



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PENİSİLİNLE OLUŞTURULAN DENEYSEL
EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE APELİN-13'ÜN
GÖSTERDİĞİ PROKONVULSAN ETKİDE KANABİNOİD
CB1 RESEPTÖRÜNÜN ROLÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma Banu ŞEN

**Samsun
Ocak – 2016**



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**PENİSİLİNLE OLUŞTURULAN DENEYSEL
EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE APELİN-13'ÜN
GÖSTERDİĞİ PROKONVULSAN ETKİDE KANABİNOİD
CB1 RESEPTÖRÜNÜN ROLÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatma Banu ŞEN

**Danışman
Prof. Dr. Erdal AĞAR**

**Samsun
Ocak – 2016**

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince analiz etme ve fikir üretme yeteneğimi geliştiren, disiplinli olmayı öğreten, tezimde ve her türlü konuda desteğini esirgemeyen tez danışmanı hocam Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Erdal AĞAR'a teşekkür ederim.

İşe başladığım ilk günden itibaren manevi desteğini esirgemeyip moral veren, engin tecrübelerinden ve bilgisinden her daim faydalandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a teşekkür ederim.

Derslerinde yapmış olduğum sunumlarla kendime olan öz güvenimi arttırdığım, bilimsel açıdan azmine ve çalışkanlığına hayran olduğum saygı değer hocam Sayın Prof. Dr. Cafer MARANGOZA'a teşekkürlerimi sunarım.

Hoşgörüsünü esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan BOZKURT'a,
Fikir ve tavsiyelerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Faruk BAĞIRICI'ya,
Çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Niyazi TAŞÇI'ya teşekkür ederim.

Laboratuvar ve tez yazım sürecinde desteğini asla esirgemeyen Dr. Durmuş Uçar'a, beraber en güzel günleri, bilgileri ve deneyimleri paylaştığımız, her an yanımda olduğumu hissettiren canım arkadaşım Gülay YILDIZ'a, birlikte göreve başladığımız tarihten itibaren göstermiş olduğu iyi niyet ve yardımseverliği için Araş. Gör. Özge DARAKCI'ya, bu süreçte hiçbir zaman manevi desteğini esirgemeyip bana moral veren Dr. Fırat AYÇIK'a ve Araş. Gör. Süleyman Emre KOCACAN'a, her konuda yardımlarıyla yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Gökhan ARSLAN'a ve Yrd. Doç. Dr. Sabiha Kübra ALICI'ya, anabilim dalı içerisinde beraber çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum Doktora Öğr. Hatice Aygün, Yüksek Lisans Öğr. Çiğdem ERGÜN, Dr. Elif ŞEN, Dr. Burhanettin BAYSAL'a teşekkür ederim.

Mesleği olan öğretmenliği bize aşılayan, her türlü fedakarlığıyla beni bugünlere getiren, her şeyden önce insan olabilmenin, merhamet sahibi ve yardımsever bir birey olabilmenin önemli olduğunu öğreten en yakın arkadaşım, sırdaşım ve dostum biricik annem Nilgün YANIKOĞLU'na, babam Abdulkadir ŞEN'e, kardeşlerim Ayşe Zeynep ŞEN ve Ahmet Asım ŞEN'e teşekkür ederim.

ÖZET

PENİSİLİNLE OLUŞTURULAN DENEYSEL EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE APELİN-13'ÜN GÖSTERDİĞİ PROKONVULSAN ETKİDE KANABİNOİD CB1 RESEPTÖRÜNÜN ROLÜ

Amaç: Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize, toplumda sık görülen nörolojik bir hastalıktır. Epilepsi oluşumunda nöropeptidler, reseptörler ve nörotransmitterler gibi birçok sistem rol almaktadır. Bir nöropeptid olan apelin-13'ün prokonvulsan etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Sunulan çalışma kanabinoidler ile apelin-13 etkileşiminin penisilin modeli deneysel epilepsideki rolünü araştırmayı amaçlamaktadır.

Materyal ve Metot: Sunulan çalışmada 91 adet Albino Wistar cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney hayvanları 13 gruba bölündü. 1. gruba hiçbir şey uygulanmadı, 2. gruba SF, 3. gruba penisilin, 3 gruba kanabinoid CB1 reseptör agonisti ACEA ile antagonisti AM-251, 2 gruba apelin-13'ün farklı dozlarının verildi ve 6 grupta da bu maddelerin etkileşimleri araştırıldı. Sıçanlar üretan (intraperitoneal, i.p.) anestezisi altında stereotaksik cihaza yerleştirildi. Gruplara bağlı olarak 500 IU penisilin-G (intrakortikal, i.k.) ile epileptiform aktivite oluşturulduktan 30 dakika sonra birinci madde, 10'ar dakika aralıklarla da ikinci ve üçüncü maddeler intraserebroventriküler (i.s.v.) yolla verildi.

Bulgular: Etkin doz apelin-13 (15 µg) 20. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi arttırdı. Etkin doz AM-251 (0,25 µg) de 20. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi arttırdı. Etkin doz AM-251 + etkin doz apelin-13 epileptiform aktiviteyi 30. dakikadan itibaren arttırdı. Etkisiz doz AM-251 (0,125 µg) + Etkin doz apelin-13 epileptiform aktiviteyi 30. dakikadan itibaren arttırdı. Etkin doz ACEA (7,5 µg) epileptiform aktiviteyi 50. dakikadan itibaren azalttı. Etkin doz ACEA + etkin doz apelin-13 40. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi azalttı. Etkisiz doz AM-251 + etkisiz doz apelin-13 (5 µg) + etkin doz ACEA 50. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalttı.

Sonuç: ACEA, apelin-13 ile birlikte verildiğinde apelin-13'ün prokonvulsan etkisini tümüyle baskılamıştır. AM-251 epileptiform aktivitenin spike frekansını apelin-13'e göre daha fazla artırmıştır. Etkisiz doz AM-251 + etkisiz doz apelin-13'ün sinerjik etki oluşturmamasından dolayı, kanabinoidlerin ve apelin-13'ün farklı yolları kullandığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: ACEA; AM-251; apelin-13; epilepsi; penisilin

Fatma Banu ŞEN, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Ocak-2016

ABSTRACT

THE ROLE OF CANNABINOID CB1 RECEPTOR IN THE PROCONVULSANT EFFECT OF APELIN-13 ON PENICILLIN-INDUCED EPILEPTIFORM ACTIVITY

Aim: Epilepsy is a common neurological disorder characterized by recurrent seizures. Many neuropeptides, neuromodulators and neurotransmitters play an important role in the epileptic activity. It has been shown that the neuropeptide apelin-13 shows a proconvulsant effect on penicillin-induced epilepsy. The aim of this study is to evaluate interaction between cannabinoids and apelin-13 in experimental model of epilepsy.

Material and Method: Ninety-one male albino Wistar rats were divided into 13 groups. First group rats were not applied drugs or normal SF, second group was the sham, third group received the penicillin accepted as control, three different groups were supplied CB1 receptor agonist ACEA, at a dose of 7.5 µg and antagonist AM-251, at a doses of 0.25 µg – 0.125 µg, two groups were given different doses of Apelin-13 and five groups were evaluated interaction between these chemicals.

Results: Apelin-13, at a dose of 15 µg, increased the frequency of epileptiform activity in 20th minute. AM-251, caused proconvulsant activity in 20th minute. Administration of AM-251 + apelin-13 also increased the frequency of epileptiform activity starting from 30 minutes after apelin-13 injection. Administration of non-effective dose of AM-251 and the effective dose of apelin-13 enhanced the epileptiform activity starting in 20 minutes after apelin injection. ACEA, at a doses of 7.5 µg, decreased the epileptiform activity starting in 50th minute. Administration of the effective doses of ACEA and apelin-13 decreased the epileptiform activity starting from 40th minute after apelin-13 injection. The non-effective doses of AM-251, apelin-13 and effective dose of ACEA reduced the epileptiform activity 50 minute after apelin-13 injection.

Conclusion: Since the co-administration of non-effective doses of apelin and AM-251 did not cause an additional proconvulsant activity in this study, it might be assumed that they use separate pathways to initiate their effects in epilepsy.

Keywords: ACEA; AM-251; apelin-13; epilepsi; penisilin

Fatma Banu ŞEN, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, January-2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

2-AG	: 2-Araşidonil Gliserol
AA	: Araşidonik asit
ACE2	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2
ACEA	: Araşidonil -2-Kloroetilamid
AEA	: Araşidonil Etanolamin
AM-251	: CB1 Reseptör Antagonisti
AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4- izoksazolepropionik asit
APJ	: Apelinerjik reseptör
AT-1	: Anjiyotensin II tip 1
Ca ²⁺	: Kalsiyum iyonu
cAMP	: siklik AMP
CB	: Kanabinoid
CBD	: Kanabidiol
DAG	: Diaçil gliserol
dk.	: Dakika
ECoG	: Elektrokortikografi
EEG	: Elektroensefalografi
FAAH	: Yağ Asidi Amid Hidrolaz Enzimi
FAK	: Fokal Adhezyon Kinaz
GABA	: Gama amino butirik asit
GABA _A	: GABA-A Reseptörü
GABA _B	: GABA-B Reseptörü
GAD	: Glutamik Asit Dekarboksilaz
GIRK	: G Proteine Duyarlı İçerik Yönelik Rektifiye Potasyum Kanalları
Gi	: İnhibitör G protein
HU210	: Kanabinoid Agonisti
ILAE	: Uluslararası Epilepsi İle Savaş Derneği
IP3	: İnozitol trifosfat
IU	: İnternal Ünite
i.k.	: İnttrakortikal

i.m.	: İntramuskuler
i.p.	: İnteraperitoneal
i.s.v.	: İnterakerebroventriküler
i.v.	: İnteravenöz
JNK	: c-Jun-N-terminal Kinaz
K ⁺	: Potasyum iyonu
K ⁺ A	: A-Tipi Potasyum Kanalı
MAGL	: Monoağılglicerol Lipaz
MAP-kinaz	: Mitojen İle Aktive Olan Protein Kinaz
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mV	: Milivolt
Na ⁺	: Sodyum iyonu
NMDA	: N-Metil D-Aspartat
pERK	: Fosforile olmuş ERK
PI3K	: Fosfatidil inositol 3 kinaz
PKA	: Protein Kinaz A
PKC	: Protein Kinaz C
PLC	: Fosfolipaz C
ROS	: Reaktif oksijen radikalleri
SEM	: Ortalama standart hata
SF	: Serum fizyolojik
SR141716A	: Rimonabant
THC	: Tetrahidrokannabinol
WIN 55,212-2	: CB1 reseptör agonisti
Δ9-THC	: Δ9-Tetrahidrokannabinol
μg	: Mikrogram
μl	: Mikrolitre
μV	: Mikrovolt

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Beyin Korteksi	5
2.1.1. Beyin Kabuğundaki Hücre Tipleri.....	5
2.1.2. Beyin Korteksinin Tabakaları.....	7
2.2. Nöbet Ve Epilepsi	11
2.2.1. Nöbet.....	11
2.2.2. Epilepsi	12
2.2.3. Elektroensefalografi (EEG) ve Elektrokortikografi (ECoG).....	19
2.3. Kanabinoidler.....	22
2.3.1. Kanabinoid Reseptörleri	23
2.3.2. Fitokanabinoidler	26
2.3.3. Endokanabinoidler	27
2.3.4. Sentetik Kanabinoidler	29
2.3.5. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri	31
2.3.6. Kanabinoidlerin Antikonvulsan Etkileri.....	33
2.4. Apelin.....	34
2.4.1. Apelinin Biyokimyası ve Metabolizması	35
2.4.2. Apelin Reseptörü	36
3. MATERYAL VE METOT	39
3.1. Deney Hayvanları.....	39
3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri	39
3.3. Deney Grupları.....	40
3.4. Elektrokortikogram (ECoG) Kayıtları	43
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtların Değerlendirilmesi	45
3.6. İstatistiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR	47

4.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite	47
4.2. Apelin-13'ün Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	49
4.2.1. Apelin-13'ün 5 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	49
4.2.2. Apelin-13'ün 15 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	49
4.3. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	54
4.3.1. CB1 Reseptör Antagonisti AM-251'in 0,125 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	54
4.3.2. CB1 Reseptör Antagonisti AM-251'in 0,25 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	54
4.3.3. CB1 Reseptör Agonisti ACEA'nın 7,5 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	54
4.4. Apelin ve Kanabinoid Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	61
4.4.1. AM-251 (0,25 µg) + Apelin-13 (15 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	61
4.4.2. ACEA (7,5 µg) + Apelin-13 (15 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	61
4.4.3. AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (15 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	62
4.4.4. AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	62
4.4.5. AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	62
5. TARTIŞMA	81
5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite	81
5.2. Apelin-13'ün Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	83
5.3. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	86
5.4. Apelin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi.....	91
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	97
KAYNAKLAR	99
EKLER	123
ÖZGEÇMİŞ	124

1.GİRİŞ

Epilepsi; merkezi sinir sisteminde belirli bir görevi olan nöron topluluğunun ani, anormal ve hipersenkron deşarjı olarak tanımlanır. Epilepsinin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Kafa travmaları, beyindeki kanamalar, beyinde oluşan bazı enfeksiyonlar (menenjit, ensefalitler veya abseler), inme, beyin damarlarındaki bazı yapısal bozukluklar ve tümörler gibi belli başlı faktörler epilepsi nedenleri arasında yer alır (Fisher, 1989; Löscher, 1997).

Epilepsi ile ilgili olarak insanlar üzerinde yapılabilecek çalışmaların sınırlı olması, özellikle de hastalığın temeline yönelik incelemeler, deneysel modellerin kullanımını zorunlu kılmaktadır. Hayvan modellerinde yapılan deneysel çalışmalar epilepsinin patogenezinin aydınlatılmasında önemli rol oynamaktadır. Penisilin kaynaklı deneysel epilepsi modeli de bunlardan bir tanesidir. Penisilin sistemik yoldan, korteks yüzeyine topikal olarak veya intrakortikal (i.k.) enjeksiyon yoluyla uygulandığında, epilepside görülen aktiviteye benzer bir aktivite oluşturmaktadır. Penisilin beyindeki GABA inhibisyonunun ortadan kalkmasına ve beyin temel eksitator nörotransmitteri olan glutamatin uyarıcı etkilerinin baskın hale gelmesine neden olarak, akut fokal epilepsi benzeri bir epileptik aktiviteye yol açmaktadır (Marangoz, 1997).

Epilepsi oluşumunda nöropeptidlerin, reseptörlerin ve nörotransmitterlerin rol oynadığı bilinmektedir. Bir nöropeptid olan apelin, ilk olarak 1998 yılında Tatemato ve ark. (1998) tarafından sığır mide öz suyundan izole edilmiştir. Apelin 'ters farmakoloji' ile keşfedilmiş adipokin ailesinin üyesidir. Öncelikle 1993 yılında reseptörü (APJ) tespit edilmiş (O'Dowd ve ark., 1993), ardından 1998 yılında da bu reseptörün endojen ligandı olarak apelin molekülü izole edilmiştir (Tatemato ve ark., 1998). Geni Xq25-26.1 kromozomu üzerinde bulunan apelin (Ladeiras-Lopes ve ark., 2008), 77 aminoasitlik bir preproapelininden köken alır ve değişik kısımlarından parçalanarak farklı sayıda aminoaside (apelin-10, apelin-11, apelin-12, apelin-13, apelin-15, apelin-17, apelin-19 ve apelin-36) sahip fragmanlar oluşturur. Apelin-13 yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğundan, yapılan çalışmalar apelinin bu formu üzerine yoğunlaşmıştır.

Apelin ve APJ mRNA'larının beyincik, damar endoteli, akciğer, kalp ve böbrek gibi dokularda daha fazla konsantrasyonda olduğu tespit edilmiştir (Tatemoto ve

ark., 1998; Kawamata ve ark., 2001). Apelinin fizyolojik ve patolojik birçok durumda görev aldığı gösterilmiştir. Bunların arasında kan basıncı, sıvı ve besin alımı, sindirim, solunum bulunmaktadır (Lee ve ark., 2000; Reaux ve ark., 2001; Seyedabadi ve ark., 2002; Taheri ve ark., 2002; Sunter ve ark., 2003). Apelin ve APJ sisteminin periferik dokular haricinde hipokampus, serebellum, striatum ve hipotalamusta da bulunduğu belirtilmiştir (Hosoya ve ark., 2000; Reaux ve ark., 2001). Bu bulguların hepsi apelinin hem merkezi sinir sisteminde hem de periferde önemli roller üstlenebileceğinin işaretlerini vermektedir.

Apelinin temporal lob epilepsili hastaların temporal neokortekslerinde ve lityum-pilokarpin epilepsi modelinde de hipokampus ile çevresindeki korteks yapılarında ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2011). Ancak epilepside apelin ekspresyonunun artışı ve moleküler mekanizmasıyla ilgili deneysel çalışmalar olmadığından, bunun sebebi tam olarak bilinmemektedir.

O'Donnell ve ark. (2007) yaptığı çalışmada apelinin hipokampal nöronlarda NMDA aracılı eksitotoksisteye karşı koruyucu özelliğinin olduğu gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada NMDA reseptörlerinin aktivasyonu, eksitotoksisteye sebep olduğu düşünülen aşırı Ca^{+2} akışını düzenlediğinden apelin-13'ün NMDA'nın tetiklediği hücre içi Ca^{+2} artışında inhibitör gibi davranabileceği gösterilmiştir. Buradan yola çıkılarak yine aynı çalışmada apelinin apopitozisi ve eksitotoksik ölümü, hücrel ve moleküler mekanizmalar yardımıyla blokladığı bulunmuştur (Zeng ve ark., 2010).

Kanabinoid sistem santral sinir sistemi ve nörofizyolojik süreçlerdeki önemli rolünden dolayı önemli bir çalışma alanı olarak gösterilir (Ağar, 2015). Bundan dolayı kanabinoid sistem, kanabinoid odaklı tedavilerin gelişmesi için önemli bir hedef olmaktadır. Esrarla ilgili araştırmalar, bitkisel kaynaklı olan fitokanabinoidlerin izolasyonları ve kimyasal yapılarının aydınlatılmasıyla başlamıştır. 1899 yılında kanabinol esrar reçinesinden izole edilmiş, 1964'de delta-9-tetrahidrokanabinol'ün (Δ^9 -THC) kimyasal yapısı aydınlatılmıştır. 1988 yılında esrarın ana etken maddelerinden olan tetrahidrokanabinol'ün sıçan beyinde bağlanma bölgesinin var olduğu bulunmuştur (Devane ve ark., 1988). Bunun ardından muhtemel bir reseptörünün varlığı fikri akıllara gelmiştir. CB1 ve CB2 olmak üzere iki kanabinoid reseptörü tanımlanmıştır (Wallace ve ark., 2003). CB1 reseptörü santral sinir sisteminde, CB2

reseptörü ise immün hücrelerde (Pertwee 1997; Axelrod ve Felder, 1998) yaygın olarak bulunmaktadır.

Kanabinoidlerin antikonvulsan etkileriyle ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (Gordon ve Devinsky, 2001). Kanabinoid CB1 reseptörleri Gi/o ile bağlantılı olarak adenilat siklazı ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarını inhibe eder ve G proteine kenetli içe yönelik rektifiye potasyum kanallarını (GIRK) aktive ederek hiperpolarizasyona sebep olur. Bunun dışında kanabinoidlerin antiepileptik etkilerini açıklamak için birçok mekanizma önerilmiştir ki bunlar; 5-HT1A reseptörlerinin aktivasyonu, TRPV1-2 kanallarının aktivasyonu, anandamid geri alımının inhibisyonu ve serotonin, adenozin, noradrenalin, dopamin, GABA ve T-tipi kalsiyum kanallarının geri alımının inhibisyonu gibi mekanizmaları içerir (Ağar, 2015). *In vitro* ve *in vivo* yapılan birçok deneysel epilepsi çalışmasında bol miktarda kanabinoid analogu test edilmiştir. Wallace ve ark. (2001) maksimal elektroşok modelinde kanabinoid bileşiklerinden Δ^9 -tetrahidrokanabinol (Δ^9 -THC), kanabidiol ve CB1 reseptör agonisti olan WIN 55,212-2'nin antikonvulsan etkisini göstermiştir. Bu antikonvulsan etkinin kanabinoid CB1 reseptöründen kaynaklandığını öne sürülmektedir. Deshpande ve ark. (2007) hipokampal nöron kültürüyle oluşturulan epilepsi modelinde, epileptik nöronlara uygulanan CB1 reseptör antagonisti AM-251'in, CB1 reseptörlerini bloklayarak status epileptikus tarzı aktivite ortaya çıkardığını ve bu aktivitenin yüksek dozdaki CB1 reseptör agonistleriyle (WIN 55,212-2) geri döndürülebilir olduğunu ortaya koydular. Tutuşma (kindling) modeli epilepside çeşitli kanabinoidlerin 1-5 mg/kg (i.p.) dozlarda güçlü antikonvulsan etki oluşturduğu gösterilmiştir (Corcoram ve ark., 1973). Maksimal elektroşok nöbet modelinde sistemik enjekte edilen CB1 reseptör agonisti araşidonil-2-kloroetilamid (ACEA) 5 ve 7,5 mg/kg dozlarında nöbet eşiğini anlamlı derecede yükseltmiş ancak 1,25 ve 2,5 mg/kg dozlarında anlamlı bir fark ortaya çıkaramamıştır (Luszczki ve ark., 2006). Bunun yanında, sistemik verilen ACEA 5 mg/kg dozunda kokainle indüklenen konvulsif nöbetleri azaltmaktadır (Hayase ve ark., 2001). Kanabinoidlerin Gi/o proteinleri aracılığıyla direkt Ca^{+2} kanallarının inhibisyonunu sağlayıp hücre içi aşırı Ca^{+2} birikimini engellemesiyle presinaptik glutamat salınımını azaltarak penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi baskıladığı ya da içe yönelik rektifiye edici K^+ kanallarını aktive ederek epileptiform deşarjı azalttığı gösterilmiştir (Mackie ve ark., 1993, 1995; Kyrou ve ark., 2006)

Daha önce yapılan çalışmalarda apelin-13'ün nöroprotektif etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak literatürde apelin-epilepsi ilişkisini gösteren sadece üç çalışma mevcuttur. Sunulan bu çalışmayla, sıçanda penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye apelin-13'ün etkisi araştırılacaktır. Ayrıca hem apelin-13'ün hem de kanabinoidlerin Ca^{+2} üzerinden etki göstermeleri nedeniyle apelin-13 ile kanabinoid sistem ilişkisi ilk defa sunulan çalışmayla araştırılacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

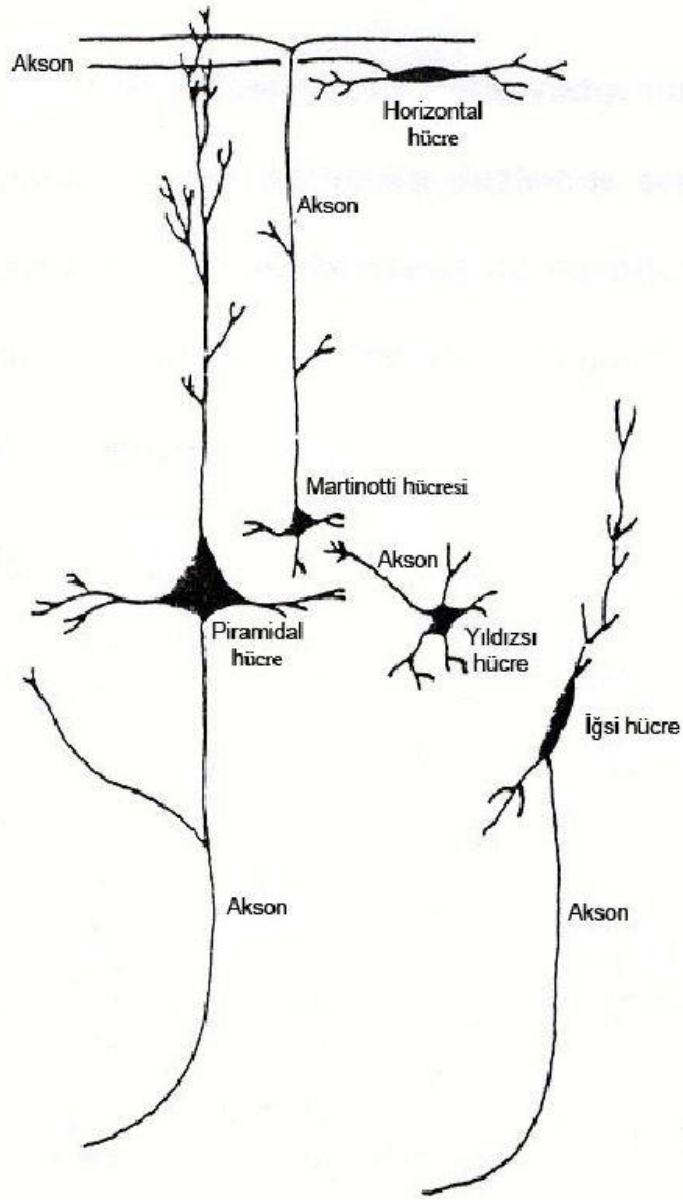
2.1. Beyin Korteksi

Beyin kabuğu beynin simetrik iki hemisferinin yüzeyini dıştan saran, birkaç milimetre kalınlığında olan ve genellikle 3-6 hücre tabakası içeren özelleşmiş bir yapıdır. Bu tabakaya beynin gri maddesi de denir. Beyin korteksi; hareketlerin tasarımı ve yönetilmesi, duyuların algılanması, analizi ve yorumu, düşünme ve düşüncenin şekillendirilmesi, iç dengenin korunması, hafızanın oluşumu, verilerin değerlendirilerek planlanması ve karar verilmesi, ifade kabiliyeti, bilinç ve farkındalık gibi yüksek beyin faaliyetlerini kontrol eder (Purves ve ark., 2001).

2.1.1. Beyin Kabuğundaki Hücre Tipleri

Beyin korteksi, hücre gövdelerinin şekilsel özelliklerine, dendritlerin uzunluk dağılımları ile akson dallanma ve sonlanma bölgelerine göre birçok kez sınıflandırılmıştır (Colonnier, 1968; Barr ve Kiernan, 1988). En çok kullanılan sınıflandırmaya göre beyin korteksinde; yıldızsı (granüler) hücreler, iğsi (fusiform) hücreler, Martinotti hücreleri, Cajal'ın horizontal hücreleri ve piramidal hücreler bulunmaktadır (Şekil-1).

a. Yıldız Hücreleri: Küçük gövdeli ve çok kutuplu (multipolar) hücrelerdir. Dendritler hücreden ayrılır ayrılmaz dallanma yaparlar. Dendritler, yaklaşık olarak 3-5 µm kalınlığındadır. Hücrenin aksonu genellikle büyük bir dendritten çıkar ve komşu hücre gövdeleriyle beraber yüzeysel dendrit tabakalarında son bulur. Yıldız hücrelerin az bir kısmı da beyin kabuğu dışındaki bölgelere uzantılar gönderir. 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 (VIP, CCK) kullanırken, inhibitör olanlar GABA salgılar (Barr ve Kiernan, 1988).



Şekil 1. Beyin kabuğunda bulunan hücre tipleri (Barr ve Kiernan, 1988'den uyarlanarak hazırlanmıştır).

b. İğsi (Fusiform) Hücreler: En fazla VI. tabakada bulunurlar. Hücre gövdeleri iğ şeklinde olan bu tip hücrelerin iki sivri ucundan birer dendrit çıkar ve bunlar dallanır. Aksonlarının bir kısmı yüzeysel tabakalarda sonlanır. Geri kalanın çoğunluğu ise geri dönen dallar oluşturduktan sonra beyin kabuğunun dışına çıkar (Barr ve Kiernan, 1988).

c. Martinotti Hücreleri: Serebral korteksin tüm tabakalarında bulunan, kısa dendritlere sahip küçük multipolar nöronlardır. En önemli özellikleri aksonlarının doğrudan korteks yüzeyine doğru yönelmiş olmasıdır (Barr ve Kiernan, 1988).

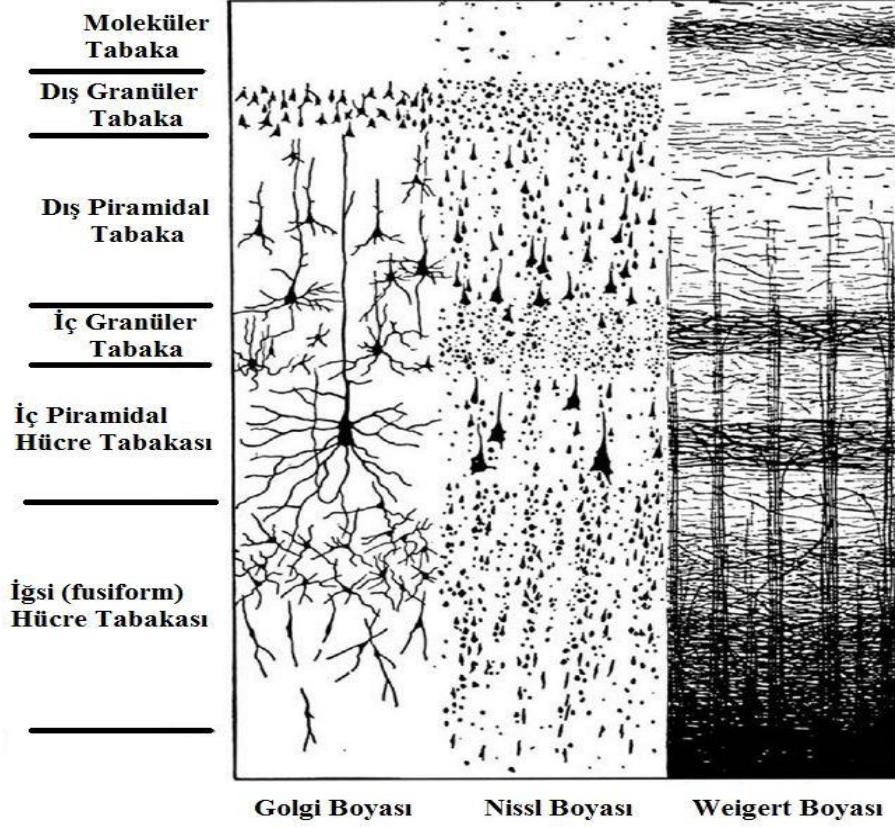
d. Cajal'in Horizontal hücreleri: Beyin kabuğunun en dış ve yüzeysel tabakasında bulunan ve bipolar olan bu tip hücrelerin aksonları, beyin kabuğu yüzeyine paralel olarak seyrederek (Barr ve Kiernan, 1988).

e. Piramidal Hücreler: Korteksin esas hücreleridir. Piramidal hücreler beyin kabuğunun ana giriş ve çıkış terminalleridir. Serebral kortekste en sık rastlanan olan piramidal hücreler, bir piramidi andıran hücre gövdeleri nedeniyle bu şekilde adlandırılmıştır. Piramidin tepe kısmı korteksin dış yüzeyine bakar ve bu kısımdan dendritler çıkar. Dendritler yatay veya dikey olarak seyredebilir. Piramidal hücrelerin taban kısmı ise korteks tabanına doğrudur ve bu kısımdan hücrenin aksonu çıkar. Akson beyin ve omuriliğin değişik bölgelerine uzanabilir (Gray ve ark., 1999). Aksonlar hücrenin taban kısmından çıkar ve çoğu zaman kollateral denenen yan dallara ayrılır. Piramidal hücrelerin gövdeleri genellikle yaklaşık 15 x 10µm - 120 x 90µm boyutlarında olabildiği gibi, motor kortekste dev piramidal hücreler (Betz hücreleri) çok daha büyük boyutlarda da olabilmektedir. Akson çapları da genellikle hücre gövdesi ile orantılıdır ve 1µm'den 20µm'ye kadar değişebilir (Verhaart, 1970).

2.1.2. Beyin Korteksinin Tabakaları

Korteks, filogenetik olarak arkikorteks, paleokorteks ve neokorteks olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Memelilerdeki beyin kabuğunun %90'ı "yeni kabuk" anlamına gelen "neokorteks" yapısındadır. Paleokorteks, telensefalonun bazal kısmının bazı sınırlı bölümlerini kaplar. Arkikorteks olarak bilinen "eski kabuk" ise memeli beyinde hipokampus bölgesinin yapısına verilen isimdir (Andrew, 1991).

Memeli neokorteksi 6 tabakalıdır (Şekil-2). Beyinde bölgeler arasında bazı farklar bulunsa da bu altı tabakalı yapı tüm korteks boyunca korunmaktadır. Beyin korteksinin kalınlığı değişik bölgelerde 1,3 mm ile 4,5 mm arasında değişir. Beyin korteksinin tabakaları, dış yüzeyden (pia materden) aşağı doğru şu şekilde sıralanır (Barr ve Kiernan, 1988; Ayyıldız, 1994).



Şekil 2. Golgi, Nissl ve Weigert metotlarıyla boyanmış kortikal dilimler (Gray, 1954'den uyarlanarak hazırlanmıştır)

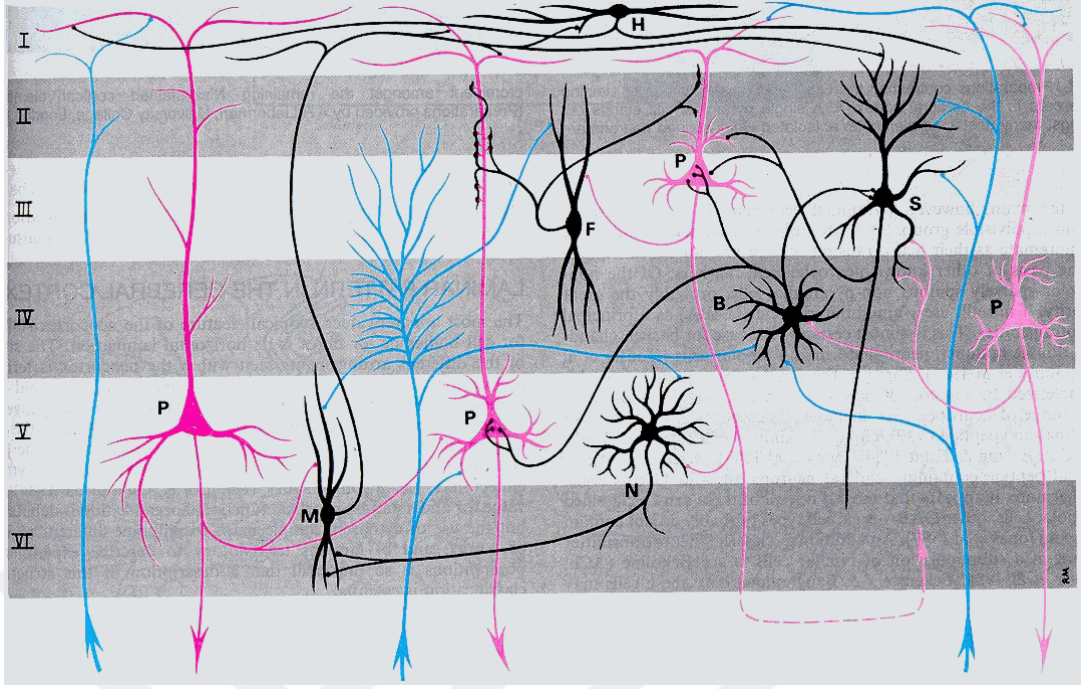
a. Moleküler tabaka: Pia mater'in altından itibaren başlayan bu tabakanın ortalama kalınlığı 250 µm kadardır. Hücreleri küçüktür ve diğer tabakalara göre daha gevşek bir düzenlenme gösterir. II, III ve IV. tabakalardaki piramidal hücrelerin dikey dendritleri ve bazı akson uçları bu tabakada sonlanır. 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; Ayyıldız, 1994).

b. Dış granüler tabaka: Moleküler tabakaya göre daha kalındır ve daha yoğun hücre içerir. Piramidal şeklinde hücrelerin dışında yıldız hücreleri de çoğunlukla bu tabakadadır. Bu bölgeden çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanır. Aksonlar hücrelerin taban bölümlerinden çıkar ve genellikle V. ve VI. tabakalarda sonlanır. Az da olsa bazı aksonlar beyin kabuğunu terk ederek ak maddeye geçebilir. IV. tabakada bulunan granüler hücrelerin ve bazı piramidal hücrelerin aksonları ile geriye dönen yan

dallar (recurrent collaterals) ve birleştirici lifler (asosiyasyon lifleri) bu tabakada sonlanır (Ayyıldız, 1994).

c. Dış piramidal tabaka: Dış granüler tabakanın devamı niteliğindedir. İki tabaka arasındaki en önemli fark dış piramidal 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. 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; Ayyıldız, 1994).

d. İç granüler tabaka: Bu tabaka küçük çaplı ve çok kutuplu hücrelerden oluşur. Bu hücrelere ‘granül hücreleri’ adı verilir. Aksonları kısadır ve çoğunlukla beyin kabuğu içinde sonlanır. Korteksin üst kısımlarına giden aksonlar I ve II. tabakalarda sonlanırken, alt kısımlara doğru gidenler V ve VI. tabakalarda sonlanır. Dendritleri aynı tabakada dallanarak dağılır. Bu tabakada bulunan bir diğer hücre tipi yıldızlı hücrelerdir ve onların dendritleri de aynı tabaka içinde dallanma gösterir. Aksonları ise III. tabakaya çıkarak burada sonlanır. Yıldızlı hücrelerin kısa olan aksonları V. ve VI. tabakalardaki hücrelerin bu tabakaya uzattığı dendritlerle sinaps yapar. 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; Ayyıldız, 1994).



Şekil 3. Beyin korteksinin tabakaları ve kortekste bulunan neokortikal nöronlar: Aferent lifler (mavi). Nöronlar (siyah). Piramidal hücreler (pembe). (Gray's anatomy, 2005)

- I. Moleküler tabaka horizontal hücre (H)
- II. Dış granüler tabaka yıldızsı hücre (S)
- III. Dış piramidal tabaka işsi hücre (F)
- IV. İç granüler tabaka sepet hücresi (B)
- V. İç (dev) piramidal hücre tabakası piramidal hücre (P)
- VI. İşsi (fusiform) hücre tabakası martinotti hücresi(M)

e. İç (dev) piramidal hücre tabakası: Bu tabaka esas olarak, Betz'in dev piramidal hücreleri de dahil olmak üzere büyük piramidal hücreleri içerdiğinden 'dev piramidal hücre tabakası' adıyla bilinir (Şekil-3). Tabaka içindeki tüm hücreler büyük değildir. Büyük piramidal hücrelerin dendritik dalları I. tabakaya kadar yükselerek orada geniş bir dallanma gösterir (Barr ve Kiernan, 1988). Hücrenin tabanından çıkan uzun akson, ya korteks altı merkezlere uzanır (projeksiyon) ya da aynı veya karşı taraf beyin korteksinde bulunan diğer merkezlere (asosiyasyon ve kommisural) gider. Omuriliğe inen liflerin çoğunluğu bu tabakadan çıkar ve bunların büyük bir bölümü de medulladaki piramis bölgesinden geçer (Coulter ve ark., 1976; Murray ve Coulter,

1981; Rapisarda ve ark., 1985). Bu aksonların oluşturduğu dönücü yan dallar (recurrent collaterals) geriye doğru dönüp II, II ve I. tabakalarda sonlanır. Korteksin ana çıkışı, V ve VI. tabakalarıdır. Piramidal yolu oluşturan aksonların hücreleri daha çok bu tabakada bulunur (Asanuma, 1973). Bu tabakada ayrıca yıldız ve Martinotti hücreleri de bulunmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988).

f. İğsi (fusiform) hücre tabakası: Hücrelerin iğ şeklinde olmasından dolayı bu ad verilir. Dendritler, hücrenin bir veya her iki ucundan da çıkarak hücreyi terk eder ve sonra dallanır. Bazıları hiç dallanmadan birinci tabakaya kadar uzanır. Diğerleri genellikle V. tabakaya geçmez. Akson çoğunlukla korteksi terk eder ve ayrılmadan önce dönücü yan dallar verir. Bu tabakanın içte kalan VIb kısmı ak madde ile kaynaşmış durumdadır (Marangoz, 1978). V ve VI. tabakalara intragranüler, I ve IV tabakalara ise supragranüler tabakalar denir. V ve VI. tabakalar, nöral tüpün germinal epitelinden göç eden ilk kortikal nöroblastlardan oluşmuştur. II, III ve IV. tabakaları oluşturmaya yönelik nöroblastlar intragranüler tabakaların içinden geçer (Barr ve Kiernan, 1988). Kortikal tabakaların her birinde bulunan en yoğun hücre tipi aksonları kortekste dallanan kısa aksonlu nöronlardır. Kısa aksonlu hücrelerin başlıcaları; Golgi Tip-II, Martinotti ve I. tabakada bulunan Cajal'in horizontal hücreleridir (Mountcastle ve Poggio, 1974).

2.2. Nöbet Ve Epilepsi

2.2.1. Nöbet

Beyin milyarlarca sinir hücresi, bu hücrelerin uzantıları ve sinir hücrelerini destekleyen destek dokularından oluşmuştur. Sinir hücreleri elektrik akımlarıyla çalışır. Her bir sinir hücresi elektrik akımı oluşturma ve bunları bir hücreden diğer bir hücreye iletebilme kabiliyetine sahiptir. Değişik bozukluklar sebebiyle sinir hücrelerinde anormal elektrik akımı deşarjları ya da elektrik fırtınaları oluşabilir. İşte bu anormal elektrik akımları nöbetlere neden olur. Epileptik nöbet, beyinde bir nöron grubunun aşırı deşarjı ve elektrofizyolojik anormalliği sonucunda oluşan klinik bir görünümdür. Bu klinik tablo bilinç düzeyinde değişiklik, motor, duyuşal, otonomik veya psişik olayları içeren ani ve geçici anormal fenomenleri kapsar. Nöbetler, refleks epilepsi olayları hariç önceden tahmin edilemez. Epileptik nöbetler istemsiz olaylar olduğundan, hastalar nöbetin başlangıcını ve bitişini kontrol edemezler. Nöbet, hastanın hayatı boyunca tek

bir nöbet olarak kalabileceği gibi, zaman içinde tekrarlayabilir de. Nöbetler genellikle müdahalesiz sona erer; sona ermez ise status epileptikus oluşur. Bu, hayatı tehdit eden bir durumdur. Nöbetin karşılığı olarak iktus (ictus) terimi de kullanılır. Bu nedenle, nöbet sonrasına postiktal periyot, nöbetler arası zamana da interiktal periyot denir (Okan, 2004).

