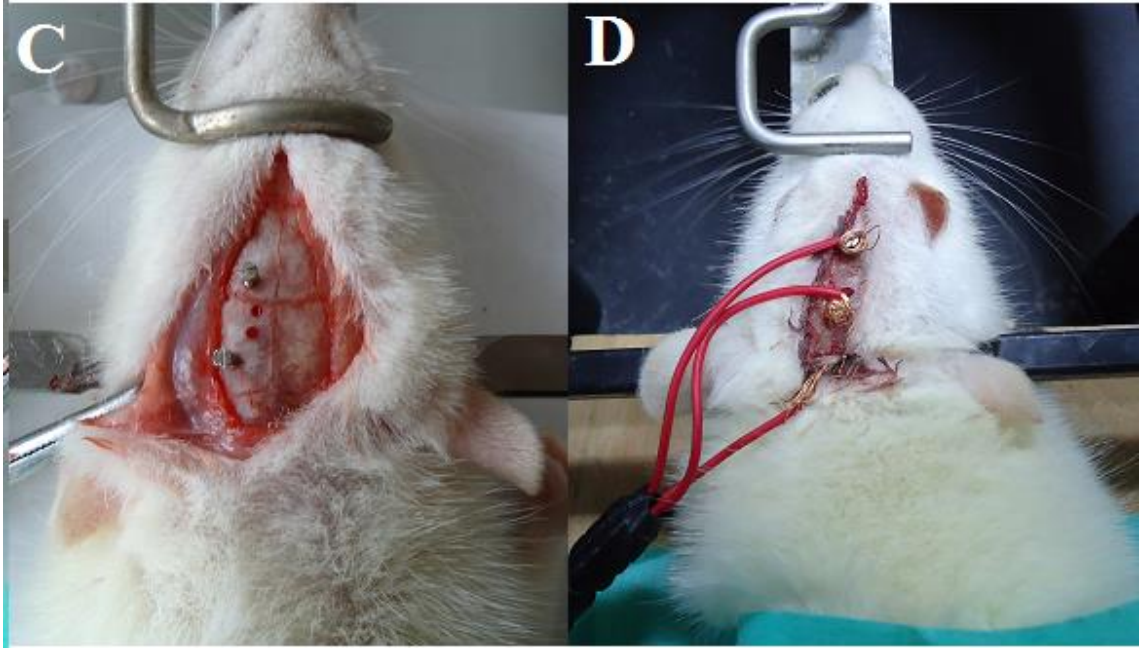
Açılan 1. ve 2. deliklere özel yapım paslanmaz çelik vidalar yerleştirildi Vidalar vertikal yönde 1 mm derine ilerletildi. Daha sonra bu vidalara bakır teller sarılarak Powerlab veri kazanım sistemine bağlandı.

3. Delik: Bregmanın 2 mm lateral ve 2 mm rostralinde açıldı. Açılan bu delikten Hamilton mikroenjektörü aracılığıyla kafatası kemiğinden itibaren 3,2 mm derinliğe i.k olarak penisilin enjeksiyonu uygulandı (Şekil 19).

4. Delik: Bregmanın 1,1 mm lateral ve 1,5 mm rostralinde açıldı. Açılan bu delikten de Hamilton mikroenjektörü aracılığıyla kafatası kemiğinden itibaren 4,2 mm derinliğe i.s.v olarak (belirtilen dozlarda) kimyasal maddeler (AM251, ACEA ve hemopressin) uygulandı.



Şekil 17. A) Sıçan kafatası kemiği üzerindeki tendon ve fasyalar uzaklaştırıldıktan sonra alınan görüntü
B) Kayıt alınması, i.k ve i.s.v enjeksiyonlar için belirlenen koordinatlarda açılan delikler



Şekil 18. C) Kayıt alınabilmesi için çelik vidaların belirli koordinatlara göre yerleşimi. **D)** Bakır tellerin pozitif ve negatif elektrotlar için yerleştirilen çelik vidalara ve toprak elektrot için deri yüzeyine tutturularak Powerlab veri kazanım sistemine bağlanması



Şekil 19. Hamilton mikroenjektör ile intrakortikal enjeksiyonun yapılışı

3.4. Deney Grupları

Anestezi altındaki sıçanlarda, penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinde endojen bir peptit olan hemopressinin etkin dozunu belirlemek için 0,025 µg, 0,075 µg, 0,15 µg, 0,3 µg, 0,6 µg, 1,2 µg ve 2,4 µg dozları 2 µl hacimde i.s.v. olarak uygulandı. CB1 reseptör agonisti ACEA ve antagonisti AM-251'in penisilin modelinde epileptik aktivite üzerine etkilerini açıklamak için ACEA'nın etkin dozu 7,5 µg (i.s.v) ve AM-251'in etkin dozu 0,25 µg (i.s.v.) kullanıldı. Bu maddelerin etkin dozları laboratuvarımızda daha önce yapılmış olan bir çalışmanın verilerine dayanarak seçildi (Kozan ve ark., 2009). Ardından da iki sistemin birbiri ile etkileşimini incelemek için hemopressin ile kanabinoid reseptör agonistleri ve antagonistleri kombine edilerek yukarıdaki şekildeki gibi çalışıldı (Şekil 16).

Deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

- 1. Herhangi bir madde uygulanmayan grup:** Herhangi bir madde uygulanmadan, 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).
- 2. Sham grubu:** 2,5 µl SF i.k. yolla penisilin enjeksiyonlarının yapıldığı koordinatlar üzerinden sol somatomotor kortekse uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n= 6).
- 3. Penisilin (500 IU) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).
- 4. Penisilin (500 IU) + AM251 (0,125 µg) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra AM251 0,125 µg dozda (i.s.v) uygulandı ve üç saat ECoG kaydı alındı (n=6).
- 5. Penisilin (500 IU) + AM251 (0,25 µg) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra AM251 0,25 µg dozda (i.k.) uygulandı ve üç saat ECoG kaydı alındı (n=6).
- 6. Penisilin (500 IU) + ACEA (2,5 µg) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra ACEA 2,5 µg dozda (i.s.v) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).
- 7. Penisilin (500 IU) + ACEA (7,5 µg) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra ACEA 7,5 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

8. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,025 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,025 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

9. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,075 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,075 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

10. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,15 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,15 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

11. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,3 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,3 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

12. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,6 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,6 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

13. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (1,2 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 1,2 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

Alınan kayıtların analizi sonucunda hemopressinin etkin dozunun 0,6 µg (i.s.v.) ve etkisiz dozunun da 0,025 µg (i.s.v.) olduğu tespit edildikten sonra diğer etkileşim deney grupları çalışıldı.

14. Penisilin (500 IU) + AM251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. AM251 0,25 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. AM251' den 10 dk sonra ACEA 7,5 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

15. Penisilin (500 IU) + ACEA (7,5 µg) + Hemopressin (0,6 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra ACEA 7,5 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. ACEA'dan 10 dk. sonra hemopressin 0,6 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

16. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,6 µg dozda (i.s.v.)

uygulandı. Hemopressinden 10 dk. sonra ACEA 7,5 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

17. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,6 µg) + AM251 (0,25 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,6 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. Hemopressinden 10 dk. sonra AM251 0,25 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

18. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,025 µg) + AM251 (0,125 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0,025 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. Hemopressinden 10 dk. sonra AM251 0,125 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

19. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,6 µg) + AM251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0.6 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. Hemopressinden 10 dk. sonra AM251 0,25 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. AM251' den 10 dakika sonra ACEA 7,5 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

20. Penisilin (500 IU) + Hemopressin (0,025 µg) + AM251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) grubu: 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra hemopressin 0.025 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. Hemopressinden 10 dk. sonra AM251 0,125 µg dozda (i.s.v.) uygulandı. AM251' den 10 dakika sonra ACEA 7,5 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=6).

21. DMSO (2,5 µl) grubu: Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra 2,5 µl DMSO i.s.v. uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı kaydı alındı (n= 6).

22. Hemopressin (0,6 µg) grubu: Tek başına hemopressin 0,6 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat ECoG kaydı alındı (n=6).

23. ACEA (7,5 µg) grubu: Tek başına ACEA 7,5 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat ECoG kaydı alındı (n=6).

24. AM251 (0,25 µg) grubu: Tek başına AM251 0,25 µg dozda (i.s.v.) uygulandı ve üç saat ECoG kaydı alındı (n=6).

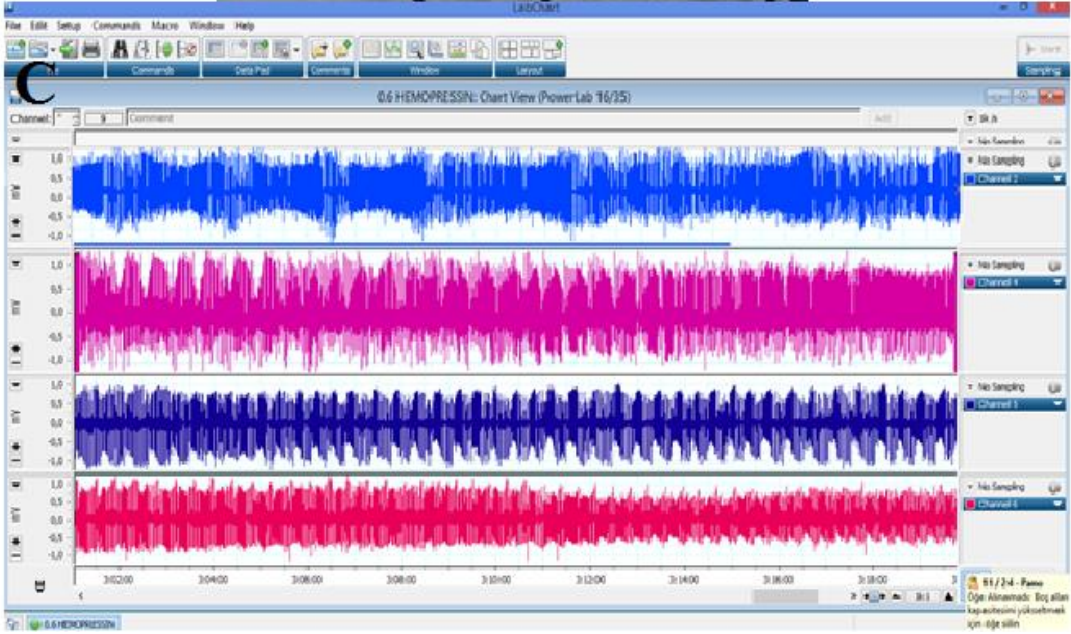
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtların Alınması ve Değerlendirilmesi

Deneylerde kullanılan tüm sıçanların önce 5 dakikalık bazal aktivite ECoG kaydı alındıktan sonra intrakortikal penisilin G potasyum (500 IU, 2,5 µl) enjeksiyonu yapıldı ve sonrasında 2-5 dk. içinde ECoG'da epileptiform aktivite oluştu. Epileptiform aktivitenin amplitüdü ve frekansı 20-30 dk. içinde kararlı bir düzeye ulaştı ve bu aktivite 3-4 saat kadar devam etti. Bundan dolayı uygulanan kimyasal maddelerden ilki penisilinden 30 dk. sonra, takip eden enjeksiyonlar da 10 dk. arayla yapıldı. İlk maddenin enjeksiyonundan sonra 3 saat kayıt alındı ve kayıt sonlandırıldı. Alınan ECoG kayıtları online olarak PowerLab 16/35 veri kazanım sistemi ile bilgisayara kaydedildi ve depolandı (Şekil 20).



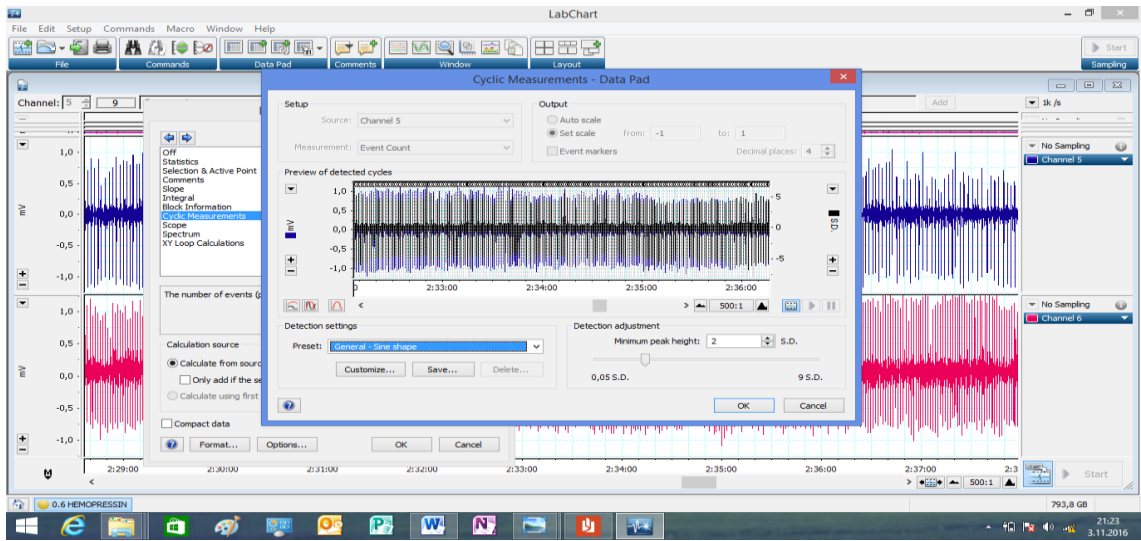


B



Şekil 20. A) Powerlab veri kazanım sistemine bağlanmış 4 tane sıçandan alınan kayıt görüntüsü. B) 16 kanallı Powerlab veri kazanım sistemi ve bağlantıları C) ECoG kayıtlarının eldesinde kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü

Powerlab sistemi ile kaydedilen veriler Labchart v7.3.7 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı epileptik spikelerin frekans ve amplitüdlerini ölçme imkanı vermektedir. Bu analiz programının veri analiz menüsünde, normal bazal beyin aktivitesinden epileptik diken dalga aktivitesinin ayrılmasını sağlayan “spike şekli” seçeneğinden eşik seviye belirlendi. Eşik seviyenin belirlenmesinde epilepsi oluşturulmadan önce kayıt edilen normal bazal beyin aktivitesi ölçü olarak alındı. Böylece program yalnızca epilepsi ile ortaya çıkan diken dalgaların frekans ve amplitüdlerini ölçme imkanı sağlamış oldu. Bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık bölümlere ayrıldı. Her dakika başına düşen spike sayısı, spikelerin ortalama amplitüdüleri (peak to peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 21). Penisilin uygulanmasından sonraki 30 dakikalık bölümün, son 10 dakikası (20-30. dakikalar arası) sıfır noktası olarak kabul edildi. Yüzde değişim hesaplamaları yapılırken bu 10 dakikadaki spike sayısı toplamı 10’a bölündü ve elde edilen değer %100 olarak kabul edildi. 30-40. dakikalar arasındaki spike sayısı 10. dakika, 40-50. dakikalar arası 20. dakika olarak kabul edildi ve bu şekilde devam edilerek 180 dakikalık ECoG kayıt analizi tamamlandı. Amplitüd hesaplamaları da aynı şekilde elde edildi. Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan elde edilen kayıtlar için bu hesaplama ayrı ayrı yapıldı. Analizlerden elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS (v16.0) programına aktarıldı.



Şekil 21. Spikelerin frekans ve amplitüd değerlerinin hesaplanması

3.6. İstatistiksel Analizler

Bütün elektrofizyolojik kayıtlar rakamsal verilere dönüştürüldükten sonra bu veriler, SPSS 16,0 yazılımı kullanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. İlk olarak elde edilen verilerinin normal dağılıma uyup-uymadığını belirlemek için Kolmogorov-Smirnov testi uygulandı. Normal dağılan verilerin analizinde, gruplar arası farklılıkların tespit edilmesi amacıyla varyansların homojen olduğu durumlarda Post-Hoc Tukey, heterojen olduğu durumlarda ise Post-Hoc Tamhane's T2 analizleri kullanıldı (One-Way Anova Post-Hoc Tukey / Tamhane Test). Normal dağılıma uymayan verilerin analizi için ise gruplar arasındaki fark Kruskal Wallis varyans analizi ile belirlendikten sonra Mann-Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar yapıldı. Post hoc test için $p < 0,05$ anlamlı kabul edilirken, non-parametrik analizlerde p değerini belirlemek için Bonferroni düzeltmesi uygulandı.

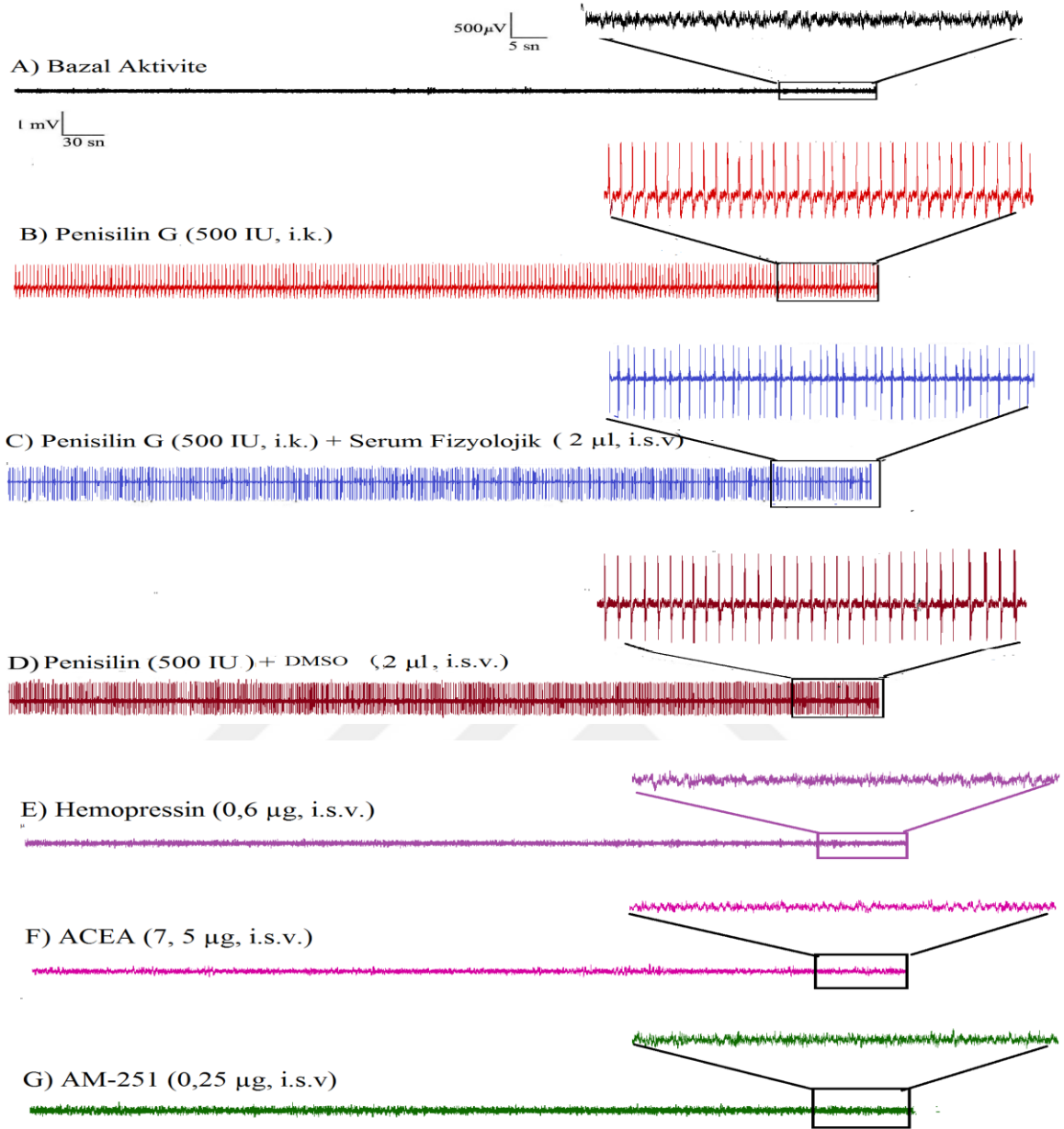
Grafik ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler ortalama \pm standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Testlerden elde edilen sonuçlara göre p değeri 0,05'in altında olan farklılıklar anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Sunulan çalışmada penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine hemopressinin etkisi incelendi ve etkin dozu tespit edildi. Ayrıca epileptiform aktivite üzerine, kanabinoid CB1reseptör agonisti ACEA'nın ve antagonisti AM-251'in etkileri ile bu agonist ve antagonistin hemopressinle etkileşimi araştırıldı.

4.1. Penisilin İle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Deneylerde kullanılan bütün sıçanlardan öncelikle bazal ECoG aktivite kayıtları alındı (Şekil 22A). Epileptiform aktivite oluşturmak amacıyla 500 IU Penisilin-G 2,5 µl hacimde i.k. olarak uygulandı. Penisilin uygulamasını takiben 3-5 dakika (latent süre) içinde bilateral spike (diken) dalga kompleksleri ortaya çıktı. Epileptiform aktivitenin spike frekansları ve amplitüdü, enjeksiyondan 20-30 dakika sonra kararlı bir seviyeye ulaştı ve kararlı durum 210 dakika boyunca devam etti (Şekil 22B). Penisilin SF ile çözüldüğü için SF'in i.s.v. enjeksiyonunun penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine etkisinin olup olmadığı incelendi. Bunun için 500 IU Penisilin-G 2,5 µl hacimde i.k. olarak uygulandı, epileptik aktivite yaklaşık 20-30. dakikada kararlı hale geldi ve bu dakikada i.s.v olarak serum fizyolojik (SF; 2 µl) enjeksiyonu yapıldı. SF enjeksiyonundan sonraki 180 dakika boyunca ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$), (Şekil 22C, 24 ve 25). Sıfırıncı dakikadaki (kararlı duruma geçiş zamanı = Penisilin-G (500 IU) enjeksiyonundan sonraki 30. dakika, tabloda 0.dakika olarak yer almaktadır) hesaplanan ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $42,01\pm0,03$ spike/dk; $1051,05\pm30,81$ µV iken, SF enjeksiyonundan sonraki 90. dakikada sırasıyla $37,54\pm3,21$ spike/dk; $932,97\pm30,24$ µV ve yine SF enjeksiyonundan sonraki 180. dakikada sırasıyla $36,20\pm2,09$ spike/dk; $850,64\pm54,89$ µV olarak bulundu (Tablo 5 ve 6). Penisilin enjeksiyonu ile ilk epileptik aktivitenin ortaya çıktığı süre (latens) açısından deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$), sonraki 30 dakika içinde kaydedilen epileptik aktivitenin spike frekansı ve amplitüdü açısından anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$). Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika DMSO (2 µl, i.s.v.) uygulandığında da epileptiform aktivitenin değişmediği görüldü. Deneylerde kullanılan hemopressin, AM-251 ve ACEA'nın tek başlarına uygulandıklarında epileptik aktivite oluşturmadıkları ve bazal aktiviteyi değiştirmedikleri gözlemlendi.



Şekil 22. Kontrol gruplarının ECoG kayıtları. A) Bazal aktivite. B) 500 IU (2,5 µl) penisilinin (i.k.) enjeksiyonundan 90. dakika sonra alınan örnek ECoG kaydı. 500 IU (2,5 µl) penisilinin i.k. olarak uygulanmasından sonra bilateral spikeler ve spike-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktivite oluştu. C) İ.s.v. enjeksiyonun penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine etkisini incelemek için yapılan serum fizyolojik (2 µl) enjeksiyonundan 90. dakika sonra alınan örnek ECoG kaydı. 500 IU (2,5 µl) penisilin enjeksiyonundan sonra 20-30. dakikada epileptiform aktivite kararlı hale geldi, bu dakikada serum fizyolojinin (2 µl) i.s.v. olarak uygulanması kayıt boyunca epileptiform aktiviteyi değiştirmedir (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; D) Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra DMSO (2 µl; i.s.v.) uygulandı, epileptiform aktivitenin değişmediği görüldü. E) Hemopressin (0,6 µg; i.s.v.) uygulandı, epileptiform aktivite oluşturmadığı görüldü. F) ACEA (7,5 µg; i.s.v.) uygulandı, epileptiform aktivite oluşturmadığı görüldü. G) AM-251 (0,25 µg; i.s.v.) uygulandı, epileptiform aktivite oluşturmadığı görüldü, Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye).

4.2. Kanabinoid CB1 Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

4.2.1. Hemopressinin (Hp) Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda hemopressinin kanabinoid CB1 reseptörüne selektif olarak bağlandığı kanıtlanmakla beraber, CB1 reseptörünün agonisti ya da antagonisti olup olmadığı tartışma konusu olmuştur. 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dakika sonra her gruba sırasıyla; 0,025 µg, 0,75 µg, 0,15 µg, 0,3 µg, 0,6 µg, 1,2 µg, 2,4 µg dozlarında hemopressin i.s.v. olarak uygulandı ve epileptiform aktivite üzerine etkisi incelendi.

Hp'nin 0,025 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dakika sonra Hp 0,025 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. Doksanıncı dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri kontrol (penisilin) grubunda sırasıyla 37,54±3,21 spike/dk; 932,97±30,24 µV iken Hp (0,025 µg) grubunda 42,00±3,07 spike/dk; 820,90±45,77 µV idi (Şekil 23C), (Tablo 5 ve 6). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca Hp (0,025 µg) grubunun kontrol (penisilin) grubuna göre ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$), (Şekil 26 ve 27).

Hp'nin 0,075 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dakika sonra Hp 0,075 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. 110. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri kontrol (penisilin) grubunda sırasıyla 38,40±3,23 spike/dk; 928,96±35,18 iken Hp (0,075 µg), grubunda 55,26±2,66 spike/dk; 998,94±37,99 µV idi (Şekil 23C), (Tablo 5 ve 6). Hp (0,075 µg) grubunun ortalama spike frekansında, kontrol (penisilin) grubuna göre 110. dakikadan itibaren anlamlı bir artış saptandı ($p<0,05$), (Şekil 26). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike amplitüd değerlerinde ise kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 27).

Hp'nin 0,15 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra Hp 0,15 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. 50. dakikadaki ortalama spike frekansı ve amplitüd değerleri kontrol (penisilin) grubunda sırasıyla 38,60±2,84 spike/dk; 952,18±45,31 µV

iken Hp (0,15 µg), grubunda 51,30±1,65 spike/dk; 880,50±32,16 µV idi (Şekil 23D), (Tablo 5 ve 6). Hp grubunun ortalama spike frekansında, kontrol (penisilin) grubuna göre 50. dakikadan itibaren anlamlı bir artış saptandı (p<0,05), (Şekil 24). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05), (Şekil 25).

Hp'nin 0,3 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra Hp 0,3 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. 50. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri kontrol (penisilin) grubunda sırasıyla 38,60±2,84 spike/dk; 952,18±45,31 µV iken Hp (0,3 µg) grubunda 51,61±1,72 spike/dk; 1096,96±35,39 µV idi (Şekil 23E), (Tablo 5 ve 6). Hp (0,3 µg) grubunun ortalama spike frekansında, kontrol (penisilin) grubuna göre 50. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı (p<0,01), (Şekil 24). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05), (Şekil 25).

Hp'nin 0,6 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra Hp 0,6 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. 30. dakikadaki ortalama spike frekansı ve amplitüd değerleri kontrol (penisilin) grubunda sırasıyla 39,45±2,85 spike/dk; 981,65±17,10 µV iken Hp (0,6 µg), grubunda 58,65±3,86 spike/dk; 1063,94±65,73 µV idi (Şekil 23F), (Tablo 5 ve 6). Hp (0,6 µg) grubunun ortalama spike frekansında, kontrol (penisilin) grubuna göre 30. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı (p<0,01), (Şekil 24). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05), (Şekil 25).

Hp'nin 1,2 µg Dozdaki Etkisi

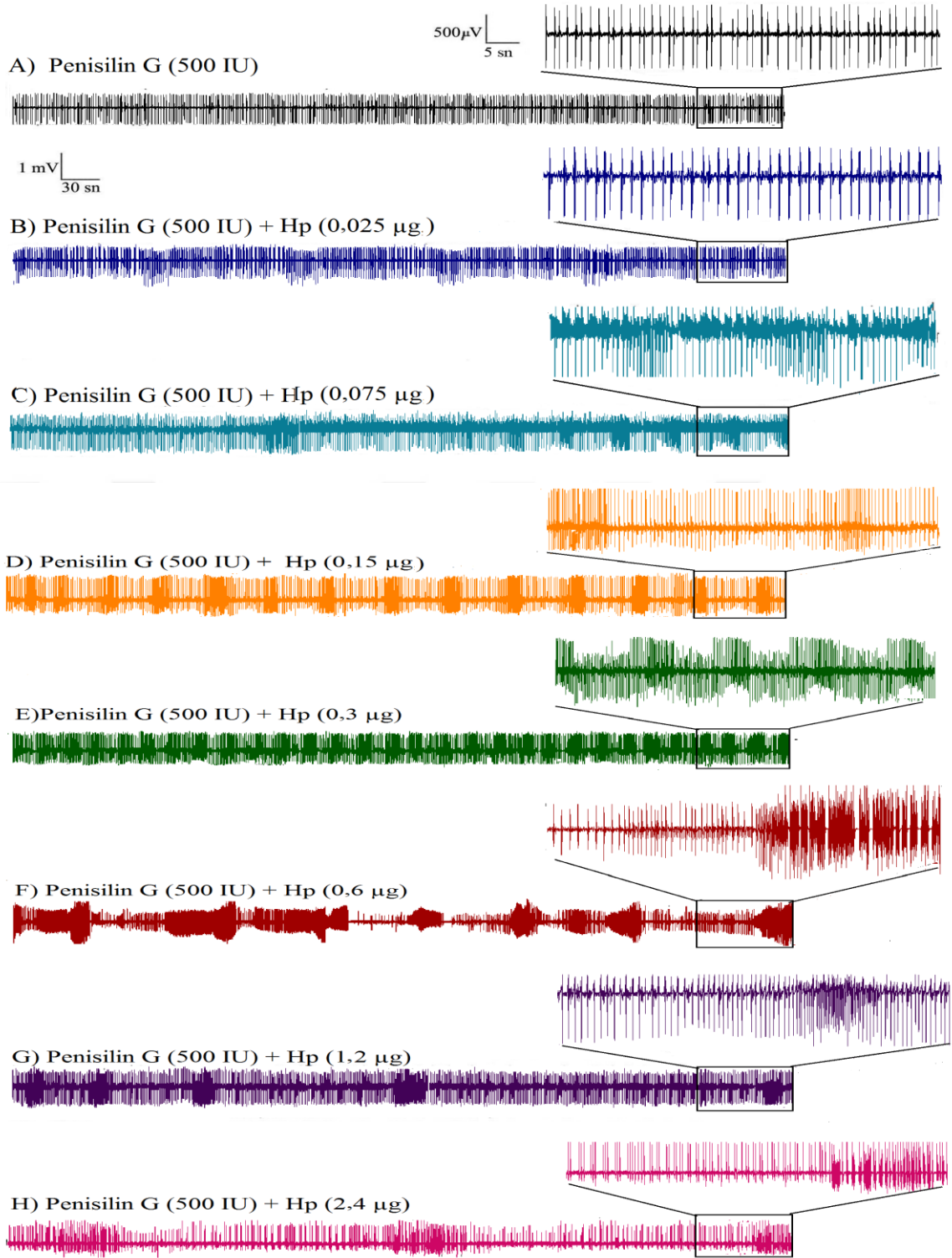
500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra 1,2 µg Hp (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. 100. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri kontrol (penisilin) grubunda sırasıyla 38,65±3,23 spike/dk; 926,30±26,59 µV iken Hp (1,2 µg), grubunda 52,85±3,45 spike/dk; 943,45±36,28 µV idi (Şekil 23G), (Tablo 5 ve 6). Hp (1,2 µg) grubunun ortalama spike frekansında, kontrol (penisilin) grubuna göre

100. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p<0,01$), (Şekil 24). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 25).

Hp'nin 2,4 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra Hp 2,4 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. 130. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri kontrol (penisilin) grubunda sırasıyla $36,35\pm 3,51$ spike/dk; $891,92\pm 44,33$ µV iken Hp (2,4 µg), grubunda $50,88\pm 2,08$ spike/dk; $979,55\pm 38,69$ µV idi (Şekil 23H), (Tablo 5 ve 6). Hp (2,4 µg) grubunun ortalama spike frekansında kontrol (penisilin) grubuna göre 130. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p<0,01$), (Şekil 26). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 27).

Elde edilen sonuçlara göre penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine hemopressinin 0,025 µg'lık dozu etkisiz, 0,075; 0,15; 0,3; 0,6; 1,2 ve 2,4 µg'lık dozlarının etkileri ise istatistik açıdan anlamlı bulundu. Hemopressinin 0,075 µg'lık dozu 110. dakikadan; 0,15 µg'lık dozu 50. dakikadan; 0,3 µg'lık dozu 50. dakikadan; 0,6 µg'lık dozu 30. dakikadan; 1,2 µg'lık dozu 100. dakikadan; 2,4 µg'lık dozu ise 130. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi artırdı. Epileptiform aktiviteyi en etkili ve erken artıran dozun 0,6 µg'lık doz olduğu tespit edildi. Etkileşim deneylerinde Hp'nin 0,6 µg'lık etkin dozu kullanıldı.



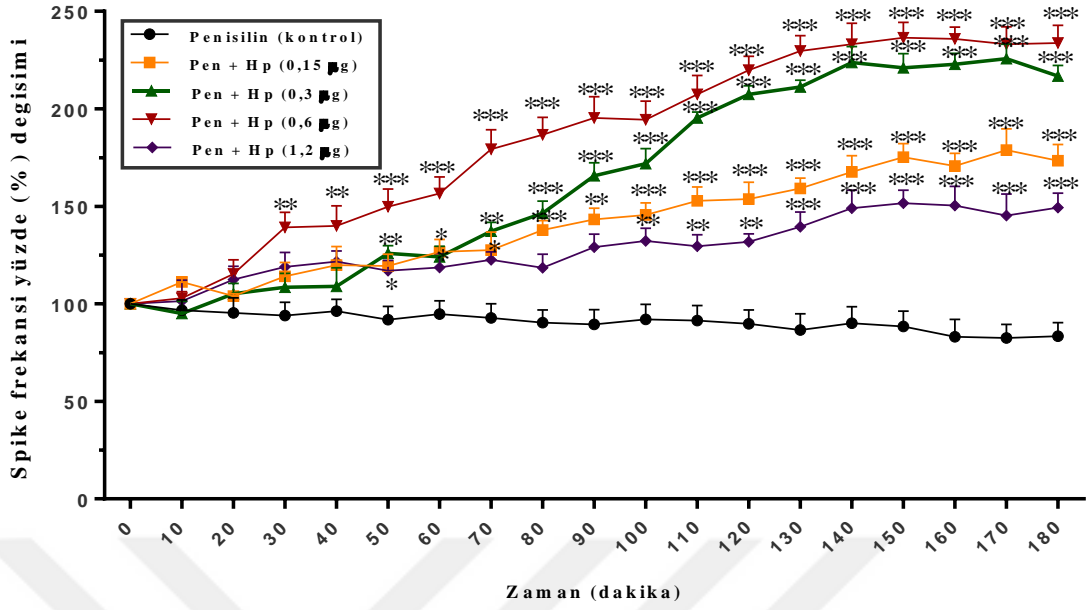
Şekil 23. A) Penisilin kontrol grubu (500 IU), B) Penisilin + Hp (0,025 µg) grubu, C) Penisilin + Hp (0,075 µg) grubu, D) Penisilin + Hp (0,15 µg) grubu, E) Penisilin + Hp (0,3 µg) grubu, F) Penisilin + Hp (0,6 µg) grubu, G) Penisilin + Hp (1,2 µg) grubu ve H) Penisilin + Hp (2,4 µg) gruplarından 90. dakikada alınan örnek ECoG kayıtları. (Hp: Hemopressin), (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye)

Tablo 5. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,025 µg Hp, 0,75 µg Hp, 0,15 µg Hp, 0,3 µg Hp, 0,6 µg Hp, 1,2 µg Hp ve 2,4 µg Hp gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

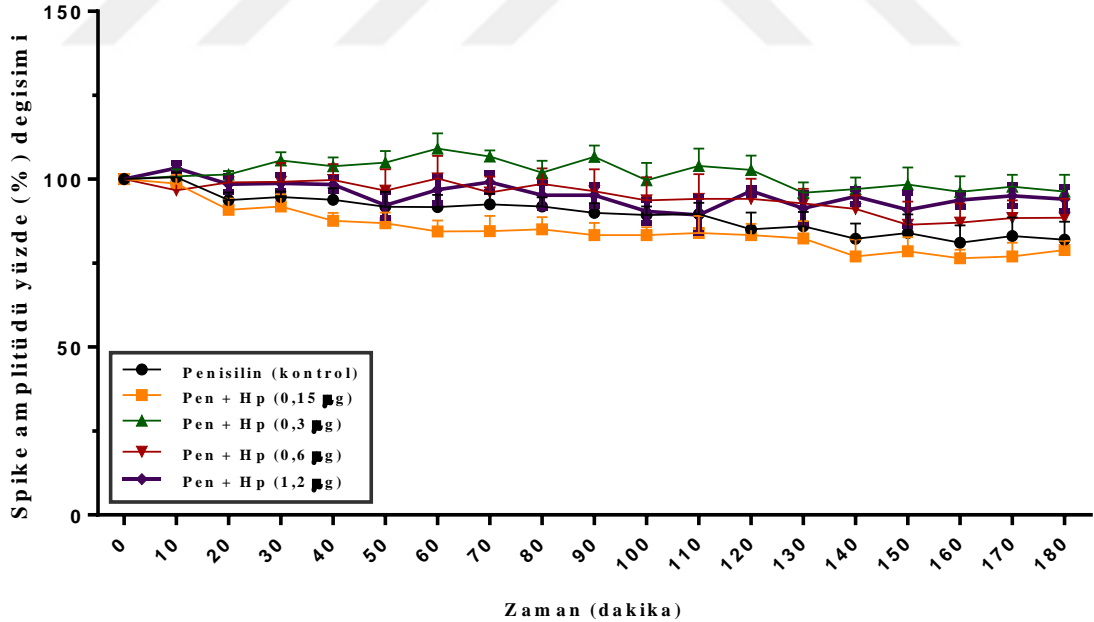
Zaman	Kontrol	Hp (0,025 µg)	Hp (0,075 µg)	Hp (0,15µg)	Hp (0,3µg)	Hp (0,6µg)	Hp (1,2µg)	Hp (2,4 µg)
0.dk	42,01±0,03	41,33±1,28	39,33±0,66	40,00±0,25	41,00±0,57	42,00±0,57	41,66±1,11	43,23±2,30
10.dk	40,64±2,17	38,97±3,83	34,81±1,81	44,69±1,19	38,99±2,76	43,23±1,56	38,50±2,98	39,16±2,57
20.dk	40,02±3,28	39,63±3,01	37,63±3,85	41,79±0,60	43,16±2,49	48,49±3,40	43,28±2,87	43,81±3,50
30.dk	39,45±2,85	41,18±3,63	37,33±3,63	45,75±2,78	44,59±3,41	58,65±3,86	46,55±3,77	41,87±3,28
40.dk	40,40±2,57	43,37±3,10	38,46±4,28	48,11±3,80	44,61±3,73	58,71±4,08	49,24±2,21	43,90±4,65
50.dk	38,60±2,84	45,59±2,56	39,43±4,04	51,30±1,65	51,61±1,72	62,65 ±3,22	46,67±2,18	47,03±3,06
60.dk	39,82±2,84	45,84±3,42	38,70±5,01	54,21±1,56	50,83±2,29	65,62±3,16	49,78±2,66	46,54±5,41
70.dk	38,97±3,04	44,59±3,73	39,51±3,34	51,21±3,58	56,28±2,19	75,10±3,72	52,30±2,01	47,48±3,86
80.dk	37,93±2,75	42,73±2,01	39,63±3,21	55,36±1,78	59,97±2,35	78,47±4,25	48,31±3,16	47,50±3,26
90.dk	37,54±3,21	42,00±3,07	40,43±3,04	57,54±2,12	68,05±3,34	81,89±4,18	48,51±3,55	46,97±2,85
100.dk	38,65±3,23	44,56±1,49	50,66±2,72	58,44±2,54	70,43±2,86	81,54±3,68	52,85±3,45	48,14±2,58
110.dk	38,40±3,23	41,38±2,71	55,26±2,66	61,42±2,99	80,09±1,67	87,11 ±4,08	55,49±2,33	48,71±4,67
120.dk	37,72±2,93	43,77±3,17	54,08±1,77	61,71±3,32	84,92±1,09	92,16±2,33	54,69±2,53	50,43±4,27
130.dk	36,35±3,51	41,00±2,46	55,56±3,05	63,92±2,17	86,63±2,42	96,29±2,67	57,05±3,63	50,88±2,08
140.dk	37,82±3,57	43,46±2,80	54,79±2,66	67,37±3,61	91,58±2,91	97,65±3,48	59,40±3,83	53,38±2,96
150.dk	37,13±3,27	42,32±2,32	56,80±1,97	70,33±2,76	90,63±3,06	99,22±3,09	65,09±4,07	52,87±2,96
160.dk	37,58±3,08	41,73±2,18	55,19±1,49	68,49±2,49	91,32±2,44	98,91±1,66	64,43 ±2,17	55,02±2,48
170.dk	35,48±2,56	39,01±3,31	53,31±2,43	71,85±4,38	92,50±2,94	97,74±2,78	62,38±3,42	54,69±3,15
180.dk	36,20±2,09	41,98±3,52	54,60±3,59	69,61±3,10	88,97±3,18	98,01±3,31	61,07± 2,90	52,59±2,46

