

ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ
KOMİSYON BAŞKANLIĞINA
Kayseri

Fen Bilimleri Enstitüsü bünyesinde danışmanlığını yürüttüğüm Abdulkadir TAŞDEMİR'in "VİTAMİN B6 C VE E İLE KANABİNOİD ETKİLEŞİMİNİN PENİSİLİNLE UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ" isimli doktora tez çalışması biriminiz tarafından FBD-09-956 kodu ile desteklenmiştir. Bir yıllık ek süre kullanarak çalışmanın bitiş tarihi 15.06.2012 olarak onaylanmıştı. Çalışmamızı sona erdirmemize karşın, öğrencinin Enstitü kadrosunda olması ve öğretim üyeliği için yeni bir kadro bulabilmesi için zamana ihtiyaç hasıl olmuştur. Bu nedenle Abdulkadir TAŞDEMİR yasal süresini kullanmak istemektedir. Dolayısıyla tez çalışmasının sunumunu bu sürenin sonunda gerçekleştirecektir.

Yukarıda belirtilen nedenlerle yürütücüsü bulunduğum projenin bitiş tarihi sona erdiğinden yeni bir proje talebini gerçekleştirememekteyim. Sunulan sonuç raporunun geçici kabulünü veya tez çalışması sonuçlanana kadar sürenin uzatılabilmesini ve bu şekilde yeni proje başvurularımın sağlanması hususunu bilgilerinize arz ederim.

26.06.2012

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ

Tel.: 33071

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

**B6,C VE E VİTAMİNLERİ İLE KANABİNOİD ETKİLEŞİMİNİN
PENİSİLİNLE UYARILAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTEYE ETKİSİ**
Proje No: FBD-09-956

Doktora Tez Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü

Prof. Dr. Nusret AYYILDIZ
ERÜ Fen Fakültesi/Biyoloji

Araştırmacılar

Prof. Dr. Erdal AĞAR
OMÜ Tıp Fakültesi/Fizyoloji
Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
OMÜ Tıp Fakültesi/Fizyoloji
Yrd. Doç. Dr. Sedat PER
Bozok Üni./Fen Fakültesi/Biyoloji
Arş. Gör. Abdulkadir TAŞDEMİR
ERÜ Fen Fakültesi/Biyoloji

Haziran 2012

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Bu projeyi FBD-09-956 kodu ile destekleyen Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR	i
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Sınır Sistemi	4
2.2. Beyin Korteksi	4
2.2.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri	5
2.3. Nöbetler ve Epilepsi	9
2.3.1. Nöbet	9
2.3.2. Epilepsi	9
2.3.3. Deneysel Epilepsi Modelleri	12
2.3.4. Epilepside EEG'nin kullanımı	14
2.3.5. Epilepsi ile İlişkili Biyoelektrik Patolojiler (Epileptojenik epileptiform aktiviteler)	15
2.4. Kanabinoidler	16
2.4.1. Kanabinoidlerin Farmakokinetiği	17
2.4.2. Biyotransformasyonu ve Eliminasyonu	17
2.4.3. Endokanabinoid Sistem	17
2.4.4. Kanabinoidlerin Antikonvulsan Etkileri	18
2.5. Vitaminler	19
2.5.1. Vitaminlerin Sınıflandırılması	19
2.5.2. Epileptiform Aktiviteye Vitaminlerin Etkisi	20
2.5.2.1. B6 Vitamini (Piridoksin)	20
2.5.2.2. C Vitamini (Askorbik asit)	20
2.5.2.3. E Vitamini (α -tokoferol)	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Deney Hayvanları	23
3.2. Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri	23

3.2.1. Penisilin G Potasyum	23
3.2.2. B ₆ Vitamini (Piridoksin)	24
3.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit)	25
3.2.4. E Vitamini (α -tokoferol)	24
3.3. Deney Grupları	25
3.4. Cerrahi Müdahaleler	26
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar	28
3.6. Elektrofizyolojik Kayıtların Değerlendirilmesi	29
3.7. İstatistiksel Analiz	30
4. BULGULAR	33
4.1. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivite	37
4.2. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	38
4.2.1. CB1 Reseptör Agonisti ACEA' nın Epileptiform Aktiviteye Etkisi	38
4.2.2. CB1 Reseptör Antagonisti AM251' in Epileptiform Aktiviteye Etkisi	39
4.3. Vitamin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	40
4.3.1. B6 Vitamini + ACEA Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	40
4.3.2. C Vitamini + ACEA Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	41
4.3.3. E Vitamini + ACEA Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	41
4.3.4. B6 Vitamini + AM251 Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	41
4.3.5. C Vitamini + AM251 Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	42
4.3.6. E Vitamini + AM251 Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi	42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	46
5.1. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivite	46
5.2. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	47
5.3. Vitamin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi	52
KAYNAKLAR	54

ÖZET

Epilepsi, kortikal nöronlardaki anormal ve aşırı elektriksel aktivite sonucu ortaya çıkan spontan tekrarlayan nöbetlerle karakterize, önemli ve önlenabilir bir nörodavranışsal bozukluktur. Diğer taraftan kanabinoidler presinaptik yoldan antiepileptik etki göstermektedirler. Ancak bu maddelerin penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi üzerine etkileri ve birbirleri ile etkileşimleri hakkında literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Sunulan çalışmada, vitaminler (B6, C, E), kanabinoid reseptör agonist ve antagonistleri ile bu maddelerin birbirleriyle etkileşimlerinin penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye etkisi araştırıldı. Bu amaçla 91 adet albino erkek Wistar sıçan üreten ile anesteziye alındıktan sonra sol somatomotor korteksleri açılarak korteks üzerine kayıt elektrotları yerleştirildi ve deney düzeneğine bağlandı. Epileptiform aktivite 500 IU (i.c) penisilin enjeksiyonu ile oluşturuldu. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk.sonra hayvanlara sırasıyla vitaminler (B6 vitamini 40mg/kg ip, C vitamini 100 mg/kg i.p, E vitamini 500 mg/kg i.m), ve ACEA, AM251 uygulandı. Penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivite üzerine ACEA antikonvulsan, AM251 ise prokonvulsan etki gösterdi. Vitamin + ACEA grubunda antikonvulsan etki vitamin grubuna göre daha erken ortaya çıktı. Vitamin + AM251 ve AM251 + ACEA gruplarında ortaya çıkan etki tek başına vitamin grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadi. Vitamin + AM251 + ACEA grubu ile tek başına vitamin grubundan elde edilen sonuçlar benzerdi.

Sonuç olarak kanabinoid CB1 reseptörlerinin epileptiform aktivite frekansını etkilediği ve bazı vitaminlerle kanabinoid sisteminin epileptiform aktiviteyi ayrı mekanizmalar üzerinden baskıladığı, bu iki sistem arasında sinerjistik bir etkileşimin olmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Deneysel epilepsi, kanabinoidler, vitaminler, ACEA, AM251, penisilin.

ABSTRACT

Epilepsy is an important and avoidable disease characterised by spontane, recurrent seizures caused by abnormal and excessive discharges of cortical neurons. On the other hand, cannabinoids have antiepileptic effects presynaptically. However there are no records about the effects of vitamins, cannabinoid CB1 receptor agonists, antagonists and their interactions on the penicillin induced epileptiform activity.

Therefore; the aim of this study is to find out the effects of vitamins (B6, C, E), the interaction between the most effective dose of vitamins and CB1 receptor agonist and antagonist. For this purpose, 91 albino, male, Wistar rats were anesthetized with urethane, their left somatomotor cortex was exposed, recording electrodes were placed over the cortex and animals were placed in stereotaxic frame. Epileptiform activity was induced with penicillin (500 IU, i.c) injection. 30 minutes after injection, vitamins (Vit. B6 40mg/kg ip, Vit. C 100 mg/kg i.p, Vit. E 500 mg/kg i.m), and ACEA, AM251 were applied respectively. ACEA has shown anticonvulsant effect whereas AM251 has shown proconvulsant effect on the penicillin induced epileptiform activity. The anticonvulsant effects of vitamin + ACEA has appeared 10 minutes earlier than vitamin applied alone. There was no significant difference between vitamin + AM251, ACEA + AM251 and the control groups. The frequency and amplitude of epileptiform activity in the vitamin + AM251 + ACEA and vitamin groups were similar.

In conclusion, cannabinoid CB1 receptor agonists and antagonists also effect the frequency of epileptiform activity. It seems that there are no interactions between cannabinoid and vitamin.

Keywords: Experimental epilepsy, cannabinoids, vitamins, ACEA, AM251, penicillin.

1. GİRİŞ

Epilepsi; serebral nöronların bir bölümünün ya da tamamının senkronize olmuş anormal elektriki davranış gösterdiği nöbetlerle seyreden bir hastalıktır. Epileptik nöbetler, merkezi sinir sisteminin (MSS) inhibisyonu ile eksitasyonu arasındaki koordinasyonun bozulması durumunda ortaya çıkarlar. İlaç tedavisi uygulanan hastaların %20-30'unda nöbetler devam etmektedir. Mevcut olan pek çok antiepileptik ilaca rağmen, bulunacak yeni molekül ve ilaçların tedavideki boşluğu doldurmadaki gerekliliği kaçınılmazdır. Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize, insan yaşamını mental ve fiziksel olarak olumsuz etkileyen, oldukça yaygın bir sinir sistemi hastalığı olup coğrafi konum, cins, ırk ayrımı olmaksızın genel popülasyonda görülme sıklığı % 0,5–10 arasındadır. [1]. Beynin belli bölgelerinde bulunan eksitator ve inhibitör kontrol sistemleri arasındaki dengenin bozulması epilepsinin oluşumuna yol açmaktadır [2]. Epilepsi hastalarının yaklaşık %65'inde belirli bir neden saptanamamaktadır [3, 4]. Nedenin belirlenebildiği hallerde ise en sık rastlanan sebepler arasında; beyin dokusunda hasara neden olan yaralanmalar; beyin tümörleri, (Menenjit, ensefalit, kızamık, kızamıkçık, difteri gibi) enfeksiyonlar, hamilelikte geçirilen bazı enfeksiyonlar, doğum travmaları, yüksek ateş, kurşun veya karbonmonoksit zehirlenmesi, beyin kan akımında azalma ya da duraklamaya neden olan kalp-damar hastalıkları, alkol bağımlılarında alkol yoksunluğu yer almaktadır [5, 6]. Epileptik nöbetlerin patofizyolojisi her zaman tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca tüm epilepsi nöbetlerinde aynı patofizyoloji de geçerli değildir [7, 8].

Epileptik nöbetlerin çoğu kortikal ve hipokampal yapılarda ortaya çıkan deşarjlarla oluşur [9]. Epilepsinin de dahil olduğu şiddetli mental ve nörolojik hastalıkların patofizyolojisinde eser elementlerin, elektrolitlerin ve antioksidanların metabolizmasındaki anormalliklerin rol aldığı gösterilmiştir [10]. Arzimanoglou ve ark. [11] epilepsi tedavisinin her zaman sinir hücrelerinin korunmasıyla ilişkili olduğunu ve bunun da nöbetleri tamamen baskılamak ya da süresini azaltmak suretiyle gerçekleştirilebileceğini açıkladılar.

Epilepsinin oluşum mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte ileri sürülen hipotezler vardır.. Epileptogeneze eşlik eden plastisite değişikliklerin altında yatan mekanizmaların aydınlatılması; epilepsinin tedavisi ve önlenmesinde kritik role sahiptir. Bu amaçla

geliştirilen hayvan epilepsi modelleri, nöbet hakkındaki soruların açıklanması, beynin elektriki aktivitesinin hücresel, moleküler ve sistemik boyutta incelenmesi, tedavi edici yöntem ve ilaçların denenip geliştirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak uygulanan modellerin insanlardaki epilepsiyle tam korele olmadığı da bir gerçektir. Aynı ilacın, farklı modellerde nöbet üzerine etkisi farklı olabilmektedir. Bu yüzden farklı nöbet tiplerine karşılık gelen birçok nöbet modeli geliştirilmiştir.

Deneysel epilepsinin oldukça kullanışlı ve ucuz modellerinden birisi de penisilin modelidir [12]. Deneysel epilepsi modeli grand mal epileptik nöbetlere neden olan intrakortikal penisilin modelidir. Bu model iktal ve interiktal elektriksel değişimleri incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Penisilinin lokal kullanımından sonra postsinaptik GABA_A reseptörlerini blokladığı bilinmekte, fakat kronik patolojik değişikliklere neden olduğu bilinmemektedir [13, 14]. GABA reseptörünün aracılık ettiği inhibisyon beyindeki ana inhibitör nöronal oluşum olarak kabul edilir. Konvülsan aktivitenin temelinde bu inhibisyonun zayıflaması vardır [15].

Epileptik aktivitenin oluşumuna katılan diğer bir mekanizma; membrandan aşırı Ca^{++} iyonunun nöron içine akışıdır. Hücre düzeyinde, eksitator nörotransmitterlerin salınımı, hücre içine giren Ca^{++} iyon miktarına bağlıdır [16]. Kortekse direk olarak penisilin uygulanması, bir inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın etkisini bloklar. Bir kortikal bölgede, inhibisyon miktarının azalması, nöron gruplarının davranışı üzerinde çok önemli etkiye sahiptir ve konvülsan bir ilacın uygulanması, hücrede morfolojik değişikliklere sebep olmaksızın akut fokal epilepsi oluşturur [17]. Penisilinin merkez sinir sisteminde GABA aracılığıyla inhibisyonu baskıladığı, korteksten glutamat salınımını artırdığı ve muhtemelen epileptiform aktiviteyi bu şekilde oluşturabileceği ileri sürülmüştür [18]. Fazla Ca^{++} iyonunun nöron içine girişi epilepsi oluşumunda çok önemli bir etkindir. Bir nöronun depolarizasyonu presinaptik voltaja bağımlı Ca^{++} kanallarından Ca^{++} iyonunun içeri girmesine neden olur ve hücre içinde artan Ca^{++} , eksitator nörotransmitterlerin, özellikle glutamatın salınımına yol açar [19]. Glutamat, kimyasal kapılı iyon kanallarını (NMDA, Kainat, Quisqualat), özellikle NMDA'yı uyararak Na^{+} ve Ca^{++} iyonlarının hücre içine girmesine; Na^{+} iyonuna bağlı depolarizasyon oluşumuyla voltaja bağımlı Ca^{++} kanallarının açılması sonucunda aşırı Ca^{++} iyonunun hücre içine girmesine sebep olur. Bu

çok miktardaki Ca^{++} iyonunun içeri girişinin, nöbet esnasında oluşan nöron deşarjını başlatan tetik olduğu düşünülmektedir Nöbet esnasında ekstrasellüler Ca^{++} 'un azaldığı ve intrasellüler Ca^{++} 'un arttığı gösterilmiştir. Öte yandan bilinen en önemli inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın eksikliği, epileptik nöbetlerin patogeneğinde önemle sorumlu tutulur. Deneysel oluşturulmuş epileptik nöbetlerde GABA'nın % 50- 60 oranında azaldığı, GABA'erjik inhibitör sinapsların fonksiyon kaybının epileptik odağı oluşturduğu üzerinde durulmaktadır [20, 21].

Serbest radikallerin biyolojik etkileri en iyi şekilde in vivo olarak vitamin E, vitamin C, vitamin A ve glutatyon gibi antioksidanlarla kontrol edilir [22]. Vitamin E ve C'nin nöroprotektif etkilerinin yanında epilepsi tedavisinde de etkili olduğunu gösteren deneysel ve klinik çalışmalar vardır [23–28]. Belirtilen çalışmalara bakıldığında epilepsinin deneysel modellerinde uygulanan ve ortaya çıkan etkin dozlarda farklılıkların olduğu göze çarpmaktadır. Piridoksin (Vitamin B₆), insanda esensiyel bir besin elemanı ve canlı dokudaki birçok enzim kofaktörünün prekürsörüdür. Çocukluk döneminde görülen bazı tip nöbetleri tedavi etmek için kullanılmaktadır. Yenidoğanlarda piridoksine bağlı epilepsi tedavisinde genellikle 30–400 mg/kg dozda piridoksin kullanılmaktadır. Farklı çalışmalara bakıldığında piridoksinin etkin dozunun 40-50mg/kg olduğu görülür [29–32].