2.2.2. Epilepsi

Günümüzde kullandığımız epilepsi sözcüğü eski Yunanca'da yakalamak, kavramak anlamlarına gelen 'epilambanein' kelimesinden türetilmiştir ve yalın anlamı yakalama, tutma demektir. Günlük dilimizde epilepsi karşılığı olarak kullandığımız 'yere serme' anlamına gelen 'sar'a' sözcüğü ise Arapça kökenlidir (Bora ve ark., 2008). Epilepsi; merkezi sinir sisteminde belirli bir işlevi olan nöron topluluğunun ani, anormal ve hipersenkron deşarjı olarak tanımlanır. Klinik olarak ise, ani başlayan, kendiliğinden sonlanabilen, yeniden meydana gelme eğilimi olan geçici beyin fonksiyonu hasarıdır. Hastalığın prevalansı, toplumda yaklaşık olarak %0,4-1 oranında görülmektedir (Bell ve Sander, 2001). Epilepsi nörolojik hastalıklar arasında çocukluk ve ergenlik çağında en sık, erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci hastalıktır. Bu hastalık eski çağlardan beri insanoğlu tarafından bilindiği için epilepsinin araştırmaları ve tedavisi 1850'lerden günümüze kadar gelişimini sürdürmüştür.

Epilepsi, spontan olarak tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbetler ise beyinde anormal, istemsiz ve ritmik nöronal deşarjlar sonucunda ortaya çıkan, zaman sınırlaması olan, ani ve geçici krizler halinde gelen olaylardır. Epilepsi için 'nöbet hastalığı' olarak bahsedilebilir ancak nöbetlerden epilepsi olarak bahsedilmesi doğru değildir. Nöbetler semptomdur; fakat epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır.

Epilepsi oluşum (epileptogenez) sürecinin altında yatan mekanizmalar çok iyi bilinmemekle birlikte bu konuda; belirli sinaps dışı olaylar, hücre kaybı, değişmiş reseptör yapımı, hücresel düzeyde anatomik değişiklikler, presinaptik sonlanmadaki aşırı uyarılma ve hatalı sinaptogenez gibi birçok mekanizma önerilmektedir (Avanzini ve Franceschetti, 2003; Avoli ve ark., 2005). Epileptogenez oluşumuyla ilgili moleküler mekanizmalar arasında GABA sentez ve yıkımındaki değişiklikler, hücresel GABA alımının inhibisyonu ve başta GABA_A reseptörü olmak üzere çeşitli aminoasit

reseptörlerinin modülasyonu ile ortaya çıkan değişiklikler yer alır (Wilson ve ark., 1992; Wendling ve ark., 2002; Avoli ve ark., 2005; Pitkanen ve ark., 2006). GABA beyindeki en önemli inhibitör nörotransmitterdir. Epilepsi odaklı doku örneklerinde GABA seviyesinin ve GABA sentezinde rol alan glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzim aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Glutamat ise ana eksitator nörotransmitterdir. Birçok epilepsi hayvan modelinde postsinaptik glutamaterjik reseptörlerin uyarılmasının hipereksitabilite oluşturduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak beyin dokusundaki nöbet aktivitesinin sürdürülmesi ve inhibisyonunda GABA ve glutamat sistemlerinin önemli rol oynadığı önerilmiştir.

Epilepsi tanısının konulabilmesi için epileptik nöbetler hem tekrarlanabilir olmalı hem de uzun süre devam etmelidir. İnme, kafa travmaları, beyindeki kanamalar, merkezi sinir sistemini etkileyen bazı enfeksiyonlar (menenjit, ansefalit, apse vb.), beyin damarlarındaki bazı yapısal bozukluklar, genetik faktörler, doğum travmaları ve tümörler belli başlı epilepsi nedenleri arasında bulunmaktadır. Vakaların neredeyse %70'inin altta yatan sebep bulunamamaktadır (Bruton, 1988; Ettinger, 1994).

Epilepsi teşhisi iki açıdan yapılmaktadır. Sıklıkla epileptik nöbetin tipi sınıflandırılır. Ya da daha ayrıntılı ve tanımlayıcı olarak epilepsi ve epileptik sendromlar kategorize edilir. Günümüzde en geçerli sınıflandırma, Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliğinin (ILAE) epileptik nöbetlerin klinik ve elektroensefalografik sınıflamasıdır.

A. Epilepsinin sınıflandırılması

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği'nin (International League Against Epilepsy, ILAE) 1981 yılında yayınladığı ve hala kullanılmakta olan sınıflandırma sistemine göre epileptik nöbetler temelde parsiyel (fokal) ve jeneralize olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Bu ayrım önemlidir, çünkü nöbet tipleri farklı semptomlarla seyrederek ve farklı tedavilere cevap verir. Nöbetler temelde, nöbet esnasındaki semptomlara göre sınıflandırılır.

I- ILAE'ye Göre Epileptik Nöbetlerin Sınıflandırılması

1) Parsiyel (fokal) nöbetler: Beynin belli bir bölgesindeki tek bir odaktan kaynaklandığı için tam bir bilinç kaybı görülmez. Ancak bazen, jeneralize olarak yayılabilir. Yani bazı hastalarda karşı hemisfer de etkilenebilir.

Parsiyel nöbetler üçe ayrılır:

a) Basit parsiyel nöbetler: Beynin sınırlı ufak bir bölgesinde meydana geldiğinden bu tip nöbetlerde bilinç değişikliği yoktur. Frontal lobun sağ tarafında, özellikle motor kortekste meydana gelen nöbetler, klonik el hareketlerine neden olur. Oksipital lobun özellikle görme korteksinde meydana gelen nöbetler, parlak renk ve şekil gibi başlıca görsel fenomenlere sebep olur. Temporal lobun unkusunda (çengelinde) meydana gelen nöbet durumu, genellikle yanmış kauçuk gibi nahoş bir koku tarzında olfaktor duyarlılığa neden olur. Hastaların bir nöbeti önceden hissetme deneyimi olarak tanımladıkları aura, sadece bir basit parsiyel nöbettir. Auranın ortak belirtileri arasında epigastrik duyular, komik hisler, durulanma, temizlenme, çarpıntı, bulantı veya baş dönmesi ve temporal loptan kaynaklanan tanımlanamayan viseral septomlar sayılabilir (Shneker ve Fountain, 2003).

b) Kompleks parsiyel nöbetler: Bu nöbetlerde hastanın bilinci kaybolmaz ancak bilincinde bir değişiklik meydana gelir. Hasta uyanıktır ve boş bakar, fakat dışarıdan uyarılara cevap vermez. Kompleks parsiyel nöbetler beynin herhangi bir yerinde oluşabilir ancak genellikle temporal lobda, daha sonra da frontal lobda meydana gelir. Bu nöbetlere dudak şapırdatma, çiğneme, yutma ve yutkunma gibi oral hareketler veya okşama, ovalama ve el sıkma gibi tekrarlanan amaçsız hareketler eşlik edebilir. Kompleks parsiyel nöbetler tüm yaş gruplarında görülür ve toplumda oldukça yaygındır (Shneker ve Fountain, 2003).

c) Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler: Basit parsiyel nöbet jeneralize nöbete, kompleks parsiyel nöbet jeneralize nöbete ya da basit parsiyel nöbet kompleks parsiyel nöbete ve ardından jeneralize nöbete dönüşebilir.

2) Jeneralize nöbetler: Bu nöbetler tüm kortekste aynı anda başlar. Bilinci sağlayan kortikal nöronlar normal görevlerini yerine getiremediğinden bilinç kaybı gözlenir. Bazı jeneralize nöbetlerde, örneğin miyoklonik nöbetlerde, herhangi bir bilinç kaybı olup

olmadığını saptamak zordur. Ancak bir nöbet süresince elde edilen EEG, jeneralize nöbetlerin doğrulanmasına katkı sağlayabilir.

a) Absans nöbetler: Belirgin bir motor belirti olmaksızın kısa süreli jeneralize nöbetler absans nöbetler (petit-mal) olarak isimlendirilir. Petit mal nöbetin en önemli özelliği kısa süreli (3–30 saniye) ve geçici bilinç kaybı görülmesidir. Nöbetin geldiği an, kişinin ifadesinde veya devam eden hareketlerinde bir boşluk görülür. Hasta çoğu zaman bu boşluğun farkında olmaz, ancak olayın şahitleri, konuşma veya hareketin kısa bir süre kesildiğini anlarlar. EEG’de iyi şekillenmiş, yüksek amplitütlü, 3 Hz’lik diken dalga aktivitesi görülür.

b) Jeneralize tonik-klonik nöbetler: Grand-mal epilepsi olarak da bilinir. Bu tip nöbette önce tonik faz, ardından klonik faz görülür. Tonik faz, ani bilinç kaybı ve kas kasılması sonucu düşme ve travma ile birlikte görülebilmektedir. Tonik fazda önce aksiyal fleksiyon, ardından eksitansiyon olur. Sonrasında, jeneralize olan jerklerle klonik nöbet başlar. Bu safhada düzensiz nefes alma ve bol miktarda tükürük salgılanması görülür. Dilin ısırılması ve idrarın tutulamaması, jeneralize tonik-klonik nöbetlerde görülen yaygın durumlardır. Bu nöbetler 2-3 dakika sürer ve ardından en az birkaç dakika daha konfüzyon veya tamamen yanıtızlığın olduğu bir periyot görülür.

c) Klonik nöbetler: Bu nöbetler jeneralize tonik-klonik nöbetlerin klonik evresini kapsar. Tekrar eden ritmik jerkler olarak karakterize edilir.

d) Tonik nöbetler: Jeneralize tonik-klonik nöbetlerin tonik kısmını oluşturur. Tipik olarak midriyazis ve yukarı ya da yana doğru göz kayması ile birliktedir. Sert, musküler spazmlar 30 saniye veya daha az sürer (Gurnett ve Dodson, 2009).

e) Miyoklonik nöbetler: Kısa nöbetlerdir. Musküler jerklere benzer. Jerk, santral sinir sisteminin birçok alanından kaynaklanabilen ani, kısa, istemsiz bir harekettir. En yaygın belirtisi, iki taraflı el veya kol hareketleridir.

f) Atonik nöbetler: Ani kas tonusunun ardından yere kontrolsüz bir biçimde düşme veya yığılma, bu nöbetlerin tipik özelliklerindedir.

g) Atipik absans nöbetleri: Absans nöbetlerine göre daha uzun sürer ve azalmış tonik aktivite ile birliktedir.

h) İnfantil spazm: Gövdenin ileri doğru fleksiyonu ve her iki kolun ekstansiyonu gibi belirtileri bulunmaktadır. Adından da anlaşılacağı gibi küçük çocuklarda görülür (Shneker ve Fountain, 2003).

II- ILEA'ya Göre Epilepsi ve Epilepsi Sendromlarının Sınıflandırılması

ILEA sisteminde epilepsinin sınıflandırılması, lezyonun konumu (lokal veya genel) ve şüphelenilen sebep (idiyopatik, semptomatik veya kriptojenik) olmak üzere iki ayırt edici özelliğe bağlıdır (Commission, 1989). Lokal epilepsi fokal bir hastalık sebebiyle meydana gelirken, jeneralize epilepsi tüm beyni etkileyen bir hastalık sebebiyle meydana gelir.

a) İdiyopatik Epilepsiler: Bazı epilepsiler sebebi bilinmediği için idiyopatik olarak adlandırılır. Son yıllarda genetik ve moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler bu epilepsilerin, genetik olarak belirlenen nörotransmisyon anomalilerinden kaynaklandığını göstermektedir. Tüm epilepsi nöbetlerinin yaklaşık %60'ı idiyopatiktir.

b) Semptomatik Epilepsiler: Semptomatik epilepsi, bilinen yapısal bir hastalığın belirtisi olarak ortaya çıkar. Tümör, malformasyon ve travma gibi yapısal bozukluklar, genellikle görüntüleme teknikleri ile ortaya çıkar.

c) Kriptojenik Epilepsiler: Kriptojenik epilepsilerin yapısal bir temeli olduğu düşünülmesine rağmen gösterilebilen yapısal bir bozukluk yoktur ve sebebi bilinmemektedir. Bazı durumlarda yapısal bir beyin bozukluğu, mental retardasyon veya hemiparezis gibi nörolojik belirtilerinin bulunması nedeniyle kolayca anlaşılır. Bilgisayarlı tomografi (CT) taramalarında saptanamayan lezyonlar yüksek çözünürlüklü manyetik rezonans görüntüleme (MRI) taramalarıyla tespit edilebilir. Bu sayede birçok kriptojenik epilepsi türü, semptomatik epilepsi içerisine dahil olmuştur (Shneker ve Fountain, 2003).

B. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsinin hem olası mekanizmasını aydınlatmak hem de bu hastalığa karşı daha etkili ilaçlar geliştirmek amacıyla çok çeşitli deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir. Deneysel epilepsi modellerinde oldukça değişik yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında, epilepsi oluşturucu (konvulsan) özelliği bilinen maddelerin direkt olarak beyne veya vücut boşluklarına verilmeleri sonrasında oluşturulan epileptik nöbetlerin mekanizmaları araştırılmaktadır.

İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır (Lösher ve Schmidt, 1994):

- 1- Spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olmalıdır.
- 2- Nöbetler insanda görülen epilepsiye benzer olmalıdır.
- 3- Epilepsi modelindeki EEG kayıtları, ilgili epilepsi çeşidindeki benzemelidir.
- 4- İlaçların etkisini, akut veya kronik olarak test edebilmek için nöbetlerin frekansı yeterli seviyede olmalıdır.
- 5- Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzer olmalıdır.
- 6- Antiepileptiklerin, etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, ilgili nöbeti insanda önleyecek seviyede olmalıdır.

Deneyisel epilepsi modelleri şu şekilde sınıflandırılabilir:

a) Basit Parsiyel Epilepsinin Akut Modelleri

- * Yüzeysel epileptik madde uygulamaları: Penisilin (Walker ve ark., 1946), bikukullin (Campbell ve Holmes, 1984), striknin (Fisher, 1989), pikrotoksin (Usunoff ve ark., 1969), kolinerjik (Ferguson ve Jasper, 1971) ve antikolinerjik maddeler (Daniels ve Spehlmann, 1973; Tan ve ark., 1978) akut fokal epilepsi oluşturmak için kortekse uygulanmaktadır.
- * GABA kesilmesi (Brailowsky ve ark., 1987; Brailowsky ve ark., 1988)
- * Akut elektriksel uyarı (Fisher, 1989)
- * Neokorteks ve hipokampus dilimleri (Schwartzkroin ve ark., 1983; McCormick ve ark., 1985)

b) Basit Parsiyel Epilepsinin Kronik Modelleri

- * Beyin kabuğuna metal uygulanması: Alüminyum, kobalt, nikel (Kopeloff, 1960), krom, kalay, tungsten, bizmut, kadmiyum, titanyum, demir, civa, tantal (Chusid ve Kopeloff, 1962; Willmore ve ark., 1978), berilyum ve kurşun, basit parsiyel kronik epilepsi oluşturmak için yüzeysel olarak beyne verilen metallerdir.
- * Beynin belli bir bölgesi soğutularak fokal epilepsi oluşturulabilmektedir.
- * Sıcaklık modeli (Hanna ve Stalmaster, 1973)
- * Sistemik fokal model (Remler ve Marcussen, 1986): Beyin dokusunun bir bölümüne ışının verilmesi yoluyla oluşturulabilir.

c) Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri

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

- * Kainik asit modeli (Faingold ve Browning, 1987)
- * Tetanoz toksini modeli (Carrea ve Lanari, 1962)
- * Prepriform korteks modeli: Bu alana bikukullin, kainik asit, glutamat, aspartat ve NMDA verilmesiyle çift taraflı klonik motor nöbetler oluşturulabilir (Piredda ve Gale, 1986).
- * Tutuşma (kindling) modeli (Alonso-Deflorida ve Delgado, 1958)
- * Beyin dilimleri modeli (Wong ve ark., 1984)

d) Petit Mal Epilepsi Modelleri

- * Talamusun uyarılması (Hunter ve Jasper, 1949)
- * Çift taraflı odak modeli (Fisher ve Prince, 1977): Beyin korteksinin her iki tarafına yaygın olarak konvulsan maddeler verilerek oluşturulmaktadır.
- * Sistemik penisilin modeli (Prince ve Farrell, 1969)
- * Gama-Hidroksi Bütirat (GHB) modeli (Snead, 1988)
- * Opioid peptid modeli (Snead ve Bearden, 1980)
- * Genetik model: Wistar ve Sprague-Dawley sıçanlarının yaklaşık %30 kadarı spontan olarak epilepsi nöbetleri geçirmeye genetik olarak yatkınlık göstermektedir (Coenen ve Van Luijtelaar, 1987).

e) Grand Mal (Jeneralize Tonik Klonik) Epilepsi Modelleri

Büyük nöbet diye adlandırılan bu epilepside, EEG frekansı 10 Hz kadar olan, aynı ana rastlayan bilateral ritmik deşarjlar ve miyoklonik kasılmalar gözlenir.

- * Genetik modeller: Işığa duyarlı babun modeli, farelerde sesle oluşturulan epilepsi modeli, paytak fare modeli, epileptik fare (E1) modeli, genetik olarak epilepsiye yatkın sıçan modeli
- * Maksimal elektroşok (MES) modeli
- * Sistemik konvulsanlarla oluşturulan modeller: Pentilentetrazol, penisilin, begmerid, bikukulin, pikrotoksin, homosistin ve eksitator aminoasitler verilerek oluşturulur.
- * Metabolik bozukluklar sonucu oluşan epilepsi modelleri: Hipoksi, hipoglisemi, üremi, ilaç kesilmesi ve yüksek sıcaklık gibi durumlarda meydana gelen epileptik nöbetlerdir.

f) Status Epileptikus Modelleri

- * Lityum pilokarpin modeli (Laird, 1989)
- * Kobalt homosistin modeli (Freed, 1985)
- * Elektriksel modeller (Vicedomini ve Nadler, 1987)

2.2.3. Elektroensefalografi (EEG) ve Elektrokortikografi (ECoG)

Epilepsi ile ilgi çalışmalarda EEG ve ECoG en çok kullanılan yöntemlerdir. EEG, kortikal nöronlardaki çok sayıda inhibitör ve eksitatör sinaptik potansiyelin toplamı olan spontan elektriksel aktivitelerin saçlı deriden kaydedilmesi olayıdır. Elde edilen kayıtlara da elektroensefalografi denir. Beyin korteksinin yüzeyinden makro elektrotlarla alınan kayıtlara ise elektrokortikografi (ECoG) denir. Beynin elektrik sinyalini ilk defa Richard Caton isimli İngiliz bilgin kaydetmiştir. Caton 1874'te ilk EEG dalgalarını, tavşan ve maymunların kafatasına veya direkt olarak beynine koyduğu elektrotlardan elde etmiştir. 1929 yılında bu metodu insana uygulayan Viyanalı Hans Berger, ilk sistematik insan EEG verilerini tanımlamış ve seri halinde sunmuştur (Aydemir ve Kayıkçıoğlu, 2009).

Yapılan araştırmalar kısa süreli olan aksiyon potansiyellerinin EEG'ye direkt etkisinin çok az olduğunu gösterir. Beyin dalgaları EPSP ve IPSP'lerin cebirsel toplamı sonucu arta kalan sinaptik aktivitenin senkronizasyonu yoluyla oluşur ve yüzeydeki kaydedici elektrot yardımıyla yazdırılır. Korteks yüzeyine yakın nöronal yapıların EPSP'leri EEG dalgalarının negatif kısımlarını, derin kortikal yapıların IPSP'leri ise EEG dalgalarının pozitif kısımlarını oluşturur. Ayrıca, yüzeyel IPSP'ler EEG dalgalarının pozitif kısımlarının, derindekiler ise negatif kısımlarının oluşumuna katkıda bulunur (Creutzfeldt ve ark., 1966).

EEG insanda uyku-uyanıklık, rüya ve epilepsi gibi olaylar üzerinde araştırmalarda ve nörolojik hastalıkların teşhisinde kullanılabildiği gibi epilepside de kullanılır ve burada EEG'nin amacı tanının desteklenmesi, sınıflanması, fokal beyin lezyonunun araştırılması ve epilepsi hastalarının izlenmesidir. Buna karşın tek başına EEG bulgusu epilepsinin tanısı için yeterli değildir. Çekilmiş olan EEG'lerin değerlendirilmesi görsel ve subjektif olduğu için değerlendiren kişinin tecrübesi ve bilgisi önem taşımaktadır.

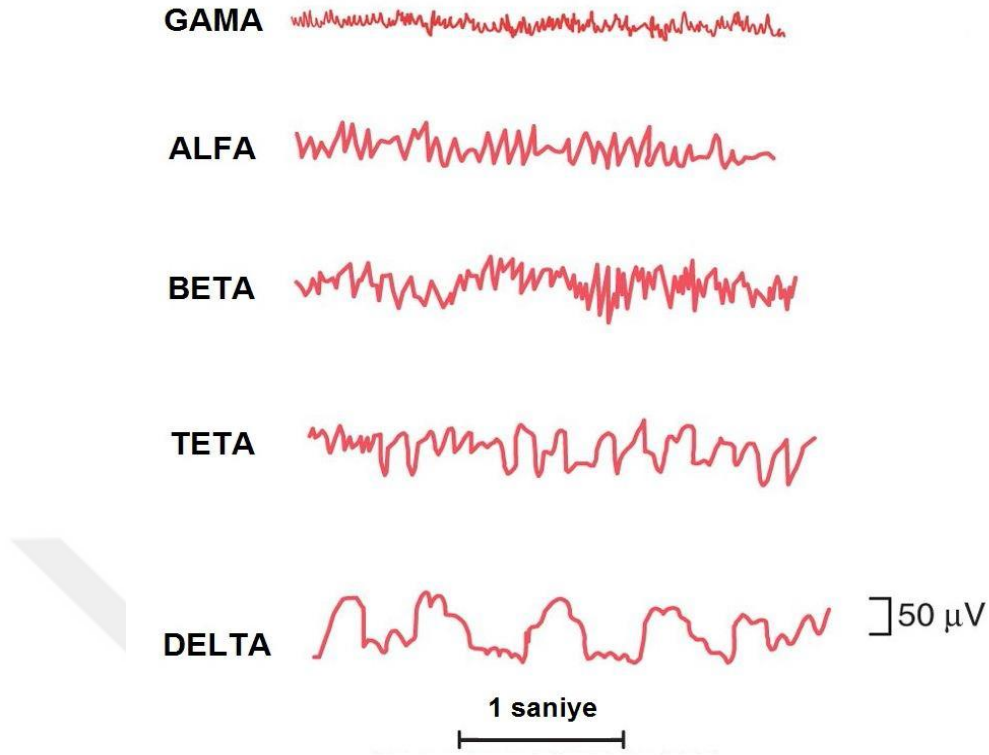
EEG'nin epileptik olgunun değerlendirilmesine başlıca katkılarını 3 ana maddede özetlemek mümkündür:

- Klinik olarak konulmuş tanının desteklenmesi ve doğru tanı konmasına yardım etmesi
- Nöbet kaydı ile ya da dolaylı bazı bulgularla nöbet ve sendrom tipinin belirlenmesi
- Odağın lokalizasyonu hakkında bilgi edinilmesi

EEG kaydı için 2 tip elektrot kullanılır. Bunlardan biri aktif elektrot, diğeri ise referans (indifferent) elektrot adını alır. Aktif elektrot kayıt alınacak yere yerleştirilir. Referans elektrot ise aktif elektrottan uzak ve potansiyeli sıfır kabul edilen bir alana (kulak memesi) konulur. Klinikte EEG yapılırken beyinde birçok yere elektrot yerleştirilir. Bu kayıta ya aktif elektrot ile referans elektrot arasındaki potansiyel fark ölçülür (monopolar kayıt) ya da 2 aktif elektrot arasındaki potansiyel fark yazdırılır (bipolar elektrot).

A. Elektroensefalografide Beyin Dalgaları

Normal bir insan beyinde EEG kaydı yapıldığında potansiyellerin frekansı genellikle 1 ile 30 Hz; yükseklikleri ise 20-100 mikrovolt civarındadır. Kafatası ve deri, EEG dalgalarının amplitüdünü azaltıcı bir etki göstermektedir. EEG dalgalarının hem frekansı hem de amplitüdü karmaşık bir yapıdadır ve çeşitli şartlarda değişebilmektedir. Bununla birlikte EEG dalgaları frekanslarına göre beş gruba ayrılmaktadır (Schmidt, 1989; Miller ve ark., 1992; Timofeeva ve Gordon, 2001) (şekil-4).



Şekil 4. EEG dalgaları (Hall, 2011'den uyarlanarak hazırlanmıştır)

Tablo 1. Beyinden kaydedilen EEG dalgaları ve dalga frekanslar

Dalga	Frekans (Hz)
Gama	30-50
Alfa	13-30
Beta	8-13
Teta	4 - 8
Delta	0,5-4

a. **Gama dalgaları:** 30 Hz ve üzeri dalgalar bu sınıfa girmektedir (Tablo-1). Bilişsel işlevlerde ve duyuşsal bilginin entegrasyonunda 40 Hz'lik aktivitenin önemli olduğu ortaya konmuştur. Yüksek miktarda gama beyin dalgaları ile belleğin canlandığı, bu dalgaların geçmişteki olayları hatırlama yeteneği ile ilişkili olduğu bulunmuştur. 40 Hz gama frekansının, iyi bir hafızanın göstergesi olduğu

düşünülmektedir. Sağlıklı ve iyi düşünen bir bellek için, 40 Hz gama beyin dalgaları gerekir. (Başar ve ark., 2001).

b. Alfa Dalgaları: Frekansı 8-13 Hz, yüksekliği 20-60 μ V aralığındaki dalgalardır. Normal bir insanda, sessiz ve sakin bir odada gözler kapalı, zihnen ve bedenen tam istirahatte iken kaydedilir. Gözler açıldığında, duyuşsal uyarılar alındığında veya zihin herhangi bir problemle meşgul olduğunda alfa ritmi kaybolur. Alfa bandının oluşumunda beyin sapı, ön beyin ve talamusun çeşitli bölgelerinin katkısı vardır (Timofeeva ve Gordon, 2001).

c. Beta Dalgaları: Beta dalgası 14-30 Hz frekansında olan, yaklaşık 2-20 μ V amplitüde sahip olan düzensiz bir dalgadır. Normalde insanda frontal bölgede daha belirgindir. Özellikle uyarılar ve aşırı zihin aktivitesi olduğunda daha yoğundur. Ayrıca bu dalgalar, uyku halinde azalma ve zihinsel rahatlık halinin bozulması durumlarında da ortaya çıkar.

d. Teta Dalgaları: Teta dalgası, frekansı 4-9 Hz, yüksekliği 20-100 μ V aralığındaki dalgalardır. Yetişkinlerde uyku haricinde çok fazla görülmez. Normal erişkinlerde uykunun 1. ve 2. evresinde görülür. Çocuklarda görülmesi normaldir.

e. Delta Dalgaları: Amplitüdü en yüksek, frekansı en düşük beyin dalgasıdır. Delta dalgaları 0,5-3,5 Hz ve 20-200 μ V aralığındadır. Uykunun 3. ve 4. evrelerinde görülür. Eğer uyanık bir insanda meydana gelirse 'tümör' gibi beyin anormalliklerine işaret eder.

2.3. Kanabinoidler

Esrar (Marihuana), kenevir bitkisinin *Cannabis sativa* / *Cannabis indica* türlerinin çiçeklerinden ve tohum yataklarından elde edilir, vücutta kullanıldığında sarhoşluk ve keyif verir. Esrarın kullanımı insanlık tarihi kadar eskidir. Tedavi edici özelliklerine Çin farmakopesinde milattan önce yaklaşık 200'lü yıllarda değinilmesine rağmen, esrar kökenli kimyasal etken maddelerin (kannabinoidlerin) yapılarının ve farmakolojik etki mekanizmalarının aydınlatılmasına özellikle son 100 yılda yapılan yoğun çalışmalar açıklık getirmiştir. Bunun sebebi ise kanabinoid sistemin santral sinir sistemi ve nörofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip olmasıdır. Gözlenen ilk tedavi edici yararları anestezi, antihipertansif, göz basıncını düşürücü (glokom), ve antiemetik etkileri olarak bilinmesine rağmen yıllarca altında yatan fizyolojik ve moleküler mekanizmaları bilinmiyordu.

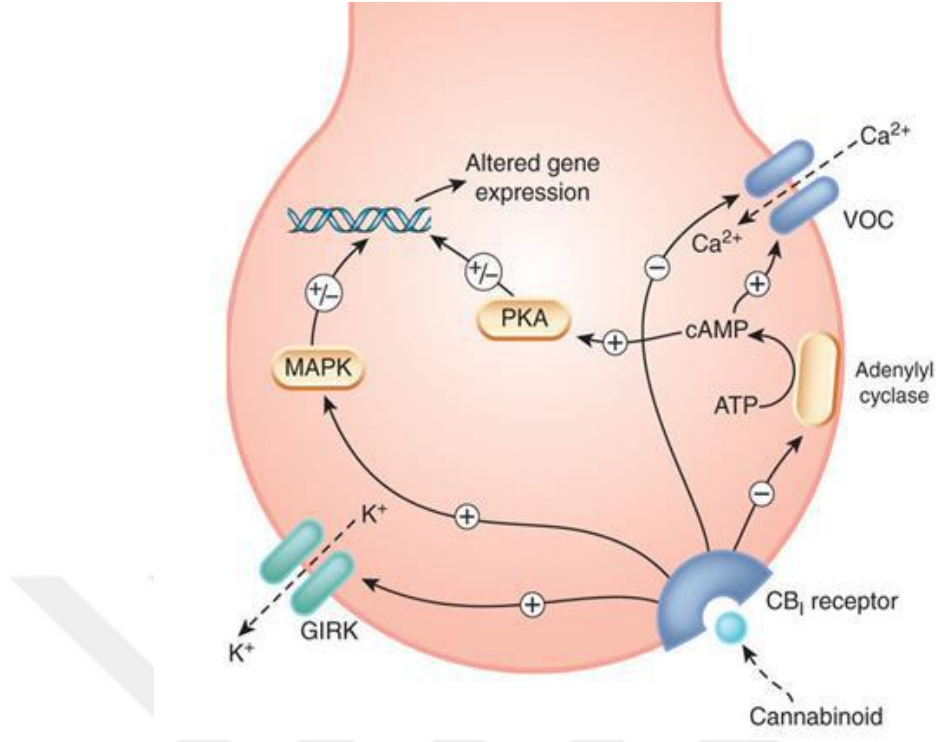
Tablo 2. Kanabinoid sistemin tarihçesi (Plutzky ve Wood, 2006)

<u>YIL</u>	<u>BULGULAR</u>
1964	Cannabis sativa'nın aktif yapısı Δ^9 -THC izole edildi.
1988	Sıçan beyinlerinde, kanabinoid bağlanma sisteminin yeri keşfedildi.
1990	Sıçanlarda G proteinle bağlantılı kanabinoid reseptör tip 1 (CB1) klonlandı.
1991	İnsan CB1 reseptörü klonlandı.
1992	İlk endojen kanabinoid olan anandamid keşfedildi.
1993	Periferdeki CB2 reseptörü klonlandı.

2.3.1. Kanabinoid Reseptörleri

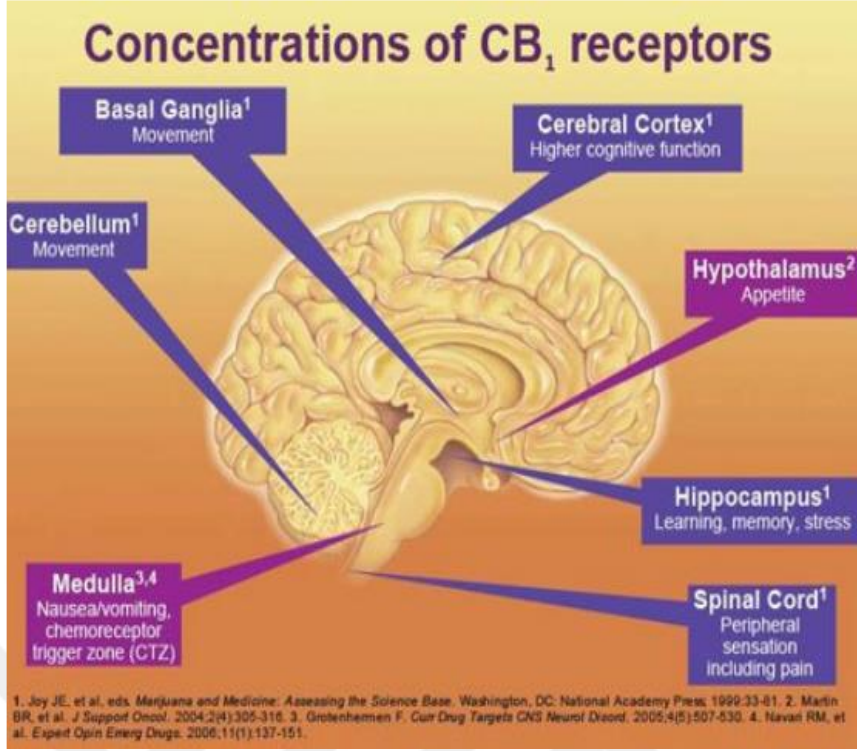
Kanabinoid reseptörleri hipokampusun piramidal hücre tabakaları, bazal gangliyon, serebellumdaki moleküler tabaka, nükleus accumbens, amigdala, prefrontal korteks, singulat, periakvadektal gri madde, dorsal boynuz ve omurilikteki lamina X gibi bazı beyin bölgelerinde lokalizedir (Herkenham ve ark., 1991).

CB1 ve CB2 olarak bilinen kanabinoid reseptörlerinin 2 alt tipi belirlenmiştir (Tablo-2). CB2 reseptörü primer olarak immün hücrelerde (Pertwee, 1997; Axelrod and Felder, 1998) eksprese edilirken, CB1 reseptörü santral sinir sisteminde yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilir. Kanabinoid reseptörleri G proteinine bağlı reseptör ailesinin tipik üyesidir. CB1 reseptörleri G_i/o ile bağlantılı olarak adenilat siklazı ve voltaj kapılı kalsiyum kanallarını inhibe eder ve G proteine kenetli içe yönelik rektifiye potasyum kanallarını (GIRK) aktive ederek hiperpolarizasyona sebep olur (Şekil-5).



Şekil 5. Kanabinoidlerin hüresel faaliyetleri (Rang ve ark., 2011)

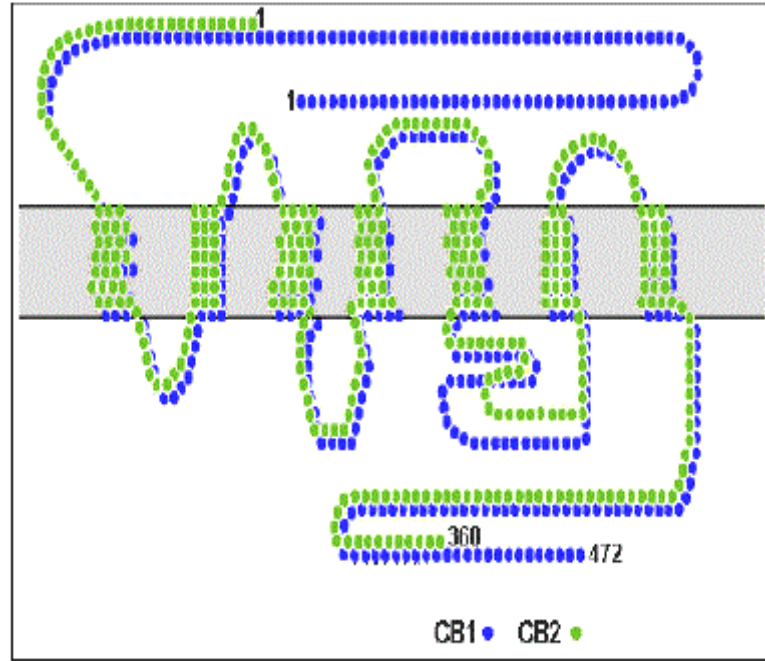
CB1 reseptörünün beynin hangi bölümlerinde var olduğu insan ve hayvan deneyleriyle açıkça ortaya konulmaktadır (Şekil-6) (Mailleux ve Vanderhaeghen, 1992; Glass ve ark., 1997). CB1 reseptörü memeli beyninde G proteinle ilişkili en bol bulunan bir reseptördür (Wallace ve ark., 2002) ve dağılımı homojen değildir; hipokampusta (kanabinoidlerin hafızada etkileriyle ilgili olarak), hipotalamusta (vücut ısısı ve iştahın kontrolünde önemli), substantia nigra, serebellumda (koordinasyon kaybı ile ilgili), mesolimbik dopamin yolları ve serebral korteksin ilgili alanlarında yoğun olarak bulunmaktadır (Herkenham ve ark., 1991).



Şekil 6. CB1 reseptörlerin beyinde dağılımı (Joy ve ark., 1999)

CB2 reseptörleri, CB1 reseptörlerinden farklı olarak çoğunlukla periferde bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda ana etkilerinin bağışıklık sistemi üzerine olduğu bilinmektedir (Herkenham ve ark., 1990). CB2 reseptörü sadece %45 oranında CB1 reseptörüyle aminoasit benzerliği gösterir (Şekil-7). CB2, esas olarak lenfoid dokuda (dalak, tonsiller, timus, dolaşımda lenfosit, monosit, doku mast hücrelerinde) bulunur. Ayrıca enteresan bir biçimde CB2 reseptörleri santral sinir sisteminde mikrogliya-immün hücrelerinde de saptanmıştır ve bu lokalizasyon esrarın immün fonksiyonlardaki inhibitör etkisinin sorumlusu olabilir.

CB1 reseptörü gibi, CB2 reseptörü de G proteiniyle bağlı reseptördür. CB2 reseptörü Gi/o proteininin alt birimi üzerinden adenilat siklazı inhibe eder ve sonuçta yine protein kinaz inhibe olur. CB1 reseptörlerinden farklı olarak CB2 reseptörleri Q tipi Ca²⁺ kanallarını etkileyemez (Felder ve ark., 1995).

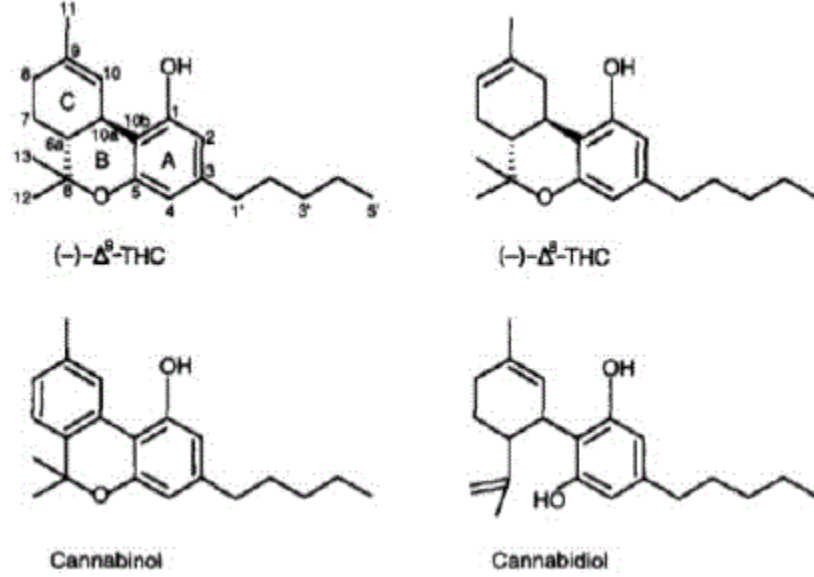


Şekil 7. CB1 ve CB2 reseptörlerinin yapısı

2.3.2. Fitokanabinoidler

Kanabinoidler üç farklı gruptan (fitokanabinoid, endokanabinoid ve sentetik kanabinoidler) oluşan heterojen bileşiklerdir (Ağar, 2015). Esrarla ilgili araştırmalar bitkisel kaynaklı olan fitokanabinoidlerin izolasyonları ve kimyasal yapılarının aydınlatılmasıyla başlamıştır. Raphael Mechoulam ve ark. şimdiye kadar en az 66 farklı fitokanabinoidin keşfine öncülük etti (Mechoulam and Hanus, 2000; Pertwee, 2006). Bu buluşlara ek olarak kenevir bileşenleri psikotropik ve motor etkileri açısından insan ve hayvan modellerinde (fare, sıçan, tavşan ve köpek) test edildi. Fitokanabinoidler bitkisel kaynaklı olduklarından memelilerde üretilmez. Tüm fitokanabinoidler arasında THC (Tetrahidrokanabinol)'nin en etkili olduğu ve THC'ler arasında da Δ^9 -THC'nin (Delta 9-Tetrahidrokanabinol) anksiyete, panik atak, öfori, disfori ve bozulmuş bellek gibi birçok etkiden sorumlu olduğu görülmektedir (Haagen-Smit ve ark., 1940; Loewe, 1946; Howlett ve ark., 2004). Δ^9 -THC, bütün fitokanabinoidler arasında en güçlü ve en etkili psikomotor bileşiktir ve yüksek oranda lipofilik bir moleküldür (Şekil-8). Lipofilik özelliğinden dolayı kan-beyin bariyerini kolaylıkla geçer ve özgül membran reseptörlerine bağlanır. Bu sayede santral etkilerin oluşmasını sağlar. Tüm bunların dışında Δ^9 -THC ile ilgili diğer önemli olay ise hem cAMP birikmesini inhibe ettiğinin

keşfedilmesi (Howlett ve Fleming, 1984) hem de beyinde spesifik kanabinoid bağlanma alanlarının olduğunun tanımlanması olmuştur (Devane ve ark., 1988).



Şekil 8. Kananinoid bileşenleri (Pertwee, 1997)

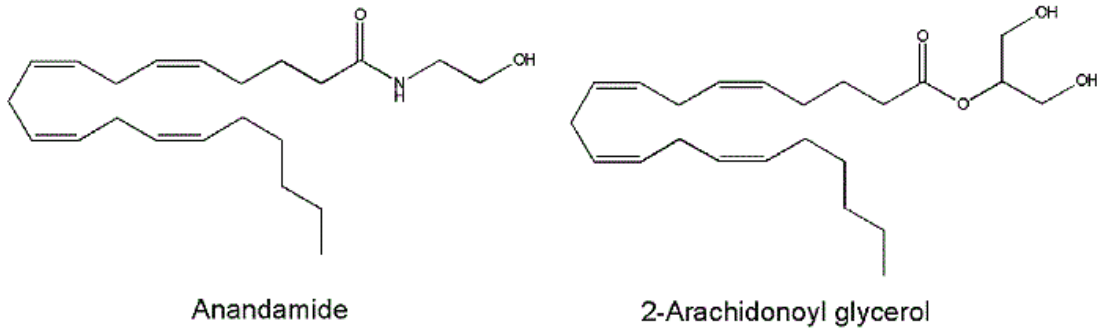
2.3.3. Endokanabinoidler

Kanabinoid reseptörlerinin keşfedilmesiyle vücutta bunların endojen ligandlarının var olabileceği fikri akıllara gelmiştir ki bu da endokanabinoidlerdir. Endokanabinoidler kanabinoid reseptörlerine bağlanıp onları aktive etme yeteneğine sahip bileşiklerdir.