Tablo 6. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,025 µg Hp, 0,75 µg Hp, 0,15 µg Hp, 0,3 µg Hp, 0,6 µg Hp, 1,2 µg Hp ve 2,4 µg Hp gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM),(Hp: Hemopressin)

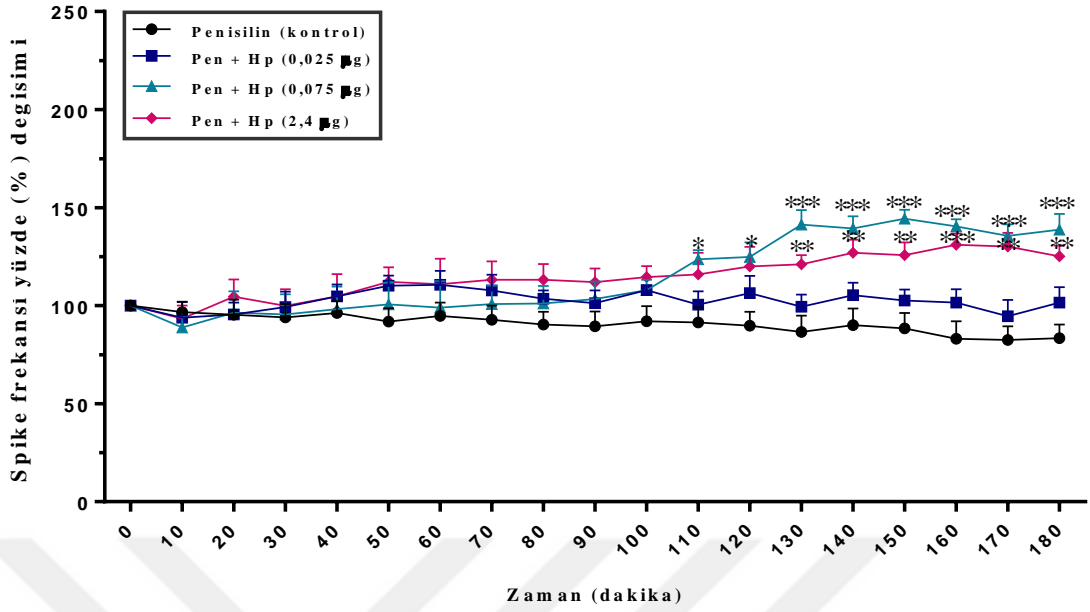
Zaman	Kontrol	Hp (0,025 µg)	Hp (0,075 µg)	Hp (0,15µg)	Hp (0,3µg)	Hp (0,6µg)	Hp (1,2µg)	Hp (2,4 µg)
0.dk	1051,05±30,81	1035,33±33,33	1116,66±49,44	999,50±57,12	1071,76±61,48	1088,45±42,25	997,48±32,95	1128,33±54,56
10.dk	1043,19±15,41	912,57 ±34,66	1107,54 ±33,21	968,71±20,61	1054,25±21,31	1035,30±43,50	998,21±21,02	1135,64±23,67
20.dk	972,70±23,01	851,60 ± 30,94	1052,37 ±29,87	920,17±37,28	1059,53±10,62	1059,47±29,16	970,30±27,49	1124,23±24,26
30.dk	981,65±17,10	863,54 ± 32,53	1076,89 ±20,21	930,39±37,28	1103,01±26,25	1063,94±65,73	989,91±27,49	1102,67±30,82
40.dk	973,18±35,61	865,99 ± 26,38	1066,45 ±41,19	887,43±24,16	1084,96±27,54	1070,50±60,85	990,46±23,85	1114,71±40,49
50.dk	952,18±45,31	833,42 ± 34,60	1046,39 ±17,39	880,50±32,16	1096,96±35,39	1036,68±75,28	962,71±40,87	1088,23±40,36
60.dk	950,5 ±38,36	815,37± 44,10	1085,90 ±18,27	855,06±33,16	1140,58±47,27	1074,35±75,16	994,71±41,64	1071,29±43,01
70.dk	959,79±32,68	824,90 ± 34,54	1097,15 ±36,22	856,70±45,58	1115,46±19,56	1030,45±57,82	992,21±31,73	1069,37±35,49
80.dk	952,88±27,99	826,80 ±42,68	1076,53 ±35,84	861,69±37,24	1065,72±36,49	1058,68±59,66	993,60±40,78	1050,73±50,06
90.dk	932,97±30,24	820,90 ± 45,77	996,25 ± 46,19	844,14±37,07	1114,58 ±35,13	1032,75±71,19	993,68±34,73	992,32±56,59
100.dk	926,30±26,59	800,02 ±52,51	960,01 ± 69,48	844,46±23,35	1041,40±54,60	1003,27±73,32	943,45±36,28	996,53±20,71
110.dk	928,96±35,18	763,00 ± 46,55	998,94 ± 37,99	850,43±51,67	1086,60±54,13	1008,70±77,28	982,36±56,86	996,65±36,13
120.dk	882,27±51,83	799,50 ± 45,26	979,40 ± 32,60	844,47±33,34	1073,53±44,66	1007,92±63,67	960,46±10,04	979,32 ±50,11
130.dk	891,92±44,33	766,97 ± 61,37	961,93 ± 36,28	834,14±52,52	1003,19±32,27	993,19±43,48	964,32±40,60	979,55 ± 38,69
140.dk	852,75±47,21	768,40 ± 37,32	957,82 ± 54,74	780,26±51,09	1014,44±35,32	979,20±54,70	948,90±27,35	933,30±31,59
150.dk	870,56±57,75	748,02 ± 32,83	958,52 ± 24,70	795,22±42,66	1028,29±53,51	927,22±74,70	978,89±47,85	949,62±20,10
160.dk	840,58±53,61	740,63 ± 42,48	979,14 ± 45,99	774,89±25,14	1006,27±47,55	931,71±57,72	992,77±28,14	932,76 ±26,48
170.dk	861,84±57,25	718,01 ± 53,92	982,32± 22,46	780,01±41,72	1027,78±30,53	946,77±52,88	995,08±39,19	882,96 ±25,34
180.dk	850,64±54,89	719,67 ± 53,14	939,76 ± 39,03	799,37±27,71	1006,28 ±25,05	948,11±57,36	940,08±30,69	884,30 ±24,26



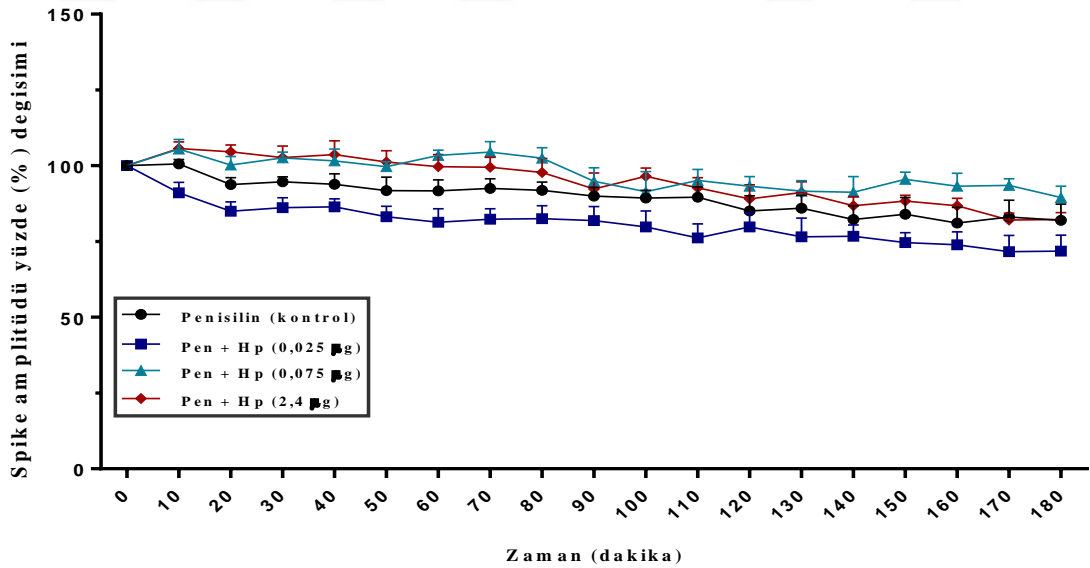
Şekil 24. Kontrol (Penisilin, 500 IU), penisilin + Hp (0,15 µg); penisilin +Hp (0,3 µg); penisilin +Hp (0,6 µg); penisilin +Hp (1,2 µg), gruplarının spike frekansı yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında, 0,15 µg Hp ve 0,3 µg Hp gruplarında 50. dk' dan itibaren, 0,6 µg Hp grubunda 30. dk'dan itibaren, 1,2 µg Hp grubunda ise 100. dk'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. (*= p< 0,05, **=p<0,01, ***=p<0,001), (Hp: Hemopressin), Spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 25. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Penisilin + Hp(0.15 µg); Hp (0,3 µg); Hp (0,6 µg); Hp (1,2 µg), gruplarının spike amplitüd yüzde değişim değerleri (spike amplitüd yüzde değişimi ± SEM) Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı (p>0,05) (*= p< 0,05, **=p<0,01, ***=p<0,001), (Hp: Hemopressin), spike amplitüd değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 26. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Penisilin + Hp (0,025 µg); Hp (0,075 µg); Hp (2,4 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM) şekilde gösterilmektedir. Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında; 0,075 µg Hp grubunda 110. dk' dan itibaren, 2,4 µg Hp grubunda 130. dk'dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, 0,025 µg Hp grubunda ise herhangi bir değişiklik görülmedi ($p > 0,05$), ($* = p < 0,05$, $** = p < 0,01$, $*** = p < 0,001$), (Hp: Hemopressin), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 27. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Penisilin + Hp (0,025 µg); Hp (0,075 µg); Hp (2,4 µg) gruplarının spike amplitüd yüzde değişim değerleri (spike amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı ($p > 0,05$), ($* = p < 0,05$, $** = p < 0,01$, $*** = p < 0,001$), (Hp: Hemopressin), spike amplitüd değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

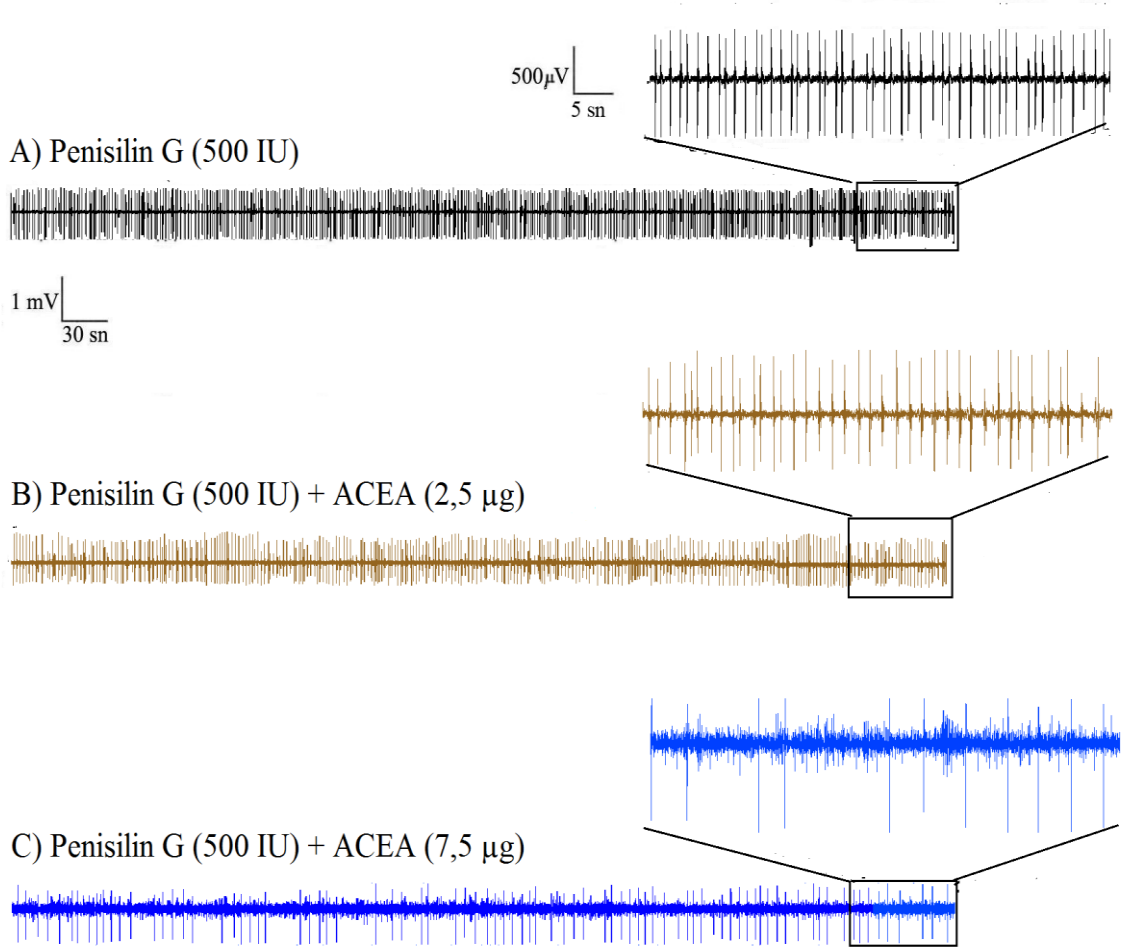
4.2.2. Kanabinoid CB₁ Reseptör Agonisti ACEA'nın Epileptiform Aktiviteye Etkisi

ACEA'nın 2,5 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ACEA 2,5 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. Kontrol (penisilin) grubunun 90. dakikasındaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla 37,54±3,21 spike/dk; 932,97±30,24 µV iken bu değerler ACEA (2,5 µg) grubunda 34,92±3,60 spike/dk; 907,37±48,26 µV olarak hesaplandı (Tablo 7, 8). 2,5 µg ACEA uygulandıktan sonra 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 28B, 29 ve 30).

ACEA'nın 7,5 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ACEA 7,5 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. Kontrol (penisilin) grubunda 60. dakikada ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla 39,82±2,84 spike/dk; 950,51±38,36 µV olarak hesaplanırken, ACEA (7,5 µg) grubunda bu değerler 28,26±2,43 spike/dk; 839,48±23,51 µV olarak hesaplandı (Tablo 7 ve 8). 60. dakikadan sonra ACEA (7,5 µg) grubunun ortalama spike frekansındaki azalma kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), (Şekil 28C ve 29), ortalama spike amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$), (Şekil 28C ve 30).



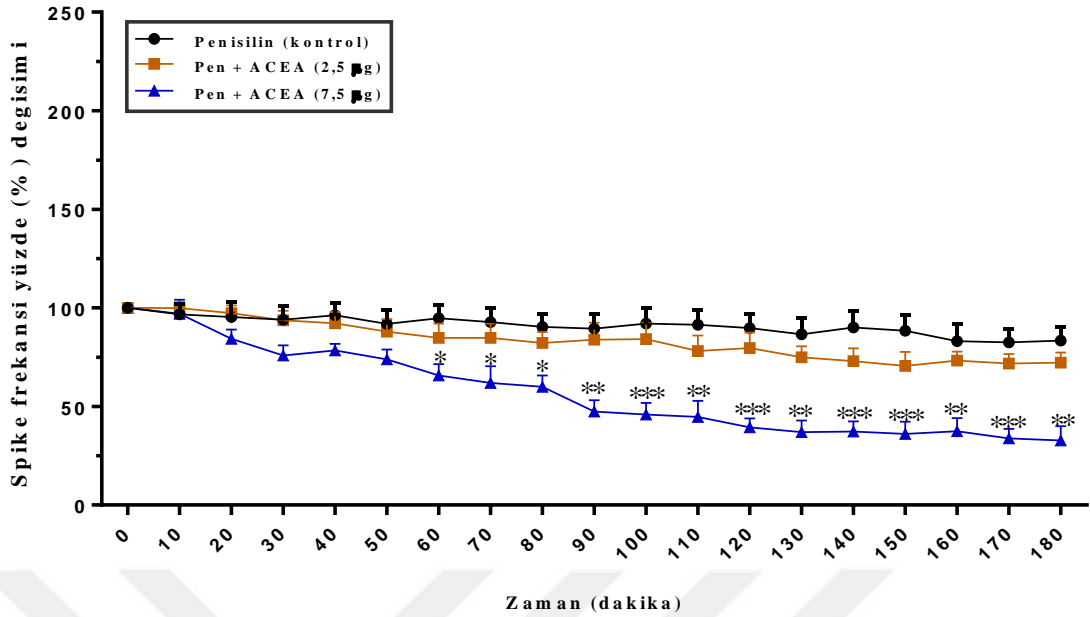
Şekil 28. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + ACEA (2,5 µg) ve C) Penisilin + ACEA (7,5 µg) gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye)

Tablo 7. Kontrol (penisilin, 500 IU), 2,5 µg ACEA ve 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM)

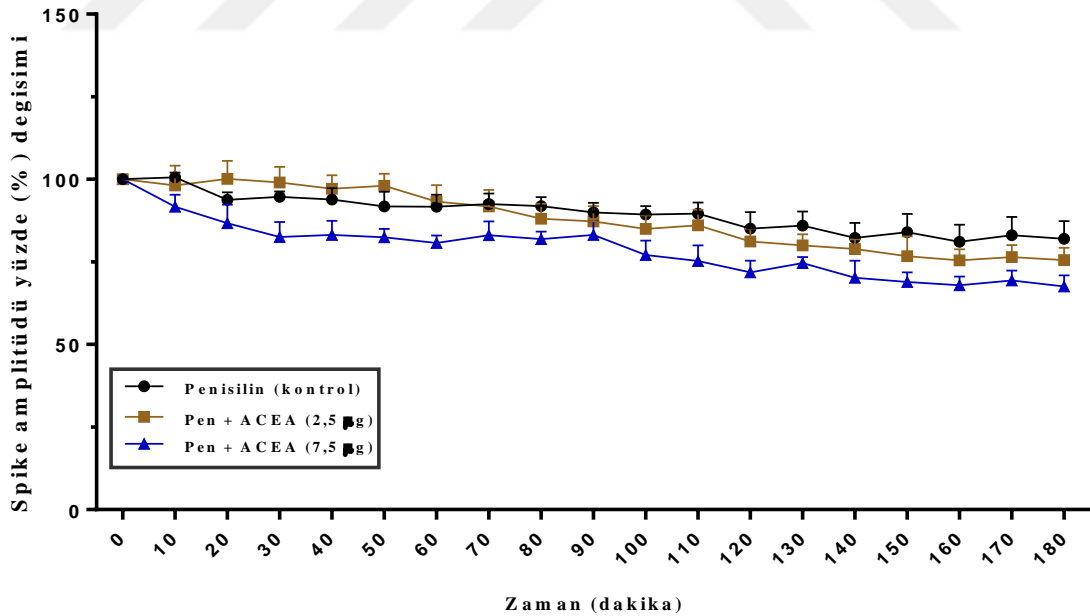
Zaman	Kontrol	ACEA (2,5 µg)	ACEA (7,5 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	41,65 ± 0,77	43,00 ± 2,81
10. dakika	40,64 ± 2,17	41,58 ± 1,27	41,71 ± 3,09
20. dakika	40,02 ± 3,28	40,55 ± 1,63	36,22 ± 2,03
30. dakika	39,45 ± 2,85	39,06 ± 1,98	32,63 ± 2,17
40. dakika	40,40 ± 2,57	38,38 ± 2,41	33,74 ± 1,37
50. dakika	38,60 ± 2,84	36,62 ± 2,68	31,78 ± 2,14
60. dakika	39,82 ± 2,84	35,31 ± 3,01	28,26 ± 2,43
70. dakika	38,97 ± 3,04	35,29 ± 3,06	26,63 ± 3,62
80. dakika	37,93 ± 2,75	34,23 ± 2,36	25,80 ± 2,48
90. dakika	37,54 ± 3,21	34,92 ± 3,60	20,36 ± 2,50
100. dakika	38,65 ± 3,23	35,07 ± 3,38	19,71 ± 2,55
110. dakika	38,40 ± 3,23	32,51 ± 3,32	19,19 ± 3,54
120. dakika	37,72 ± 2,93	33,14 ± 3,28	16,92 ± 1,96
130. dakika	36,35 ± 3,51	31,20 ± 2,33	15,91 ± 2,54
140. dakika	37,82 ± 3,57	30,39 ± 2,74	16,04 ± 2,18
150. dakika	37,13 ± 3,27	29,39 ± 2,98	15,48 ± 2,69
160. dakika	37,58 ± 3,08	30,49 ± 1,94	16,06 ± 2,89
170. dakika	35,48 ± 2,56	29,90 ± 1,98	14,54 ± 2,08
180. dakika	36,20 ± 2,09	30,09 ± 2,11	14,08 ± 3,10

Tablo 8. Kontrol (penisilin, 500 IU), 2,5 µg ACEA ve 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM)

Zaman	Kontrol	ACEA (2,5 µg)	ACEA (7,5 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1033,61 ± 57,16	976,66 ± 42,08
10. dakika	1043,19 ± 15,41	1020,51 ± 62,23	953,75 ± 37,19
20. dakika	972,70 ± 23,01	1041,61 ± 56,67	901,40 ± 59,21
30. dakika	981,65 ± 17,10	1030,48 ± 49,15	858,09 ± 47,44
40. dakika	973,18 ± 35,61	1010,26 ± 42,14	865,14 ± 44,50
50. dakika	952,18 ± 45,31	1019,73 ± 37,32	857,11 ± 26,47
60. dakika	950,51 ± 38,36	969,49 ± 52,29	839,48 ± 23,51
70. dakika	959,79 ± 32,68	954,90 ± 51,64	863,84 ± 43,56
80. dakika	952,88 ± 27,99	915,50 ± 47,46	852,14 ± 23,62
90. dakika	932,97 ± 30,24	907,37 ± 48,26	865,19 ± 42,47
100. dakika	926,30 ± 26,59	883,34 ± 43,27	801,58 ± 45,65
110. dakika	928,96 ± 35,18	894,90 ± 49,53	782,57 ± 49,36
120. dakika	882,27 ± 51,83	843,84 ± 40,62	747,27 ± 36,50
130. dakika	891,92 ± 44,33	831,96 ± 34,86	776,33 ± 18,78
140. dakika	852,75 ± 47,21	820,50 ± 30,25	729,75 ± 53,64
150. dakika	870,56 ± 57,75	797,80 ± 62,05	716,77 ± 30,45
160. dakika	840,58 ± 53,61	785,11 ± 34,80	706,57 ± 27,09
170. dakika	861,84 ± 57,25	795,32 ± 37,88	721,59 ± 31,12
180. dakika	850,64 ± 54,89	785,27 ± 38,93	702,25 ± 35,27



Şekil 29. Kontrol (Penisilin, 500 IU), ACEA (2,5 µg) ve ACEA (7,5 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). 7,5 µg ACEA grubunda kontrol (penisilin) grubuna göre 60. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanırken, 2,5 µg ACEA grubunda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$), (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 30. Kontrol (Penisilin, 500 IU), ACEA (2,5 µg) ve ACEA (7,5 µg) gruplarının spike amplitüd yüzde değişim değerleri (spike amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı ($p > 0,05$), (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$), spike amplitüd değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

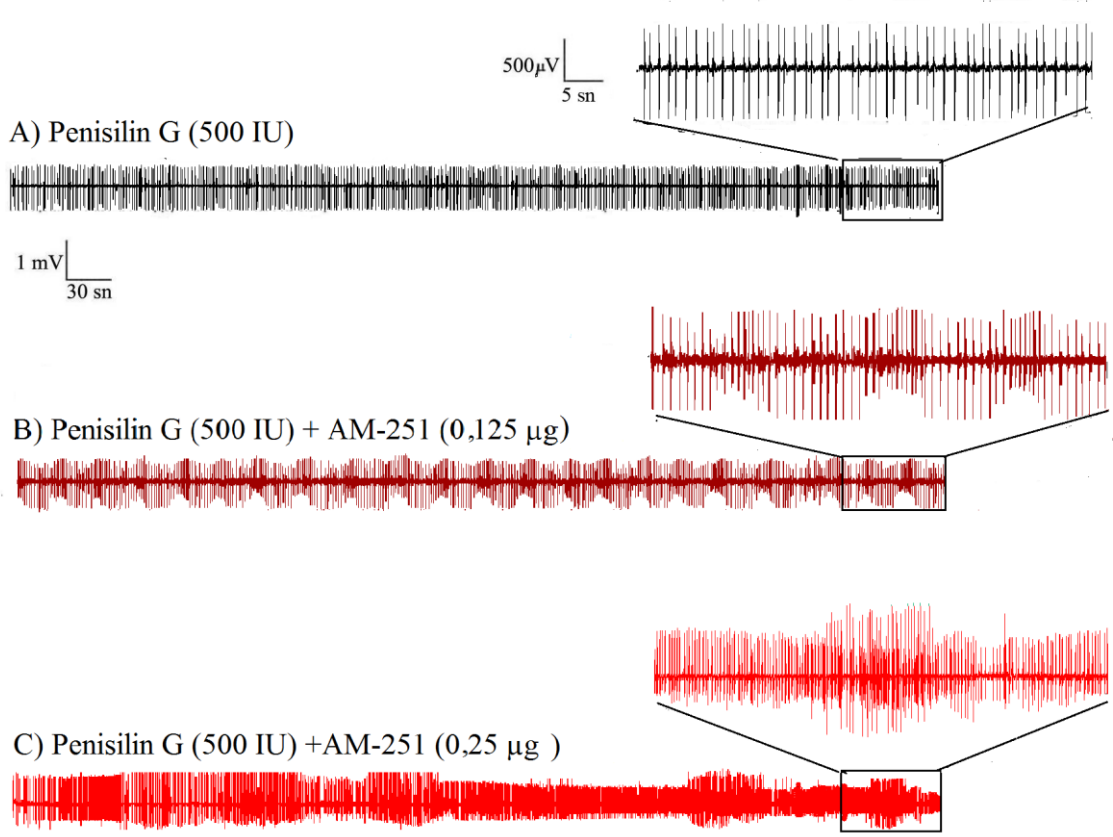
4.2.3. Kanabinoid CB₁ Reseptör Antagonisti AM-251'in Epileptiform Aktiviteye Etkisi

AM-251' in 0,125 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 0,125 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. Kontrol (penisilin) grubunun 60. dakikasındaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla 39,82±2,84 spike/dk; 950,51±38,36 µV iken, bu değerler AM-251 (0,125 µg) grubunda sırasıyla 49,09±2,94 spike/dk; 908,81±7,46 µV olarak hesaplandı (Tablo 9 ve 10). AM-251 (0,125 µg) grubunda 60. dakikadan sonra görülen bu az miktardaki artış istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05), (Şekil 31B ve 32). AM-251 (0,125 µg) uygulandıktan sonra alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0,05), (Şekil 31B, 32 ve 33).

AM-251' in 0,25 µg Dozdaki Etkisi

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 0,25 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak verildi. Kontrol (penisilin) grubunun 30. dakikasında ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla 39,45±2,85 spike/dk; 981,65±17,10 µV iken, bu değerler AM-251 (0,25 µg) grubunda 57,01±3,27 spike/dk; 1088,21±34,73 µV olarak hesaplandı (Tablo 9 ve 10). 30. dakikadan sonra AM-251 (0,25 µg) grubunun ortalama spike frekansında görülen artış kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (p<0,05), (Şekil 31C ve 32), ortalama spike amplitüd değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05), (Şekil 31C ve 33).



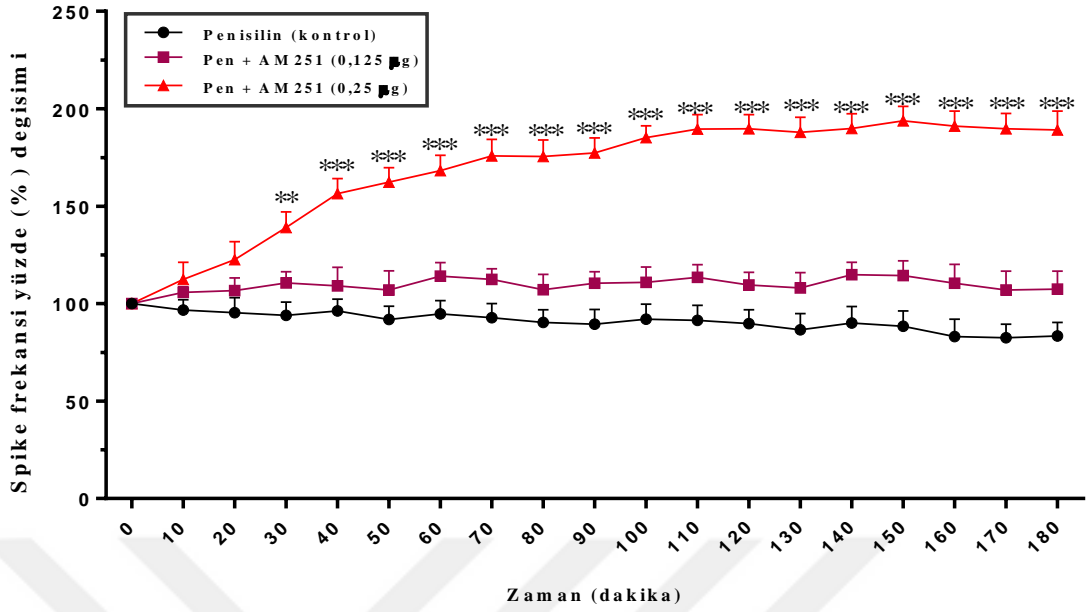
Şekil 31. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0,125 μ g), C) Penisilin + AM-251 (0,25 μ g) gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (μ V), 5 saniye)

Tablo 9. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,125 µg AM-251 ve 0,25 µg AM-251 gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM)

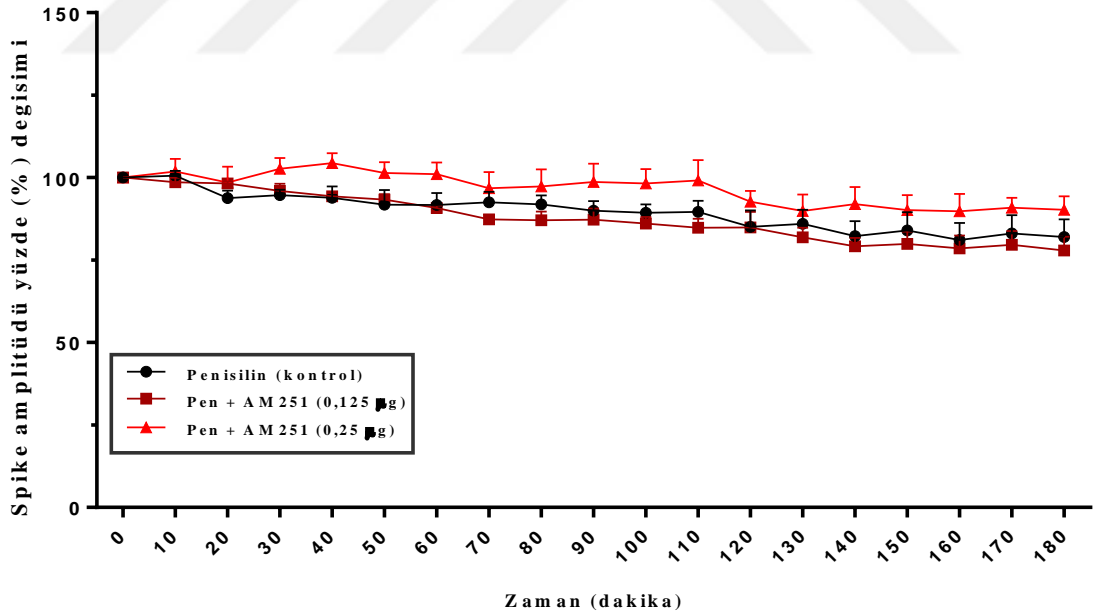
Zaman	Kontrol	AM-251 0,125 µg	AM-251 0,25 µg
0. dakika	42,01 ± 0,03	42,66 ± 2,57	41,08 ± 2,07
10. dakika	40,64 ± 2,17	45,48 ± 1,23	46,12 ± 3,55
20. dakika	40,02 ± 3,28	45,85 ± 2,78	50,23 ± 3,79
30. dakika	39,45 ± 2,85	47,54 ± 2,48	57,01 ± 3,27
40. dakika	40,40 ± 2,57	46,91 ± 4,08	64,13 ± 3,16
50. dakika	38,60 ± 2,84	46,01 ± 4,21	66,54 ± 3,05
60. dakika	39,82 ± 2,84	49,09 ± 2,94	68,98 ± 3,23
70. dakika	38,97 ± 3,04	48,33 ± 2,37	72,10 ± 3,48
80. dakika	37,93 ± 2,75	46,04 ± 3,42	71,96 ± 3,48
90. dakika	37,54 ± 3,21	47,53 ± 2,52	72,71 ± 3,17
100. dakika	38,65 ± 3,23	47,67 ± 3,41	75,93 ± 2,45
110. dakika	38,40 ± 3,23	48,81 ± 2,82	77,70 ± 3,07
120. dakika	37,72 ± 2,93	47,12 ± 2,76	77,80 ± 2,94
130. dakika	36,35 ± 3,51	46,45 ± 3,38	77,03 ± 3,19
140. dakika	37,82 ± 3,57	49,42 ± 2,67	77,86 ± 3,05
150. dakika	37,13 ± 3,27	49,16 ± 3,30	79,46 ± 3,04
160. dakika	37,58 ± 3,08	47,51 ± 4,16	78,31 ± 3,18
170. dakika	35,48 ± 2,56	46,00 ± 4,18	77,78 ± 3,24
180. dakika	36,20 ± 2,09	46,18 ± 3,99	77,51 ± 3,96

Tablo 10. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,125 µg AM-251 ve 0,25 µg AM-251 gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM)

Zaman	Kontrol	AM-251 0,125 µg	AM-251 0,25 µg
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1016,08 ± 53,70	1100,10 ± 40,09
10. dakika	1043,19 ± 15,41	986,82 ± 13,90	1079,54 ± 40,22
20. dakika	972,70 ± 23,01	983,10 ± 6,38	1044,54 ± 50,94
30. dakika	981,65 ± 17,10	960,58 ± 21,91	1088,21 ± 34,73
40. dakika	973,18 ± 35,61	943,81 ± 10,25	1106,90 ± 31,84
50. dakika	952,18 ± 45,31	933,85 ± 17,12	1075,38 ± 33,82
60. dakika	950,51 ± 38,36	908,81 ± 7,46	1070,86 ± 37,35
70. dakika	959,79 ± 32,68	873,92 ± 10,81	1026,31 ± 51,70
80. dakika	952,88 ± 27,99	871,46 ± 26,27	1032,02 ± 54,66
90. dakika	932,97 ± 30,24	873,78 ± 32,82	1045,63 ± 58,97
100. dakika	926,30 ± 26,59	861,67 ± 20,14	1041,64 ± 46,04
110. dakika	928,96 ± 35,18	848,59 ± 27,48	1050,42 ± 66,24
120. dakika	882,27 ± 51,83	849,75 ± 46,89	982,08 ± 35,01
130. dakika	891,92 ± 44,33	819,48 ± 29,51	952,33 ± 53,38
140. dakika	852,75 ± 47,21	792,80 ± 24,96	974,99 ± 54,25
150. dakika	870,56 ± 57,75	799,66 ± 36,95	956,10 ± 47,88
160. dakika	840,58 ± 53,61	785,72 ± 39,71	952,26 ± 55,33
170. dakika	861,84 ± 57,25	796,97 ± 41,73	963,40 ± 32,03
180. dakika	850,64 ± 54,89	779,36 ± 41,82	956,68 ± 43,51



Şekil 32. Kontrol (Penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg) ve AM-251 (0,25 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında 0,25 µg AM-251 grubunda 30. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, 0,125 µg AM-251 grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$), (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 33. Kontrol (Penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg) ve AM-251 (0,25 µg) gruplarının spike amplitüdü yüzde değişim değerleri (spike amplitüdü yüzde değişimi ± SEM). Amplitüdü yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı ($p > 0,05$), (*= $p < 0,05$; **= $p < 0,01$; ***= $p < 0,001$), spike amplitüdü değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

4.3. Kanabinoid Agonisti ACEA ve Antagonisti AM251 ile Hemopressin (Hp) Etkileşimlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

4.3.1. AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

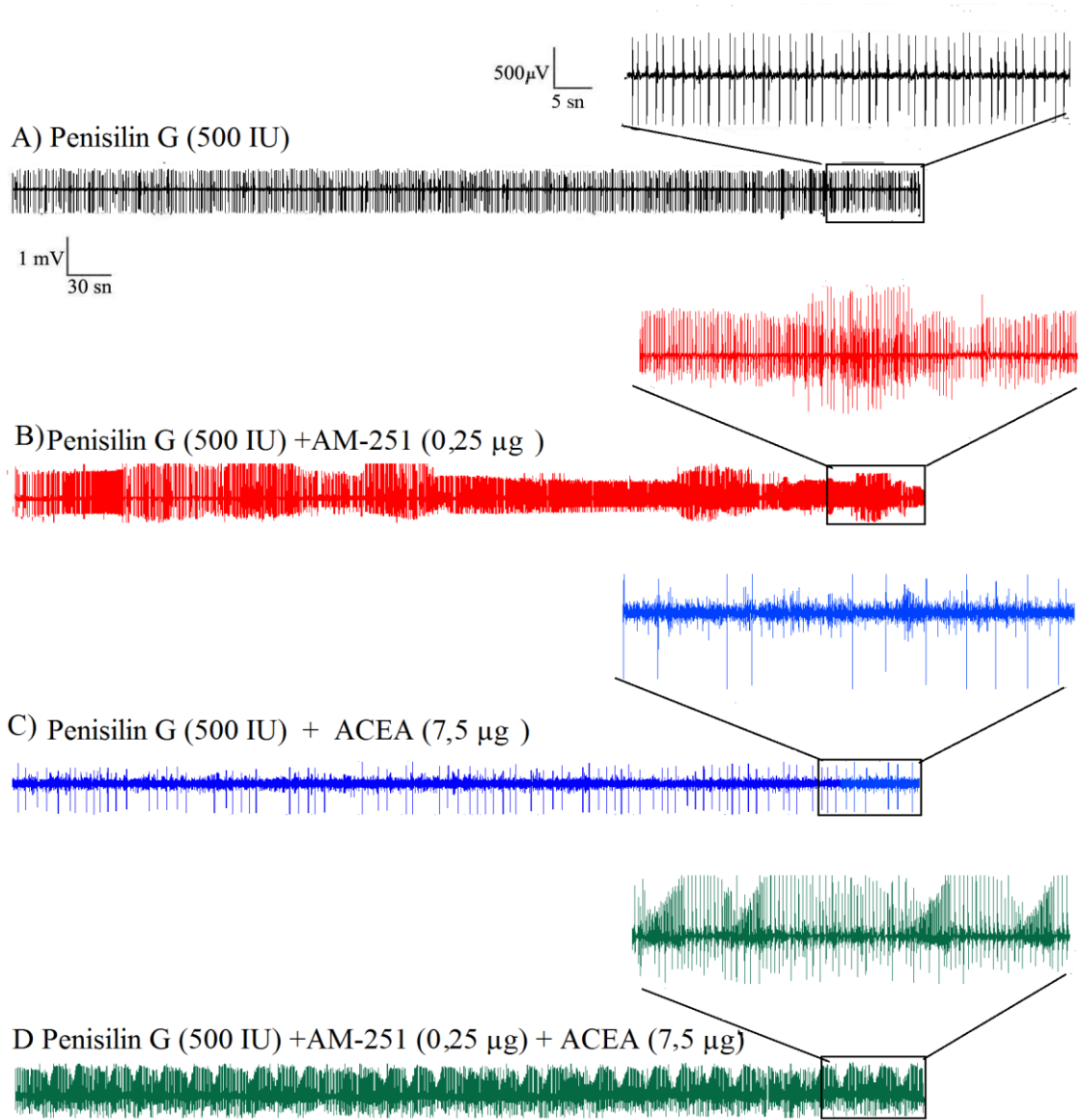
500 IU penisilin i.k. enjeksiyonundan 30 dk sonra etkin doz AM-251 (0,25 µg/2 µl) i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra da etkin doz ACEA (7,5 µg/2 µl) yine i.s.v. olarak uygulandı.

Ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0,25 µg) grubu, kontrol (penisilin) grubuna göre 30. dakikada ortalama spike frekansını anlamlı bir şekilde artırdı ($p<0,01$), (Şekil 34B ve 35). Tek başına ACEA (7,5 µg) ise kontrol (penisilin) grubuna göre ortalama spike frekansını 60. dakikada anlamlı ölçüde azalttı ($p<0,05$), (Şekil 34C ve 35). AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu kontrol (penisilin) grubuyla kıyaslandığında, kontrol grubunda 30. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $39,45\pm 2,85$ spike/dk; $981,65\pm 17,10$ µV iken bu değerler, AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunda sırasıyla $53,09\pm 1,79$ spike/dk; $1029,80\pm 33,83$ µV idi (Tablo 11 ve 12). 30. dakikadan itibaren AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) grubunun ortalama spike frekansında görülen artış kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$), (Şekil 34D ve 35). Ortalama spike amplitüd değerleri incelendiğinde ise deney gruplarının değerlerindeki değişimin kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0,05$), (Şekil 34A, B, C, D ve 36).

AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu tek başına enjekte edilen AM-251 (0,25 µg) grubuyla karşılaştırıldığında ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p>0,05$), (Şekil 34B, D, 35 ve 36). AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunda 90. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $62,92\pm 1,80$ spike/dk; $909,44\pm 41,66$ µV iken bu değerler AM-251 (0,25 µg) grubunda sırasıyla $72,71\pm 3,17$ spike/dk; $1045,63\pm 58,97$ µV olarak hesaplandı (Tablo 11 ve 12).

AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) grubu tek başına ACEA (7,5 µg) grubuyla karşılaştırıldığında, AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) grubunda 20. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $49,45\pm 0,73$ spike/dk;

1015,78±16,02 μ V iken, ACEA (7,5 μ g) grubunda bu değerler sırasıyla 36,22±2,03 spike/dk; 901,40±59,21 μ V olarak hesaplandı (Tablo 11 ve 12). 20. dakikada AM-251 (0,25 μ g) + ACEA (7,5 μ g) kombinasyon grubu ortalama spike frekansını ACEA (7,5 μ g) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdı ($p<0,01$), (Şekil 34C, D ve 35). Ancak ortalama spike amplitüd değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$), (Şekil 34C, D ve 36).



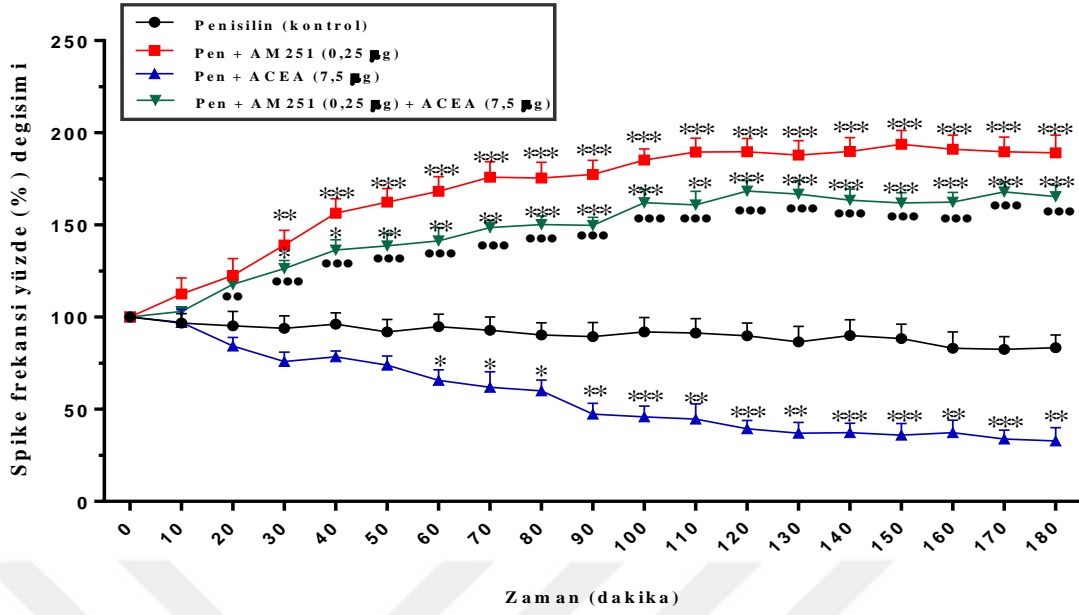
Şekil 34. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0,25 μ g), C) Penisilin + ACEA (7,5 μ g) ve D) Penisilin + AM-251 (0,25 μ g) + ACEA (7,5 μ g) gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından rnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (μ V), 5 saniye)

Tablo 11. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,25 µg AM-251, 7,5 µg ACEA ve 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM)

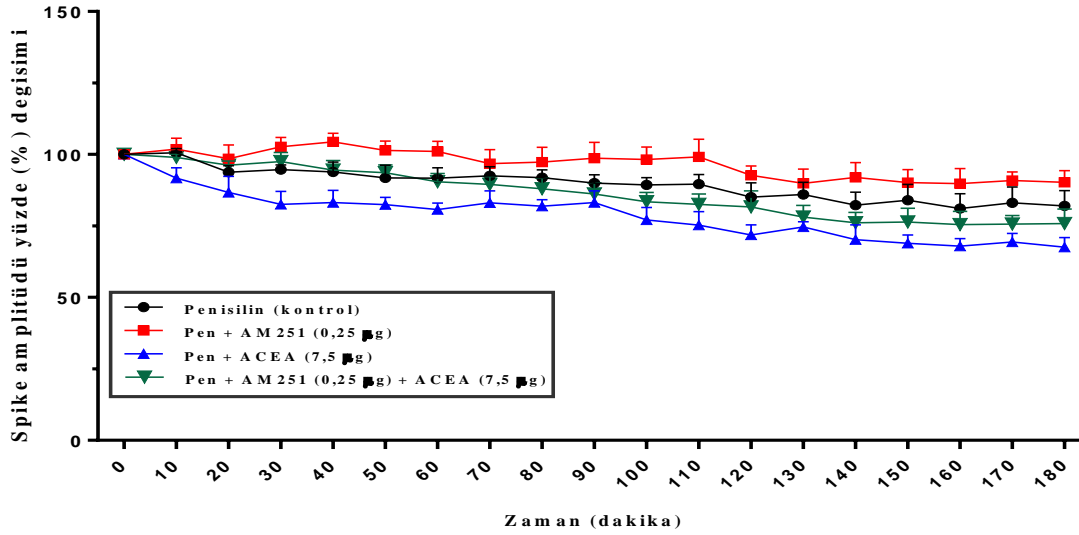
<u>Zaman</u>	Kontrol	AM-251 (0,25 µg)	ACEA (7,5 µg)	AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	41,08 ± 2,07	43,00 ± 2,81	42,00 ± 0,53
10. dakika	40,64 ± 2,17	46,12 ± 3,55	41,71 ± 3,09	43,31 ± 0,76
20. dakika	40,02 ± 3,28	50,23 ± 3,79	36,22 ± 2,03	49,45 ± 0,73
30. dakika	39,45 ± 2,85	57,01 ± 3,27	32,63 ± 2,17	53,09 ± 1,79
40. dakika	40,40 ± 2,57	64,13 ± 3,16	33,74 ± 1,37	57,32 ± 2,29
50. dakika	38,60 ± 2,84	66,54 ± 3,05	31,78 ± 2,14	58,22 ± 2,84
60. dakika	39,82 ± 2,84	68,98 ± 3,23	28,26 ± 2,43	59,37 ± 3,04
70. dakika	38,97 ± 3,04	72,10 ± 3,48	26,63 ± 3,62	62,38 ± 1,59
80. dakika	37,93 ± 2,75	71,96 ± 3,48	25,80 ± 2,48	63,12 ± 1,95
90. dakika	37,54 ± 3,21	72,71 ± 3,17	20,36 ± 2,50	62,92 ± 1,80
100. dakika	38,65 ± 3,23	75,93 ± 2,45	19,71 ± 2,55	68,10 ± 2,98
110. dakika	38,40 ± 3,23	77,70 ± 3,07	19,19 ± 3,54	67,57 ± 3,08
120. dakika	37,72 ± 2,93	77,80 ± 2,94	16,92 ± 1,96	70,73 ± 2,35
130. dakika	36,35 ± 3,51	77,03 ± 3,19	15,91 ± 2,54	70,05 ± 3,07
140. dakika	37,82 ± 3,57	77,86 ± 3,05	16,04 ± 2,18	68,66 ± 2,49
150. dakika	37,13 ± 3,27	79,46 ± 3,04	15,48 ± 2,69	67,99 ± 2,36
160. dakika	37,58 ± 3,08	78,31 ± 3,18	16,06 ± 2,89	68,21 ± 2,18
170. dakika	35,48 ± 2,56	77,78 ± 3,24	14,54 ± 2,08	70,54 ± 2,27
180. dakika	36,20 ± 2,09	77,51 ± 3,96	14,08 ± 3,10	69,47 ± 2,56

Tablo 12. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,25 µg AM-251, 7,5 µg ACEA ve 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM)

<u>Zaman</u>	Kontrol	AM-251 (0,25 µg)	ACEA (7,5 µg)	AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1100,10 ± 40,09	976,66 ± 42,08	1081,00 ± 44,25
10. dakika	1043,19 ± 15,41	1079,54 ± 40,22	953,75 ± 37,19	1045,33 ± 11,73
20. dakika	972,70 ± 23,01	1044,54 ± 50,94	901,40 ± 59,21	1015,78 ± 16,02
30. dakika	981,65 ± 17,10	1088,21 ± 34,73	858,09 ± 47,44	1029,80 ± 33,83
40. dakika	973,18 ± 35,61	1106,90 ± 31,84	865,14 ± 44,50	998,41 ± 35,06
50. dakika	952,18 ± 45,31	1075,38 ± 33,82	857,11 ± 26,47	987,96 ± 29,62
60. dakika	950,51 ± 38,36	1070,86 ± 37,35	839,48 ± 23,51	955,37 ± 30,59
70. dakika	959,79 ± 32,68	1026,31 ± 51,70	863,84 ± 43,56	945,65 ± 28,56
80. dakika	952,88 ± 27,99	1032,02 ± 54,66	852,14 ± 23,62	928,87 ± 40,12
90. dakika	932,97 ± 30,24	1045,63 ± 58,97	865,19 ± 42,47	909,44 ± 41,66
100. dakika	926,30 ± 26,59	1041,64 ± 46,04	801,58 ± 45,65	881,54 ± 34,01
110. dakika	928,96 ± 35,18	1050,42 ± 66,24	782,57 ± 49,36	871,98 ± 37,42
120. dakika	882,27 ± 51,83	982,08 ± 35,01	747,27 ± 36,50	862,14 ± 59,03
130. dakika	891,92 ± 44,33	952,33 ± 53,38	776,33 ± 18,78	825,00 ± 42,71
140. dakika	852,75 ± 47,21	974,99 ± 54,25	729,75 ± 53,64	803,22 ± 38,61
150. dakika	870,56 ± 57,75	956,10 ± 47,88	716,77 ± 30,45	806,16 ± 51,11
160. dakika	840,58 ± 53,61	952,26 ± 55,33	706,57 ± 27,09	796,74 ± 48,96
170. dakika	861,84 ± 57,25	963,40 ± 32,03	721,59 ± 31,12	799,15 ± 31,25
180. dakika	850,64 ± 54,89	956,68 ± 43,51	702,25 ± 35,27	800,47 ± 53,47



Şekil 35. Kontrol (Penisilin, 500 IU), AM-251 (0,25 µg), ACEA (7,5 µg) ve AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike frekans yüzde değışim değeri (spike yüzde değışimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında 0,25 µg AM-251 grubunda ve 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA grubunda 30. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken; 7,5 µg ACEA grubunda 60. dakikadan itibaren anlamlı oranda bir azalma gözlemlendi (* = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001). 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA grubu, 7,5 µg ACEA grubuna göre 20. dakikadan itibaren spike frekans yüzdesini anlamlı oranda arttırırken (* = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001), 0,25 µg AM-251 grubuna göre hiçbir dakikada anlamlı değildi, spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 36. Kontrol (Penisilin, 500 IU), AM-251 (0,25 µg), ACEA (7,5 µg) ve AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike amplitüdü yüzde değışim değeri (spike amplitüdü yüzde değışimi ± SEM). Amplitüdü yüzde değışim değeri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı. (p > 0,05), (* = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001), (* = p < 0,05, ** = p < 0,01, *** = p < 0,001), spike amplitüdü değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

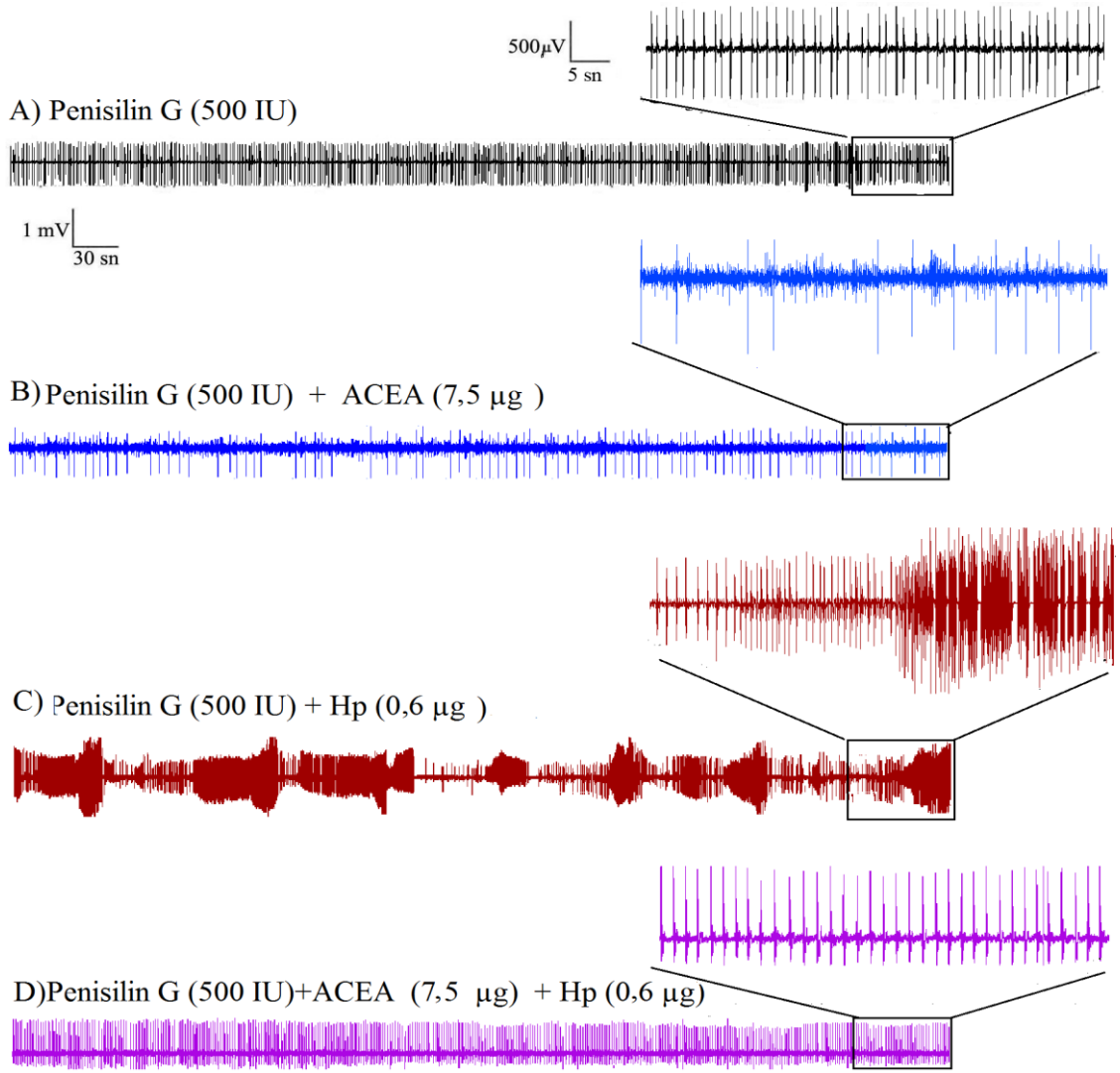
4.3.2. ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilin i.k. enjeksiyonundan 30 dk sonra etkin doz ACEA 7,5 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, ACEA'dan 10 dakika sonra da etkin doz Hp 0,6 µg (2 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) grubu kontrol (penisilin) grubuyla kıyaslandığında ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) grubunun ortalama spike frekansındaki değişim kontrol (penisilin) grubuna göre anlamlı değildi ($p>0,05$). Kontrol (penisilin) grubunda 90. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $37,54\pm 3,21$ spike/dk; $932,97\pm 30,24$ µV iken bu değerler, ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) kombinasyon grubunda sırasıyla $35,15\pm 4,62$ spike/dk; $937,73\pm 60,03$ µV olarak hesaplandı (Şekil 37D ve 38), (Tablo 13 ve 14). Ortalama spike amplitüd değerleri incelendiğinde ise, deney gruplarının değerlerindeki değişimin kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0,05$), (Şekil 37A, B, C, D ve 39).

ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) kombinasyon grubu ACEA (7,5 µg) grubuyla karşılaştırıldığında, ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) kombinasyon grubunun, 100. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $36,30\pm 3,05$ spike/dk; $929,30\pm 61,10$ iken; ACEA (7,5 µg) grubunda bu değerler sırasıyla $19,71\pm 2,55$ spike/dk; $801,58\pm 45,65$ µV olarak hesaplandı (Tablo 13 ve 14). 100. dakikada ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) kombinasyon grubununun ortalama spike frekansında görülen artışın ACEA (7,5 µg) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0,01$), (Şekil 37B, D ve 38), ancak ortalama spike amplitüd değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 37B, D ve 39).

ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) kombinasyon grubu, Hp (0,6 µg) grubuyla karşılaştırıldığında; ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) kombinasyon grubunda, 20. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $36,89\pm 3,37$ spike/dk; $1137,50\pm 40,86$ µV iken; Hp (0,6 µg) grubunda bu değerler sırasıyla $48,49\pm 3,40$ spike/dk; $1059,47\pm 29,16$ µV olarak hesaplandı (Tablo 13 ve 14). 20. dakikada ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) kombinasyon grubunun ortalama spike frekansında görülen azalma Hp (0,6 µg) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$), (Şekil 37C, D ve 38), ancak ortalama spike amplitüd değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 37C, D ve 39).



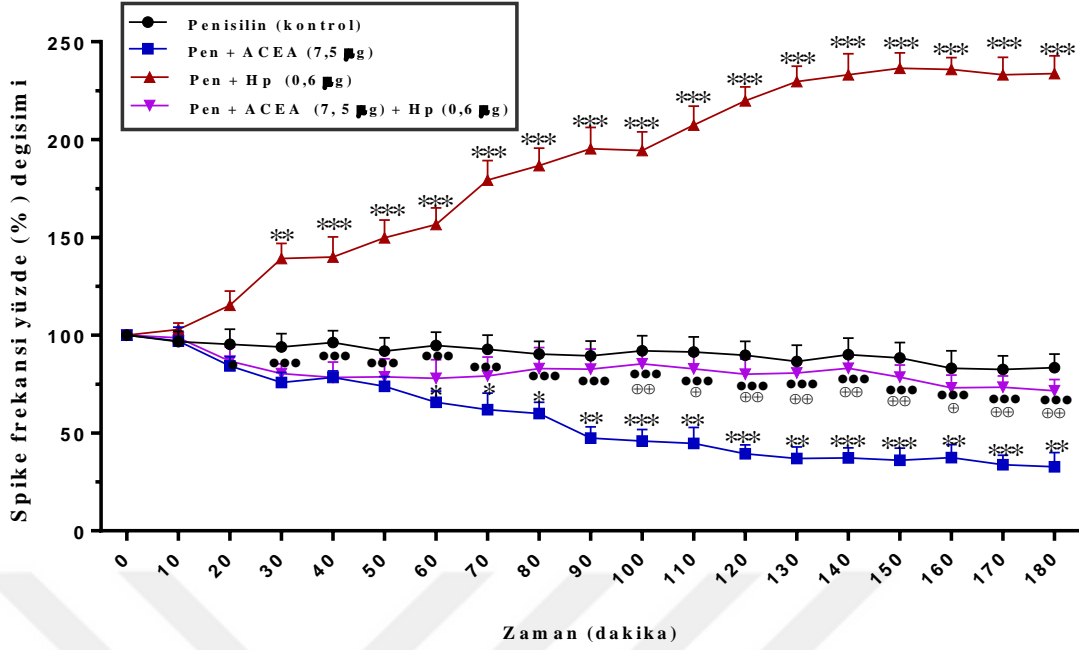
Şekil 37. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + ACEA (7,5 µg), C) Penisilin + Hp (0,6 µg) ve D) Penisilin + ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye), (Hp: Hemopressin)

Tablo 13. Kontrol (penisilin, 500 IU), 7,5 µg ACEA, 0,6 µg Hp ve 7,5 µg ACEA + 0,6 µg Hp gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakikadaki ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

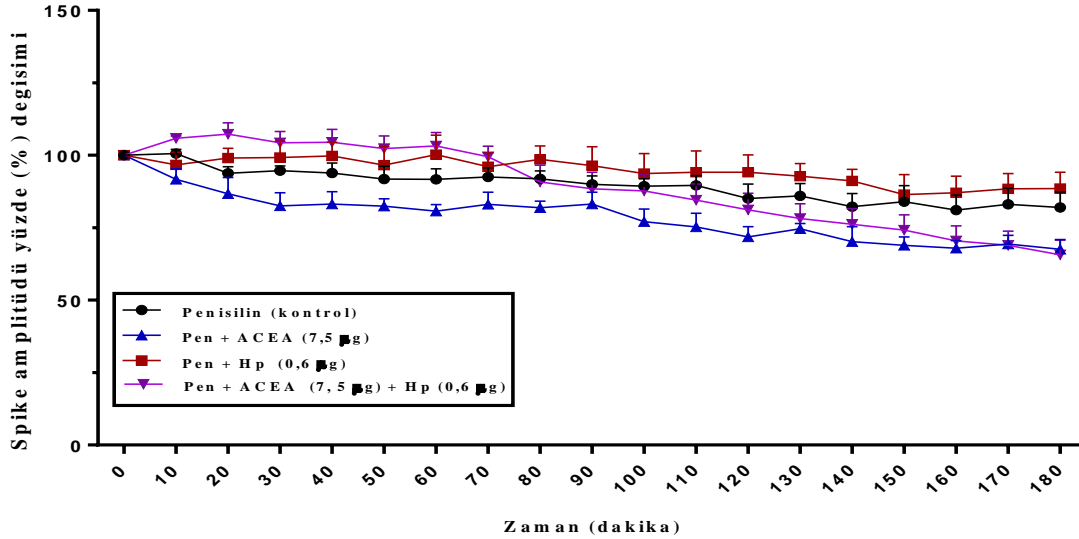
<u>Zaman</u>	Kontrol	ACEA (7,5 µg)	Hp (0,6 µg)	ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	43,00 ± 2,81	42,00 ± 0,57	42,50 ± 0,84
10. dakika	40,64 ± 2,17	41,71 ± 3,09	43,23 ± 1,56	41,94 ± 0,91
20. dakika	40,02 ± 3,28	36,22 ± 2,03	48,49 ± 3,40	36,89 ± 3,37
30. dakika	39,45 ± 2,85	32,63 ± 2,17	58,65 ± 3,86	34,18 ± 2,25
40. dakika	40,40 ± 2,57	33,74 ± 1,37	58,71 ± 4,08	33,43 ± 3,59
50. dakika	38,60 ± 2,84	31,78 ± 2,14	62,65 ± 3,22	33,33 ± 3,61
60. dakika	39,82 ± 2,84	28,26 ± 2,43	65,62 ± 3,16	32,96 ± 3,83
70. dakika	38,97 ± 3,04	26,63 ± 3,62	75,10 ± 3,72	33,54 ± 4,12
80. dakika	37,93 ± 2,75	25,80 ± 2,48	78,47 ± 4,25	35,28 ± 4,74
90. dakika	37,54 ± 3,21	20,36 ± 2,50	81,89 ± 4,18	35,15 ± 4,62
100. dakika	38,65 ± 3,23	19,71 ± 2,55	81,54 ± 3,68	36,30 ± 3,05
110. dakika	38,40 ± 3,23	19,19 ± 3,54	87,11 ± 4,08	35,17 ± 3,25
120. dakika	37,72 ± 2,93	16,92 ± 1,96	92,16 ± 2,33	33,97 ± 3,40
130. dakika	36,35 ± 3,51	15,91 ± 2,54	96,29 ± 2,67	34,25 ± 2,68
140. dakika	37,82 ± 3,57	16,04 ± 2,18	97,65 ± 3,48	35,30 ± 2,54
150. dakika	37,13 ± 3,27	15,48 ± 2,69	99,22 ± 3,09	33,34 ± 2,65
160. dakika	37,58 ± 3,08	16,06 ± 2,89	98,91 ± 1,66	31,26 ± 3,20
170. dakika	35,48 ± 2,56	14,54 ± 2,08	97,74 ± 2,78	31,35 ± 2,73
180. dakika	36,20 ± 2,09	14,08 ± 3,10	98,01 ± 3,31	30,64 ± 2,99

Tablo 14. Kontrol (penisilin, 500 IU), 7,5 µg ACEA, 0,6 µg Hp ve 7,5 µg ACEA + 0,6 µg Hp gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

<u>Zaman</u>	Kontrol	ACEA (7,5 µg)	Hp (0,6 µg)	ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	976,66 ± 42,08	1088,45 ± 42,25	1143,33 ± 54,26
10. dakika	1043,19 ± 15,41	953,75 ± 37,19	1035,30 ± 43,50	1121,63 ± 9,25
20. dakika	972,70 ± 23,01	901,40 ± 59,21	1059,47 ± 29,16	1137,50 ± 40,86
30. dakika	981,65 ± 17,10	858,09 ± 47,44	1063,94 ± 65,73	1105,95 ± 40,95
40. dakika	973,18 ± 35,61	865,14 ± 44,50	1070,50 ± 60,85	1107,88 ± 46,46
50. dakika	952,18 ± 45,31	857,11 ± 26,47	1036,68 ± 75,28	1084,46 ± 45,96
60. dakika	950,51 ± 38,36	839,48 ± 23,51	1074,35 ± 75,16	1094,50 ± 48,45
70. dakika	959,79 ± 32,68	863,84 ± 43,56	1030,45 ± 57,82	1055,00 ± 38,00
80. dakika	952,88 ± 27,99	852,14 ± 23,62	1058,68 ± 59,66	962,03 ± 62,26
90. dakika	932,97 ± 30,24	865,19 ± 42,47	1032,75 ± 71,19	937,73 ± 60,03
100. dakika	926,30 ± 26,59	801,58 ± 45,65	1003,27 ± 73,32	929,30 ± 61,10
110. dakika	928,96 ± 35,18	782,57 ± 49,36	1008,70 ± 77,28	896,27 ± 57,95
120. dakika	882,27 ± 51,83	747,27 ± 36,50	1007,92 ± 63,67	860,62 ± 59,90
130. dakika	891,92 ± 44,33	776,33 ± 18,78	993,19 ± 43,48	828,89 ± 53,97
140. dakika	852,75 ± 47,21	729,75 ± 53,64	979,20 ± 54,70	807,28 ± 57,49
150. dakika	870,56 ± 57,75	716,77 ± 30,45	927,22 ± 74,70	786,37 ± 55,96
160. dakika	840,58 ± 53,61	706,57 ± 27,09	931,71 ± 57,72	747,12 ± 54,73
170. dakika	861,84 ± 57,25	721,59 ± 31,12	946,77 ± 52,88	730,15 ± 52,80
180. dakika	850,64 ± 54,89	702,25 ± 35,27	948,11 ± 57,36	695,70 ± 53,77



Şekil 38. Kontrol (Penisilin, 500 IU), ACEA (7,5 µg), Hp (0,6 µg) ve ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında; 0,6 µg Hp grubunda 30. dk' dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, 7,5 µg ACEA grubunda 60. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü, 7,5 µg ACEA + 0,6 µg Hp grubunda ise herhangi bir değişiklik görülmedi ($p > 0,05$), (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$). 7,5 µg ACEA + 0,6 µg Hp kombinasyonu 0,6 µg Hp grubuna göre 20. dakikadan sonra yüzde spike frekansını istatistiksel açıdan anlamlı şekilde azaltırken (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$) 7,5 µg ACEA grubuna göre 100. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde arttırdı ($^{\oplus} = p < 0,05$; $^{\oplus\oplus} = p < 0,01$; $^{\oplus\oplus\oplus} = p < 0,001$), (Hp: Hemopressin), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 39. Kontrol (Penisilin, 500 IU), ACEA (7,5 µg), Hp (0,6 µg) ve ACEA (7,5 µg) + Hp (0,6 µg) gruplarının spike amplitüdü yüzde değişim değerleri (spike amplitüdü yüzde değişimi ± SEM). Amplitüdü yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı. ($p > 0,05$) (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$), (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$), ($^{\oplus} = p < 0,05$, $^{\oplus\oplus} = p < 0,01$, $^{\oplus\oplus\oplus} = p < 0,001$), (Hp: Hemopressin), spike amplitüdü değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

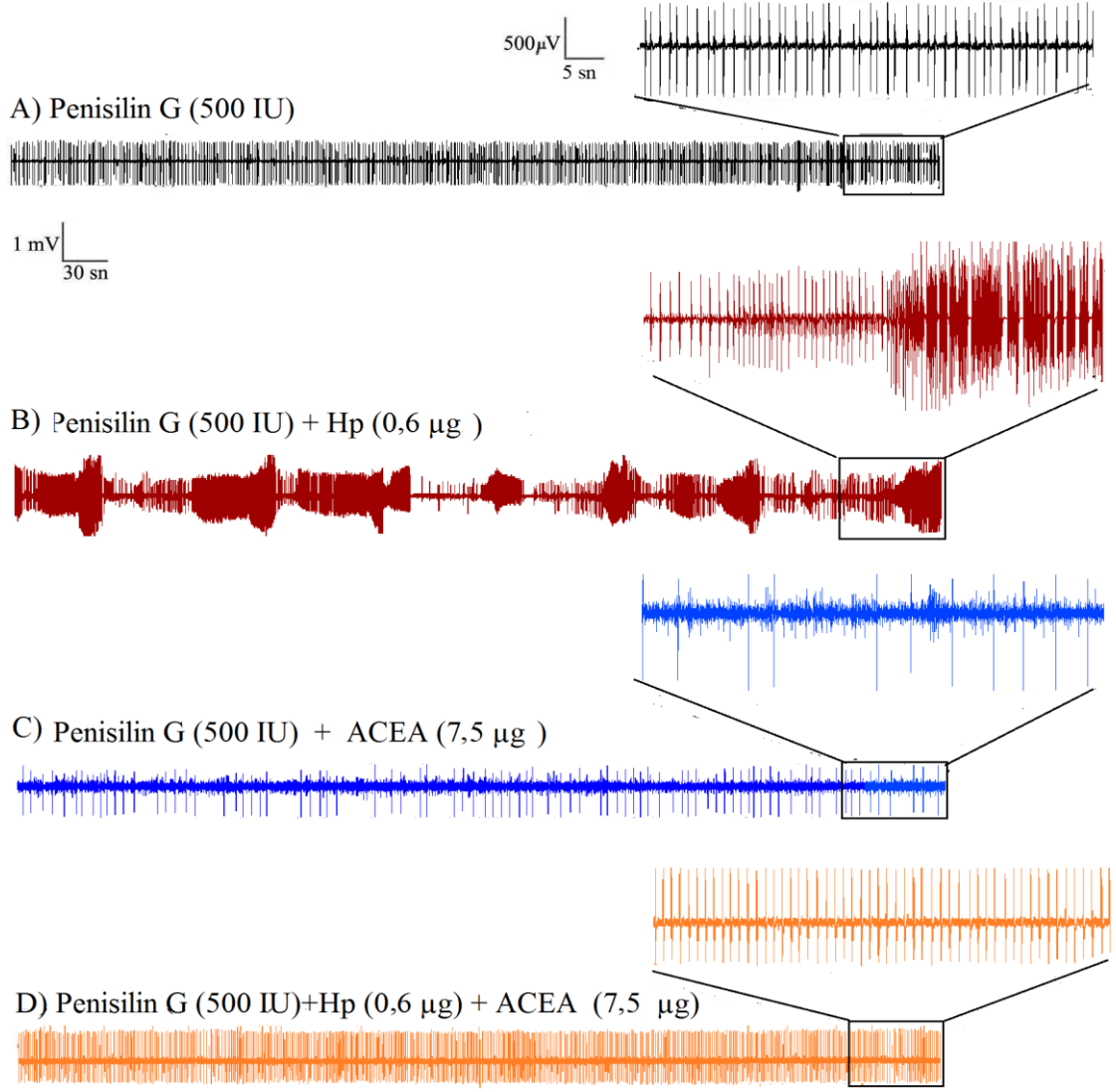
4.3.3. Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilin i.k. enjeksiyonundan 30 dk sonra etkin doz Hp 0,6 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, Hp'den 10 dk sonra da etkin doz ACEA 7,5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri incelendiğinde, Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) grubundaki değişim kontrol (penisilin) grubuna göre anlamlı değildi ($p>0,05$), (Şekil 40D ve 41). Kontrol (penisilin) grubunda 90. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $37,54\pm 3,21$ spike/dk; $932,97\pm 30,24$ µV iken bu değerler, Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunda sırasıyla $46,02\pm 3,68$ spike/dk; $1110,69\pm 45,74$ µV olarak hesaplandı (Tablo 15 ve 16). Ortalama spike amplitüd değerleri incelendiğinde ise, deney gruplarının değerlerindeki değişimin kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0,05$), (Şekil 40A, B, C, D ve 42).

Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu tek başına, Hp (0,6 µg) grubuyla karşılaştırıldığında, Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunun, 30. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $35,78\pm 3,01$ spike/dk; $1108,81\pm 27,07$ µV iken, Hp (0,6 µg) grubunda $58,65\pm 3,86$ spike/dk; $1063,94\pm 65,73$ µV olarak hesaplandı (Tablo 15 ve 16). 30. dakikada Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunun ortalama spike frekansında görülen azalma Hp (0,6 µg) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ($p< 0,001$), (Şekil 40B, D ve 41), ancak ortalama spike amplitüd değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$), (Şekil 40B, D ve 42).

Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu, tek başına enjekte edilen ACEA (7,5 µg) grubuyla karşılaştırıldığında; Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunun, 60. dakikada ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $42,13\pm 1,48$ spike/dk; $1136,97\pm 47,18$ µV iken, ACEA (7,5 µg) grubunda $28,26\pm 2,43$ spike/dk; $839,48\pm 23,51$ µV olarak hesaplandı (Tablo 15 ve 16). 30. dakikada Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu ortalama spike frekans değerlerini ACEA (7,5 µg) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdı ($p<0,01$), (Şekil 40C, D ve 41). Ancak ortalama spike amplitüd değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$), (Şekil 40C, D ve 42).