Kanabinoidler *Cannabis sativa* L. (kenevir, kendir) adlı bir bitkiden elde edilen kimyasallardır. MSS depresyonu ve analjezi bu maddelerin iyi bilinen etkilerindendir [33]. Beyinde kanabinoidlerin reseptörlerinin bulunduğu ve özellikle nöbet aktivitesinde etkili olan limbik ve neokortikal alanlarda yoğunlaştığı biliniyor. Mekanizması tam bilinmemekle beraber kanabinoidlerin nöbet eşiğini değiştirdikleri de bulunmuştur. Yapılan deneylerde düşük dozun MSS de aktivasyon oluştururken yüksek dozun elektriksel aktiviteyi baskıladığı gösterilmiştir Deneysel epilepsinin farklı modellerinde kanabinoidlerin etkileri konusunda zıt sonuçlar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları kanabinoidlerin antiepileptik bazıları ise epileptik olduklarını bildirmektedir. Epileptiform aktivitenin frekansını kanabinoid CB1 reseptör agonisti ACEA azaltırken, antagonist AM-251 ise artırmaktadır [34–39] .

Literatürde kanabinoidler ile vitaminlerin etkileşiminin penisilin modeli deneysel epilepsideki etkisine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sinir Sistemi

Sinir sistemi, sinir hücreleri ya da nöronlardan ve onların destek hücreleri olan gliadan kurulmuştur. Nöronlar elektriksel olarak uyarılabilir ve aksiyon potansiyeli oluşturup yayabilir. Nöron perikaryon ya da soma denilen bir hücre gövdesi içerir, buradan uzantılar ışınsal olarak çıkar. Bu uzantılar dendritleri içerir; dendritler dallanarak geniş yüzey alanları ile diğer nöronlardan gelen çok yönlü sinyallerin algılanmasını kolaylaştıran dendritik ağaçları oluşturur. Ayrıca somadan diğer hücrelere sinir impulsunu ileten ana uzantıyı ya da aksonu içerir. Sitoplazma; ATP oluşumu için gerekli sayısız mitokondriyi, serbest ribozomları ve protein sentezi yapan kaba endoplazmik retikulum ile yeni sentezlenen proteinleri değiştiren ve paketleyen Golgi aparatını içerir. Aksonlar, ileti hızı lif çapına bağlı olmak üzere elektriksel impulsları iletir. İletim etkinliği myelin kılıf tarafından sağlanan iyi yalıtıma bağlıdır. Myelin kılıf aksonal membran ya da aksolemmayı örter. Myelin, esas olarak lipid ve proteinlerden oluşur ve periferik sinir sisteminde Schwann hücreleri tarafından, merkezi sinir sisteminde ise oligodendrositler tarafından yapılır [40]. Sinir sistemi beyin ve omuriliği içeren merkezi sinir sistemi ile kraniyal ve spinal sinirleri ve bunların gangliyonlarını içeren periferik sinir sistemi şeklinde iki ana bölümden oluşur. Dura mater, araknoid mater ve pia mater olmak üzere üç membran hem omuriliği hem de beyni sarar [40].

Beynin his, irade, hafıza, düşünce, zeka, muhakeme, yaratıcılık gibi ruhsal fonksiyonlarını beyin korteksi yapar. Ayrıca iskelet kaslarının motor aktivitelerini idare eden motor merkezler ve duyuların idrak edilmesini sağlayan duyu merkezleri beyin korteksinde bulunur [41]. İnsan beynini diğer omurgalıların beyninden ayıran en önemli özellik korteksin aşırı ölçüde geniş olmasıdır. Nörofizyolojinin uğraştığı önemli konulardan biri beyin korteksinin organizasyonunu aydınlatmak ve hafıza, his, hareket ve ifade kabiliyeti gibi davranışların beyin korteksiyle olan ilişkisini çözmektir [42].

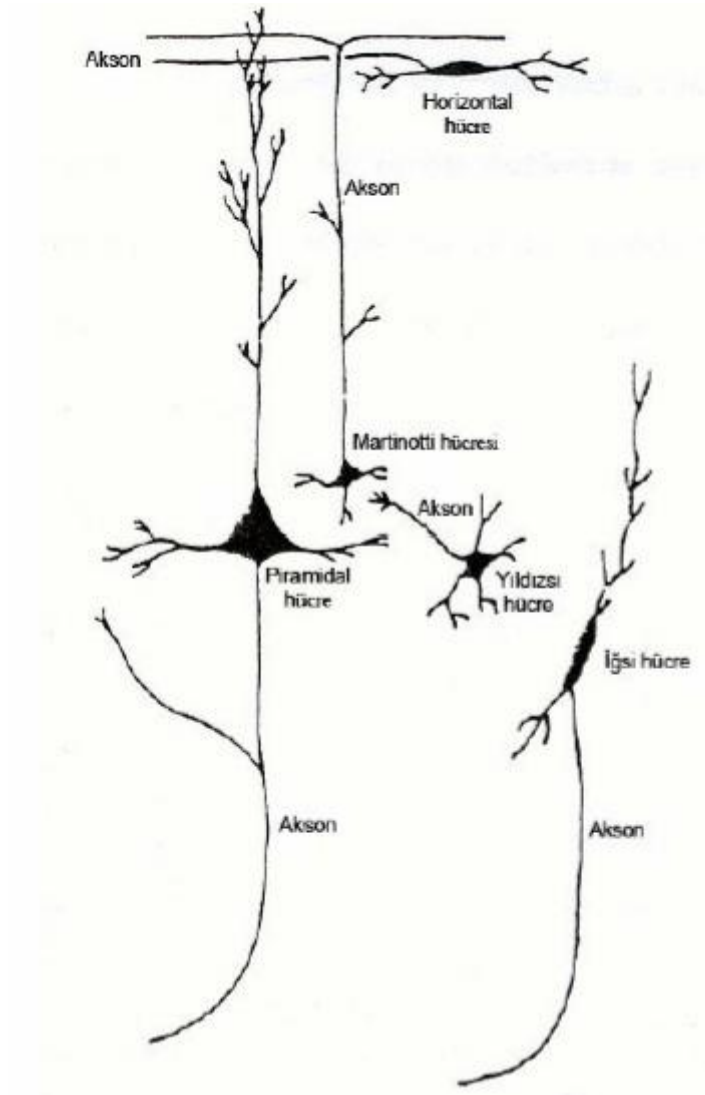
2.2. Beyin Korteksi

İnsanı diğer omurgalı canlılardan ayıran en önemli yapısal özelliklerden bir tanesi olan geniş beyin korteksi (neokorteks), insana ait düşünme, karar verme, planlama, hafıza gibi yüksek beyin faaliyetleri bakımından da insanı fonksiyonel açıdan diğer memelilerden üstün kılmaktadır. Ayrıca beyin korteksi, duyu informasyonlarını alıp analiz eden,

hareketlerin yapılmasını planlayıp yöneten ve homeostatik dengenin korunması için gerekli olayları düzenleyen en önemli merkezdir. Altı tabakadan oluşan neokorteks omurgalıların kurbağa ve sürüngen gibi aşağı formlarında hatta kuşlarda bile gelişmemiştir [43]. Neokorteksin gelişmesi primatlarda iyice ilerlemiş ve insanda en üst düzeye ulaşmıştır. Memelilerin hepsinde beyin korteksi 2 mm kalınlığında bir hücre tabakası içermektedir. Genel olarak 6 tabakaya ayrılmakla birlikte birçok bölgede tabaka sayısı daha fazladır. Beyin korteksindeki hücrelerin tabakalar şeklindeki organizasyonlarına ait ilk çalışmalar 20. yüzyılın başlarına rastlamakta ve sitoarşitektonik olarak bilinmektedir [44]. İnsanda beyin korteksinin alanı 2.000-2.200 cm². Hacmi ise ortalama 600 cm³ tür [45]. Yetişkin bir insan beyni, yaklaşık 1350-1400 gram ağırlığındadır. Korteks kalınlığı beyin bölgesine göre 1- 4,5 mm arasında değişir ve toplamda ortalama 10¹⁰ sinir hücresi (nöron) içermektedir [46,47]. Korteksin her noktası diğer bir kortikal kısımdan veya subkortikal yapılardan lifler alır ve onlara lifler verir. Korteksteki nöronların aksonları ak maddeye geçerek aynı hemisferin değişik kısımlarına veya omurilik gibi çok daha uzakta bulunan korteks altı yapılara kadar uzayabilirler. Kortekste bulunan bazı nöronlar korteksin dışına akson göndermezler. Yani korteksteki nöronlar anatomik ve histolojik yönden farklılık gösterirler [45; 46].

2.2.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri

Beyin korteksinde, hücre gövdelerinin biçimsel özelliklerine, dendritlerin uzunluk ve dağılımlarına, aksonların dallanma ve sonlanma bölgelerine göre çeşitli sınıflandırmalar yapılmıştır. En genel kabul gören sınıflandırmaya göre kortekste; yıldızsı (granüler) hücreler, iğsi (fusiform) hücreler, Martinotti hücreleri, Cajal'ın horizontal hücreleri ve piramidal hücreler bulunmaktadır [46].



Şekil 1. Beyin korteksinde bulunan nöron tipleri.

Yıldız hücreleri: Küçük gövdeli, multipolar hücrelerdir. Dendritler hücreden ayrılır ayrılmaz dallanma yaparlar. Bu hücrelerin bazıları uyarıcı, bazıları ise duraklatıcı özellik gösterir. Uyarıcı olanların aksonları genellikle piramidal hücrelerin tepe dendritlerine paralel ve çok sayıda sinaps yaparak ilerlerken korteks yüzeyine dik bir seyir izlerler. Uyarıcı olan tipleri transmitter olarak nöropeptidleri (CCK, VIP) kullanırken, duraklatıcı olanlar GABA salgırlarlar.

Martinotti Hücreleri: Bu hücrelerin en önemli özelliği aksonlarının doğrudan beyin korteksi yüzeyine doğru yönelmiş olmasıdır. I. tabaka dışındaki bütün tabakalarda yer alırlar.

Cajal'in Horizontal Hücreleri: Beyin korteksinin en dış ve yüzeyel tabakasında bulunan bu hücrelerin aksonları beyin korteksinin yüzeyine paralel olarak seyrederek.

Piramidal Hücreler: Korteksin ana hücreleridirler. Adlarını piramit şeklindeki hücre gövdelerinden alırlar. Uzunluğu 10-100 μm arasında değişir. Hücrelerin büyüklüğü yüzeyden derine doğru artar. Piramidin tepe kısmı beyin korteksinin dış yüzeyine doğru bakar ve bu kısımdan dendritler çıkar. Tepeden çıkan bu dendritler beyin korteksinin en dış tabakasına kadar uzanarak burada yüzeye paralel bir çok dala ayrılırlar. Çapları 5-20 μm arasında değişir. Sinir sistemindeki en kalın ve en uzun dendritlerdir. Dikey dendritler ve onlardan ayrılan yatay dallar çok sayıda “sinaptik diken” denen özelleşmiş postsinaptik bölge taşırlar. Yatay dendritler daha incedir (6-8 μm) ve dikey dendritler kadar fazla sayıda sinaptik diken taşımazlar. Piramidal hücreler üzerinde sonlanan sinapsların büyük bir çoğunluğu, bu sinaptik dikenler aracılığıyla kurulur. Hücre gövdesinde sonlanan sinapsların sayısı azdır ve sinaptik aralıkları da oldukça dardır. Bazal dentritler hücrenin bazal kısmından horizontal ve oblik şekilde çıkarlar. Bazal dentritlerin horizontal olarak yayılımı ve apikal dentritlerin distal dalları 50-300 μm kadar uzanabilir [46, 47, 48, 49].

Beyin Korteksinin Tabakaları

Beyin korteksi hücre tabakaları şeklinde organize olmuştur. Kortikal tabakaların sayısı ve onların fonksiyonel özellikleri korteksin her yerinde değişmektedir. Neokorteksin en tipik şeklinde, korteksin dış yüzeyinden (pia mater) ak maddeye doğru sıralanan 6 tabaka bulunmaktadır [44]. Kalınlığı beynin farklı bölgelerinde 1.3 mm'den 4.5 mm'ye kadar değişiklik göstermektedir [45,46]. Dıştan içe doğru şu şekilde sıralanmaktadır;

I. Moleküler tabaka: Pia mater'in hemen altından başlayan bu tabakanın ortalama kalınlığı 250 μm kadardır. Hücreleri küçüktür ve diğer tabakalara göre daha gevşek düzenlenme gösterir. II, III ve IV. tabakalardaki piramidal hücrelerin dikey dendritleri ve bazı aksonları bu tabakada sonlanır. Cajal'in horizontal hücreleri ve yıldız hücreleri de nadiren bu tabakada bulunabilir. Bu tabaka esas olarak korteksin sinaptik bir alanıdır [46,50].

II. Dış granüler tabaka: Moleküler tabakaya göre daha büyük bir tabakadır ve daha yoğun hücre içerir. Hücrelerin şekli piramidal olduğundan buraya “küçük piramidal hücre tabakası” da denir. Yıldız hücreleri de bu tabakadadır. Bu bölgeden çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanırlar. Aksonlar hücrelerin taban bölümlerinden çıkar ve genellikle V ve VI tabakalarda sonlanırlar. IV. tabakada bulunan granüler hücrelerin ve bazı piramidal hücrelerin aksonları ile geri dönen yan dallar (recurrent collaterals) ve birleştirici lifler (association fibres) bu tabakada sonlanırlar [50].

III. Dış piramidal tabaka: Bu tabaka aslında dış granüler tabakanın devamı niteliğindedir. En önemli ayırt edici özelliği; bu tabakadaki piramidal hücrelerin daha büyük çaplı olmasıdır. Hücrelerin tepe bölgeleri beyin kabuğu yüzeyine doğru yönelmiştir. Tepe (apikal) dendritleri, I. tabakanın sinaptik alanına doğru giderler. Yatay dendritler ise aynı tabaka içinde kolonlar arasında bir uzanım gösterirler. Bu tabakanın alt kısmında bulunan hücreler talamustan gelen özgül girişleri alır. Alt tabakalardan gelen bazı aksonlar da bu tabakada sinaps yaparlar. III. tabakadan çıkan götürücü liflerin bir kısmı V ve VI. Tabakalarda sonlanırken, diğerleri korteks altı yapılara ve diğer beyin kabuğu bölgelerine kadar uzanmaktadır [46, 47, 50].

IV. İç granüler tabaka: Bu tabaka küçük çaplı ve yoğun olarak paketlenmiş çok kutuplu hücrelerden oluşur. Bu hücrelere “granül hücreleri” adı verilir. Aksonları kısadır ve büyük bir çoğunlukla beyin kabuğu içinde sonlanırlar. Üst kısımlara gidenler I. ve II. tabakalarda sonlanırken, alt kısımlara doğru gidenler V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Dendritleri aynı tabakada dallanarak dağılır. Özgül talamo-kortikal getirici bağlantıların büyük bir çoğunluğu bu hücrelerin üzerinde sonlanır. Bu tabakada bulunan bir diğer hücre tipi yıldızlı hücrelerdir ve onların dendritleri de aynı tabaka içinde dallanma gösterirler. Aksonları ise III. tabakaya çıkarak burada sonlanırlar. Yıldızlı hücrelerin kısa olan aksonları V. ve VI. tabakalardaki hücrelerin bu tabakaya uzattığı dendritlerle sinaps yaparlar. Beyin kabuğunun girişleri alan esas bölgesi IV. tabakadır. Bu tabaka beyin kabuğunun bazı bölgelerinde iyi gelişmemiştir ve bundan dolayı bu bölgelere “agranüler korteks” adı verilmektedir [46, 50].