Kanabinoid reseptörlerinin endojen ligandlarının araştırılmasıyla ilk olarak 1992 yılında domuz beyinde endojen bir lipid olan araşidoniletanolamin (AEA) keşfedilmiş ve CB1'e bağlandığı gösterilmiştir (Devane ve ark., 1992). AEA çok düşük afiniteyle CB2 reseptöre de bağlanıp antagonist gibi davranabilir (Gonsiorek ve ark., 2000). Bu endojen lipide Sanskritçe'de keyif ve mutluluk verici anlamına gelen 'ananda' ile kimyasal yapısındaki 'amid'in birleşimi olarak Anandamid (AEA) ismi verilmiştir (Şekil-9). Daha sonra 1995'te yine bir araşidonik asit türevi olan ester yapısındaki 2-araşidonil gliserol (2-AG) keşfedilmiştir. 2-AG ise CB1 reseptöre daha düşük afiniteyle bağlanmasına rağmen beyin ve diğer organlardaki oranının anandamide göre çok daha fazla olması ve reseptör üzerindeki etkinliğinin yüksek olmasından dolayı

hem CB1, hem de CB2 tam agonistidir (Sugiura ve ark., 1996. Anandamid hem santral hem de periferel kanabinoid reseptörlere yüksek afiniteyle bağlanarak hipotermi, analjezi, bellek bozukluğu, immobilité, LTP inhibisyonu gibi çeşitli kanabimimetik aktiviteler sergilemiştir. (Mechoulam ve ark., 1998; Piomelli ve ark., 1998; Di Marzo ve ark., 2002).

Moleküler, anatomik ve fizyolojik kanıtlar endokanabinoid sistemin fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerle ilgili olduğunu onaylamaktadır (Piomelli, 2003). Endokanabinoid sistemin en büyük fizyolojik rolü beynin her tarafındaki çeşitli sinaps tiplerinden nörotransmitter salınımının düzenlemesidir (Freund ve ark., 2003). Yapılan çalışmalarda endokanabinoid sistemin; ağrının azaltılması (Pertwee, 2001), iştahın düzenlenmesi (Di Marzo ve ark., 2001), psikomotor kontrol (Giuffrida ve Piomelli, 2000) ve nöronları koruma (Marsicano ve ark., 2003) gibi birçok fizyolojik olayda önemli etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.



Şekil 9. En fazla bilinen endokanabinoidlerin yapısı (Howlett ve ark., Neuropharmacology 47, 2004).

A. Endokanabinoid Sistemin Nörofizyolojik Özellikleri

Endokanabinoidlar, postsinaptik hücrede aktiviteye bağlı olarak serbestlenen lipofilik araşidonik asit türevleridir (Basavarajappa, 2007; Piomelli, 2003, 2005; Piomelli ve ark., 1998). Klasik nörotransmitterlerin aksine ne vezikülde depo edilir ne de vezikülden salınır. Nöronal aktivite enzimleri tetiklediği zaman, hücre içinde üretilmektedir (Alger, 2004). Anandamidin *in vivo* sentezi bir membran fosfolipit prekürsörü olan N-araşidonik fosfotidiletanolamidten (Di Marzo ve ark., 1994)

fosfolipaz D tarafından enzimatik olarak katalizlenmesi sonucunda oluşur (Schmid ve ark., 1983). 2-AG ise diaçilgliserol lipaz tarafından diaçilgliserolden sentezlenir (Sugiura ve ark., 2006). İhtiyaca göre sentezlenip yıkılma özelliğine sahip olan endokanabinoidlerden anandamid yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından yağ asidi ve etanolamine hidrolize edilir (Schmid ve ark., 1985; Maccarrone ve ark., 1998). FAAH enzimi *in vivo* olarak sadece anandamidin yıkılımına spesifik olup, 2-AG'yi sadece *in vitro* ortamlarda yıkabilir (Goparaju ve ark., 1998; Lang ve ark., 1999). 2-AG'nin araşidonik asit ve gliserole hidrolizinden ise monoaçilgliserol lipaz (MAGL) enzimi sorumludur (Dinh ve ark., 2002; Saario ve ark., 2004). FAAH enzimi hipokampus, serebellum ve amigdalada postsinaptik terminallerde bulunmaktadır (Di Marzo ve ark., 1994; Maccarrone ve ark., 1998; Goparaju ve ark., 1998; Lang ve ark., 1999; Gulyas ve ark., 2004; Sugiura ve ark., 2006; Cinar ve Cinar, 2011). MAGL enzimi presinaptik akson terminallerinde ve GABAerjik ara noronlarda bulunmaktadır (Gulyas ve ark., 2004).

Endokanabinoidler, postsinaptik nöronun depolarizasyonu ya da metabotropik glutamat reseptörlerinin aktivasyonu sonucunda sentezlenir. Beyinde ve vücutta yaygın olarak sentezlenmektedir (Devane ve ark., 1992; Mechoulam ve ark., 1995; Sugiura ve ark., 1995). Anandamid, yarışmalı olarak kanabinoid reseptörlerine bağlanarak adenilat siklazı ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe etmektedir. Fitokanabinoidlerin aksine, çabuk inaktive olmaktadır. Bu yüzden, metabolik etkilerini ölçmek zor olmaktadır. Nörokimyasal etkileri yüksek dozlarda veya FAAH tarafından metabolizması inhibe edildiğinde gözlenebilmektedir (Adams ve ark., 1998; Wiley ve ark., 1998; Solinas ve ark., 2007).

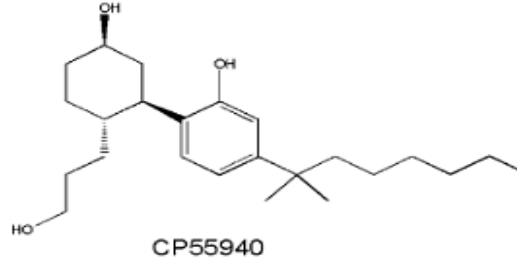
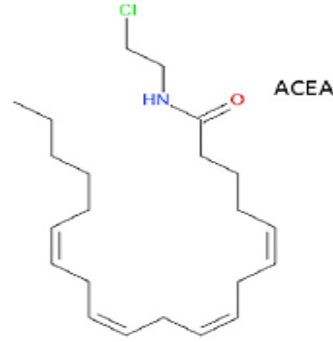
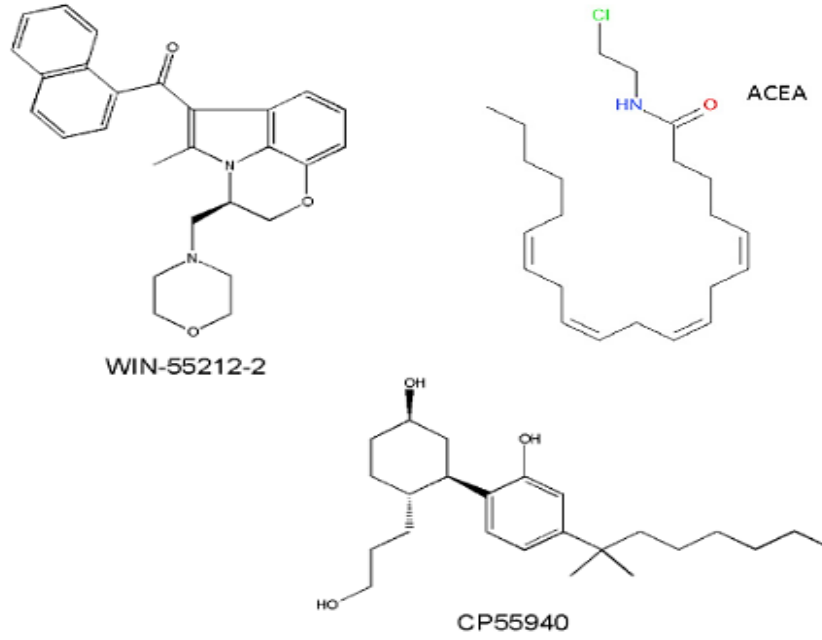
2.3.4. Sentetik Kanabinoidler

2000'li yıllarda ortaya çıkan sentetik kanabinoidler, laboratuvar ortamında ot ve benzeri maddelerin kimyasal likitlerle spreyleneşmesi sonucu oluşturulmaktadır. Δ^9 -THC gibi, sentetik kanabinoidlerin de CB1 ve CB2 reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterdikleri saptanmıştır (Şekil-12). Bu maddeler sıklıkla sigara içerisinde içilerek kullanılmaktadır ve esrarın etken maddesi olan THC'nin oluşturduğu etkiye benzer psikoaktif etki göstermektedir (Uchiyama ve ark., 2010).

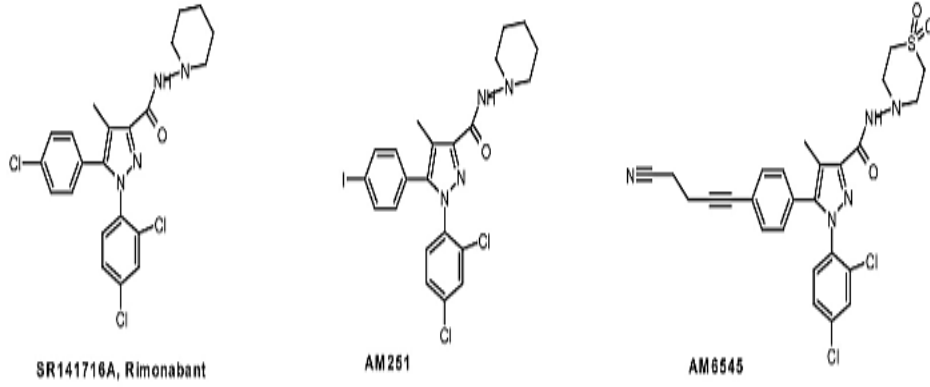
Sentetik kanabinoidler, kanabinoid reseptörlerine daha yüksek bir potens ve afinite gösterir (Brents ve ark., 2012). Bazılarının yarı ömürleri daha uzundur ya da

aktif metabolitlerin oluşumuna yol açar. Bunların yanında sentetik kanabinoidler, Δ^9 -THC'ye göre hipertansiyon, taşikardi, varsanılar, ajitasyon, nöbetler ve panik ataklar gibi yan etkilerle ortaya çıkar (Huffman ve Padgett, 2005). Δ^9 -THC parsiyel agonist iken sentetik kanabinoidler tam agonisttir.

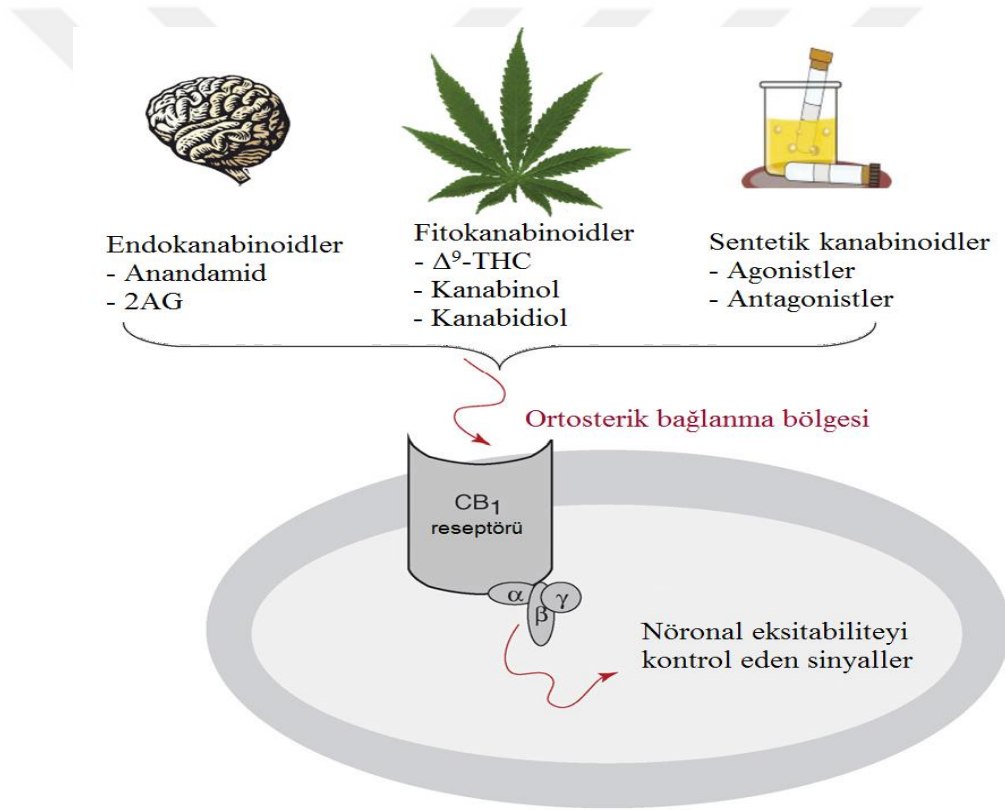
Sentetik kanabinoidler her ne kadar uyuşturucu madde olarak kullanılsa da bilimsel çalışmalarda da çok tercih edilen bir uygulama alanıdır. Uyuşturucu olarak en sık kullanılan kanabinoidler JWH-073, JWH-018, CP-47497, JWH-200 ve kanabisikloheksanoldür, ancak bilimsel çalışmalarda en sık ACEA, ACPA, metanandamid (Şekil-10), O-1812 (agonistler), SR141716A (rimonabant), AM-251, AM-281, SR144528 ve LY320135 (antagonistler) kullanılmaktadır (Şekil-11).



Şekil 10. CB1-selektif sentetik kanabinoid reseptör agonistlerinin yapısı (Howlett ve ark., Neuropharmacology 47 Supplement No. 1 2004, 345–358; Alexander, 2015)



Şekil 11. Sentetik kanabinoid reseptör antagonistlerinin yapısı (Robert ve Kendall, 2013)



Şekil 12. CB1 reseptörü ve bu reseptöre bağlanan kanabinoidler (Ross, 2007)

2.3.5. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri

A. Kanabinoidlerin Akut Etkileri

Kanabinoidler santral CB1 reseptörleri aracılığıyla, ruh durumu, iştah, kusmanın kontrolü, hafıza, kas koordinasyonu, analjezi gibi birçok psikolojik ve patofizyolojik süreçlerde fonksiyon gösterir (Hao ve ark., 2000). Kanabinoid bileşikleri insanlar

tarafından genellikle sigara şeklinde alınsa da buharlaştırma veya oral yol ile kullanıldığı da bildirilmiştir (Vandrey ve ark., 2012). Marihuananın insanlar üzerindeki subjektif etkileri; heyecanlanma ve fikir uçuşması, zaman ve mekân kavramlarının bozulması, duyunun azalması, duygulanım bozuklukları, halüsinasyonlar ve ilüzyonlar şeklinde ortaya çıkar (Dewey, 1986). Bu etkiler alkol ile beraber alındığında daha da belirginleşir.

B. Kanabinoidlerin Kronik Etkileri

Merkezi sinir sistemi: Endokanabinoid sistemin merkezi sinir sistemi hastalıklarındaki rolü kanabinoid sistem farmakolojisi alanında en yoğun çalışılan araştırma alanı olmuştur. Bunun nedeni hint kenevirinin çok eskilerden beri insanlar tarafından kullanılıyor olması ve ağrı tedavisi ile iştah açıcı etki potansiyelinin biliniyor olmasıdır.

Endokanabinoidler, kanabinoid reseptörleri aracılığıyla immün yanıtı düzenleyerek nöroprotektif etki gösterir. Bu mekanizmalardan dolayı endokanabinoid sistem hem epilepsi, travmatik beyin hasarı ve felç gibi akut sinirsel hasarlarda hem de multipl skleroz (MS), Parkinson, Huntington, amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve Alzheimer gibi kronik nörodejeneratif hastalıklarda önemli nöroprotektif role sahiptir (Mechoulam, 2002). Sağlıklı bireylerde, aşırı dozda esrar ve Δ^9 -THC kullanımından sonra psikotik belirtilerin (delüzyon, sanrı, bilişsel bozukluklar) gelişimi, şizofrenlerde ise esrar kullanımının psikotik semptomları depreştirmesi söz konusudur (Emrich ve ark., 1997). CB1 reseptör aktivasyonu antidepresan benzeri etki gösterebileceği gibi, reseptör blokajı anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilere neden olur.

Ağrı: Esrarın bilinen en eski tıbbi kullanımı ağrı kesici etkisinden ötürüdür. Hayvanlardaki ağrı modellerinde hem endokanabinoidler hem de sentetik CB1 reseptör agonistleri kullanılarak yapılan çalışmalar kanabinoidlerin kimyasal, mekanik ve termal ağrı uyaranları ile oluşturulmuş akut ağrıya karşı etkili olduğunu göstermiştir (Guindon ve ark., 2006; Guindon ve ark., 2006). Ayrıca kanabinoidlerin inflamasyon kaynaklı ve nöropatik ağrı gibi kronik ağrılarda da etkili oldukları gösterilmiştir (Guindon ve ark., 2006; Li ve ark.,1999).

Kardiyovasküler sistem: Endokanabinoid sistemin damarlar, miyokard, otonom sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi üzerinden önemli kardiyovasküler etkileri vardır (Bonz ve ark., 2003; Szabo ve ark., 2001). CB1 reseptörleri miyokarda negatif

inotropik etki (Batkai ve ark., 2004), damarlar üzerinde ise vazodilatör etki gösterir (Gebremedhin ve ark., 1999).

Kanser: Kanser ağrıları, kemoterapi sürecindeki iştahsızlık ve bulantılar hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkileyen durumlardır. Bu noktada bitkisel kaynaklı kanabinoid agonistleri antiemetik, analjezik ve iştah açıcı etkilerinden dolayı kullanılmaktadır. Kanabinoid reseptör aktivasyonunun kanserli dokularda hücre gelişimini, tümör büyümesini, metastazı önleyerek ve programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) artırarak antitümör etki gösterdiği birçok çalışmada belirtilmiştir (Ligresti A, Moriello AS, ve ark., 2006; Ramer R, Merkord J, Rohde H, Hinz B., 2010).

Obezite: Merkezi sinir sisteminde endokanabinoid sistem aktivasyonunun oreksijenik etkileri hipotalamus ve limbik sistemdeki yemek yeme motivasyonunu artırması sonucunda gerçekleşmektedir (Tucci ve ark., 2004; Di Marzo ve ark., 2001). Enerji homeostazını periferde kontrol eden karaciğer, yağ dokusu, pankreas ve iskelet kasları gibi dokularda endokanabinoid sistemin aktivasyonunun metabolik hastalıklarda abdominal yağ birikimine, hiperglisemiye ve dislipidemiye neden olduğu gösterilmiştir (Osei-Hyiaman ve ark., 2005; Kunos ve ark., 2008).

Solunum sistemi: Özellikle inhalasyon yoluyla kronik kanabinoid kullanımı, solunum sisteminde büyük hasarlar oluşturur. Kısa vadede kronik bronşit benzeri semptomlar ortaya çıkarken (öksürük, balgam vs.), uzun süreli maruziyet solunum sistemi kanserlerinin insidansını da artırmaktadır (Bloom ve ark., 1987).

Bağımlılık: Mezokortikolimbik yolakta bulunan dopaminerjik nöronlar, endokanabinoidlerin presinaptik CB1 reseptörleri üzerinden ters yönde sinyal iletimi ile etki gösterip, düzenledikleri glutamaterjik ve GABAerjik afferentler ile kontrol edilmektedir (Robbe ve ark., 2002; Melis ve ark., 2004). İlaç bağımlılığına neden olan kanabinoidler aynı opioidler, nikotin ve alkol gibi etkilerini ventral tegmental alanda endokanabinoid salınımlarıyla gösterirler (Maldonado ve ark., 2006).

2.3.6. Kanabinoidlerin Antikonvulsan Etkileri

İn vivo ve *in vitro* yapılan çalışmalarda deneysel nöbet modellerinde birçok kanabinoid analogları test edilmiştir (Wallace ve ark., 2001, 2002; Blair ve ark., 2006; Deshpande ve ark., 2007). Kanabinoid sistemin beyindeki nöbet aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır (Wallace ve ark., 2003; Luszczi ve ark., 2006; Deshpande ve ark., 2007). Kanabinoidlerin antikonvulsan etkilerinin moleküler

mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak, CB1 reseptör aktivasyonu ile beraber, doz bağımlı olarak glutaminerjik sistemlerin baskılandığı, GABAerjik sistemlerin ise aktive olduğu düşünülmektedir (Feigenbaum ve ark., 1989). Kanabinoidlerin antikonvulsan etkilerini inhibitör G proteini yoluyla gerçekleştirdiği düşünülür (Howlett ve ark., 2004).

Wallace ve arkadaşları (2001) kanabinoid (D9-tetrahydrokanabinol) ve kanabimimetik (WIN 55,212-2) bileşiklerinin maksimal elektroşok epilepsi modelinde antikonvulsan aktivite gösterdiğini kanıtlamışlardır. Bu etkinin kanabinoid CB1 reseptörleri üzerinden gerçekleştirildiği düşünülmektedir. Yapılan başka bir çalışmada CB1 reseptör agonisti WIN 55,212-2'nin spontan tekrayan epileptiform deşarjları CB1 reseptör aktivitesi ile pilokarpin modelinde, nöronal kültür ile oluşturulan epilepsi modelinde ve status epileptikusta tümüyle baskılandığı da gösterilmektedir (Wallace ve ark., 2003; Blair ve ark., 2006). Bunun yanında, Nakatsuka ve ark. (2003) CB1 reseptör antagonisti olan AM-251 verildiğinde, WIN 55,212-2'in etkisinin ortadan kalktığını, spike frekans ve amplitüdünde herhangi bir baskılanma olmadığını kanıtlamışlardır. Kozan ve arkadaşları, penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinde, intraserebroventriküler (i.s.v.) enjekte edilen ACEA'nın 7,5 µg dozunda 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 bulmuşlardır (Kozan ve ark., 2009).

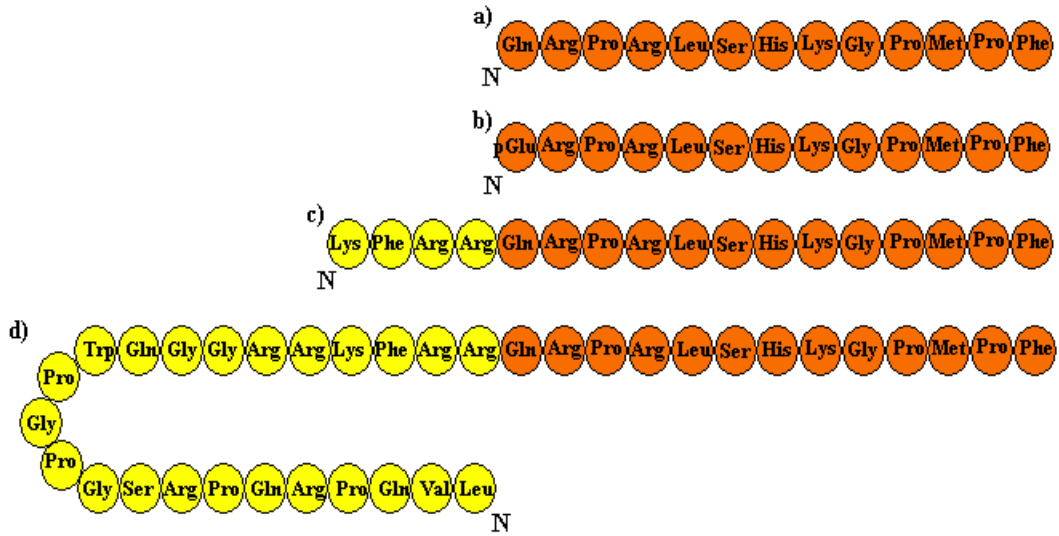
2.4. Apelin

36 aminoasitten oluşan bir hormon olan apelin, 1998 yılında Tatemoato ve ark. tarafından sığır mide öz suyundan elde edilmiş olup, adipoz doku ailesinin yeni bir üyesidir (Tatemoto ve ark., 1998). Bu peptide APJ-reseptör ligandı olmasından dolayı 'apelin' adı verilmiştir (Tatemoto ve ark., 1998; Hosoya ve ark., 2000). Apelin kalp, beyin, böbrek ve akciğer gibi santral ve periferel dokularda yaygın olarak bulunur. İnsanlarda apelin ekspresyonu ilk olarak hipokampus, talamus, kaudat nükleus, paraventriküler nükleus, periventriküler hipotalamus, preoptik alan, ventromedial ile dorsomedial nükleuslar ve frontal kortekste belirlenmiştir (Lee ve ark., 2000). Beyindeki en yoğun ekspresyon bölgeleri hipotalamustaki paraventriküler ve supraoptik nükleuslar olarak tespit edilmiştir (O'Carroll ve ark., 2000; Lee ve ark., 2000).

Daha sonraki çalışmalarda, apelin mRNA'sı özellikle korus kallozum, amigdala, spinal kord, substansiya nigra ve hipofiz bezinin yanı sıra kalp, böbrekler, akciğerler, plasenta ve meme bezleri gibi insan santral sinir sisteminde ve birçok periferik dokularda gösterilmiştir (De Falco ve ark., 2002; Medhurst ve ark., 2003; Kleinz ve Davenport 2004).

2.4.1. Apelinin Biyokimyası ve Metabolizması

İnsanlarda apelin geni Xq 25–26, 1 kromozomunda yerleşmiştir (Lee ve ark., 2000) ve 77 aminoasitten köken almaktadır (Kawamata ve ark., 2001). Preproapelin daha sonra 12, 13, 17, 36 gibi farklı sayıda aminoasitlere sahip fragmanlara ayrılmaktadır (Kleinz ve Davenport, 2005). Apelinlerin biyolojik aktivitesini belirleyen kısım, apelinin enzimatik olarak yıkılmasını engelleyen N-terminopiroglutamat kısmıdır. N- terminal piroglutamat varlığı bir posttranslasyonel modifikasyon örneğidir (Kleinz ve Davenport, 2005) (Şekil-13).



Şekil 13. Aminoasit zinciri. a) apelin -13 b) p[Glu] Apelin -13 c) Apelin -17 d) Apelin-36.

Tüm peptidteki aynı aminoasitler turuncu renkte gösterilirken sarı renk ise prepropeptid zincirden farklı olan aminoasitleri göstermektedir (Kleinz MJ, Davenport AP, 2005)

Apelin-13'ün apelin-17'den 8, apelin-36'dan ise 60 kat daha etkin olduğu ileri sürülmektedir (Tatemoto ve ark., 1998). Apelin-13'ün yüksek biyolojik aktiviteye sahip olması nedeniyle araştırmalar apelinin bu formu üzerine yoğunlaşmıştır. Biyolojik olarak en aktif form apelin-13 olarak kabul edilmiş olsa da, apelin-36'nın APJ'ye bağlanma affinitesinin apelin-13'ten çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Kawamata

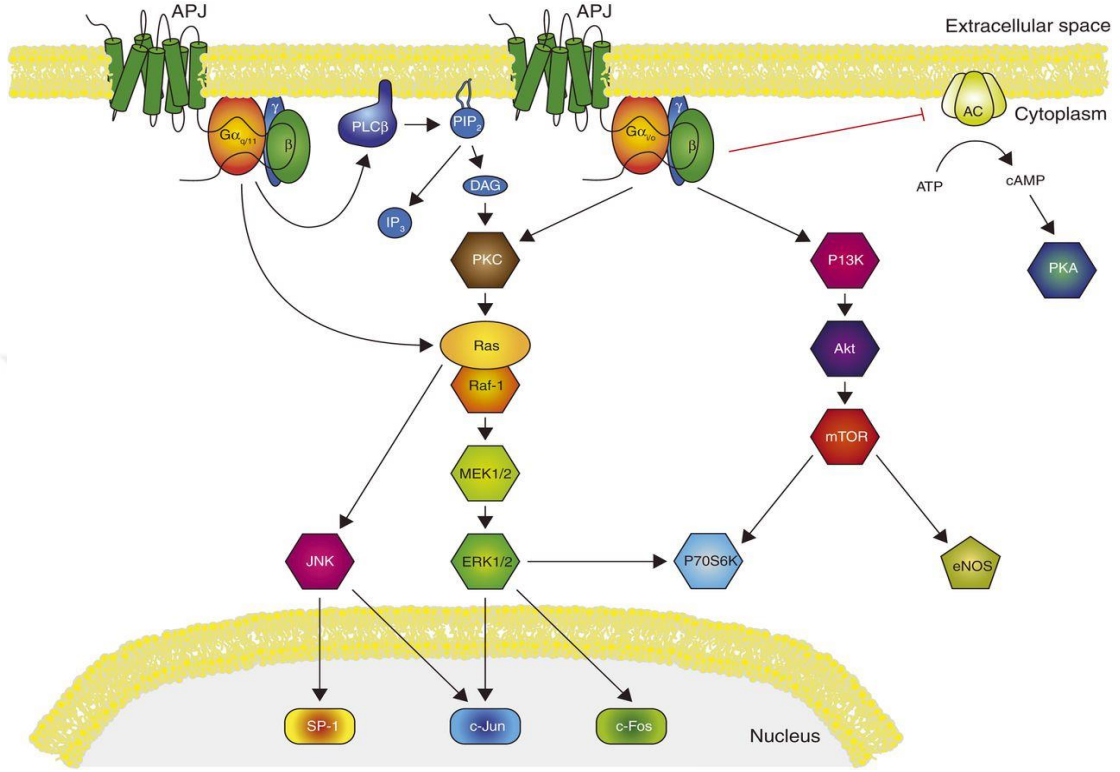
ve ark., 2001). Plazmada bulunan asıl apelin formlarının apelin-13, apelin-17 ve apelin-36 olduğu düşünülmektedir (Beltowski, 2006).

2.4.2. Apelin Reseptörü

1993 yılında O'Dowd ve ark. tarafından anjiyotensin-II tip I reseptör geniyle benzer dizilime sahip bir gen keşfedildi. APJ olarak adlandırılan bu gen 1998 yılında Tatemato ve arkadaşları tarafından endojen ligandı tanımlanmaya kadar orfan reseptör olarak anıldı (Tatemato ve ark., 1998).

APJ (apelin reseptörü) orijinal olarak insan genomik DNA'sından polimeraz zincir reaksiyonu yoluyla izole edilmiştir (O'Dowd ve ark., 1993). 380 aminoasitten oluşan bu reseptörün geni 11. kromozomun q12.1 kısmında yerleşmiştir (O'Dowd ve ark., 1993). APJ fare, sıçan, maymun, inek, zebra ve kurbağa gibi diğer birkaç türde de tanımlanmıştır (Pitkin ve ark., 2010). Sıçanlarda APJ ekspresyonu, en fazla kalp ve akciğerlerde olmak üzere hemen hemen tüm dokularda gösterilmiştir (Hosoya ve ark., 2000). Daha düşük seviyede sıçan böbrek, hipofiz bezi ve iskelet kasında (O'Carroll ve ark., 2000) ve ayrıca vasküler, endokardiyal ve endotelial hücrelerde eksprese edilmiştir (Devic ve ark., 1999; Sörhede Winzell ve ark., 2005). Sıçan beyinde özellikle hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler bölgelerinde ve hipofiz ön lobunda yoğun bir biçimde (O'Carroll ve ark., 2000) bulunurken, epifiz bezi, olfaktor sistem nükleuslarında ve hipofiz ara lobda da ekspresyonu olduğu gösterilmiştir (De Mota ve ark., 2000). İnsanlarda ise APJ mRNA'sı mide, karaciğer, pankreas, vasküler endotelial ve düz kas hücreleri, adipoz doku, plasenta, akciğerler, kalp, timus, prostat, testis, ovaryum, dalak, barsaklar ve beyin olmak üzere birçok merkezi ve perifer dokuda bulunmuştur (Tablo-4) (Devic ve ark., 1999; Lee ve ark., 2000 O'Carroll ve ark., 2000; Medhurst ve ark., 2003). Fare apelin reseptörü 377 aminoasitten oluşmuş olup, insan apelin reseptörüyle %91 diziliş benzerliği gösterirken, sıçan apelin reseptörü ise 377 aminoasitten oluşmuştur ve insan reseptörüyle %89 diziliş benzerliği gösterir (Pitkin ve ark., 2010). 377 aminoasitten oluşan, G proteini ile eşleşen APJ yapı olarak anjiyotensin (AT) tip 1 reseptörüyle transmembran bölgede benzerlik gösterir (O'Dowd ve ark. 1993). Aminoasit içeriği olarak total sekansın %30 (115 aminoasit) ve transmembran bölgenin de %54'ü anjiyotensin II tip 1 (AT-1) reseptörü ile ortaktır (O'Dowd ve ark., 1993). Ayrıca her iki reseptörün dokulardaki ekspresyonları da yüksek oranda benzerlik göstermektedir (Medhurst ve ark., 2003). Yüksek oranda homoloji göstermelerine

rağmen, APJ reseptörünün bilinen tek endojen ligandı olan apelinin AT-1 reseptörüne, AT-1 reseptörünün ligandı olan anjiyotensin II'nin APJ reseptörüne bağlanmadığı gösterilmiştir (Lee ve ark., 2000).



Şekil 14. APJ'nin sinyal yolları (O'Carroll ve ark., 2013)

Tablo 3. Apelin ve Apelin Reseptörünün Karakteristik Özellikleri (Kleinz, 2005)

	Apelin Reseptörü (APJ)	Apelin
Eşanlamlısı	Angiotensin reseptör-like 1	APJ endojen ligand
Moleküler sınıf	7-transmembranöz G protein-bağlı reseptör	Peptid ligand
Aminoasid sayısı	380	77 (prekürsör)
Moleküler ağırlık (Da)	42.660	8.569
mRNA boyutu (bp)	1143	234
Kromozom Lokusu	11q12.1	X25-26.3

Tablo 4. Apelin ve APJ'nin dokulardaki dağılımı (Kleinz, 2005)

	APJ			Apelin		
	Rat	Fare	Insan	Rat	Fare	Insan
Bevin	++	+	+++	+	+++	++
Serebellum	+		+	+		+
Hipofiz bezi	+		+	+		++
Spinal kord	+++	++	+	++		++
Adrenal bez	+			+		
Tiroid bezi	++					
Dalak	-	+	+++	-	+	
Timus		+	+		-	
Kalp	++	+++	+	++	++	+
Endotel hücreleri	++					
Akciğer	+++	++	++	+++	++	+
Mide	+		+	+		-
İnce barsak	+		++	+		-
Kalın Barsak	+		++	+		
Karaciğer	+	+		-	-	-
Pankreas	-		+	-		+
Böbrek	+	+	+	+	+	+
Testis	+	+	+	+	++	+
Prostat			+			+
Ovaryum	+	+	+	+	+	
Uterus	+	+	+	+	-	-
Plasenta	++		++			+++
Meme	+			++		
İskelet Kası	++	++	+	+	+	-
Adipoz Doku	++			+		
Kıkırdak	++					

Apelin-APJ sistemi, hipokampal ve kortikal nöronlarda NMDA reseptör aracılı nöronal hasara karşı nöroprotektif regülatör olarak incelenmiştir (Şekil-14) (O'Donnell ve ark., 2007; Schauwecker, 2010; Zeng ve ark., 2010). Yapılan bu çalışmalar, apelin-APJ sisteminin merkezi sinir sistemindeki nöronal canlılıkta önemli rolünün olabileceğini göstermiştir ve bu nedenle apelinin beyin hasarlarına neden olabilecek çeşitli nörolojik hastalıklarda potansiyel nöroprotektif olarak araştırılmalıdır. Ancak apelinin epileptik aktivite süresince nöroprotektif oluşu hala tam olarak bilinmemektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları

Deneylerde, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilen, 180-270 gr ağırlığında, 91 adet erkek Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Merkezde hayvanlar doğal aydınlık-karanlık döngüsünde 12-16 haftalık oluncaya kadar yem ve su kısıtlaması olmaksızın yetiştirildi. Deneyde kullanılacak olan hayvanlar deneyden 1 hafta öncesinde araştırma merkezinden alınıp Anabilim Dalımız laboratuvarında aynı şartlar sağlanarak tutuldular.

3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

Anestezi altındaki sıçanların sol somatomotor korteksine intrakortikal enjeksiyonlar yapmak için kafatası kemiğine el drili ile delik açıldı. Enjeksiyonlar bregma noktasından 2 mm lateral, 2 mm posterior ve 3,5 mm derinliğe Hamilton mikroenjektör yardımıyla yapıldı. Lateral ventriküle intraserebroventriküler (i.s.v.) yolla yapılan enjeksiyonların koordinatları ise Bregma'ya 1,1 mm lateral, 1,5 mm rostral ve 4,2 mm derinlikte idi (Şekil-16).

Penisilin G Potasyum:

Moleküler formülü: $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$

Moleküler ağırlığı: 372,48 g/mol

Uygulanma şekli: Penisilin 200 ünite/μl olacak şekilde distile suda çözüldü ve epileptiform aktivite oluşturmak için 500 ünite penisilin beyin korteksine uygulandı.

Apelin-13:

Moleküler formülü: $C_{69}H_{111}N_{23}O_{16}S \cdot C_2F_3O_2$ (Sigma A6469)

Moleküler ağırlığı: 1663,84 g/mol

Uygulanma şekli: Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra veya etkileşim çalışmalarında uygulanan bir önceki maddeden 10 dk. sonra Hamilton mikroenjektörü ile 2 μl hacim içerisinde 5 μg ve 15 μg dozlarında i.s.v. yolla uygulandı. Çözücü olarak distile su kullanıldı.

AM-251: (1-(2,4-Dichlorophenyl)-5-(4-iodophenyl)-4-methyl-N-1-piperidinyl 1Hpyrazole-3-carboxamide)

Moleküler formülü: C₂₂H₂₁N₄OCl₂I (Sigma A6226)

Moleküler ağırlığı: 555,24 g/mol

Uygulanma şekli: 10 mg AM-251 önce 28 ml DMSO'da çözüldü ve daha sonra üzerine 12 ml SF eklendi. Böylece 40 ml solüsyon içinde 10 mg AM-251 elde edildi. Oluşan çözelti 20 µl'lik ependorflara bölünerek -20 °C'de saklandı ve enjeksiyondan 15 dk. önce çözünerek oda sıcaklığına getirildi. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra Hamilton mikroenjektörü ile 1µl hacim içerisinde 0,25 µg ve 0,125 µg dozlarında AM-251 i.s.v. yolla uygulandı (çözücü: DMSO/Serum Fizyolojik: 3/7).

ACEA : (Araşidonyl-2- chloroethylamide hydrate)

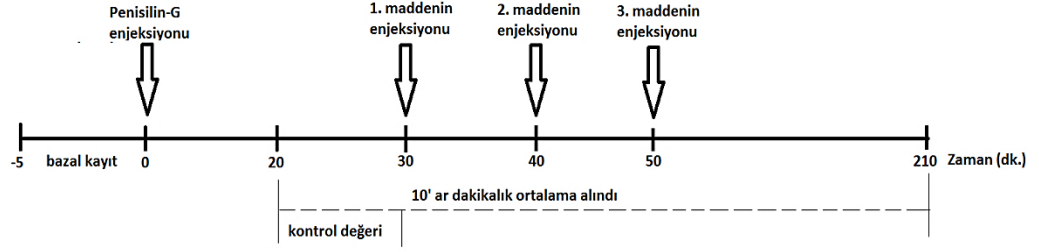
Moleküler formülü: C₂₂H₃₆ClNO. xH₂O (Sigma A9719)

Moleküler ağırlığı: 365,98 g/mol

Uygulanma şekli: 25 mg ACEA önce 4,667 ml DMSO ile çözüldükten sonra üzerine 2 ml SF eklendi. Sonuçta 40 ml solüsyon içinde 6,667 mg ACEA elde edildi. Oluşan çözelti 20 µl'lik ependorflara bölünerek -20 °C'de saklandı ve enjeksiyondan 15 dk. önce çözünerek oda sıcaklığına getirildi. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra ACEA 2,5 µg ve 7,5 µg dozlarında 1 µl hacimde i.s.v. yolla enjekte edildi (çözücü: DMSO/Serum Fizyolojik: 3/7).

3.3. Deney Grupları

Deneyssel epilepsi oluşturmak için 500 IU (i.k.) Penisilin G potasyum sıçanların beyin korteksine enjekte edildi. Apelinin epileptik aktivite üzerine etkilerini araştırmak için laboratuvarımızda daha önce yapılmış çalışmalar baz alınarak, 5 µg ve 15 µg dozları kullanıldı (Uçar, 2015). Kanabinoid sistemin epileptik aktivite üzerine etkisini araştırmak için de CB1 reseptör agonisti ACEA (7,5 µg, i.s.v.) ile CB1 reseptör antagonisti AM-251 (0,25 µg ve 0,125 µg, i.s.v) kullanıldı. Bu maddelerin dozları yine laboratuvarımızda yapılmış olan bir çalışma baz alınarak belirlendi (Kozan ve ark., 2009). Ardından da iki sistemin birbiri ile etkileşimini incelemek için apelin ile kanabinoid reseptör agonistleri ve antagonistleri uygulandı. Kimyasal maddelerin uygulanması sırası Şekil-15'te gösterilmiştir.

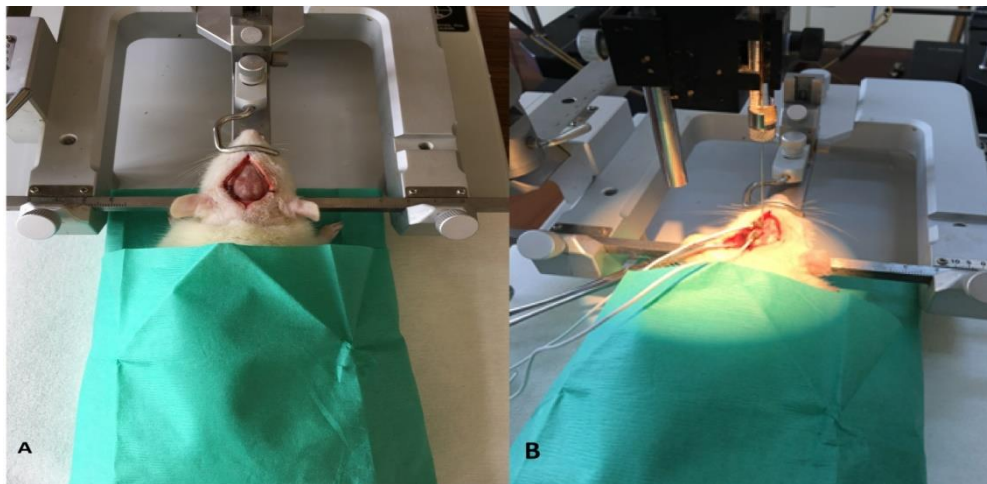


Şekil 15. Deney zaman çizelgesi

Deney grupları aşağıdaki gibi belirlenmiştir:

- 1- **Hiçbir şey uygulanmayan grup:** Herhangi bir madde verilmeden üç saat boyunca ECoG ile bazal aktivite kaydı alındı (n=7).
- 2- **Sham grubu:** 2,5 µl SF i.k. yolla penisilin enjeksiyonlarının yapıldığı koordinatlar üzerinden sol somatomotor kortekse uygulandı. 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n= 7).
- 3- **Penisilin (500 ünite i.k.) grubu:** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 4- **Penisilin (500 IU i.k.) + etkin doz Apelin-13 (15 µg/sıçan, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 15 µg Apelin-13 i.s.v. yolla uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 5- **Penisilin (500 IU i.k.) + etkisiz doz Apelin-13 (5 µg/sıçan, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 5 µg Apelin-13 i.s.v. yolla uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 6- **Penisilin (500 IU i.k.) + etkin doz ACEA (7,5 µg, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 7,5 µg ACEA uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 7- **Penisilin (500 IU i.k.) + etkin doz AM-251 (0,25 µg, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 0,25 µg AM-251 uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 8- **Penisilin (500 IU i.k.) + etkisiz doz AM-251 (0,125 µg, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 0,125 µg AM-251 uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).