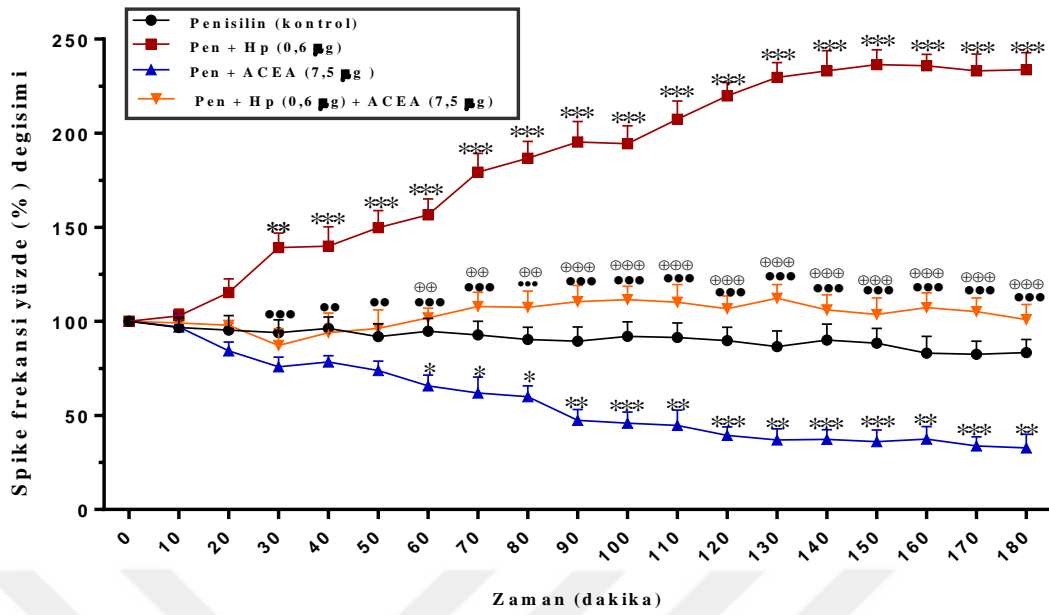
Şekil 40. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + Hp (0,6 µg), C) Penisilin + ACEA (7,5 µg) ve D) Penisilin + Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye), (Hp: Hemopressin)

Tablo 15. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,6 µg Hp, 7,5 µg ACEA ve 0,6 µg Hp + 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

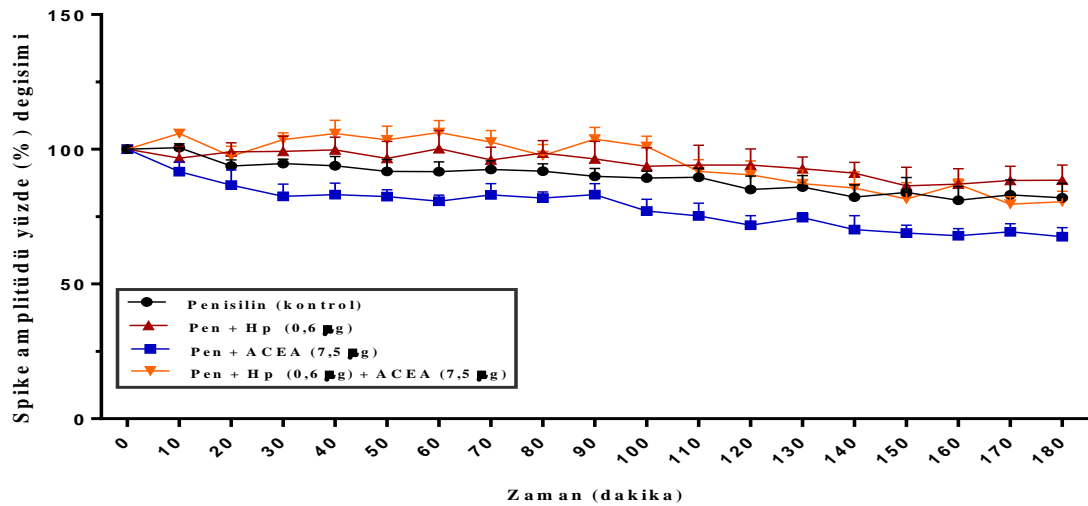
<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,6 µg)	ACEA (7,5 µg)	Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	42,00 ± 0,57	43,00 ± 2,81	41,66 ± 1,52
10. dakika	40,64 ± 2,17	43,23 ± 1,56	41,71 ± 3,09	41,26 ± 3,70
20. dakika	40,02 ± 3,28	48,49 ± 3,40	36,22 ± 2,03	40,88 ± 1,76
30. dakika	39,45 ± 2,85	58,65 ± 3,86	32,63 ± 2,17	35,78 ± 3,01
40. dakika	40,40 ± 2,57	58,71 ± 4,08	33,74 ± 1,37	38,48 ± 3,34
50. dakika	38,60 ± 2,84	62,65 ± 3,22	31,78 ± 2,14	39,45 ± 2,98
60. dakika	39,82 ± 2,84	65,62 ± 3,16	28,26 ± 2,43	42,13 ± 1,48
70. dakika	38,97 ± 3,04	75,10 ± 3,72	26,63 ± 3,62	44,54 ± 2,47
80. dakika	37,93 ± 2,75	78,47 ± 4,25	25,80 ± 2,48	44,41 ± 3,04
90. dakika	37,54 ± 3,21	81,89 ± 4,18	20,36 ± 2,50	46,02 ± 3,68
100. dakika	38,65 ± 3,23	81,54 ± 3,68	19,71 ± 2,55	46,76 ± 3,94
110. dakika	38,40 ± 3,23	87,11 ± 4,08	19,19 ± 3,54	46,02 ± 4,25
120. dakika	37,72 ± 2,93	92,16 ± 2,33	16,92 ± 1,96	44,15 ± 2,27
130. dakika	36,35 ± 3,51	96,29 ± 2,67	15,91 ± 2,54	46,85 ± 3,53
140. dakika	37,82 ± 3,57	97,65 ± 3,48	16,04 ± 2,18	44,22 ± 3,58
150. dakika	37,13 ± 3,27	99,22 ± 3,09	15,48 ± 2,69	43,23 ± 3,89
160. dakika	37,58 ± 3,08	98,91 ± 1,66	16,06 ± 2,89	44,72 ± 3,46
170. dakika	35,48 ± 2,56	97,74 ± 2,78	14,54 ± 2,08	43,88 ± 3,40
180. dakika	36,20 ± 2,09	98,01 ± 3,31	14,08 ± 3,10	41,70 ± 2,94

Tablo 16. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,6 µg Hp, 7,5 µg ACEA ve 0,6 µg Hp + 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,6 µg)	ACEA (7,5 µg)	Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1088,45 ± 42,25	976,66 ± 42,08	1153,33 ± 54,26
10. dakika	1043,19 ± 15,41	1035,30 ± 43,50	953,75 ± 37,19	1132,45 ± 13,66
20. dakika	972,70 ± 23,01	1059,47 ± 29,16	901,40 ± 59,21	1042,11 ± 39,61
30. dakika	981,65 ± 17,10	1063,94 ± 65,73	858,09 ± 47,44	1108,81 ± 27,07
40. dakika	973,18 ± 35,61	1070,50 ± 60,85	865,14 ± 44,50	1132,51 ± 52,43
50. dakika	952,18 ± 45,31	1036,68 ± 75,28	857,11 ± 26,47	1107,67 ± 54,29
60. dakika	950,51 ± 38,36	1074,35 ± 75,16	839,48 ± 23,51	1136,97 ± 47,18
70. dakika	959,79 ± 32,68	1030,45 ± 57,82	863,84 ± 43,56	1098,91 ± 45,77
80. dakika	952,88 ± 27,99	1058,68 ± 59,66	852,14 ± 23,62	1045,26 ± 43,30
90. dakika	932,97 ± 30,24	1032,75 ± 71,19	865,19 ± 42,47	1110,69 ± 45,74
100. dakika	926,30 ± 26,59	1003,27 ± 73,32	801,58 ± 45,65	1081,50 ± 40,74
110. dakika	928,96 ± 35,18	1008,70 ± 77,28	782,57 ± 49,36	982,13 ± 46,69
120. dakika	882,27 ± 51,83	1007,92 ± 63,67	747,27 ± 36,50	968,73 ± 55,09
130. dakika	891,92 ± 44,33	993,19 ± 43,48	776,33 ± 18,78	933,52 ± 56,54
140. dakika	852,75 ± 47,21	979,20 ± 54,70	729,75 ± 53,64	915,87 ± 64,25
150. dakika	870,56 ± 57,75	927,22 ± 74,70	716,77 ± 30,45	872,59 ± 64,49
160. dakika	840,58 ± 53,61	931,71 ± 57,72	706,57 ± 27,09	930,69 ± 21,69
170. dakika	861,84 ± 57,25	946,77 ± 52,88	721,59 ± 31,12	852,06 ± 29,33
180. dakika	850,64 ± 54,89	948,11 ± 57,36	702,25 ± 35,27	861,41 ± 41,89



Şekil 41. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,6 µg), ACEA (7,5 µg), Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında; 0,6 µg Hp grubunda 30. dk' dan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, 7,5 µg ACEA grubunda 60. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü, 0,6 µg Hp + 7,5 µg ACEA grubunda ise herhangi bir değişiklik görülmedi ($p>0,05$), (* = $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$). 7,5 µg ACEA + 0,6 µg Hp kombinasyonu 0,6 µg Hp grubuna göre 30. dakikadan sonra yüzde spike frekansını istatistiksel açıdan anlamlı şekilde azaltırken (*= $p<0,05$, (**= $p<0,01$), (***)= $p<0,001$), 7,5 µg ACEA grubuna göre 60. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde arttırdı ($^{\oplus}$ = $p<0,05$, $^{\oplus\oplus}$ = $p<0,01$, $^{\oplus\oplus\oplus}$ = $p<0,001$), (Hp:Hemopressin), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 42. Penisilin (500 IU), Hp (0,6 µg), ACEA (7,5 µg), Hp (0,6 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike amplitüd yüzde değişim değerleri (spike amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı ($p>0,05$), (* = $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$), (* = $p<0,05$; (**= $p<0,01$); (***)= $p<0,001$); ($^{\oplus}$ = $p<0,05$; $^{\oplus\oplus}$ = $p<0,01$; $^{\oplus\oplus\oplus}$ = $p<0,001$), (Hp: Hemopressin), spike amplitüd değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

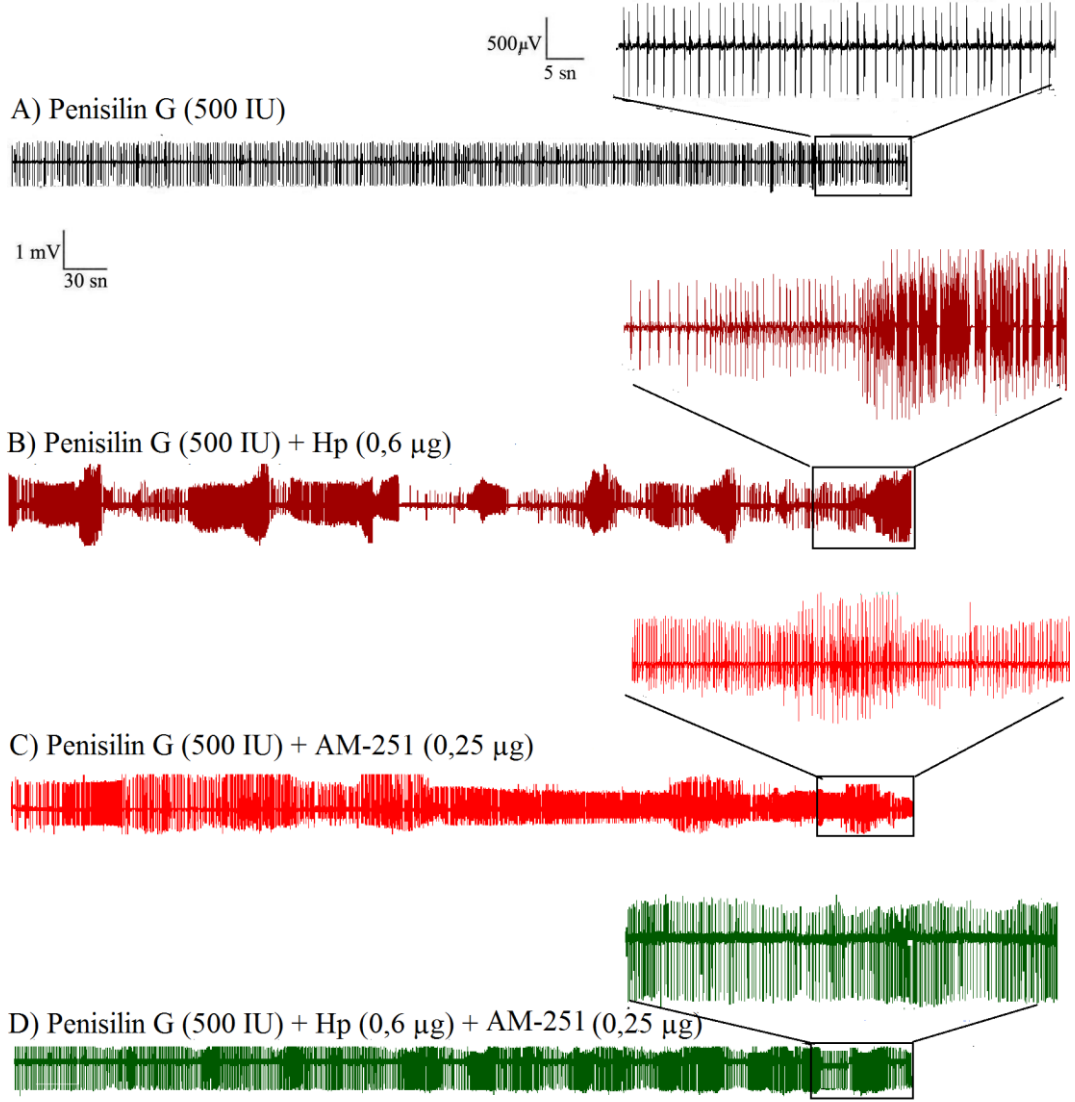
4.3.4. Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilin i.k. enjeksiyonundan 30 dk sonra etkin doz Hp 0,6 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, Hp'den 10 dk sonra da etkin doz AM-251 0,25 µg (2 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri incelendiğinde, Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) kombinasyon grubu kontrol (penisilin) grubuna göre ortalama spike frekansını 50. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde artırdı ($p < 0,01$), (Şekil 43D ve 44). 50. dakikada kontrol (penisilin) grubunun ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $38,60 \pm 2,84$ spike/dk; $952,18 \pm 45,31$ µV iken, Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) grubunda $57,48 \pm 3,92$ spike/dk; $852,86 \pm 45,47$ µV olarak saptandı (Tablo 17 ve 18). Ortalama spike amplitüd değerleri incelendiğinde ise deney gruplarının değerlerindeki değişimin kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p > 0,05$), (Şekil 43A, B, C, D ve 45).

Hp (0,6 µg) grubu tek başına AM-251 (0,25 µg) grubu ile karşılaştırıldığında Hp (0,6 µg) grubunda 120. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $92,16 \pm 2,33$ spike/dk; $1007,92 \pm 63,67$ µV iken; AM-251 (0,25 µg) grubunda sırasıyla $77,80 \pm 2,94$ spike/dk; $982,08 \pm 35,01$ µV olarak hesaplandı (Tablo 17 ve 18). Hp (0,6 µg) grubunda 120. dakikadan itibaren ortalama spike frekans değerlerinde görülen artış AM-251 (0,25 µg) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ve anlamlılık 180. dakikaya kadar devam etti ($p < 0,05$), (Şekil 43B, C ve 44). Ancak ortalama spike amplitüd değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0,05$), (Şekil 43B, C ve 45).

Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) kombinasyon grubu tek başına Hp (0,6 µg) ve tek başına AM-251 (0,25 µg) grubu ile karşılaştırıldığında 180 dakika boyunca ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadı ($p > 0,05$), (43B, C, D, 44 ve 45). 90. dakikada ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla Hp (0,6 µg) grubunda $81,89 \pm 4,18$ spike/dk; $1032,75 \pm 71,19$ µV iken, AM-251 (0,25 µg) grubunda sırasıyla $72,71 \pm 3,17$ spike/dk; $1045,63 \pm 58,97$ µV ve Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) grubunda sırasıyla $77,90 \pm 6,10$ spike/dk; $849,92 \pm 59,22$ µV olarak hesaplandı (Tablo 17 ve 18).



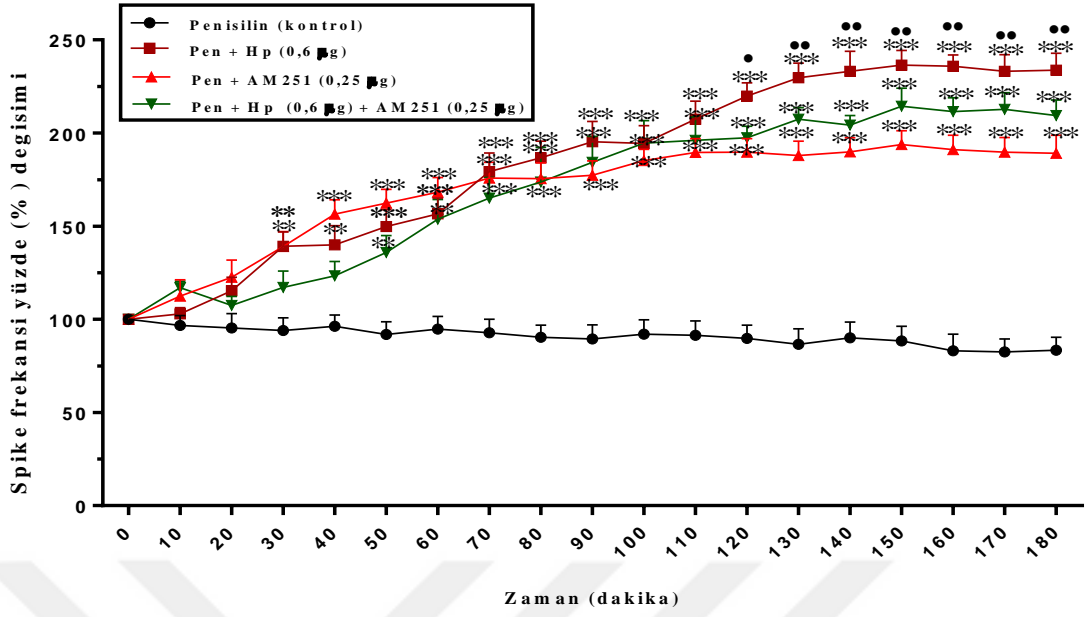
Şekil 43. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + Hp (0,6 µg), C) Penisilin + AM-251 (0,25 µg) ve D) Penisilin + Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye), (Hp: Hemopressin)

Tablo 17. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,6 µg Hp, 0,25 µg AM-251 ve 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

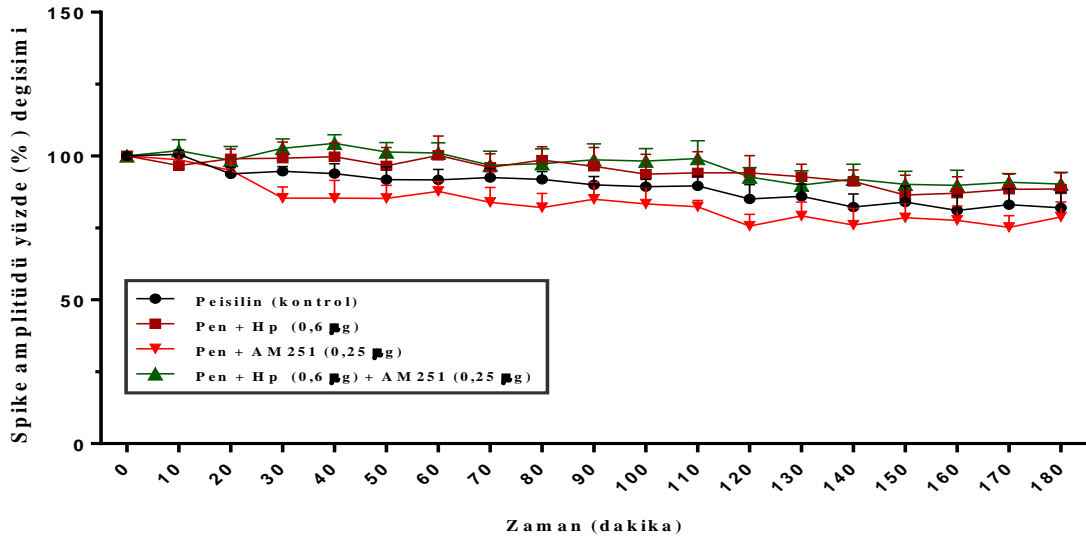
<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,6 µg)	AM-251 (0,25 µg)	Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	42,00 ± 0,57	41,08 ± 2,07	42,33 ± 0,95
10. dakika	40,64 ± 2,17	43,23 ± 1,56	46,12 ± 3,55	49,54 ± 2,16
20. dakika	40,02 ± 3,28	48,49 ± 3,40	50,23 ± 3,79	45,44 ± 2,11
30. dakika	39,45 ± 2,85	58,65 ± 3,86	57,01 ± 3,27	49,48 ± 3,72
40. dakika	40,40 ± 2,57	58,71 ± 4,08	64,13 ± 3,16	52,31 ± 3,84
50. dakika	38,60 ± 2,84	62,65 ± 3,22	66,54 ± 3,05	57,48 ± 3,92
60. dakika	39,82 ± 2,84	65,62 ± 3,16	68,98 ± 3,23	64,96 ± 4,60
70. dakika	38,97 ± 3,04	75,10 ± 3,72	72,10 ± 3,48	69,78 ± 4,66
80. dakika	37,93 ± 2,75	78,47 ± 4,25	71,96 ± 3,48	73,38 ± 8,06
90. dakika	37,54 ± 3,21	81,89 ± 4,18	72,71 ± 3,17	77,90 ± 6,10
100. dakika	38,65 ± 3,23	81,54 ± 3,68	75,93 ± 2,45	82,26 ± 5,16
110. dakika	38,40 ± 3,23	87,11 ± 4,08	77,70 ± 3,07	82,87 ± 5,42
120. dakika	37,72 ± 2,93	92,16 ± 2,33	77,80 ± 2,94	83,50 ± 2,79
130. dakika	36,35 ± 3,51	96,29 ± 2,67	77,03 ± 3,19	87,89 ± 3,65
140. dakika	37,82 ± 3,57	97,65 ± 3,48	77,86 ± 3,05	86,43 ± 2,53
150. dakika	37,13 ± 3,27	99,22 ± 3,09	79,46 ± 3,04	91,05 ± 5,68
160. dakika	37,58 ± 3,08	98,91 ± 1,66	78,31 ± 3,18	89,85 ± 4,80
170. dakika	35,48 ± 2,56	97,74 ± 2,78	77,78 ± 3,24	90,23 ± 4,89
180. dakika	36,20 ± 2,09	98,01 ± 3,31	77,51 ± 3,96	88,67 ± 4,13

Tablo 18. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,6 µg Hp, 0,25 µg AM-251 ve 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,6 µg)	AM-251 (0,25 µg)	Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1088,45 ± 42,25	1100,10 ± 40,09	983,48 ± 60,15
10. dakika	1043,19 ± 15,41	1035,30 ± 43,50	1079,54 ± 40,22	987,22 ± 28,32
20. dakika	972,70 ± 23,01	1059,47 ± 29,16	1044,54 ± 50,94	950,56 ± 37,56
30. dakika	981,65 ± 17,10	1063,94 ± 65,73	1088,21 ± 34,73	853,46 ± 38,91
40. dakika	973,18 ± 35,61	1070,50 ± 60,85	1106,90 ± 31,84	853,75 ± 61,71
50. dakika	952,18 ± 45,31	1036,68 ± 75,28	1075,38 ± 33,82	852,86 ± 45,47
60. dakika	950,51 ± 38,36	1074,35 ± 75,16	1070,86 ± 37,35	876,63 ± 34,81
70. dakika	959,79 ± 32,68	1030,45 ± 57,82	1026,31 ± 51,70	838,83 ± 51,73
80. dakika	952,88 ± 27,99	1058,68 ± 59,66	1032,02 ± 54,66	821,13 ± 48,64
90. dakika	932,97 ± 30,24	1032,75 ± 71,19	1045,63 ± 58,97	849,92 ± 59,22
100. dakika	926,30 ± 26,59	1003,27 ± 73,32	1041,64 ± 46,04	833,82 ± 58,82
110. dakika	928,96 ± 35,18	1008,70 ± 77,28	1050,42 ± 66,24	823,73 ± 21,24
120. dakika	882,27 ± 51,83	1007,92 ± 63,67	982,08 ± 35,01	756,46 ± 40,40
130. dakika	891,92 ± 44,33	993,19 ± 43,48	952,33 ± 53,38	791,40 ± 48,28
140. dakika	852,75 ± 47,21	979,20 ± 54,70	974,99 ± 54,25	759,81 ± 58,85
150. dakika	870,56 ± 57,75	927,22 ± 74,70	956,10 ± 47,88	785,24 ± 51,49
160. dakika	840,58 ± 53,61	931,71 ± 57,72	952,26 ± 55,33	776,36 ± 49,75
170. dakika	861,84 ± 57,25	946,77 ± 52,88	963,40 ± 32,03	751,64 ± 41,04
180. dakika	850,64 ± 54,89	948,11 ± 57,36	956,68 ± 43,51	787,74 ± 51,70



Şekil 44. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,6 µg), AM-251 (0,25 µg), Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında; 0,6 µg Hp grubunda 30. dakikadan, 0,25 µg AM-251 grubunda 30. dakikadan, 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 grubunda 50. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü (* = p< 0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001). 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 kombinasyonu tek başına 0,6 µg Hp ve 0,25 µg AM-251 gruplarıyla karşılaştırıldığında her hangi bir değişiklik görülmedi (p>0,05). Ancak 0,6 µg Hp grubu 0,25 µg AM-251 grubuyla karşılaştırıldığında 0,6 µg Hp 120. dakikadan itibaren görülen artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (* = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001), (Hp: Hemopressin), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



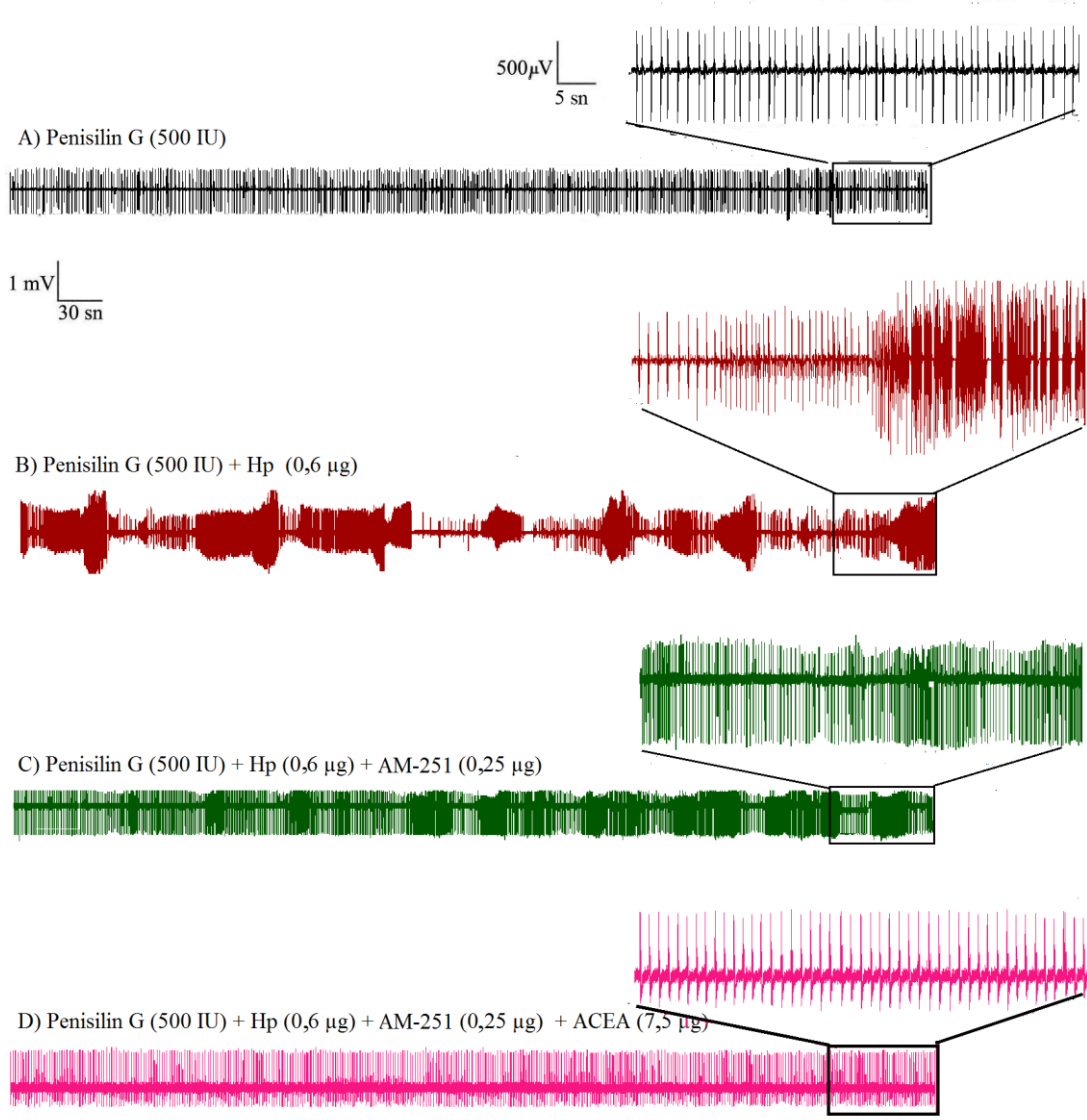
Şekil 45. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,6 µg), AM-251 (0,25 µg), Hp (0,6 µg) + AM-251(0,25 µg) gruplarının spike amplitüd yüzde değişim değerleri (spike amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı. (p>0,05). (* = p< 0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001). (* = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001), (Hp: Hemopressin), spike amplitüd değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/ madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

4.3.5. Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilin i.k. enjeksiyonundan 30 dk sonra etkin doz Hp (0,6 µg / 2 µl) i.s.v. olarak, Hp'den 10 dk sonra etkin doz AM-251 (0,25 µg / 2 µl) i.s.v. olarak ve AM-251'den 10 dk sonra da etkin doz ACEA (7,5 µg / 1 µl) yine i.s.v olarak uygulandı.

Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu kontrol (penisilin) grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Şekil 46D ve 47). 90. dakikada kontrol (penisilin) grubundan elde edilen ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla $37,54\pm3,21$ spike/dk; $932,97\pm30,24$ µV iken; Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) grubunda sırasıyla $30,84\pm2,89$ spike/dk; $1055,02\pm62,75$ µV olarak hesaplandı (Tablo 19 ve 20). Ortalama spike amplitüd değerleri incelendiğinde ise deney gruplarının değerlerindeki değişimin kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0,05$), (Şekil 46A, B, C, D ve 48).

Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu tek başına Hp (0,6 µg) grubuyla ve Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) kombinasyon grubuyla karşılaştırıldığında her iki gruba göre de ortalama spike frekans değerlerinde 50. dakikan itibaren anlamlı bir azalma saptanırken ($p<0,01$), (Şekil 46B, C, D ve 47), ortalama spike amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$), (Şekil 46B, C, D ve 48). 50. dakikada ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla Hp (0,6 µg) grubunda $62,65\pm3,22$ spike/dk; $1036,68\pm75,28$ µV Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) grubunda $57,48\pm3,92$ spike/dk; $852,86\pm45,47$ µV ve Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) grubunda $39,44\pm2,96$ spike/dk; $1065,25\pm34,48$ µV olarak hesaplandı (Tablo 19 ve 20).



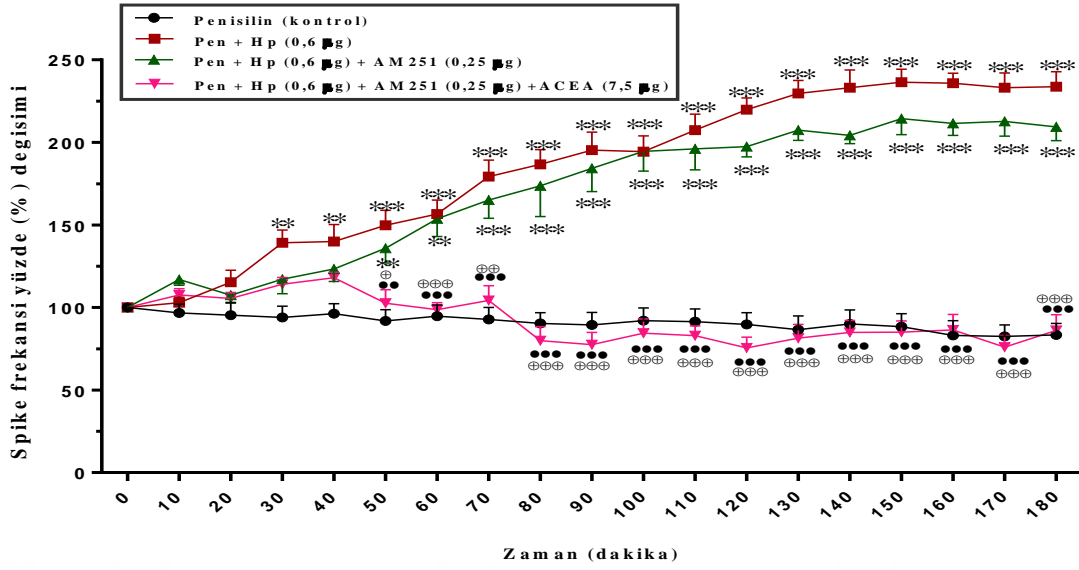
Şekil 46. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + Hp (0,6 μ g), C) Penisilin + Hp (0,6 μ g) + AM-251 (0,25 μ g) D) Penisilin + Hp (0,6 μ g) + AM-251 (0,25 μ g) + ACEA (7,5 μ g), gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (μ V), 5 saniye), (Hp: Hemopressin)

Tablo 19. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,6 µg Hp, 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 ve 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

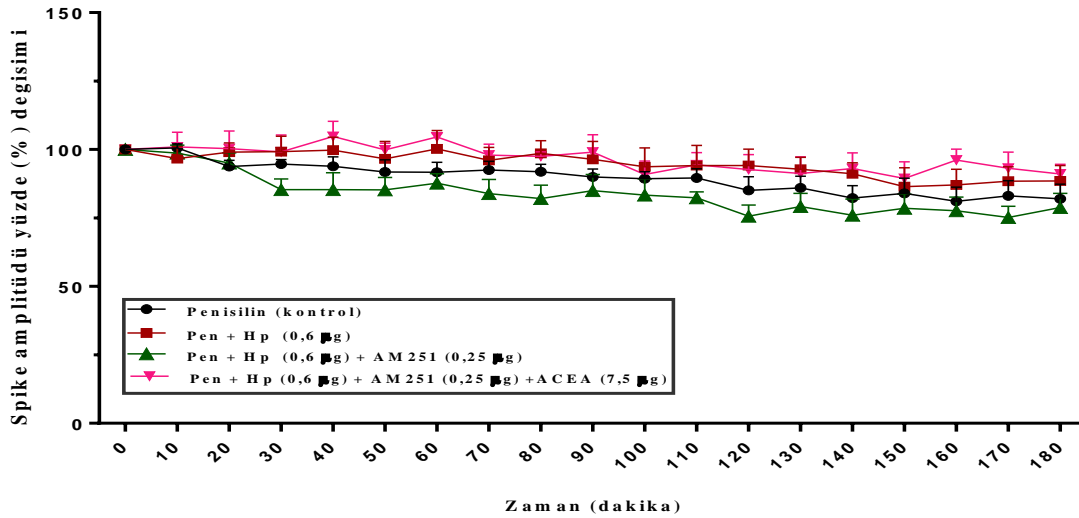
<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,6 µg)	Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg)	Hp (0,6 µg) +AM-251 (0,25 µg)+ ACEA(7,5 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	42,00 ± 0,57	42,33 ± 0,95	39,90 ± 0,63
10. dakika	40,64 ± 2,17	43,23 ± 1,56	49,54 ± 2,16	42,90 ± 1,48
20. dakika	40,02 ± 3,28	48,49 ± 3,40	45,44 ± 2,11	42,07 ± 1,40
30. dakika	39,45 ± 2,85	58,65 ± 3,86	49,48 ± 3,72	45,50 ± 1,51
40. dakika	40,40 ± 2,57	58,71 ± 4,08	52,31 ± 3,84	47,17 ± 1,98
50. dakika	38,60 ± 2,84	62,65 ± 3,22	57,48 ± 3,92	39,44 ± 2,96
60. dakika	39,82 ± 2,84	65,62 ± 3,16	64,96 ± 4,60	39,33 ± 1,61
70. dakika	38,97 ± 3,04	75,10 ± 3,72	69,78 ± 4,66	41,43 ± 2,99
80. dakika	37,93 ± 2,75	78,47 ± 4,25	73,38 ± 8,06	31,91 ± 3,30
90. dakika	37,54 ± 3,21	81,89 ± 4,18	77,90 ± 6,10	30,84 ± 2,89
100. dakika	38,65 ± 3,23	81,54 ± 3,68	82,26 ± 5,16	33,64 ± 3,31
110. dakika	38,40 ± 3,23	87,11 ± 4,08	82,87 ± 5,42	33,06 ± 2,21
120. dakika	37,72 ± 2,93	92,16 ± 2,33	83,50 ± 2,79	30,04 ± 2,39
130. dakika	36,35 ± 3,51	96,29 ± 2,67	87,89 ± 3,65	32,49 ± 3,29
140. dakika	37,82 ± 3,57	97,65 ± 3,48	86,43 ± 2,53	33,80 ± 2,76
150. dakika	37,13 ± 3,27	99,22 ± 3,09	91,05 ± 5,68	33,93 ± 2,77
160. dakika	37,58 ± 3,08	98,91 ± 1,66	89,85 ± 4,80	34,46 ± 3,72
170. dakika	35,48 ± 2,56	97,74 ± 2,78	90,23 ± 4,89	30,34 ± 2,90
180. dakika	36,20 ± 2,09	98,01 ± 3,31	88,67 ± 4,13	34,23 ± 3,64

Tablo 20. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,6 µg Hp, 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 ve 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,6 µg)	Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg)	Hp (0,6 µg) +AM-251 (0,25 µg)+ ACEA(7,5 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1088,45 ± 42,25	983,48 ± 60,15	1100,00 ± 34,15
10. dakika	1043,19 ± 15,41	1035,30 ± 43,50	987,22 ± 28,32	1077,82 ± 62,57
20. dakika	972,70 ± 23,01	1059,47 ± 29,16	950,56 ± 37,56	1071,69 ± 75,08
30. dakika	981,65 ± 17,10	1063,94 ± 65,73	853,46 ± 38,91	1057,81 ± 67,69
40. dakika	973,18 ± 35,61	1070,50 ± 60,85	853,75 ± 61,71	1115,00 ± 51,29
50. dakika	952,18 ± 45,31	1036,68 ± 75,28	852,86 ± 45,47	1065,25 ± 34,48
60. dakika	950,51 ± 38,36	1074,35 ± 75,16	876,63 ± 34,81	1116,63 ± 29,83
70. dakika	959,79 ± 32,68	1030,45 ± 57,82	838,83 ± 51,73	1047,29 ± 56,10
80. dakika	952,88 ± 27,99	1058,68 ± 59,66	821,13 ± 48,64	1041,66 ± 33,01
90. dakika	932,97 ± 30,24	1032,75 ± 71,19	849,92 ± 59,22	1055,02 ± 62,75
100. dakika	926,30 ± 26,59	1003,27 ± 73,32	833,82 ± 58,82	971,55 ± 62,34
110. dakika	928,96 ± 35,18	1008,70 ± 77,28	823,73 ± 21,24	1008,31 ± 52,81
120. dakika	882,27 ± 51,83	1007,92 ± 63,67	756,46 ± 40,40	989,89 ± 62,67
130. dakika	891,92 ± 44,33	993,19 ± 43,48	791,40 ± 48,28	974,10 ± 68,50
140. dakika	852,75 ± 47,21	979,20 ± 54,70	759,81 ± 58,85	993,50 ± 65,27
150. dakika	870,56 ± 57,75	927,22 ± 74,70	785,24 ± 51,49	955,89 ± 70,76
160. dakika	840,58 ± 53,61	931,71 ± 57,72	776,36 ± 49,75	1025,94 ± 48,00
170. dakika	861,84 ± 57,25	946,77 ± 52,88	751,64 ± 41,04	994,33 ± 68,21
180. dakika	850,64 ± 54,89	948,11 ± 57,36	787,74 ± 51,70	972,53 ± 47,83



Şekil 47. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,6 µg), Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) ve Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike frekans yüzde değışim değeri (spike yüzde değışimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında; tek başına 0,6 µg Hp grubunda 30. dakikadan itibaren, 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 kombinasyon grubuna göre 50. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü (* = p< 0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001). Ancak 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA grubuna göre herhangi bir değışiklik saptanmadı (p>0,5) 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA kombinasyonu tek başına 0,6 µg Hp (* = p<0,05, ** = p<0,01, *** = p<0,001) ve 0,6 µg Hp + 0,25 µg AM-251 (⊕ = p<0,05; ⊕⊕ = p<0,01; ⊕⊕⊕ = p<0,001) gruplarıyla karşılaştırıldığında her iki gruba göre de 50. dakikadan itibaren anlamlı bir azalma görüldü, (Hp: Hemopressin), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



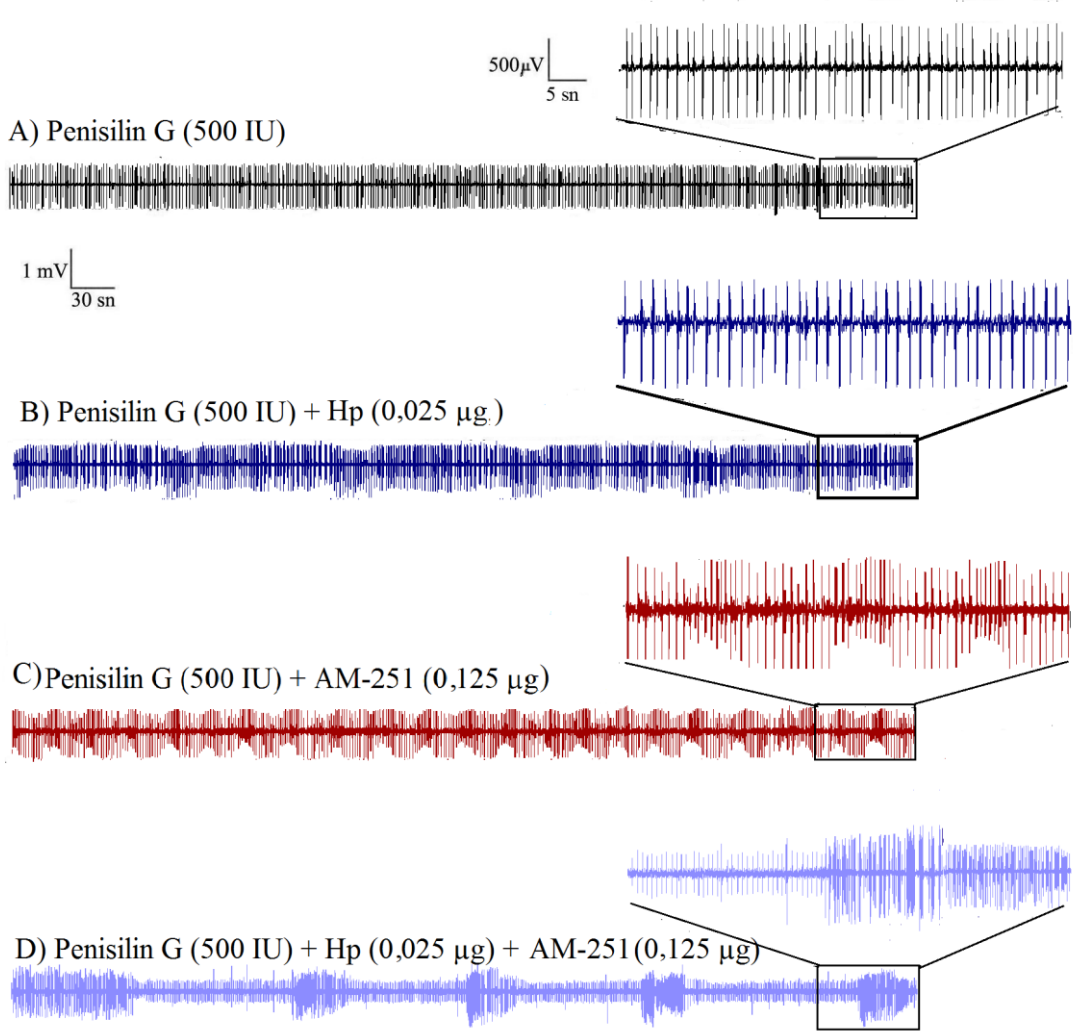
Şekil 48. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,6 µg), Hp (0,6 µg) + AM-251(0,25 µg) ve Hp (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike amplitüdü yüzde değışim değeri (spike amplitüdü yüzde değışimi ± SEM). Amplitüdü yüzde değışim değeri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı (p>0,05), (* = p< 0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001 (* = p<0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001), (⊕ = p<0,05; ⊕⊕ = p<0,01; ⊕⊕⊕ = p<0,001), (Hp: Hemopressin), spike amplitüdü değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

4.3.6. Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilinin i.k. enjeksiyonundan 30 dk sonra etkisiz doz Hp (0,025 µg / 2 µl) i.s.v. olarak, etkisiz doz Hp'den 10 dk sonra etkisiz doz AM-251 (0,125 µg / 2 µl) yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri incelendiğinde, Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) kombinasyon grubu kontrol (penisilin) grubuna göre ortalama spike frekansını 40. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde artırdı ($p<0,01$), (Şekil 49D ve 50), ancak ortalama spike amplitüd değerleri incelendiğinde, kontrol (penisilin) grubuna göre anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$), (Şekil 49D ve 51). 40. dakikada kontrol (penisilin) grubunda ortalama spike frekans değerleri $40,40\pm 2,57$ spike/dk; $973,18\pm 35,61$ µV iken, Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) grubunda $58,91\pm 4,39$ spike/dk; $932,42\pm 8,02$ µV olarak hesaplandı (Tablo 21 ve 22).

Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) kombinasyon grubu tek başına Hp (0,025 µg) ve tek başına AM-251 (0,125 µg) gruplarıyla karşılaştırıldığında her iki gruba göre de ortalama spike frekansında 50. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ve artış deney sonuna kadar devam etti ($p<0,05$), (Şekil 49B, C, D ve 50), ancak ortalama spike amplitüd değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$), (Şekil 49B, C, D ve 51). 50. dakikadaki ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla tek başına Hp (0,025 µg) grubunda $45,59\pm 2,56$ spike/dk; $833,42\pm 34,60$ µV tek başına AM-251(0,125 µg) grubunda sırasıyla $46,01\pm 4,21$ spike/dk; $933,85\pm 17,12$ µV ve Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) kombinasyon grubunda sırasıyla $63,30\pm 3,90$ spike/dk; $954,02\pm 7,82$ µV olarak hesaplandı (Tablo 21 ve 22).



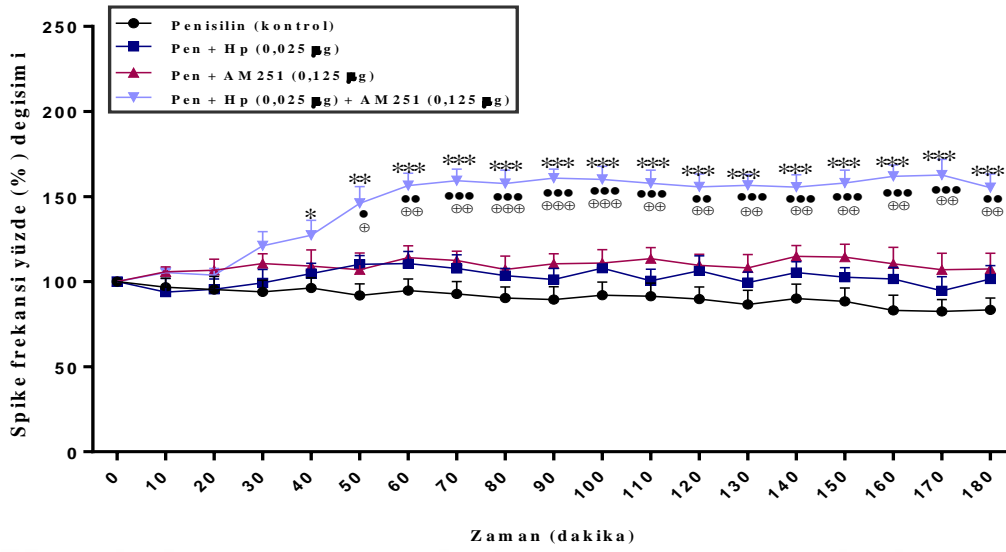
Şekil 49. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + Hp (0,025 µg), C) Penisilin + AM-251 (0,125 µg) ve D) Penisilin + Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye), (Hp: Hemopressin)

Tablo 21. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,025 µg Hp, 0,125 µg AM-251 ve 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika için ortalama değerleri (spike ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

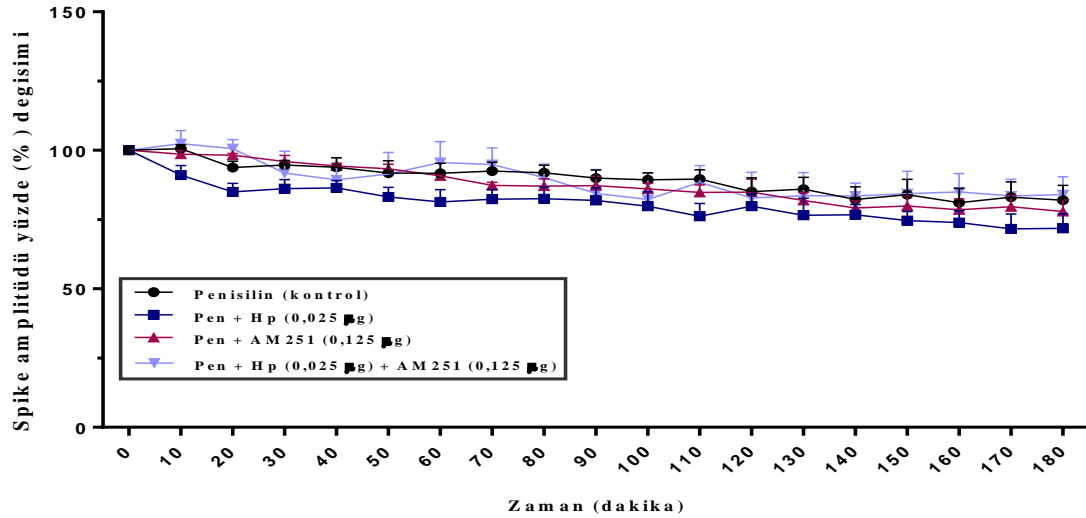
<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,025 µg)	AM-251 (0,125 µg)	Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	41,33 ± 1,28	42,66 ± 2,57	43,50 ± 0,99
10. dakika	40,64 ± 2,17	38,97 ± 3,83	45,48 ± 1,23	45,76 ± 1,08
20. dakika	40,02 ± 3,28	39,63 ± 3,01	45,85 ± 2,78	45,27 ± 2,38
30. dakika	39,45 ± 2,85	41,18 ± 3,63	47,54 ± 2,48	52,82 ± 4,46
40. dakika	40,40 ± 2,57	43,37 ± 3,10	46,91 ± 4,08	58,91 ± 4,39
50. dakika	38,60 ± 2,84	45,59 ± 2,56	46,01 ± 4,21	63,30 ± 3,90
60. dakika	39,82 ± 2,84	45,84 ± 3,42	49,09 ± 2,94	67,89 ± 2,68
70. dakika	38,97 ± 3,04	44,59 ± 3,73	48,33 ± 2,37	69,60 ± 4,12
80. dakika	37,93 ± 2,75	42,73 ± 2,01	46,04 ± 3,42	68,94 ± 4,69
90. dakika	37,54 ± 3,21	42,00 ± 3,07	47,53 ± 2,52	70,20 ± 3,65
100. dakika	38,65 ± 3,23	44,56 ± 1,49	47,67 ± 3,41	69,93 ± 4,36
110. dakika	38,40 ± 3,23	41,38 ± 2,71	48,81 ± 2,82	68,89 ± 4,35
120. dakika	37,72 ± 2,93	43,77 ± 3,17	47,12 ± 2,76	68,12 ± 4,64
130. dakika	36,35 ± 3,51	41,00 ± 2,46	46,45 ± 3,38	68,23 ± 3,43
140. dakika	37,82 ± 3,57	43,46 ± 2,80	49,42 ± 2,67	67,96 ± 4,35
150. dakika	37,13 ± 3,27	42,32 ± 2,32	49,16 ± 3,30	69,02 ± 4,53
160. dakika	37,58 ± 3,08	41,73 ± 2,18	47,51 ± 4,16	70,68 ± 4,16
170. dakika	35,48 ± 2,56	39,01 ± 3,31	46,00 ± 4,18	71,04 ± 4,96
180. dakika	36,20 ± 2,09	41,98 ± 3,52	46,18 ± 3,99	67,81 ± 4,55

Tablo 22. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,025 µg Hp, 0,125 µg AM-251 ve 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika için ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,025 µg)	AM-251 (0,125 µg)	Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1035,33 ± 33,33	1016,08 ± 53,70	1077,33 ± 55,77
10. dakika	1043,19 ± 15,41	912,57 ± 34,66	986,82 ± 13,90	1069,55 ± 4,70
20. dakika	972,70 ± 23,01	851,60 ± 30,94	983,10 ± 6,38	1050,34 ± 3,28
30. dakika	981,65 ± 17,10	863,54 ± 32,53	960,58 ± 21,91	957,90 ± 7,96
40. dakika	973,18 ± 35,61	865,99 ± 26,38	943,81 ± 10,25	932,42 ± 8,02
50. dakika	952,18 ± 45,31	833,42 ± 34,60	933,85 ± 17,12	954,02 ± 7,82
60. dakika	950,51 ± 38,36	815,37 ± 44,10	908,81 ± 7,46	997,61 ± 7,59
70. dakika	959,79 ± 32,68	824,90 ± 34,54	873,92 ± 10,81	990,78 ± 5,94
80. dakika	952,88 ± 27,99	826,80 ± 42,68	871,46 ± 26,27	941,10 ± 4,90
90. dakika	932,97 ± 30,24	820,90 ± 45,77	873,78 ± 32,82	881,65 ± 8,60
100. dakika	926,30 ± 26,59	800,02 ± 52,51	861,67 ± 20,14	859,03 ± 9,37
110. dakika	928,96 ± 35,18	763,00 ± 46,55	848,59 ± 27,48	923,08 ± 6,08
120. dakika	882,27 ± 51,83	799,50 ± 45,26	849,75 ± 46,89	864,32 ± 9,30
130. dakika	891,92 ± 44,33	766,97 ± 61,37	819,48 ± 29,51	873,45 ± 8,27
140. dakika	852,75 ± 47,21	768,40 ± 37,32	792,80 ± 24,96	871,81 ± 4,67
150. dakika	870,56 ± 57,75	748,02 ± 32,83	799,66 ± 36,95	880,62 ± 8,07
160. dakika	840,58 ± 53,61	740,63 ± 42,48	785,72 ± 39,71	887,49 ± 6,61
170. dakika	861,84 ± 57,25	718,01 ± 53,92	796,97 ± 41,73	872,01 ± 6,01
180. dakika	850,64 ± 54,89	719,67 ± 53,14	779,36 ± 41,82	877,17 ± 6,37



Şekil 50. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,025 µg), AM-251 (0,125 µg), Hp (0,025 µg) + AM-251(0,125 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında; 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 grubunda 40. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken (*= p<0,05; **=p<0,01; ***=p<0,001), tek başına 0,025 µg Hp ve tek başına 0,125 µg AM-251 gruplarında herhangi bir değişiklik görülmedi (p>0,05). 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 kombinasyon grubu 0,025 µg Hp grubuna göre 50. dakikada (*=p<0,05; **=p<0,01; ***=p<0,001), aynı şekilde 0,125 µg AM-251 grubuna göre de 50. dakikada istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ([⊕]=p<0,05; ^{⊕⊕}=p<0,01; ^{⊕⊕⊕}=p<0,001), (Hp:Hemopressin), spike frekans değeri %= (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/ madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 51. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,025 µg), AM-251 (0,125 µg), Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) gruplarının spike amplitüd yüzde değişim değerleri (spike amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı, (p>0,05), (p>0,05) (*= p<0,05; **=p<0,01; ***=p<0,001, (*=p<0,05; **=p<0,01; ***=p<0,001), ([⊕]=p<0,05; ^{⊕⊕}=p<0,01; ^{⊕⊕⊕}=p<0,001), (Hp: Hemopressin), spike amplitüd değeri %= (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

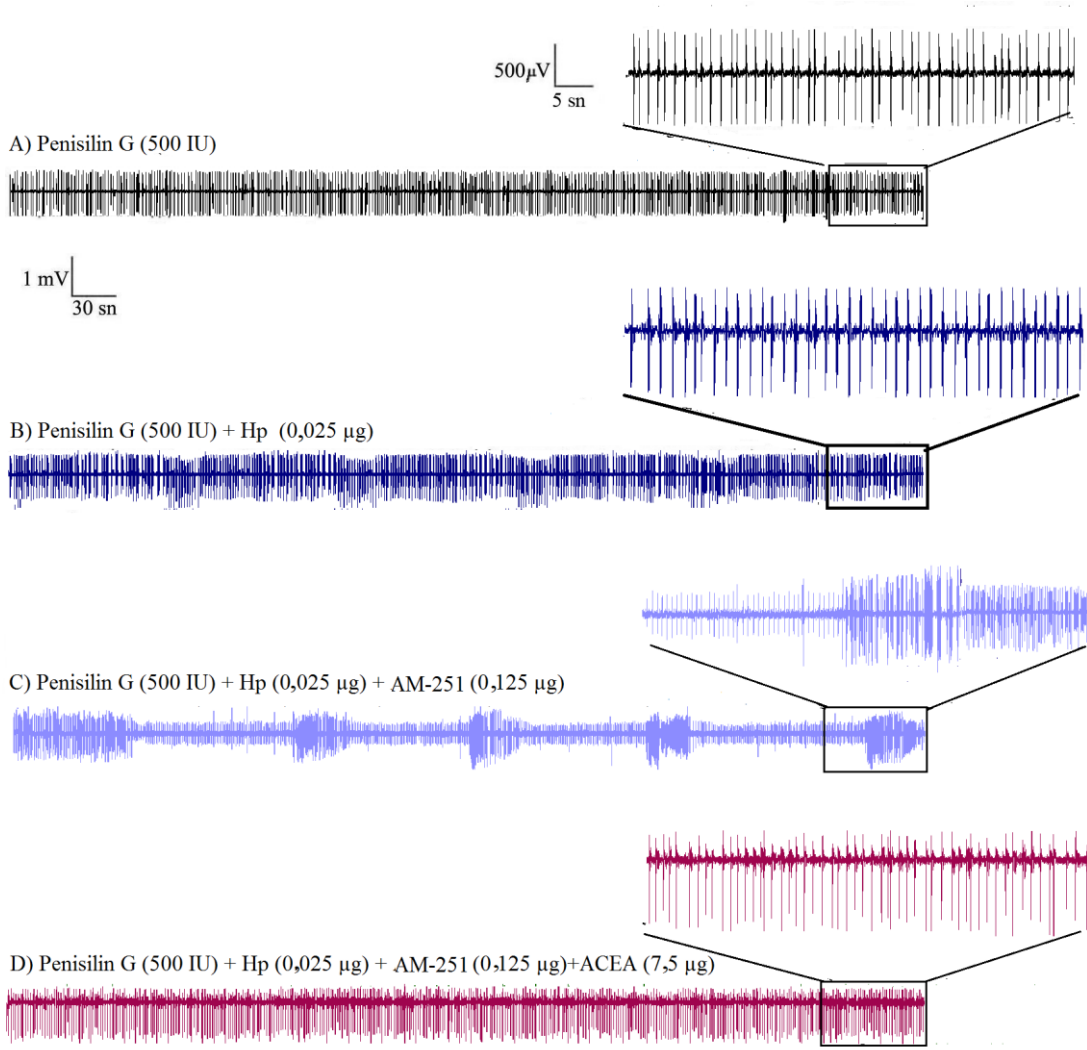
4.3.7. Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU penisilinin i.k. enjeksiyonundan 30 dk sonra etkisiz doz Hp (0,025 µg / 2 µl) i.s.v. olarak, etkisiz doz Hp'den 10 dk sonra etkisiz doz AM-251 (0,125 µg / 2 µl) i.s.v. olarak ve etkisiz doz AM-251'den 10 dk sonra da etkin doz ACEA (7,5 µg / 1 µl) yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) grubu kontrol (penisilin) grubuyla karşılaştırıldığında ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. 90. dakikadaki kontrol (penisilin) grubunun ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla, 37,54±3,21 spike/dk; 932,97±30,24 µV iken Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunda sırasıyla 40,95±4,30 spike/dk; 1032,51±96,33 µV olarak hesaplandı (Tablo 23 ve 24).

Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu tek başına Hp (0,025 µg) grubuyla karşılaştırıldığında ortalama spike frekans ve amplitüd değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ve bu durum deney sonuna kadar devam etti ($p>0,05$), (Şekil 52B, D, 53 ve 54). 90. dakikadaki Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunun ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla 40,95±4,30 spike/dk; 1032,51±96,33 µV iken Hp (0,025 µg) grubunda sırasıyla 42,00±3,07 spike/dk; 820,90±45,77 µV olarak hesaplandı (Tablo 23 ve 24).

Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) grubu ile karşılaştırıldığında; 50. dakikada Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) grubunun ortalama spike frekans ve amplitüd değerleri sırasıyla 38,32±4,07 spike/dk; 1158,65±43,44 µV iken, Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) grubunda sırasıyla 63,30±3,90 spike/dk; 954,02±7,82 µV olarak hesaplandı (Tablo 23 ve 24). 50. dakikadan itibaren Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubunun ortalama spike frekansında görülen azalma Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,01$), (Şekil 52C, D ve 53) ancak ortalama spike amplitüd değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$), (Şekil 52C, D ve 54).



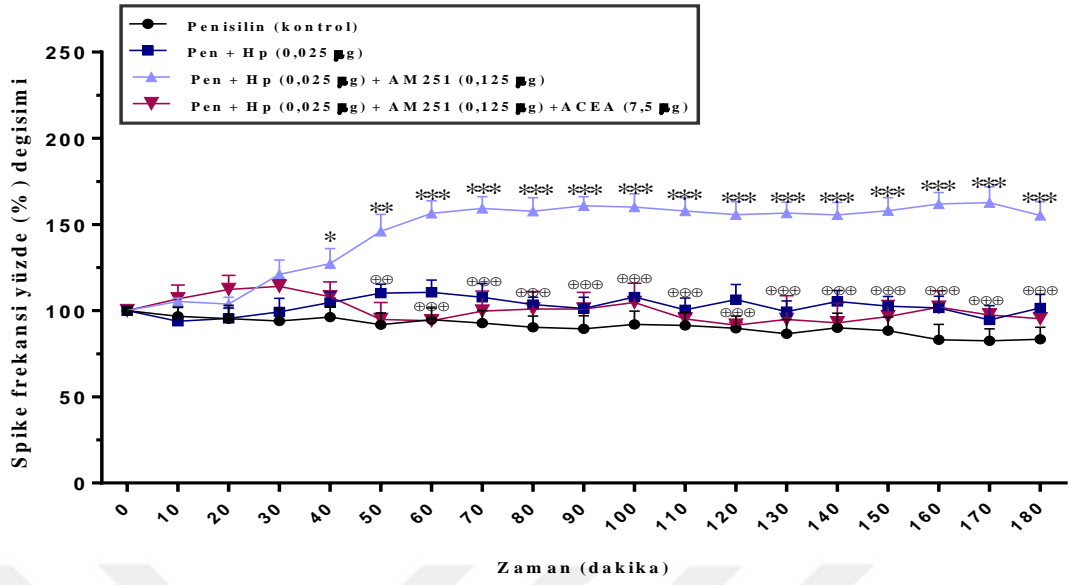
Şekil 52. A) Penisilin (kontrol) grubu (500 IU), B) Penisilin + Hp (0,025 µg), C) Penisilin + Hp (0,025 µg) + AM-251(0,125 µg) ve D) Penisilin + Hp (0,025 µg) + AM-251(0,125 µg) + ACEA (7,5 µg), gruplarının 90. dakikasındaki ECoG kayıtlarından örnekler (Bar 1 milivolt (mV), 30 saniye; Bar 500 mikrovolt (µV), 5 saniye), (Hp: Hemopressin)

Tablo 23. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,025 µg Hp, 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 ve 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA gruplarından alınan kayıtların spike frekans yüzdelерinin kontrol grubuna göre her 10 dakikadaki ortalama değeri (spike ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

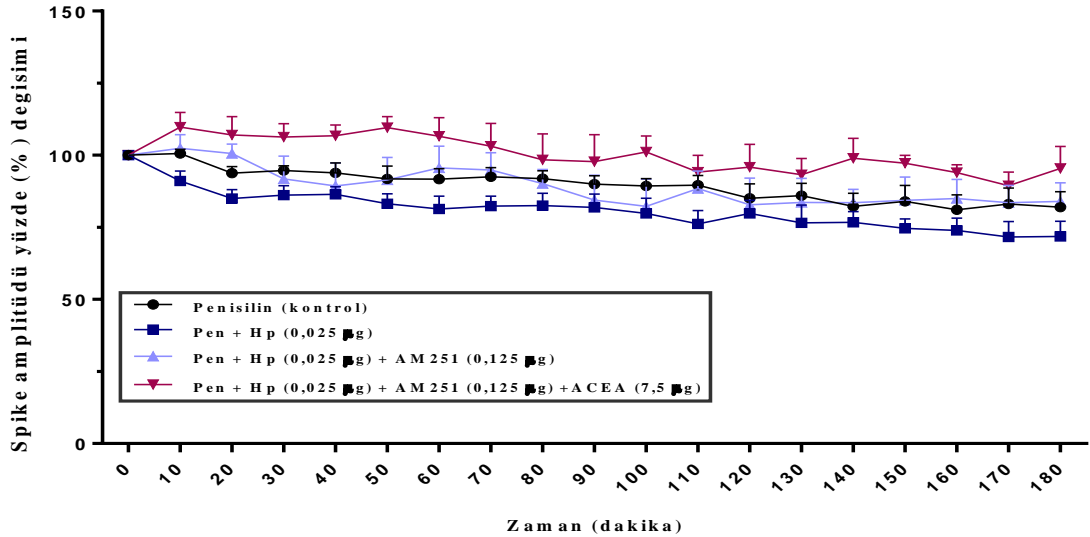
<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,025 µg)	Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg)	Hp (0,025 µg)+ AM-251 (0,125 µg)+ ACEA (7,5 µg)
0. dakika	42,01 ± 0,03	41,33 ± 1,28	43,50 ± 0,99	40,29 ± 0,60
10. dakika	40,64 ± 2,17	38,97 ± 3,83	45,76 ± 1,08	43,16 ± 3,54
20. dakika	40,02 ± 3,28	39,63 ± 3,01	45,27 ± 2,38	45,37 ± 3,73
30. dakika	39,45 ± 2,85	41,18 ± 3,63	52,82 ± 4,46	46,05 ± 1,90
40. dakika	40,40 ± 2,57	43,37 ± 3,10	58,91 ± 4,39	43,65 ± 3,70
50. dakika	38,60 ± 2,84	45,59 ± 2,56	63,30 ± 3,90	38,32 ± 4,07
60. dakika	39,82 ± 2,84	45,84 ± 3,42	67,89 ± 2,68	37,94 ± 1,32
70. dakika	38,97 ± 3,04	44,59 ± 3,73	69,60 ± 4,12	40,21 ± 4,57
80. dakika	37,93 ± 2,75	42,73 ± 2,01	68,94 ± 4,69	40,71 ± 4,10
90. dakika	37,54 ± 3,21	42,00 ± 3,07	70,20 ± 3,65	40,95 ± 4,30
100. dakika	38,65 ± 3,23	44,56 ± 1,49	69,93 ± 4,36	42,04 ± 4,14
110. dakika	38,40 ± 3,23	41,38 ± 2,71	68,89 ± 4,35	38,32 ± 0,94
120. dakika	37,72 ± 2,93	43,77 ± 3,17	68,12 ± 4,64	36,82 ± 0,17
130. dakika	36,35 ± 3,51	41,00 ± 2,46	68,23 ± 3,43	38,25 ± 5,43
140. dakika	37,82 ± 3,57	43,46 ± 2,80	67,96 ± 4,35	37,56 ± 4,63
150. dakika	37,13 ± 3,27	42,32 ± 2,32	69,02 ± 4,53	38,84 ± 3,50
160. dakika	37,58 ± 3,08	41,73 ± 2,18	70,68 ± 4,16	41,03 ± 3,74
170. dakika	35,48 ± 2,56	39,01 ± 3,31	71,04 ± 4,96	39,29 ± 1,54
180. dakika	36,20 ± 2,09	41,98 ± 3,52	67,81 ± 4,55	38,37 ± 0,95

Tablo 24. Kontrol (penisilin, 500 IU), 0,025 µg Hp, 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 ve 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değeri (spike amplitüd ortalaması ± SEM), (Hp: Hemopressin)

<u>Zaman</u>	Kontrol	Hp (0,025 µg)	Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg)	Hp (0,025 µg)+ AM-251 (0,125 µg)+ ACEA (7,5 µg)
0. dakika	1051,05 ± 30,81	1035,33 ± 33,33	1077,33 ± 55,77	1173,83 ± 47,09
10. dakika	1043,19 ± 15,41	912,57 ± 34,66	1069,55 ± 4,70	1162,86 ± 66,35
20. dakika	972,70 ± 23,01	851,60 ± 30,94	1050,34 ± 3,28	1134,96 ± 82,07
30. dakika	981,65 ± 17,10	863,54 ± 32,53	957,90 ± 7,96	1123,71 ± 52,27
40. dakika	973,18 ± 35,61	865,99 ± 26,38	932,42 ± 8,02	1128,55 ± 41,56
50. dakika	952,18 ± 45,31	833,42 ± 34,60	954,02 ± 7,82	1158,65 ± 43,44
60. dakika	950,51 ± 38,36	815,37 ± 44,10	997,61 ± 7,59	1127,27 ± 72,49
70. dakika	959,79 ± 32,68	824,90 ± 34,54	990,78 ± 5,94	1091,18 ± 87,02
80. dakika	952,88 ± 27,99	826,80 ± 42,68	941,10 ± 4,90	1040,22 ± 94,47
90. dakika	932,97 ± 30,24	820,90 ± 45,77	881,65 ± 8,60	1032,51 ± 96,33
100. dakika	926,30 ± 26,59	800,02 ± 52,51	859,03 ± 9,37	1068,50 ± 57,05
110. dakika	928,96 ± 35,18	763,00 ± 46,55	923,08 ± 6,08	993,47 ± 57,47
120. dakika	882,27 ± 51,83	799,50 ± 45,26	864,32 ± 9,30	1012,79 ± 80,07
130. dakika	891,92 ± 44,33	766,97 ± 61,37	873,45 ± 8,27	984,63 ± 55,00
140. dakika	852,75 ± 47,21	768,40 ± 37,32	871,81 ± 4,67	1047,96 ± 78,39
150. dakika	870,56 ± 57,75	748,02 ± 32,83	880,62 ± 8,07	1027,12 ± 24,78
160. dakika	840,58 ± 53,61	740,63 ± 42,48	887,49 ± 6,61	992,59 ± 25,20
170. dakika	861,84 ± 57,25	718,01 ± 53,92	872,01 ± 6,01	945,21 ± 49,19
180. dakika	850,64 ± 54,89	719,67 ± 53,14	877,17 ± 6,37	1009,05 ± 82,29



Şekil 53. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,025 µg), Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg), Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike frekans yüzde değişim değerleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Gruplar kontrol (penisilin) grubu ile karşılaştırıldığında; 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 grubunda 40. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken (* = p< 0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001), tek başına 0,025 µg Hp ve 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA kombinasyon gruplarında her hangi bir değişiklik görülmedi, (p>0,05). 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 + 7,5 µg ACEA kombinasyon grubu 0,025 µg Hp + 0,125 µg AM-251 grubuna göre 50. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ([⊕] = p<0,05; ^{⊕⊕} = p<0,01; ^{⊕⊕⊕} = p<0,001), (Hp: Hemopressin), spike frekans değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/ madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100



Şekil 54. Kontrol (Penisilin, 500 IU), Hp (0,025 µg), Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg), Hp (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike amplitüdü yüzde değişim değerleri (spike amplitüdü yüzde değişimi ± SEM). Amplitüdü yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarında ne kontrol (penisilin) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı (p>0,05), (p>0,05) (* = p< 0,05; ** = p<0,01; *** = p<0,001 ([⊕] = p<0,05; ^{⊕⊕} = p<0,01; ^{⊕⊕⊕} = p<0,001), (Hp: Hemopressin), spike amplitüdü değeri % = (madde uygulandıktan sonraki spike frekans ortalaması/madde uygulanmadan önceki spike frekans ortalaması) x 100

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada, penisilin modeli deneysel epilepside CB1 kannabinoid reseptör ligandı hemopressinin etkisi; kanabinoid CB1 reseptör agonisti ACEA'nın ve antagonisti AM-251'in penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye olan etkisi ile bu aktivite üzerine hemopressinin, ACEA ve AM-251'in etkileşimleri incelendi. Hemopressin 2 µl çözücü içerisinde 0,025 µg; 0,075 µg; 0,15 µg; 0,3 µg; 0,6 µg; 1,2 µg; 2,4 µg dozlarında i.s.v. olarak enjekte edildi. 0,025 µg dışında tüm dozların etkili olduğu, en etkin dozun ise 0,6 olduğu belirlendi. Hemopressinin 0,6 µg (etkin doz), 0,025 µg (etkisiz doz); AM-251'in 0,25 µg (etkin doz) ve 0,125 µg (etkisiz doz); ACEA'nın ise 7,5 µg (etkin doz) ve 2,5 µg (etkisiz doz) dozları i.s.v uygulanarak, bu maddelerin birbirlerine ve epileptiform aktivite üzerine etkileri araştırıldı. Elde edilen bulgular literatür eşliğinde aşağıdaki şekilde gruplandırılarak tartışıldı.

5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Penisilin modeli deneysel epilepsi, epilepsi araştırmalarında sık kullanılan bir modeldir. Penisilin epiletjenik etkisi, ilk kez Walker ve Johnson (1945) tarafından bulundu. Kedi, köpek ve maymunun serebral korteksine penisilin uygulanmasının epiletik nöbetlere neden olduğunu gösterdiler. Penisilin, bir GABA reseptör antagonisti olan bikukulin ile yapısal benzerliğinden dolayı (beyin korteksine direkt olarak uygulanan penisilin doza bağlı olarak) IPSP bloke ederek kortekste GABA inhibisyonuna neden olmakta ve korteks dilimlerinden glutamat salgısını artırarak epiletik nöbet oluşturmakta, böylece eksitator sistemler lehine bozulan denge, epiletik aktiviteye neden olmaktadır (Walden ve ark., 1992). Ayrıca, anestezili kedide penisilin epilepsisi başlamadan önce ekstrasellüler Ca^{+2} seviyesinin arttığı gözlenmiş ve penisilin parasinaptik yollardan ve Ca^{+2} üzerinden de etki ederek burst aktivitesine yol açabileceği tespit edilmiştir (Hökfelt, 1991).

Penisilin modeli, oluşturulması kolay olan bir modeldir ve insanda gözlenen nöbetlere kısmen benzemektedir (Edmonds ve ark., 1974). Deneysel epilepsi modelleri arasında sık kullanılan penisilin modeli Edmonds ve ark. (1974), tarafından farklı omurgalılarda sürekliliği olan, tetiklendikten sonra spontan, hızlı, etkili nöbetlerin oluşması için en uygun model olduğu ve bu modelin bazı avantajlarının bulunduğu bildirilmiştir:

- 1- Penisilin balık ve insanı da kapsayan vertebralılarda fokal nöbetlere neden olur.
- 2- Nöbetlerin ortaya çıkması hızlıdır ve çok kolaylıkla kaydedilebilir. Epileptik aktivite, penisilin uygulanmasından sonra 15 dakika içinde başlar ve birkaç saat boyunca devam eder.
- 3- Penisilin uygulanmasını takiben patomorfolojik değişiklikler nadir olarak görülür.
- 4- Epileptik odaktan yayılan aktivitenin hızı ve nöbetin klinik belirtilerinin şiddeti uygulanan penisilin dozuna bağlıdır.
- 5- Penisilin ile oluşturulan nöbetler antikonvülsan maddelere dirençli değildir.
- 6- Meydana getirilen epileptiform aktivite, penisilin uygulamasından 24 saat sonra tamamen kaybolur.

Penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinin; insanda gözlenen nöbetlere kısmen benzer olması, oluşturulmasının kolaylığı, ucuz olması oluşturulan modelin 210 dakikalık süreç içerisinde farklı maddelerin uygulanarak etkilerinin incelenmesine imkan tanınması ve sıçanın diğer laboratuvar hayvanlarına göre bu modele daha duyarlı olması sunulan çalışmanın bu model kullanılarak yapılması için tercih sebebi olmuştur. Bu nedenle sunulan çalışma da, anestezi altındaki sıçanlara intrakortikal yolla penisilin uygulanarak akut jeneralize deneysel epilepsi modeli oluşturuldu. Elde edilen verilerin analizi sonucu epileptiform aktivitenin spike frekansı ve amplitüd değerlerinin laboratuvarımızda daha önce yapılan çalışmalarla uyum içerisinde olduğu görüldü (Ayyıldız ve ark., 2007; Boşnak ve ark., 2007; Ayyıldız ve ark., 2008; Yıldırım ve ark., 2010; Çakıl ve ark., 2011).

5.2. Kanabinoid CB1 Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Kanabinoidlerin sinir sisteminin fonksiyonlarını düzenlediği, nöronlar arasındaki eksitator bağlantılar sonucu oluşan burst aktiviteyle ilişkisi ve MSS' de eksitator ve inhibitör nörotransmitterler arasında bir denge oluşturduğu bilinmektedir. Kanabinoid sisteminin epileptik aktivite üzerine olan etkisinin CB1 reseptör aracılığı ile olduğu kabul edilmektedir (Gordon ve Devinsky 2001; Katona ve Freund, 2008; Castillo ve ark., 2012; Ağar, 2015).

5.2.1. Hemopressinin Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Son yıllarda nöron koruyucu ajanlara karşı ilgi artmış olup birçok nöropeptidin nöroprotektif etkisinin olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Lokanathan ve ark., 2016). Epilepsi hastalığına yönelik çalışmalarda ise nöropeptidler büyük önem kazanmıştır. Hemopressin CB₁ kanabinoid reseptörü için tanımlanan ilk peptit ligandıdır (Heimann ve ark., 2007). Ancak hemopressinin *in vivo/in vitro* çalışmalarda kanabinoid reseptör agonist ya da antagonisti olduğu tartışmalıdır (Heimann ve ark., 2007; Dodd ve ark., Li ve ark., 2016). Yapılan çalışmalarda hemopressinin i.p., oral, i.s.v. uygulanmasının kan-beyin bariyerini geçerek iştahı baskıladığı, hipotansiyona neden olduğu ve anksiyojenik etki göstererek CB₁ reseptör antagonist gibi davrandığı ancak gastrointestinal motiliteyi baskılayarak CB₁ reseptör agonisti gibi etki ettiği, bazı çalışmalarda ise antinosisepsiyon etkisinin agonist ya da antagonist olarak davranabileceği ileri sürülmüştür (Rioli ve ark., 2003; Dale ve ark., 2005b; Dodd ve ark., 2010; Hama ve Sagen, 2011). Ancak, bu zamana kadar yapılan çalışmalarda hemopressinin epileptiform aktivite üzerine olan etkisi henüz çalışılmamıştır. Sunulan çalışmada hemopressinin penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine olan etkisi elektrofizyolojik ECoG analizleri ile değerlendirildi.

Sunulan çalışmada, sıçanlara 500 IU Penisilin-G 500 i.k. olarak uygulanarak epileptiform aktivite oluşturulduktan 30 dakika sonra hemopressin (2 µl hacimde) intraserebroventriküler yoldan 0,025 µg; 0,075 µg; 0,15 µg; 0,3 µg; 0,6 µg; 1,2 µg; 2,4 µg dozlarında uygulandı.

Hemopressin (0,025 µg'lık doz hariç) çalışılan tüm dozlarda geçte olsa prokonvülsan etki gösterdi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hemopressinin 0,075 µg'lık dozu 110. dakikadan; 0,15 µg'lık ve 0,3 µg'lık dozları 50. dakikadan; 0,6 µg'lık dozu 30.dakikadan; 1,2 µg'lık dozu 100. dakikadan; 2,4 µg'lık dozu ise 130. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi artırdı. 0,6 µg'lık hemopressin ilk 30 dk içinde epileptik aktiviteyi artırması ve artışı kayıt boyunca devam ettirmesi sebebiyle etkin doz olarak belirlendi. Hemopressinin 0,025 µg dozu kontrol grubuna göre ortalama spike frekansında deney sonuna kadar anlamlı bir değişiklik oluşturmadı dolayısıyla etkisiz doz olarak edildi. Ortalama spike amplitüd değerleri açısından ne

deney gruplarının kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Heimann ve ark. (2007), hemopressini 50 µg/kg (i.p.) ve 500 µg/kg (i.p.) dozlarında uyguladılar her iki dozda da antinosiseptif etki gözlediler. Antinosiseptif etkinin en fazla 500 µg/kg dozda ortaya çıktığını buldular. Yapılan başka bir çalışmada sıçanlara hemopressin 500 nmol/kg (i.p.) uygulandığında gıda alımının azaldığı görülmüştür (Dodd ve ark.,2010). Fogaça ve ark. (2014), Wistar sıçanlarda hemopressinin 0.05 mg/kg (i.p) ve 0.5 mg/kg (oral) dozlarını uyguladıklarında her iki dozunda anksiyojenik benzeri etkiler gösterdiğini buldular. Serebral iskemi/reperfüzyon fare modeli kullanılarak kanabinoid agonist ve antagonistlerinin nöroprotektif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada hemopressin 1 mg/kg dozda i.p. uygulanmış ve kanabinoid reseptör agonisti ACEA' nın oluşturduğu nöroprotektif etkinin hemopressin tarafından kısmen de olsa baskılandığı görülmüştür (Ma ve ark., 2014). Elde ettiğimiz sonuç literatürle uyumludur. Genelde i.s.v uygulanan dozlar i.p dozların binde biri oranındadır, bu açıdan bakıldığında i.s.v 0,6 µg hemopressinin etkin doz olması, i.s.v 0,025 µg dozun ise etkisiz olması literatürle uyumludur (Heimann ve ark., 2007; Dodd ve ark.,2010; Fogaça ve ark., 2014; Ma ve ark., 2014).

Hemopressin ve ilgili peptidlerin birçok biyolojik fonksiyona dahil olabileceği düşünülmektedir (Dodd ve ark., 2013; Dvoracsko ve ark., 2016). Hemopressinin penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitede prokonvülsan etki göstermiştir. Hemopressinin hangi mekanizmayla nöbet aktivitesini artırabileceği mevcut literatür ışığında tartışılmıştır.

Lippton ve ark. (2006), yaptıkları deneysel araştırmada hemopressinin sıçan sistemik arter basıncı, kardiyak debisi ve sistemik vasküler direnç üzerine etkisini NO inhibitörü L-NAME ve siklooksijenaz inhibitörü sodyum meklofenamat ile karşılaştırarak araştırmışlardır. Hemopressinin sistemik vazodepressör yanıtı L-NAME ile inhibe edilirken meklofenamat ile değişmediği görülmüştür. Buna ek olarak, hemopressinin izole edilmiş sıçan aortu ve pulmoner arteri üzerinde doğrudan kontraktıl ve gevşetici aktivitesinin olmadığı bulunmuştur. Bu veriler doğrultusunda hemopressinin sıçan sistemik vasküler yatağındaki dilatasyonu prostasiklin dahil olmak üzere siklooksijenaz ürünlerinin oluşumundan bağımsız olarak endojen NO oksit salınımıyla olduğu gösterilmiştir (Lippton ve ark., 2006). Rioli ve arkadaşları tarafından

yapılan başka bir çalışmada hemopressinin sıçan aortunun hem kasılması hem de gevşemesi üzerine doğrudan etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Rioli ve ark., 2003). Bu iki çalışmanın sonuçlarına göre hemopressinin NO salınımını artırdığı ileri sürülmüştür. Yapılan çalışmalara bakıldığında NO artışının hem antikonvülsan hem de prokonvülsan olduğu ileri sürülmüştür (Marangoz ve ark., 1994; Lu ve ark.,1998; Rajasekaran, 2003; Yıldırım ve ark., 2011). Bu nedenle hemopressin NO artışı üzerinden prokonvülsan etki göstermiştir diye ileri süremeyiz.