V. İç (dev) piramidal hücre tabakası: Bu tabakadaki hücreler esas olarak büyük piramidal hücrelerdir. Tabaka içindeki tüm hücreler büyük değildirler fakat en büyük piramidal hücreler bu tabakada bulunduğu için, bu bölge “dev piramidal hücre tabakası” adıyla anılır. Büyük piramidal hücrelerin dendritik dalları I. tabakaya kadar yükselerek orada geniş bir dallanma gösterirler [46]. Hücrenin taban bölümünde çıkan uzun akson ya korteks altı merkezlere uzanır ya da aynı ve karşı taraf beyin korteksinde bulunan diğer merkezlere gider. Omuriliğe inen liflerin büyük bir çoğunluğu V. Tabakadan kaynaklanmaktadır. Bu aksonların oluşturduğu dönücü (recurrent) yan (collaterals) dallar geriye doğru dönüp III, II ve I. tabakalarda sonlanırlar. V. ve VI. tabakalar korteksin ana çıkış tabakalarıdır. Piramidal yolu oluşturan aksonların hücreleri daha çok bu tabakada bulunur [46, 47].

VI. İğsi (fusiform) hücre tabakası: Hücrelerin iğ şeklinde olmasından dolayı bu ismi alır. Dendritler hücrenin bir veya her iki ucundan da çıkarak, hücreyi terk ettikten sonra

dallanırlar. Bazıları hiç dallanmadan birinci tabakaya kadar uzanır. Diğerleri genellikle V. tabakaya geçmez. Akson çoğunlukla korteksi terk eder ve ayrılmadan önce dönücü yan dallar verir [47]. V ve VI. tabakalara intragranüler, I ve IV tabakalara ise supragranüler tabakalar denir [46]. 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 [50].

2.3. Nöbetler ve Epilepsi

2.3.1. Nöbet

Epileptik bir nöbet, beyindeki anormal elektrik deşarjının neden olduğu paroksizmal ataktır ve kendini duyu-motor fonksiyonlarda, davranış, hafıza veya bilinçte ortaya çıkan ani değişikliklerle gösterir [51]. Nöbetler istemsiz olaylardır. Hastalar genellikle nöbetlerin başlangıç ve bitişlerini kontrol edemezler. Nöbetler genellikle 5 dakikadan daha kısa sürmektedirler [52].

2.3.2. Epilepsi

Epilepsi ismi eski Yunancada Epi-lipsis (**επιλαμβανερν-epilambanein**) kuşatmak, tutmak anlamına gelmektedir. Kelimenin birinci anlamı hastalığın şeytanların yakalaması sonucunda saldırı, atak hamle şeklinde oluşan bir kavram olduğu inancıdır. Bu kavram özellikle hastaların bilinçlerinin kaybolduğu vücutlarının sarsıldığı ve sanki başka biri tarafından kontrol ediliyormuşçasına hareket ettiği epileptik nöbetlerin tanımlanması için kullanılmıştır [53]. İkinci anlamı olan yakalanmak ise aniden oluşan nöbet ve sonrası olaylardan kaçma şansı vermeden yakalayan hastalık olarak yorumlanmıştır. Eski çağlarda epilepsi; Tanrı tarafından gönderilen tehlikesi büyük kötü ruhlarla bağlantılı bir hastalık olup kalbin hastalanması ve ters duruşu ile oluşan mukaddes bir hastalık gibi değerlendirilmiştir [54, 55]. Ülkemizde halk arasında sara, tutar, tutarık adları da kullanılmaktadır. İlk kez Hipokrat tarafından bir beyin hastalığı olarak öngörülen epilepsi tıp terminolojisine ise İbn-i Sina tarafından sokulmuş ve "Epileptik nöbet beyinden kaynaklanır, duyunların kaybı ve düşme olur" şeklinde tanımlanmıştır [56, 57]. Tarihte, nöbet olunca hastalara dönen ve parlayan bir çömleğe baktırma, ziftli kömür koklatma ve keçiboynuzu tütsüsü koklatma gibi işlemler uygulanmıştır. Epilepsi terimi ilk defa 1874 yılında Jackson tarafından "epilepsi gri maddenin zaman zaman ortaya çıkan ani, aşırı hızlı ve lokal boşalımının adıdır." şeklinde tanımlanmıştır [58]. Klinik ayrımlarını yapmak güç olsa da bu tanım modern epileptik görüngüleri anlamının temeli olarak

kalmıştır. İlk kez 1920 yılında Hans Berger tarafından elektroensefalogram (EEG) kullanımı ile epileptik nöbetler anlaşılmağa başlanmıştır [59].

Epilepsi spontan ve tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize kronik nörolojik bir hastalıktır. Hastalığın ülkemizdeki prevalansı hakkında tam bir sayı verilmemekle birlikte, toplumda genel olarak % 0.4-1 oranında gözlenir [60]. Epilepsi nörolojik hastalıklar arasında çocukluk ve ergenlik çağında en sık, erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci hastalık olarak belirtilmektedir. Üçüncü dünya ülkelerinde ve birinci dünya ülkelerinin bazı bölgelerinde görülme oranı iki katına kadar çıkmaktadır [61]. Nöbetler ve epilepsi farklı bozukluklardır ve terminolojik açıdan alternatif olarak kullanılamazlar. Epilepsi için “nöbet hastalığı” olarak bahsedilmesine rağmen nöbetlerden epilepsi olarak bahsedilmesi doğru değildir. Nöbetler semptomdur oysa epilepsi tekrarlayan nöbetlerle karakterize bir hastalıktır. Nöbetler, epilepsinin nöbet karakterine sürekli meyleden hastalıkların sonucu olabilirken aynı zamanda hipoglisemi, hiponatremi ve normal beyinde farklı bakımlardan nöbetleri provoke edebilen diğer koşullarda olduğu gibi beyin metabolizmasındaki geçici değişikliklerden de kaynaklanabilir. Bu ayrımın önemi öksürük belirtilerinin benzerlikleriyle ifade edilebilir. Solunumla vücuda alınmış bir iritanın geçici olarak varlığı neticesinde normal solunum sisteminde öksürüğün başlatılabilmesi bir nöbetin provoke edilmesine benzemektedir. Kronik obstrüktif solunum hastalıklarının neticesinde öksürük için ısrarcı bir meyil epilepsiye benzemektedir [52].

Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği'nin (International League Against Epilepsy, ILAE) 1981 yılında yayınladığı sınıflandırma sistemine göre epileptik nöbetler parsiyel (fokal), jeneralize ve sınıflandırılmayan olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır.

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

A) Basit parsiyel nöbetler: Bilinç durumu bozulmaz.

- a. Motor semptomlu
- b. Somatosensoriyal veya özel duyuusal semptomlu
- c. Otonomik semptomlu
- d. Psisik semptomlu

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

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

C) Sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler

2) Jeneralize nöbetler: Nöbetin başlangıcından itibaren her iki beyin hemisferini etkiler

- A)** Absans nöbetleri (Petit-mal)
- B)** Myoklonik nöbetler
- C)** Klonik nöbetler
- D)** Tonik nöbetler
- E)** Tonik-klonik nöbetler (Grand-mal)
- F)** Atonik nöbetler (astatik)

3) Sınıflandırılmayan epileptik nöbetler

Hastaların çoğunda nöbetin başlangıcında, olağan dışı bir koku veya ses ya da ani bir ruh hali değişikliği gibi duyumlar oluşur. İritabilite ve disfori sıkça görülür. Aura olarak bilinen ve genellikle kısa olan bu duyum, nöbetin kaynaklandığı yerde veya yakınında paroksizmal nöronal bir ateşlemeyi ifade eder. Aura, nöbetin hastanın hatırladığı tek bölümü olabilir. Devamında gelen iktal dönem nöbet anını ifade eder. İktal dönem, nöbetin özel türüyle ilgili olarak anormal EEG yapılarıyla ortaya çıkar. Hemen nöbetin ardından gelen dönem postiktal dönem olarak bilinir. Bu dönemde EEG normal nöronal aktiviteye dönüşü yansıtır. İnteriktal dönem nöbetler arasındaki zamandır. İnteriktal dönemde hastalarda nöbet oluşmamasına rağmen, EEG'de yine de bir miktar paroksizmal aktivite görülebilir. EEG kayıtlarının alındığı esnada hastaların nadiren nöbetleri olduğu için, epilepsi tanısı, kısmen interiktal EEG yapısına dayanmaktadır [62]. Epileptik tek nöbet aktivitesinin 30 dakikadan daha uzun sürmesi veya iki ve daha fazla nöbetin aralarında hasta bilinci açılmadan seriler halinde gelmesine “status epileptikus” adı verilir. Yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sahiptir. Konvülsif status epileptikusta statusun nöbet tipine (tonik, klonik veya myoklonik) göre kasılmalara ilave olarak tasikardi, hiperpne, midriyasis ve hipersekresyon gibi önemli otonomik belirtiler vardır. Nöbet devam edecek olursa hastada ates, hipotansiyon, asidoz ve solunum depresyonu gelişebilir. Nonkonvülsif status; absans nöbet şeklinde veya basit ve kompleks fokal nöbet olarak da ortaya çıkabilir [62].

2.3.3. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılır. Çünkü intakt insan beyinde hücre içi kayıtlar, mikrokimyasal analizler ve anatomik iz sürme işlemlerini yapmak, en azından tıbbi etik açıdan mümkün değildir [63].

İdeal bir epilepsi modeli aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır [64]:

- 1- Spontan olarak tekrarlayan nöbetleri olmalıdır.
- 2- Nöbetler insan epilepsisindekine benzemelidir.
- 3- Modeldeki EEG'nin biçimi ilgili epilepsi çeşidindekine benzemelidir
- 4- Nöbetlerin frekansı, ilaçların etkisini akut veya kronik olarak test etmeye yetecek ölçüde olmalıdır.
- 5- Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandakine benzer olmalıdır.
- 6- Antiepileptiklerin etkili oldukları plazma ve beyin seviyeleri, insanda ilgili nöbeti önleyen seviye kadar olmalıdır.

Bu kriterlerin tümünü karşılayan tek bir model şimdilik bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar deneysel modelleri insandaki nöbetlere göre değil de modelin oluşturulmasına göre sınıflandırır [65]. Bu sınıflandırmaya göre deneysel modeller 3 gruba ayrılmaktadır:

- 1- Konvulsan kimyasal madde veya elektrik uyaralarıyla oluşturulan modeller.
- 2- Refleks epilepsi modelleri. Ses ve ışık gibi uyarılarla başlatılan modellerdir.
- 3- İdiopatik modeller. Genetik olarak epilepsiye meyilli hayvanlarda hem davranış hem de EEG bakımından insandaki idiyopatik epilepsiye benzer bir tablo oluşturulabilir.

Deney hayvanlarında konvulsan bir maddeyi korteksin yüzeyine tatbik ederek epileptik bir odak meydana getirilebilir. Bu maksatla çok kullanılan maddelerden biri kristalize penisilindir. Deney hayvanlarında makro elektrotlarla kaydedilen epileptik deşarjlar yapı itibariyle insan beynindeki epilepsi odağından kaydedilenlerle aynıdır.

1) Basit Parsiyel Epilepsinin Akut Modelleri

- a) Yüzeysel konvulsan uygulamaları:
- b) Akut elektriksel uyarı
- c) GABA kesilmesi
- d) Neokorteks ve hipokampus dilimleri

2) Basit Parsiyel Epilepsinin Kronik Modelleri

- a) Beyin kabuğuna metal uygulanması
- b) Sıcaklık (temperature) modeli
- c) Beynin belli bir alanı soğutularak fokal epilepsi oluşturulması
- d) Sistemik fokal model

3) Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri

- a) Kainik asit modeli
- b) Tetanoz toksini modeli
- c) Prepriform korteks modeli
- d) Tutuşma modeli
- e) Beyin dilimleri modeli

4) Petit Mal Epilepsi Modelleri

- a) Talamusun uyarılması
- b) Çift taraflı odak modeli:
- c) Sistemik penisilin modeli
- d) Gama-Hidroksi Bütirat (GHB) Modeli
- e) Opioid peptid modeli
- f) Genetik model

5) Grand Mal (Jeneralize Tonik-Klonik) Epilepsi Modelleri

- a) Genetik Modeller
- b) Maksimal elektrosok (MES) modeli
- c) Sistemik konvulsanlarla oluşturulan modeller
- d) Metabolik bozukluklar sonucu oluşan epilepsi modelleri

6) Status Epileptikus Modelleri

- a) Lityum-pilokarpin modeli
- b) Kobalt-homosistin modeli
- c) Elektriksel modeller

2.3.4. Epilepside EEG'nin kullanımı

Epilepsiyle ilgili çalışmalarda EEG ve ECoG en çok kullanılan metottur. Temel araştırmalara göre, kısa süreli olan aksiyon potansiyellerinin EEG'ye direkt katkısı çok azdır. Beyin dalgaları eksitator ve inhibitör postsinaptik potansiyellerin (EPSP ve İPSP) 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 İPSP'leri de EEG dalgalarının pozitif kısımlarını oluştururlar. Ayrıca, yüzeyel İPSP'ler EEG dalgalarının pozitif kısımlarının, derindekiler ise negatif kısımlarının oluşumuna katkıda bulunur [66]. Epileptik deşarjlar EEG'nin aşırı senkronizasyonunu ifade eder. EEG epileptik nöbetin imzası sayılır. Absans nöbetlerde EEG'de saniyede 3-4 ritmik diken-dalga kompleksi görülür. Jeneralize tonik-klonik nöbetlerde (grand mal) diken-dalga kompleksine rastlanmaz. Bir nöbete girilirken EEG'deki ilk değişiklik, düşük amplitütlü desenkronize dalgalar olabilir [67]. Tonik-klonik nöbette bunu saniyede 15-25 frekanslı keskin dalgalar izler. Nöbetten sonra EEG düzleşir ve kontroldekinden daha yavaş dalgalar görülür. Nöbet karşılığı olarak iktus (ictus) da kullanılır. Bu nedenle, nöbet sonrasına postiktal periyot; nöbetler arası zamana da interiktal periyot denir. İnteriktal dönemde EEG normal olabileceği gibi davranışı etkilemeyecek ölçüde çok kısa süreli deşarjlar da görülebilir. İnteriktal deşarjlar epilepsinin beyindeki kaynağı hakkında bilgi verir. Epilepsinin deneysel modellerinden elde edilen kayıtlar genellikle interiktal epilepsidekine benzemektedir. Ancak, davranış desteklemediği sürece, EEG'deki diken benzeri dalgaların epilepsiyi gösterdiğini söylemek mümkün değildir. Diğer taraftan, interiktal dönemde EEG'de dikenlerin olmaması epilepsi olmadığı anlamına gelmez [63, 67].

Beynin değişik bölgelerinde zaman zaman ortaya çıkan patolojik özellikteki biyoelektrik aktivitelerin epilepsi nöbetlerine neden olduğunu göz önüne aldığımızda beynin biyoelektrik faaliyetini ve meydana gelen değişimleri bize gösteren EEG'nin epilepside vazgeçilmez bir araştırma yöntemi olduğunu söyleyebiliriz. Ancak her yardımcı muayene yöntemi için geçerli olan kuralları hatırladığımızda hastanın değerlendirilmesinde klinik özelliklerin esas olduğunu, EEG bulgularının klinikle birlikte değerlendirilmesi gerektiğini, tedavide esas olanın hasta olduğunu unutmamak gerekmektedir.