- 9- Penisilin (500 IU i.k.) + etkin doz AM-251 (0,25 µg, i.s.v.) + etkin doz Apelin-13 (15 µg/rat i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 0,25 µg AM-251, 10 dk. sonra da 15 µg Apelin-13 uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 10- Penisilin (500 IU i.k.) + etkin doz ACEA (7,5 µg, i.s.v.) + etkin doz Apelin-13 (15 µg/rat, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 7,5 µg ACEA, 10 dk. sonra da 15 µg Apelin-13 verildi ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 11- Penisilin (500 IU i.k.) + etkisiz doz AM-251 (0,125 µg, i.s.v.) + etkin doz Apelin-13 (15 µg/rat, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 0,125 µg AM-251, 10 dk sonra da 15 µg Apelin-13 uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 12- Penisilin (500 IU i.k.) + etkisiz doz AM-251 (0,125 µg, i.s.v.) + etkisiz doz Apelin-13 (5 µg/rat, i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra 0,125 µg AM-251, 10 dk. sonra da 5 µg Apelin-13 uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).
- 13- Penisilin (500 IU i.k.) + etkisiz doz AM-251 (0,125 µg, i.s.v.) + etkisiz doz Apelin-13 (5 µg/rat, i.s.v.) + etkin doz ACEA (7,5 µg / rat i.s.v.):** 500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk sonra 0,125 µg AM-251, 10 dk sonra da 7,5 µg ACEA uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).

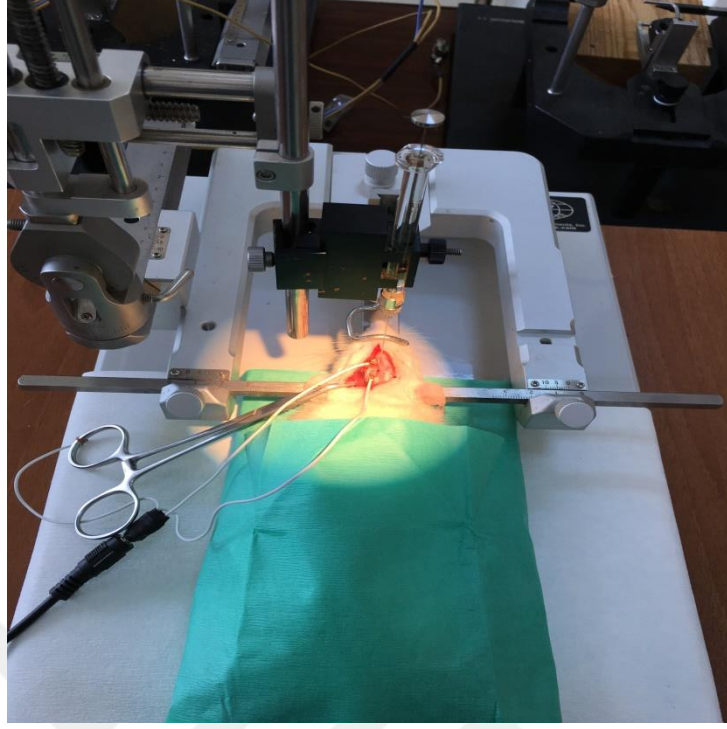


Şekil 16. A) Sıçan kafatası kemiği üzerindeki tendon ve fasyalar uzaklaştırıldıktan sonra alınan görüntü. **B)** Hamilton mikroyenjektör ile intraserebroventriküler enjeksiyonun yapılışı

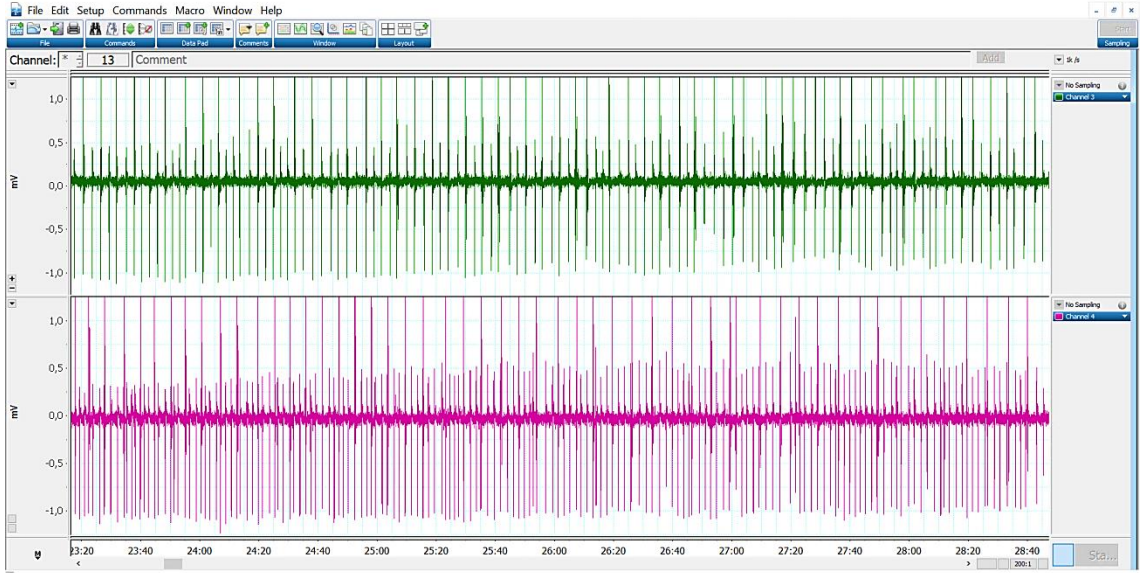
3.4. Elektrokortikogram (ECoG) Kayıtları

Deneyden 1 gün önce aç bırakılan sıçanlar yeni hazırlanmış %25'lik 1,25 gr/kg (i.p.) üretan solüsyonu ile anesteziye alındı. Anestezi altına giren sıçanların baş kısmı traş edildikten sonra stereotaksik cihaza sabitlendi. Spontan solunuma bırakılan hayvanların kafa derileri orta hattan rostro-kaudal yönde 2-5 cm kesilerek açıldı. Somatomotor korteks üzerindeki faysalar uzaklaştırıldıktan sonra eğer küçük kanamalar varsa bonewax (kemik mumu) (W810, ETHİCON) yardımıyla durduruldu. Daha sonra stereotaksik cihazla bregma noktası ayarlandı ve bu nokta esas alınarak 1 mm çapında 2'şer delik (Bregma noktasından 3 mm lateral ve 4 mm rostral doğrultuda birinci delik; 3 mm lateral ve 4 mm kaudal doğrultuda ikinci delik) el drili ile açıldı. Açılan deliklere özel yapım paslanmaz çelik vidalar yerleştirildi. Bu vidalar iletken kablolarla Powerlab veri kazanım sistemine bağlandı (Şekil-20). Elektrotlar yardımıyla online olarak kaydedilen ECoG kayıtları deney bittikten sonra offline olarak analiz edildi. Pozitif elektrot; bregmanın 3 mm lateral ve 4 mm posteriorüne, negatif elektrot; bregmanın 3 mm lateral ve 4 mm anteriorüne, toprak elektrot ise ekartasyon için kullanılan mosquitoya yerleştirildi (Şekil-17).

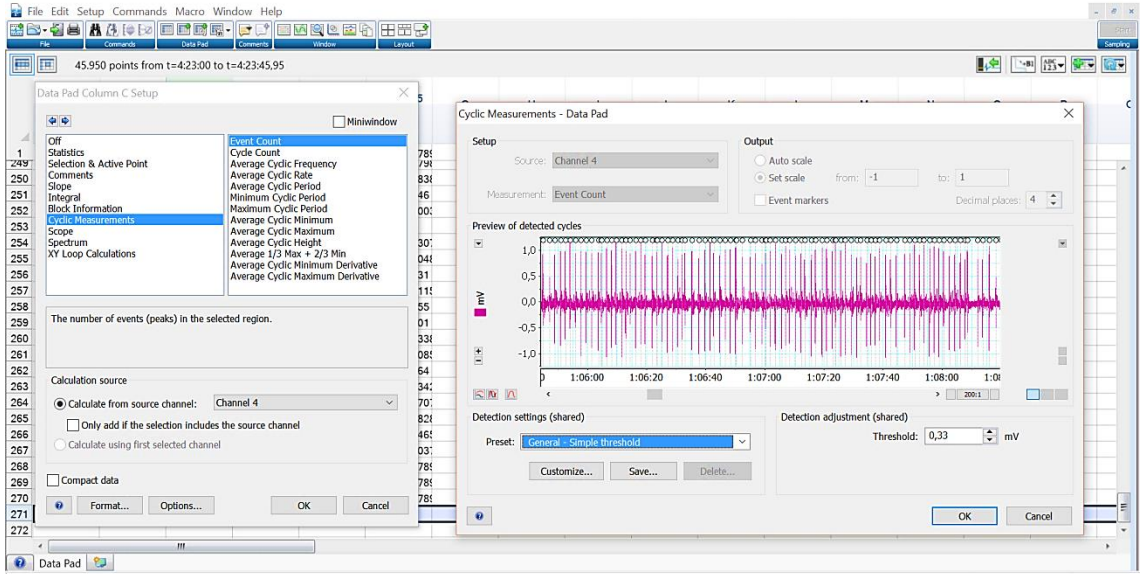
Tüm deneylerde penisilin enjeksiyonundan sonraki 30 dakikanın son 10 dakikasındaki (20-30. dakikalar arası) ortalamalar alınarak her bir hayvan için elde edilen değer %100 olarak kabul edildi. 30-40. dakikalar arasındaki spike sayısı 10. dakika, 40-50. dakikalar arası ise 20. dakika olarak kabul edildi ve bu şekilde devam edilerek 180 dakikalık ECoG kayıt analizi tamamlandı (Şekil-18). Amplitüd hesaplamaları da aynı şekilde elde edildi. İstatistiki analiz ise, yüzde spike değişimi ve yüzde amplitüd analizine göre yapıldı.



Şekil 17. Kayıt anından bir görüntü



Şekil 18. ECoG kayıtlarının elde edildiğinde kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü



Şekil 19. Spikelerin frekans ve amplitüd değerlerinin hesaplanması

3.5. Elektrofizyolojik Kayıtların Değerlendirilmesi

Deneylerde kullanılan her bir sıçan için öncelikle 5 dk. boyunca bazal aktiviteleri alındı ve ardından intrakortikal penisilin enjeksiyonu yapıldı. Penisilin (500 IU, 2,5 µl, i.k.) enjeksiyonundan yaklaşık 2-5 dk. sonra spike aktiviteleri görülmeye başlandı. Penisilin enjeksiyonunun sonrasında uygulanan maddelerden ilki penisilinden 30 dk. sonra, takip eden enjeksiyonlar da onar dakika ara ile yapıldı. En son maddenin enjeksiyonundan sonra 3 saat boyunca kayıt alındı ve sonrasında kayıt sonlandırıldı. Alınan ECoG kayıtları online olarak PowerLab veri kazanım sistemi ile bilgisayara kaydedildi ve depolandı.

Deneyler sonucunda elde edilen epileptiform aktivite offline olarak spike frekansı ve amplitüdü açısından analiz edildi. ECoG kayıtları Chart v7.0.3 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık bölümlere ayrıldı. Her dakika başına düşen spike sayısı ve spike'ların ortalama amplitüdüleri (peak to peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil-19). Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan elde edilen kayıtlar için bu hesaplama ayrı ayrı yapıldı.



Şekil 20. Elektrofizyolojik kayıtların alındığı Power Lab sistem

3.6. İstatistiksel Analiz

Kaydedilen elektrofizyolojik verilerin tamamı sayısal değerlere çevrildikten sonra SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17,0 yazılımı aracılığı ile istatistiksel açıdan değerlendirildi. Bağımsız iki grubun değerleri arasındaki farkın ortaya konmasında, normal dağılıma uyan (Shapiro-Wilk test) verilerin karşılaştırılmasında Independent-Samples t-test kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalarda ise, elde edilen verilerin normal dağılıma (Shapiro-Wilk test) uyduğu tespit edildikten sonra tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farklılıkların tespit edilmesi amacıyla Post-Hoc Tukey testi uygulandı (One-Way Anova Post-Hoc Tukey Test). 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 apelin-13, kanabinoid reseptör antagonisti olan AM-251 ve agonisti olan ACEA'nın etkin dozlarının hem tek başına penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine etkisi hem de birbirleriyle olan etkileşimleri araştırıldı.

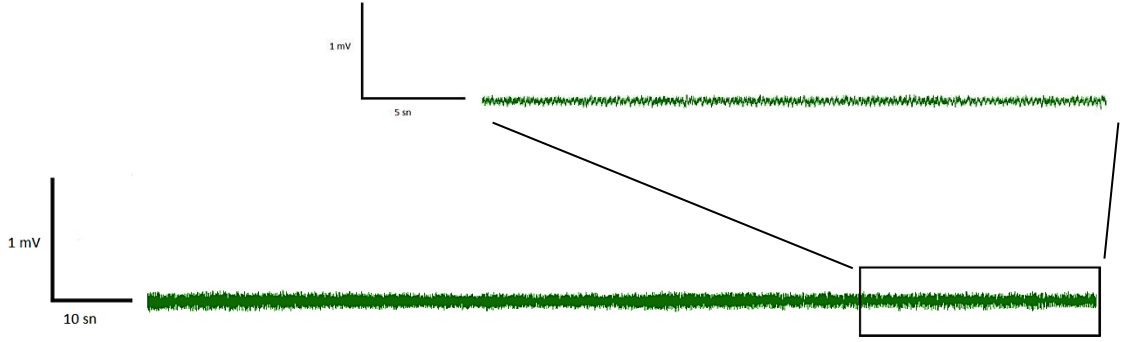
Çözücü olarak kullanılan distile su, DMSO ve serum fizyolojik (SF) tek başlarına uygulandığında epileptik aktiviteyi etkilemediği tespit edildi. Bölümümüzde yapılmış çalışmalarda apelinin etkin dozunun 15 µg (i.s.v.), etkisiz dozunun 5 µg (i.s.v.) (Uçar, 2015), AM-251'in etkisiz dozunun 0,125 µg (i.s.v.), etkin dozunun 0,25 µg (i.s.v.) ve ACEA'nın etkin dozu 7,5 µg (i.s.v.) olduğu tespit edildi (Kozan ve ark., 2009).

Çalışılan maddelerin spike frekansına ve spike amplitüdüne etkileri her bir doz için ayrı ayrı hesaplanıp ortalama ± standart hata (SEM) değerleri tespit edilerek istatistiki analize tabi tutuldu. Spike sayısı ve spike amplitüd ölçümleri LabChart 7,0 yazılımı ile otomatik olarak hesaplandı.

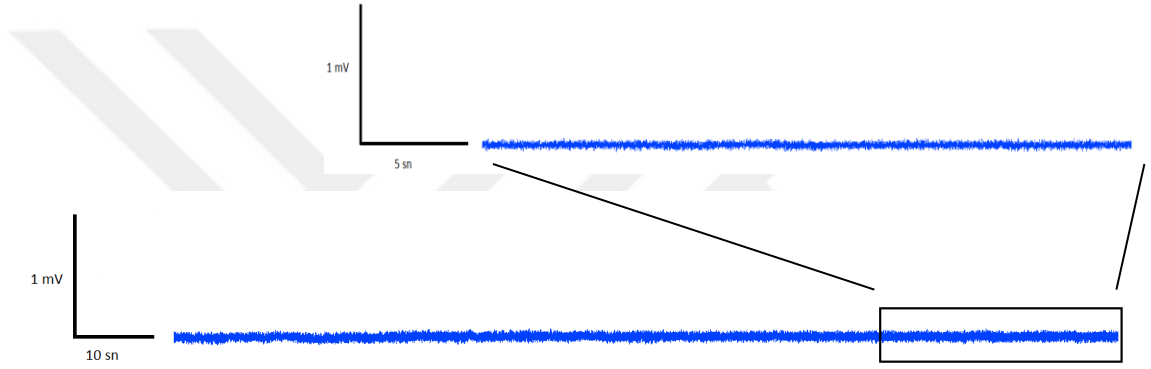
4.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Epileptiform aktivite oluşturmak için 500 IU penisilin-G, 2,5 µl hacimde i.k. yolla uygulandı. Penisilin uygulamasının ardından 2-5 dk. içerisinde spike ve spike dalga kompleksleri gözlemlendi (Şekil 21-C). Bu aktivite 3 saat devam etti. Epileptiform aktivite 30. dakikada kararlı hale geldikten sonra i.k. yolla 2,5 µl hacimde SF enjeksiyonu yapıldı ve ardından 180 dakika boyunca spike frekansı izlendi. Sadece penisilin uygulanan grup ile penisilinden 30 dk. sonra SF uygulanan grubun spike frekansı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$). Kararlı duruma geçiş zamanı 0. dk. olarak kabul edildi ve bu dakikada hesaplanan spike frekansı ortalaması $44,1 \pm 2,9$ spike/dk iken, 180. dakikadaki spike frekansı $41,8 \pm 2,7$ spike/dk. olarak saptandı (Tablo 5).

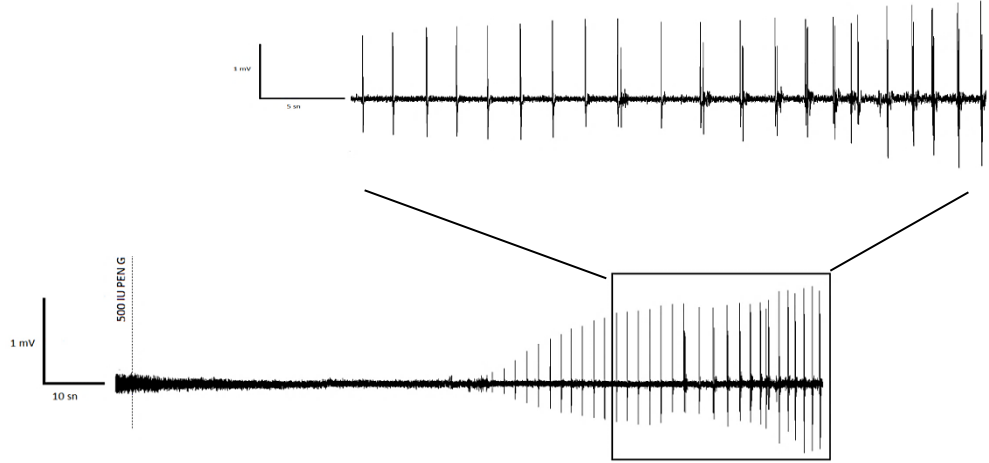
A) Bazal Aktivite



B) SF (2 µl, i.k.)



C) Penisilin G (500 IU i.k.)



Şekil 21. Kontrol gruplarından alınan ECoG kayıtları. A) Beyine herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmadan alınan bazal aktivite kaydı. B) i.k. enjeksiyonun beyin aktivitesi üzerine etkisini incelemek için yapılan serum fizyolojik (SF, 2,5 µl, i.k.) enjeksiyonu sonrası 90. dakikadan alınan örnek ECoG kaydı. SF enjeksiyonu beyin aktivitesini etkilemedi. C) Penisilin (500 IU i.k.) enjeksiyonundan 2-5 dakika sonra bilateral pikeler ve spike dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktivite oluştu

4.2. Apelin-13'ün Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dakika sonra apelin-13'ün 5 µg ve 15 µg dozları i.s.v. yolla uygulandı ve epileptiform aktivite üzerine etkisi incelendi (Şekil-22).

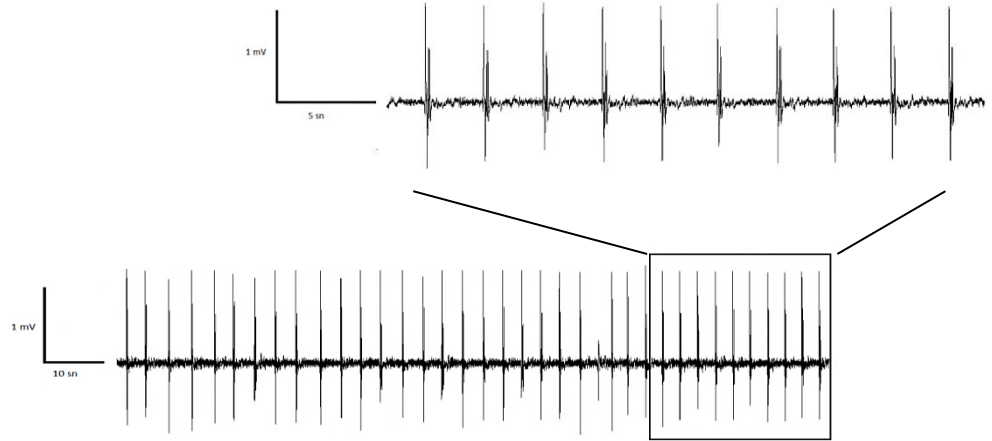
4.2.1. Apelin-13'ün 5 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra 5 µg (i.s.v) apelin-13 uygulandı. Apelin-13 (5 µg) verilen grupta 90. dakikada spike frekansı $47,2 \pm 5,2$ spike/dk, amplitüdü 907 ± 83 µV olarak kaydedilmiştir (Şekil 22-B). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 5 ve 6'da verilmiştir. 180 dk. boyunca alınan kayıtlarda kontrol grubuna kıyasla apelin-13 (5 µg) spike frekansında ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadı ($p>0,05$) (Şekil 23 ve 24).

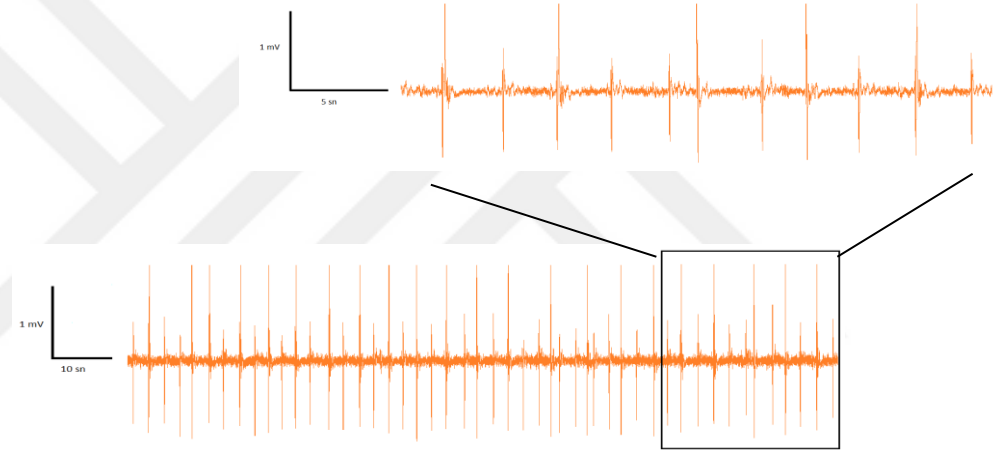
4.2.2. Apelin-13'ün 15 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Sunulan çalışmada penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra 15 µg (i.s.v.) apelin-13 uygulandı. Apelin-13 (15 µg) verilen grupta 90. dakikada spike frekansı $61,9 \pm 5,6$ spike/dk, amplitüdü 1044 ± 121 µV idi. (Şekil 22-C). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 5 ve 6'da verilmiştir. Apelin-13'ün 15 µg'lık dozunda kontrol grubuna göre 20. dakikadan itibaren kayıt sonuna kadar spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,05$), amplitüdünde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0,05$) (Şekil 23 ve 24).

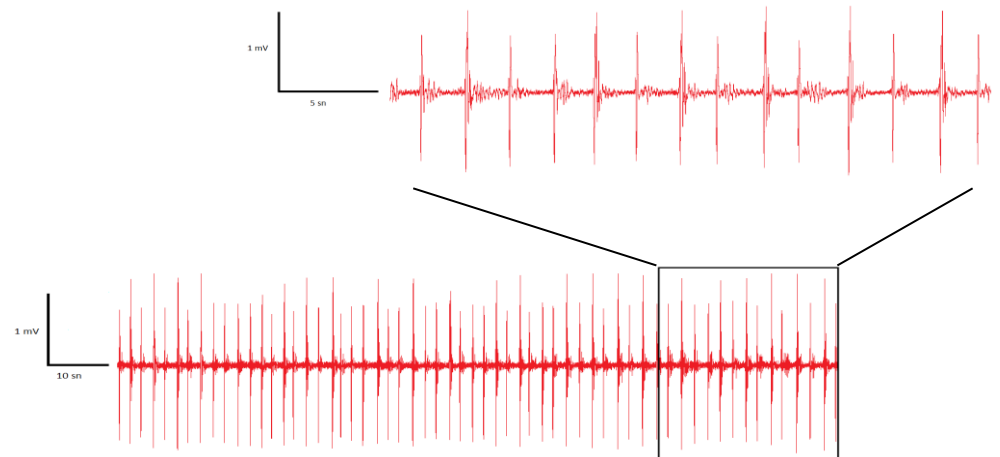
A) Penisilin (500 IU)



B) Penisilin + Apelin-13 (5 µg)



C) Penisilin + Apelin-13 (15 µg)



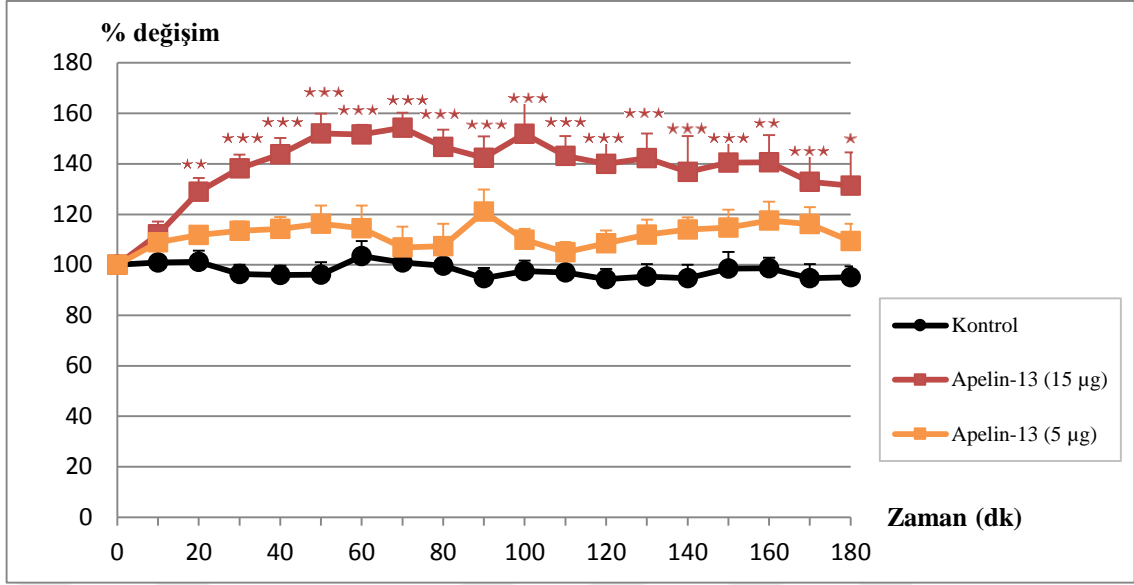
Şekil 22. A) Sadece penisilin (500 IU i.k.) B) Penisilin + Apelin-13 (5 µg, i.s.v.) C) Penisilin + Apelin-13 (15 µg, i.s.v.) gruplarından 90.dakikada alınan ECoG kayıtlarından örnek görüntüler

Tablo 5. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (5 µg) ve apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı ± SEM)

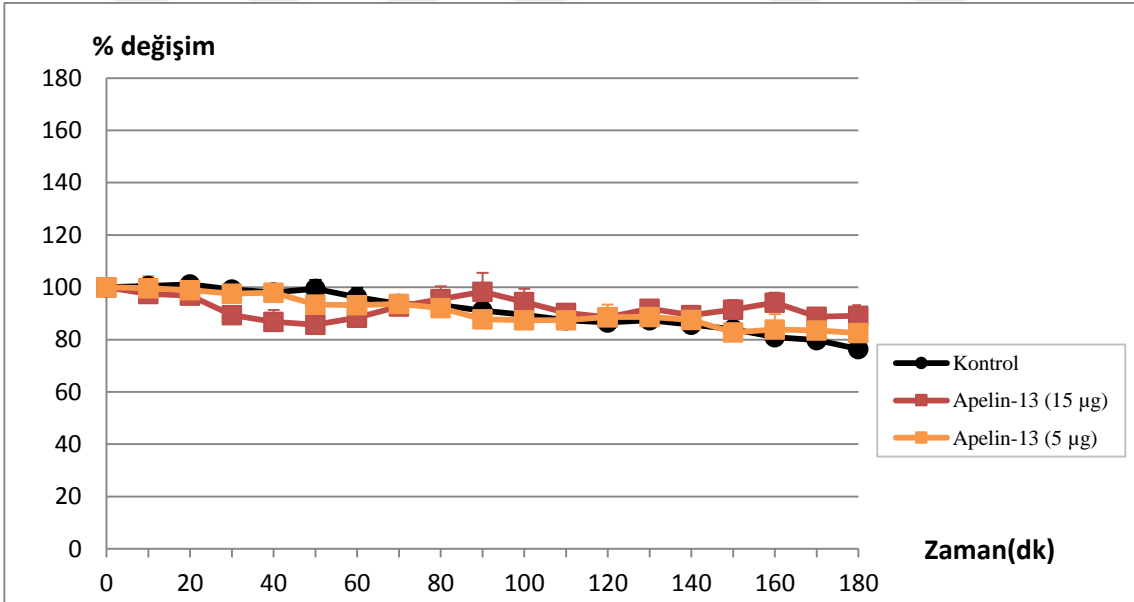
Zaman (dk)	Kontrol (spike/dk)	Apelin-13 (5 µg) (spike/dk)	Apelin-13 (15 µg) (spike/dk)
0. dakika	44,1 ± 2,9	39,5 ± 4,0	44,0 ± 4,2
10. dakika	45,0 ± 4,5	43,0 ± 4,3	49,1 ± 5,4
20. dakika	42,3 ± 4,2	44,1 ± 4,1	55,8 ± 3,6
30. dakika	42,6 ± 3,4	44,0 ± 3,7	60,3 ± 5,2
40. dakika	42,8 ± 3,8	44,7 ± 4,2	63,0 ± 6,5
50. dakika	42,6 ± 3,7	45,1 ± 4,1	66,4 ± 6,2
60. dakika	46,4 ± 4,9	44,3 ± 4,0	66,5 ± 6,7
70. dakika	45,0 ± 4,3	41,1 ± 3,1	67,6 ± 7,1
80. dakika	44,0 ± 3,2	41,2 ± 3,2	64,0 ± 6,0
90. dakika	41,4 ± 2,2	47,2 ± 5,2	61,9 ± 5,6
100. dakika	41,8 ± 4,1	42,9 ± 3,5	67,5 ± 10,3
110. dakika	42,8 ± 2,7	41,0 ± 3,5	62,8 ± 6,9
120. dakika	41,2 ± 3,9	42,3 ± 3,9	62,6 ± 7,6
130. dakika	42,1 ± 3,5	44,1 ± 5,1	62,0 ± 6,2
140. dakika	41,4 ± 2,7	44,5 ± 4,3	59,4 ± 7,1
150. dakika	42,9 ± 3,6	44,4 ± 3,7	60,6 ± 5,4
160. dakika	38,7 ± 2,7	46,7 ± 4,2	61,6 ± 7,1
170. dakika	41,5 ± 2,7	47,1 ± 4,5	61,2 ± 6,0
180. dakika	41,8 ± 2,7	42,7 ± 4,3	57,0 ± 6,2

Tablo 6. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (5 µg) ve apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike amplitüdü ± SEM)

Zaman (dk)	SPIKE AMPLİTÜDÜ (µV)		
	Kontrol (µV)	Apelin-13 (5 µg) (µV)	Apelin-13 (15 µg) (µV)
0. dakika	1102 ± 90	1043 ± 111	1075 ± 121
10. dakika	1107 ± 89	1030 ± 101	1056 ± 132
20. dakika	1116 ± 93	1023 ± 98	1038 ± 114
30. dakika	1092 ± 94	1013 ± 100	968 ± 126
40. dakika	1073 ± 78	1018 ± 104	930 ± 118
50. dakika	1091 ± 91	966 ± 93	923 ± 126
60. dakika	1051 ± 75	965 ± 84	944 ± 110
70. dakika	1027 ± 81	969 ± 92	994 ± 113
80. dakika	1018 ± 80	956 ± 96	1021 ± 112
90. dakika	1000 ± 82	907 ± 83	1044 ± 121
100. dakika	991 ± 93	894 ± 76	1005 ± 108
110. dakika	966 ± 92	892 ± 72	966 ± 107
120. dakika	939 ± 84	907 ± 73	948 ± 107
130. dakika	962 ± 84	906 ± 78	982 ± 102
140. dakika	950 ± 92	889 ± 59	957 ± 104
150. dakika	919 ± 84	839 ± 55	978 ± 106
160. dakika	863 ± 78	845 ± 46	1009 ± 112
170. dakika	840 ± 79	839 ± 45	953 ± 108
180. dakika	840 ± 81	830 ± 46	959 ± 112



Şekil 23. Kontrol (penisilin 500 IU), apelin-13 (5 µg), apelin-13 (15 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). Apelin (15 µg) kontrol grubuna göre spike aktivitesini 20. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde artırdı. Kontrol grubu ile apelin-13 (5µg) grubu karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$, $*$ = $p<0,05$, $**$ = $p<0,01$, $***$ = $p<0,001$)



Şekil 24. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (5 µg), apelin-13 (15 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$)

4.3. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dakika sonra AM-251'in sırasıyla 0,125 µg (1 µl) ve 0,25 µg (1 µl) dozları i.s.v. yolla uygulandı ve epileptiform aktivite üzerine etkisi incelendi (Şekil-25).

4.3.1. CB1 Reseptör Antagonisti AM-251'in 0,125 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Bu grupta penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra AM-251'in 0,125 µg'lık dozu i.s.v. yolla uygulandı. 0,125 µg AM-251 verilen grubun 90. dakikadaki spike frekansı $47,4 \pm 3,5$ spike/dk, amplitüdü 930 ± 72 µV olarak bulundu (Şekil 25-B). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 7 ve 8'de verilmiştir. 180 dk. boyunca alınan kayıtlarda kontrol grubuna göre spike frekansında ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p > 0,05$) (Şekil 26 ve 27).

4.3.2. CB1 Reseptör Antagonisti AM-251'in 0,25 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

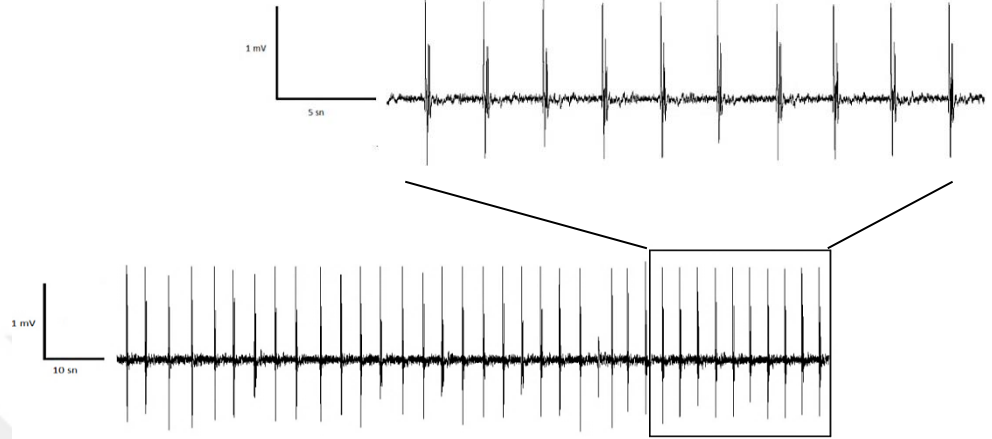
Bu grupta penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra AM-251'in 0,25 µg'lık dozu i.s.v. yolla uygulandı. 0,25 µg AM-251 verilen grupta 90. dakikadaki spike frekansı $82,3 \pm 8,4$ spike/dk, amplitüdü 1067 ± 104 µV olarak bulundu (Şekil 25-C). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 7 ve 8'de verilmiştir. 180 dk. boyunca alınan kayıtlarda kontrol grubuna göre 20. dakikadan itibaren spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken ($p < 0,05$), amplitüdünde anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 26 ve 27).

4.3.3. CB1 Reseptör Agonisti ACEA'nın 7,5 µg'lık Dozunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

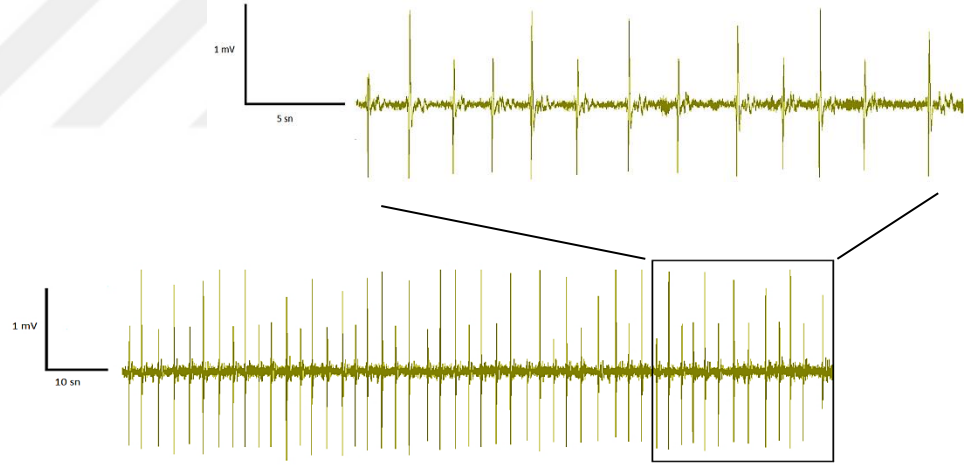
Bu grupta penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra ACEA'nın 7,5 µg'lık dozu i.s.v. yolla uygulandı. 7,5 µg ACEA verilen grupta 90. dakikadaki spike frekansı $21,0 \pm 2,2$ spike/dk, amplitüdü 839 ± 106 µV olarak bulundu (Şekil 25-D). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 7 ve 8'de verilmiştir. 180 dk boyunca alınan kayıtlarda kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre 50. dakikadan itibaren spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma

görülürken ($p < 0,05$), amplitüdünde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0,05$) (Şekil 28 ve 29).