Hemopressin ile ilgili yapılan başka bir çalışmada; yükseltilmiş artı labirent testi kullanılarak wistar sıçanlarda hemopressinin olası davranışsal etkinliği araştırılmıştır. Çalışmada, hemopressinin anksiyojenik etki gösterdiği, bu etkiyi TRPV1 antagonisti 6-iyodonordihidrokapasizinin (SB366791,1 nmol) önlediği, AM-251'in ise değiştirmedeği gösterilmiştir. Bu verilere dayanarak hemopressinin i.s.v uygulanmasının TRPV1 reseptörlerini aktive ederek anksiyojenik etki gösterdiği ileri sürülmüştür (Fogaça ve ark., 2014).

TRPV1 reseptörleri, endojen seçici olmayan katyon kanallarıdır. Endovanilloidler adı verilen lipid ligandları ile aktive olurlar (Di Marzo ve ark., 2001; Van Der Stelt ve Di Marzo, 2004). Bu reseptörler, periferde, esasen duyu nöronlarında ağrının modülasyonunda rol alırlar. Son zamanlarda TRPV1 ile ilgili yapılan çalışmalarda, bu kanalın aynı zamanda epilepside de rol oynayabileceği gösterilmiştir (Chen ve ark., 2013; von Rüden ve ark., 2015). TRPV1 proteininin ekspresyonunun, temporal lob epilepsisi oluşturulan farelerin dentat girusu gibi epileptik beyin bölgelerinde arttığı bildirilmiştir (Bhaskaran ve ark., 2010). İnsanlarda yapılan bir çalışmada temporal lob epilepsili hastaların hipokampuslarında TRPV1 ekspresyonun arttığı görülmüştür (Sun ve ark., 2013). Yapılan başka bir çalışmada, sıçanlarda hipokampal dilimlerde epileptiform aktivitenin TRPV1 kanal agonisti kapsaisin ile arttığı ve TRPV1 kanal antagonisti iyodoreiniferatoksin (IRTX) tarafından ise bloke edildiği bildirilmiştir (Iannotti ve ark., 2014). Yakın tarihli diğer yayınlarda TRPV1 kanal antagonisti olan kapazepinin (CPZ) antiepileptik etkileri olduğu ileri sürülmüştür (Manna ve ark., 2012; Chen ve ark., 2013; Nazıroğlu ve ark., 2014; von Rüden ve ark., 2015). CPZ'nin epileptiform aktiviteyle ilişkisini araştıran bir çalışmada, epileptik farelerin hipokampusunda TRPV1 kanalının ekspresse edildiği bulunmuş, CPZ'nin devam eden iktal aktiviteyi ve nöbet aktivitesinin yayılımını baskıladığı gösterilmiştir

(Gonzalez-Reyes ve ark., 2013). Sıçanlarda OLDA (TRPV1 reseptör agonisti) ile indüklenen prokonvülsan etki AMG-9810 (TRPV1) antagonisti ile tersine çevrilmiştir (Shirazi ve ark., 2014). TRPV1 kanal aktivasyonunun prokonvülsan etki gösterdiği daha birçok yapılan çalışmayla kanıtlanmıştır (Sun ve ark., 2013; Ghazizadeh ve ark., 2014). Ayrıca literatürde TRPV1 aktivasyonunun hangi mekanizmayla prokonvülsan etki gösterdiğine yönelik bilgiler de mevcuttur. İnsanlarda ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda, glutamat salınımı ve glutamat kaynaklı sinyalizasyonun TRPV1 kanal aktivitesi ile arttırıldığı bildirilmiştir (Starowicz ve ark., 2007; Lee ve ark., 2012; Fawley ve ark., 2014). Glutamat nörotransmitterinin epilepsi hastalığının etyolojisinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Glutamat salınımı ile TRPV1 kanal aktivasyonu arasındaki etkileşime ek olarak, TRPV1 kanallarının aktivasyonu, GABA ve katekolaminlerin salınımında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Shoudai ve ark., 2010; González-Aparicio ve ark., 2014; von Rüden ve ark., 2015). GABA, glutamat gibi nörotransmitterlerin sinaptik etkinliği ve epilepsiyi modüle ettiğini gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (Dinuzzo ve ark., 2014; Vetrile ve ark., 2014). Epilepsi oluşumunun temel mekanizması olarak eksitator sistemin (glutamat) artması, inhibitör sistemin (GABA) azalması olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Aynı zamanda, Na⁺ ve Ca⁺² kationlarının hücre içerisine girişlerinin nöronları depolarize etmesine ve aksiyon potansiyellerini atmasına neden olduğu da bilgiler arasındadır. TRPV1 kanal aktivasyonu Na⁺ ve Ca⁺² kationlarının akışını daha da artırabilir (Gonzalez-Aparicio ve ark., 2014). Literatürdeki verilerden yola çıkarak hemopressinin TRPV1 kanal aktivasyonunu arttırarak prokonvülsan etki gösterebileceği ileri sürülebilir.

TRPV1 kanallarının nitrik oksit tarafından direkt olarak aktive edildiği bildirilmiştir. Cys553 ve Cys558'in TRPV1 kanallarının beşinci ve altıncı transmembranları arasında bulunduğu ve bu amino asitlerin, nitrik oksit stimülasyonuna yanıt olarak TRPV1 aktivasyonu için önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (Yoshida ve ark., 2006; Susankova ve ark., 2006; Takahashi ve ark., 2012). Hemopressininin NO etkileşimiyle ilgili yapılan iki çalışmada da, hemopressininin NO salınımını doğrudan artırdığı gösterilmiştir (Rioli ve ark., 2003; Lipton ve ark., 2006). Hemopressin TRPV1 kanallarını doğrudan aktive ederek prokonvülsan etki göstermiş olabileceği gibi, NO salınımını arttırarak TRPV1 reseptör aktivasyonuna neden olmuş ve

bu yol aracılığıyla da prokonvülsan etki göstermiş olabilir (Rioli ve ark., 2003; Lipton ve ark., 2006; Susankova ve ark., 2006; Takahashi ve ark., 2012).

Heiman ve ark. (2007), konformasyon-durum duyarlı antikorları kullanarak ve fare beyin dokusunda endojen peptid paneli taradıkları çalışmada sadece hemopressinin, antikor bağlanmayı büyük ölçüde modüle edebildiğini ve CB1 reseptörleri için potansiyel bir ligand olabileceğini buldular. Ayrıca hemopressinin CB1 reseptörlerinin tanınmasında agonist aracılı artışın engellenmesine yol açtığını gördüler. Bu, hemopressinin CB1 reseptörleri için oldukça seçici bir ligand olduğunu düşündüren yakından ilişkili CB2 reseptörleri de dahil olmak üzere test edilen diğer reseptörlerle gözlenmemiştir. Daha sonra Scrima ve ark. (2010), dairesel dikroizm ve nükleer manyetik rezonans spektroskopisi kullanarak, hemopressinin yapısal analizini çalıştılar. Elde edilen bulgulara göre; enerji değerleri, bağlanma ve kenetleme sabitlerine bakıldığında hemopressinin CB1 reseptörüyle etkileşime girdiği gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada hemopressinin gıda alımı üzerindeki etkisi CB1 nakavt farelerde görülmemiştir (Dodd ve ark., 2010). Hemopressin ile ilgili yapılan tüm çalışmalarda hemopressinin seçici olarak CB1 reseptörüne bağlandığı gösterilmiştir, ancak agonist ya da antagonist olduğu tartışmalıdır.

CB1 reseptörlerinin epileptiform aktiviteye etki ettiğine dair pek çok çalışma mevcuttur (Kawamura ve ark., 2006; Katona and Freund, 2008; Kozan ve ark., 2009; Çakıl ve ark., 2011; Açar, 2015). Yapılan çalışmaların çoğunda kanabinoid CB1 reseptör agonistlerinin antikonvülsan etkili olduğu gösterilmiştir. Wallece ve ark.(2002), yaptıkları çalışmada CB₁ reseptöründe endojen kannabinoid tonusun ortadan kaldırılmasının nöbet duyarlılığını artırdığını buldular. Başka başka çalışmalarda ise glutaminerjik akson terminallerinde CB1 reseptörü aracılığıyla glutamat salınımının azaltılarak antikonvülsan etki gösterdiği bulundu (Azad ve ark, 2003; Monory ve ark, 2006). Sıçanlarda oluşturulan pilokarpin modeli epilepside Δ^9 - THC'in (10 mg/kg), CB1 reseptör agonisti WIN55,212'nin (5 mg/kg) epileptik deşarjları tam olarak ortadan kaldırdığı, CB1 reseptör antagonisti SR141716A'nın ise hem nöbetin süresini hem de frekansını önemli oranda artırdığı bildirilmektedir (Wallace ve ark., 2003). Hemopressin CB1 reseptör agonisti gibi davranmış olsaydı antikonvülsan etki göstermesi beklenirdi ancak sunulan çalışmada hemopressin prokonvülsan etki

göstermiştir. Bu nedenle hemopresinin CB1 reseptör agonisti gibi hareket etmediğini düşünebiliriz.

CB1 reseptör antagonistlerinin epileptiform aktivite üzerine etkisine baktığımızda, yapılan çok sayıda çalışmada CB1 reseptör antagonistlerinin prokonvülsan olduğu gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2003; Kozan ve ark., 2009). Tek başına uygulandığı zaman CB1 antagonistlerinin kimyasal ve elektriksel epilepsi modellerinde nöbet frekansını ve süresini artırdığı (Deshpande ve ark., 2007; Vinogradova ve ark., 2011; Arslan ve ark., 2014; Kow ve ark., 2014), hatta epileptik olmayan sağlıklı sıçanlarda kriptojenik nöbet duyarlılığını artırdığı bildirilmiştir (van Rijn ve ark., 2011). Deneysel epileptik hayvan modellerinde de, CB1 reseptörünün tüm hücrelerde bloklandığı ve glutaminerjik nöronlarda spesifik olarak sadece CB1 reseptörünün bloklandığı ve nöbetlerin şiddetinin arttığı gösterilmiştir (Marsicano ve ark., 2003; Monory ve ark., 2006; Kow ve ark., 2014; von Rüden ve ark., 2015). Sunulan çalışmada hemopressin 0,025 µg hariç tüm dozlarda geç de olsa prokonvülsan etki gösterdi ve 0,6 µg uygulandığında 30. dakikada spike aktivitesini anlamlı oranda artırdı. Ayrıca nöbet esnasında status epiletikus benzeri deşarjlar görüldü. Bulgularımız, deneysel epilepsi modellerinde CB1 reseptör antagonistlerinin CB1 reseptörleri aracılığıyla gösterdikleri prokonvülsan etkiler literatür ile uyumludur. Bu sebeple hemopresinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığı düşünülebilir. Ayrıca hemopressinin negatif allosterik bir modulator olabileceği de idda edilmiştir (Dale ve ark., 2005a; 2005b; Gomes ve ark., 2009). Ancak hemopressinin tek başına nöbet artışını sağlayabilmesi hemopressinin CB1 reseptörlerinin negatif allosterik modulatorlerinden ziyade CB1 reseptör antagonisti olabileceği ileri sürülebilir.

5.2.2. Kanabinoid CB1 Reseptör Agonisti ACEA ve Antagonisti AM-251' in Epileptiform Aktiviteye Etkisi

ACEA' nın ve AM-251' in CB1 reseptörlerine olan afinitesinin CB2'ye oranla çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Hillard ve ark., 1999). Bu nedenle sunulan çalışmada kanabinoidlerin penisilin epilepsisi üzerine etkilerini araştırmak için selektif CB1 reseptör agonisti olarak ACEA ve antagonisti olarak da AM-251 kullanılmıştır.

Sunulan çalışmada, kannabinoid CB1 reseptör agonisti ACEA ve antagonisti AM-251'in penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine etkileri incelendi. Bu amaçla penisilin (500 IU, i.k) enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 (0,25 µg ve 0,125 µg) ve ACEA'nın (7,5 µg ve 2,5 µg) etkin ve etkisiz dozları uygulandı. Penisilin modeli epilepside ACEA ve AM-251'in etkin ve etkisiz dozları için daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalar referans alındı (Kozan ve ark., 2009).

Penisilinle oluşturulan epileptiform aktivitede AM-251'in 0,25 µg'lık dozu prokonvülsan etki gösterirken, ACEA'nın 7,5 µg'lık dozu antikonvülsan etki göstermiştir. Penisilinden sonra AM-251'in 0,25 µg'lık doz uygulanan grubunda, 30. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda ortalama spike frekansının arttığı tespit edildi. Kayıt esnasında status epileptikus benzeri deşarjlar gözlemlendi. ACEA'nın 7,5 µg uygulanan grubunda ise 60. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre ortalama spike frekansı anlamlı oranda azaldı. AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında ise kontrol grubuna göre 30. dakikadan itibaren spike frekansı değerlerinde anlamlı oranda artış gözlemlendi. Ancak AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu tek başına enjekte edilen AM-251 (0,25 µg) grubuna göre anlamlı değildi.

Yapılan çalışmalar, ACEA'nın etkin dozunda gösterdiği antikonvülsan etkiyi AM-251' in inhibe ederek prokonvülsan aktiviteye yol açtığı görülmektedir. Yapılan bir çalışmada; sıçan nöron kültüründe oluşturulan status epileptikus benzeri nöbet aktivitesinin CB1 reseptör agonisti WIN-55,212-22 tarafından azaltıldığı, AM-251 ile birlikte WIN-55,212-22 kullanıldığında ise status epileptikus nöbet aktivitesinin devam ettiği ve ACEA' nın nöbet azaltıcı etkisinin ortadan kalktığı görülmüştür (Deshpande ve ark., 2007). Yine yapılan başka bir çalışmada benzer bulgular elde edilmiş AM-251'in (1 mg/kg/i.p) PTZ ile oluşturulan epilepsi modelinde prokonvülsan etki gösterdiği bulunmuştur (Shafaroodi ve ark., 2013). Kozan ve arkadaşları, penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinde, i.s.v. enjekte edilen ACEA'nın 7,5 µg dozunun spike frekansını anlamlı derecede azalttığını, yine i.s.v. enjekte edilen AM-251'in 0,25 ve 0,5 µg dozlarında spike frekansını anlamlı ölçüde arttırdığını buldular (Kozan ve ark., 2009). Bahreman ve ark. (2009), sıçanda PTZ ile uyarılan nöbetlerde 1 mg/kg dozdaki AM-251' in nöbet eşiğini düşürdüğü, 2 mg/kg dozdaki ACEA' nın nöbet eşiğini arttırdığını, AM-251 (1 mg/kg) + ACEA (2 mg/kg) kombinasyonunun etkisinin ise 1 mg/kg dozdaki AM-251'in etkisiyle aynı seviyede olduğunu buldular. Bu veriler sunulan çalışmadan elde edilen verilerle uyumludur. AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) birlikte verildiğinde yüzde spike frekansında görülen artış AM-251' in CB1 reseptörüne afinitesinin ACEA'dan daha fazla olabileceğini düşündürmektedir.

Yine anestezi altındaki sıçanlara, penisilin (500 IU) enjeksiyonundan sonra ACEA (2,5 µg) ve AM-251 (0,125 µg) uyguladığımızda spike frekansı kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca istatistiksel açıdan anlamlı değildi. Bu bulgular, ACEA'nın 2,5 µg ve AM-251'in 0,125 µg dozunun kombinasyonunun yeterli reseptör aktivasyonu ortaya çıkaramadığını göstermektedir. Bu yüzden, ACEA'nın 2,5 µg ve AM-251'in 0,125 µg dozları etkisiz doz olarak kabul edilerek kombinasyon gruplarına uygulandı.

Kanabinoid bileşiklerin CB₁ reseptör bağımlı bir mekanizma ile nöbeti engellediği bilinmektedir (Wallace ve ark., 2001; Wallace ve ark., 2002). Ancak, hangi yollarla nöronal eksitasyonu azalttığı tartışma konusudur. ACEA gibi CB1 reseptör agonistleri, G proteini aktivasyonu yoluyla hareket ederler. Gi proteini, aktive edildiği zaman, adenilat siklazı inhibe eder. Adenil siklaz ATP' yi cAMP' ye dönüştüremez dolayısıyla cAMP konsantrasyonu azalır. cAMP üretiminin azalması protein kinaz A' yı inhibe eder (Bidaut-Russel ve ark., 1990), bu durum nöronlarda voltaj kapılı N tipi

kalsiyum kanallarının kapanmasına sebep olur (Caulfield ve Brown, 1992). Sonuç olarak voltaja duyarlı Ca^{+2} kanallarının kapanması hipokampal nöronlardan glutamat salınımını azaltabileceği gibi (Richardson ve ark., 1998) globus pallidusta GABA geri alınımını inhibe edebilir (Maneuf ve ark., 1996). Ayrıca CB1 reseptörünün uyarılması aynı mekanizmayla A tipi potasyum kanallarının açılmasını sağlar. A tipi potasyum kanallarının açılmasıyla birlikte hücre içerisindeki pozitif yüklerin azalmasına bağlı olarak hiperpolarizasyon görülür (Childers ve Deadwyler, 1996). Bu etkilerin kanabinoidlerin antikonvülsan özelliklerinden sorumlu olduğuna inanılmaktadır.

Sunulan çalışmadan elde edilen verilere dayanarak; ACEA'nın 7,5 μg 'lık dozda CB1 reseptörlerine presinaptik yoldan etki ederek direkt Ca^{+2} kanallarını etkileyerek hücre içi aşırı Ca^{+2} birikimini engellediği ve aşırı miktarda glutamat salınımını azalttığı ve bu şekilde penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi baskıladığı düşünülebilir. AM-251' in ise 0,25 μg 'lık dozda ACEA'nın tam tersi etki göstererek epileptiform aktiviteyi artırdığı sonucuna varılabilir.

5.3. Hemopressin, Kanabinoid Agonist ve Antagonistlerinin Etkileşimlerinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

5.3.1. ACEA (7,5 μg) + Hemopressin (0,6 μg); Hemopressin (0,6 μg) + ACEA (7,5 μg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Hemopressinin CB1 reseptörleri üzerine doğrudan etkisinin *in vitro* yeşil floresan protein (eGFP)-CB1 internalizasyon testi ile teyit edildiği bir çalışmada; CB1 reseptör agonisti (WIN 55212-2) ile indüklenen eGFP-CB1 reseptör aktivasyonunun CB1 reseptör antagonisti AM-251 ve hemopressin ile bloke edildiği gösterilmiştir (Dodd ve ark., 2010). Bu sonuç, hemopressinin CB1 reseptörleri üzerindeki etkisini gösteren diğer *in vitro* modelleri doğrulamaktadır (Heimann ve ark., 2007). Ma ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada kanabinoid CB1 reseptörlerinin nöroprotektif etkisini serebral iskemi/reperfüzyon modeli kullanarak araştırdılar. CB1 reseptör agonisti, ACEA'nın önemli ölçüde hipokampal dokuda nöronal mitokondriyal membranlarda CB1 reseptör (mtCB1R) protein ekspresyonunu up-regüle ettiği, *In vitro*; ACEA'nın reaktif oksijen türlerinin üretimini (ROS) inhibe ettiği, apoptozu azalttığı ve mitokondriyal fonksiyonları düzelttiği görülmüştür. Bununla birlikte, ACEA kaynaklı yararlı etkilerin CB1 reseptör antagonisti AM-251 ile bloke edildiği, ancak hemopressin

ile de kısmen bloke edildiği bulunmuştur. Ma ve ark. (2014), çalışmanın sonucuna göre hemopressinin ACEA'nın etkisini kısmen baskılamasını, hemopressinin CB1 reseptörüne afinitesinin ACEA'dan daha düşük olmasıyla ilişkilendirmişlerdir.

Sunulan çalışmada penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivite üzerine selektif kanabinoid agonisti ACEA ile hemopressinin etkileşimini incelemek için, ACEA'nın (7,5 µg) etkin dozu ve hemopressinin etkin dozu (0,6 µg) birlikte uygulandı.

ACEA (7,5 µg) önce uygulanıp daha sonra hemopressin (0,6 µg) uygulandığında ortalama spike frekansı açısından kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca anlamlı bir fark oluşmadı. ACEA (7,5 µg) + hemopressin (0,6 µg) grubunun ortalama spike frekans değişim değerleri tek başına enjekte edilen ACEA (7,5 µg) grubuna göre 100. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı oranda arttı. ACEA (7,5 µg) + hemopressin (0,6 µg) grubu tek başına enjekte edilen hemopressin (0,6 µg) grubuna göre 20. dakikadan itibaren ortalama spike frekansını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı.

Bu çalışmada, ACEA ve hemopressin etkin dozları birlikte uygulandığında, ACEA'nın antikonvülsan etkisini gösterememesi, hemopressinin prokonvülsan etkisinin baskılanması dikkate alınarak, hemopressinin CB1 reseptörüne afinitesinin ACEA'dan düşük olduğu ileri sürülebilir.

Hemopressin ACEA'dan önce uygulandığında, epileptiform aktiviteyi nasıl etkileyeceğini anlamak için hemopressin (0.6 µg) uygulandıktan 10 dk sonra ACEA (7.5 µg) uygulandığında; Hemopressin (0.6 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu ortalama spike frekansı açısından kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca anlamlı değildi. Hemopressin (0.6 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu tek başına enjekte edilen hemopressin (0.6 µg) grubuna göre 30. dakikadan itibaren ortalama spike frekansını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. Hemopressin (0.6 µg) + ACEA (7.5 µg) grubunun ortalama spike frekans değişim değerleri tek başına enjekte edilen ACEA (7.5 µg) grubuna göre 30. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı oranda arttı.

Literatürde önce hemopressin daha sonra ACEA uygulanan çalışmalarda; Zhang ve ark. (2015), hemopressinin (5 nmol/i.s.v), CB1 reseptör antagonisti AM-251' e (2 mg/kg/i.p) benzer şekilde öğrenme ve hafızayı arttırdığını buldular. İnsanlar ve hayvanlarda yapılan birçok çalışmada, CB1 reseptör agonistlerinin hafıza ve öğrenmeyi bozduğu, antagonistlerinin ise tam tersi etki gösterdiği bildirilmiştir (Darley ve ark.,

1974; Miller ve ark., 1983; Nowicky ve ark., 1987; Block ve Ghoneim, 1993; Collins ve ark., 1994; Terranova ve ark., 1995; Terranova et al., 1996; Stella ve ark., 1997). Zhan ve ark. (2015), yine aynı çalışmada hemopressin uyguladıktan 15 dakika sonra CB1 reseptör agonisti WIN55, 212-2 15 (2 mg/kg/i.p) uyguladıklarında bu etkinin ortadan kalktığı, ancak CB1 reseptör agonisti WIN55, 212-2 15'in öğrenme üzerindeki olumsuz etkisinin de ortaya çıkmadığı görülmüştür. Yine yapılan başka bir çalışma da, kanabinoid reseptör agonisti (CP 55940) tek başına uygulandığında gıda alımında belirgin bir artış görülürken, önce hemopressin (10 nmo/i.s.v) daha sonra CP 55940 (0,06 mg/kg/i.p) uygulandığında, CP 55940'ın gıda alınımında görülen artırıcı etkisini baskıladığı görülmüştür (Dodd ve ark., 2010). Sunulan çalışmada da hemopressin (0,6 µg) uygulandıktan 10 dakika sonra ACEA (7,5 µg) uygulandığında hemopressinin nöbet artırıcı etkisinin ortadan kalktığı, ancak ACEA'nında antikonvülsan etkisini de gösteremediği görülmüştür. Elde edilen bulgular literatürle uyumlu görülmektedir ve hemopressinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığını desteklemektedir.

Pan ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada hemopressin (45 nmol/i.s.v) ve WIN55,212-2 (7,5 nmol/i.s.v) uygulandığında her iki maddenin de doz bağımlı olarak antinosisepsiyon etkisi gösterdiğini buldular. Hemopressin (45 nmol/i.s.v) + WIN55,212-2 (7,5 nmol/i.s.v) birlikte uygulandığında antinosiseptif etkinin WIN55,212-2 (7,5 nmol)'de uygulanana benzer olduğu görülmüş ve hemopressinin CB1 reseptör agonisti gibi davrandığı ileri sürülmüştür. Hemopressin ve ilişkili peptidlerin gastrointestinal motilite üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada hemopressin (30, 45, 60 nmol/i.s.v), CB1 reseptör agonisti WIN55,212-2 (5; 7,5; 10 nmol/i.s.v), CB1 reseptör antagonisti AM251 (20 nmol/i.s.v), CB2 antagonisti AM630 (20 nmol/i.s.v) uygulandığında, hemopressinin en etkin (60 nmo/is.v) dozda WIN55,212-2'ye (10 nmol/i.s.v) benzer şekilde gastrointestinal motiliteyi baskıladığı, AM251 (20 nmol/i.s.v) uygulandığında gastrointestinal motiliteyi artırdığı, AM251 (20 nmol/i.s.v) hemopressinle (60 nmol/i.s.v) birlikte uygulandığında hemopressinin etkisini bastırdığı görülmüş ancak, AM630 (20 nmol/i.s.v) uygulandığında gastrointestinal motilite üzerine herhangi bir etki olmadığı görülmüştür (Li ve ark., 2016). Hemopressin, CB1 kanabinoid reseptörlerine selektif olarak bağlandığı ve CB2 reseptörü de dahil olmak üzere diğer G-protein ile ilişkili reseptör ailesini etkilemediği yapılan bir önceki çalışmada da gösterilmiştir (Heimann ve ark., 2007). Hemopressinin CB1 reseptör

agonisti gibi davranabileceğini gösteren her iki çalışmada da dikkat çeken durum hemopressinin yüksek dozda uygulanmasıdır. Hemopressinin 45 nmol ve 60 nmol dozları, hemopressinin moleküler ağırlığı hesaba katılarak mikrograma çevirildiğinde sırasıyla 48,9716 ve 65,2955 µg olduğu hesaplanır. Sunulan çalışmada hemopressinin nöbet artışını sağlayan en etkin dozunun 0,6 µg olduğu tespit edilmiştir, uyguladığımız hemopressin dozu, 48,9716 ve 65,2955 µg dozlara göre çok düşük miktardadır. Hemopressinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığını ileri süren çalışmalarda hemopressin dozlarının düşük olduğu dikkat çekmektedir. Bu çalışmalarda hemopressin: Heiman ve ark. (2007), 50 µg ve 500 µg/ i.p; Dodd ve ark.(2010), 500 nmol/i.p; Ma ve ark.(2015), 1 mg/kg/i.p; Toniolo ve ark.(2014), 0,5 ve 0,25 mg/kg/i.p; Zhang ve ark. (2015) tarafından , 5 nmol/i.s.v olarak uygulanmıştır. İ.s.v dozun etkin olması için i.p dozdan yaklaşık 1000 kat daha az uygulanması gerektiği biliniyor, (Arslan ve ark., 2013), hemopressinin prokonvulsan etki gösteren en etkin dozunun (0,6 µg), hemopressinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığını ileri sürülen çalışmalarda uygulanan dozlarla uyumlu olduğu görünmektedir.

Yapılan çalışmalarda da kanabinoid bileşiklerinin düşük ve yüksek dozlarda birbirinin tersi etki gösterdiği bulunmuştur (Katona ve ark., 1999; H; Hoffman ve Lupica, 2000; Gholizadeh ve ark, 2007). CB1 reseptör agonisti gibi davranan THC'nin antikonvulsan etki gösterdiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda THC'nin düşük dozlarda presinaptik eksitatör akson terminallerindeki CB1 reseptörlerini uyardığı ve glutamat salınımını azaltarak antikonvulsan etki gösterdiği bulunmuştur (Katona ve ark., 2006; Kawamura ve ark., 2006). Ancak yüksek dozlarda THC uygulanmasının GABAerjik akson terminallerindeki CB1 reseptörlerini uyararak nöbet eşik değerini düşürerek prokonvulsan etki ettiği kanıtlanmıştır (Katona ve ark., 1999; H; Hoffman ve Lupica, 2000). Gholizadeh ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada; AM-251'in (10 ng / kg 100 ng / kg), aşırı düşük dozları sistemik uygulandığında ACEA'nın 0,5 ve 1 mg / kg'lık antikonvulsan etkisini belirgin şekilde artırdığını, hatta AM-251'in 100 µg / kg dozda sistemik uygulanmasıyla oluşan prokonvulsan etkiyi baskıladığını buldular. Laboratuvarımızda yapılan bir çalışmada da , WAG/Rij sıçanlarda düşük dozlarda AM-251 (0,125 µg ve 0,25 µg) uygulanması toplam diken dalga (DDD) sayısını, süresini ve her kümedeki spike sayısını azaltırken, 0,50 µg dozundaki AM-251'in her üç parametreyi de artırdığı bulundu (Aygün ve ark., 2015). Sunulan çalışmadan ve

literatürden elde edilen verilere göre hemopressin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığı, ancak çok yüksek dozlarda CB1 reseptör agonisti gibi hareket edebileceği söylenebilir.

5.3.2. Hemopressin (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Heiman ve ark.(2007)'nin yaptıkları çalışmada hemopressinin özellikleri CB1 reseptör antagonisti SR141716 (rimonabant) ile karşılaştırarak karakterize edilmiştir. CB1 reseptör agonistinin antikor tanıma artışını hemopressinin SR141716'ya benzer bir şekilde baskıladığını ve hemopressinin CB1 reseptörünün antagonisti olarak işlev görebilen doğal bir peptid ligandı olabileceği ileri sürüldü (Heimann ve ark., 2007). Hemopressinin nöropatik ağrı üzerine etkisinin ve ilgili mekanizmalarının araştırıldığı çalışmada; hemopressinin, CB1 reseptör antagonisti AM-251' e benzer şekilde antinosiseptif etki gösterdiği, hemopressin ve AM-251 birlikte uygulandığında oluşan analjezik etkinin hem hemopressin hem de AM-251' e göre değişmediği görülmüştür (Toniolo ve ark., 2014). Yapılan başka bir çalışmada, hemopressinin i.s.v. uygulandığında anksiyojenik benzeri etkiler gösterdiği, CB1 reseptörü antagonisti AM-251'in bu etkileri önlemediği görülmüştür (Fogaça ve ark., 2014). Gıda alımı üzerine hemopressinin etkisinin CB1 ters agonisti AM-251 ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, her ikisinin de benzer şekilde gıda alınımını azalttığı, ancak CB1 -/- farelere, hemopressin ve AM-251 birlikte uygulandığında hipofajik etkinin kaybolduğu görülmüştür (Dodd ve ark., 2010). Sunulan çalışmada penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi tek başına hemopressin (0,6 µg) ve tek başına AM-251 (0,25 µg) kontrol grubuna göre 30. dakikadan itibaren artırmıştır, diğer taraftan hemopressin (0,6 µg) ve AM-251 (0,25 µg) birlikte uygulandığında 50. dakikadan itibaren artırmıştır. Elde edilen verilerin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu bulgular hemopressinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığını göstermektedir. Ancak kombinasyon grubunda prokonvülsan aktivitenin tek başına uygulanan gruplara göre biraz geç başlaması, hemopressinin reseptöre bağlanmak için rekabet içinde hareket ederek zaman kaybettiği düşünülebilir.

CB1 reseptör agonist ve antagonistlerinin, G proteini yoluyla hareket ettikleri bilinmektedir. Kanabinoid agonistleri CB1 reseptörüne bağlandığı zaman Gi proteini aktive edilir ve adenilat siklazı inhibe eder. Heiman ve ark. (2007), adenil siklaz

analizinde, hemopresinin SR141716' ya (CB1 reseptör antagonisti) benzer bir şekilde agonist aracılı azalmayı bloke edebildiğini gösterdiler. CB1 reseptörü aktive olduğu zaman adenil siklaz aktivitesinin azalmasına bağlı olarak ATP'nin cAMP'ye dönüştürülemediği, dolayısıyla cAMP düzeyinin azaldığı yapılan bir çok çalışmada gösterilmiştir (Howlett, 2005). Heiman ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada hemopressinin CB1 reseptör aktivasyonu ile görülen cAMP düşüşünü SR141716' ya benzer bir şekilde bloke ettiğini göstermişlerdir. cAMP'nin protein kinaz A'nın (PKA) düzenleyici alt ünitesine bağlanarak PKA'yı aktive ettiği bilinmektedir. PKA'nın aktivasyonu ise A-tipi potasyum kanalının (K_{+A}) fosforillenmesine ve kanalın kapanmasına neden olmaktadır (Kyrou ve ark., 2006). K_{+} kanalları özellikle membran uyarılabilirliğinin homeostatik düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Potasyum kanallarının epilepsi ve beyin iskemisi gibi hipereksitasyon görülen hasarın tedavisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Misonou, 2010). Bulgular bir arada değerlendirildiğinde hemopressinin CB1 reseptör aracılı sinyalizasyonda aktif rol aldığı, CB1 reseptör antagonisti olarak davranabileceği, adenil siklaz ve cAMP sinyal yolağı üzerinden prokonvülsan etki göstermiş olabileceği düşünülebilir. Ayrıca hemopressin uygulandıktan sonra AM-251'e benzer şekilde status epileptikus benzeri deşarjlar görülmüştür. Sonuç olarak, hemopressinin etkin dozu uygulandığında etkin doz AM-251'e benzer şekilde prokonvülsan etki göstermesi ve AM-251'e benzer şekilde nöbet esnasında status epileptikus benzeri deşarjların görülmesi, ayrıca hemopressinin prokonvülsan etkisinin AM-251 uygulandığında da deney sonuna kadar devam etmesi ve her ikisi yine bir arada uygulandığında status epileptikus benzeri deşarjların görülmesi, hemopressinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığını göstermektedir.

Heiman ve ark. (2007), çalışmalarında MAPK tahlilinde hemopressinin, HEK hücrelerinde CB1 reseptör agonisti Hu-210 uygulanmasıyla fosfo hücre dışı sinyal düzenleyici kinazlar (ERK 1/2) düzeylerinde görülen artışı SR141716 ile aynı seviyede baskıladığı görülmüştür. Hemopressinin CB1 reseptör aracılığıyla MAPK aktivasyonunu azaltabileceği ileri sürülmüştür (Heiman ve ark.,2007). CB1 reseptörü aktive olduğunda, cAMP'nin azalmasına bağlı olarak PKA'nın inaktivasyonuna neden olduğu, PKA inaktivasyonunun da MAPK sinyal yolağının aktivasyonuna neden olduğu yapılan pek çok çalışmada gösterilmiştir (Melck ve ark., 1999, Davis ve ark., 2003). Wistar sıçanlarda pilokarpine oluşturulan epileptiform aktiviteden sonra,

hipokampus ve kortekste MAPK'lardan (ERK1/2)'in fosforilasyonunun arttığı görülmüştür (Lopes ve ark., 2012). Yapılan başka bir çalışmada ERK 1/2'nin aktivasyonunun K⁺ kanal blokleri 4-aminopiridin (4AP) tarafından indüklenen epileptiform aktiviteye eşlik ettiği ve ERK yolağı ile epileptiform senkronizasyon arasında bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (Merlo ve ark., 2004). Ancak, CB1 reseptörleri MAPK yolağı üzerinden epileptiform aktiviteye etki etmiş olsaydı, CB1 reseptör agonistlerinin antikonvülsan değil prokonvülsan etki göstermesi beklenirdi. Aynı zamanda hemopressin diğer CB1 reseptör antagonistleri gibi MAPK aktivasyonunu azaltmış, fakat sunulan çalışmada hemopressin prokonvülsan etki göstermiştir. Bütün bu bulgular değerlendirildiğinde kanabinoid reseptörlerinin epileptiform aktiviteye etkisinin bu sinyal yolağı üzerinden olmadığını düşündürmektedir.

0,6 µg Hemopressin ortalama spike frekansını tek başına enjekte edilen AM-251 (0,25 µg) grubuna göre 120. dakikadan itibaren anlamlı oranda artırdı. Bu durum hemopressinin etkisinin AM-251'e göre daha uzun sürdüğünü göstermektedir.

5.3.3. Hemopressin (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Kozan ve ark. (2009), penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine kanabinoidlerin etkisini araştırdıkları çalışmalarında 0,125 µg AM-251'in epileptiform aktivite üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını gösterdiler. Sunulan çalışmada da 0,125 µg AM-251'in epileptiform aktiviteye etki etmediği alınan 180 dakikalık kayıt boyunca ortalama spike frekans değerlerinde kontrol (penisilin) grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Yine aynı şekilde hemopressinin (0,025 µg) çok düşük dozda epileptiform aktiviteye etki etmediği ve spike frekansını değiştirmedeği görüldü. Ancak hemopressin (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) kombinasyon grubu kontrol (penisilin) grubuna göre ortalama spike frekansını 40. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde artırdı ve status epileptikus benzeri deşarjlar gözlemlendi.

Hemopressin ve AM-251'in etkisiz dozları tek başına uygulandığında epileptiform aktiviteye etki etmemesi ancak etkisiz dozların birlikte uygulandığında etkin hale gelerek ortalama spike frekansını artırması, ayrıca hemopressin etkin doz ve AM-251 etkin doz epileptiform aktiviteye etkisine benzer şekilde status epileptikus

benzeri deşarların görülmesi, hemopressinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığının başka bir delili olarak gösterilebilir.

5.3.4. Kannabinoid CB1 reseptör agonist (ACEA) antogonist (AM-251) ve hemopressin Kombinasyonlarının Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Kozan ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada etkisiz doz AM-251 (0,125 µg) uygulandıktan sonra etkin doz ACEA (7,5 µg) uyguladıklarında ACEA'nın antikonvülsan etkisinin tamamen ortadan kalktığını buldular. Etkin doz AM251 (0,25 µg) sonra etkin doz ACEA (7,5 µg) uygulandığında da ACEA'nın antikonvülsan etkisinin kaybolduğunu tespit ettiler. Sunulan çalışma da etkin doz hemopressin (0,6 µg) 10 dk sonrasında AM-251 (0,25 µg) uygulandığında da, spike frekansının arttığı bulundu. Diğer taraftan etkin doz hemopressin (0,6 µg), etkin doz AM-251 (0,25 µg) ve etkin doz ACEA (7,5 µg) sırasıyla 10'ar dakikalık arayla uygulandığında ACEA'nın antikonvülsan etkisinin tamamen ortadan kalktığı gözlemlendi.

Etkisiz doz hemopressinin (0,025 µg) ve etkisiz doz AM-251'in (0,125 µg), tek başına uygulandıklarında nöbet aktivitesine herhangi bir etkileri olmazken, 10'ar dakikalık arayla uygulandıklarında, etkin hale gelerek prokonvulsan etki gösterdikleri, 10 dk sonrasında etkin doz ACEA (7,5 µg) uygulandığında ise, ACEA'nın antikonvülsan etkisinin tamamen baskılandığı gözlemlendi.

Hemopressin ve AM-251'in etkisiz dozları birlikte uygulandığında etkin hale gelmesi ve etkin doz ACEA uygulandığına 50. dakikadan itibaren spike frekansının azalması, hemopressin ve AM-251'in etkin dozları birlikte uygulandığında da epileptiform aktiviteyi artırması, etkin doz ACEA uygulandığında etkisiz dozların birlikte uygulandığına benzer şekilde 50. dakikadan itibaren ortalama spike aktivitesini azaltması hemopressinin, AM-251 ile aynı yolağı kullandığını göstermektedir.