EEG'nin epilepside yardımcı olduğu en önemli durum epilepsinin tanısı ve sınıflandırmadaki yerini belirlemedeki katkısı olmakla beraber EEG bulgularının epilepside tedaviye başlama, tedaviyi izleme ve sonlandırmada da dikkate alınması gerektiğini vurgulamak uygun olacaktır. Yaklaşık 20 dakika süreli hiperventilasyon ve fotik stimülasyon gibi aktivasyon yöntemlerinin de uygulandığı rutin EEG tetkikinde tek tetkikle epilepsi hastalarının yaklaşık %50'sinde, tekrarlanan tetkiklerde %80-85'inde, uyku aktivasyonu uygulamasında ise %90-95'inde epilepsiye özgü patolojik aktiviteler saptanabilmektedir.

EEG'nin bilgi aktarma özelliğini kısıtlayan iki önemli nokta zamansal ve alansal faktörlerden kaynaklanmaktadır. Kayıt süresindeki kısıtlılık ve saçlı deriden yapılan sınırlı bölgelerin biyoelektrik aktivitelerini yansıtan kayıt sistemleri yeterli bilgi elde etmeyi sınırlamaktadır. Ancak günümüzde videomonitorizasyon sistemleri, telemetrik kayıtlar ve uyku EEG tetkikleri ile zamansal, gerek kafatası üzerine elektrod yerleştirme sistemlerindeki değişim ve gelişmeler gerekse kafa içi (nazofarengeal, sfenoidal, foramen ovale veya kortikal) elektrod uygulamaları ile alansal kısıtlamalar büyük ölçüde giderilmeye çalışılmaktadır. Epilepside EEG bulgularını değerlendirirken epilepsilerde görülen biyoelektrik patolojilerin sadece epilepsilere özgü olmadığını, beyni etkileyen çeşitli patolojilerin seyri sırasında da ortaya çıkabileceğini, ayrıca normal kişilerde düşük oranda da olsa (yaklaşık %2) benzer bulgulara rastlanabileceğini göz önünde tutmak gerekir [68].

2.3.5. Epilepsi ile İlişkili Biyoelektrik Patolojiler (Epileptojenik epileptiform aktiviteler)

- **Diken (spike) aktivitesi:** 20-70 milisaniye süreli (14-50 Hz frekanslı) aktivitedir. Genellikle arkasında yavaş dalga aktivitesi ile birlikte görülür. (Diken-yavaş dalga)

- **Keskin dalga (sharp) aktivitesi:** 70-200 milisaniye süreli (5-14 Hz frekanslı) aktivitedir. Genellikle arkasında yavaş dalga aktivitesi görülür. (Keskin-yavaş dalga)

- **Çoklu diken aktivitesi (polyspike):** İki veya daha fazla diken aktivitesinden oluşur ve takiben yavaş dalga aktivitesi görülür. Buna göre epilepsiler için karakteristik olan bu aktiviteleri şu şekilde sıralamak mümkündür:

- **diken (spike)**

- **keskin dalga (sharp)**

- **diken-yavaş dalga (spike and wave)**
- **keskin-yavaş dalga (sharp and wave)**
- **çoklu diken-yavaş dalga (polyspike and wave)**

Bu aktivetelerin oluşturduğu deşarjların lokal (fokal) veya jeneralize olmasına ve morfolojik özelliklerine göre farklı epilepsi tiplerinin tanısı ve sınıflandırmadaki yerini belirlemek mümkün olmaktadır [68].

2.4. Kanabinoidler

Kenevir bitkisi *Cannabis sativa* yaklaşık 4000 yıldır bilinci değiştirici etkilerine bağlı olarak rahatlatıcı amaçla kullanılan bir bitkidir. Bu bitkinin çiçeklerinde ve yapraklarında kanabinoidler adı verilen yaklaşık 60 terpenophenolik bileşen içeren bir reçine gizlidir. En fazla madde çiçeklerin tepelerinde bulunurken, daha az olarak yapraklarda ve çok az da gövde ve köklerinde bulunur. Kanabinoidlerin ortak ismi olan marijuhana (esrar); bugün dünya çapında sokak ilacı olarak en çok kullanılan maddedir [69]. En çok bilinen ve en fazla miktarda elde edilen kanabinoidler; 9-tetrahydrocannabinol (9-THC), 8-tetrahydrocannabinol (8-THC), cannabinol ve cannabidiol'dur [70].

Epidemiyolojik çalışmalar genel popülasyonda yaşam boyu en az bir kez esrar kullanımını %12 olarak bildirmektedir. Türkiye'de ise bu oran % 1.2 – 4 olarak bildirilmiştir [71]. Kanabinoidler ancak 20. yüzyıldan sonra terapötik olarak kullanılmaya başlanmıştır. Marijuhana'nın temel psikoaktif bileşeni, 9-THC; yüksek oranda lipofilik bir moleküldür ve bu özelliği kan-beyin bariyerini kolayca geçmesini ve özgül membran reseptörlerine bağlanarak santral etkilerin oluşmasını sağlar. Kanabinoidlerin etkinliği içerdikleri 9-THC düzeyi ile alakalıdır. Buna ilave olarak 9-THC'un daha az potent olan metabolitleri; yine psikoaktif maddeler olan 8-THC ve cannabinol ile psikoaktif olmayan cannabidiol de bitkinin reçinesinde bol miktarda bulunur [72]. Kanabinoidlerin bir takım kanıtlanmış ve potansiyel terapötik etkileri mevcuttur. Bunların içinde antiemetik, analjezik, antikonvulsan ve intraoküler basıncı düşürücü etkileri sayılabilir [73]. Yakın dönemde kaseksi ve AIDS gibi hastalıklarda iştah artırıcı etkisinden dolayı kullanımı söz konusudur. [74, 75]. Şüphesiz psikoaktif etkilerinin varlığı, tolerans gelişimi ve kötüye kullanım potansiyeli olması kanabinoidlerin terapötik kullanımını sınırlamaktadır [69, 76]. *Invivo* 9-THC hızlı bir şekilde emilir, akciğerde ve karaciğerde santral olarak aktif metaboliti olan 11-hidroksi-9-THC'e çevrilir. Bu metabolit 9-THC'den daha potenttir ve kan-beyin bariyerini daha kolay geçer [76].

2.4.1. Kanabinoidlerin Farmakokinetiği

THC ve diğer kanabinoidler inhalasyon sonrası hızla absorbe edilir ve etkileri dakikalar içinde tam olarak ortaya çıkar. Absorbe edilen miktar THC'in içeriğinin % 20-45'i civarındadır. Oral olarak alındığında ise THC gastrointestinal kanaldan emilimi değişkendir ve terapötik açısı daha dardır. Oral alımda kan konsantrasyonu inhalasyonla alınanın % 20- 30'una ancak ulaşabilir. Bu durum THC 'in bir kısmının karaciğerde metabolize edilmesine bağlıdır. Oral alımda etkinin başlaması 0.5-2 saat alır ve barsakta devam eden emilim sayesinde inhalasyondan daha uzun olabilir [77].

2.4.2. Biyotransformasyonu ve Eliminasyonu

Inhalasyon veya i.v injeksiyon sonrası maksimum beyin konsantrasyonlarına 15 dakika içinde erişilir, bu süre maksimum fizyolojik ve psikolojik etkilerin de başlama süresidir. Beyindeki konsantrasyona bağlı olarak görülen bu etkiler daha sonra bir platoya ulaşır ve yavaş yavaş azalarak 2-4 saat içinde sona erer. Oral alım sonrası maksimal etkiler yaklaşık 1 saat sonra baslar ve yine barsakta devam eden emilim nedeniyle 5-6 saat sürebilir. Bazı psikomotor ve kognitif etkileri ise çok daha uzun sürebilir [78, 79]. Kanabinoidler yağda yüksek oranda çözünürler ve yağ dokuda birikerek buradan yavaş salınımla dolasıma geçerler. Ayrıca plasentadan fetal dolasıma ve anne sütüne de geçebilirler. Vücuttan atılması oldukça yavaştır ve tam olarak kandan temizlenmesi günler alabilir. Tekrarlayan dozlarda beyinde yüksek konsantrasyonlara ulaşabilirler. Kanabinoidler karaciğerde metabolize edilirler ve ana metaboliti 11-hidroksi- 9-THC'dir. Bu bileşen 9-THC'den daha potenttir ve cannabisin psikolojik ve fizyolojik etkilerinin bazılarından sorumludur.

2.4.3. Endokanabinoid Sistem

Kanabinoid reseptörlerinin keşfi onların doğal ligandlarının olabileceği fikrine dikkat çekmiş ve kısa bir süre sonra da endokanabinoidler tanımlanmıştır. Endokanabinoidler kanabinoid reseptörlerine bağlanma ve onları aktive etme yeteneğine sahip bileşiklerdir. Gerektiğinde membran lipid prekürsörleri olan N-arasidonil-fosfatidiletanolamin (NAPE) ve sn-1-açıl-2-arasidonilgliserol (DAGs)'lerin yıkılmasıyla sentezlenirler ve sonra intraselüler hidroliz enzimleriyle inaktive edilirler [80]. İzole edilen önemli endokanabinoidler; arasidoniletanolamid (AEA), 2-arasidonilgliserol (2-AG), O-

arasidonil etanolamin (OAE, virodamin), 2- arasidonil-gliserol ester (noladin, 2-AGE) ve N-arasidonil-dopamin (NADA)'dir.

Kanabinoid reseptörleri, endokanabinoidler ve onları sentezleyen enzimlerle [N-açilfosfatidiletanolamin -selektif fosfolipaz D (NAPE-PLD) ve diaçilgliserol lipaz (DAGL)], yıkan enzimler [fatty acide amide hydrolase (FAAH) ve monoaçilgliserol lipazlar (MAGL)] endokanabinoid sistemin ana bileşenlerini oluştururlar [80]. Endokanabinoid sistemin fizyolojik rolü tam olarak açıklanamamakla birlikte, yapılan çalışmalar bu sistemin ağrının azaltılmasında [81], işleyen hafızanın zayıflamasında [82, 83], iştahın artmasında [84], emzirmede [85], kardiyovasküler düzenlemede [86], embriyonun implantasyonu ve gelişmesinde [87], psikomotor kontrolde [88] ve immün cevabın düzenlenmesinde [89] fonksiyonları olduğunu göstermektedir. AEA ve 2-AG üzerinde en çok çalışılan iki endokanabinoiddir [90].

2.4.4. Kanabinoidlerin Antikonvulsan Etkileri

Kanabinoidlerin antikonvulsan etkilerinin moleküler mekanizması bilinmiyor. Ancak presinaptik nörotransmitter salınımının CB1 reseptör aktivasyonunun primer sonucu olduğu ve bu mekanizmanın kanabinoidlere antikonvulsan etki sağladığı düşünülüyor [91]. Birçok beyin alanında beraber lokalize oldukları için kanabinoidler ile NMDA reseptörleri arasında bağlantı olabileceği düşünülmektedir [92]. Kanabinoidler dopamin ve norepinefrin gibi major katekolaminerjik transmitterlerin seviyelerini de değiştirir [93]. Ayrıca senkroniteyi artırarak nöbet eşiğini değiştirebilen talamokortikal projeksiyonları da etkileyebilirler [94]. Bunun yanında kanabinoidlerin MSS üzerinde doza bağımlı bir etkisi olduğu; düşük dozların elektriksel aktivitede aktivasyon, yüksek dozların ise inhibisyon oluşturduğu gösterilmiştir [93].

CB1 reseptörü beyinde en yüksek oranda eksprese edilen G protein aracılı reseptördür [95] ve nöronal uyarılabilirliğin düzenlenmesinde rol alır. Endojen kanabinoidler; arasidoniletanolamin (AEA) ve 2-arasidonilgliserol (2-AG) nöronal depolarizasyona ve artmış intraselüler Ca^{2+} düzeylerine cevap olarak sentezlenirler. Bu iki durum da nöbet aktivitesi boyunca oluşur [96]. Glutamat normal sinirsel ileti için kritik olmasına rağmen, artmış düzeyleri eksitotoksisiteyle ve epileptik aktiviteyle alakalı bulunmuştur [97]. Epileptik dokudaki artmış glutamat düzeylerinin azaltılması kanabinoidlerin antikonvulsan etki mekanizması olabilir. Yapılan birçok çalışmada elde edilen kanıtlar

ortaya koyuyor ki, insanlarda ve hayvan nöbet modellerinde kanabinoidler doza bağlı antiepileptik özellikler göstermektedir [98; 100].

2.5. Vitaminler

Vitaminler doğal olarak besinler içerisinde yer alan, büyük çoğunluğu ile dış kaynaklı, büyüme, çoğalma ve sağlığın devamı için gerekli az miktarları ile etki yapan organik bileşiklerdir. Vitaminler yapı taşı ve ya enerji kaynağı olarak kullanılmazlar. Genellikle ısıya dayanıklı maddelerdir. Parenteral yoldan veya sindirim kanalı ile vücuda dahil olabilirler.

2.5.1. Vitaminlerin Sınıflandırılması

Vitaminler suda çözünen vitaminler, yağda çözünen vitaminler diye başlıca iki sınıfa ayrılırlar.

1- Suda Çözünen Vitaminler:

B-Kompleksi Vitaminleri
 Tiamine (B₁ Vitamini, Anöyirin)
 Riboflavin (B₂ Vitamini, Laktoflavin)
 Niasin (Nikotinamid, PP Vitamini)
 Pridoksin (B₆ Vitamini)
 Biotin
 Pantotenik asit
 Paraaminobenzoik asit
 Folik asit
 Vitamin B₁₂
 Lipoik asit
 C vitamini

2 - Yağda Çözünen Vitaminler:

Vitamin A (A vitaminleri)
 Vitamin D (D Vitaminleri)
 Vitamin E (E Vitaminleri)
 Vitamin K (K Vitaminleri)

2.5.2. Epileptiform Aktiviteye Vitaminlerin Etkisi

2.5.2.1. B6 Vitamini (Piridoksin)

Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Renksiz billurlar olup, suda, alkolde ve asetonunda az çözünürler. Optik yönden etkin değildirler. Vitamin B6 ısıya ve yükseltgenmeye az, her çeşit ışınlanmaya oldukça duyarlıdır. Asitlerle tuzları elde edilir.

Kimyasal Yapısı

Vitamin B6 bir metil-1 hidroksi-2 dihidroksi-metil-3-4 piridin (piridoksal) yapısındadır.

Etkin Maddeler

Piridoksinin biyolojik etkinliğini gösteren 2-metil-piridin türevleri için vitamin B6 terimi kullanılır. Dört numaralı alkol işlevinin aldehite yükseltgenmesi (piridoksamin) veya amine dönüşmesi (piridoksin) vitamin B6' nın fizyolojik etkinliğini değiştirmez; bu iki biçim canlı hücrelerde bulunur.

Vitamin B6 Yetersizliği Bulguları

İnsanda yetersizlik, özellikle ağızda lezyonlar, sinirsel ve mental bozukluklarla ortaya çıkar. Sıçan' ın deneysel akrodini kıl dökülmesi, deskuamasyon, erezyon ve hemorajiile ayaklar, burun, gözler, kulaklar seviyesinde dermatoz ile özelleşir; aynı zamanda anemi ve gençlerde büyümenin durması vurgulamaya değer.

2.5.2.2. C Vitamini (Askorbik asit)

Eski çağlardan beri bilinen skorbütü FUNK (1914) yetersizlik hastalıkları sınıfına koymuştur. Vitamin C bu hastalığı iyileştiren maddeye verilen sözcüktür. Kimyasal yapısında HIRST (1933) ortaya çıkarmıştır. Antiskorbütük bir etmen olan vitamin C, kimyasal bakımdan askorbik asittir.