A) Penisilin (500 IU)

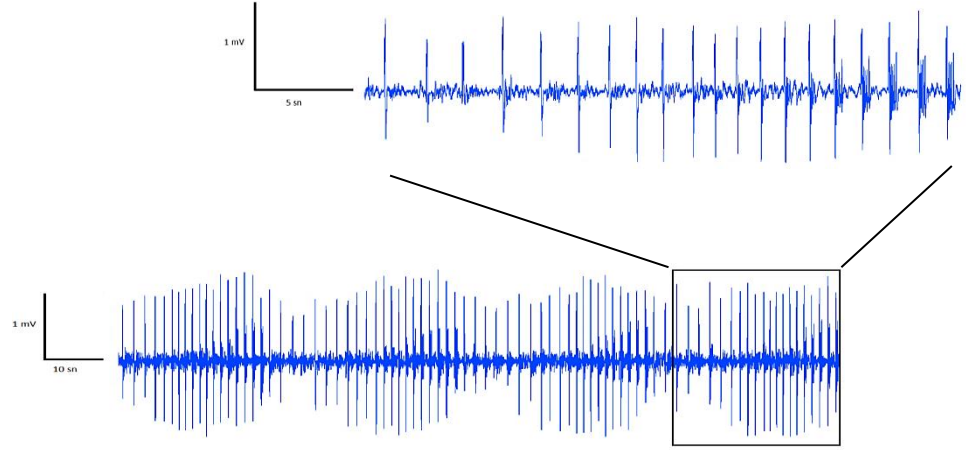


B) Penisilin + AM-251 (0,125 µg)

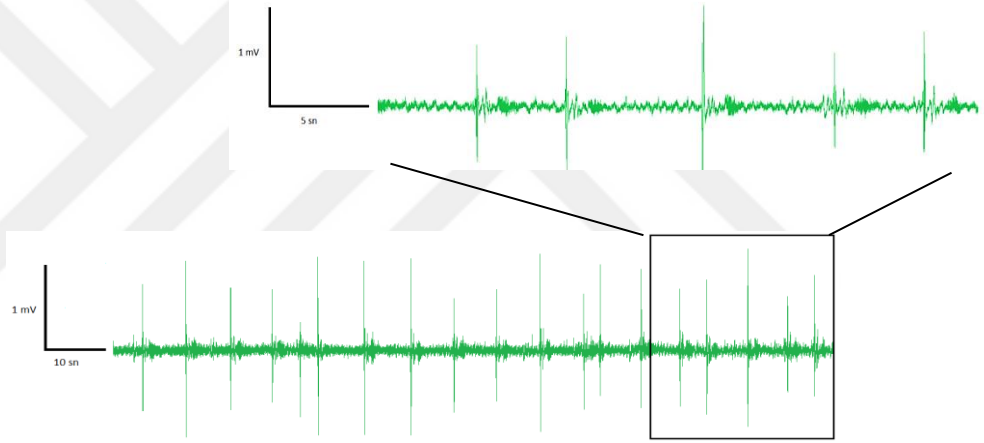


Şekil 25. A) Sadece penisilin (500 IU i.k.) B) Penisilin + AM-251 (0,125 µg, i.s.v.) C) Penisilin + AM-251 (0,25 µg, i.s.v.) D) Penisilin + ACEA (7,5 µg) gruplarından 90. dakikada alınan ECoG kayıtlarından örnek görüntüler

C) Penisilin + AM-251 (0,25 μ g)



D) Penisilin + ACEA (7,5 μ g)



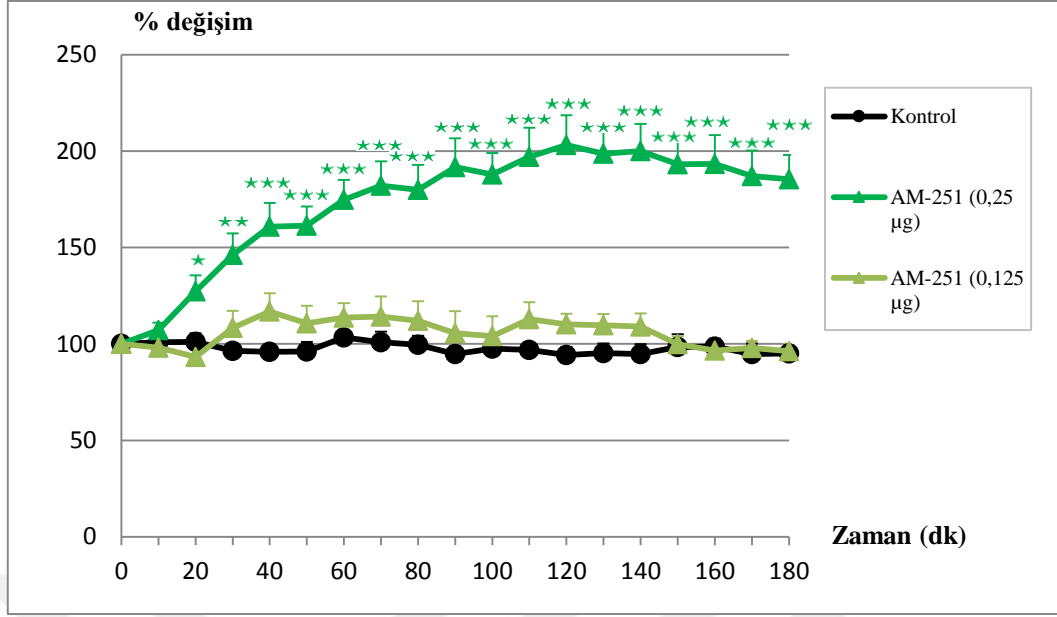
Şekil 25. (Devamı)

Tablo 7. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), AM-251 (0,25 µg) ve ACEA (7,5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı ± SEM)

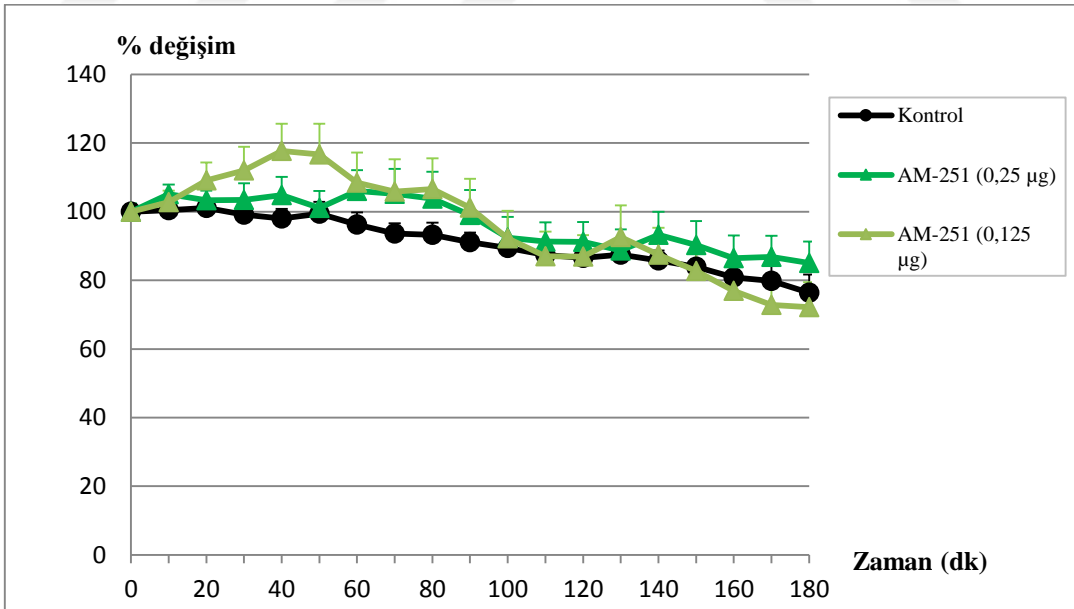
Zaman (dk)	Kontrol (spike/dk)	AM-251 (0,125 µg) (spike/dk)	AM-251 (0,25 µg) (spike/dk)	ACEA (7,5 µg) (spike/dk)
0. dakika	44,1 ± 2,9	47,0 ± 4,9	42,5 ± 2,0	42,5 ± 2,4
10. dakika	45,0 ± 4,5	45,0 ± 2,9	45,6 ± 2,8	38,7 ± 2,4
20. dakika	42,3 ± 4,2	42,7 ± 3,7	54,0 ± 4,0	36,3 ± 2,8
30. dakika	42,6 ± 3,4	49,2 ± 3,8	61,4 ± 4,1	34,4 ± 3,7
40. dakika	42,8 ± 3,8	52,9 ± 3,1	68,0 ± 5,2	32,3 ± 3,1
50. dakika	42,6 ± 3,7	50,1 ± 2,8	67,9 ± 4,0	29,0 ± 2,4
60. dakika	46,4 ± 4,9	51,6 ± 2,7	74,2 ± 5,4	26,3 ± 1,6
70. dakika	45,0 ± 4,3	51,2 ± 2,4	78,1 ± 7,4	23,7 ± 1,8
80. dakika	44,0 ± 3,2	50,5 ± 3,0	77,6 ± 7,9	23,5 ± 1,3
90. dakika	41,4 ± 2,2	47,4 ± 3,5	82,3 ± 8,4	21,0 ± 2,2
100. dakika	41,8 ± 4,1	46,6 ± 2,7	80,4 ± 6,8	20,3 ± 3,1
110. dakika	42,8 ± 2,7	51,2 ± 3,3	84,0 ± 8,2	19,9 ± 3,4
120. dakika	41,2 ± 3,9	51,1 ± 4,8	87,0 ± 8,0	16,8 ± 3,9
130. dakika	42,1 ± 3,5	50,7 ± 4,3	85,4 ± 8,3	18,1 ± 4,2
140. dakika	41,4 ± 2,7	51,0 ± 5,6	86,0 ± 8,3	16,8 ± 3,8
150. dakika	42,9 ± 3,6	47,0 ± 5,5	83,0 ± 7,8	15,6 ± 4,3
160. dakika	38,7 ± 2,7	45,0 ± 5,0	83,7 ± 9,1	13,4 ± 3,5
170. dakika	41,5 ± 2,7	46,4 ± 6,0	80,3 ± 7,8	10,7 ± 4,0
180. dakika	41,8 ± 2,7	45,5 ± 5,9	79,7 ± 8,0	10,4 ± 3,4

Tablo 8. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), AM-251 (0,25 µg) ve ACEA (7,5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike amplitüdü ± SEM)

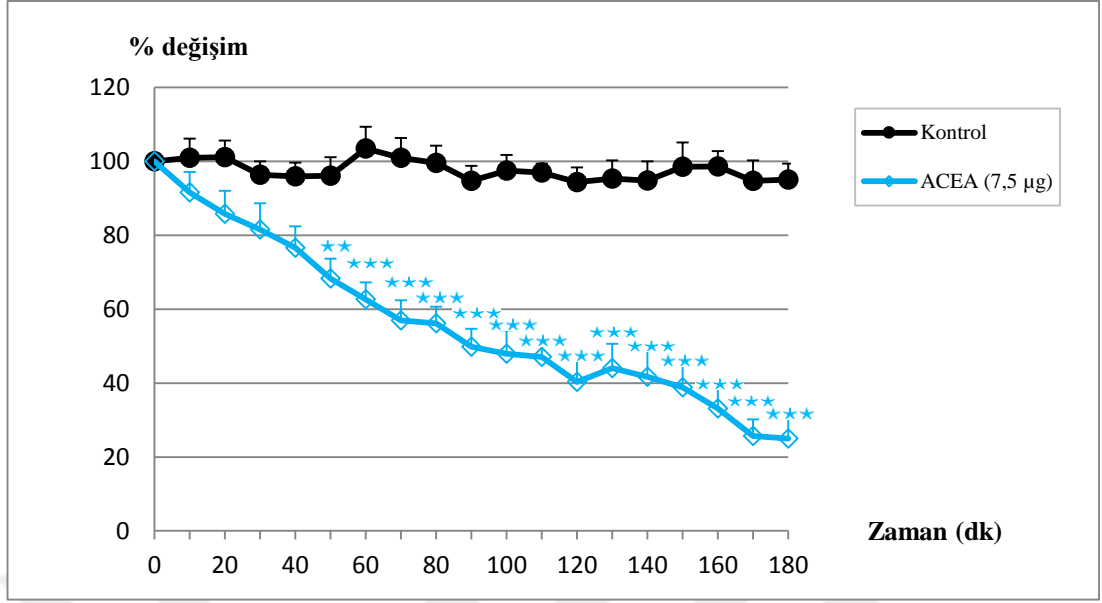
Zaman (dk)	SPIKE AMPLİTÜDÜ (µV)			
	Kontrol (µV)	AM-251 (0,125 µg) (µV)	AM-251 (0,25 µg) (µV)	ACEA (7,5 µg) (µV)
0. dakika	1102 ± 90	937 ± 90	1085 ± 77	1130 ± 154
10. dakika	1107 ± 89	961 ± 92	1136 ± 81	1117 ± 162
20. dakika	1116 ± 93	1010 ± 75	1122 ± 86	1051 ± 173
30. dakika	1092 ± 94	1020 ± 32	1123 ± 88	1023 ± 166
40. dakika	1073 ± 78	1068 ± 20	1124 ± 80	959 ± 139
50. dakika	1091 ± 91	1056 ± 32	1086 ± 69	906 ± 121
60. dakika	1051 ± 75	985 ± 48	1150 ± 94	926 ± 148
70. dakika	1027 ± 81	963 ± 60	1138 ± 95	876 ± 120
80. dakika	1018 ± 80	979 ± 78	1121 ± 108	885 ± 139
90. dakika	1000 ± 82	930 ± 72	1067 ± 104	839 ± 106
100. dakika	991 ± 93	847 ± 33	996 ± 96	832 ± 106
110. dakika	966 ± 92	801 ± 68	988 ± 90	829 ± 106
120. dakika	939 ± 84	803 ± 66	988 ± 92	762 ± 100
130. dakika	962 ± 84	851 ± 81	957 ± 88	775 ± 102
140. dakika	950 ± 92	801 ± 63	1013 ± 102	747 ± 100
150. dakika	919 ± 84	760 ± 51	979 ± 102	761 ± 96
160. dakika	863 ± 78	707 ± 65	930 ± 91	735 ± 98
170. dakika	840 ± 79	667 ± 59	944 ± 99	734 ± 96
180. dakika	840 ± 81	660 ± 58	929 ± 100	734 ± 98



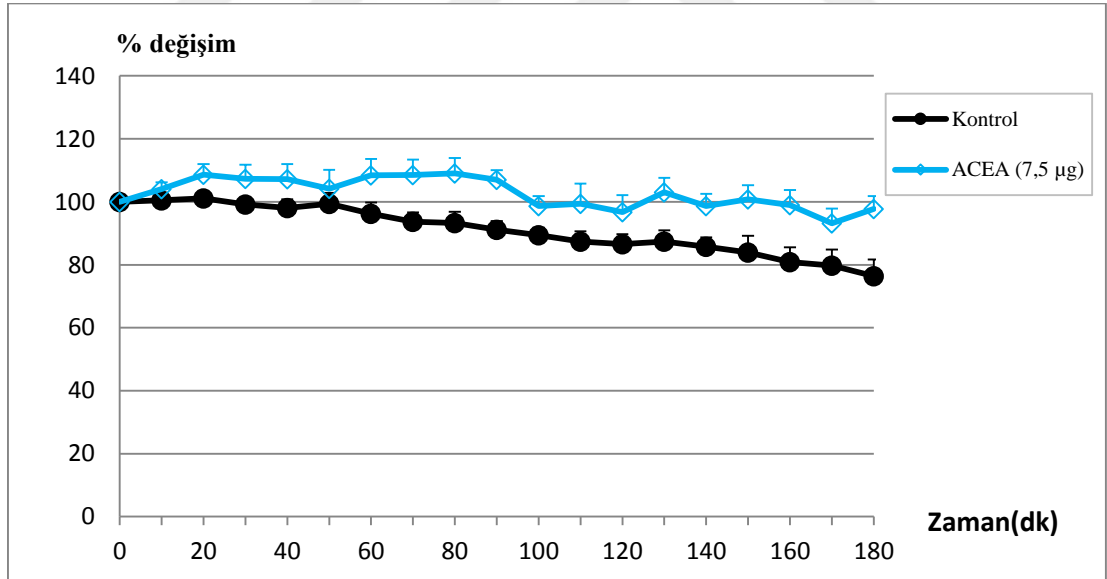
Şekil 26. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,25 µg) ve AM-251 (0,125 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubuna göre AM-251 (0,25 µg) spike aktivitesini 20. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde artırdı. Kontrol grubu ile AM-251 (0,125 µg) grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, ***= $p < 0,001$)



Şekil 27. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,25 µg) ve AM-251 (0,125 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$)



Şekil 28. Kontrol (penisilin, 500 IU) ve ACEA (7,5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). ACEA (7,5 µg) kontrol grubuna göre spike aktivitesini 50. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde azalttı (**=p<0,01, ***=p<0,001)



Şekil 29. Kontrol (penisilin, 500 IU) ve ACEA (7,5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile ACEA (7,5 µg) grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0,05)

4.4. Apelin ve Kanabinoid Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra ilk madde, 10 dk. sonra ikinci madde ve ikinci madde uygulamasından 10 dk. sonra da üçüncü madde verilerek AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg), ACEA (7,5 µg) + apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) ve AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) grupları oluşturuldu ve epileptiform aktivite üzerine olan etkileri incelendi (Şekil-30).

4.4.1. AM-251 (0,25 µg) + Apelin-13 (15 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Sunulan çalışmada penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra AM-251' in 0,25 µg'lık (i.s.v.) dozu, 10 dk. sonra da apelin-13'ün 15 µg'lık (i.s.v.) dozu uygulandı. AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg) verilen grupta 90. dakikadaki spike frekansı $86,1 \pm 8,0$ spike/dk, amplitüdü 1069 ± 56 µV olarak bulundu (Şekil 30-B). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 9 ve 10'da verildi. 180 dakika boyunca alınan kayıtlarda 30. dakikadan itibaren kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilirken ($p < 0,05$) amplitüdünde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0,05$) (Şekil 31 ve 32).

4.4.2. ACEA (7,5 µg) + Apelin-13 (15 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Sunulan çalışmada penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra ACEA'nın 7,5 µg'lık (i.s.v.) dozu, 10 dk. sonra da apelin-13'ün 15 µg'lık (i.s.v.) dozu uygulandı. ACEA (7,5 µg) + apelin-13 (15 µg) verilen grupta 90. dakikadaki spike frekansı $30,0 \pm 8,4$ spike/dk, amplitüdü 700 ± 82 µV olarak kaydedilmiştir (Şekil 30-C). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 11 ve 12'de verildi. 180 dk. boyunca alınan kayıtlarda 40. dakikadan itibaren kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilirken ($p < 0,05$) amplitüdünde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0,05$) (Şekil 33 ve 34).

4.4.3. AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (15 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Sunulan çalışmada penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra AM-251'in 0,125 µg'lık (i.s.v.) dozu, 10 dk. sonra da apelin-13'ün 15 µg'lık (i.s.v.) dozu uygulandı. AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) verilen grupta 90. dakikadaki spike frekansı $61,3 \pm 3,6$ spike/dk, amplitüdü 849 ± 50 µV olarak bulundu (Şekil 30-D). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 13 ve 14'te verildi. 180 dk. boyunca alınan kayıtlarda 30. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna kıyasla spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilirken ($p < 0,05$) amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0,05$) (Şekil 35 ve 36).

4.4.4. AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

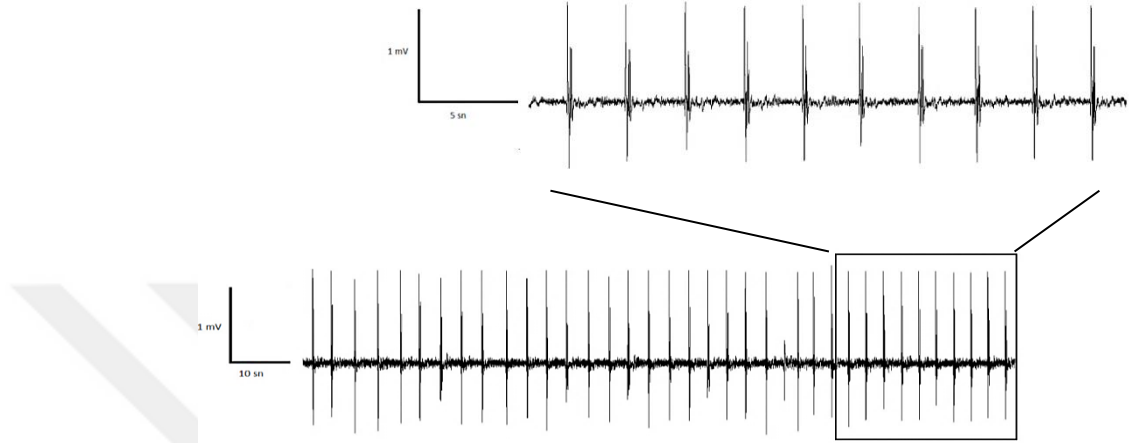
Sunulan çalışmada penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra AM-251'in 0,125 µg'lık (1 µl, i.s.v.) dozu, 10 dk. sonra da apelin-13'ün 5 µg'lık (i.s.v.) dozu uygulandı. AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) verilen grupta 90. dakikadaki spike frekansı $53,2 \pm 8,1$ spike/dk, amplitüdü 1018 ± 102 µV olarak bulundu (Şekil 30-E). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 15 ve 16'da verilmiştir. 180 dk. boyunca alınan kayıtlarda kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre spike frekansında ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0,05$) (Şekil 37 ve 38).

4.4.5. AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

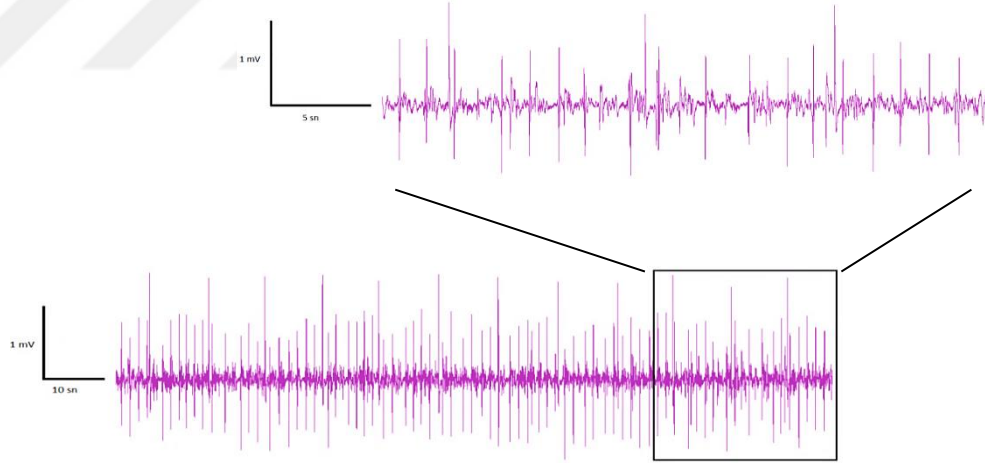
Sunulan çalışmada penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra AM-251'in 0,125 µg'lık (i.s.v.) dozu, 10 dk. sonra apelin-13'ün 5 µg'lık (i.s.v.) dozu, 10 dk. sonra da ACEA'nın 7,5 µg'lık (i.s.v.) dozu uygulandı. AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) verilen grupta 90. dakikadaki spike frekansı $31,5 \pm 7,0$ spike/dk, amplitüdü 987 ± 89 µV olarak bulundu (Şekil 30-F). Ayrıca onar dakikalık spike sayısı ortalamaları ve amplitüd ortalamaları da Tablo 17 ve 18'de verilmiştir. 180 dk. boyunca alınan kayıtlarda 50. dakikadan itibaren kayıt sonuna kadar kontrol

grubuna göre spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilirken ($p < 0,05$) amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p > 0,05$) ($p > 0,05$) (Şekil 39 ve 40).

A) Penisilin (500 IU)

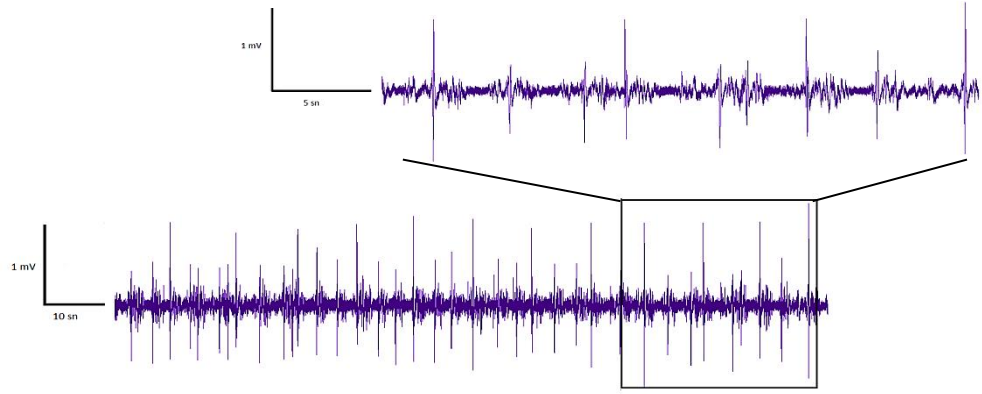


B) Penisilin + AM-251 (0,25 µg, i.s.v.) + Apelin-13 (15 µg, i.s.v.)

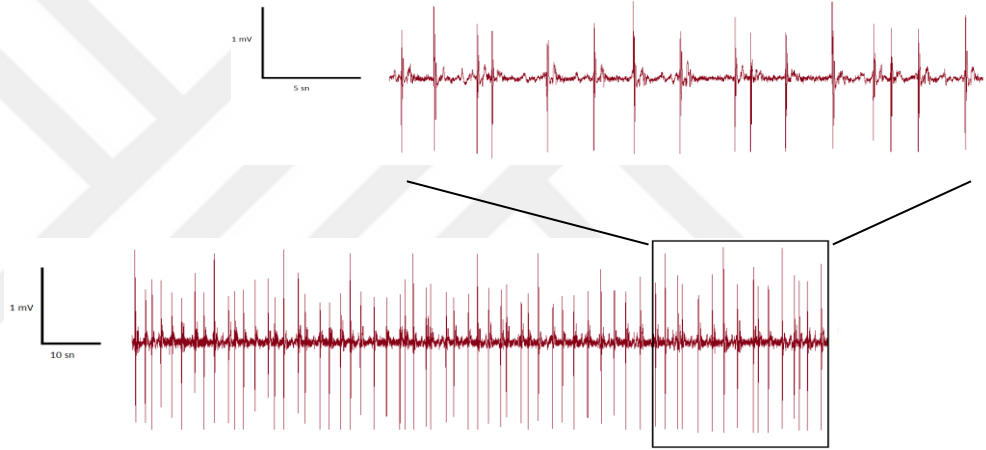


Şekil 30. A) Sadece penisilin (500 IU i.k.) **B)** Penisilin + AM-251 (0,25 µg, i.s.v.) + Apelin-13 (15 µg, i.s.v.) **C)** Penisilin + ACEA (7,5 µg, i.s.v.) + Apelin-13 (15 µg, i.s.v.) **D)** Penisilin + AM-251 (0,125 µg, i.s.v.) + Apelin-13 (15 µg, i.s.v.) **E)** Penisilin + AM-251 (0,125 µg, i.s.v.) + Apelin-13 (5 µg, i.s.v.) **F)** Penisilin + AM-251 (0,125 µg, i.s.v.) + Apelin-13 (5 µg, i.s.v.) + ACEA (7,5 µg, i.s.v.) gruplarından 90. dakikada alınan ECoG kayıtlarından örnek görüntüler

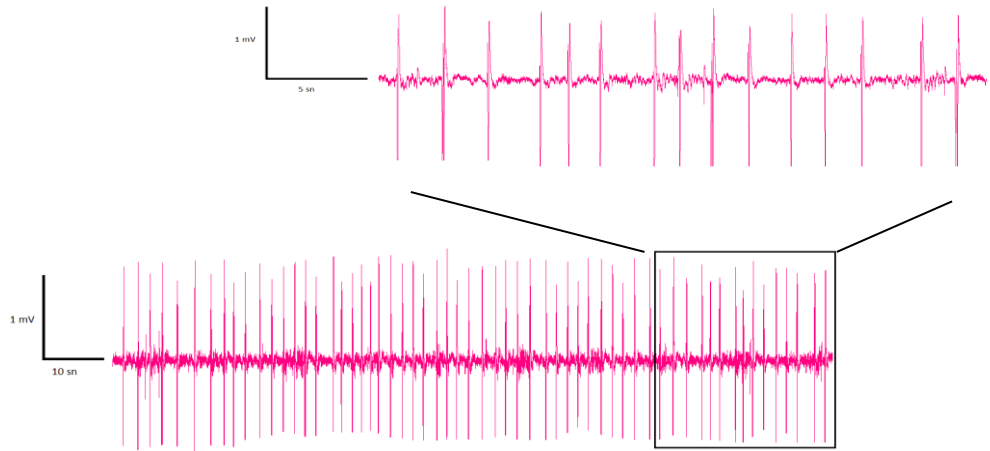
C) Penisilin + ACEA (7,5 μg , i.s.v.) + Apelin-13 (15 μg , i.s.v.)



D) Penisilin + AM-251 (0,125 μg , i.s.v.) + Apelin-13 (15 μg , i.s.v.)

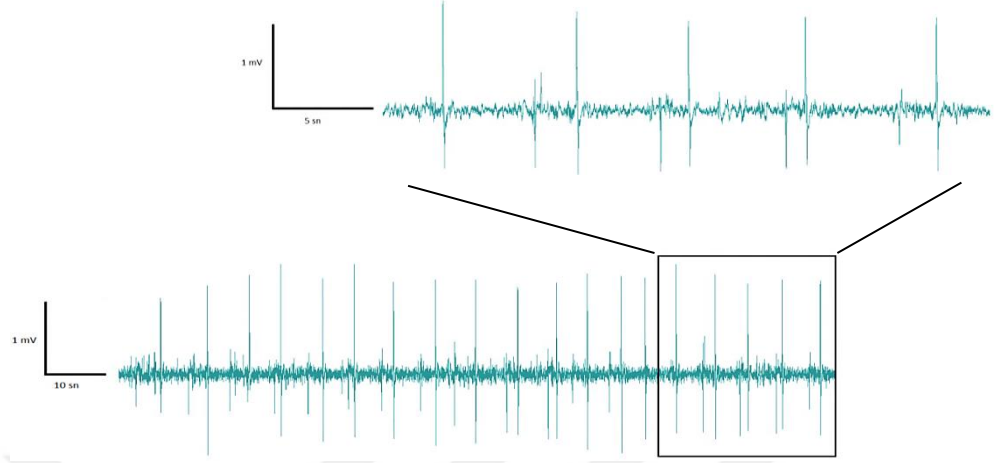


E) Penisilin + AM-251 (0,125 μg , i.s.v.) + Apelin-13 (5 μg , i.s.v.)



Şekil 30. (Devamı)

F) Penisilin + AM-251 (0,125 μg , i.s.v.) + Apelin-13 (5 μg , i.s.v.) + ACEA (7,5 μg , i.s.v.)



Şekil 30. (Devamı)

Tablo 9. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,25 µg), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı ± SEM)

Zaman (dk)	Kontrol (spike/dk)	AM-251 (0,25 µg) (spike/dk)	Apelin-13 (15 µg) (spike/dk)	AM-251 (0,25 µg) + Apelin-13 (15 µg) (spike/dk)
0. dakika	44,1 ± 2,9	42,5 ± 2,0	44,0 ± 4,2	47,5 ± 6,0
10. dakika	45,0 ± 4,5	45,6 ± 2,8	49,1 ± 5,4	50,4 ± 6,6
20. dakika	42,3 ± 4,2	54,0 ± 4,0	55,8 ± 3,6	57,1 ± 7,0
30. dakika	42,6 ± 3,4	61,4 ± 4,1	60,3 ± 5,2	63,6 ± 9,7
40. dakika	42,8 ± 3,8	68,0 ± 5,2	63,0 ± 6,5	63,1 ± 7,5
50. dakika	42,6 ± 3,7	67,9 ± 4,0	66,4 ± 6,2	70,2 ± 9,1
60. dakika	46,4 ± 4,9	74,2 ± 5,4	66,5 ± 6,7	77,1 ± 9,7
70. dakika	45,0 ± 4,3	78,1 ± 7,4	67,6 ± 7,1	81,3 ± 8,4
80. dakika	44,0 ± 3,2	77,6 ± 7,9	64,0 ± 6,0	84,0 ± 8,5
90. dakika	41,4 ± 2,2	82,3 ± 8,4	61,9 ± 5,6	86,1 ± 8,0
100. dakika	41,8 ± 4,1	80,4 ± 6,8	67,5 ± 10,3	84,3 ± 7,1
110. dakika	42,8 ± 2,7	84,0 ± 8,2	62,8 ± 6,9	83,1 ± 6,7
120. dakika	41,2 ± 3,9	87,0 ± 8,0	62,6 ± 7,6	84,1 ± 7,4
130. dakika	42,1 ± 3,5	85,4 ± 8,3	62,0 ± 6,2	85,2 ± 7,4
140. dakika	41,4 ± 2,7	86,0 ± 8,3	59,4 ± 7,1	83,8 ± 8,8
150. dakika	42,9 ± 3,6	83,0 ± 7,8	60,6 ± 5,4	79,7 ± 7,2
160. dakika	38,7 ± 2,7	83,7 ± 9,1	61,6 ± 7,1	80,4 ± 7,6
170. dakika	41,5 ± 2,7	80,3 ± 7,8	61,2 ± 6,0	79,3 ± 7,4
180. dakika	41,8 ± 2,7	79,7 ± 8,0	57,0 ± 6,2	80,1 ± 7,1

Tablo 10. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,25 µg), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike amplitüdü ± SEM)

Zaman (dk)	SPIKE AMPLİTÜD (µV)			
	Kontrol (µV)	AM-251 (0,25 µg) (µV)	Apelin-13 (15 µg) (µV)	AM-251 (0,25 µg) + Apelin-13 (15 µg) (µV)
0. dakika	1102 ± 90	1085 ± 77	1075 ± 121	1216 ± 78
10. dakika	1107 ± 89	1136 ± 81	1056 ± 132	1221 ± 62
20. dakika	1116 ± 93	1122 ± 86	1038 ± 114	1157 ± 59
30. dakika	1092 ± 94	1123 ± 88	968 ± 126	1135 ± 50
40. dakika	1073 ± 78	1124 ± 80	930 ± 118	1150 ± 42
50. dakika	1091 ± 91	1086 ± 69	923 ± 126	1150 ± 51
60. dakika	1051 ± 75	1150 ± 94	944 ± 110	1104 ± 50
70. dakika	1027 ± 81	1138 ± 95	994 ± 113	1125 ± 58
80. dakika	1018 ± 80	1121 ± 108	1021 ± 112	1083 ± 57
90. dakika	1000 ± 82	1067 ± 104	1044 ± 121	1069 ± 56
100. dakika	991 ± 93	996 ± 96	1005 ± 108	1099 ± 52
110. dakika	966 ± 92	988 ± 90	966 ± 107	1095 ± 48
120. dakika	939 ± 84	988 ± 92	948 ± 107	1088 ± 52
130. dakika	962 ± 84	957 ± 88	982 ± 102	1070 ± 54
140. dakika	950 ± 92	1013 ± 102	957 ± 104	1080 ± 50
150. dakika	919 ± 84	979 ± 102	978 ± 106	1068 ± 54
160. dakika	863 ± 78	930 ± 91	1009 ± 112	1040 ± 48
170. dakika	840 ± 79	944 ± 99	953 ± 108	1005 ± 45
180. dakika	840 ± 81	929 ± 100	959 ± 112	989 ± 53

Tablo 11. Kontrol (penisilin, 500 IU), ACEA (7,5 µg), apelin-13 (15 µg), ACEA (7,5 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı ± SEM)

Zaman (dk)	Kontrol (spike/dk)	ACEA (7,5 µg) (spike/dk)	Apelin-13 (15 µg) (spike/dk)	ACEA (7,5 µg) + Apelin-13 (15 µg) (spike/dk)
0. dakika	44,1 ± 2,9	42,5 ± 2,4	44,0 ± 4,2	63,6 ± 7,1
10. dakika	45,0 ± 4,5	38,7 ± 2,4	49,1 ± 5,4	58,1 ± 8,0
20. dakika	42,3 ± 4,2	36,3 ± 2,8	55,8 ± 3,6	53,5 ± 7,9
30. dakika	42,6 ± 3,4	34,4 ± 3,7	60,3 ± 5,2	50,3 ± 7,8
40. dakika	42,8 ± 3,8	32,3 ± 3,1	63,0 ± 6,5	46,2 ± 7,4
50. dakika	42,6 ± 3,7	29,0 ± 2,4	66,4 ± 6,2	39,3 ± 7,3
60. dakika	46,4 ± 4,9	26,3 ± 1,6	66,5 ± 6,7	33,7 ± 7,2
70. dakika	45,0 ± 4,3	23,7 ± 1,8	67,6 ± 7,1	31,0 ± 8,0
80. dakika	44,0 ± 3,2	23,5 ± 1,3	64,0 ± 6,0	31,1 ± 8,2
90. dakika	41,4 ± 2,2	21,0 ± 2,2	61,9 ± 5,6	30,0 ± 8,4
100. dakika	41,8 ± 4,1	20,3 ± 3,1	67,5 ± 10,3	31,5 ± 7,4
110. dakika	42,8 ± 2,7	19,9 ± 3,4	62,8 ± 6,9	26,2 ± 9,0
120. dakika	41,2 ± 3,9	16,8 ± 3,9	62,6 ± 7,6	23,8 ± 8,9
130. dakika	42,1 ± 3,5	18,1 ± 4,2	62,0 ± 6,2	23,9 ± 8,0
140. dakika	41,4 ± 2,7	16,8 ± 3,8	59,4 ± 7,1	21,3 ± 8,0
150. dakika	42,9 ± 3,6	15,6 ± 4,3	60,6 ± 5,4	14,6 ± 3,4
160. dakika	38,7 ± 2,7	13,4 ± 3,5	61,6 ± 7,1	12,9 ± 2,8
170. dakika	41,5 ± 2,7	10,7 ± 4,0	61,2 ± 6,0	13,6 ± 3,0
180. dakika	41,8 ± 2,7	10,4 ± 3,4	57,0 ± 6,2	17,0 ± 4,7

Tablo 12. Kontrol (penisilin, 500 IU), ACEA (7,5 µg), apelin-13 (15 µg), ACEA (7,5 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (spike amplitüd ortalaması ± SEM)

Zaman (dk)	SPIKE AMPLİTÜDÜ (µV)			
	Kontrol (µV)	ACEA (7,5 µg) (µV)	Apelin-13 (15 µg) (µV)	ACEA (7,5 µg) + Apelin-13 (15 µg) (µV)
0. dakika	1102 ± 90	1130 ± 154	1075 ± 121	1022 ± 62
10. dakika	1107 ± 89	1117 ± 162	1056 ± 132	926 ± 82
20. dakika	1116 ± 93	1051 ± 173	1038 ± 114	840 ± 93
30. dakika	1092 ± 94	1023 ± 166	968 ± 126	820 ± 81
40. dakika	1073 ± 78	959 ± 139	930 ± 118	839 ± 64
50. dakika	1091 ± 91	906 ± 121	923 ± 126	792 ± 72
60. dakika	1051 ± 75	926 ± 148	944 ± 110	746 ± 79
70. dakika	1027 ± 81	876 ± 120	994 ± 113	730 ± 76
80. dakika	1018 ± 80	885 ± 139	1021 ± 112	710 ± 85
90. dakika	1000 ± 82	839 ± 106	1044 ± 121	700 ± 82
100. dakika	991 ± 93	832 ± 106	1005 ± 108	687 ± 78
110. dakika	966 ± 92	829 ± 106	966 ± 107	638 ± 68
120. dakika	939 ± 84	762 ± 100	948 ± 107	659 ± 70
130. dakika	962 ± 84	775 ± 102	982 ± 102	670 ± 69
140. dakika	950 ± 92	747 ± 100	957 ± 104	669 ± 64
150. dakika	919 ± 84	761 ± 96	978 ± 106	619 ± 53
160. dakika	863 ± 78	735 ± 98	1009 ± 112	653 ± 57
170. dakika	840 ± 79	734 ± 96	953 ± 108	637 ± 60
180. dakika	840 ± 81	734 ± 98	959 ± 112	652 ± 76

Tablo 13. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı ± SEM)

Zaman (dk)	Kontrol (spike/dk)	AM-251 (0,125 µg) (spike/dk)	Apelin-13 (15 µg) (spike/dk)	Apelin-13 (15 µg) + AM-251 (0,125 µg) (spike/dk)
0. dakika	44,1 ± 2,9	47,0 ± 4,9	44,0 ± 4,2	42,7 ± 2,7
10. dakika	45,0 ± 4,5	45,0 ± 2,9	49,1 ± 5,4	45,1 ± 3,4
20. dakika	42,3 ± 4,2	42,7 ± 3,7	55,8 ± 3,6	51,2 ± 4,6
30. dakika	42,6 ± 3,4	49,2 ± 3,8	60,3 ± 5,2	57,1 ± 3,5
40. dakika	42,8 ± 3,8	52,9 ± 3,1	63,0 ± 6,5	59,0 ± 2,8
50. dakika	42,6 ± 3,7	50,1 ± 2,8	66,4 ± 6,2	60,5 ± 3,9
60. dakika	46,4 ± 4,9	51,6 ± 2,7	66,5 ± 6,7	60,9 ± 3,3
70. dakika	45,0 ± 4,3	51,2 ± 2,4	67,6 ± 7,1	59,7 ± 2,9
80. dakika	44,0 ± 3,2	50,5 ± 3,0	64,0 ± 6,0	60,6 ± 3,5
90. dakika	41,4 ± 2,2	47,4 ± 3,5	61,9 ± 5,6	61,3 ± 3,6
100. dakika	41,8 ± 4,1	46,6 ± 2,7	67,5 ± 10,3	59,3 ± 4,2
110. dakika	42,8 ± 2,7	51,2 ± 3,3	62,8 ± 6,9	58,3 ± 3,4
120. dakika	41,2 ± 3,9	51,1 ± 4,8	62,6 ± 7,6	58,7 ± 2,6
130. dakika	42,1 ± 3,5	50,7 ± 4,3	62,0 ± 6,2	57,0 ± 2,7
140. dakika	41,4 ± 2,7	51,0 ± 5,6	59,4 ± 7,1	54,9 ± 2,5
150. dakika	42,9 ± 3,6	47,0 ± 5,5	60,6 ± 5,4	54,4 ± 2,7
160. dakika	38,7 ± 2,7	45,0 ± 5,0	61,6 ± 7,1	54,8 ± 3,4
170. dakika	41,5 ± 2,7	46,4 ± 6,0	61,2 ± 6,0	53,3 ± 3,5
180. dakika	41,8 ± 2,7	45,5 ± 5,9	57,0 ± 6,2	53,7 ± 3,2

Tablo 14. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike amplitüdÜ ± SEM)

Zaman (dk)	SPIKE AMPLİTÜDÜ (µV)			
	Kontrol (µV)	AM-251 (0,125 µg) (µV)	Apelin-13 (15 µg) (µV)	AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (15 µg) (µV)
0. dakika	1102 ± 90	937 ± 90	1075 ± 121	953 ± 46
10. dakika	1107 ± 89	961 ± 92	1056 ± 132	944 ± 40
20. dakika	1116 ± 93	1010 ± 75	1038 ± 114	896 ± 70
30. dakika	1092 ± 94	1020 ± 32	968 ± 126	905± 34
40. dakika	1073 ± 78	1068 ± 20	930 ± 118	981± 42
50. dakika	1091 ± 91	1056 ± 32	923 ± 126	1009 ± 63
60. dakika	1051 ± 75	985 ± 48	944 ± 110	876 ± 42
70. dakika	1027 ± 81	963 ± 60	994 ± 113	831 ± 46
80. dakika	1018 ± 80	979 ± 78	1021 ± 112	856 ± 21
90. dakika	1000 ± 82	930 ± 72	1044 ± 121	849 ± 50
100. dakika	991 ± 93	847 ± 33	1005 ± 108	838 ± 42
110. dakika	966 ± 92	801 ± 68	966 ± 107	880 ± 42
120. dakika	939 ± 84	803 ± 66	948 ± 107	942 ± 37
130. dakika	962 ± 84	851 ± 81	982 ± 102	943 ± 39
140. dakika	950 ± 92	801 ± 63	957 ± 104	921 ± 42
150. dakika	919 ± 84	760 ± 51	978 ± 106	900 ± 43
160. dakika	863 ± 78	707 ± 65	1009 ± 112	904 ± 59
170. dakika	840 ± 79	667 ± 59	953 ± 108	852 ± 62
180. dakika	840 ± 81	660 ± 58	959 ± 112	834 ± 42

Tablo 15. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), apelin-13 (5 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı ± SEM)

Zaman (dk)	Kontrol (spike/dk)	AM-251 (0,125 µg) (spike/dk)	Apelin-13 (5 µg) (spike/dk)	AM-251 (0,125 µg) + Apelin (5 µg) (spike/dk)
0. dakika	44,1 ± 2,9	47,0 ± 4,9	39,5 ± 4,0	49,4 ± 5,6
10. dakika	45,0 ± 4,5	45,0 ± 2,9	43,0 ± 4,3	52,3 ± 5,6
20. dakika	42,3 ± 4,2	42,7 ± 3,7	44,1 ± 4,1	55,4 ± 5,7
30. dakika	42,6 ± 3,4	49,2 ± 3,8	44,0 ± 3,7	57,1 ± 5,3
40. dakika	42,8 ± 3,8	52,9 ± 3,1	44,7 ± 4,2	55,5 ± 6,3
50. dakika	42,6 ± 3,7	50,1 ± 2,8	45,1 ± 4,1	57,3 ± 6,8
60. dakika	46,4 ± 4,9	51,6 ± 2,7	44,3 ± 4,0	55,4 ± 6,8
70. dakika	45,0 ± 4,3	51,2 ± 2,4	41,1 ± 3,1	56,1 ± 7,7
80. dakika	44,0 ± 3,2	50,5 ± 3,0	41,2 ± 3,2	52,1 ± 6,4
90. dakika	41,4 ± 2,2	47,4 ± 3,5	47,2 ± 5,2	53,2 ± 8,1
100. dakika	41,8 ± 4,1	46,6 ± 2,7	42,9 ± 3,5	49,4 ± 5,0
110. dakika	42,8 ± 2,7	51,2 ± 3,3	41,0 ± 3,5	48,3 ± 5,8
120. dakika	41,2 ± 3,9	51,1 ± 4,8	42,3 ± 3,9	46,7 ± 5,7
130. dakika	42,1 ± 3,5	50,7 ± 4,3	44,1 ± 5,1	45,8 ± 6,0
140. dakika	41,4 ± 2,7	51,0 ± 5,6	44,5 ± 4,3	45,1 ± 5,5
150. dakika	42,9 ± 3,6	47,0 ± 5,5	44,4 ± 3,7	45,1 ± 4,0
160. dakika	38,7 ± 2,7	45,0 ± 5,0	46,7 ± 4,2	46,9 ± 6,5
170. dakika	41,5 ± 2,7	46,4 ± 6,0	47,1 ± 4,5	46,7 ± 4,5
180. dakika	41,8 ± 2,7	45,5 ± 5,9	42,7 ± 4,3	44,8 ± 6,2

Tablo 16. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), apelin-13 (5 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike amplitüdü ± SEM)