Tüm bu bulgular bir arada değerlendirildiğinde hemopressinin CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığı ileri sürülebilir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Penisilinin 500 IU dozda i.k. uygulanması, bilateral diken dalgalar ve diken-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktivite ortaya çıkardı. Aktivite 20-30 dk içinde kararlı hale geldi ve 180 dk'lık kayıt boyunca devam etti.
2. Kanabinoid reseptör ligandı hemopressin için doz çalışması yapıldı. Penisilin (500 IU, i.k) enjeksiyonundan 30 dk sonra 0,025; 0,075; 0,15; 0,3; 0,6; 1,2; 2,4 µg (i.s.v) hemopressin uygulandı, hemopressinin 0,075 µg'lık dozu 110. dakikadan, 0,15 µg'lık dozu 50. dakikadan, 0,3 µg'lık dozu 50. dakikadan, 0,6 µg'lık dozu 30.dakikadan, 1,2 µg'lık dozu 100. dakikadan, 2,4 µg'lık dozu ise 130. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi artırdı. Epileptiform aktiviteyi en etkili ve erken artıran dozun 0,6 µg'lık doz olduğu tespit edildi. 0,025 µg uygulanan grupta ise kontrole kıyasla istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık saptanmadı. Dolayısıyla hemopressin için etkin doz 0,6 µg, etkisiz doz ise 0,025 µg olarak belirlendi. Hemopressinin (0,6 µg) dozda status epileptikus benzeri deşarjlara neden olduğu gözlemlendi.
3. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra CB1 reseptör antagonisti AM-251 (0,25 µg, i.s.v) uygulanan grupta ortalama spike frekans değerlerinde 30. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış ve status epileptikus benzeri deşarjlar gözlemlendi.
4. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra CB1 reseptör antagonisti AM-251 (0,125 µg, i.s.v) uygulandığında ortalama spike frekans değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.
5. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra CB1 reseptör agonisti ACEA (7,5 µg) uygulanan grupta ortalama spike frekans değerlerinde 60. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlı oranda azalma olduğu gözlemlendi.
6. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra CB1 reseptör agonisti ACEA (2,5 µg) uygulandığında ortalama spike frekans değerlerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi.
7. AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında AM-251'in (0,25 µg) ACEA (7,5 µg)'nın antikonvulsan etkisini tamamen ortadan kaldırdı.

8. Etkin ACEA (7,5 µg) ve etkin hemopressin (0,6 µg) birlikte uygulandığında ortalama spike frekans değerlerinde kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca anlamlı bir fark oluşmadı. Tek başına enjekte edilen ACEA (7,5 µg)'ya göre ise ortalama spike frekans değerlerini 100. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde artırdı. Tek başına enjekte edilen hemopressin (0,6 µg)'e göre ise ortalama spike frekans değerlerini 20. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde azalttı. Sonuç olarak ACEA (7,5 µg) grubu hemopressinin (0,6 µg) prokonvülsan etkisini 20. dakikadan itibaren blokladı.
9. Etkin doz hemopressin (0,6 µg) ve daha sonra ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında ortalama spike frekans değerlerinde kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca anlamlı bir fark oluşmadı. Tek başına enjekte edilen hemopressine (0,6 µg) göre ise ortalama spike frekans değerlerini 30. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde azalttı. Tek başına enjekte edilen ACEA'ya (7,5 µg) göre ise ortalama spike frekans değerlerini 60. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde artırdı. Sonuç olarak ACEA (7,5 µg) grubu hemopressinin (0,6 µg) prokonvülsan etkisini 30. dakikadan itibaren blokladı. Hemopressinin ACEA dan önce uygulanmasının, ACEA' nın hemopressin üzerindeki etkisini değiştirmemesi muhtemelen CB1 reseptörüne afinitesinin ACEA'dan düşük olmasıyla açıklanabilir.
10. Etkin doz hemopressin (0,6 µg) ve etkin doz AM-521 (0,25 µg) birlikte uygulandığında ortalama spike frekans değerlerinde kontrol grubuna göre 50. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde artış olduğu gözlemlendi. Hemopressin (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) kombinasyon grubu tek başına hemopressin (0,6 µg) ve tek başına AM-251 (0,25 µg) grubu ile karşılaştırıldığında 180 dakika boyunca ortalama spike frekans değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadı. AM-521'in (0,25 µg) deney boyunca hemopressinin prokonvülsan etkisini baskılamadığı görüldü.
11. Etkisiz doz hemopressin (0,025 µg) ve etkisiz doz AM-521 (0,125 µg) birlikte uygulandığında ortalama spike frekansında kontrol grubuna göre 50. dakikadan itibaren anlamlı bir artış saptandı. Hemopressin (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) kombinasyon grubu tek başına hemopressin (0,025 µg) ve tek başına AM-251 (0,125 µg) gruplarıyla karşılaştırıldığında her iki gruba göre de ortalama spike

frekansında 50. dakikadan itibaren anlamlı bir artış saptandı. Etkisiz doz hemopressin ve AM-251 bir arada kullanıldığında status epileptikus benzeri deşarjlara neden olduğu gözlemlendi. Etkisiz dozların bir arada kullanıldığında prokonvülsan etki göstermesi, etkin doz hemopressin ve etkin doz AM-251 gibi status epileptikus benzeri deşarjlara neden olması aynı reseptör üzerinden etki ederek bir potansiyelizasyon veya sinerjik etki sağlandığını düşündürmektedir.

12. Etkin doz hemopressin (0,6 µg), etkin doz AM-251 (0,25 µg), etkin doz ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında ortalama spike frekans değerleri açısından kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca anlamlı bir fark oluşturmadı. Hemopressin (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) + ACEA (7,5 µg) kombinasyon grubu tek başına hemopressin (0,6 µg) grubuyla ve hemopressin (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) kombinasyon grubuyla karşılaştırıldığında her iki gruba göre de ortalama spike frekans değerlerinde 50. dakikadan itibaren anlamlı bir azalma saptandı. Her iki grubun (tek başına hemopressin (0,6 µg) ve hemopressin (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) kombinasyon grubu) oluşturduğu prokonvülsan etkiyi ACEA (7,5 µg) baskıladığı görüldü.
13. Etkisiz doz hemopressin (0,025 µg), etkisiz doz AM-251 (0,125 µg) ve etkin doz ACEA (7,5) birlikte uygulandığında ortalama spike frekans değerleri açısından kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca anlamlı bir fark oluşturmadı. Hemopressin (0,6 µg) + AM-251 (0,25 µg) kombinasyon grubuyla hemopressin (0,025 µg) + AM-251 (0,125 µg) kombinasyon grubu tek başına hemopressin (0,025 µg) ve tek başına AM-251 (0,125 µg) gruplarıyla karşılaştırıldığında her iki gruba göre de ortalama spike frekansında 50. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ve artış deney sonuna kadar devam etti. Etkisiz doz hemopressin (0,025 µg) ve etkin doz AM-251 (0,125 µg) birlikte uygulandığında oluşan prokonvülsan aktiviteyi etkin doz ACEA (7,5 µg)'nin baskıladığı görüldü.

Tüm veriler bir arada değerlendirildiğinde hemopressinin endojen CB1 reseptör antagonisti olabileceği söylenebilir. Ancak bunun netleştirilebilmesi için elektrofizyolojik bulguların yanı sıra immünohistokimyasal, PCR ve Western blot çalışmaları ile doğrulanmaya ihtiyaç vardır. Beyinde endojen kanabinoid sistemin antagonizasyonunun olması endokanabinoid sistemin ayar noktasının sağlanmasına müdahale edebilir ve endokanabinoid sistemin dahil olduğu duygu durum bozukluklarını dengeleyebilir. Uzun vadeli kullanımında olumsuz etkisi olan rimonabant gibi sentetik CB1 ters agonistleri ile tedavi edilebilen hastalıklar için alternatif olarak değerlendirilebilir.



KAYNAKLAR

- Agar E. The role of cannabinoids and leptin in neurological diseases. *Acta Neurol Scand* 2015;132(6):371-380.
- Aguiar DC, Moreira FA, Terzian AL, Fogaca MV, Lisboa SF, Wotjak CT, Guimaraes FS. Modulation of defensive behavior by transient receptor potential vanilloid type-1 (TRPV1) channels. *Neurosci Biobehav Rev* 2014;46:418-428.
- Alexander GM, Godwin DW. Metabotropic glutamate receptors as a strategic target for the treatment of epilepsy. *Epilepsy Res* 2006;71:1-22.
- Alonso-Deflorida F, Delgado JM. Lasting behavioral and EEG changes in cats induced by prolonged stimulation of amygdala. *Am J Physiol* 1958;193:223-229.
- Altay E, Bilir E. Demans ve epilepsi. *Demans Dizisi* 1999;4:116-128.
- Ameri, A. The effects of cannabinoids on the brain. *Progress in neurobiology* 1999; 58(4):315-348.
- Amoros I, Barana A, Caballero R, Gomez R, Osuna L, Lillo MP, Tamargo J, Delpon E. Endocannabinoids and cannabinoid analogues block human cardiac Kv4.3 channels in a receptor-independent manner. *J Mol Cell Cardiol* 2010;48:201-210.
- Annegers JF. The epidemiology of epilepsy. In: Wyllie E, editor. *The treatment of epilepsy: principles and practice*. 3rd Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 2001;131-138.
- Apak S. *Gelişim Nörolojisi*. 1. Baskı, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü Çocuk Nörolojisi Yayınları. 1989;90-92
- Arslan G, Alici, SK, Ayyildiz, M, Agar, E. The role of CB1-receptors in the proconvulsant effect of leptin on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *CNS Neurosci Ther* 2013;19(4):222-228.
- Arslan G, Ayyildiz M, Agar E. The interaction between ghrelin and cannabinoid systems in penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Neuropeptides* 2014;48:345-352.
- Arslan G. Penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine ghrelinin gösterdiği inhibitör etkide kanabinoid CB1 reseptörünün rolü. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Tıpta Uzmanlık*, 2013;10-50.
- Aslan A, Yildirim M, Ayyildiz M, Güven A, Agar E. The role of nitric oxide in the inhibitory effect of ghrelin against penicillin-induced epileptiform activity in rat. *Neuropeptides* 2009;43(4):295-302.
- Ayyildiz M, Coskun S, Yildirim M, Agar E. The Effects of Ascorbic Acid on Penicillin-induced Epileptiform Activity in Rats. *Epilepsia* 2007;48(7):1388-1395.
- Ayyildiz M, Kozan R, Agar E, Kaplan S. Sexual dimorphism in the medial vestibular nucleus of adult rats: stereological study. *Anat Sci Int* 2008;83(3):131-139.
- Azad SC, Eder M, Marsicano G, Lutz B, Zieglgansberger W, Rammes G. Activation of the cannabinoid receptor type 1 decreases glutamatergic and GABAergic

- synaptic transmission in the lateral amygdala of the mouse. *Learn Mem* 2003;10:116-128.
- Bacci A, Huguenard JR, Prince DA. Long-lasting self-inhibition of neocortical interneurons mediated by endocannabinoids. *Nature* 2004;431(7006):312-316.
- Bahremand A, Nasrabady SE, Shafaroodi H, Ghasemi M, Dehpour AR. Involvement of nitregric system in the anticonvulsant effect of the cannabinoid CB(1) agonist ACEA in the pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *Epilepsy Res* 2009;84 (2-3):110-119.
- Balogh B, Molnar E, Jakus R, Quate L, Olverman HJ, Kelly PAT, Kantor S, Bagdy G. Effects of a single dose of 3,4 Methylendioxyamphetamine ocircadian patterns, motor activity and sleep indrug-naive rats and rats previously exposed to MDMA. *Psychopharmacology* 2004;173:296-309.
- Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Epilepsi Oluşum Mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi* 2011; 3(3):42-45.
- Barana A, Amoros I, Caballero R, Gomez R, Osuna L, Lillo MP, Bla ´zquez C, Guzman ´n M, Delpon E, Tamargo J. Endocannabinoids and cannabinoid analogues block cardiac hKV1.5 channels in a cannabinoid receptor-independent manner. *Cardiovasc Res* 2010;85:56-67.
- Baret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. *Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi*. 23. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları. 2011; 420-826.
- Barr ML, Kiernan JA. *The Human Nervous System*. Fifth Ed. Philadelphia, Lippincott Company. 1988; 224-230.
- Bashkatova V, Vitskova G, Narkevich V, Vanin A, Mikoyan V, Rayevsky K. Nitric oxide content measured by ESR-spectroscopy in the rat brain is increased during pentylenetetrazole-induced seizures. *J Mol Neurosci* 2000;14:183-190.
- Baykan B, Gürses C, Gökyiğit A. *Epilepsi*. Öge AE. Editör. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları. 2004;279-308.
- Beal JE, Olson R, Laubenstein L, Morales JO, Bellman P, Yangco B, Lefkowitz L, Plasse TF, Shepard KV. Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. *J. Pain Symptom Manage* 1995;10(2), 89-97.
- Belelli D, Peden DR, Rosahl TW, Wafford KA, Lambert JJ. Extrasynaptic GABAA receptors of thalamocortical neurons: a molecular target for hypnotics. *Journal of Neuroscienc*. 2005; 25(50):11513-11520.
- Benowitz NL, Jones RT. Cardiovascular effects of prolonged delta-9tetrahydrocannabinol ingestion. *Clin Pharmacol Ther* 1975;18:287-297.
- Bhargava VK, Balakrishnan S. Role of nitric oxide on insulin induced seizures in mice. *Indian J Physiol Pharmacol* 1999;43:373-377.
- Bhaskaran MD, Smith BN. Effects of TRPV1 activation on synaptic excitation in the dentate gyrus of a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol* 2010;223:529-536.

- Bidaut-Russell M, Devane WA, Howlett AC. Cannabinoid receptors and modulation of cyclic AMP accumulation in the rat brain. *J Neurochem* 1990; 55(1):21-26.
- Bisogno T, Howell F, Williams G, Minassi A, Cascio MG, Ligresti A, Matias I, Schiano-Moriello A, Paul P, Williams EJ, Gangadharan U, Hobbs C, Di Marzo V, Doherty P. Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. *J Cell Biol* 2003;163:463-468.
- Blair RE, Deshpande LS, Sombati S, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ. Activation of the cannabinoid type-1 receptor mediates the anticonvulsant properties of cannabinoids in the hippocampal neuronal culture models of acquired epilepsy and status epilepticus. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;317:1072-1078
- Blais PA, Côté J, Morin J, Larouche A, Gendron G, Fortier A, Regoli D, Neugebauer W, Gobeil F Jr. Hypotensive effects of hemopressin and bradykinin in rabbits, rats and mice. A comparative study. *Peptides* 2005;26:1317-1322.
- Block RI, Ghoneim MM. Effects of chronic marijuana use on human cognition. *Psychopharmacology (Berl)* 1993;110:219-228.
- Bo GP, Fonzari M, Scotto PA, Benassi E. Parenteral penicillin epilepsy: tolerance to subsequent treatments. *Exp Neurol* 1984;85:229-232.
- Bosnak M, Ayyildiz M, Yildirim M, Agar E. The role of nitric oxide in the anticonvulsant effects of pyridoxine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Res* 2007;76(1):49-59.
- Bouaboula M, Hilairat S, Marchand J, Fajas L, Le Fur G, Casellas P. Anandamide induced PPAR γ transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Eur J Pharmacol* 2005;517:174-181.
- Bowery NG, Hudson AL, Price GW. GABAA and GABAB receptor site distribution in the rat central nervous system. *Neuroscience* 1987;20(2):365-383.
- Boyd ST. The endocannabinoid system. *Pharmacotherapy* 2006;26:2185-2215.
- Braakman HM, van Oostenbrugge RJ, van Kranen-Mastenbroek VH, de Krom MC Rimonabant induces partial seizures in a patient with a history of generalized epilepsy. *Epilepsia* 2009;50:2171-2172.
- Brailowsky S, Kunitomo M, Menini C, Silva-Barrat C, Riche D, Naquet R. The GABA-withdrawal syndrome: a new model of focal epileptogenesis. *Brain Res* 1988;442:175-179.
- Brailowsky S, Menini C, Silva-Barrat C, Naquet R. Epileptogenic gammaaminobutyric acid-withdrawal syndrome after chronic, intracortical infusion in baboons. *Neurosci Lett* 1987;74:75-80.
- Buisson A, Lakhmeche N, Verrecchia C, Plotkine M, Boulu RG. Nitric oxide: an endogenous anticonvulsant substance. *Neuroreport* 1993;4(4),444-446.
- Butt C, Alptekin A, Shippenberg T, Oz M. Endogenous cannabinoid anandamide inhibits nicotinic acetylcholine receptor function in mouse thalamic synaptosomes. *J Neurochem* 2008;105:1235-1243.

- Cahn BR, Polich J. Meditation states and traits: EEG, ERP, and neuroimaging studies. *Psych Bulletin* 2006;132:180-211.
- Cakil D, Yildirim M, Ayyildiz M, Agar E. The effect of co-administration of the NMDA blocker with agonist and antagonist of CB1-receptor on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Res* 2011;93(2):128-137.
- Campbell AM, Holmes O. Bicuculline epileptogenesis in the rat. *Brain Res* 1989;323:239-246.
- Campos AC, Guimarães FS. Evidence for a potential role for TRPV1 receptors in the dorsolateral periaqueductal gray in the attenuation of the anxiolytic effects of cannabinoids. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009;33(8):1517-1521.
- Carletti F, Gambino G, Rizzo V, Ferraro G, Sardo P. Involvement of TRPV1 channels in the activity of the cannabinoid WIN 55,212-2 in an acute rat model of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 2016;122:56-65.
- Carrea R, Lanari A. Chronic effect of tetanus toxin applied locally to the cerebral cortex of the dog. *Science* 1962;137: 342-343.
- Casarotto PC, Terzian AL, Aguiar DC, Zangrossi H, Guimarães FS, Wotjak CT, Moreira FA. Opposing roles for cannabinoidreceptortype-1(CB) andtransientreceptor potentialvanilloid type-1 channel (TRPV1) on the modulation of panic-like responses in rats. *Neuropsychopharmacology* 2012;37(2):478-486.
- Castillo PE, Younts TJ, Chávez AE, Hashimoto Y. Endocannabinoid signaling and synaptic function. *Neuron* 2012;76:70-81.
- Caulfield MP and Brown, DA. Cannabinoid receptor agonists inhibit Ca²⁺ current in NG108-15 neuroblastoma cells via a pertussis toxin-sensitive mechanism. *Br. J. Pharmacol* 1992;106, 231-232.
- Chapman AG. Glutamate receptors in epilepsy. *Prog Brain Res* 1998; 116:371-383.
- Chemin J, Nargeot J, Lory P. Chemical determinants involved in anandamide-induced inhibition of T-type calcium channels. *J Biol Chem* 2007;282:2314-2323
- Chen CY, Li W, Qu KP, Chen CR. Piperine exerts antiseizure effects via the TRPV1 receptor in mice. *Eur J. Pharmacol* 2013;714:288-294.
- Chen K, Neu A, Howard AL et al. Prevention of plasticity of endocannabinoid signaling inhibits persistent limbic hyperexcitability caused by developmental seizures. *J Neurosci* 2007;27:46-58
- Chen K, Ratzliff A, Hilgenberg L, Gulyas A, Freund TF, Smith M, Dinh TP, Piomelli D, Mackie K, Soltész I. Long-term plasticity of endocannabinoid signaling induced by developmental febrile seizures. *Neuron* 2003;39: 599-611.
- Childers SR, Deadwyler SA. Role of cyclic AMP in the actions of cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1996;52:819-827.
- Christensen R, Kristensen PK, Bartels EM, Bliddal H, Astrup A. Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2007;370(9600):1706-1713.

- Citraro R, Russo E, Scicchitano F, van Rijn CM, Cosco D, Avagliano C, Russo R, D'Agostino G, Petrosino S, Guida F, Gatta L, van Luijtelaar G, Maione S, Di Marzo V, Calignano A, De Sarro G. Antiepileptic action of N-palmitoylethanolamine through CB1 and PPAR- α receptor activation in a genetic model of absence epilepsy. *Neuropharmacology* 2013;69:115-126.
- Coenen AM, Van Luijtelaar EL. The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res.* 1987;1:297-301.
- Collins DR, Pertwee RG, Davies SN. The action of synthetic cannabinoids on the induction of long-term potentiation in the rat hippocampal slice. *Eur J Pharmacol* 1994;259: R7–R8.
- Colombo G, Agabio R, Diaz G, Lobina C, Reali R, and Gessa GL. Appetite suppression and weight loss after the cannabinoid antagonist SR141716A. *Life Sci* 1988;63: PL113–117.
- Cope DW, Hughes SW, Crunelli V. GABAA receptor mediated tonic inhibition in thalamic neurons. *J Neurosci* 2005; 50:11553-11563.
- Dale CS, Pagano Rde L, Rioli V, Hyslop S, Giorgi R, Ferro ES. Antinociceptive action of hemopressin in experimental hyperalgesia. *Peptides* 2005b;26(3):431-436.
- Dale CS, Pagano Rde L, Rioli V. Hemopressin: a novel bioactive peptide derived from the alpha1-chain of hemoglobin. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2005a;100:105-106.
- Darley CF, Tinklenberg JR, Roth WT, Atkinson RC. The nature of storage deficits and state-dependent retrieval under marijuana. *Psychopharmacologia* 1974;37:139-149.
- Davis MI, Ronesi J, Lovinger DM. A predominant role for inhibition of the adenylate cyclase/protein kinase A pathway in ERK activation by cannabinoid receptor 1 in N1E-115 neuroblastoma cells. *J Biol Chem* 2003; 278(49): 48973-48980.
- De Petrocellis L, Bisogno T, Maccarrone M, Davis JB, Finazzi-Agro ` A, Di Marzo V. The activity of anandamide at vanilloid VR1 receptors requires facilitated transport across the cell membrane and is limited by intracellular metabolism. *J Biol Chem* 2001;276:12856–12863.
- De Petrocellis L, Melck D, Palmisano A et al. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits human breast cancer cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:8375–8380.
- De Petrocellis L, Moriello AS, Imperatore R, Cristino L, Starowicz K, Di Marzo V. A re-evaluation of 9-HODE activity at TRPV1 channels in comparison with anandamide: enantioselectivity and effects at other TRP channels and in sensory neurons. *Br J Pharmacol* 2012;167:1643–1651.
- De Petrocellis L, Starowicz K, Moriello AS, Vivese M, Orlando P, Di Marzo V. Regulation of transient receptor potential channels of melastatin type 8 (TRPM8): effect of cAMP, cannabinoid CB1 receptors and endovanilloids. *Exp Cell Res* 2007;313:1911-1920.

- De Sarro G, Gareri P, Falconi U, Sarro AD. 7-nitroindazole potentiates the antiseizure activity of some anticonvulsants in DBA/2 mice. *Eur J Pharmacol* 2000;394:275-288.
- Del-Bel EA, Oliveira PR, Oliveira JAC, Mishra PK, Jobe PC, GarciaCairasco N. Anticonvulsant and proconvulsant roles of nitric oxide in experimental epilepsy models. *Braz J Med Biol Res* 1997;30:971-979.
- Demehri S, Homayoun H, Honar H, Riazi K, Vafaie K, Roushanzamir F, Dehpour AR. Agmatine exerts anticonvulsant effect in mice: modulation by alpha 2-adrenoceptors and nitric oxide. *Neuropharmacology* 2003;45:534-542.
- Deshpande LS, Blair RE, Ziobro JM, Sombati S, Martin BR, DeLorenzo RJ. Endocannabinoids block status epilepticus in cultured hippocampal neurons. *Eur J Pharmacol* 2007a;558:52-59.
- Deshpande LS, Sombati S, Blair RE, Carter DS, Martin BR, DeLorenzo RJ. Cannabinoid CB1 receptor antagonists cause status epilepticus-like activity in the hippocampal neuronal culture model of acquired epilepsy. *Neurosci Lett* 2007b;411(1):11-16.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and Structure of A Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. *Science* 1992;258:1946-1949.
- Di Marzo V, Bisogno T, De Petrocellis L. Anandamide: some like it hot. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22(7):346-349.
- Di Marzo V, Bisogno T, Sugiura T, Melck D, De Petrocellis L. The novel endogenous cannabinoid 2-arachidonoylglycerol is inactivated by neuronal- and basophil-like cells: connections with anandamide. *Biochem J* 1998;331:15-19.
- Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Bátkai S, Jári Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* 2001;410:822-825.
- Di Marzo V, Petrosino S. Endocannabinoids and the regulation of their levels in health and disease. *Curr Opin Lipidol* 2007;18:129-140.
- Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, Freund TF, Katona I, Sensi SL, Kathuria S, Piomelli D. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:10819-10824.
- DiNuzzo M, Mangia S, Maraviglia B, Giove F. Physiological bases of the K⁺ and the glutamate/GABA hypotheses of epilepsy. *Epilepsy Res* 2014;108(6):995-1012.
- Dodd GT, Mancini G, Lutz B, Luckman SM. The peptide hemopressin acts through CB1 cannabinoid receptors to reduce food intake in rats and mice. *J Neurosci* 2010; 30(21):7369-7376.
- Dodd GT, Worth AA, Hodkinson DJ, Srivastava RK, Lutz B, Williams SR, Luckman SM. Central functional response to the novel peptide cannabinoid, hemopressin. *Neuropharmacology* 2013;71:27-36.

- Dodd GT, Worth AA, Hodkinson DJ, Srivastava RK, Lutz B, Williams SR, Luckman SM. Central functional response to the novel peptide cannabinoid, hemopressin. *Neuropharmacology* 2013;71:27-36.
- Domann R, Uhlig S, Dorn T, Witte OW. Participation of interneurons in penicillin-induced epileptic discharges, *Exp Brain Res* 1991;83:683-686.
- Duan Y, Zheng J, Nicholson RA. Inhibition of [3H]batrachotoxinin A-20 α -benzoate binding to sodium channels and sodium channel function by endocannabinoids. *Neurochem Int* 2008;52:438-446.
- Dvorácskó S, Tömböly C, Berkecz R, Keresztes A. Investigation of receptor binding and functional characteristics of hemopressin (1–7). *Neuropeptides* 2016;58:15-22.
- Echegoyen J, Armstrong C, Morgan RJ, Soltesz I. Single application of a CB1 receptor antagonist rapidly following head injury prevents long-term hyperexcitability in a rat model. *Epilepsy Res* 2009;85:123-127.
- Edmonds HL, Stark GJ, Hollinger AM. The effects of diphenylhydantoin, phenobarbital, and diazepam on the penicillin-induced epileptogenic focus in the rat. *Exp Neurol* 1974; 45:377-386.
- Egertova M, Giang DK, Cravatt BF, Elphick MR. A new perspective on cannabinoid signalling: complementary localization of fatty acid amide hydrolase and the CB1 receptor in rat brain. *Proc Biol Sci* 1998;265:2081-2085.
- ElSohly MA, Slade D. Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci* 2005;78:539-548.
- Engel J Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: Report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 2001;42:796-803.
- Engelborghs S, D’Hooge R, De Deny PP. Pathophysiology of epilepsy. *Acta Neurol Belg* 2000; 100(4): 201-213.
- Enowitz NL, Rosenberg J, Rogers W, Bachman J, Jone RT. Cardiovascular effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol: autonomic nervous mechanisms. *Clin. Pharmacol. Ther.* 1979;25:440–446.
- Erkan ŞŞ . *Beyin-5-ana-dalga-boyunda-titreşiyor.com*, 2016.
- Faingold CL, Browning, RA. Mechanisms of anticonvulsant drug action. I. Drugs primarily used for generalized tonic-clonic and partial epilepsies. *Eur J Pediatr* 1987;146:2-7.
- Fawley JA, Hofmann ME, Andresen MC. Cannabinoid 1 and transient receptor potential vanilloid 1 receptors discretely modulate evoked glutamate separately from spontaneous glutamate transmission. *J Neurosci* 2014;34(24):8324-8332.
- Felder CC, Veluz JS, Williams HL, Briley EM, Matsuda LA. Cannabinoid agonists stimulate both receptor- and non-receptor-mediated signal transduction pathways in cells transfected with and expressing cannabinoid receptor clones. *Mol Pharmacol* 1992;42:838-845.

- Ferraro G, Sardo P, Di Giovanni G, Di Maio R, La Grutta V. Involvement of nitric oxide in maximal dentate gyrus activation, in the rat. *Eur J Physiol* 2006;113(12):1855-1866.
- Fezza F, Marrone MC, Avvisati R, Di Tommaso M, Lanuti M, Rapino C, Mercuri NB, Maccarrone M, Marinelli S. Distinct modulation of the endocannabinoid system upon kainic acid-induced in vivo seizures and in vitro epileptiform bursting. *Mol Cell Neurosci* 2014;62:1–9.
- Fisher R, M Saul. Overview of epilepsy. *Comprehensive Epilepsy Center, Stanford Neurology* 2010.
- Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, Engel J Jr. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia* 2005;46:470-472.
- Fisher RS. Animal Models of the Epilepsies. *Brain Res Rev* 1989;14:245-278.
- Fogaça MV, Aguiar DC, Moreira FA, Guimarães FS. The endocannabinoid and endovanilloid systems interact in the rat prelimbic medial prefrontal cortex to control anxiety-like behavior. *Neuropharmacology* 2012a;63(2):202-210.
- Fogaça MV, Gomes FV, Moreira FA, Guimarães FS, Aguiar DC. Effects of glutamate NMDA and TRPV1 receptor antagonists on the biphasic responses to anandamide injected into the dorsolateral periaqueductal grey of Wistar rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2013;226(3):579-587.
- Fogaça MV, Lisboa SF, Aguiar DC, Moreira FA, Gomes FV, Casarotto PC et al. Fine-tuning of defensive behaviors in the dorsal periaqueductal gray by atypical neurotransmitters. *Braz J Med Biol Res* 2012b;45(4):357-365.
- Fogaça MV, Sonogo AB, Rioli V, Gozzo FC, Dale S, Ferro ES, Guimarães FS. Anxiogenic-like effects induced by hemopressin in rats. *Pharmac Biochem and Behav* 2015;129:7-13.
- Freund TF, Hajos N. Excitement reduces inhibition via endocannabinoids. *Neuron* 38: 362-365 Mackie K. Signaling via CNS cannabinoid receptors. *Mol Cell Endocrinol* 2003;286:60- 65.
- Freund TF, Katona I, Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 2003;83:1017–1066.
- Fukaya M, Uchigashima M, Nomura S, Hasegawa Y, Kikuchi H, Watanabe M. Predominant expression of phospholipase Cbeta1 in telencephalic principal neurons and cerebellar interneurons, and its close association with related signaling molecules in somatodendritic neuronal elements. *Eur J Neurosci* 2008;28:1744-1759.
- Gaoni Y, Mechoulam R. The isolation and structure of delta-1-tetrahydrocannabinol and other neutral cannabinoids from hashish. *J Am Chem Soc* 1971;93:217-224.
- Garcia Garcia ME, Garcia Morales I, Matías Guiu J. Experimental models in epilepsy. *Neurologia* 2010;25:181-188.
- Gardineer N. Epilepsy- Genetics of Epilepsy. *J Turkish Epilepsy Soc* 1996;2(3):23-31.

- Garthwaite J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *TINS* 1991;14:60-67.
- Ghazizadeh V, Nazıroğlu M. Electromagnetic radiation (Wi-Fi) and epilepsy induce calcium entry and apoptosis through activation of TRPV1 channel in hippocampus and dorsal root ganglion of rats. *Metab Brain Dis* 2014;29(3):787-799.
- Gholizadeh S, Shafaroodi H, Ghasemi M, Bahremand A, Sharifzadeh M, Dehpour AR. Ultra-low dose cannabinoid antagonist AM251 enhances cannabinoid anticonvulsant effects in the pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *Neuropharmacology* 2007;53(6):763-770.
- Ghosh M, Wang HB, Ai Y, Romeo E, Luyendyk JP, Peters JM, Mackman N, Dey SK, Hla T. COX-2 suppresses tissue factor expression via endocannabinoid-directed PPAR δ activation. *J Exp Med* 2007;204:2053-2061.
- Glass M, Dragunow M, Faull RL. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience* 1997;77(2):299-318.
- Godlewski G, Offerta 1er L, Osei-Hyiaman D, Mo FM, Harvey-White J, Liu J, Davis MI, Zhang L, Razdan RK, Milman G, Pacher P, Mukhopadhyay P, Lovinger DM, Kunos G. The endogenous brain constituent N-arachidonoyl L-serine is an activator of large conductance Ca $^{2+}$ -activated K $^{+}$ channels. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;328:351-361.
- Goffin K, Van Paesschen W, Van Laere K. In vivo activation of endocannabinoid system in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. *Brain* 2011;134:1033-1040.
- Goldman L, Bennet JC. The textbook of Medicine. 21.Edition. Philadelphia, W.B. Saunders Company. 2000;45-66.
- Gomes I, Dale CS, Casten K, Geigner MA, Gozzo FC, Ferro ES, et al. Hemoglobin-derived peptides as novel type of bioactive signaling molecules. *AAPS J* 2010;12:658-669.
- Gomes I, Grushko JS, Golebiewska U, Hoogendoorn S, Gupta A, Heimann AS, Ferro ES, Scarlata S et al. Novel endogenous peptide agonists of cannabinoid receptors. *FASEB J* 2009;23:3020-3029.
- González-Aparicio R, Moratalla R. Oleylethanolamide reduces L-DOPA-induced dyskinesia via TRPV1 receptor in a mouse model of Parkinson's disease. *Neurobiol. Dis.* 2014;62:416-425.
- Gonzalez-Reyes LE, Ladas T, Chiang CC, Durand DM. TRPV1 antagonist capsazepine suppresses 4-AP-induced epileptiform activity in vitro and electrographic seizures in vivo. *Exp Neurol* 2013;250:321-332.
- Gooshe M, Tabaeizadeh M, Aleyasin AR, Mojahedi P, Ghasemi K, Yousefi F, Vafaei, Amini-Khoe E, Amiri S, Dehpour, AR. Levosimendan exerts anticonvulsant properties against PTZ-induced seizures in mice through activation of nNOS/NO pathway: Role for KATP channel. *Life Sciences* 2016;S0024-3205(16):30637-30643.

- Gordon E, Devinsky O. Alcohol and marijuana: effects on epilepsy and use by patients with epilepsy. *Epilepsia* 2001;42:1266-1272.
- Greenamyre JT, Young AB, Penney JB. Quantitative autoradiographic distribution of L-[3H]glutamate-binding sites in rat central nervous system. *J Neurosci.* 1984;4(8):2133-2144.
- Guindon J, Beaulieu P. Antihyperalgesic effects of local injections of anandamide, ibuprofen, rofecoxib and their combinations in a model of neuropathic pain. *Neuropharmacol* 2006a;50(7):814-823.
- Guindon J, De Lean A, Beaulieu P. Local interactions between anandamide, an endocannabinoid, and ibuprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in acute and inflammatory pain. *Pain* 2006b;121(1-2):85-93.
- Hajos N, Katona I, Naiem SS, MacKie K, Ledent C, Mody I, Freund TF. Cannabinoids inhibit hippocampal GABAergic transmission and network oscillations. *Eur J Neurosci* 2002;12:3239-3249.
- Hajos N, Ledent C, Freund TF. Novel cannabinoid-sensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuroscience* 2001;106:1-4.
- Hall W, Degenhardt L. Cannabis use and psychosis: a review of clinical and epidemiological evidence. *Aust NZ J Psychiatry* 2000;34:26-34.
- Hama A, Sagen J. Centrally mediated antinociceptive effects of cannabinoid receptor ligands in rat models of nociception. *Pharmacol Biochem Behav* 2011;100(2):340-346.
- Hampson AJ, Bornheim LM, Scanziani M, Yost CS, Gray AT, Hansen BM, Leonoudakis DJ, Bickler PE. Dual effects of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *J Neurochem* 1998;70:671-676.
- Han D, Yamada K, Senzaki K, Xiong H, Nawa H, Nebeshima T. Involvement of nitric oxide in pentylentetrazole-induced kindling in rats. *J Neurochem* 2000;74:792-798.
- Hanna GR, Stalmaster RM. Cortical epileptic lesions produced by freezing. *Neurology* 1973;23:918-925.
- Harris CR, Brown A. Synthetic cannabinoid intoxication: a case series and review. *J Emerg Med* 2013;44:360-366.
- Hart CL, Ward AS, Haney M, Comer SD, Foltin RW, Fischman MW. Comparison of smoked marijuana and oral Δ^9 -tetrahydrocannabinol in humans. *Psychopharmacology*, in *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of abused drugs*, Karch SB, editor. Boca Raton, CRC Press 2007; 407-415.
- Hegde M, Santos-Sanchez C, Hess CP, Kabir AA, Garcia PA. Seizure exacerbation in two patients with focal epilepsy following marijuana cessation. *Epilepsy Behav* 2012;25:563-566.
- Heimann AS, Gomes I, Dale CS, Pagano RL, Gupta A, de Souza LL, Luchessi AD, Castro LM, Giorgi R, Rioli V, Ferro ES, Devi LA. Hemopressin is an

- inverse agonist of CB1 cannabinoid receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104: 20588-20593.
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 1991;11(2):563-583.
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(5):1932-1936.
- Hillard CJ, Manna S, Greenberg MJ, Dicamelli R, Ross RA, Stevenson LA, Murphy V, Pertwee RG, Campbell WB. Synthesis and characterization of potent and selective agonists of the neuronal cannabinoid receptor (CB1). *J Pharmacol Exp* 1999;289:1427-1435.
- Hoffman AF, Lupica CR. Mechanisms of cannabinoid inhibition of GABA(A) synaptic transmission in the hippocampus. *J Neurosci* 2000;20:2470-2479.
- Hohmann AG, Herkenham M. Cannabinoid receptors undergo axonal flow in sensory nerves. *Neurosci* 1999;92(4):1171-1175.
- Hohmann AG, Tsou K, Walker JM. Cannabinoid modulation of wide dynamic range neurons in the lumbar dorsal horn of the rat by spinally administered WIN55,212-2. *Neurosci Lett* 1998;257(3):119122.
- Hökfelt T. Neuropeptides in perspective: the last ten years. *Neuron* 1991;7:867-879.
- Howlett, A. C., Barth, F., Bonner, T. I., et al. International union of pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol. Rev.* 2002;54: 161-202.
- Huestis, MA. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chem Biodivers* 2007;4(8):1770-1804.
- Hunter J, Jasper HH. Effects of thalamic stimulation in unanaesthetised animals; the arrest reaction and petit mal-like seizures, activation patterns and generalized convulsions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1949;1:305-324.
- Hwa GG. C, Avoli M. Excitatory synaptic transmission by NMDA and non-NMDA receptors in the superficial/middle layers of the epileptogenic human neocortex maintained in vitro. *Neurosci Lett* 1992;143:83-86.
- Iannotti FA, Hill CL, Leo A, Alhusaini A, Soubrane C, Mazzarella E, Russo E, Whalley BJ, Di Marzo V, Stephens GJ. Nonpsychotropic plant cannabinoids, cannabidivarin (CBDV) and cannabidiol (CBD), activate and desensitize transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels in vitro: Potential for the treatment of neuronal hyperexcitability. *ACS Chem Neurosci* 2014;5(11):1131-1141.
- ILAE. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia* 1981;22:489-501.
- Irving AJ, Rae MG, Coutts AA. Cannabinoids on the brain. *Sci W J* 2002;2:632-648.
- Iversen L, Chapman V. Cannabinoids: a real prospect for pain relief. *Curr Opin Pharmacol* 2002;2:50-55.