Kimyasal Yapısı

Askorbik asidin birçok yapısal benzerlerinin sentezi gerçekleştirilebilmektedir. D (-) Askorbik asit vitamin etkinliğine sahip değildir. Ancak, vitamin C' nin etkinliğine yakın başka maddelerde vardır.

Fiziksel Özellikleri

Renksiz olup, suyla iyi çözünürler. Havanın oksijenine fazlaca duyarlılık gösterirler. Isıya, UV' ye ve ışına oldukça dirençlidirler. C vitamini asitli ortamda, alkali ve nötr ortamlara göre daha dayanıklıdır.

C Vitamini Yetersizliği

Nadir olarak yetersizlik gözlenir. Diş eti kanamaları, diş eti ayrılmaları, kemik zarı kanamaları, kansızlık, sindirim bozukluğu, enfeksiyonlar ve entoksifikasyonlara direncin azalması neden olur. C vitamin alkali fosfatazı etkinleştirerek kemiklere kalsiyum bağlanmasını sağlar. Kolesterolün kolesterol hidrolazı uyararak yıkılmasını sağlar. Kollagen oluşumuna katılan C vitamini lizin ve prolinin hidroksilleşmesinde, trozinin katabolizmasında, kükürt katabolizmasında, folik asidin tetrahidrofolik aside dönüşümünde, demirden yararlanmada, beynin çalışmasını etkileyen çeşitli biyojen aminlerin sentezlenmesinde görev alır.

2.5.2.3. E Vitamini (α -tokoferol)

Evans 1922' de kısırlığın var olduğunu söylemiş yonca ve buğdayda bulunan bir madde ile iyileştiğini belirtmiştir. Aynı dönemde Sure bu yeni maddenin Vitamin E olduğunu belirtmiştir. 1938' de Fernolz α -tokoferol' ün yapısını belirlemiştir.

Kimyasal Yapısı

E vitamini renksiz ve soluk sarı renkli bir madde olup organik çözücülerde çözünürler. Sıcaklığa kurumaya oldukça dayanıklı olup kolay yükseltgenmeye uğradıklarından indirgeyici ve antioksidan özelliktedir. Aslında tokoferoller hidroksi-6-kroman türevleridir. İki numaralı karbondan doymuş bir yan zincir bulunur.

E Vitamini Yetersizliği

Muskuler distrofi, ensefelopati sarı yağ hastalığı, kalp kasında bozukluk gibi rahatsızlıklara neden olur.

Biyolojik Görevleri

Hücre solunum ve zarların bütünlüğünü koruyan antioksidatif bir madde olup yetersizliğinde çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır. E vitamini yetersizliğinde kas ipliği yapısındaki enzimlerden bir kısmını özellikle glutamik, oksalaasetik transaminazı salıverir. Bu madde hücre zarlarında işlev bozukluğuna neden olur. E vitamini yetersizliği bağ dokularında şişme, kollagen iplikçiklerin uzayıp kalınlaşmasına veya kılcal damarların dejenerasyonuna ve çeperlerin geçirgenliğinin artmasına neden olur. Sinir

dejenerasyonu beyinciği etkileyip kanamalı noktaların oluşmasına neden olur. Daha sonra beyinciğin yapısının bozulmasına kadar gider. Özellikle erkeklerde eksikliği kısırlığa neden olur. Metabolik atıkların proteinlere bağlanmasıyla oluşan yaşlanma sürecinde rol oynar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü bünyesinde Hayvan Fizyoloji Laboratuvarı bulunmaması ve deney hayvanlarından elektrofizyolojik kayıtların alınabilmesi için gerekli PowerLab cihazının bulunmaması nedeniyle laboratuvar çalışmaları Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, Erciyes Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü bünyesinde Hayvan Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı kurulması çalışmaları yoğunlaştırılmış ve gerekli fiziksel mekan sağlanmıştır. Elektrofizyolojik kayıt sistemini oluşturan cihazın parçalarının bir kısmı, hayvanların sabitlenmesi için 2 adet sterotaksik düzenek ve çalışmalarda kullanılacak kimyasal maddelerin bazıları FBD-09-956 ve FBA-09-720 projeler kapsamında temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan 91 adet albino erkek Wistar sıçan, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nde 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış ve $22 \pm 4^\circ \text{C}$ 'lik oda sıcaklığında, ortalama ağırlıkları 225-260 g arasında 80-100 günlük olana kadar yetiştirilmiştir. Deney hayvanları Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi'nden deney gününden önce alınarak laboratuvara getirilmiştir.

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Uygulanış Şekilleri

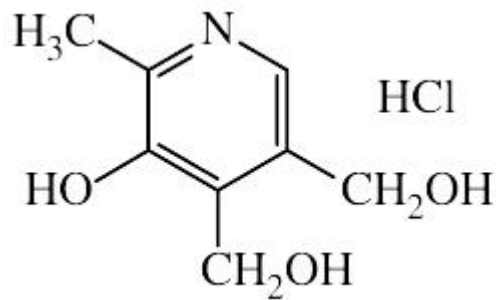
3.2.1. Penisilin G Potasyum

Moleküler ağırlığı 372,48 gr/mol ve moleküler formülü $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{KN}_2\text{O}_4\text{S}$ olan penisilin (4-Tia-1-azabisiklo (3.2.0) heptan-2-karboksilik asit, 3,3-dimetil-7-okso-6-(2-fenilasetamid)), hücre duvarı mukopeptidinin biyosentezini inhibe etmek suretiyle etkisini gösterir. Epileptiform aktiviteyi başlatma etkisi, yapısal olarak bikukuline benzerliğinden kaynaklanmaktadır. GABA reseptörleri üzerindeki bikukulinin bağlanma bölgesine tutunan penisilin bu reseptörleri inhibe etmek suretiyle eksitabilitiyi artırmakta ve epileptiform aktiviteye neden olmaktadır [100].

Bu çalışmada penisilin, epileptiform aktivite oluşturmak üzere 500 ünite (IU) doz ve 2,5 µl hacimde intrakortikal (i.c.) yoldan uygulandı. Stereotaksik sisteme yerleştirilmiş hayvanın sol beyin korteksine, bregmaya göre 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 2 mm ventral koordinatlarda Hamilton mikroenjektörü kullanılarak (infüzyon hızı; 0,5 µl/dk) intrakortikal enjeksiyon yapıldı.

3.2.2. B₆ Vitamini (Piridoksin)

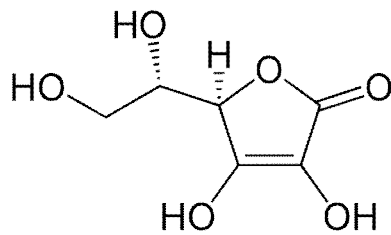
Moleküler ağırlığı 169,18 g/mol ve moleküler formülü C₈H₁₁NO₃ olan B₆ vitamini piridoksin olarak da bilinir. Esansiyel bir besin elementi olan piridoksin, piridoksal-5-fosfat ve piridoksamin-5-fosfat gibi canlı dokularda esansiyel enzimlerin kofaktörüdür. Piridoksin hücrelerde piridoksal fosfat şeklinde bulunur. Piridoksin altı vitamerden oluşup bunlar piridoksol, aldehit piridoksol, amin piridoksamin ve bunların 5 fosforile esterlerinden oluşur. Protein metabolizmasında çok önemli bir koenzimdir ve birçok nörotransmitterin sentezinde rol alır. En önemli rolü aminoasitlerin sentezindeki transaminasyon olayındaki koenzim görevidir. Sonuç olarak piridoksin metabolizmanın özellikle protein metabolizmasının birçok kilit noktalarında rol oynar. Aynı zamanda bazı aminoasitlerin hücre zarından taşınmasında da görev yaptığı kabul edilmektedir. Diyetle piridoksin eksikliği aşağı sınıf hayvanlarda dermatite neden olabilmekte büyüme hızını duraklatabilmekte, karaciğer yağlanmasına ve anemiye neden olabilmektedir.



B₆ vitamini penisilin uygulanıp epileptiform aktivite olgunluğa ulaştıktan sonra (30 dk) hayvan başına 40 mg/kg doz olacak şekilde intraperitonal (i.p.) olarak uygulandı.

3.2.3. C Vitamini (Askorbik Asit)

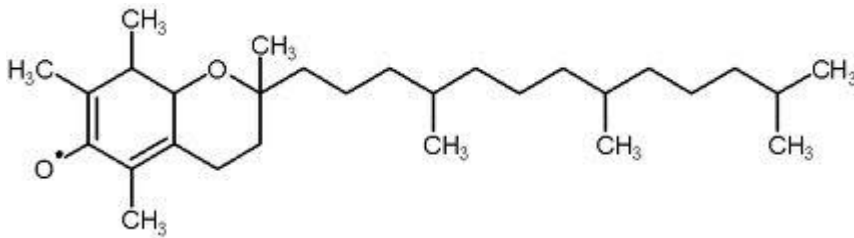
Moleküler ağırlığı 176,12 gr/mol ve moleküler formülü $C_6H_8O_6$ olan C vitaminini birçok bitki ve hayvan glukozdan kendileri sentezleyebilir. İnsanlar diyetle dışardan almak zorundadır. C vitamininin hem antioksidan hem de bir enzim kofaktörü olarak hareket etme yeteneği hem de bağırsakta emilmeyi, serum konsantrasyonunu, hücresel dağılımı, kullanım ve dışarı atılımını içeren farmakokinetiği ele alınması gereken önemli özellikleri arasındadır C vitamini derialtı dokusu, kıkırdak, kemik ve dişlerde liflerin büyümesi ve dayanıklılığı için gereklidir [90].



Epileptiform aktivite başladıktan 30 dakika sonra hayvan başına 60 mg/kg doz olacak şekilde i.p. olarak uygulandı.

3.2.4. E Vitamini (α -tokoferol)

Moleküler ağırlığı 163,1335 gr/mol ve moleküler formülü $C_{55}H_{104}O_2$ olan E vitamini 500 mg/kg intramuskuler olarak uygulandı.



3.3 Deney Grupları

Vitaminler ve kanabinoidler arasındaki ilişkiyi göstermek için aşağıdaki deney grupları oluşturuldu.

Grup 1	Kontrol Grubu (n=7 hayvan)
Grup 2	Penisilin (Epilepsi 500 IU) grubu (n= 7)
Grup 3	Penisilin + 40 mg/kg Vit B6 (Ip) (Piridoksin) grubu (n=7)
Grup 4	Penisilin + 100 mg/kg Vit C (Ip) grubu (n=7)
Grup 5	Penisilin + 500 mg/kg Vit E (Ip) grubu (n=7)
Grup 6	Penisilin + 7,5 mikrogram (Icv) ACEA grubu (n=7)
Grup 7	Penisilin + 0,25 mikrogram AM251 grubu (n=7)
Grup 8	Penisilin + 40 mg/kg Vit B6 (Ip) (Piridoksin)+ 7,5 mikrogram (Icv) ACEA (n=7)
Grup 9	Penisilin + 40 mg/kg Vit B6 (Ip) (Piridoksin)+ 0,25 mikrogram AM251 grubu (n=7)
Grup 10	Penisilin + 100 mg/kg Vit C (Ip) grubu + 7,5 mikrogram (Icv) ACEA grubu (n=7)
Grup 11	Penisilin + 100 mg/kg Vit C (Ip) grubu + 0,25 mikrogram AM251 grubu (n=7)
Grup 12	Penisilin + 500 mg/kg Vit E (Ip) grubu + 7,5 mikrogram (Icv) ACEA grubu (n=7)
Grup 13	Penisilin + 500 mg/kg Vit E (Ip) grubu + 0,25 mikrogram AM251 grubu (n=7)

3.4. Cerrahi Müdahaleler

Deneylere saatinden 24 saat önce aç bırakılan sıçanların ağırlıkları belirlendi ve 1,25 gr/kg üreten i.p. yoldan verilerek anestezi altına alındı, baş kısmının tıraşları yapıldı (Şekil 3.1).

Tıraşlanan sıçanlar daha sonra cerrahi işlemler için masaya sabitlendi. Hayvanların kafa derisi baş-kuyruk doğrultusunda, bir bistüri ile yaklaşık 3 cm uzunluğunda açıldı. Kafa derisi altındaki tendon ve fasyalar uzaklaştırıldı, yumuşak dokuda oluşabilecek kanamalar elektrokoter vasıtasıyla önlemlendi. Sol korteks kafatası bir tur motoru ile dairesel hareketler yaparak inceltildi ve kafatası kemiği uzaklaştırıldı. Tur motoru kullanırken oluşacak sürtünmeden meydana gelebilecek ısınmayı engellemek için belirli aralıklarla spanç yardımıyla serum fizyolojik tampon uygulandı. Kafatası kemiğinde oluşabilecek küçük

kanamalar bonewax (kemik mumu) sürülerek önlendi (Şekil 3.2).Açığa çıkan korteks üzeri serum fizyolojik emdirilmiş bir gazlı bez yardımıyla kapatıldı.



Şekil 3.1. Hayvanların tıraş edilmesi.



Şekil 3.2. Hayvanlara intraperitoneal (ip) yolla üretan verilmesi.



Şekil 3.3. Hayvanların kafatası kemiğinin beyin korteksine kadar açılması.



Şekil 3.4. Hayvanların beyin korteksine iki adet gümüş-gümüşklorür top elektrot ve kulağına referans elektrot yerleştirilmesi.

3.5. Elektrofizyolojik Kayıtlar

Cerrahi müdahale sonrası korteksi açılan sıçanlar stereotaksik cihaza yerleştirilerek sabitlendi (Şekil 3.4). Beyin ve diğer dokulardan ısının muhafaza edilmesi, sıvı kaybının önlenmesi ve kayıt sırasında oluşabilecek artefaktların önlenmesi amacıyla hayvanın kafa derisi 4 köşeden cerrahi penslerle tutturularak yaklaşık 37 °C' lik vazelin havuzu oluşturuldu. Deney süresince sıçanların vücut ısılarının korunabilmesi için üzerine hayvanların yerleştirildiği elektrikli battaniyenin (Harward Homeothermic Blanket System) sıcaklığı 37 °C'de sabit tutuldu. Elektrofizyolojik kayıt için 2 adet Ag/AgCl top elektrot ve topraklama amacıyla 1 adet Ag/AgCl elektrot kullanıldı. Top elektrotlardan pozitif olanı bregmanın 1 mm anterior, sagital sütürün 2 mm laterale, negatif olanı ise

bregmanın 5 mm posterior, sagital sütürün 2 mm lateraline gelecek sekilde yerleştirildi. Bir adet referans elektrot ise kayıt jeli sürülerek sağ kulak kepçesine tutturuldu (Sekil 15). Elektrotlar ile alınan aktivite BioAmp (ADInstruments, Australia) arabiriminde yükseltilerek PowerLab 4/SP (ADInstruments, Australia) veri kayıt sistemine online olarak aktarıldı (Sekil 16). PowerLab ile korteksten elde edilen analog sinyaller sayısal hale dönüştürüldükten sonra bir USB kablosu yardımıyla bilgisayara nakledildi. Beyin aktivitesi Chart v5.1 (ADInstruments, Australia) yazılımı ile online olarak görüntülendi ve deney sonrası analiz için bilgisayara kaydedildi.

Beyne yapılan intrakortikal enjeksiyonlar, bregma noktasından 3 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 1.5 mm ventrale, kanabinoidler için yapılan intraserebroventriküler enjeksiyonlar ise bregma noktasından 0.8 mm lateral, 2 mm posteriyor ve 3.6 mm ventrale bir Hamilton mikroenjektr aracılığıyla gereklestirildi. Enjeksiyonlarda enjektör ucunun damarı üzerine gelmemesine dikkat edildi.