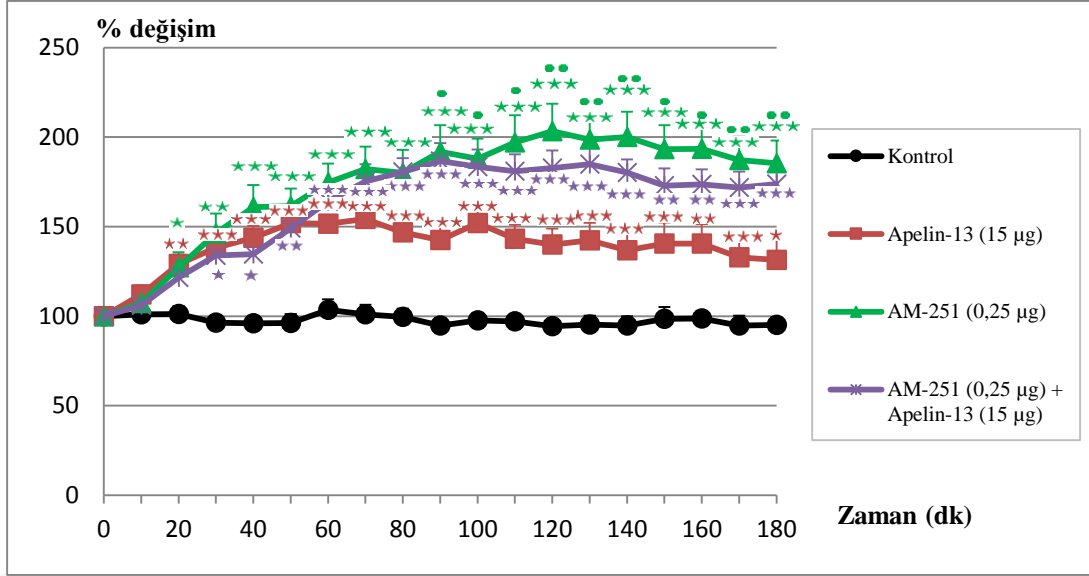
Zaman (dk)	SPIKE AMPLİTÜDÜ (µV)			
	Kontrol (µV)	AM-251 (0,125 µg) (µV)	Apelin-13 (5 µg) (µV)	AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (5 µg) (µV)
0. dakika	1102 ± 90	937 ± 90	1043 ± 111	1132 ± 89
10. dakika	1107 ± 89	961 ± 92	1030 ± 101	1067 ± 100
20. dakika	1116 ± 93	1010 ± 75	1023 ± 98	1097 ± 90
30. dakika	1092 ± 94	1020 ± 32	1013 ± 100	1070 ± 90
40. dakika	1073 ± 78	1068 ± 20	1018 ± 104	1176 ± 74
50. dakika	1091 ± 91	1056 ± 32	966 ± 93	1141 ± 89
60. dakika	1051 ± 75	985 ± 48	965 ± 84	1111 ± 90
70. dakika	1027 ± 81	963 ± 60	969 ± 92	1081 ± 92
80. dakika	1018 ± 80	979 ± 78	956 ± 96	1073 ± 84
90. dakika	1000 ± 82	930 ± 72	907 ± 83	1018 ± 102
100. dakika	991 ± 93	847 ± 33	894 ± 76	1031 ± 94
110. dakika	966 ± 92	801 ± 68	892 ± 72	1019 ± 99
120. dakika	939 ± 84	803 ± 66	907 ± 73	1036 ± 88
130. dakika	962 ± 84	851 ± 81	906 ± 78	1038 ± 87
140. dakika	950 ± 92	801 ± 63	889 ± 59	1050 ± 82
150. dakika	919 ± 84	760 ± 51	839 ± 55	1066 ± 84
160. dakika	863 ± 78	707 ± 65	845 ± 46	1073 ± 95
170. dakika	840 ± 79	667 ± 59	839 ± 45	1036 ± 105
180. dakika	840 ± 81	660 ± 58	830 ± 46	1043 ± 93

Tablo 17. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), apelin-13 (5 µg), ACEA (7,5 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike sayısı ± SEM)

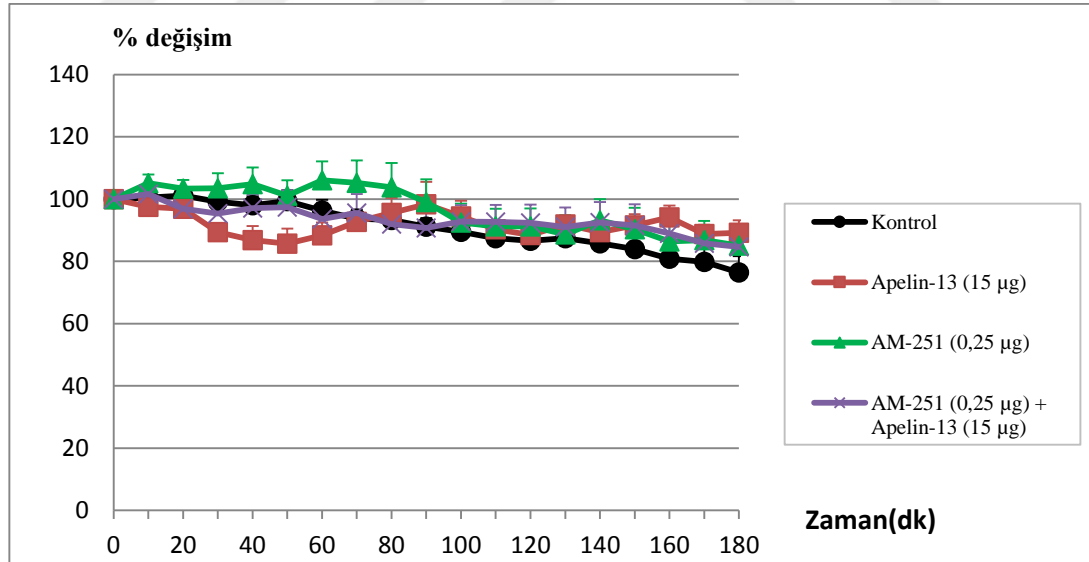
Zaman (dk)	Kontrol (spike/dk)	AM-251 (0,125 µg) (spike/dk)	Apelin-13 (5 µg) (spike/dk)	ACEA (7,5 µg) (spike/dk)	AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) (spike/dk)
0. dakika	44,1 ± 2,9	47,0 ± 4,9	39,5 ± 4,0	42,5 ± 2,4	51,0 ± 3,2
10. dakika	45,0 ± 4,5	45,0 ± 2,9	43,0 ± 4,3	38,7 ± 2,4	45,2 ± 1,7
20. dakika	42,3 ± 4,2	42,7 ± 3,7	44,1 ± 4,1	36,3 ± 2,8	56,0 ± 8,8
30. dakika	42,6 ± 3,4	49,2 ± 3,8	44,0 ± 3,7	34,4 ± 3,7	41,0 ± 5,7
40. dakika	42,8 ± 3,8	52,9 ± 3,1	44,7 ± 4,2	32,3 ± 3,1	39,6 ± 7,3
50. dakika	42,6 ± 3,7	50,1 ± 2,8	45,1 ± 4,1	29,0 ± 2,4	41,3 ± 7,0
60. dakika	46,4 ± 4,9	51,6 ± 2,7	44,3 ± 4,0	26,3 ± 1,6	39,4 ± 8,1
70. dakika	45,0 ± 4,3	51,2 ± 2,4	41,1 ± 3,1	23,7 ± 1,8	38,1 ± 8,3
80. dakika	44,0 ± 3,2	50,5 ± 3,0	41,2 ± 3,2	23,5 ± 1,3	35,3 ± 7,5
90. dakika	41,4 ± 2,2	47,4 ± 3,5	47,2 ± 5,2	21,0 ± 2,2	31,5 ± 7,0
100. dakika	41,8 ± 4,1	46,6 ± 2,7	42,9 ± 3,5	20,3 ± 3,1	29,5 ± 9,1
110. dakika	42,8 ± 2,7	51,2 ± 3,3	41,0 ± 3,5	19,9 ± 3,4	26,4 ± 7,9
120. dakika	41,2 ± 3,9	51,1 ± 4,8	42,3 ± 3,9	16,8 ± 3,9	24,1 ± 7,7
130. dakika	42,1 ± 3,5	50,7 ± 4,3	44,1 ± 5,1	18,1 ± 4,2	24,1 ± 7,7
140. dakika	41,4 ± 2,7	51,0 ± 5,6	44,5 ± 4,3	16,8 ± 3,8	25,7 ± 9,8
150. dakika	42,9 ± 3,6	47,0 ± 5,5	44,4 ± 3,7	15,6 ± 4,3	25,1 ± 8,1
160. dakika	38,7 ± 2,7	45,0 ± 5,0	46,7 ± 4,2	13,4 ± 3,5	22,2 ± 6,5
170. dakika	41,5 ± 2,7	46,4 ± 6,0	47,1 ± 4,5	10,7 ± 4,0	24,3 ± 7,3
180. dakika	41,8 ± 2,7	45,5 ± 5,9	42,7 ± 4,3	10,4 ± 3,4	23,3 ± 8,6

Tablo 18. Kontrol (penisilin, 500 IU), AM-251 (0,125 µg), apelin-13 (5 µg), ACEA (7,5 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin mikrovolt (µV) olarak her 10 dakika ortalama değerleri (ortalama spike amplitüdü ± SEM)

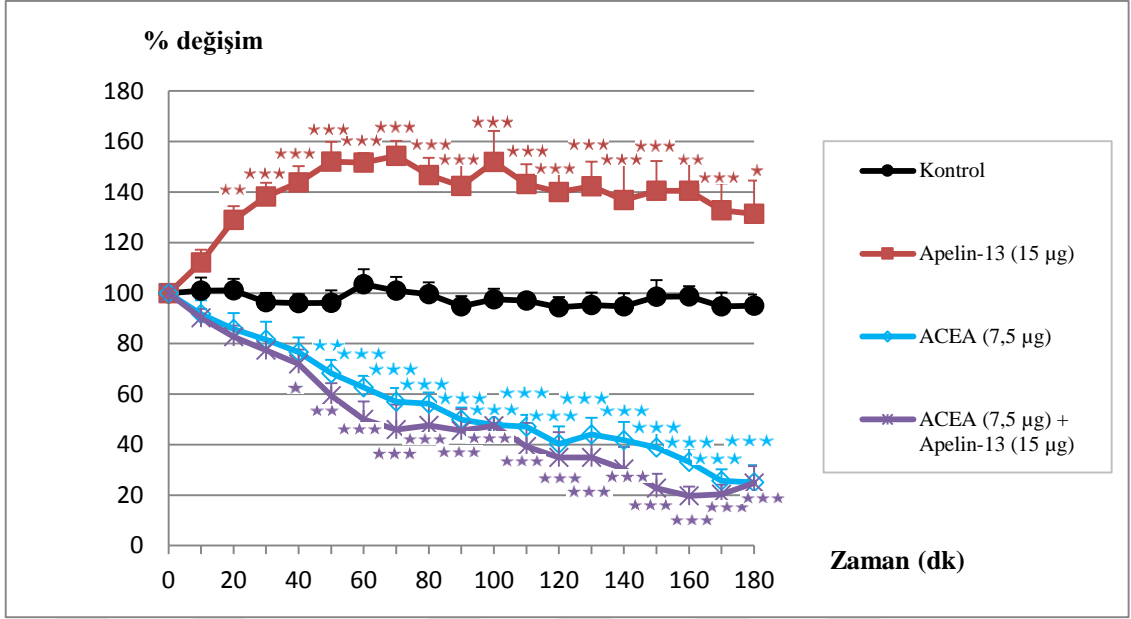
Zaman (dk)	SPIKE AMPLİTÜDÜ (µV)				
	Kontrol (µV)	AM-251 (0,125 µg) (µV)	Apelin-13 (5 µg) (µV)	ACEA (7,5 µg) (µV)	AM-251 (0,125 µg) + Apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) (µV)
0. dakika	1102 ± 90	937 ± 90	1043 ± 111	1130 ± 154	1149 ± 75
10. dakika	1107 ± 89	961 ± 92	1030 ± 101	1117 ± 162	1188 ± 90
20. dakika	1116 ± 93	1010 ± 75	1023 ± 98	1051 ± 173	1213 ± 83
30. dakika	1092 ± 94	1020 ± 32	1013 ± 100	1023 ± 166	1102 ± 92
40. dakika	1073 ± 78	1068 ± 20	1018 ± 104	959 ± 139	1079 ± 88
50. dakika	1091 ± 91	1056 ± 32	966 ± 93	906 ± 121	1096 ± 81
60. dakika	1051 ± 75	985 ± 48	965 ± 84	926 ± 148	1082 ± 73
70. dakika	1027 ± 81	963 ± 60	969 ± 92	876 ± 120	1085 ± 68
80. dakika	1018 ± 80	979 ± 78	956 ± 96	885 ± 139	1040 ± 79
90. dakika	1000 ± 82	930 ± 72	907 ± 83	839 ± 106	987 ± 89
100. dakika	991 ± 93	847 ± 33	894 ± 76	832 ± 106	982 ± 102
110. dakika	966 ± 92	801 ± 68	892 ± 72	829 ± 106	938 ± 98
120. dakika	939 ± 84	803 ± 66	907 ± 73	762 ± 100	957 ± 85
130. dakika	962 ± 84	851 ± 81	906 ± 78	775 ± 102	940 ± 88
140. dakika	950 ± 92	801 ± 63	889 ± 59	747 ± 100	955 ± 114
150. dakika	919 ± 84	760 ± 51	839 ± 55	761 ± 96	953 ± 113
160. dakika	863 ± 78	707 ± 65	845 ± 46	735 ± 98	922 ± 100
170. dakika	840 ± 79	667 ± 59	839 ± 45	734 ± 96	912 ± 94
180. dakika	840 ± 81	660 ± 58	830 ± 46	734 ± 98	929 ± 100



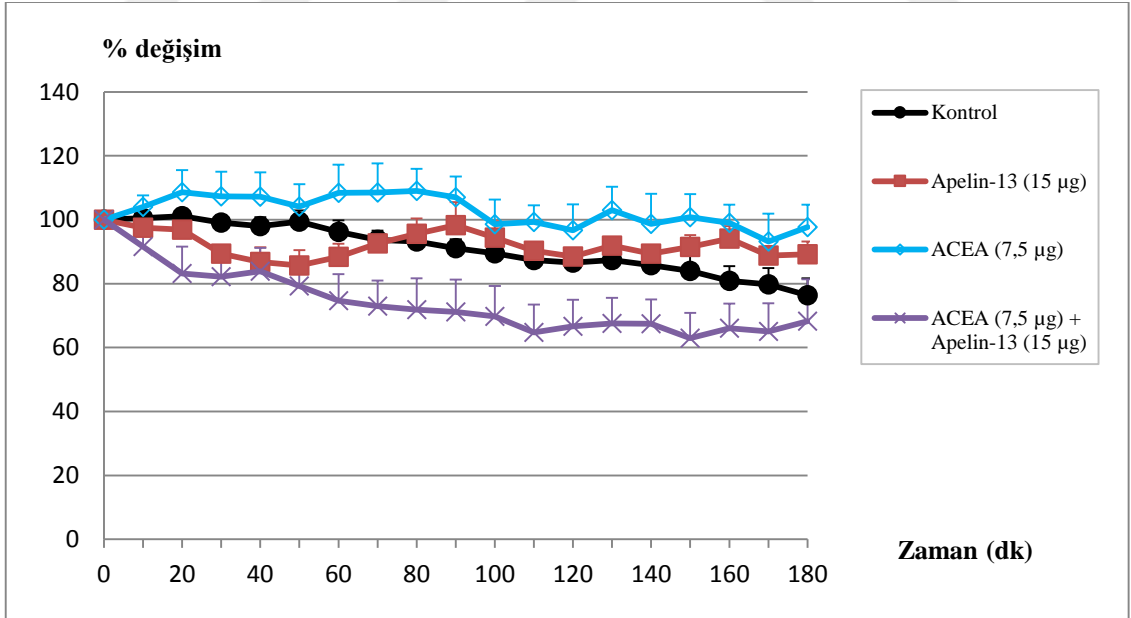
Şekil 31. Kontrol (penisilin 500 IU), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,25 µg) ve AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubuna göre AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg) grubu spike aktivitesini 30. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde artırdı (Kontrolle göre: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, 15 µg apelin-13'e göre: ● $p < 0,05$, ●● $p < 0,01$, ●●● $p < 0,001$)



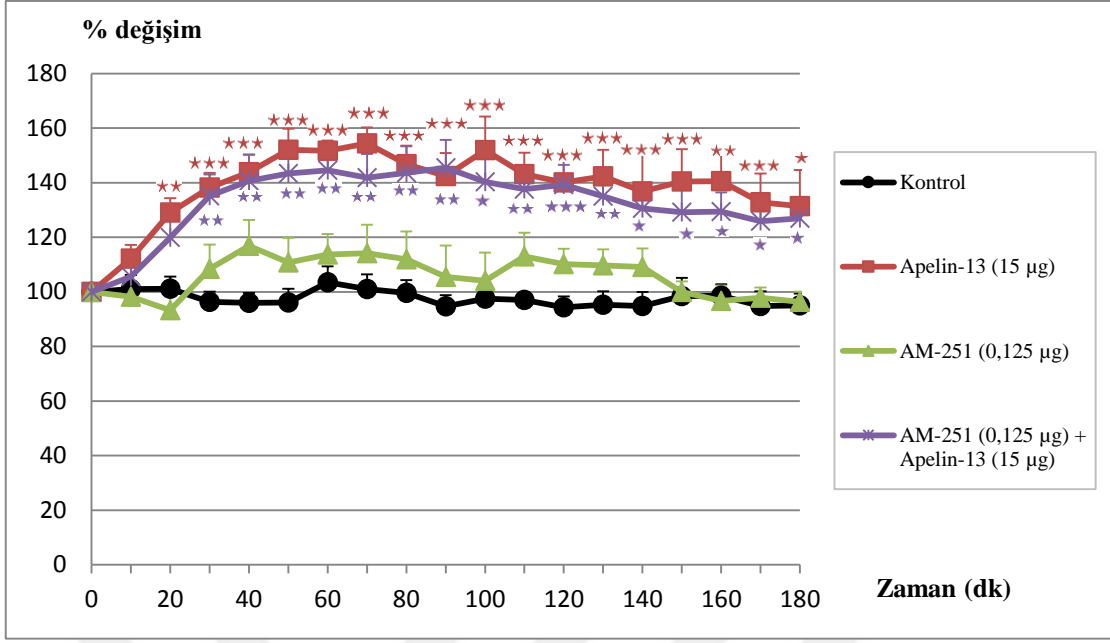
Şekil 32. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,25 µg), AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$)



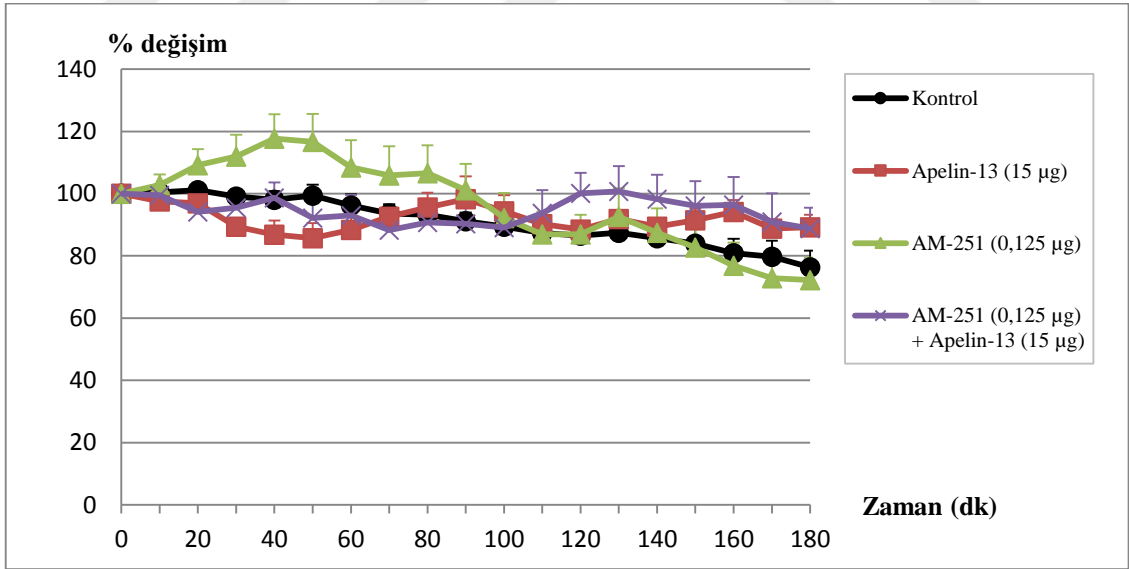
Şekil 33. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (15 µg), ACEA (7,5 µg), ACEA (7,5 µg) +apelin-13 (15 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubuna göre ACEA (7,5 µg) + apelin-13 (15 µg) grubu spike aktivitesini 40. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde azalttı (Kontrolle göre: *= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$)



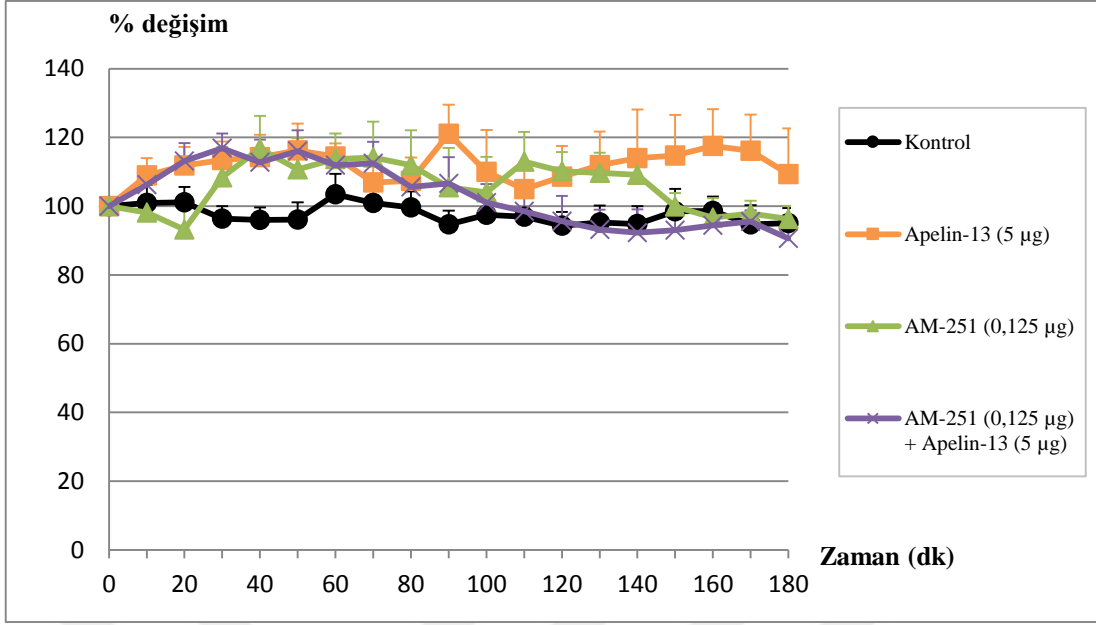
Şekil 34. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (15 µg), ACEA (7,5 µg), ACEA (7,5 µg) +apelin-13 (15 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$)



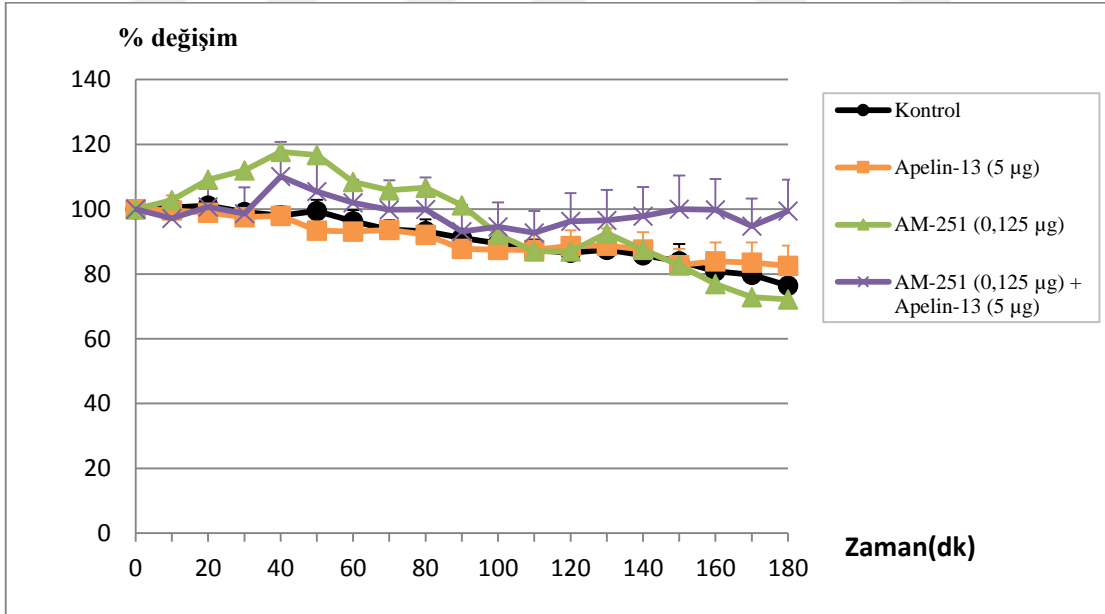
Şekil 35. Kontrol (penisilin 500 IU), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,125 µg) ve AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubuna göre AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) grubu spike aktivitesini 30. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde artırdı (*= $p < 0,05$, **= $p < 0,01$, ***= $p < 0,001$)



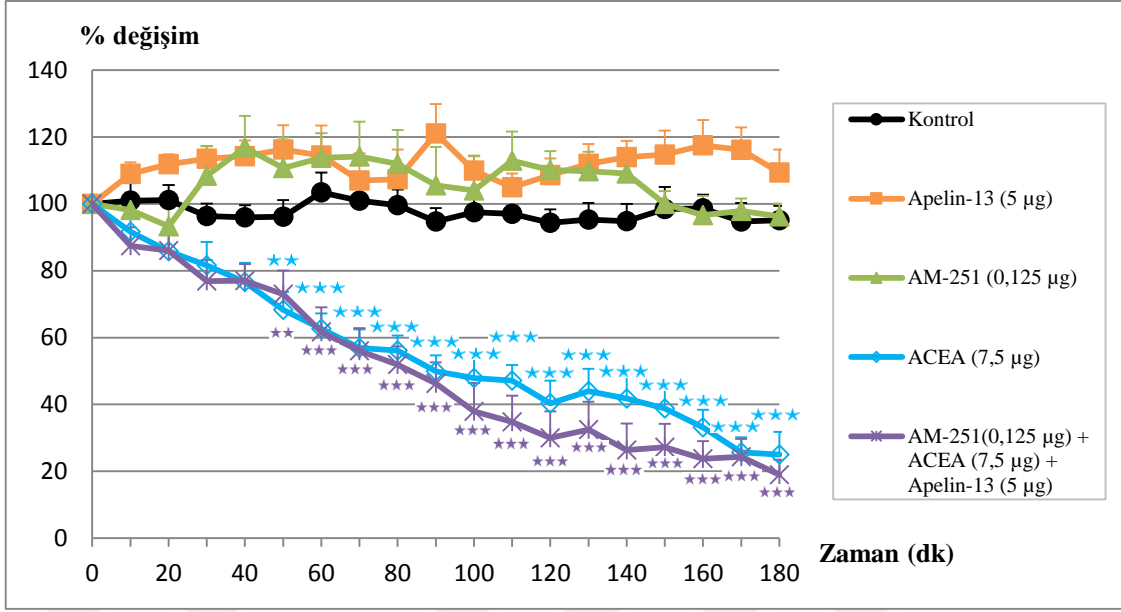
Şekil 36. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (15 µg), AM-251 (0,125 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$)



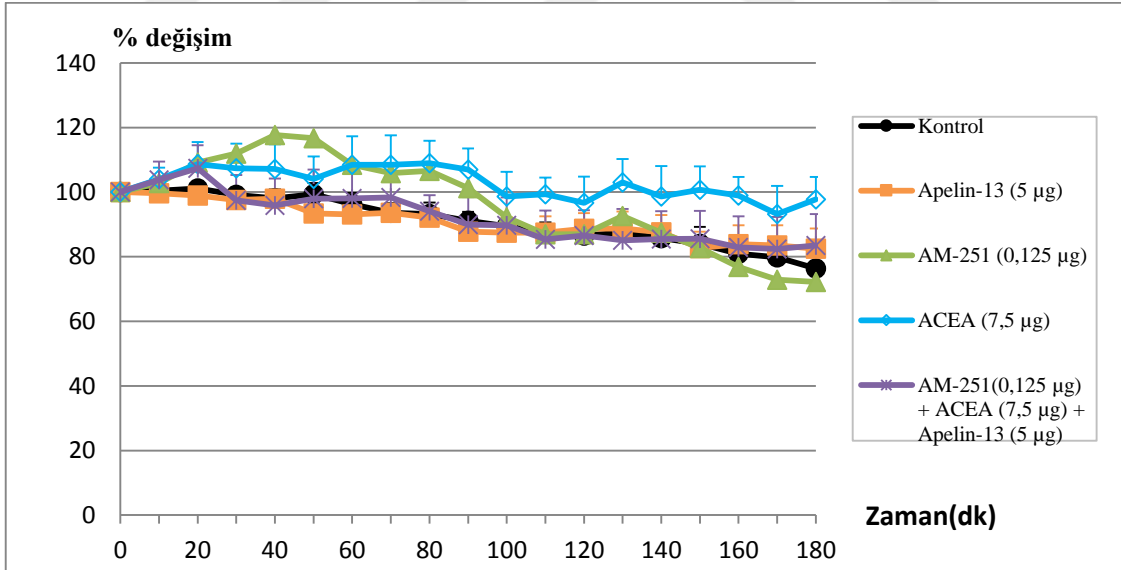
Şekil 37. Kontrol (penisilin 500 IU), apelin-13 (5 µg), AM-251 (0,125 µg) ve AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile kıyaslandığında AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$)



Şekil 38. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (5 µg), AM-251 (0,125 µg), AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$)



Şekil 39. Kontrol (penisilin 500 IU), apelin-13 (5 µg), AM-251 (0,125 µg), ACEA (7,5 µg) ve AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubuna göre AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) + ACEA (7,5 µg) grubu spike aktivitesini 50. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde azalttı (**=p<0,01, ***=p<0,001)



Şekil 40. Kontrol (penisilin, 500 IU), apelin-13 (5 µg), AM-251 (0,125 µg), ACEA (7,5 µg) ve AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) + ACEA (7,5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi ± SEM). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her dört grupta da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0,05)

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada, penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine apelin-13'ün gösterdiği prokonvulsan etkide kanabinoid CB1 reseptörlerinin rolü araştırıldı. Deneylerde kullanılan apelin-13 (Uçar, 2015) ve kanabinoid CB1 reseptör agonisti ve antagonisti (Kozan ve ark., 2009) dozları için daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmalar referans alındı. Deneylerde CB1 reseptör agonisti ACEA'nın etkin dozu (7,5 µg, i.s.v.), CB1 reseptör antagonisti AM-251'in etkin dozu (0,25 µg, i.s.v.) ile etkisiz dozu (0,125 µg, i.s.v.), apelin-13'ün etkin dozu (15 µg, i.s.v.) ile etkisiz dozu (5 µg, i.s.v.) kullanıldı. Penisilinle epileptiform aktivitesi üzerine ACEA, AM-251 ve apelin-13'ün hem tek başlarına hem de etkileşim grubu şeklinde olan etkileri araştırıldı.

5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Epilepsi, çeşitli patolojik süreçlerin sonucunda bozulmuş beyin fonksiyonlarının semptom kompleksleri şeklinde yansımadır (Engel ve Pedley, 2008). Nöbetler kortikal nöronların aşırı ve anormal elektriksel deşarjı sonucu oluşmaktadır (Bernal ve Altman, 2003). Anormal hücre deşarjı oksijen yetersizliği, tümörler, travma, enfeksiyon ve metabolik bozukluklar gibi nedenlerle oluşabilir. Ancak, epilepsi nöbetlerinin hemen hemen yarısında herhangi bir neden tespit edilememiştir (Martin, 1991). Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ile diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel epilepsi modelleri geliştirilmiştir (Marangoz, 1997).

1945 yılında Walker ve Johnson; kedi, köpek ve maymunun serebral korteksine penisilin uygulanmasının, epileptik aktiviteye neden olduğunu bildirmişlerdir. Penisilin modeli epilepsi yine birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Domann ve ark., 1991; Sullivan ve Osorio, 1991; Ayyıldız ve ark., 2006). Penisilin, yapısal olarak GABA antagonisti bikukuline benzediği için, beyinde bulunan en önemli inhibitör sistemlerden GABA sistemini bloklamakta ve eksitasyon-inhibisyon arasındaki dengeyi bozarak epileptik nöbet oluşumuna yol açmaktadır (Walden ve ark., 1992). Epileptik aktivitenin ortaya çıkışında önemli diğer bir bileşen kalsiyum iyonlarıdır. Aşırı miktarda kalsiyum iyonlarının hücre içine akışı, epileptiform aktivite sırasında hemen her zaman gözlenen bir durumdur (Speckman ve Walden, 1993). Konvülsif olaylarda hücre içine kalsiyum akışının arttığı yapılan çalışmalarda

gösterilmiştir (Heinemann ve ark., 1985; Meldrum ve ark., 1985). Kalsiyum akımı, nöbet aktivitesiyle birlikte oluşan senkron eksitatör potansiyellerle ilişkilidir (Fischer ve Kittner, 1998).

Elde edilmek istenen nöbet modeline göre penisilinin uygulanma şekilleri farklılık göstermektedir. İntramüsküler (i.m.), intravenöz (i.v.), intraperitoneal (i.p.), intraserebroventriküler (i.s.v.) veya intrakortikal (i.k.) yollarla olmak üzere çeşitli şekillerde enjeksiyonlar literatürde yer almaktadır. Kedilere sistemik olarak yüksek dozda penisilin uygulanması, insandaki petit mal epilepsiye benzeyen, EEG’de bilateral eş zamanlı diken dalga deşarjları yol açmaktadır (Martin, 1991). Sullivan ve Osorio (1991) sıçanlara i.p. yolla penisilin G vererek epileptik aktivite oluşturmuşlardır. Penisilinin kediyeye 300.000 - 600.000 IU/kg i.m. verilmesi jeneralize, senkron, bilateral diken dalga deşarjları meydana getirir. Bu esnada gözü kırpma hareketi, miyoklonik kasılmalar ortaya çıkabilir (Fisher ve Prince, 1977). Kemirgenlere i.m. penisilin uygulanması, kedilerdeki bilateral senkron diken deşarjlarına benzememektedir ve aralıklı patlamalar eşliğinde multifokal spike aktiviteleri meydana gelmektedir (Avoli, 1980). Gallitto ve ark. (1986) ise, 1.000.000 IU penisilini i.v. yolla sistemik dolaşıma enjekte etmişler ve i.v. penisilinin kortekste ve talamusta multifokal interiktal spike deşarjlarına neden olduğunu saptamışlardır.

Arslan’ın (2013) ve Bostancı ve ark. (2007) yaptığı çalışmada uyanık sıçanlara i.s.v. yolla 300 IU penisilin uygulanmış ve epileptik aktivitede iktal ve interiktal spike kompleksleri gözlenmiştir. Penisilinin (500 IU) i.k. yolla somatomotor kortekse uygulanmasının kortikal nöronlarda diken ve diken-dalga kompleksleri ile kendini gösteren bir epileptiform ECoG aktiviteye yol açtığı gösterilmiştir. Epileptiform aktivitenin 3-5 saat kadar devam ettiği, kararlı frekans ve amplitüd düzeyine ise 30 dk. içinde ulaşıldığı belirtilmiştir (Kozan ve ark., 2006; Ayyıldız ve ark., 2006; Ayyıldız ve ark., 2007). Edmons ve ark. (1974) sıçanlara, klinik motor belirtilerle eşleştirilmiş elektrografik anormallikler oluşturan 200 IU penisilin dozu (i.k.) vererek 2,5 saat boyunca kayıt almışlardır. Dragic ve Pavlovic (2004) yaptıkları çalışmada da 50 IU penisilinle de (i.k.) spike aktivitesi oluştuğunu, hatta 100 IU (i.k.) penisilin ile oluşturulan spike frekansının daha fazla olduğunu göstermişlerdir.

Laboratuvarımızda yapılan çalışmalarda da, 500 IU penisilin (i.k.) enjeksiyonunu takiben 2-5 dk. içerisinde epileptik deşarjların başladığı, epileptik

aktivitenin 20-30 dakikada kararlı duruma ulaştığı ve istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olmadan spike aktivitesinin en az 3 saat devam ettiği tespit edilmiştir (Alıcı 2014; Ayyıldız ve ark., 2006; Arslan ve ark., 2014).

Sunulan çalışmada; deney hayvanlarına penisilin (500 IU, i.k., 2,5 µl) yolla uygulandı ve penisilin enjeksiyonundan sonra 2-5 dakika içinde epileptik spikeler ve spike-dalga kompleksleri görülmeye başlandı. Epileptiform aktivite 30 dk. içinde kararlı hale geldi ve 3 saatten uzun sürdü. Penisilinden sonra uygulanan ilk maddelerin enjeksiyonları 30. dakikada yapıldı. Daha sonra uygulanan maddeler ise onar dakika arayla verildi. Sunulan çalışmada penisilin i.k. enjeksiyonuyla oluşturulan epileptiform aktivitenin özellikleri literatürden elde edilen bilgilerle uyumluydu.

Literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında, penisilin uygulama miktarı ve uygulanma yolu spike frekansını etkilemektedir. Bu çalışmada kararlı duruma geçiş zamanı olan 0. dakikadaki spike frekansı $44,1 \pm 2,9$ olarak bulunmuştur. Bu değer, intrakortikal olarak 500 IU penisilin kullanılan diğer çalışmalarla uyumludur. Arslan (2013), Alıcı (2014) ve Uçar'ın (2015) yaptığı çalışmalarda 0. dakikadaki spike sayısı, sırasıyla $41,0 \pm 3,0$, $44,5 \pm 4,4$ ve $44,2 \pm 3,0$ olarak tespit edilmiştir. 200 IU penisilin (i.k.) enjeksiyonu yapılan iki çalışmada 0. dakikadaki spike frekansı $24,2 \pm 1,0$ ve $30,0 \pm 3,0$ olarak bulunmuştur (Yildirim, 2005; Marangoz, 2010). Penisilin spike aktivitesini doz bağımlı olarak artırdığı bilinmektedir (Edmonds ve ark., 1974; Dragic ve ark., 2004; Akdogan ve ark., 2008). O halde tüm bu değerler birbiriyle uyumludur.

5.2. Apelin-13'ün Epileptiform Aktiviteye Etkisi

1998 yılında Tatemato ve ark. tarafından sığır mide öz suyundan izole edilen apelin G-protein ile kenetli APJ reseptörünün endojen bir ligandıdır (Tatemato ve ark., 1998). G-protein ile kenetli APJ reseptörü ve onun endojen ligandı olan apelinin merkezi sinir sisteminde, özellikle kortikal, hipokampal ve hipotalamik nöronlarda fazla miktarda eksprese edildiği gösterilmiştir (De Mota ve ark., 2000; Lee ve ark., 2000; Reaux ve ark., 2002; Kleinz & Davenport, 2005). APJ insan, fare, sıçan, maymun ve inek olmak üzere birkaç türde de tanımlanmıştır (Tatemato ve ark., 1998).

Apelin, 77 aminoasitlik bir preproapelin köken alır ve farklı yerlerinden parçalanarak değişik sayıda aminoasitlere sahip fragmanları (apelin-13, apelin-16, apelin-17, apelin-36 gibi) oluşturur (Habata ve ark., 1999; Hosoya et al., 2000; Lee ve

ark., 2000; Kawamata ve ark., 2001). Apelin-13 ve apelin-17, apelin-36 ile kıyaslandığında daha güçlü bir biyolojik aktiviteye sahiptir. Apelin-13'ün apelin-17'den 8, apelin-36'dan ise 60 kat daha fazla etkin olduğu ileri sürülmektedir (Tatemato ve ark., 1998). Apelin-13'ün yüksek biyolojik aktiviteye sahip olmasından dolayı sunulan çalışmada apelin-13 kullanılmıştır.

Epilepsi oluşumunda nöropeptidler, reseptörler ve nörotransmitterler gibi birçok sistem rol almaktadır. Nöropeptid-Y gibi nöromodülatörler rodentlerde nöbetleri azaltmak için kullanılmıştır (Noe F. ve ark., 2007; 2008). Yapılan çalışmalarda bir nöropeptid olan apelinin nöroprotektif özelliğinin olduğu gösterilmiştir. Cook ve ark. (2011) yaptığı çalışmada apelinin NMDA reseptör aracılı eksitotoksik sinyal kaskadlarını inhibe etmesinin yanı sıra, nöronal canlılığı artırabildiği gösterilmiştir. Bu nedenle apelinin nöronlardaki endojen ekspresyonunun ve apelin-APJ etkileşiminin merkezi sinir sisteminde nöroprotektif bir sinyal iletimi olduğu düşünülmektedir.

O'Donnell ve ark. (2007) primer rodent hipokampal kültürleri ile insan NT2.N nöronları kullanılarak yapılan çalışmalarda, apelinin NMDA reseptör aracılı eksitotoksik hasara karşı nöroprotektif oluşu ve hücre canlılığını sağlayan kinazların aktivasyonunu artırmadaki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmanın sonunda apelinin Raf/ERK-1/2 ve AKT'nin, HIV ile enfekte insan makrofajlarının yanı sıra kinolinik asit (QUIN) maruziyetiyle oluşan nöronal eksitotoksositeye karşı koruyucu özellikteki nöronal aktivasyonunu indüklediği gösterilmiştir (O'Donnell ve ark., 2007).

Apelinin nöroprotektif fonksiyonuna inhibitör kullanılarak da bakılmıştır. Fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) inhibitörü olan LY294002 apelinin nöroprotektif etkisini ortadan kaldırmıştır (O'Donnell ve ark., 2007). Yapılan bir diğer çalışmada apelin-36'nın nöroprotektif fonksiyonu için indüklediği ERK 1/2 fosforilasyonunun 2-APB (IP3 reseptörlerinden Ca^{+2} salınımının inhibitörü) ve UO126 ve PD98059 (ERK (MEK) $\frac{1}{2}$ inhibitörü) tarafından, protein kinaz C (PKC) fosforilasyonunun da PKC inhibitörleri olan GF109203X ve kleritin klorid tarafından bloke edildiği gösterilmiştir (Cook ve ark., 2011).