- Iversen L. Cannabis and the brain. *Brain* 2003;126:1252-1270.
- Jayakumar AR, Sujatha R, Paul V, Puviarasan K, Jayakumar R. Involvement of nitric oxide and nitric oxide synthase activity in anticonvulsive action. *Brain Res Bull* 1999;48:387-394.
- Jia F, Pignataro L, Schofield CM, Yue M, Harrison NL, Goldstein PA. An extrasynaptic GABAA receptor mediates tonic inhibition in thalamic VB neurons. *J Neurophysi* 2005;6:4491-4501.
- Johns, A. Psychiatric effects of cannabis. *Br J Psychiatry* 2001;178:116-122.
- Jung, YS, Lee JM, Kim DK, Lee YS, Kim KS, Kim YH, Kim J, Lee MS, Lee IK, Kim SH, Cho SJ, Jeong WI, Lee CH, Harris RA, Choi HS. The Orphan Nuclear Receptor ERR γ Regulates Hepatic CB1 Receptor-Mediated Fibroblast Growth Factor 21 Gene Expression. *PLoS* 2016;11(7):159-165.
- Kaminski NE, Abood ME, Kessler FK, Martin BR, Schatz AR. Identification of a functionally relevant cannabinoid receptor on mouse spleen cells that is involved in cannabinoid-mediated immune modulation. *Mol Pharmacol* 1992;42(5):736-742.
- Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev* 2009;89:309-380.
- Kathmann M, Bauer U, Schlicker E, Gothert M. Cannabinoid CB1 receptor-mediated inhibition of NMDA- and kainate-stimulated noradrenaline and dopamine release in the brain. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1999;359:466-470.
- Katona I, Rancz EA, Acsády L, Ledent C, Mackie K, Hajos N, Freund TF. Distribution of CB1 receptors in the amygdala and their role in the control of GABAergic transmission. *J Neurosci* 2001;21(23):9506-9518.
- Katona I, Acsády L, Freund TF. Postsynaptic targets of somatostatin-immunoreactive interneurons in the rat hippocampus. *Neuroscience* 1999a;88:37-55.
- Katona I, Freund TF. Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease. *Nat Med* 2008;14:923-930.
- Katona I, Freund TF. Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain. *Annu Rev Neurosci* 2012;35:529-558.
- Katona I, Sperlagh B, Sik A, Kafalvi A, Vizi ES, Mackie K, Freund TF. Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci* 1999b;19:4544-4558.
- Katona I, Urban GM, Wallace M, Ledent C, Jung KM, Piomelli D, Mackie K, Freund TF. Molecular composition of the endocannabinoid system at glutamatergic synapses. *J Neurosci* 2006;26:5628-5637.
- Katona I. Cannabis and endocannabinoid signaling in epilepsy, in *Endocannabinoids*, Petwee RG. editor, New York London, Springer. 2015;285-316.
- Kawamura Y, Fukaya M, Maejima T, Yoshida T, Miura E, Watanabe M, Ohno-Shosaku T, Kano M. The CB1 cannabinoid receptor is the major cannabinoid

- receptor at excitatory presynaptic sites in the hippocampus and cerebellum. *J Neurosci* 2006;26:2991-3001.
- Kawamura Y, Fukaya M, Maejima T, Yoshida T, Miura E, Watanabe M, Ohno-Shosaku T, Kano M. The CB1 cannabinoid receptor is the major cannabinoid receptor at excitatory presynaptic sites in the hippocampus and cerebellum. *J Neurosci* 2006;26:2991-3001.
- Kayaalp O, Uzbay T. İlaç Kötüye Kullanımı ve İlaç Bağımlılığı, Akılcı Tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji 13.baskı. 2. Cilt. Ankara, Pelikan Yayıncılık 2012;846-868.
- Keeler MH, Reifler CB. Grand mal convulsions subsequent to marijuana use. Case report. *Dis Nerv Syst* 1967;28:474-475.
- Kim D, Jun KS, Lee SB et al. Phospholipase C isozymes selectively couple to specific neurotransmitter receptors. *Nature* 1997;389:290-293.
- Kim HI, Kim TH, Shin YK, Lee CS, Park M, and Song JH. Anandamide suppression of Na currents in rat dorsal root ganglion neurons. *Brain Res* 2005;1062:39-47.
- Koob GF. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13(5):177-184.
- Kow RL, Jiang K, Naydenov AV, Le JH, Stella N, Nathanson NM. Modulation of pilocarpine-induced seizures by cannabinoid receptor 1. *PLoS One* 2014;9:95-92.
- Kozan R, Ayyildiz M, Agar E. The effects of intracerebroventricular AM-251, a CB1-receptor antagonist, and ACEA, a CB1-receptor agonist, on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsia* 2009;50(7):1760-1767.
- Kyrou I ve ark. . The endocannabinoid system as a target for the treatment of visceral obesity and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1083: 270-305.
- Lafon N, Perio A, Rinaldi-Carmona M, Le Fur G, Soubrie P. Improvement of memory in rodents by the selective CB1 cannabinoid receptor antagonist, SR 141716. *Psychopharmacology (Berl)* 1996;126:165-172.
- Lazary J, Juhasz G, Hunyady L, Bagdy G. Personalized medicine can pave the way for the safe use of CB receptor antagonists. *Trends Pharmacol Sci* 2011;32(5):270-280.
- Lee JG, Yon JM, Lin C, Jung AY, Jung KY, Nam SY. Combined treatment with capsaicin and resveratrol enhances neuroprotection against glutamate-induced toxicity in mouse cerebral cortical neurons. *Food Chem Toxicol* 2012;5:3877-3885.
- Leite JP, Chimelli L, Terra-Bustamante VC, Costa ET, Assirati JA, de Nucci G Martins AR. Loss and sprouting of nitric oxide synthase neurons in the human epileptic hippocampus. *Epilepsia* 2002;43:235-242.
- Lerner-Natoli M, de Bock F, Bockaert J, Rondouin G. NADPH diaphorase positive cells in the brain after status epilepticus. *Neuroreport* 1994;5:2633-2637.

- Li J, Daughters RS, Bullis C, Bengiamin R, Stucky MW, Brennan J, Simone DA. The cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 mesylate blocks the development of hyperalgesia produced by capsaicin in rats. *Pain* 1999;81(1-2):25-33.
- Li, XH, Lin ML, Wang ZL, Wang P, Tang HH, Lin YY, Wang R. Central administrations of hemopressin and related peptides inhibit gastrointestinal motility in mice. *Neurogastroenterol Motil* 2016;28(6):891-899.
- Lindsay KW, Bone I, Callender R. *Neurology and Neurosurgery Illustrated*, Third edition, Edinburgh, London, Philadelphia, Churchill Livingstone. 1997;92-97.
- Lipton H, Lin B, Gumusel B, Witriol N, Wasserman A, Knight M. Hemopressin, a hemoglobin fragment, dilates the rat systemic vascular bed through release of nitric oxide. *Peptides* 2006;27(9):2284–2288.
- Lokanathan Y, Omar N, Puzi NNA, Saim A, Idrus RH. Recent updates in neuroprotective and neuroregenerative potential of *Centella asiatica*. *Malays J Med Sci* 2016; 23(1):4-12.
- Lopes MW, Soares FMS, de Mello N, Nunes JC, de Cordova FM, Walz R, Leal RB. Time-dependent modulation of mitogen activated protein kinases and AKT in rat hippocampus and cortex in the pilocarpine model of epilepsy. *Neurochem Res* 2012;37(9):1868-1878.
- Louvel J, Pumam R. N-Methyl-D-aspartate-mediated responses in epileptic cortex in man: An in vitro study. *Neurotransmitters in epilepsy* 1992;8:361-367
- Lozovaya N, Yatsenko N, Beketov A, Tsintsadze T, Burnashev N. Glycine receptors in CNS neurons as a target for nonretrograde action of cannabinoids. *J Neurosci* 2005;25:7499-7506.
- Lu W, Chen G, Cheng JS. Effect of nitric oxide release on epileptiform discharge in CA1 area of hippocampal slices. *Sheng Li Xue Bao* 1998;50:507-513.
- Lu W, Chen G, Cheng JS. Effect of nitric oxide release on epileptiform discharge in CA1 area of hippocampal slices. *Sheng Li Xue Bao*. 1998;50:507-513.
- Ludanyi A, Eross L, Czirj KS, Vajda J, Halsz P, Watanabe M, Palkovits M, Maglczky Z, Freund TF, Katona I. Downregulation of the CB1 cannabinoid receptor and related molecular elements of the endocannabinoid system in epileptic human hippocampus. *J Neurosci* 2008;28:2976-2990.
- Ludanyi A, Hu SS, Yamazaki M et al. Complementary synaptic distribution of enzymes responsible for synthesis and inactivation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in the human hippocampus. *J Neurosci* 2011;174:50-63.
- Lutz B. On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochem Pharmacol* 2004; 68:1691-1698.
- Ma L, Jia J, Niu W, Jiang T, Zhai Q, Yang L, Xiong L. Mitochondrial CB1 receptor is involved in ACEA-induced protective effects on neurons and mitochondrial functions. *Scientific reports* 2015;5:1-13.
- Mackie K, Stella N. Cannabinoid receptors and endocannabinoids: evidence for new players. *Aaps J* 2006;8:298-306.

- Mackie K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handb Exp Pharmacol* 2005;168:299-325.
- Mailleux P, Vanderhaeghen JJ. Distribution of the neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neurosci* 1992;48, 655-688.
- Maneuf YP, Nash JE, Crossman AR, Brotchie JM. Activation of the cannabinoid receptor by delta 9-tetrahydrocannabinol reduces gamma-aminobutyric acid uptake in the globus pallidus. *Eur J Pharmacol* 1996;308(2):161-164.
- Manna SS, Umathe SN. A possible participation of transient receptor potential vanilloid type 1 channels in the antidepressant effect of fluoxetine. *Eur J Pharmacol* 2012;685:81-90.
- Marangoz C, Ayyildiz M, Ağar E. Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport*. 1994;5: 2454-2456.
- Marangoz C, Ayyıldız M, Agar E. Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport* 1994;5:2454-2456.
- Marangoz C. Beyin korteksinde bulunan piramidal nöron tipleri ve bunların deşarj şekli ile elektrokortikogram arasındaki ilişki. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Doktora Tezi, 1978;11-55.
- Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* 1997;14:147-186.
- Marangoz C. Nitrik oksit ve deneysel epilepsi. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* 1996;13:165-183.
- Marsicano G, Goodenough S, Monory K, Hermann H, Eder M, Cannich A, Azad SC, Cascio MG, Gutiérrez SO, van der Stelt M, López-Rodríguez ML, Casanova E, Schütz G, Zieglgänsberger W, Di Marzo V, Behl C, Lutz B. CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science* 2003;302:84-88.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990;346:561-564.
- McCarberg BH, Barkin RL. The future of cannabinoids as analgesic agents: a pharmacologic, pharmacokinetic, and pharmacodynamic overview. *Am J Ther* 2007;14(5):475-483.
- McCormick DA, Connors BW, Lighthall JW, Prince DA. Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *J Neurophysiol* 1985;54:782-806.
- McNaught KSP, Brown GC. Nitric oxide causes glutamate release from rat synaptosomes. *J Neurochem* 1998;70: 1541-1546.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, et al. Identification of an endogenous 2- monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemil Pharmacology* 1995;50: 83-90.

- Melck D, Rueda D, Galve-Roperh I, De Petrocellis L, Guzmán M, Di Marzo V. Involvement of the cAMP/protein kinase A pathway and of mitogen-activated protein kinase in the anti-proliferative effects of anandamide in human breast cancer cells. *FEBS letters* 1999;463(3):235-240.
- Meldrum B. GABAergic agents as anticonvulsants in baboons with photosensitive epilepsy. *Neurosci Lett.* 1984;47:345-349.
- Merlo D, Cifelli P, Cicconi S, Tancredi V, Avoli M. 4-Aminopyridine-induced epileptogenesis depends on activation of mitogen-activated protein kinase ERK. *J Neurochemi* 2004;89(3):654-659.
- Miller JW, Snyder AZ, Coben LA, Prensky AL. Clinical electroencephalography and related techniques. *Clinical Neurology.* 1992;1:5-15.
- Miller LL, Branconnier RJ. Cannabis: Effects on memory and the cholinergic limbic system. *Psychol Bull* 1983;93:441-456.
- Misner DL, Sullivan JM. Mechanism of cannabinoid effects on long-term potentiation and depression in hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci* 1999;19: 6795-6805.
- Misonou H. Homeostatic regulation of neuronal excitability by K⁺ channels in normal and diseased brains. *Neuroscientist* 2010;16(1):51-64.
- Monory K, Massa F, Egertova M, Eder M, Blaudzun H, Westenbroek R, Kelsch W, Jacob W, Marsch R, Ekker M, Long J, Rubenstein JL, Goebbels S, Nave KA, During M, Klugmann M, Wolfel B, Dodt HU, Zieglgansberger W, Wotjak CT, Mackie K, Elphick MR, Marsicano G, Lutz B. The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron* 2006;51:455-466.
- Moreira FA, Crippa JA. The psychiatric side effects of rimonabant. *Rev Bras Psiquiatr* 2009; 31(2):145-153.
- Moreira FA, Grieb M, Lutz B. Central side-effects of therapies based on CB1 cannabinoid receptor agonists and antagonists: focus on anxiety and depression. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2009;23(1):133-144.
- Moreira FA, Lutz B. The endocannabinoid system: emotion, learning and addiction. *Addict Biol* 2008;13(2):196-212.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993;365:61-65.
- Murphy LL, Steger RW, Smith MS, Bartke A. Effects of delta-9 tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabidiol, alone and in combinations, on luteinizing hormone and prolactin release and on hypothalamic neurotransmitters in the male rat. *Neuroendocrinology* 1990;52:316-321.
- Musella A, De Chiara V, Rossi S, Prosperetti C, Bernardi G, Maccarrone M, Centonze D. TRPV1 channels facilitate glutamate transmission in the striatum. *Mol Cell Neurosci* 2009;40(1):89-97.
- Nazıroğlu M, Ozkan FF, Hapil SR, Ghazizadeh V, Ciğ B. Epilepsy but not mobile phone frequency (900 MHz) induces apoptosis and calcium entry in hippocampus of epileptic rat: Involvement of TRPV1 channels. *J Membr Biol* 2015; 248(1):83-91.

- Nedaei SE, Rezayof A, Pourmotabbed A, Nasehi M, Zarrindast MR. Activation of endocannabinoid system in the rat basolateral amygdala improved scopolamine-induced memory consolidation impairment. *Behav Brain Res* 2016;311:183-191.
- Nilsson NE, Kotarsky K, Owman C, Olde B. Identification of a free fatty acid receptor, FFA2R, expressed on leukocytes and activated by short-chain fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;303:1047-1052.
- Noe SN, Newton C, Widen R, Friedman H, Klein TW. Anti-CD40, anti-CD3, and IL-2 stimulation induce contrasting changes in CB1 mRNA expression in mouse splenocytes. *J Neuroimmunol* 2000;110(1-2):161-167.
- Nowicky AV, Teyler TJ, Vardaris RM. The modulation of long-term potentiation by delta-9-tetrahydrocannabinol in the rat hippocampus, in vitro. *Brain Res Bull* 1987;19:663-672.
- Nudo RJ, Masterton RB. Descending pathways to the spinal cord III: Sites of origin of the corticospinal tract. *J Comp Neurol* 1990;296:559-583.
- Nyilas R, Gregg LC, Mackie K, Watanabe M, Zimmer A, Hohmann AG, Katona I. Molecular architecture of endocannabinoid signaling at nociceptive synapses mediating analgesia. *Eur J Neurosci* 2009;29:1964-1978.
- O'Shaughnessy WB. On the preparations of the Indian Hemp, or Gunjah: *Cannabis Indica* their effects on the animal system in health, and their utility in the treatment of tetanus and other convulsive diseases. *Prov Med J Retrospect Med Sci* 1843;5:363-369.
- Ohno-Shosaku T, Tsubokawa H, Mizushima I, Yoneda N, Zimmer A, Kano M. Presynaptic cannabinoid sensitivity is a major determinant of depolarization-induced retrograde suppression at hippocampal synapses. *J Neurosci* 2002;22:3864-3872.
- Okamoto Y, Morishita J, Tsuboi K, Tonai T, Ueda N. Molecular characterization of a phospholipase D generating anandamide and its congeners. *J Biol Chem* 2004;279:5298-5305.
- Okan M. Status Epilepticus. *Güncel Pediatri* 2004;172: 116-119.
- Oliver D, Lien C-C, Soom M, Baukowitz T, Jonas P, Fakler B. Functional conversion between A-type and delayed rectifier K_v channels by membrane lipids. *Science* 2004;304:265-270.
- Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Perchuk A, Meozzi PA, Myers L, Mora Z, Tagliaferro P, Gardner E, Brusco A, Akinshola BE, Liu QR, Hope B, Iwasaki S, Arinami T, Teasenfiz L, Uhl GR. Discovery of the presence and functional expression of cannabinoid CB2 receptors in brain. *Ann N Y AcadSci* 2006;1074:514-536.
- Onat F. Epilepsinin deneysel modelleri, *Epilepsi (içinde)* Bora İ. editör. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 2008;37-43.
- Oun A, Haldre S, Magi M. Incidence of adult epilepsiy in Estonia. *Acta Neurol Scand* 2003;108:245-251.

- Oz M, Jackson SN, Woods AS, Morales M, Zhang L. Additive effects of endogenous cannabinoid anandamide and ethanol on $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor-mediated responses in *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;313:1272-1280.
- Oz M, Ravindran A, Diaz-Ruiz O, Zhang L, Morales M. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor-mediated responses in *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306:1003-1010.
- Oz M, Yang K-H, Dinc M, Shippenberg TS. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits cromakalim-activated K_p currents in follicle-enclosed *Xenopus* oocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;323:547-554.
- Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* 2006;58:389-462.
- Pacher P, Kunos G. Modulating the endocannabinoid system in human health and disease – successes and failures. *FEBS J.* 2013;280:1918-1943.
- Pan JX, Wang ZL, Li N, Han ZL, Li XH, Tang HH, Wang R. Analgesic tolerance and cross-tolerance to the cannabinoid receptors ligands hemopressin, VD-hemopressin (α) and WIN55, 212-2 at the supraspinal level in mice. *Neurosci Letters* 2014;578:187-191.
- Pan JX, Wang ZL, Li N, Zhang N, Wang P, Tang HH, Zhang T, Yu HP, Zhang R, Zheng T, Fang Q, Wang R. Effects of neuropeptide FF and related peptides on the antinociceptive activities of VD-hemopressin (α) in naive and cannabinoid-tolerant mice. *E J Pharmacol* 2015;767:119-125.
- Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, Alexander SPH, Di Marzo V, Elphick MR, Greasley PJ, Hansen HS, Kunos G, Mackie K, Mechoulam R, Ross RA. International union of basic and clinical pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB1 and CB2. *Pharmacol Rev* 2010; 62:588-631.
- Pertwee RG, Ross R. Cannabinoid receptors and their ligands. *Prostaglandins* 2002; 66(2-3):101-121.
- Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 2001;63:569-611.
- Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther* 1997;74:129-80.
- Pertwee RG. Targeting the endocannabinoid system with cannabinoid receptor agonists: pharmacological strategies and therapeutic possibilities. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012;367:3353-3363.
- Pertwee RG. The evidence for the existence of cannabinoid receptors. *Gen Pharmacol* 1993;24: 811-824.
- Peters ALAN, Edward GJ. Classification of cortical neurons. *Cerebral Cortex* 1984;1:107-121.
- Pfurtscheller G, Lopes da Silva FH. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clin Neurophysiol* 1999;110 (11):1842-1857.

- Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Rev Neurosci* 2003;4(11): 873-884.
- Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Moshé SL. *Models of seizures and epilepsy*. 2. Edition, Burlington San Diego London, Elsevier Academic Press. 2006:345-350.
- Poling JS, Rogawski MA, Salem N, Vicini S. Anandamide, an endogenous cannabinoid, inhibits Shaker-related voltage-gated K_v channels. *Neuropharmacol* 1996;35:983-991.
- Porter AC, Felder CC. The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther* 2001;90(1):45-60.
- Press CA, Knupp KG, Chapman KE. Parental reporting of response to oral cannabis extracts for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsy Behav* 2015;45:49-52.
- Price TJ, Patwardhan A, Akopian AN, Hargreaves KM, Flores CM. Modulation of trigeminal sensory neuron activity by the dual cannabinoid-vanilloid agonists anandamide, N-arachidonoyl-opamine and arachidonyl-2-chloroethylamide. *Br J Pharmacol* 2004; 141(7):1118-1130.
- Prince D, Farrell D. Centrencephalic spike-wave discharges following parenteral penicillin injection in the rat. *Neurology* 1969;19:309-310.
- Przegalinski E, Baran L, Siwanowicz J. The role of nitric oxide in the kainate-induced seizures in mice. *Neurosci Lett* 1994;170(1):74-76.
- Purpura DP, Penry JK, Tower DB, Woodbury DM, Walter RD. *Experimental Models of Epilepsy, A Manual for the laboratory worker*. 1. Edition, New York, Raven Press. 1972;39-87.
- Rabin RA, George TP. Understanding the Link Between Cannabinoids and Psychosis. *Clin Pharmacol Ther* 2016;101:197-199.
- Rajasekaran K, Jayakumar R, Venkatachalam K. Increased neuronal nitric oxide synthase (nNOS) activity triggers picrotoxin-induced seizures in rats and evidence for participation of nNOS mechanism in the action of antiepileptic drugs. *Brain Res* 2003;979:85-97.
- Rajasekaran K, Jayakumar R, Venkatachalam K. Increased neuronal nitric oxide synthase (nNOS) activity triggers picrotoxin-induced seizures in rats and evidence for participation of nNOS mechanism in the action of antiepileptic drugs. *Brain Res*. 2003;979:85-97.
- Rapisarda C, Simonelli G, Monti S. Cells of origin and topographic organization of corticospinal neurons in the guinea pig by the Retrograde HRP method. *Brain Res* 1985;334:85-96.
- Raza M, Pal S, Rafiq A, DeLorenzo RJ. Long-term alteration of calcium homeostatic mechanisms in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Brain Res* 2001;903:1-12.
- Reem Al Qdah S. Pathophysiology of epilepsy. *Physiology* 2009;5:20-24.
- Remler MP, Marcussen WH. Systemic focal epileptogenesis. *Epilepsia* 1986;27:35-42.

- Rettori V, Wenger T, Snyder G, Dalterio S, McCann SM. Hypothalamic action of delta-9-tetrahydrocannabinol to inhibit the release of prolactin and growth hormone in the rat. *Neuroendocrinology* 1988;47:498-503.
- Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM. Hypoactivity of the spinal cannabinoid system results in NMDA-dependent hyperalgesia. *J Neurosci* 1998;18(1):451-457.
- Rioli V, Gozzo FC, Heimann AS, Linardi A, Krieger JE, Shida CS, Almeida PC, Hyslop S, Eberlin MN, Ferro ES. Novel natural peptide substrates for endopeptidase 24.15, neurolysin, and angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem* 2003;278:8547-8555.
- Rockwell CE, Snider NT, Thompson JT, Heuvel JPV, Kaminski NE. Interleukin-2 suppression by 2-arachidonyl glycerol is mediated through peroxisome proliferator-activated receptor γ independently of cannabinoid receptors 1 and 2. *Mol Pharmacol* 2006;70:101-111.
- Romigi A, Bari M, Placidi F, Marciani MG, Malaponti M, Torelli F, Izzi F, Prosperetti C, Zannino S, Corte F, Chiaramonte C, Maccarrone M. Cerebrospinal fluid levels of the endocannabinoid anandamide are reduced in patients with untreated newly diagnosed temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2010;51(5):768-772.
- Ross HR, Gilmore AJ, Connor M. Inhibition of human recombinant T-type calcium channels by the endocannabinoid N-arachidonoyl dopamine. *Br J Pharmacol* 2009;156:740-750.
- Rubino T, Realini N, Castiglioni C, Guidali C, Viganó D, Marras E, Petrosino S, Perletti G, Maccarrone M, Di Marzo V, Parolaro D. Role in anxiety behavior of the endocannabinoid system in the prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 2008;18(6):1292-1301.
- Rucker D, Padwal R, Li SK, Curioni C, Lau DC. Long term pharmacotherapy for obesity and overweight: updated meta-analysis. *BMJ* 2007;335(7631):1194-1199.
- Rudenko V, Rafiuddin A, Leheste JR, Friedman LK. Inverse relationship of cannabimimetic (R₁)WIN 55, 212 on behavior and seizure threshold during the juvenile period. *Pharmacol Biochem Behav* 2012;100:474-484.
- Rui-san Z, He Z, Wei-dong J, Rui W. Effects of the cannabinoid 1 receptor peptide ligands hemopressin, (m) RVD-hemopressin (α) and (m) VD-hemopressin (α) on memory in novel object and object location recognition tasks in normal young and A β 1-42-treated mice. *Neurobiol Learn Memory* 2016;134:264-274.
- Russ SA, Larson K, Halfon N. A national profile of childhood epilepsy and seizure disorder. *Pediatrics* 2012;129:256-264.
- Ryberg E, Larsson N, Sjögren S, Hjorth S, Hermansson N-O, Leonova J, Elebring T, Nilsson K, Drmota T, Greasley PJ. The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* 2007;152:1092-1101.
- Schlicker E, Kathmann M. Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:565-572.

- Schmidt RF. Integrative functions of the central nervous system. In : Human Physiology. Second Ed., Berlin, Heidelberg, Springer Verlag. 1989;124-165.
- Schuchmann S, Albrecht D, Heinemann U, von Bohlen Halbach O. Nitric oxide modulates low-Mg²⁺-induced epileptiform activity in rat hippocampal entorhinal cortex slices. *Neurobiol Dis* 2002;11:96-105.
- Schwartzkroin PA, Mody I. Acute Seizures Models (Intact Animals), in *Epilepsy: A Comprehensive Textbook*, Pedley TA, editor, Philadelphia, Lippincott Raven Publishers. 1997; 397-403.
- Schwartzkroin PA, Turner DA, Knowles WD, Wyler AR. Studies of human and monkey "epileptic" neocortex in the in vitro slice preparation. *Ann Neurol* 1983;13: 249-257.
- Scrima M, Di Marino S, Grimaldi M, Mastrogiacomo A, Novellino E, Bifulco M, D'Ursi AM. Binding of the hemopressin peptide to the cannabinoid CB1 receptor: structural insights. *Biochemistry* 2010;49(49):10449-10457.
- Seely KA, Prather PL, James LP, Moran JH. Marijuana-based drugs: innovative therapeutics or designer drugs of abuse? *Mol Interv* 2011;11:36-51.
- Sequeira SM, Ambrosio AF, Malva JO, Carvalho AP and Carvalho CM. Modulation of glutamate release from rat hippocampal synaptosomes. *Nitric Oxide* 1997;1: 315-329.
- Seyfried TN, Glaser GH. A review of mouse mutants as genetic models of epilepsy. *Epilepsia* 1985;26: 143-150.
- Shafaroodi H, Moezi L, Bahremand A, Dehpour AR. The role of α 2-adrenoceptors in the anti-convulsant effects of cannabinoids on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *E J Pharmacol* 2013;714(1):1-6.
- Shepherd GM. *The Synaptic Organization of the Brain*, 4. Edition. New York, Oxford University Press. 1998;410-459.
- Shepherd GM. *The Synaptic Organization of the Brain*, 1. Edition. London, Oxford University Press. 1974;288-328.
- Shirazi M, Izadi M, Amin M, Rezvani ME, Roohbakhsh A, Shamsizadeh A. Involvement of central TRPV1 receptors in pentylenetetrazole and amygdala-induced kindling in male rats. *Neurol Sci* 2014;35:1235-1241.
- Shoudai K, Peters JH, McDougall SJ, Fawley JA, Andresen MC. Thermally active TRPV1 tonically drives central spontaneous glutamate release. *J Neurosci* 2010;30(43):14470-14475.
- Sigel E, Baur R, Rać I, Marazzi J, Smart TG, Zimmer A, Gertsch J. The major central endocannabinoid directly acts at GABA_A receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:18150-18155.
- Snead OC, Bearden LJ. Anticonvulsants specific for petit mal antagonize epileptogenic effect of leucine enkephalin. *Science* 1980;210:1031-1033.
- Snead OC. Gamma-hydroxybutyrate model of generalized absence seizures: further characterization and comparison with other absence models. *Epilepsia* 1988;29:361-368.

- Stanley CP, O'Sullivan SE Cyclooxygenase metabolism mediates vasorelaxation to 2-arachidonoylglycerol (2-AG) in human mesenteric arteries. *Pharmacol Res* 2014b;81:74–82.
- Starowicz K, Maione S, Cristino L, Palazzo E, Marabese I, Rossi F, de Novellis V, Di Marzo V. Tonic endovanilloid facilitation of glutamate release in brainstem descending antinociceptive pathways. *J Neurosci* 2007, 27(50), 13739-13749.
- Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 1997;388:773-778.
- Sugaya Y, Yamasaki M, Sakimura K, Kano M. The endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol suppresses seizures by decreasing excitatory synaptic input around the inner molecular layer of the dentate gyrus. *J Neurosci* 2013; 33(8):3588-3601.
- Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;215:89-97.
- Sullivan JM. Mechanisms of cannabinoid-receptor-mediated inhibition of synaptic transmission in cultured hippocampal pyramidal neurons. *J Neurophysi* 1999;82:1286-1294.
- Sun FJ, Guo W, Zheng DH, Zhang CQ, Li S, Liu SY, Yin Q, Yang H, Shu HF. Increased expression of TRPV1 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. *J Mol Neurosci* 2013;49(1):182-193.
- Sun FJ, Guo W, Zheng DH, Zhang CQ, Li S, Liu SY, Yin Q, Yang H, Shu HF. Increased expression of TRPV1 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. *J Mol Neurosci* 2013;49(1):182-193.
- Sun Y, Alexander SPH, Garle MJ, Gibson CL, Hewitt K, Murphy SP, Kendall DA, Bennett AJ. Cannabinoid activation of PPAR α ; a novel neuroprotective mechanism. *Br J Pharmacol* 2007;152:734-743.
- Susankova K, Tousova K, Vyklicky L, Teisinger J, Vlachova V. Reducing and oxidizing agents sensitize heat-activated vanilloid receptor (TRPV1) current. *Mol Pharmacol* 2006;70(1):383-394.
- Suzuki J. Paroxysmal discharges in the electroencephalogram of the E1 mouse. *Experientia* 1976;32:336-338.
- Szaflarski JP, Bebin EM. Cannabis, cannabidiol, and epilepsy—from receptors to clinical response. *Epilepsy Behav* 2014;41:277-282.
- Takahashi N, Kozai D, Mori Y. TRP channels: sensors and transducers of gasotransmitter signals. *Front Physiol* 2012;324:24-28.
- Takei Y, Sachio T, Ohyu J, Takami T, Miyajima T, Hoshika A. Effects of nitric oxide synthase inhibition on the cerebral circulation and brain damage during kainic acid-induced seizures in newborn rats. *Brain Develop* 1999;21:253-259.
- Tanaka J, Nakagawa S, Kushiya E et al. Gq protein alpha subunits Galphaq and Galpha11 are localized at postsynaptic extra-junctional membrane of cerebellar Purkinje cells and hippocampal pyramidal cells. *Eur J Neurosci* 2000;12:781-792.

- Tanda G, Loddo P, Di Chiara G. Dependence of mesolimbic dopamine transmission on delta9-tetrahydrocannabinol. *Eur J Pharmacol* 1999;376(1-2):23-26.
- Terranova JP, Storme JJ, Lafon N, Péfio A, Rinaldi-Carmona M, Le Fur G, Soubrié P. Improvement of memory in rodents by the selective CB1 cannabinoid receptor antagonist, SR 141716. *Psychopharmacology* 1996;126(2):165-172.
- Terranova JP, Michaud JC, Le Fur G, Soubrie P. Inhibition of long-term potentiation in rat hippocampal slices by anandamide and WIN55212-2: Reversal by SR141716 A, a selective antagonist of CB1 cannabinoid receptors. *Pharmacol* 1995;352:576-579.
- Toniolo EF, Maique ET, Ferreira Jr WA, Heimann AS, Ferro ES, Ramos-Ortolaza DL, et al. Hemopressin, an inverse agonist of cannabinoid receptors, inhibits neuropathic pain in rats. *Peptides* 2014;56:125-131.
- Toth BI, Dobrosi N, Dajnoki A, Czifra G, Ola 'h A, Sz € ollosi AG, Juha 'sz I, Sugawara K, Paus R, Bı 'ro T. Endocannabinoids modulate human epidermal keratinocyte proliferation and survival via the sequential engagement of cannabinoid receptor-1 and transient receptor potential vanilloid-1. *J Invest Dermatol* 2011;131:1095-1104.
- Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neurosci* 1998;83(2):393-411.
- Uçar, D. Penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine apelinin etkisi ve T-tipi kalsiyum kanallarının rolü. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Tıpta Uzmanlık*, 2015; 20-45.
- Ulugol A, Ozyigit F, Yesilyurt O, Dogrul A. The additive antinociceptive interaction between WIN 55,212-2, a cannabinoid agonist, and ketorolac. *Anesth Analg* 2006;102(2):443-447.
- Usunoff G, Atsev E, Tchavdarov D. On the mechanisms of picrotoxin epileptic seizure (macro- and micro-electrode investigations). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1969;27: 444-450.
- Usunoff G, Atsev E, Tchavdarov D. On the mechanisms of picrotoxin epileptic seizure (macro-and micro-electrode investigations). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1969; 27(4): 444.
- Uzbay T. Madde bağımlılığı. *Silahlı Kuvvetler Dergisi* 2009;399: 98-115.
- Van Rijn CM, Perescis MF, Vinogradova L, van Luijteleaer G. Endocannabinoid system protects against cryptogenic seizures. *Pharmacol Rep* 2011;63:165-168.
- Van SMD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, Stella N, Makriyannis A, Piomelli D, Davison JS, Marnett LJ, DiMarzo V, Pittman QJ, Patel KD, Sharkey KA. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 2005; 310:329-332.
- VanDerStelt M, DiMarzo V. Endovanilloids. Putative endogenous ligands of transient receptor potential vanilloid 1 channels. *Eur J Biochem* 2004;271(10):1827-1834.

- Varma N, Carlson GC, Ledent C, Alger BE. Metabotropic glutamate receptors drive the endocannabinoid system in hippocampus. *J Neurosci* 2001;21: 1-5
- Vetrile LA, Karpova MN, Kuznetzova LV. Autoantibodies to glutamate, GABA and their receptors in epilepsy. *Patol Fiziol Eksp Ter* 2014;59(1):90-98.
- Vignali M, Benfenati V, Caprini M, Anderova M, Nobile M, Ferroni S. The endocannabinoid anandamide inhibits potassium conductance in rat cortical astrocytes. *Glia* 2009;57:791-806.
- Vilches-Flores A, Delgado-Buenrostro NL, Navarrete-Vazquez G, Villalobos-Molina R. CB1 cannabinoid receptor expression is regulated by glucose and feeding in rat pancreatic islets. *Regul Peptides* 2010;163(1-3):81-87.
- Vincent, SR. Nitric oxide: a radical neurotransmitter in the central nervous system. *Progress in Neurobiology* 1994;42:129-60.
- Vinogradova LV, Shatskova AB, van Rijn CM. Pro-epileptic effects of the cannabinoid receptor antagonist SR141716 in a model of audiogenic epilepsy. *Epilepsy Res* 2011;96:250-256.
- Viveros MP, Marco EM, File SE. Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *Pharmacol Biochem Behav* 2005;81(2):331-342.
- von Ru ¨den EL, Bogdanovic RM, Wotjak CT, Potschka H. Inhibition of monoacylglycerol lipase mediates a cannabinoid 1-receptor dependent delay of kindling progression in mice. *Neurobiol Dis* 2015b;77:238-245.
- von Ru ¨den EL, Jafari M, Bogdanovic RM, Wotjak CT, Potschka H. Analysis in conditional cannabinoid 1 receptor-knockout mice reveals neuronal subpopulation-specific effects on epileptogenesis in the kindling paradigm. *Neurobiol Dis* 2015a;73:334-347.
- Waldeck-Weiermair M, Zoratti C, Osibow K, Balenga N, Goessnitzer E, Waldhoer M, Malli R, Graier WF. Integrin clustering enables anandamide-induced Ca²⁺ signaling in endothelial cells via GPR55 by protection against CB1-receptor-triggered repression. *J Cell Sci* 2008;121:1704-1717.
- Walden J, Straub H, Speckmann EJ. Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. *Acta Neurologica Scandinavica* 1992;150:41-46.
- Walker AE, Johnson HC, Case TJ, Kollros JJ. Convulsive Effects of Antibiotic Agents on the Cerebral Cortex. *Science* 1946;103:103-116.
- Walker AE, Johnson HC. Convulsive factor in commercial penicillin. *Arch Surg* 1945;50:69-73.
- Walker JM, Huang SM. Cannabinoid analgesia. *Pharmacol Ther* 2002;95:127-135.
- Wallace MJ, Blair RE, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ. The endogenous cannabinoid system regulates seizure frequency and duration in a model of temporal lobe epilepsy. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;307:129-137.

- Wallace MJ, Martin BR, DeLorenzo RJ. Evidence for a physiological role of endocannabinoids in the modulation of seizure threshold and severity. *Eur J Pharmacol* 2002;452:295-301.
- Wallace MJ, Wiley JL, Martin BR, DeLorenzo RJ. Assessment of the role of CB1 receptors in cannabinoid anticonvulsant effects. *Eur J Pharmacol* 2001;428:51-57.
- Wartmann M, Campbell D, Subramanian A, Burstein SH, Davis RJ. The MAP kinase signal transduction pathway is activated by the endogenous cannabinoid anandamide. *FEBS Lett* 1995;359:133-136.
- Wasterlain CG, Fujikawa DG, Penix L, Sankar R. Pathophysiological mechanisms of brain damage from status epilepticus. *Epilepsia* 1993;1:37-53.
- Wettschureck N, van der Stelt M, Tsubokawa H, Krestel H, Moers A, Petrosino S, Shütz G, Di Marzo V, Offermanns S. Forebrain-specific inactivation of Gq/G11 family G proteins results in age-dependent epilepsy and impaired endocannabinoid formation. *Mol Cell Biol* 2006;26:5888-5894.
- White R, Ho WS, Bottrill FE, Ford WR, Hiley CR. Mechanisms of anandamide-induced vasorelaxation in rat isolated coronary arteries. *Br J Pharmacol* 2001;134:921-929.
- Wilson RI, Nicoll RA. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* 2001;410: 588-592.
- Woolridge E, Barton S, Samuel J, Osorio J, Dougherty A, Holdcroft A. Cannabis use in HIV for pain and other medical symptoms. *J Pain Symptom Manage* 2005;29(4):358-367.
- Xiong W, Hosoi M, Koo B-N, Zhang L. Anandamide inhibition of 5-HT_{3A} receptors varies with receptor density and desensitization. *Mol Pharmacol* 2008;73:314-322.
- Xiong W, Wu X, Li F, Cheng K, Rice KC, Lovinger DM, Zhang L. A common molecular basis for exogenous and endogenous cannabinoid potentiation of glycine receptors. *J Neurosci* 2012;32:5200-5208.
- Yang Z, Aubrey KR, Alroy I, Harvey RJ, Vandenberg RJ, Lynch JW. Subunit-specific modulation of glycine receptors by cannabinoids and N-arachidonyl-glycine. *Biochem Pharmacol* 2008;76:1014-1023.
- Yasuda H, Fujii M, Fujisawa H, Ito H, Suzuki M. Changes in nitric oxide synthesis and epileptic activity in the contralateral hippocampus of rats following intrahippocampal kainate injection. *Epilepsia* 2001;42:13-20.
- Yeni N, Gürses C. *Epilepsi Çalışma Grubu Tanı ve Tedavi Rehberi*. 2015;12-43.
- Yeni N, Naci Karağaç N. *Epilepsiler. Nörolog olmayanlar için nöroloji sempozyum dizisi* 2005; 42:159-175.
- Yildirim M, Ayyıldız M, Agar E. Endothelial nitric oxide synthase activity involves in the protective effect of ascorbic acid against penicillin-induced epileptiform activity. *Seizure* 2010;19(2): 102-108.

- Yildirim M, Marangoz AH, Ayyildiz M, Ankarali S, Marangoz C. (). The interactions of nitric oxide and adenosine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2011;71(2):208-219.
- Yoshida T, Fukaya M, Uchigashima M, Miura E, Kamiya H, Kano M, Watanabe M. Localization of diacylglycerol lipase- α around postsynaptic spine suggests close proximity between production site of an endocannabinoid, 2-arachidonoylglycerol, and presynaptic cannabinoid CB1 receptor. *J Neurosci* 2006;26:4740-4751.
- Yoshida T, Inoue R, Morii T, Takahashi N, Yamamoto S, Hara Y, Tominaga M, Shimizu S, Sato Y, Mori Y. Nitric oxide activates TRP channels by cysteine S-nitrosylation. *Nat Chem Biol* 2006;2(11):596-607.
- Zschenderlein C, Gebhardt C, vonBohlenUndHalbach O, Kulisch C, Albrecht D. Capsaicin-induced changes in LTP in the lateral amygdala are mediated by TRPV1. *PLoS One* 2011;6(1): 1-13.
- Zupec-Kania BA, Spellman E. An overview of the ketogenic diet for pediatric epilepsy. *Nutr Clin Pract*. 2009;23(6):589-596.
- Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, Chuang H, Sørsgård M, DiMarzo V, Julius D, Högestatt ED. Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 1999;400(6743):452-457.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Hatice Aygün

Doğum Yeri: Samsun/ Vezirköprü

Doğum Tarihi: 01.07. 1987

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Yüksek Lisans: Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Araştırma Görevlisi - 01.12.2011 –Devam ediyor

E-posta: hatice.aygun@gop.edu.tr