3.6. Elektrofizyolojik Kayıtların Değerlendirilmesi

Deneylerde kullanılan tüm sıçanların bazal aktivite kayıtları alındı. İnrakortikal (i.c.) enjeksiyonun, sıçanların beyin aktivitesinde bir değişikliğe neden olup olmadığını görmek için serum fizyolojik (SF) (2.5 µl) i.c. somatomotor kortekse uygulandı. SF grubunun kayıtları, bazal aktivite kayıtları ile karşılaştırıldığında beyin ECoG aktivitesinde bir değişikliğin olmadığı görüldü Penisilin (500 IU, 2.5 µl, i.c.) enjeksiyonundan sonra 2-4 dk içinde ECoG’da bilateral dikenler (spike) ve diken-dalęa kompleksleri ile karakterize olan epileptiform aktivite oluştu. Oluşan spike’ların amplitüdü ve frekansı 20-30 dk içinde kararlı bir düzeye ulaştı ve bu aktivite 3-4 saat kadar devam etti. Penisilin enjeksiyonunun sonrasında uygulanan maddelerden ilki penisilinden 30 dk sonra, takip eden enjeksiyonlar da 15’er dk arayla yapıldı. Penisilin enjeksiyonu ile oluşan epileptiform aktivitenin kararlı duruma gelmesi 20-30 dk içinde gerçekleştiğinden spike frekansı ve amplitüd değerleri incelenirken, penisilin enjeksiyonunun 20. ve 30. dakikaları arasındaki 10 dakikalık dönemden elde edilen değerlerin ortalaması 1. dk değeri olarak kaydedildi, devamında 10’ar dk’lık aralarla, 1 dk’lık dilimlerin spike frekansı ve amplitüdlerinin ortalamaları alındı. İstatistikler, alınan 1 dk’lık dilimlerin değerleri kullanılarak yapıldı ve grafiklerdeki zaman göstergeleri de buna göre ayarlandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

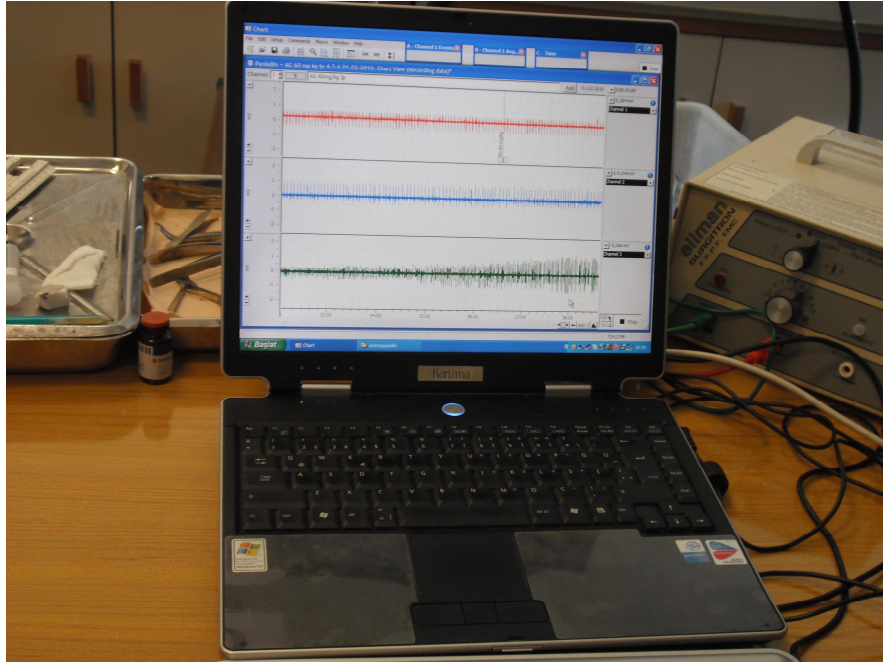
Kaydedilen elektrofizyolojik kayıtlar Chart v5.1 (ADInstruments, Avustralya) birer dakikalık bölümlere ayrıldı (Şekil 3.7.-8). Her bir dakika başına düşen spike sayısı ve spike'ların ortalama amplitüdleri bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 3.7). Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan elde edilen kayıtlar için bu hesaplama teker teker yapıldı. Elektrofizyolojik kayıtların tamamı Microsoft excel aracılığı ile rakamsal verilere dönüştürüldü ve SPSS v13.0 yazılımından yararlanılarak istatistiksel açıdan değerlendirildi. 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 değişimler anlamlı kabul edildi.



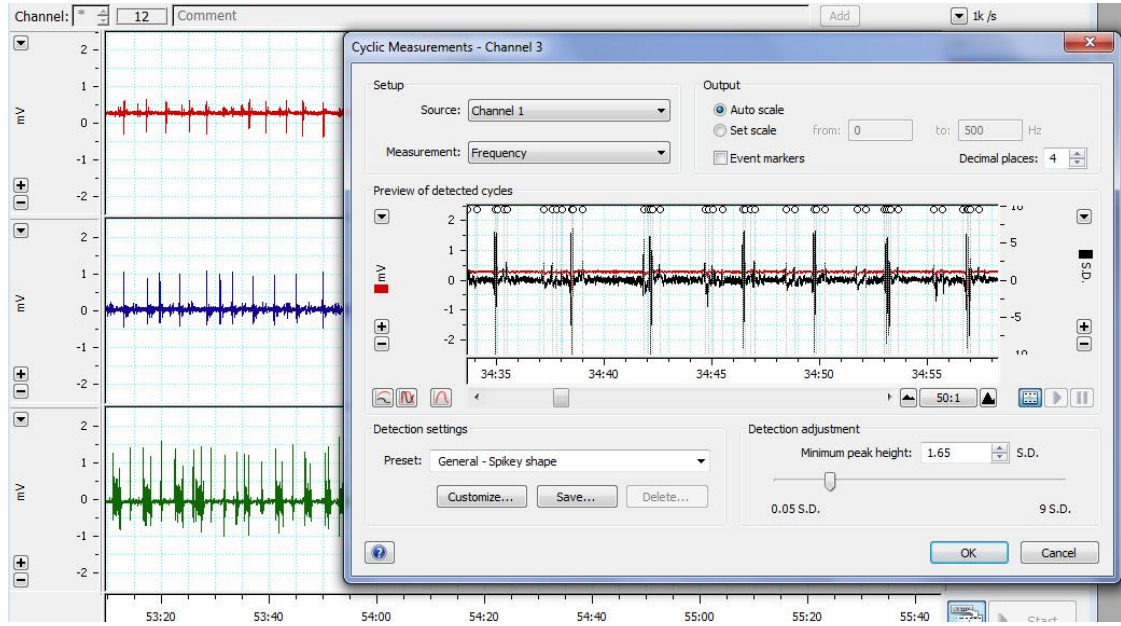
Şekil 3.5. Elektrofizyolojik kayıt düzeneği



Şekil 3.6. PowerLab 4/SP



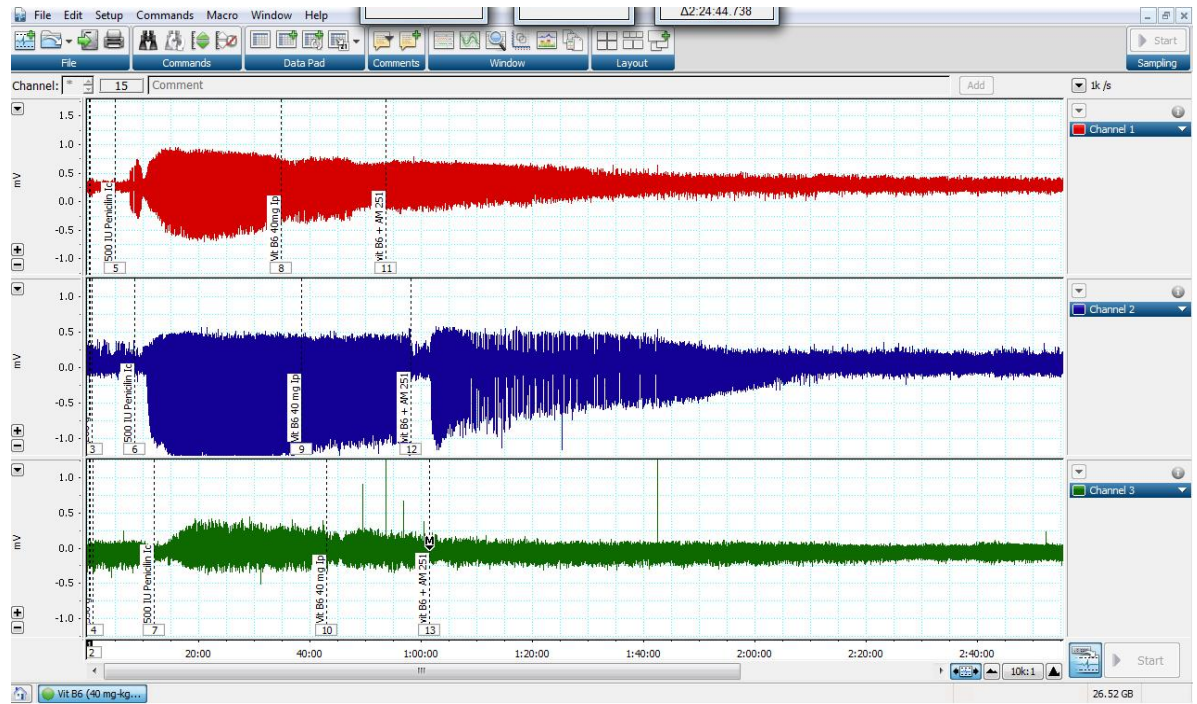
Şekil 3.7. Kayıt verilerinin ekran görüntüsü



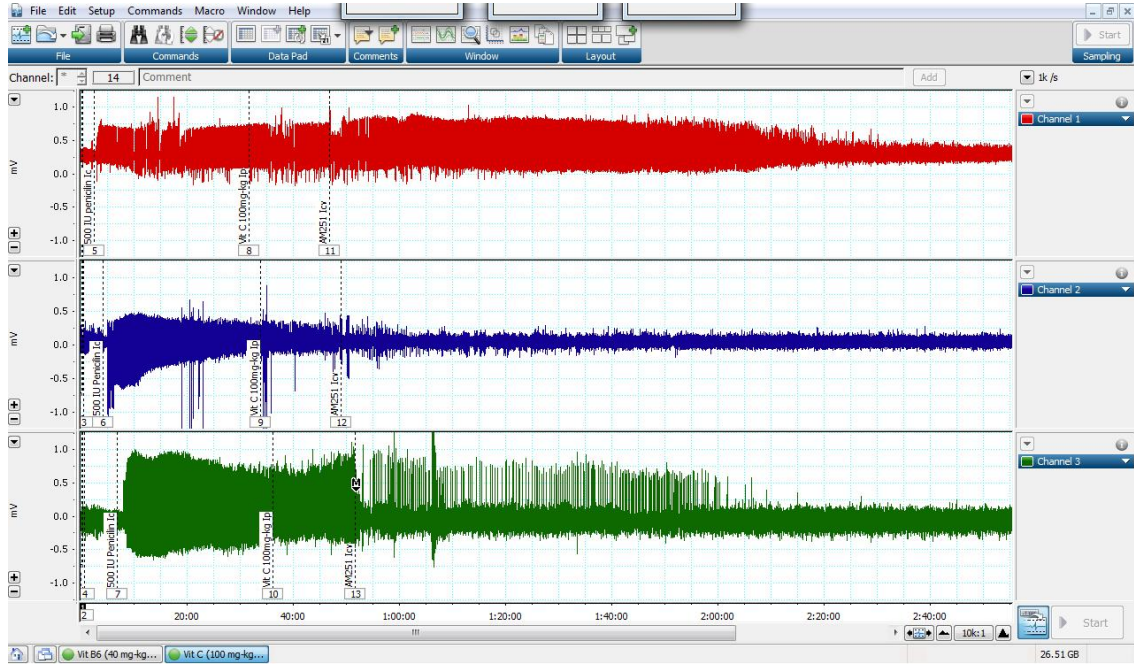
Şekil 3.8. Kayıt verilerinin ekran görüntüsü

4. BULGULAR

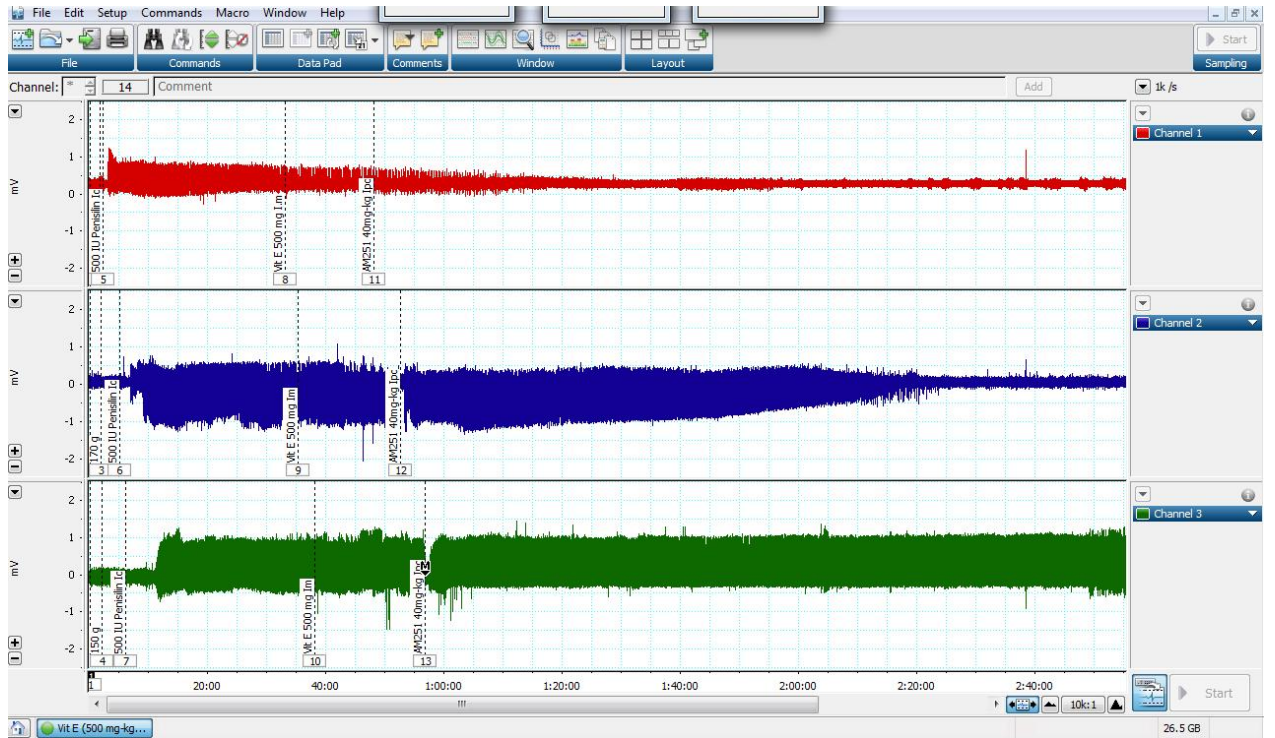
Bu çalışmada penisilin ile oluşturulan epileptiform aktivitede kanabinoid agonist ve antagonistleriyle vitaminlerin etkileşimleri incelenerek ECoG kayıtları alındı. Vitaminler + AM 251 ve Vitaminler + ACEA gruplarının bütünü için aşağıdaki için EcoG kayıtları elde edildi.