Apoptozis ve nekrozis olayları mitokondriyal depolarizasyona ve reaktif O_2 türlerinin (ROS) artışına sebep olmaktadır. Yapılan çalışmalar, apelinin hem hipokampal nöronlarda NMDA aracılı eksitotoksositeye karşı koruyucu olduğunu hem de insan osteoblastında apoptozisi baskıladığını göstermektedir (O'Donnell ve ark.,

2007; Xie ve ark., 2007). Fare primer kortikal nöron kültüründe apelin-13'ün (1-5 nM) apoptozis üzerine etkisi araştırılmış ve nöronlarda serum yoksunluğu ile indüklenen ROS üretimini, mitokondri depolarizasyonunu, kaspaz-3 aktivasyonunu ve sitokrom c salınımını belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir.

Serebrokortikal nöronlarda apelin-36'nın NMDA aracılı Ca^{+2} birikimini inhibe ettiği ancak K^{+} depolarizasyonunun indüklediği Ca^{+2} birikimini etkilemediği gösterilmiştir (Cook ve ark., 2011). G proteinine bağlı reseptör ligandlarının nöronal Ca^{+2} geçişini indükleyebileceği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Deiva ve ark., 2004; Yao ve ark., 2009). Buna benzer şekilde Cook ve ark. (2011) yaptığı çalışmada apelinin doz bağımlı olarak serebrokortikal nöronlarda Ca^{+2} geçişini indüklediği gösterilmiştir. İnsan NT2.N nöronları tarafından apelin reseptörünün yoğun ekspresyonu göz önünde bulundurulduğunda, apelin stimülasyonu sonrasında hücre içi Ca^{+2} seviyelerinin değişip değişmediğine bakılmış ve apelin-36, apelin-17 ve apelin-13'ün her birinin hücre içi Ca^{+2} seviyelerinde artışlar yaptığı gösterilmiştir (Choe ve ark., 2000). Özellikle tekrarlanan maruziyetlerin ardından cevabın azalması, apelin sinyalizasyonunu düzenleyen desensitizasyon sürecinin ilk kanıtıdır (Masri ve ark., 2004).

Apelinin nöroprotektif özelliğini gösteren çalışmalara ilaveten, literatürde apelin ile epilepsi ilişkisini gösteren üç tane çalışma vardır. Fakat bu çalışmaların ikisinde apelin ekspresyonu ve plazmadaki apelin düzeyi incelenmiştir. Zhang ve ark. (2011) temporal lob epilepsili hastaların temporal korteksi ile sıçanda pilokarpine oluşturulan deneysel epilepsi modelinde hipokampus ve korteks yapılarında apelin ekspresyonunun arttığı göstermiştir. Meral ve ark. (2011) yaptığı ikinci çalışmada ise valproik asit ile tedavi edilen idiyopatik jeneralize epilepsili çocuklarda plazma apelin düzeyinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Fakat apelinin hem ekspresyonu hem de plazma düzeyindeki artışının sebebi bilinmemektedir. Penisilin modeli deneysel epilepside Uçar'ın (2015) yaptığı çalışmaya göre apelin-13 prokonvulsan etki göstermektedir. Sunulan çalışmanın sonuçları Uçar'ın (2015) uyumludur.

Uçar (2015) apelinin etkin dozunun 15 μ g (i.s.v.), etkisiz dozunun ise 5 μ g (i.s.v.) olduğunu buldu. Uçar'ın verileri referans alınarak penisilin (500 IU, i.k) enjeksiyonundan 30 dk. sonra ayrı hayvanlara apelinin etkin dozu (15 μ g / kg i.s.v.) ile etkisiz dozu (5 μ g / kg i.s.v.) uygulandı. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra apelinin

15 µg dozunun epileptiform aktivitenin spike frekansını 20. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artırdığı gözlemlendi. 5 µg apelinin ise epileptiform aktivitenin spike frekansında istatistiksel olarak bir değişiklik oluşturmadığı görüldü.

Literatürde NMDA reseptörleri aracılığıyla Ca^{+2} akışını ve birikimini inhibe ederek nöroprotektif özelliğe sahip olduğu gösterilen apelinin (Cook ve ark., 2011) etkisinin aksine, sunulan çalışmada apelin-13'ün prokonvulsan etki göstermesi nöronal Ca^{+2} geçişini indüklüyor olmasından kaynaklanabilir. Çünkü apelinin doz bağımlı olarak serebrokortikal nöronlarda Ca^{+2} geçişini indüklemesi, insan NT2.N nöronlarına yapılan çalışmalar ile de uyumludur (Choe ve ark., 2000). Apelinin indüklediği Ca^{+2} geçişi, Ca^{+2} iyonoforu varlığında oluşan maksimum konsantrasyonunun altındadır ve bu da apelinin sub-maksimal ve geri çevirilebilir Ca^{+2} birikimine sebep olmasına yol açar (Cook ve ark., 2011).

5.3. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Son yıllarda, sentetik kanabinoidlerin de artmasıyla birlikte, kanabinoidlerin epilepsi üzerine etkilerini aydınlatmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Wallace ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada maksimal elektroşok modelinde Δ^9 -THC ve kanabimimetik bileşiklerin (WIN 55,212-2) CB1 reseptörlerine bağlanarak antikonvulsan etki gösterdiklerini, selektif CB1 reseptör antagonisti SR141716A uyguladıklarında bunların antikonvulsan özelliklerini yitirdiklerini göstermişlerdir. Bunların aksine, CB1 reseptörlerine son derece zayıf bir şekilde bağlanan kanabidioller, SR141716A uygulandığında koruyucu görevini yitirmemiştir. Bu nedenle Δ^9 -THC ve WIN 55,212-2 antikonvulsan etkilerini CB1 reseptörleri üzerinden yaparken, kanabidiollerin ise koruyucu etkisinin bu reseptörler üzerinden olmadığı gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2001). Birçok çalışmada CB1 reseptör agonistlerinin nöbetleri azalttığı gösterilirken bazı çalışmalarda ise CB1 reseptör aktivasyonunun aynı dozlarda konvulsan etkisinin olduğu gösterilmiştir (Friedman ve Devinsky, 2015) Pertwee ve ark. (2008) kanabidiollerin yüksek düzeylerde, indirekt olarak CB1 reseptör antagonisti gibi rol alabileceğini göstermiştir. Kanabidioller presinaptik glutamat salınımının azalmasına sebep olan (Sylantsev ve ark., 2013) TRP familyasındaki katyon kanallarına bağlanarak (De Petrocellis ve ark., 2011), 5-HT1A reseptörünü aktive ederek (Campos

ve ark., 2012) ve adenzin geri alımını inhibe ederek de (Carrier ve ark., 2006) nöronal uyarılabilirliği değiştirir.

Yapılan alışmalarda WIN 55,212-2 bileşiğinin status epileptikus modelinde, deneysel pilokarpin modelinde ve nöronal kültür ile oluşturulan epilepsi modelinde CB1 reseptörünü aktive ederek, spontan tekrarlayan epileptiform deşarjları baskıladığı gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2003; Blair ve ark., 2006). Farelerde PTZ ile indüklenen nöbetlere karşı selektif CB1 reseptör agonisti ACEA antikonvulsan etki oluşturmuştur (Bahreman ve ark., 2009).

Status epileptikus (SE) ciddi nörolojik hastalıklardan bir tanesidir ve tedavisinde antiepileptik ilaçlar (diazepam, fenobarbital, fenitoin gibi) kullanılır. Endokanabinoidler nöbet aktivitesi ve nöbet süresini düzenlemede önemli rol alır. Endokanabinoidlerden metandamid ve 2-araşidonil gliserol'n (2-AG) hipokampal nöronal kültür modelinde doz bağımlı olarak ve CB1 reseptör aracılığı ile SE'yi etkili bir şekilde blokladığı gösterilmiştir (Deshpande ve ark., 2007). Aynı çalışmada spesifik kanabinoid CB1 reseptör antagonisti olan AM-251'in (Lan ve ark., 1999) endokanabinoidlerin status epileptikusn önleyici etkilerini tamamen geri çevirdiği gösterilmiştir. Buradan yola çıkılarak 2-AG ve metandamidin anti-SE etkileri kanabinoid CB1 reseptörleri üzerinden gerçekleştirdiği de grlmştir (Deshpande ve ark., 2007). 2-AG ve metandamid ile yapılan diğer bir çalışmada hipokampustan alınan beyin dilimi preparasyonlarında endokanabinoidlerin epileptiform aktiviteyi azalttığı gösterilmiştir (Ameri ve Simmet, 2000; Ameri ve ark., 1999). Selektif CB1 reseptör agonisti ACPA'nın (1,5-2 mg/kg) sistemik uygulanması, PTZ ile indüklenen nöbet eşiğini artırırken, AM-251'in de (0,5-2 mg/kg) doz bağımlı olarak nöbet eşiğini azaltmaktadır. Bu çalışmanın devamında tek başına nöbet eşiğini değiştirmeyen düşük doz AM-251 (0,5 mg/kg) CB1 reseptör aracılığı ile ACPA'nın (2 mg/kg) antikonvulsan etkisini geri çevirmiştir (Shafaroodi ve ark., 2004).

Gholizadeh ve ark. (2007) ok düşük dozlardaki AM-251'in nöbetlerin düzenlenmesinde paradoksal bir etki gösterdiğini buldular. AM-251'in çok düşük dozlarının, sistemik uygulanan düşük doz ACEA'nın (ng/kg - g/kg) indüklediği güçlü antikonvulsan etkiyi ortadan kaldırabildiği ve 0,5 mg/kg ve 1 mg/kg ACEA dozlarında da AM-251'in 1 g/kg dozuna kadar (1 fg/kg-100 ng/kg) gittikçe artan antikonvulsan etkisi gösterilmiştir (Gholizadeh ve ark., 2007).

AM-251'in sıçanlarda piriform kortikal epilepsi modelinde antikonvulsan etki yaparak spike ateşlemesini azalttığı gösterilmiştir (Dennis ve ark., 2008; Ma ve ark., 2008). Diğer yandan selektif CB1 reseptör antagonisti AM-251'in çok düşük dozu (100 fg-100 ng/kg, i.p.), PTZ ile indüklenen nöbet eşiğinde ACEA'nın sub-aktif dozunun (1 mg/kg) etkisini potansiyelize etmiş ve antikonvulsan etki göstermiştir. Bu etki ACEA'nın düşük dozlarının nöbetleri düzenleyici etkisinin hassas bir uyarıcı (çok çok düşük dozlarda antagonist ile bloke edilebilen) ya da daha az hassas bir inhibitör (ACEA'nın çok düşük dozlarıyla ortadan kaldırılabilen) bileşenlerden oluşabildiğini gösterir (Gholizadeh ve ark., 2007).

Spesifik kanabinoid CB1 agonisti olan ACEA'nın 2-8 mg/kg dozları PTZ modeli miyoklonik nöbetlere karşı antikonvulsan etki göstermektedir (Chesher ve Jackson, 1974; Karler ve ark., 1989; Wallace ve ark., 2001, 2002; Shafaroodi ve ark., 2004; Blair ve ark., 2006). Luszczi ve ark. (2006) fare maksimal elektroşok modeli epilepside CB1 reseptör agonisti olan ACEA'yı kullandılar. ACEA'nın 1,25 mg/kg ve 2,5 mg/kg dozları nöbet eşiğini %4-9 oranında, 5 mg/kg ve 7,5 mg/kg dozları sistemik olarak uygulanması farelerde eşik değeri %63-123 oranında artırmıştır (Luszczi ve ark., 2006). Buna ilaveten, 5 mg/kg ACEA'nın sistemik uygulaması kokainle indüklenen konvulsif nöbetleri antagonize etmiştir (Hayase ve ark., 2001). Moreira ve ark. (2007) sistemik verilen CB1 reseptör antagonistinin anksiyojenik (Patel ve Hillard, 2006) ve anksiyolitik aktiviteler (Griebel ve ark., 2005) ile çelişkili veriler ortaya çıkardığını rapor etmişlerdir. Moreira ve ark. (2007) CB1 agonist ve antagonistinin lokal enjeksiyonunun bu zıtlığı açıklamaya yardımcı olabileceğini söylemişlerdir. Bu nedenle Kozan ve ark. (2009) sıçanda penisilin modeli epileptiform aktivite üzerine intraserebroventriküler (i.s.v.) yolla uygulanan ACEA ve AM-251'in etkisini araştırmışlar ve CB1 reseptör agonisti ACEA'nın (7,5 µg, i.s.v) spike frekansını anlamlı derecede azalttığını, CB1 reseptör antagonisti AM251'in (0,25 µg, i.s.v) ise spike frekansını anlamlı ölçüde arttırdığını bulmuşlardır. Başka bir çalışmada 0,25 µg (i.s.v.) AM-251'in epileptiform aktivitenin frekansını arttırdığı ve burst şeklinde spike'larla karakterize status epileptikus benzeri aktiviteler gösterdiği bulunmuştur (Arslan ve ark., 2013). Aynı çalışmaya göre AM-251'in 0,125 µg (i.s.v.) dozunun epileptiform aktivitenin frekans ve amplitüdünde değişiklik meydana getirmediği, 7,5 µg (i.s.v.) ACEA'nın ise uygulandıktan 50 dk. sonra epileptik aktiviteye karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir

(Arslan ve ark., 2013). Tüm bu çalışmalar sonucunda hem i.p. hem de i.s.v. olarak enjekte edilen kanabinoid CB1 reseptör agonisti ve antagonistinin nöbet aktivitesini etkilediği görülmektedir. Ancak, i.p. dozun etkin olabilmesi için i.s.v. dozdan yaklaşık 1000 kat daha fazla uygulanması gerektiği görülmektedir. Sistemik olarak uygulanan THC'nin yüksek derecede lipofilik olduğu ve bu nedenle de emildikten sonra vücutta hemen her yere dağıldığı bilinmektedir. Yüksek doz sistemik kanabinoid alımının beyinde özellikle neokortikal, limbik, duyu korteksi ve motor kortekse ulaşabildiği gösterilmiştir (Nahas, 1975).

Kanabinoidlerin epileptiform aktiviteyi baskıladığı bilinmektedir. Fakat bunu hangi yollarla yaptığı tartışma konusudur. CB1 reseptör aktivasyonu, Gi/o proteinlerini uyararak adenilat siklazı inhibe etmektedir. Adenilat siklaz ise adenosin trifosfattan (ATP) siklik AMP (cAMP) oluşumuna aracılık etmektedir. cAMP, protein kinaz A'nın (PKA) düzenleyici alt ünitesine bağlanarak PKA'yı aktive etmektedir. PKA'nın aktivasyonu ise A-tipi potasyum kanalının (K^+ A) fosforillenmesine ve kanalın kapanmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, CB1 reseptör aktivasyonu ile adenilat siklaz inhibe olur ve cAMP oluşumu engellenir. cAMP azalmasının ise PKA inaktivasyonuna neden olduğu ve böylece K^+ A kanalı uyarılarak hücre içinden ekstraselüler sıvıya K^+ çıkışı olduğu düşünülmektedir (Kyrou ve ark., 2006). Bu kanallar özellikle membran eksitabilitesinin homeostatik düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Potasyum kanallarının epilepsi ve beyin iskemisi gibi hipereksitasyon görülen hasarın tedavisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Misonou, 2010). Yine, CB1 reseptörü tarafından Gi/o proteinlerinin uyarılması, direkt olarak N-tipi veya P/Q-tipi Ca^{+2} kanallarının inhibisyonuna ve yine direkt olarak içe yönelik rektifiye edici K^+ aktivasyonuna neden olduğu söylenmektedir (Kyrou ve ark., 2006). Ca^{+2} iyonunun hücre içine girişinin epileptik aktivitenin oluşumunda kilit role sahip olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Kalsiyumun hücreye girişi, eksitatör aminoasitlerin, özellikle de glutamatın salınımına yol açmaktadır. Glutamat santral sinir sisteminde primer eksitatör nörotransmitterdir ve insanda epiloptojenik odaklarda fazla miktarda bulunmaktadır (Leach ve ark., 1986). Glutamatın nöron deşarjını artırması reseptörleri (NMDA, kainat, AMPA) aracılığıyla olmaktadır (Heinemann ve ark., 1977; Uemastu ve ark., 1990). Penisilin enjeksiyonuyla bloklanan GABA aktivitesinin yanı sıra glutamat düzeyinin de artışı daha fazla deşarj oluşturabileceğini düşündürmektedir.

Kanabinoidlerin bir yandan K⁺ kanallarını açarak eksitasyonu baskıladığı, diğer yandan da Ca⁺² iyonlarının hücre içerisine girişini bloklayarak eksitator nörotransmitter salınımını inhibe ederek epileptiform aktiviteyi baskıladığı söylenebilir.

Sunulan çalışmada kanabinoidlerin penisilinle epileptiform aktivite üzerine olan etkilerini araştırmak için selektif CB1 reseptör agonisti ve antagonisti kullanılmıştır. ACEA'nın CB1 reseptörlerine CB2'ye oranla 1400 kat daha yüksek afinite gösterdiği bildirildiği için (Hillard ve ark., 1999) sunulan çalışmada CB1 agonisti olarak ACEA'nın kullanılması tercih edildi. Yine AM-251 de selektif CB1 antagonisti olduğundan dolayı tercih edildi. ACEA ve AM-251'in dozlarının tespitinde ise Kozan ve ark. (2009) laboratuvarımızda daha önce yaptığı çalışmalar temel alınmıştır. AM-251'in etkin ve etkisiz dozu (0,25 µg – 0,125 µg) ile ACEA'nın etkin dozu (7,5 µg) kullanıldı.

Sunulan çalışmada, penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonundan 30 dk. sonra AM-251 (0,25 µg ve 0.125 µg, i.s.v.) ve ACEA (7,5 µg, i.s.v.) dozları uygulandı. Penisilinden sonra AM-251'in 0,25 µg'lık dozu 20. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi anlamlı ölçüde artırdı ve status epileptikus benzeri deşarjlara neden oldu. AM-251'in 0,125 µg dozu ise kontrol grubuna kıyasla spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadı. ACEA (7,5 µg) epileptiform aktiviteyi 50. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlı oranda azalttı. Laboratuvarımızda daha önce yapılan bir çalışmada (Alıcı, 2014) 0,25 µg (i.s.v.) AM-251'in kontrol grubuna göre epileptiform aktiviteyi 30. dakikadan itibaren artırdığı, 7,5 µg (i.s.v.) ACEA'nın ise 50. dakikadan itibaren azalttığı bulundu.

Bu verilere dayanarak; ACEA'nın 7,5 µg'lık dozda CB1 reseptörlerine presinaptik yoldan etki ederek, Gi/o proteinleri aracılığıyla direkt Ca⁺² kanallarının inhibisyonunu sağlayıp hücre içi aşırı Ca⁺² birikimini engelleyebileceği neticede presinaptik glutamat salınımını azaltarak penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi baskılayabileceği ya da içe yönelik rektifiye edici K⁺ kanallarını aktive ederek epileptiform deşarjı azaltacağı, AM251'in ise 0,25 µg'lık dozda ACEA'nın tam tersi etki göstererek epileptiform aktiviteyi artırmış olabileceği düşünülmektedir (Mackie ve ark., 1993, 1995; Kyrou ve ark., 2006).

5.4. Apelin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Apelinin hücre içi kalsiyum seviyesini arttırdığına dair çalışmalar bulunmaktadır ve bu çalışmalarda apelinin parsiyel-zayıf agonist gibi davranabileceği ileri sürülmüştür (Zeng ve ark., 2010; Medhurst ve ark., 2003; Choe ve ark.,2000). Apelin Gq ile eşleşen APJ reseptörüne bağlanır ve fosfolipaz lipaz C (PLC) aktive olur. Sonrasında inositoltrifosfat (IP3) aracılığı ile hücre içindeki Ca^{+2} konsantrasyonu artar (Cook ve ark., 2011; Szokodi ve ark., 2002). Fizyolojik süreçler esnasında sitoplazmik Ca^{+2} düzeylerinde kontrollü yükselmeler ortaya çıkar (Malenka ve Nicoll, 1999; West ve ark., 2001; Tzounopoulos ve Stackman, 2003). Apelinin hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu artırması nöronal uyarılabilirliği arttıracaktır. Çünkü Ca^{+2} 'un hücre içine girişi epileptik nöbet oluşumunun temel basamağı olarak kabul edilmektedir (Speckman ve Walden, 1993).

Kanabinoid CB1 reseptörleri başlıca santral sinir sisteminde, özellikle de hipokampus, substatia nigra, kaudat/putamen ve serebellumda eksprese edilir (Felder ve Glass, 1998). CB1 reseptörlerinin sinyal iletim mekanizması adenilat siklazın inhibisyonu, Ca^{+2} kanallarının inhibisyonu, K^{+} kanallarının aktivasyonu, mitojenle aktive olan protein kinazların (MAPK) ve fokal adhezyon kinazların (FAK) aktivasyonu ile fosfotidilinositid 3-kinaz-protein kinaz B (PI 3-K/PKB) yolağının stimülasyonunu içerir (Howlett ve Mukhopadhyay, 2000). Memeli hücrelerinde şimdiye kadar MAPK'nın ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK), p38-MAPK ve c-Jun-N-terminal kinazlar (JNK) olmak üzere 3 alt sınıfı belirlenmiştir. Birçok hücrede p38-MAPK ve JNK'nın hücre sel strese yanıt olarak düzenlendiği düşünülse de, ERK'ler gelişen ve farklılaşan hücrelerde büyüme faktörlerine yanıt olarak aktive olurlar (Schaeffer ve Weber, 1999). Hipokampusta ERK'ler sinaptik plastisitede (Derkinderen ve ark. 1999), JNK'ler eksitotoksitede (Yang ve ark. 1997) ve p38-MAPK'lar da uzun süreli depresyonda (LTD) çalışılmıştır.

Derkinderen ve ark. (2001) çalışmasında, sıçan hipokampal dilimlerde anandamid (1 μ M), 2-AG (1 μ M), THC (0,1 μ M) ve sentetik CB1 agonisti olan CP 55940 (1 μ M) ve WIN 55,212-2 (100 μ M) p38-MAPK aktivasyonunu artırmıştır. Çeşitli kanabinoid agonistleri JNK aktivasyonunu etkilememektedir. Gliserolipid habercisi olan ve fizikokimyasal yapısı endokanabinoidlere benzeyen, kanabinoid

reseptörleri ile ilişkili olan G protein kenetli reseptörler gibi davranan lizofosfolipid reseptör (LPA) (Hecth ve ark, 1996), sıçan hipokampusunda tirozin fosforilasyonunu artırmıştır (Derkinderen ve ark, 1998) ve bazı hücrelerde JNK ile p38-MAPK'yı aktive etmiştir (Yu ve ark, 1996; Reiser ve ark, 1998).

Daha önceki çalışmalarda ERK fosforilasyonunun şiddetli nöbetlerin indüklenmesinin ardından arttığı, ancak epileptik hayvanlarda kronik periyot dönemlerinde bu durumun gözlenmediği görülmüştür. Bikukulin (Gass ve ark., 1993) ve elektroşok ile uyarılmış nöbetlerin (Baraban ve ark, 1993; Bhat ve ark, 1998) yanı sıra, pilokarpin veya kainik asit kaynaklı SE'nin ardından ERK aktivasyonunda güçlü bir artış görülmüştür (Kim ve ark., 1994; Garrido ve ark., 1998; Berkeley ve ark., 2002). Houser ve ark. (2008) pilokarpinle indüklenen temporal lob epilepsili farelerde nöbetlerin çeşitli dönemlerinde fosforile olmuş ERK (pERK) düzeyini, lokalizasyonunu ve yoğunluğunu incelediler. Bu çalışmanın sonucunda kontrol grubu farelerin hipokampal formasyonlarında ERK düzeyinde azalma tespit edilmiştir. Pilokarpin uygulanan hayvanlarda, kontrol grubuna kıyasla, spontan nöbetler arası dönemde pERK düzeyi çarpıcı şekilde azalırken, spontan nöbet anında ERK aktivasyonu hızlı ve güçlü bir şekilde artmıştır. Buradan çıkan sonuca dayanarak nöbete eğilimli hayvanlarda, spontan nöbetler arası dönemde pERK düzeyinin azalmasının, artan nöronal eksitabiliteye karşı telafi edici bir yanıt olduğu düşünülmüştür (Houser ve ark, 2008). Yapılan diğer bir çalışmada da mutant farelerde spontan nöbet anında pERK düzeyinin arttığı, dahası ERK aktivasyonunun azalmasıyla nöbet frekansında da bir azalmanın olduğu gözlenmiştir (Nateri ve ark., 2007). Buna bağlı olarak ERK sinyalizasyonunun azalmasının nöbet kontrolü için klinikte faydalı olabileceği düşünülmüştür (Nateri ve ark., 2007). ERK aktivasyonu ile eksitabilitenin her ikisinin de azalması arasındaki ilişki, γ -hidroksibütirat (GHB) veya baklofen ile aktive olan GABA_B'nin *in vivo* non-epileptik hayvanlarda ERK sinyalizasyonunu azaltması ve GHB'nin de nöronal eksitabilite ile sinaptik plastisiteyi azaltmasıyla desteklenir (Ren ve Mody, 2003).

Sunulan çalışmada 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk. sonra AM-251 (0,25 μ g, i.s.v), 10 dk. sonra da apelin-13 (15 μ g, i.s.v.) verildi. AM-251 (0,25 μ g) + apelin-13 (15 μ g) birlikte uygulandığında kontrol grubuna göre 30. dakikadan itibaren spike frekansı % değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. AM-251'in tek başına gösterdiği prokonvulsan etki tek başına apelin-13'ün gösterdiği prokonvulsan

etkiyle karşılaştırıldığında, AM-251'de 90. dakikadan itibaren anlamlı bir artış kaydedilmiştir. AM-251 (0,25 µg) + apelin-13 (15 µg) grubunun oluşturduğu prokonvulsan etki tek başına AM-251 ve apelin-13'e göre istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Bu etkinin apelin-13'den fazla AM-251'den az oluşu ve kanabinoid CB1 reseptörlerinin APJ reseptörüne göre baskın oluşu bu ilişkide AM-251'in daha etkili olduğunu göstermektedir. Bahremand ve ark. (2009), AM-251'in 1 mg/kg (i.p.) dozda (en etkin doz) nöbet eşiğini anlamlı olarak düşürdüğünü, Çakıl ve ark. (2010) 0,25 µg (i.s.v.) AM-251'in epileptiform aktivitesinin amplitüdünü değiştirmezken, frekansını 30. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde artırdığını bulmuşlardır. Cook ve ark. (2011) yaptığı *in vitro* çalışmada, 20 µM dozdaki apelin-13 serebrokortikal nöronlarda hücre içi Ca⁺² konsantrasyonunu artırmıştır. Kanabinoidlerin Gi/o proteinleri aracılığıyla direkt Ca⁺² kanallarının inhibisyonunu yaptığı bilindiğine göre kanabinoid CB1 reseptör antagonisti olan AM-251'de ters etki oluşturacağından, etkin doz apelin ve etkin doz AM-251'in ikisinin de hücre içi kalsiyum miktarını artırması doğaldır.

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk. sonra ACEA (7,5 µg, i.s.v), 10 dk. sonra da apelin-13 (15 µg, i.s.v.) verildi. ACEA (7,5 µg) + apelin-13 (15 µg) birlikte uygulandığında kontrol grubuna göre 40. dakikadan itibaren spike frekansı % değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Etkin doz apelin tek başına prokonvulsan etki göstermesine rağmen ACEA (7,5 µg) + apelin-13 (15 µg) grubunda, etkin doz ACEA'nın etkisi gibi antikonvulsan bir etki ortaya çıkarmıştır. Apelin-13 APJ reseptörü üzerinden hücre içi kalsiyumu artırırken, ACEA CB1 reseptörleri üzerinden hem hücre içi kalsiyumu azaltır hem de MAPK aktivasyonu ile gen ekspresyonunu sağlar. Dolayısı ile ACEA'nın, apelin-13'ün prokonvulsan etkisini oluşturacak hücre içi net Ca⁺² girişini bloklayarak antikonvulsan etki gösterdiği düşünülmektedir.

500 IU penisilin i.k. yolla uygulandıktan 30 dk. sonra AM-251 (0,125 µg, i.s.v), 10 dk. sonrasında da apelin-13 (15 µg, i.s.v.) verildi. AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (15 µg) birlikte uygulandığında kontrol grubuna göre 30. dakikadan itibaren spike frekansı % değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Etkisiz doz AM-251 epileptiform aktivite üzerine hiçbir etki göstermediğinden bu grubun oluşturduğu etki apelinin prokonvulsan etkisinden ileri gelmektedir.

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk. sonra AM-251 (0,125 µg, i.s.v), 10 dk. sonrasında da apelin-13 (5 µg, i.s.v.) verildi. AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) birlikte uygulandığında epileptiform aktivite üzerinde hiçbir etki göstermemiştir. Her iki yolağın neden olduğu Ca^{+2} girişi epileptik aktivite frekansında artışa neden olacak kadar yeterli değildir. Apelin-13 ve AM-251'in etkisiz dozlarının birlikte verilmesi sinerjistik etki oluşturmadığından, bu durum her iki maddenin farklı yollarını kullandığını düşündürmektedir.

CB1 reseptörlerinin G-proteine bağlı içe yönelik rektifiye edici K^{+} kanallarının aktivasyonuna neden olduğu bulunmuştur (Mackie ve ark., 1995). K^{+} kanal permeabilitesindeki artış, epileptiform deşarjları azaltarak nöronal patlama tarzı potansiyel oluşumunu (burst-firing) hafifletir (Deadwyler ve ark., 1993). Kanabinoidler ayrıca; hipokampal nöronlardan glutamat salınımını azaltabileceği gibi (Richardson ve ark., 1998) globus pallidusta GABA geri alımını inhibe edebilir (Maneuf ve ark., 1996). Kanabinoidlerin bu etkilerinin antikonvulsan özelliklerinden sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Bunların yanında, CB1 reseptörleri hem mitojen ile aktive edilmiş protein kinazı (MAPK) direk aktifleyerek hem de adenil siklaz aktivitesinin azalmasının bir sonucu olarak protein kinaz aktivitesini dolaylı olarak azaltarak gen ekspresyonunu da etkilemektedir (Kyrou ve ark., 2006; Rang ve ark., 2011).

Ekstraselüler sinyalle düzenlenen ERK, nöronal aktivitenin düzenlenmesinde oldukça hassastır ve sinaptik plastisite de rolünün olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Ohno-Shosaku ve ark., 2001; Wilson ve Nicoll, 2001). ERK'in nöronal eksitabilitenin düzenlenmesinde görev aldığı bilinmektedir (Dudek ve Fields, 2001; Selcher ve ark., 2003). Nöronal eksitabilitedeki değişiklikler ve sinaptik plastisiteye bağlı bazı aktivitelerde ERK sinyalizasyonundaki değişikliklerin epilepside de ortaya çıkabileceği fikri akla gelmektedir.

Sıçanlarda olduğu gibi normal farelerde de (wild-type mice) (+/+) 2-AG ve anandamid p38-MAPK aktivasyonunu artırırken, CB1-R knockout farelerde endokanabinoidler p38-MAPK üzerinde bir etki göstermemiştir (Derkinderen ve ark., 2001). Buradan yola çıkarak, yine aynı çalışmada endokanabinoidlerin p38-MAPK üzerine etkisinin CB1 reseptör aktivasyonu aracılığı ile olduğu gösterilmiştir. Endokanabinoidlerin p38-MAPK aktivasyonu üzerindeki etki mekanizması bilinmemektedir. Bazı hücrelerde G protein kenetli reseptörler aracılığıyla p38-MAPK

düzenlenmesinde tirozin kinaz Src'nin rol alabileceği düşünülmüştür (Nagao ve ark, 1998), ancak Src ailesinin spesifik inhibitörü olan PP2 (Hanke ve ark, 1996), hipokampal dilimlerde endokanabinoidler tarafından indüklenen tirozin fosforilasyonunu engellerken, p38-MAPK aktivasyonunu önlememiştir (Derkinderen ve ark, 2001). Bu sonuçlar endokanabinoidler tarafından p38-MAPK aktivasyonunda Src ailesine ait tirozin kinazların rol almadığını göstermiştir. Alternatif bir mekanizma ise non-nöronal hücrelerde CB1 reseptörü ile aktive olan (Gomez del Pulgar ve ark, 2000) PI 3-K'nın dahil olabileceğidir. Davis ve ark. (2003)'nin yaptığı çalışma N1E-115 fare nöroblastoma hücrelerinde kanabinoidler tarafından ERK aktivasyonundan sorumlu hücre içi sinyal yolağını belirlemeyi amaçlamıştır. CB1 reseptör agonisti WIN 55,212-2 tarafından indüklenen ERK aktivasyonu, CB1 reseptör antagonisti SR141716A tarafından bloklanmış ve PI3-K inhibitörü LY294002 tarafından da kısmen yok edilmiştir. Aynı çalışmanın devamında WIN 55,212-2'nin stimüle ettiği ERK aktivasyonu MEK inhibitörleri (PD98059 ve U0126) tarafından tamamen bloklanmıştır ki bunun ERK fosfotaz inhibisyonu yoluyla değil, Raf-MEK-ERK kaskadı yoluyla orta çıktığı gösterilmiştir (Davis ve ark.,2003). Src inhibitörü PP2'de ERK fosforilasyonunu kısmen inhibe etmiştir ancak WIN 55,212-2'nin indüklediği ERK fosforilasyonu PKC inhibitörü (GF109203X) tarafından bloklanmamıştır. Ayrıca yine bu ERK aktivasyonu adenilat siklaz (AC) aktivatörü olan forskolin ile tamamen ortadan kaldırılırken, PKA inhibitörü olan H-89 varlığında da artırılmıştır (Davis ve ark., 2003).

Nöronal uyarılabilirliği etkileyen ERK fosforilasyonun bir diğer hedefi de Kv4.2 K⁺ kanallarıdır (Adams ve ark., 2000; Schrader ve ark., 2006; Varga ve ark., 2000). Normalde pERK tarafından Kv4.2 kanalların fosforilasyonu A tipi K⁺ kanallarını inhibe eder ve bu durum geriye doğru ilerleyen aksiyon potansiyelinin amplitüdünü artırarak dentritik eksitabiliteyi artırır (Yuan ve ark., 2002). Bu nedenle ERK fosforilasyonunun azalması Kv4.2 K⁺ kanal aktivasyonunun artmasına yol açar ve interiktal periyod boyunca dentritik eksitabilite azalır. Ancak Bernard ve ark. çalışmasında (2004) pilokarpın uygulanan sıçanlarda kronik periyod boyunca CA1 bölgesinde Kv4.2 K⁺ kanal proteininde kısmi azalma gözlemlendi ve bunun da direkt olarak nöronal eksitabilitenin artmasına katkı sağladığını düşündüler (Bernard ve ark, 2004).

500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk. sonra AM-251 (0,125 µg, i.s.v), 10 dk. sonra apelin (5 µg, i.s.v.) ve 10 dk. sonrasında da ACEA (7,5 µg, i.s.v) verildi. AM-251 (0,125 µg) + apelin-13 (5 µg) + ACEA (7,5 µg) birlikte uygulandığında kontrol grubuna göre 50. dakikadan itibaren spike frekansı % değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Bu azalma etkin doz ACEA'nın gösterdiği antikonvulsan etki ile aynıdır. O halde AM-251 ile apelin-13'ün etkisiz dozlarının üzerine 7,5 µg ACEA dozu etki göstermiştir. ACEA gibi CB1 reseptör agonistleri, inhibitör G proteinleri aktivasyonu yoluyla cAMP üretimini azaltıp protein kinaz A'yı inhibe eder (Bidaut-Russell ve ark., 1990), bu durum voltaj kapılı Ca⁺² kanalları aracılığıyla hücre içi Ca⁺² miktarının azaltılıp neticede presinaptik transmitter salınımının azaltılmasıyla sonuçlanır (Mackie ve ark., 1993).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Penisilin (500 IU, i.k) enjeksiyonundan sonra 2-5 dakika içinde epileptik spikelar ve spike-dalga kompleksleri görülmeye başlandı. Epileptiform aktivite 30 dk. içinde kararlı hale geldi ve 180 dk'lık kayıt boyunca devam etti.
2. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 5 µg apelin-13 (i.s.v.) uygulandığında spike frekansında anlamlı bir değişiklik görülmedi.
3. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 15 µg apelin-13 (i.s.v.) uygulandığında spike aktivitesinde 20. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptandı.
4. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra, 0,125 µg AM-251 (i.s.v.) uygulandığında spike frekansında anlamlı bir değişiklik görülmedi.
5. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 0,25 µg AM-251 (i.s.v.) uygulandığında spike aktivitesinde 20. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptandı.
6. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 7,5 µg ACEA (i.s.v.) uygulandığında spike aktivitesinde 50. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı.
7. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 0,25 µg (i.s.v.) AM-251, 10 dk. sonra da (i.s.v.) 15 µg apelin-13 uygulandığında spike aktivitesinde 30. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptandı.
8. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 7,5 µg (i.s.v.) ACEA, 10 dk. sonra da 15 µg (i.s.v.) apelin-13 uygulandığında spike aktivitesinde 40. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı.
9. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 0,125 µg (i.s.v.) AM-251, 10 dk. sonra da (i.s.v.) 15 µg apelin-13 uygulandığında spike aktivitesinde 30. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptandı.
10. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 0,125 µg (i.s.v.) AM-251, 10 dk. sonra da (i.s.v.) 5 µg apelin-13 uygulandığında spike frekansında anlamlı bir değişiklik görülmedi.
11. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk. sonra 0,125 µg (i.s.v.) AM-251, 10 dk. sonra 5 µg (i.s.v.) apelin-13, 10 dk. sonrasında da 7,5 µg (i.s.v.) ACEA uygulandığında spike

aktivitesinde 50. dakikadan kayıt sonuna kadar kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı.

Yapılan bu çalışmanın sonucuna göre kanabinoid CB1 reseptör agonisti ACEA ve CB1 reseptör antagonisti AM-251'in, bir nöropeptid olan apelin-13 ile farklı yollardan etki gösterdikleri düşünülmektedir. Ancak bu hipotezin kanıtlanabilmesi için ileri düzeyde moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.



KAYNAKLAR

- Adams IB, Compton DR, Martin BR. Assessment of anandamide interaction with the cannabinoid brain receptor: SR 141716A antagonism studies in mice and autoradiographic analysis of receptor binding in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998; 284: 1209-1217.
- Adams IB, Martin BR. Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction.* 1996;91(11):1585-614.
- Adams JP, Anderson AE, Varga AW, Dineley KT, Cook RG, Pfaffinger PJ, Sweatt JD. The A-type potassium channel Kv4.2 is a substrate for the mitogen-activated protein kinase ERK. *J Neurochem.* 2000;75: 2277–2287.
- Agar E. The role of cannabinoids and leptin in neurological diseases. *Acta Neurol Scand.* 2015;132(6):371-380.
- Akdogan I, Adiguzel E, Yilmaz I, Ozdemir MB, Sahiner M, Tufan AC. Penicillin-induced epilepsy model in rats: dose-dependant effect on hippocampal volume and neuron number. *Brain Res Bull.* 2008;77(4):172-177.
- Alexander SP. Therapeutic potential of cannabis-related drugs. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2016 Jan 4;64: 157-66.
- Alicı SK. NMDA ve Kanabinoid Reseptör Sistemleri Arasındaki İlişkide T- Tipi Kalsiyum Kanal Blokerlerinin Rolü. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, Tıpta Uzmanlık Tezi,* 2014; 65-84.
- 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.
- Ameri A, Simmet T. Effects of 2-arachidonylglycerol, an endogenous cannabinoid, on neuronal activity in rat hippocampal slices. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2000;361(3):265-272.
- Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol.* 1999; 58: 315-348.
- Andrew RJ. The use of domestic chick as a model. Neural and behavioural plasticity. New York University Press. 1991.
- 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. *E.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(6):345-352.

- Arslan G. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite Üzerine Ghrelinin Gösterdiği İnhibitör Etkide Kanabinoid CB1 Reseptörünün Rolü. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, Tıpta Uzmanlık Tezi, 2013;55-62.
- Asanuma H. Cerebral cortical control of movement. *Physiologist*. 1973;16: 143-166.
- Avanzini G, Franceschetti S. Cellular biology of epileptogenesis. *Lanset Neurol*. 2003;2(1): 33-42.
- Avoli M, Louvel J, Pumain R ve ark. Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain. *Prog Neurobiol*. 2005;77(3):166-200.
- Avoli M. Electroencephalographic and pathophysiologic features of rat parenteral penicillin epilepsy. *Exp Neurol*. 1980;69(2):373-382.
- Axelrod J, Felder CC. Cannabinoid receptors and their endogenous agonist, anandamide. *Neurochem Res*. 1998;23(5):575-581.
- Ayyıldız M. Albino Tavşanlarda Kortikospinal Nöronların Organizasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Doktora Tezi, 1994.
- Ayyıldız M, Yildirim M, Agar E, Baltacı AK. The effect of leptin on penicillin induced epileptiform activity in the rats. *Brain Research Bulletin*. 2006;68 (5): 374-380.
- Bahreman A, Nasrabad SE, Shafaroodi H, Ghasemi M, Dehpour AR. Involvement of nitrenergic 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.
- Bambal G, Çakıl D, Ekici F, Epilepsi Oluşum Mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi*. 2011;3(3) :42-45.
- Baraban JM, Fiore RS, Sanghera JS, Paddon HB, Pelech SL. Identification of p42 mitogen-activated protein kinase as a tyrosine kinase substrate activated by maximal electroconvulsive shock in hippocampus. *J Neurochem*. 1993;60(1):330-336.
- Barr ML, Kiernan JA. *The human nervous system*. 5th Ed. Lippincott Company. Philadelphia. 1988;224-230.
- Basavarajappa BS. Neuropharmacology of the endocannabinoid signaling system-molecular mechanisms, biological actions and synaptic plasticity. *Curr Neuropharmacol*. 2007;5(2):81-97.
- Başar E, Schürman M, Demiralp T, Başar-Eroğlu C, Ademoğlu A. Event-related oscillations are “real brain responses”-Wavelet analysis and new strategies. *Int J Psychophysiol*. 2001;39: 91-127.

- Bátkai S, Pacher P, Osei-Hyiaman D, Radaeva S, Liu J, Harvey-White J, Offertáler L, Mackie K, Rudd MA, Bukoski RD, Kunos G. Endocannabinoids acting at cannabinoid-1 receptors regulate cardiovascular function in hypertension. *Circulation*. 2004 5;110(14).
- Bell GS, Sander JW, (2001). The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure*. 16: 165–170.
- Beltowski J. Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit*. 2006;12(6):112-119.
- Berkeley JL, Decker MJ, Levey AI. The role of muscarinic acetylcholine receptor-mediated activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 in pilocarpine-induced seizures. *J Neurochem*. 2002;82(1):192-201.
- Bernal B, Altman N. Evidence-based medicine: neuroimaging of seizures. *Neuroimaging Clin N Am*. 2003;13: 211-224.
- Bernard C, Anderson A, Becker A, Poolos NP, Beck H, Johnston D. Acquired dendritic channelopathy in temporal lobe epilepsy. *Science*. 2004;305:532–535.
- Bhat RV, Engber TM, Finn JP, Koury EJ, Contreras PC, Miller MS, Dionne CA, Walton KM. Region-specific targets of p42/p44MAPK signaling in rat brain. *J Neurochem*. 1998;70(2):558-571.
- Bidaut-Russell M, Devane WA, Howlett AC. Cannabinoid receptors and modulation of cyclic AMP accumulation in the rat brain. *J Neurochem*. 1990 Jul;55(1):21-26.
- 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.
- Bloom JM, Kaltenborn WT, Paoletti P. Respiratory effects of non-tobacco cigarettes. *British Medical Journal*. 1987; 295: 1516-1518.
- Bonz A, Laser M, Küllmer S, Kniesch S, Babin-Ebell J, Popp V, Ertl G, Wagner JA. Cannabinoids acting on CB1 receptors decrease contractile performance in human atrial muscle. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2003 Apr;41(4):657-664.
- Bora İ, Yeni SN, Gürses C. Tarihte epilepsi ve epileptolojinin kısa tarihçesi. *Epilepsi. Nobel Tıp Kitabevleri*. 2008; Bölüm 1: 3-11.
- Bostanci MO, Bagirici F. Anticonvulsive effects of quinine on penicillin induced epileptiform activity: An in vivo study. *Seizure*. 2007;16: 166-172.