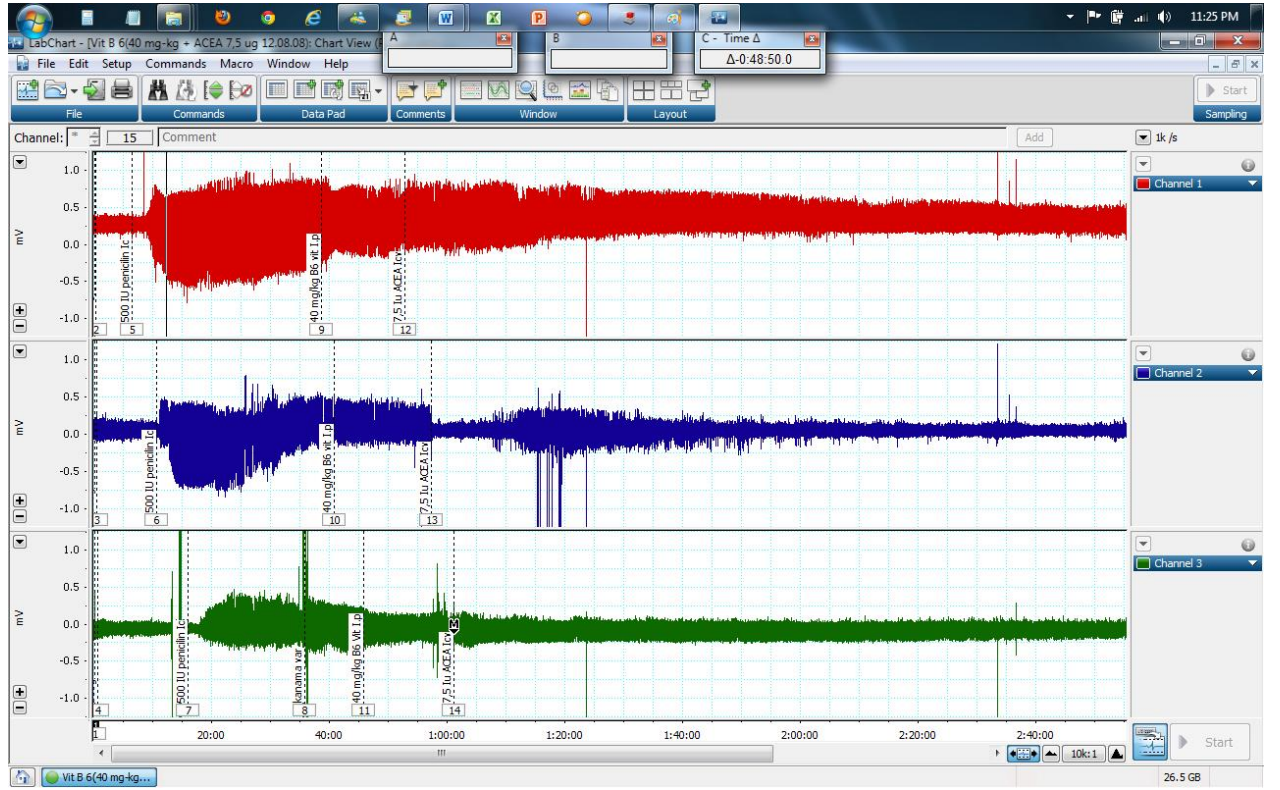
Şekil 4.1: B6+AM 251 etkileşimi traseleri



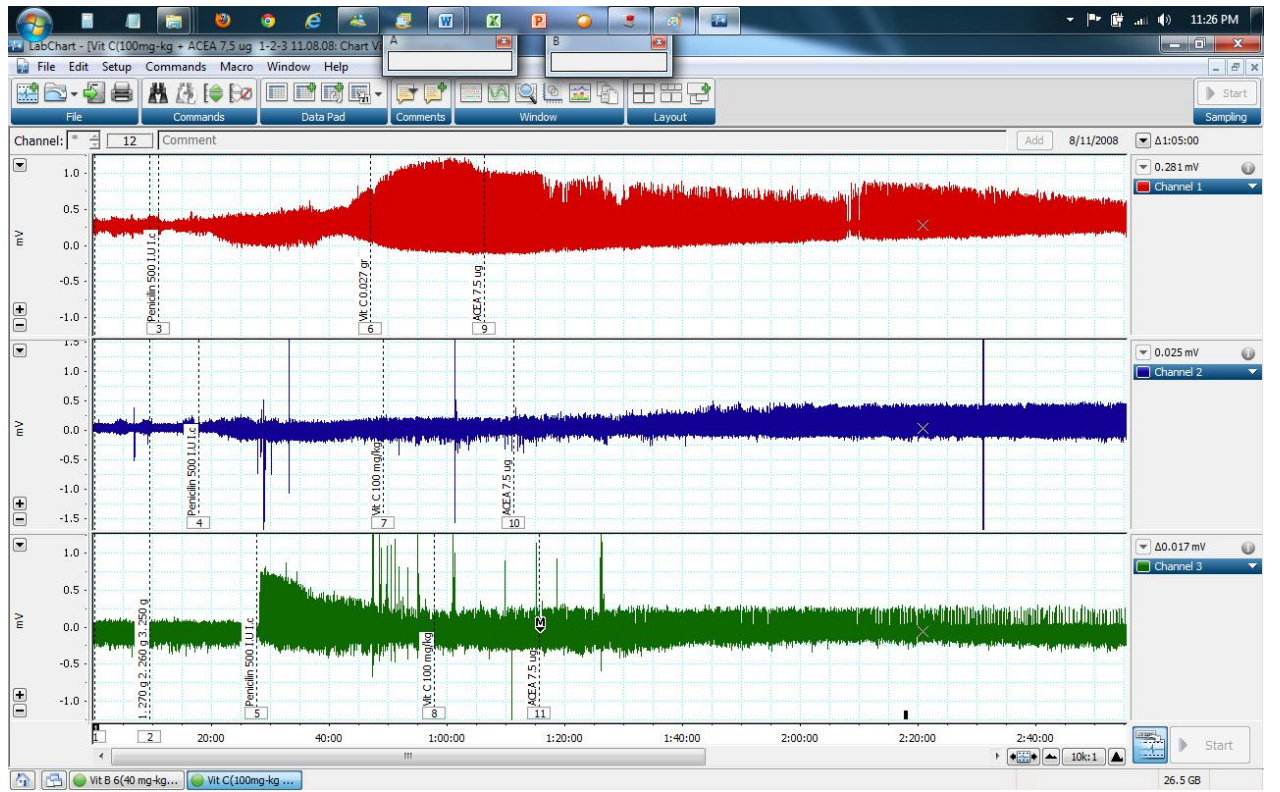
Şekil 4.2. Vit C+AM 251 etkileşimi traseleri



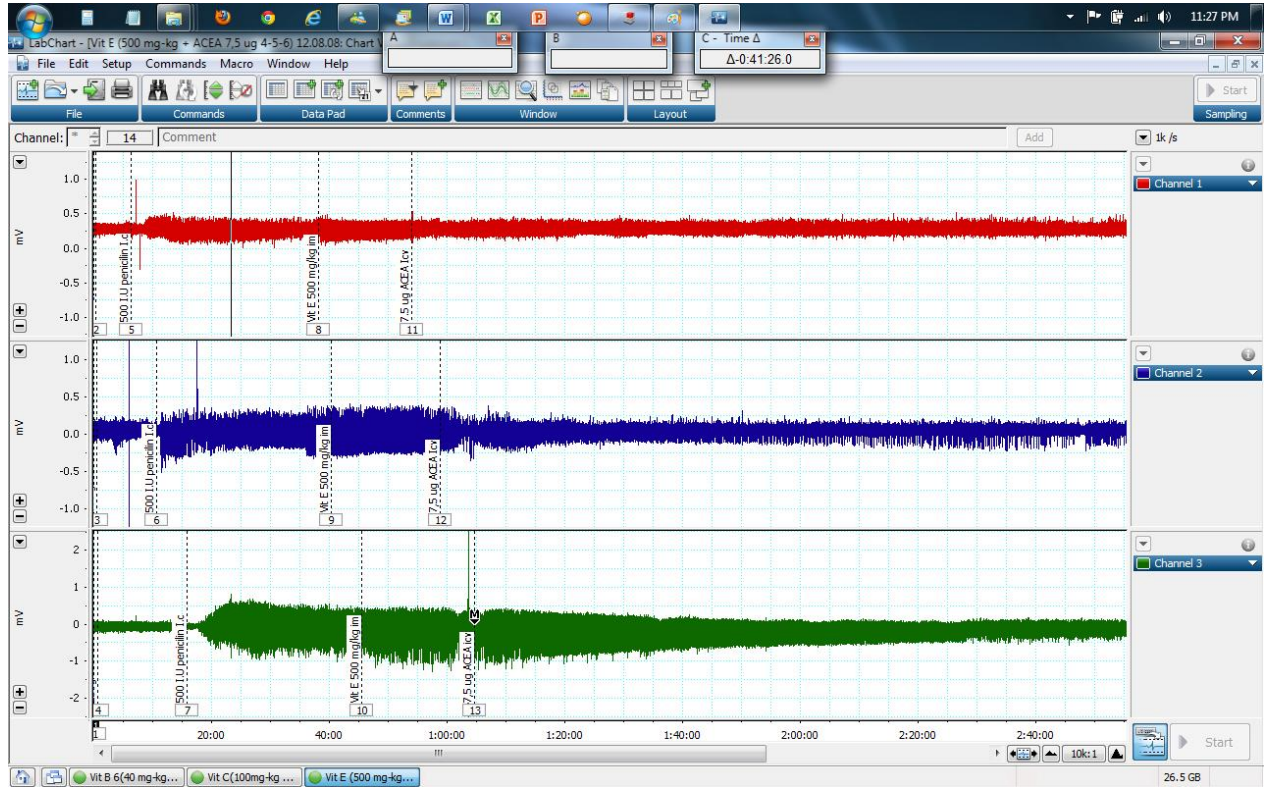
Şekil 4.3. Vit E+AM 251 etkileşimi traseleri



Şekil 4.4. Vit B6+ACEA etkileşimi traseleri



Şekil 4.5. Vit C+ACEA etkileşimi traseleri



Şekil 4.6. Vit E+ACEA etkileşimi traseleri

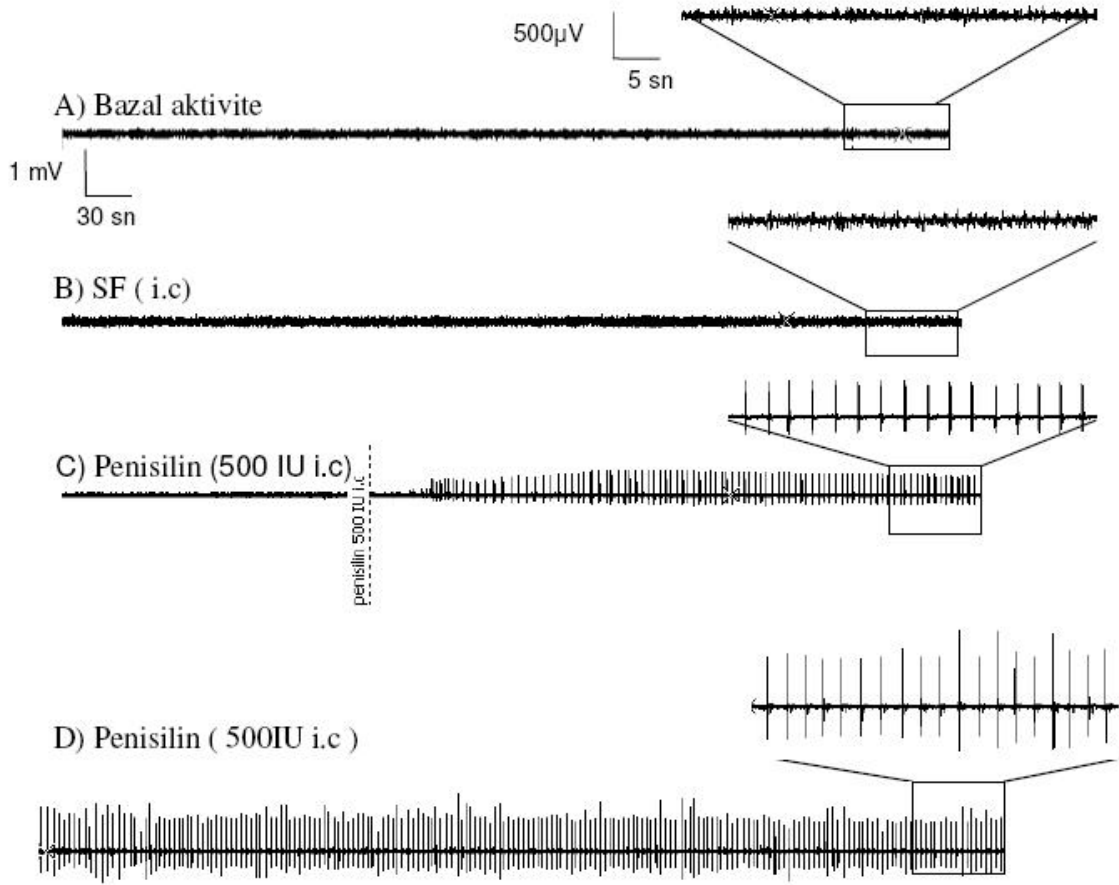
Elde edilen kayıtlar Lab Chart programı makro komutları yardımıyla uygun eşik değerler seçilerek sayısal verilere dönüştürüldü ve çalışma sayfalarına yapıştırıldı. Bundan sonra excel’de bütün grupların normal amplitüd, % amplitüd, normal frekans ve % frekans tabloları oluşturuldu. B6 vitamini+ACEA etkileşim grubu örnek çalışma sayfası aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