- Bradley E. Alger. Endocannabinoids and Their Implications for Epilepsy. *Epilepsy Currents*. 2004;4: 169–173.
- Brailowsky S, Kunimoto 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 gamma-aminobutyric acid-withdrawal syndrome after chronic, intracortical infusion in baboons. *Neurosci Lett*. 1987 10;74(1):75-80.
- Brents LK, Gallus-Zawada A, Radomska-Pandya A, Vasiljevik T, Prisinzano TE, Fantegrossi WE, Moran JH, Prather PL. Monohydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-073 retain intermediate to high cannabinoid 1 receptor (CB1R) affinity and exhibit neutral antagonist to partial agonist activity. *Biochem Pharmacol*. 2012;83: 952-961.
- Bruton CJ. *The neuropathology of temporal lobe epilepsy*. New York: Oxford UP.1988.
- Campbell AM, Holmes O. Bicuculline epileptogenesis in the rat. *Brain Res*. 1984;323: 239- 246.
- Campos AC, Ferreira FR, Guimarães FS. Cannabidiol blocks long-lasting behavioral consequences of predator threat stress: possible involvement of 5HT1A receptors. *J Psychiatr Res*. 2012;46(11):1501-1510.
- Canan S, Ankarali S, Marangoz C. Detailed spectral profile analysis of penicillin induced epileptiform activity in anesthetized rats. *Epilepsy Res*. 2008;82 (1):7-14.
- Carrea R, Lanari A. Chronic effect of tetanus toxin applied locally to the cerebral cortex of the dog. *Science*. 1962;137: 342-343.
- Carrier EJ, Auchampach JA, Hillard CJ. Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: a mechanism of cannabinoid immunosuppression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 May 16;103(20):7895-900.
- Chen BS, Roche KW. Regulation of NMDA receptors by phosphorylation. *Neuropharmacology*. 2007 Sep;53(3):362-8.
- Chesher GB, Jackson DM. The effect of withdrawal from cannabis on pentylenetetrazol convulsive threshold in mice. *Psychopharmacologia*.1974;40(2) :129-35.
- Chiu P, Olsen DM, Borys HK, Karler R, Turkanis SA. The influence of cannabidiol and delta 9-tetrahydrocannabinol on cobalt epilepsy in rats. *Epilepsia*. 1979 Aug;20(4):365-75.

- Choe W, Albright A, Sulcove J, Jaffer S, Hesselgesser J, Lavi E, et al. Functional expression of the seven-transmembrane HIV-1 co-receptor APJ in neural cells. *J Neurovirol.* 2000;6: 61-S9.
- Chong, H, Vikis HG, and Guan KL. Mechanisms of regulating the Raf kinase family. *Cell. Signal.* 2003;15, 463–469.
- Chusid JG, Kopeloff LM. Epileptogenic effects of pure metals implanted in motor cortex of monkeys. *J Appl Physiol.* 1962;17: 697-700.
- Cinar R, Cinar OG. Kannabinoid Tip 1 Reseptör (CB1) ve Terapötik Yaklaşımlara Genel Bakış-I. *MUSBED.* 2011;1(2): 149-154.
- Coenen AM, Van Luijtelaar EL. The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res.* 1987; 1: 297-301.
- Cohen I, Navarro V, Clemenceau S, Baulac M, Miles R. On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy in vitro. *Science.* 2002 Nov 15;298(5597):1418-1421.
- Colonnier M. Synaptic patterns on different cell types in the different laminae of the cat visual cortex. An electron microscope study. *Brain Res.* 1968;9(2):268-287.
- Commission of Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia.* 1989;30: 389-399.
- Cook DR, Gleichman AJ, Cross SA, Doshi S, Ho W, Jordan-Sciutto KL, et al. NMDA receptor modulation by the neuropeptide apelin: implications for excitotoxic injury. *J Neurochem.* 2011;118(6):1113-1123.
- Cook SJ, and McCormick F. Inhibition by cAMP of Ras-dependent activation of Raf. *Science.* 1993;262, 1069–1072.
- Coulter JD, Ewing LK, Carter CM. Origin of primary sensory motor cortical projections to lumbar spinal cord of the cat and monkey. *Brain Res.* 1976;103:366-372.
- Cull-Candy SG, Leszkiewicz DN. Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Sci STKE.* 2004 Oct 19;2004(255):re16.
- Daaka Y, Luttrell LM, Ahn S, Della Rocca GJ, Ferguson SS, Caron MG, and Lefkowitz RJ. *J. Biol. Chem.* 1998;273, 685–688.
- Daniels JC, Spehlmann R. The convulsant effect of topically applied atropine. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1973; 34: 83-87.

- 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 Dec 5;278(49):48973-80.
- De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, De Luca B, Laforgia V, Groeger AM, De Luca A. Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo*. 2002;16(5):333-336.
- De Mota N, Lenkei Z, Llorens-Cortes C. Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology*. 2000;72(6):400-407.
- De Petrocellis L, Ligresti A, Moriello AS, Allarà M, Bisogno T, Petrosino S, Stott CG, Di Marzo V. Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *Br J Pharmacol*. 2011 Aug;163(7):1479-1494.
- Deadwyler SA, Hampson RE, Bennett BA, Edwards TA, Mu J, Pacheco MA, Ward SJ, Childers SR. Cannabinoids modulate potassium current in cultured hippocampal neurons. *Recept Channels*. 1993;1(2):121-134.
- Deiva K, Geeraerts T, Salim H, Leclerc P, Héry C, Hugel B, Freyssinet JM, Tardieu M. Fractalkine reduces N-methyl-d-aspartate-induced calcium flux and apoptosis in human neurons through extracellular signal-regulated kinase activation. *Eur J Neurosci*. 2004 Dec;20(12):3222-3232.
- Dennis I, Whalley BJ, Stephens GJ. Effects of Delta9-tetrahydrocannabinol on [35S]GTPgammaS binding in mouse brain cerebellum and piriform cortex membranes. *Br J Pharmacol*. 2008 Jul;154(6):1349-1358.
- Derkinderen P, Ledent C, Parmentier M, Girault JA. Cannabinoids activate p38 mitogen-activated protein kinases through CB1 receptors in hippocampus. *J Neurochem*. 2001 May;77(3):957-960.
- Derkinderen P, Enslen H. and Girault JA. The ERK/MAPkinases cascade in the nervous system. *Neuroreport*. 1999; 10, R24-R34.
- Derkinderen P, Siciliano J, Toutant M. and Girault J.-A. Differential regulation of FAK and PYK2/Cakb in rat hippocampal slices. Effects of LPA, carbachol, depolarization and hyperosmolarity. *Eur. J. Neurosci*. 1998;10, 1667-1675.
- Deshpande LS, Blair RE, Ziobro JM, Sombati S, Martin BR, DeLorenzo RJ. Endocannabinoids block status epilepticus in cultured hippocampal neurons. *Eur J Pharmacol*. 2007 Mar 8;558(1-3):52-59.
- Devane WA, Dysarz FA 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988 Nov;34(5):605-613.

- Devane WA, Hanus L, Breuer A, et al. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 258: 1946-1949.
- Devic E, Rizzoti K, Bodin S, Knibiehler B, Audigier Y. Amino acid sequence and embryonic expression of *msr/apj*, the mouse homolog of *XenopusX-msr* and human APJ. *Mechanisms of development*. 1999;84(1):199-203.
- Devinsky O, Cilio MR, Cross H, Fernandez-Ruiz J, French J, Hill C, Katz R, Di Marzo V, et al. Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. *Epilepsia*. 2014 Jun;55(6):791-802.
- Dewey WL. Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol rev*. 1986;38: 151-178.
- Di Marzo V, De Petrocellis L, Bisogno T, Berger A, Mechoulam R. Biology of endocannabinoids. In: Onaivi ES (ed), *Biology of Marijuana*. Taylor & Francis, London, pp. 2002;125–173.
- Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 1994; 372(6507): 686-691.
- Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Batkai S, Jarai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*. 2001;410(6830): 822-825.
- Dinh TP, Freund TF, Piomelli D. A role for monoglyceride lipase in 2-arachidonoylglycerol inactivation. *Chem Phys Lipids*. 2002 Dec 31;121(1-2):149-158.
- Domann R, Uhlig S, Dorn T, Witte OW. Participation of inter neurons in penicillin-induced epileptic discharges. *Exp. Brain Res*. 1991;83: 683–686.
- Dos Santos RG, Hallak JE, Leite JP, Zuardi AW, Crippa JA. Phytocannabinoids and epilepsy. *J Clin Pharm Ther*. 2015 Apr;40(2):135-143.
- Dragic S, Pavlovic V. Penicillin epilepsy in rats. *Acta Medica Medianae*. 2004;43 (4) :19-23.
- Dudek SM, Fields RD. Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase activation in somatodendritic compartments: roles of action potentials, frequency, and mode of calcium entry. *J Neurosci*. 2001 Jan 15;21(2):RC122.
- Edmonds HL, Stark LG, Hollinger MA. The effects of diphenylhydantoin, phenobarbital, and diazepam on the penicillin-induced epileptogenic focus in the rat. *Exp Neurol*. 1974;45(2):377-386.

- Emrich HM, Leweke FM, Schneider U. Towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia: cognitive impairments due to dysregulation of the endogenous cannabinoid system. *Pharmacol Biochem Behav.* 1997;56(4): 803-807.
- Engel J, Pedley TA. What Is Epilepsy? In: *Epilepsy A Comprehensive Textbook*, Second Edition. 2008;1: 1- 13.
- Erhardt P, Troppmair J, Rapp UR, and Cooper GM. Differential regulation of Raf-1 and B-Raf and Ras-dependent activation of mitogen-activated protein kinase by cyclic AMP in PC12 cells. *Mol. Cell. Biol.* 1995;15(10),5524–5530.
- Ettinger AB. Structural causes of epilepsy. *Neurologie Clinics.* 1994;12: 41-56.
- 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.
- Feigenbaum JJ, Bergmann F, Richmond SA. Nonpsychotropic cannabinoid acts as a functional NMDA receptor blocker. *Proc. Natl Acad Sci USA.* 1989; 86: 9584-9589.
- Felder CC, Glass M. Cannabinoid receptors and their endogenous agonists. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998;38: 179-200.
- Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J ve ark. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol.* 1995;48: 443-450.
- Ferguson JH, Jasper HHLaminar DC studies of acetylcholine-activated epileptiform discharge in cerebral cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1971;30: 377-390.
- Fischer W, Kittner H. Influence of ethanol on pentyleneterazol-induced kindling in rats. *J Neural Transm.* 1998;105: 1129- 1142.
- Fisher RS, Prince DA. Spike-wave rhythms in cat cortex induced by parenteral penicillin. I. Electroencephalographic features. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1977;42: 608-624.
- Fisher RS. Animal models of the epilepsies. *Brain Res Brain Res Rev.* 1989;14: 245-278.
- Freed WJ. Selective inhibition of homocysteine-induced seizures by glutamic acid diethyl ester and other glutamate esters. *Epilepsia.* 1985;26: 30-36.
- Freund TF, Katona I, Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev.* 2003 Jul;83(3):1017-1066.

- Friedman D, Devinsky O. Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy. *N Engl J Med*. 2015 Sep 10;373(11):1048-1058.
- Gallitto G, Musolino R, Bonanzinga M, De Domenico P, Distefano G, Serra S, Di Perri R. Interictal EEG pattern in rabbit penicillin epilepsy. *Ital J Neurol Sci*. 1986; 7(4): 413-420.
- Galve-Roperh I, Rueda D, Gomez del Pulgar T, Velasco G, and Guzman M. Mechanism of extracellular signal-regulated kinase activation by the CB(1) cannabinoid receptor. *Mol Pharmacol*. 2002 Dec;62(6):1385-1392.
- Garrido YC, Sanabria ER, Funke MG, Cavalheiro EA, Naffah-Mazzacoratti MG. Mitogen-activated protein kinase is increased in the limbic structures of the rat brain during the early stages of status epilepticus. *Brain Res Bull*. 1998 Oct;47(3):223-229.
- Gebremedhin D, Lange AR, Campbell WB, Hillard CJ, Harder DR. Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca^{2+} channel current. *Am J Physiol*. 1999 Jun;276(6 Pt 2):H2085-93.
- 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 Nov;53(6):763-770.
- Giuffrida A, Piomelli D. The endocannabinoid system: a physiological perspective on its role in psychomotor control. *Chem. Phys. Lipids*. 2000;108: 151–158.
- Glass M, Faull RM, Dragunow M. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study on the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience*. 1997;77, 299-318.
- Goll DE, Thompson VF, Li H, Wei W, Cong J. The calpain system. *Physiol Rev*. 2003; 83: 731–801.
- Gomez del Pulgar T, Velasco G. and Guzman M. The CB1 cannabinoid receptor is coupled to the activation of protein kinase B/Akt. *Biochem. J*. 2000;347, 369-373.
- Gonsiorek W, Lunn C, Fan X, Narula S, Lundell D, Hipkin RW. Endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: antagonism by anandamide. *Mol Pharmacol*. 2000 May;57(5):1045-1050.
- Goparaju SK, Ueda N, Yamaguchi H, Yamamoto S. Anandamide amidohydrolase reacting with 2-arachidonoylglycerol, another cannabinoid receptor ligand. *FEBS letters*. 1998;422(1): 69-73.

- Gordon E, Devinsky O. Alcohol and marijuana: effects on epilepsy and use by patients with epilepsy. *Epilepsia*. 2001 Oct;42(10):1266-1272.
- Gray DB, Polo-Parada L, Pilar GR, Eang P, Metzger RR, Klan E, Meriney SD. A nitric oxide/cyclic GMP-dependent protein kinase pathway alters transmitter release and inhibition by somatostatin at a site downstream of calcium entry. *Journal of Neurochemistry*. 1999;72: 1981- 1990.
- Grays anatomy. The Anatomical Basis of Clinical Practice. Susan Stanring. 2005;40th edition.
- Griebel G, Stemmelin J, Scatton B. Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant in models of emotional reactivity in rodents. *Biol Psychiatry*. 2005 Feb 1;57(3):261-267.
- Guindon J, Beaulieu P. Antihyperalgesic effects of local injections of anandamide, ibuprofen, rofecoxib and their combinations in a model of neuropathic pain. *Neuropharmacol*. 2006;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*. 2006;121(1-2): 85-93.
- Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boscia F, Freund TF. Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci*. 2004;20(2): 441- 458.
- Gurnett CA, Dodson WE. Definitions and classification of epilepsy. Vol.1-1, United Kingdom, 2009;1-20.
- Haagen-Smit AJ, Wawra CZ, Koepfli JB, Alles GA, Feigen GA, Prater AN. A Physiologically Active Principle From Cannabis Sativa (Marihuana). *Science*. 1940 Jun 21;91(2373):602-603.
- Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, Hinuma S, et al. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1999;1452(1):25-35.
- Hall JE. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12/E, Philadelphia, Saunders Elsevier. 2011; 723.
- Hanke JH, Gardner JP, Dow RL, Changelian PS, Brissette WH, Weringer EJ, Pollok BA, Connelly PA. Discovery of a novel, potent, and Src family-selective tyrosine kinase inhibitor. *J. Biol. Chem*. 1996;271, 695-701.

- Hanna GR, Stalmaster RM. Cortical epileptic lesions produced by freezing. *Neurology*. 1973;23: 918-925.
- Hao S, Avraham Y, Mechoulam R, Berry EM. Low dose anandamide affects food intake, cognitive function, neurotransmitter and corticosterone levels in diet-restricted mice. *Eur J Pharmacol*. 2000 Mar 31;392(3):147-156.
- Hardingham GE, Bading H. Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2010 Oct;11(10):682-696.
- Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K. Protective effects of cannabinoid receptor ligands analogous to anandamide against cocaine toxicity. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi*. 2001 Dec;36(6):596-608.
- Hecht JH, Weiner JA, Post SR, and Chun J. Ventricular Zone Gene-1 (vzg-1) encodes a lysophosphatidic acid receptor in neurogenic regions of the developing cerebral cortex. *J. Cell Biol*. 1996;135, 1071-1083.
- Heinemann U, Konnerth A, Pumain R, Wadman W. Extracellular calcium and potassium concentration changes in chronic epileptic brain tissue. *Advances in neurology*. 1985;44: 641-661.
- Heinemann U, Lux HD, Gutnick MJ. Extracellular free calcium and potassium during paroxysmal activity in the cerebral cortex of the cat. *Expl Brain Res*. 1977;27: 237-243.
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Mar;87(5):1932-1936.
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR et al. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: A quantitative invitro autoradiographic study. *J Neurosci*. 1991;11: 563-583.
- Hewson AK, Dickson SL. Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Sunter D, Neurosci Lett*. 2003 Dec 15;353(1):1-4.
- 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.
- Hiroaki Misonou. Homeostatic Regulation of Neuronal Excitability by K⁺ Channels in Normal and Diseased Brains. *The Neuroscientist*. 2010;16 (1): 51-64.

- Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(28):21061-21067.
- Houser CR, Huang CS, Peng Z. Dynamic seizure-related changes in extracellular signal-regulated kinase activation in a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience*. 2008 Sep 22;156(1):222-237.
- Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology* 47 Suppl. 2004;1: 345–358.
- Howlett AC, Fleming RM. Cannabinoid inhibition of adenylate-cyclase: pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol Pharmacol*. 1984;26: 532–538.
- Howlett AC, Mukhopadhyay S. Cellular signal transduction by anandamide and 2-arachidonoylglycerol. *Chem Phys Lipids*. 2000 Nov;108(1-2):53-70.
- Howlett, AC, Qualy JM, and Khachatrian LL. *Mol. Pharmacol*. 1986;29, 307–313.
- Huffman JW, Padgett LW. Recent developments in the medicinal chemistry of cannabinomimetic indoles, pyrroles and indenes. *Curr Med Chem*. 2005; 12: 1395- 1411.
- 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.
- Ivanov A, Pellegrino C, Rama S, Dumalska I, Salyha Y, Ben-Ari Y, Medina I. Opposing role of synaptic and extrasynaptic NMDA receptors in regulation of the extracellular signal-regulated kinases (ERK) activity in cultured rat hippocampal neurons. *J Physiol*. 2006; 572:789–798.
- Jorge Plutzky and Stephen C. Woods. The Endocannabinoid System and the Regulation of Energy Metabolism. *Define Understand Acknowledge Highlight Review*. 2006. Eds. Brought by Sanofi-Aventis U.S.LLC. *Diabetes Care*.
- Karler R, Cely W, Turkanis SA. The anticonvulsant activity of cannabidiol and cannabinol. *Life Sci*. 1973 Dec 1;13(11):1527-1531.
- Karler R, Murphy V, Calder LD, Turkanis SA. Pentylentetrazol kindling in mice. *Neuropharmacology*. 1989 Aug;28(8):775-780.

- Kawamata Y, Habata Y, Fukusumi S, Hosoya M, Fujii R, Hinuma S, Nishizawa N, Kitada C, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding. *Biochim Biophys Acta*. 2001 Apr 23;1538(2-3):162-171.
- Kleinz MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacology & therapeutics*. 2005;107(2):198-211.
- Kleinz MJ, Davenport AP. Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells. *Regul Pept*. 2004 May 15;118(3):119-125.
- Kleinz MJ, Skepper JN, Davenport AP. Immunocytochemical localisation of the apelin receptor, APJ, to human cardiomyocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Regulatory peptides*. 2005;126(3):233-240.
- Kopeloff LM. Experimental epilepsy in the mouse. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1960;104:500-504.
- Kozan R, Ayyildiz M, Yildirim M and Agar E. The effects of ethanol intake and withdrawal on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Brain Research Bulletin*. 2006;71 (1-3): 111-115.
- Kunos G, Osei-Hyiaman D, Liu J, Godlewski G, Batkai S. Endocannabinoids and the control of energy homeostasis. *J Biol Chem*. 2008; 283(48): 33021-33025.
- Kyrou I et al. The endocannabinoid system as a target for the treatment of visceral obesity and metabolic syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (2006). 1083: 270-305.
- Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-Moreira AF. The apelinergic system: the role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. *Arq Bras Cardiol*. 2008 May;90(5):343-349.
- Laird HE. The genetically epilepsy-prone rat. A valuable model for the study of the epilepsies. *Mol Chem Neuropathol*. 1989;11: 45-59.
- Lang W, Qin C, Lin S, Khanolkar AD, Goutopoulos A, Fan P, Abouzid K, Meng Z, Biegel D, Makriyannis A. Substrate specificity and stereoselectivity of rat brain microsomal anandamide amidohydrolase. *J Med Chem*. 1999;42(5): 896-902.
- Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *Journal of neurochemistry*. 2000;74(1):34-41.
- 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.

- Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L, Laezza C, Portella G, Bifulco M, Di Marzo V. Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther.* (2006). 318(3):1375-1387.
- Loewe S. Studies on the pharmacology and acute toxicity of compounds with marihuana activity. *J Pharmacol Exp Ther.* 1946;88: 154–161.
- Löscher W. Animal models of intractable epilepsy. *Prog Neurobiol.* 1997;53: 239-258.
- Löscher W, Schmidt D. Strategies in antiepileptic drug development: Is rational drug design superior to random screening and structural variation? *Epilepsy Res.* 1994;17: 95–134.
- Luszczki JJ, Czuczwar P, Cioczek-Czuczwar A, Czuczwar SJ. Arachidonyl-2-chloroethylamide, a highly selective cannabinoid CB1 receptor agonist enhances the anticonvulsant action of valproate in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. *Eur J Pharmacol.* 2006;547: 65-74.
- Maccarrone M, van der Stelt M, Rossi A, Veldink GA, Vliegenthart JF, Agrò AF. Anandamide hydrolysis by human cells in culture and brain. *J Biol Chem.* 1998 Nov 27;273(48):32332-32339.
- Mackie K, Devane WA, Hille B. Anandamide, an endogenous cannabinoid, inhibits calcium currents as a partial agonist in N18 neuroblastoma cells. *Mol Pharmacol.* 1993;44(3):498–503.
- Mackie K, Lai Y, Westenbroek R, Mitchell R. Cannabinoids activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in AtT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptor. *J Neurosci.* 1995;15: 6552–6561.
- 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. *Neuroscience.* 1992;48, 655-688.
- Maldonado R, Valverde O, Berrendero F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends in neurosciences.* 2006; 29(4): 225-232.
- 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.
- Marangoz AH. Deneysel Epilepside Kolinerjik ve Nitrerjik Maddelerin Etkileşimi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Doktora Tezi, 2010; 64.
- Marangoz C, Bağırıcı F. Effect of L-Arginine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 2001;86: 297-301.

- Marangoz C. Deneysel epilepsi modelleri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, Tıp Dergisi, 1997.
- Marsicano G, Goodenough S, Monory K, Hermann H, Eder M, Cannich A, Azad SC, et al. CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science*. 2003;302: 84–88.
- Martin BR, Compton DR, Thomas BF, Preskott WR, Little PJ. Behavioral, biochemical, and molecular modeling evaluations of cannabinoid analogs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1991;40: 471-478.
- Masri B, Knibiehler B, Audigier Y. Apelin signalling: a promising pathway from cloning to pharmacology. *Cell Signal*. 2005 Apr;17(4):415-426.
- 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.
- 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. *Biochem Pharmacol*. 1995 Jun 29;50(1):83-90.
- Mechoulam R, Fride E, Di Marzo V. Endocannabinoids. *Eur J Pharmacol*. 1998;359:1-18.
- Mechoulam R, Hanus L. A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chem Phys Lipids*. 2000;108: 1–13.
- Mechoulam R. Discovery of endocannabinoids and some random thoughts on their possible roles in neuroprotection and aggression. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2002;66(2-3): 93-99.
- Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003;84(5):1162-1172.
- Meldrum B. Cell damage in epilepsy and the role of calcium in cytotoxicity. *Advances in neurology*. 1985;44: 849-855.
- Melis M, Pistis M, Perra S, Muntoni AL, Pillolla G, Gessa GL. Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors. *J Neurosci*. 2004;24(1): 53-62.

- Meral C, Cekmez F, Vurucu S, Tascilar E, Pirgon O, Canpolat FE, et al. New adipocytokines (vaspin, apelin, visfatin, adiponectin) levels in children treated with valproic acid. *European cytokine network*. 2011;22(2):118-122.
- Miller JW, Snyder AZ, Coben LA, Prenskey AL. *Clinical electroencephalography and related techniques*. Clinical Neurology. 1992;1: 5. Lippincott, Philadelphia.
- Moreira FA, Aguiar DC, Guimarães FS. Anxiolytic-like effect of cannabinoids injected into the rat dorsolateral periaqueductal gray. *Neuropharmacology*. 2007 Mar;52(3):958-965.
- Mountcastle VB, Poggio GF. Structural organization and general physiology of thalamotellencephalic systems. In: *Medical Physiology*, Ed., Mountcastle, V.B. Mosby Comp. 1974; 227-253.
- Murray EA, Coulter JD. Organization of corticospinal neurons in the monkey. *J Comp Neurol*. 1981;195:339-355.
- Nagao M, Yamauchi J, Kaziro Y. and Itoh H. Involvement of protein kinase C and Src family tyrosine kinase in Gαq/11-induced activation of c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem*. 1998; 273, 22892-22898.
- Nahas GG. *Marijuana: toxicity and tolerance*. Medical Aspects of Drug Abuse. Baltimore, MD. Harper & Row: 1975;16-36.
- Nakatsuka T, Chen H-X, Roper SN, Gu JG. Cannabinoid receptor-1 activation suppresses inhibitory synaptic activity in human dentate gyrus. *Neuropharmacology*. 2003;45: 116-121.
- Nateri AS, Raivich G, Gebhardt C, Da Costa C, Naumann H, Vreugdenhil M, Makwana M, Brandner S, Adams RH, Jefferys JG, Kann O, Behrens A. ERK activation causes epilepsy by stimulating NMDA receptor activity. *EMBO J*. 2007 Nov 28;26(23):4891-901.
- Wilson RI, Nicoll RA. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature*. 2001 Mar 29;410(6828):588-592.
- Noe F, Nissinen J, Pitkänen A, Gobbi M, Sperk G, Düring M, Vezzani A. Gene therapy in epilepsy: the focus on NPY. *Peptides*. 2007 Feb;28(2):377-383.
- O'Carroll A-M, Selby TL, Palkovits M, Lolait SJ. Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression*. 2000;1492(1):72-80.

- O'Donnell LA, Agrawal A, Sabnekar P, Dichter MA, Lynch DR, Kolson DL. Apelin, an endogenous neuronal peptide, protects hippocampal neurons against excitotoxic injury. *Journal of neurochemistry*. 2007;102(6):1905-1917.
- O'Carroll A-M, Lolait SJ, Harris LE, Pope GR. The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *Journal of Endocrinology*. 2013;219(1):R13-R35.
- O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, Shi X, Petronis A, George SR, Nguyen T. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*. 1993 Dec 22;136(1-2):355-360.
- O'Dowd BF. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*. 2000;74(1):34-41.
- Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Batkai S, Harvey-White J, Mackie K, Offertaler L, Wang L, Kunos G. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest*. 2005;115(5): 1298-1305.
- Patel S, Hillard CJ Pharmacological evaluation of cannabinoid receptor ligands in a mouse model of anxiety: further evidence for an anxiolytic role for endogenous cannabinoid signaling. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006 Jul;318(1):304-311.
- Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog. Neurobiol*. 2001;63: 569-611.
- Pertwee RG. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *Br J Pharmacol*. 2006;147:163-171.
- Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther*. 1997;74(2):129-80.
- Pertwee RG. The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta-9 tetrahydrocannabivarin. *Br J Pharmacol*. 2008 Jan;153(2):199-215.
- Picone RP, Kendall DA. Minireview: From the bench, toward the clinic: therapeutic opportunities for cannabinoid receptor modulation. *Mol Endocrinol*. 2015 Jun;29(6):801-13.
- Piomelli D, Beltramo M, Giuffrida A, Stella N. Endogenous cannabinoid signaling. *Neurobiol Dis*. (1998). 5: 462-473.
- Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(11):873-884.

- Piredda S, Gale K. Role of excitatory amino acid transmission in the genesis of seizures elicited from the deep prepiriform cortex. *Brain Res.* 1986; 377: 205-210.
- Pitkanen A, Schwartzkroin PA, Moshe SL. *Models of Seizures and Epilepsy.* 2006. Elsevier Academic Press, New York.
- Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin receptor nomenclature, distribution, pharmacology, and function. *Pharmacological reviews.* 2010;62(3):331-342.
- Prince D, Farrell D. "Centrencephalic" spike-wave discharges following parenteral penicillin injection in the rat. *Neurology.* 1969;19: 309-310.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D et al. *Neuroscience.* 2nd edition. 2001. Sunderland, Sinauer Associates
- Ramer R, Merkord J, Rohde H, Hinz B. Cannabidiol inhibits cancer cell invasion via upregulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1. *Biochem Pharmacol.* (2010). 79(7): 955-966.
- Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Pharmacology* 7th ed. (2011). Churchill Livingstone.
- 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.
- Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, Corvol P, Palkovits M, Llorens-Cortès C. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *J Neurochem.* 2001 May;77(4):1085-1096.
- Reaux A, Gallatz K, Palkovits M, Llorens-Cortès C. Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience.* 2002;113(3):653-662.
- Reisseries COA, Lanz T, Hofmann F, Hofer G, Rupprecht HD. and Goppelt-Struebe M. Lysophosphatidic acid-mediated signal-transduction pathways involved in the induction of the early-response genes prostaglandin G/H synthase-2 and egr-1: a critical role for the mitogen-activated protein kinase p38 and for Rho proteins. *Biochem. J.* 1998;330, 1107-1114.
- Remler MP, Marcussen WH. Systemic focal epileptogenesis. *Epilepsia.* 1986; 27:35-42.
- Ren X, Mody I. Gamma-hydroxybutyrate reduces mitogen-activated protein kinase phosphorylation via GABA B receptor activation in mouse frontal cortex and hippocampus. *J Biol Chem.* 2003 Oct 24;278(43):42006-42011.

- Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM. Hypoactivity of the spinal cannabinoid system results in NMDA dependent hyperalgesia. *J Neurosci.* 1998;18(1):451–457.
- Robbe D, Kopf M, Remaury A, Bockaert J, Manzoni OJ. Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(12):8384-8388.
- Ross RA. Allosterism and cannabinoid CB1 receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 2007; 30:156-163.
- Saario SM, Savinainen JR, Laitinen JT, Järvinen T, Niemi R. Monoglyceride lipase-like enzymatic activity is responsible for hydrolysis of 2-arachidonoylglycerol in rat cerebellar membranes. *Biochem Pharmacol.* 2004 Apr 1;67(7):1381-1387.
- Schaeffer HJ, Weber MJ. Mitogen-activated protein kinases: specific messages from ubiquitous messengers. *Mol Cell Biol.* 1999 Apr;19(4):2435-2444.
- Schauwecker PE. Neuroprotection by glutamate receptor antagonists against seizure-induced excitotoxic cell death in the aging brain. *Exp Neurol.* 2010 Jul;224(1):207-218.
- Schmid PC, Reddy PV, Natarajan V, Schmid HH. Metabolism of N-acylethanolamine phospholipids by a mammalian phosphodiesterase of the phospholipase D type. *J Biol Chem.* 1983 Aug 10;258(15):9302-9306.
- Schmid PC, Zuzarte-Augustin ML, Schmid HH. Properties of rat liver N-acylethanolamine amidohydrolase. *J Biol Chem.* 1985 Nov 15;260(26):14145-14149.
- Schmidt RF. Integrative functions of the central nervous system. *Human physiology.* 2nd Ed. 1989;124-165.
- Schrader LA, Birnbaum SG, Nadin BM, Ren Y, Bui D, Anderson AE, Sweatt JD. ERK/MAPK regulates the Kv4.2 potassium channel by direct phosphorylation of the poreforming subunit. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290:C852–C861.
- 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.
- Seyedabadi M, Goodchild AK, Pilowsky PM. Site-specific effects of apelin-13 in the rat medulla oblongata on arterial pressure and respiration. *Auton Neurosci.* 2002 Oct 31;101(1-2):32-38.

- Shafaroodi H, Samini M, Moezi L, Homayoun H, Sadeghipour H, Tavakoli S, Hajrasouliha AR, Dehpour AR. The interaction of cannabinoids and opioids on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Neuropharmacology*.2004;47: 390–400.
- Shneker BF, Fountain NB. *Epilepsy*. Dis Mon. Jul. 2003;49: 426-748.
- 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.
- Solinas M, Tanda G, Justinova Z et al. The endogenous cannabinoid anandamide produces Δ -9-tetrahydrocannabinol-like discriminative and neurochemical effects that are enhanced by inhibition of fatty acid amide hydrolase but not by inhibition of anandamide transport. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007;321: 370-80.
- Soriano FX, Papadia S, Hofmann F, Hardingham NR, Bading H, Hardingham GE. Preconditioning doses of NMDA promote neuroprotection by enhancing neuronal excitability. *J Neurosci*. 2006;26: 4509–4518.
- Sörhede Winzell M, Magnusson C, Ahrén B. The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice. *Regul Pept*. 2005 Nov;131(1-3):12-17.
- Speckmann EJ, Walden J. Antiepileptic effects of organic calcium channel blockers in animal experiments. In: *Epilepsy: Models, mechanisms and concepts*. Ed, Schwartzkroin PA, Cambridge University Press, 1993;462-486.
- Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res*. 2006;45(5): 405-446.
- Sugiura T, Kodaka T, Kondo S, Tonegawa T, Nakane S, Kishimoto S, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol, a putative endogenous cannabinoid receptor ligand, induces rapid, transient elevation of intracellular free Ca²⁺ in neuroblastoma x glioma hybrid NG108-15 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Dec 4;229(1):58-64.
- Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;215: 89-97.
- Sullivan HC, Osorio I. Aggravation of penicillin-induced epilepsy in rats with locus ceruleus lesions. *Epilepsia*. 1991;32 (5), 591–596.

- Sylantyevev S, Jensen TP, Ross RA, Rusakov DA. Cannabinoid and lysophosphatidylinositol-sensitive receptor GPR55 boosts neurotransmitter release at central synapses *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Mar 26;110(13):5193-5198.
- Szabo B, Nordheim U, Niederhoffer N. Effects of cannabinoids on sympathetic and parasympathetic neuroeffector transmission in the rabbit heart. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001 May;297(2):819-826.
- Szokodi I, Tavi P, Földes G, Voutilainen-Myllylä S, Ilves M, Tokola H, Pikkarainen S, Piuhola J, Rysä J, Tóth M, Ruskoaho H. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*. 2002 Sep 6;91(5):434-440.
- Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillo W, Dakin C, Sajedi A, Ghatei M, Bloom S. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Mar 15;291(5):1208-1212.
- Tan U, Senyuva F, Marangoz C. Electrocorticographic effects of topically applied scopolamine. *Epilepsia*. 1978;19: 223-232.
- Tang S-Y, Xie H, Yuan L-Q, Luo X-H, Huang J, Cui R-R, et al. Apelin stimulates proliferation and suppresses apoptosis of mouse osteoblastic cell line MC3T3-E1 via JNK and PI3-K/Akt signaling pathways. *Peptides*. 2007;28(3):708-718.
- Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, Kawamata Y, Fukusumi S, Hinuma S, Kitada C, Kurokawa T, Onda H, Fujino M. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 Oct 20;251(2):471-476.
- Tauskela JS, Comas T, Hewitt K, Monette R, Paris J, Hogan M, Morley P. Cross-tolerance to otherwise lethal N-methyl-D-aspartate and oxygen-glucose deprivation in preconditioned cortical cultures. *Neuroscience*. 2001; 107:571-584.
- Timofeeva OA, Gordon CJ. Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine. *Brain Research*. 2001;893: 165-177.
- Tucci SA, Rogers EK, Korbonits M, Kirkham TC. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexigenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *Br J Pharmacol*. 2004;143: 520-523.
- Uchiyama N, Kikura-Hanajiri R, Ogata J, Goda Y. Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. *Forensic Sci Int*. 2010;198: 31-38.

- Uçar D. Penisilinle oluşturulan epileptiform aktivite üzerine apelinin etkisi ve t-tipi kalsiyum kanallarının rolü. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun, Doktora tezi, 2015; 77-81.
- Uemastu D, Araki N, Greenberg JH et al. Alterations in cytosolic free calcium in the cat cortex during bicucilline-induced epilepsy. *Brain Research Bulletin*. 1990;24: 285
- Usunoff G, Atsev E, Tchavdarov D. On the mechanisms of picrotoxin epileptic seizure (macro-and micro-electrode investigations). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1969;27: 444.
- Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling ER. A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend*. 2012; 120: 238-241.
- Varga AW, Anderson AE, Adams JP, Vogel H, Sweatt JD. Input-specific immunolocalization of differentially phosphorylated Kv4.2 in the mouse brain. *Learn Mem* 2000;7: 321–332.
- Verhaart WJC. The pyramidal tract in the primates. In: *The primate brain advances in primatology*, Noback, C.R., Montagna, W. Appleton, New York, pp. 1970;83-108.
- Vicedomini JP, Nadler JV. A model of status epilepticus based on electrical stimulation of hippocampal afferent pathways. *Exp Neurol*. 1987;96: 681-691.
- 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;103-116.
- Walker AE, Johnson, HC. Convulsive factor in commercial penicillin. *Arch Surg*. 1945;50: 69–73.
- 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 Oct;307(1):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 Sep 28;428(1):51-57.

- Wang Y, White MG, Akay C, et al. Activation of cyclin-dependent kinase 5 by calpains contributes to human immunodeficiency virus-induced neurotoxicity. *J Neurochem.* 2007; 103:439–455.
- Wartmann M, Campbell D, Subramanian A, Burstein SH, and Davis RJ. *FEBS Lett.* 1995;359, 133–136.
- Waxman EA, Lynch DR. N-methyl-D-aspartate receptor subtypes: multiple roles in excitotoxicity and neurological disease. *Neuroscientist.* 2005; 11: 37–49.
- Wendling F, Bartolomei F, Bellanger JJ. Epileptic fast activity can be explained by a model of impaired GABAergic dendritic inhibition. *Eur J Neurosci.* 2002; 15:1499-1508.
- Wiley JL, Ryan WJ, Razdan RK, Martin BR. Evaluation of cannabimimetic effects of structural analogs of anandamide in rats. *Eur J Pharmacol.* 1998;355: 113-118.
- Willmore LJ, Sybert GW, Munson JB. Recurrent seizures induced by cortical iron injection: a model of posttraumatic epilepsy. *Ann Neurol.* 1978;4: 329- 336.
- Wilson WA, Stasheff S, Swartzwelder S et al. The role of NMDA receptors in in-vitro epileptogenesis. *Epilepsy Res SUPPL.* 1992;8: 157-165.
- Wong RK, Traub RD, Miles R. *Epileptogenic mechanisms as revealed by studies of the hippocampal slice. Electrophysiology of epilepsy Academic Press.* 1984; 253-275.
- Wu J, Dent P, Jelinek T, Wolfman A, Weber MJ, and Sturgill TW. Inhibition of the EGF-activated MAP kinase signaling pathway by adenosine 3',5'-monophosphate. *Science.* 1993;262 (5136):1065–1069.
- Yang DD, Kuan C-Y, Whithmarsh AJ, Rincon M, Zheng TS, Davis RJ, Rakic P. and Flavell RA. Absence of excitotoxicity-induced apoptosis in the hippocampus of mice lacking the *Jnk3* gene. *Nature.* 1997;389, 865-869.
- Yildirim M. Deneysel Epilepside Nitrerjik ve Purinerjik Sistemlerin Etkileşimi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Uzmanlık Tezi, 2005; 75-76.
- Yu H, Li X, Marchetto GS, Dy R, Hunter D, Calvo B, Dawson TL, Wilm M, Andereg RJ, Graves LM, and Earp SH. Activation of a novel calcium-dependent protein-tyrosine kinase. *J. Biol. Chem.* 1996;271, 29993-29998.
- Yuan LL, Adams JP, Swank M, Sweatt JD, Johnston D. Protein kinase modulation of dendritic K⁺ channels in hippocampus involves a mitogen-activated protein kinase pathway. *J Neurosci.* 2002;22: 4860–4868.

- Zeng XJ, Yu SP, Zhang L, Wei L. Neuroprotective effect of the endogenous neural peptide apelin in cultured mouse cortical neurons. *Experimental cell research*. 2010;316(11):1773-1783.
- Zhang Q, Yao FR, Raizada MK, O'Rourke ST, Sun CW. Apelin Gene Transfer Into the Rostral Ventrolateral Medulla Induces Chronic Blood Pressure Elevation in Normotensive Rats. *Circulation Research*. 2009;104(12):1421-U339.
- Zhang X, Peng X, Fang M, Zhou C, Zhao F, Zhang Y, Xu Y, Zhu Q, Luo J, Chen G, Wang X. Up-regulation of apelin in brain tissue of patients with epilepsy and an epileptic rat model. *Peptides*. 2011;32(9):1793-1799.



EKLER

Ek 1. Etik Kurul İzin Belgesi



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
SAMSUN

Sayı : B.30.2.ODM.0.20.09.00-050.04 -90
Konu : Araştırma Projeniz hk.

25/11/2014

Prof. Dr. Erdal AĞAR
OMÜ Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

2014/46 numaralı "Penisilinle Oluşturulan Deneysel Epileptiform Aktivite Üzerine Apelin-13'ün Gösterdiği Prokonvulsant Etkide Kanabinoid CB1 Reseptörünün Rolü" konu başlıklı Projeniz; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 24.11.2014 tarihli toplantısında görüşülmüş, Hayvan Hakları ve Deney Etiği açılarından uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Araştırmanın yürütüldüğü süreç içinde etik kurallar ve hayvan haklarına uygunluk yönünden sorumluluk araştırmacılara ait olmak kaydıyla ve 6 aylık dönemler halinde Çalışma Raporu verilmesi şartıyla çalışmanıza başlamanız uygun görülmüştür.


Prof. Dr. R. Cankon GERMİYANOĞLU
HADYEK Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Fatma Banu ŞEN

Doğum Yeri: SAMSUN

Doğum Tarihi: 14.11.1989

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): OMÜ, Fen Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü Lisans Mezunlu 2012
OMÜ, Tıp Fak. Fizyoloji AD. Yüksek Lisans 2012-

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fak. Fizyoloji AD. (2012)

E-posta: fatmabanu.sen@omu.edu.tr