vit 6B+ACEA Normal spike amplitude							vit 6B+ACEA Normal spike amplitude							vit 6B+ACEA yüzde spike amplitude						
1 ACEA	2 ACEA	3 ACEA	4 ACEA	5 ACEA	6 ACEA		1 ACEA	2 ACEA	3 ACEA	4 ACEA	5 ACEA	6 ACEA		1 ACEA	2 ACEA	3 ACEA	4 ACEA	5 ACEA	6 ACEA	
0.5715	0.1455	0.5727	0.6515	1.1986	0.8875		0.5196	0.16842	0.54686	0.62522	1.19344	0.87112		100	100	100	100	100	100	
0.4882	0.1509	0.5411	0.7101	1.5775	0.8617	iik	0.5536	0.7101	0.7514	0.8065	0.85	0.9383	10	106.543	421.625	137.403	128.995	71.2227	107.712	
0.6185	0.1599	0.5466	0.5929	1.1054	0.888		0.3873	0.3663	0.7313	0.6106	0.8805	0.7198	20	74.5381	217.492	133.727	97.6616	73.7783	82.6293	
0.4794	0.1852	0.5266	0.605	1.0449	0.8781		0.5081	0.9071	0.7536	0.8533	0.9338	0.7397	30	97.7868	538.594	137.805	136.48	78.2444	84.9137	
0.4404	0.2006	0.5473	0.5666	1.0408	0.8403		0.6701	0.9042	0.7739	0.7877	0.9414	0.6895	40	128.965	536.872	141.517	125.988	78.8812	79.151	
							0.571	0.7583	0.73	0.579	0.9903	0.6517	50	109.892	450.243	133.489	92.6074	82.9786	74.8117	
							0.582	0.6806	0.633	0.5428	1.0255	0.544	60	112.009	404.109	115.752	86.8174	85.9281	62.4483	
							0.5472	0.366	0.619	0.4989	1.0024	0.6222	70	105.312	217.314	113.192	79.7959	83.9925	71.4253	
							0.6529	0.5306	0.6446	0.5441	1.1064	0.6052	80	125.654	315.046	117.873	87.0254	92.7068	69.4738	
							0.5406	0.5747	0.5638	0.6057	1.1745	0.3763	90	104.042	341.23	103.098	96.8779	98.413	43.1973	
							0.5902	0.4599	0.5492	0.4773	1.0992	0.3292	100	113.587	273.067	100.428	76.3411	92.1035	37.7904	
1	3.7422	0.302	0.5715	0.8233	1.0649	0.8863	110	0.5859	0.4094	0.4643	0.4882	1.2054	0.3232	110	112.76	243.083	84.9029	78.0845	101.002	37.1017
2	0.4305	0.2052	0.5281	0.8107	1.0772	0.8554	120	0.6418	0.3951	0.4324	0.3925	1.2311	0.3304	120	123.518	234.592	79.0696	62.7779	103.156	37.9282
3	0.4037	0.2437	0.5175	0.818	1.0609	0.8587	130	0.5746	0.4009	0.4128	0.4144	1.2883	0.3454	130	110.585	238.036	75.4855	66.2807	107.948	39.6501
4	0.4247	0.2755	0.5135	0.7716	1.0631	1.0665	140	0.5363	0.3885	0.3176	0.3874	1.3154	0.3364	140	103.214	230.673	58.077	61.9622	110.219	38.617
5	0.4293	0.2942	0.536	0.8181	1.0701	0.8163	150	0.4913	0.4001	0.3583	0.4527	1.3124	0.3145	150	94.5535	237.561	65.5195	72.4065	109.968	36.1029
6	0.5509	0.3616	0.5483	0.6638	1.0804	0.5466	160	0.4829	0.3493	0.3217	0.4511	1.2742	0.3226	160	92.9369	207.398	58.8268	72.1506	106.767	37.0328
7	0.453	0.4163	0.662	0.6269	1.0632	0.3828														
8	0.4973	0.6254	0.5233	0.6601	1.0786	0.6864														
9	0.4191	0.6838	0.5671	0.8406	1.0793	1.0289														
10	0.5536	0.7101	0.7514	0.8065	0.85	0.9383														
11	0.4929	0.6589	0.6289	1.1294	0.3938	0.85														
12	1.4233	0.7543	0.6957	0.7834	0.6123	0.9101														
13	0.4455	1.3409	0.6427	0.6673	0.8197	0.9258														
14	0.5225	0.4135	0.6384	0.8926	0.7778	0.7967														
15	0.3649	0.2174	0.6247	1.0674	0.6825	0.9313														
16	0.4123	0.1824	0.6283	1.0247	0.658	0.9327														
17	0.3551	0.1954	0.7041	0.7446	0.7636	0.8252														
18	0.3761	0.2154	0.7035	0.8389	0.7864	0.7909														
19	0.3557	0.3306	0.7536	0.713	0.8725	0.7617														
20	0.3873	0.3663	0.7313	0.6106	0.8805	0.7198														

Şekil 4.7. Sayısal verilerin excel ortamında düzenlenmesi

4.1. Penisilinle Uyarılan Epileptiform Aktivite

500 IU penisilin i.c. yoldan korteks içine enjekte edilerek epileptiform aktiviteyi başlatıldı. Enjeksiyondan 2–4 dakika sonra epileptiform aktivite başladı. Spike frekansı ve amplitütü yaklaşık 30 dakikada kararlı bir düzeye ulaştı ve kayıtlar ortalama 4 saat sürdü. Epileptiform aktivitenin kararlı düzeyde ortalama spike frekansı 29 ± 2 spike/dk., amplitütü ise $1,007 \pm 193 \mu V$ olarak belirlendi (Şekil 4.8 C-D).



Şekil 4.8. **A)** Kortekse herhangi bir madde enjekte edilmeden önceki bazal ECoG aktivite, **B)** İntrakortikal serum fizyolojik uygulanması ile oluşan ECoG kaydı **C)** penisilinin 500 IU i.c. enjeksiyonu ile epileptiform aktivitenin başlaması, **D)** Epileptiform aktivitenin karalı seviyeye ulaşması

4.2. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

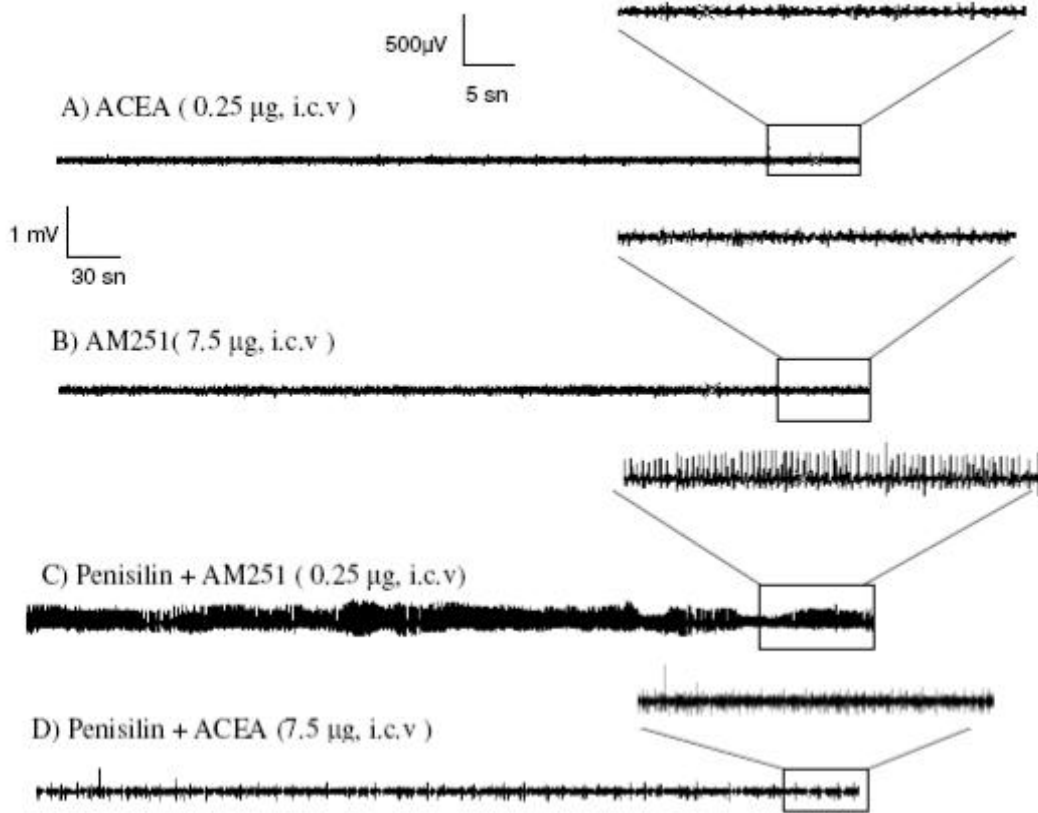
4.2.1. CB1 Reseptör Agonisti ACEA' nın Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ACEA 7.5 µg dozda intraserebroventriküler olarak uygulandı. Spike frekansı değerleri (spike /dk, ort ± SEM); ACEA enjeksiyonundan sonraki 70 ve 90'ıncı dakikalarda kontrol grubunda sırasıyla 29.15 ± 3.4 , 32.22 ± 2.76 iken; ACEA grubunda sırasıyla 15.9 ± 1.21 , 7.5 ± 1.98 olarak bulundu. Sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0.005$ ve $p < 0.001$), yani ACEA spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı.

80. dk'daki spike amplitüdü yüzde değişim değerleri; kontrol grubunda 79.45 ± 6.57 iken, ACEA grubunda 81.45 ± 6.45 idi. Alınan 120 dakikalık kayıt boyunca spike amplitüdünde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

4.2.2. CB1 Reseptör Antagonisti AM251' in Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM251 $0.25 \mu\text{g}$ dozda i.c.v olarak uygulandı. Spike frekansı değerleri (spike /dk, ort $\pm$ SEM); AM251 enjeksiyonundan sonraki 30 ve 40'ıncı dakikalarda kontrol grubunda sırasıyla 26.11 ± 2.69 , 25.4 ± 1.56 iken; AM251 grubunda sırasıyla 46.6 ± 9.15 , 63.5 ± 6.67 olarak bulundu. Sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0.05$ ve $p < 0.001$), yani AM251 spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artırdı. 80. dk'daki spike amplitüdü yüzde değişim değerleri; kontrol grubunda 80.94 ± 5.57 iken, AM251 grubunda 98.35 ± 6.25 idi. Alınan 120 dakikalık kayıt boyunca spike amplitüdünde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).



Şekil 4.9: Kanabinoidlerin epileptiform aktiviteye etkisini incelemek için alınan ECoG kayıtlarının 110-120. dakikaları arasından ve son 120. dakikadan alınan traseler. A) Tek başına ACEA (7.5 µg, i.c.v) ve B) Tek başına AM251 (0.25 µg, i.c.v) enjeksiyonu beyin bazal aktivitesini değiştirmedir. C) Penisilin (500 IU, i.c) enjeksiyonundan 30 dk sonra verilen AM251 spike frekansını artırarak SE benzeri aktivite ortaya çıkardı. D) Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra verilen ACEA spike frekansında istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmaya neden oldu.

4.3. Vitamin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

4.3.1. B6 Vitamini + ACEA Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra Vitamin B6 40 mg/kg dozda i.p olarak, piridoksinden 15 dk sonra ise ACEA 7.5 µg dozda i.c.v olarak uygulandı. Spike frekansı değerleri (spike /dk, ort ±SEM); 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla piridoksin + ACEA grubunda sırasıyla 22.16 ± 2.06 , 22.17 ± 2.73 , 19.16 ± 2.06 olarak bulundu. Eszamanlı

spike frekansı yüzde değisim değerleri kontrol grubunda piridoksin + ACEA grubunda sırasıyla 91.66 ± 7.07 , 77.9 ± 6.95 , 60.44 ± 6.09 idi. Sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$ ve $p < 0.001$), yani piridoksin + ACEA spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. Alınan 120 dakikalık kayıt boyunca kontrol grubuna göre spike amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).(Şekil 4.10 A)

4.3.2. C Vitamini + ACEA Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra Vitamin C 100 mg/kg dozda i.p olarak, C vitaminiden 15 dk sonra ise ACEA 7.5 µg dozda i.c.v olarak uygulandı. Spike frekansı değerleri (spike /dk, ort $\pm$ SEM); 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla Vitamin C + ACEA grubunda sırasıyla 19.16 ± 2.16 , 20.15 ± 2.73 , 21.34 ± 2.06 olarak bulundu. (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$), yani Vitamin C + ACEA spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. (Şekil 4.10 B)

4.3.3. E Vitamini + ACEA Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra Vitamin E 500 mg/kg dozda intramuskuler olarak, E vitaminiden 15 dk sonra ise ACEA 7.5 µg dozda i.c.v olarak uygulandı. Spike frekansı değerleri (spike /dk, ort $\pm$ SEM); 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla Vitamin E + ACEA grubunda sırasıyla 24.16 ± 2.16 , 22.17 ± 2.73 , 16.34 ± 2.06 olarak bulundu. (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$), Vitamin E + ACEA spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. (Şekil 4.10 C)

4.3.4. B6 Vitamini + AM251 Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra B6 vitamini 40 mg/kg dozda i.p olarak, B6 vitamininden 15 dk sonra ise AM251 0,25 µg dozda i.c.v olarak uygulandı. Yüzde spike frekansı değerleri (spike /dk, ort $\pm$ SEM); 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla Vitamin B6 + AM251 grubunda sırasıyla 90.16, 66.67, 61.79 olarak bulundu. (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$), Vitamin B6 + AM251 spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. (Şekil 4.11 A)

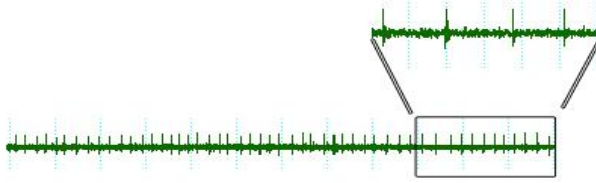
4.3.5. C Vitamini + AM251 Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra C vitamini 100 mg/kg dozda i.p olarak, C vitamininden 15 dk sonra ise AM251 0,25 µg dozda i.c.v olarak uygulandı. Yüzde spike frekansı değerleri (spike /dk, ort ±SEM); 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla Vitamin C + AM251 grubunda sırasıyla 96.16, 34.16, 32.03 olarak bulundu. (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$). Yüzde amplitüd yüzde değişim değerleri 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla Vitamin C + AM251 grubunda sırasıyla 86.04, 72.91, 66.88 olarak bulundu. (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$), Vitamin C + AM251 spike frekansını ve yüzde amplitüd kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. (Şekil 4.11 B)

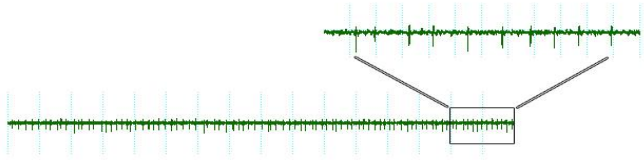
4.3.6. E Vitamini + AM251 Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra E vitamini 500 mg/kg dozda i.m olarak, E vitamininden 15 dk sonra ise AM251 0,25 µg dozda i.c.v olarak uygulandı. Yüzde spike frekansı değerleri (spike /dk, ort ±SEM); 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla Vitamin E + AM251 grubunda sırasıyla 52.50, 33.08, 29.25 olarak bulundu. (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$). Yüzde amplitüd yüzde değişim değerleri 20, 50 ve 70. dakikalarda sırasıyla Vitamin E + AM251 grubunda sırasıyla 92.12, 73.71, 64.93 olarak bulundu. (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.005$), Vitamin E + AM251 spike frekansını ve yüzde amplitüdkontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttı. (Şekil 4.11 C)

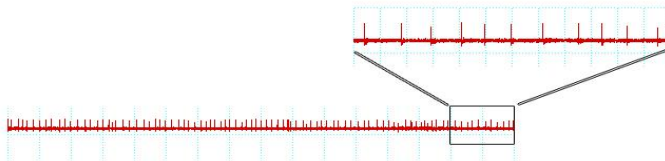
A



B



C



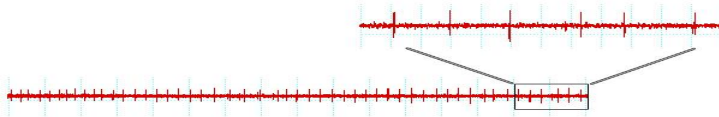
Şekil 4.10. A) Penisilin + Vit. B6 (40 mg/kg i.p) + ACEA (7.5 µg i.c.v),

B) Penisilin + Vit. C (100 mg/kg) + ACEA (7.5 µg i.c.v)

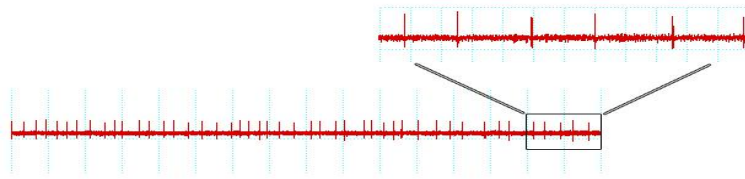
C) Penisilin + Vit. E (500 mg/kg) + ACEA (7.5 µg i.c.v)

120. dakikalar arasında alınan ve 120. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.

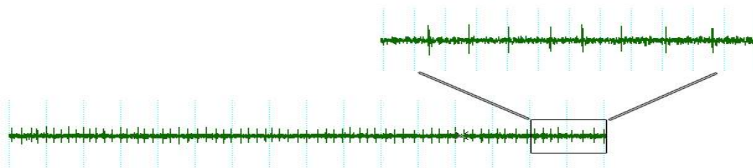
A



B



C

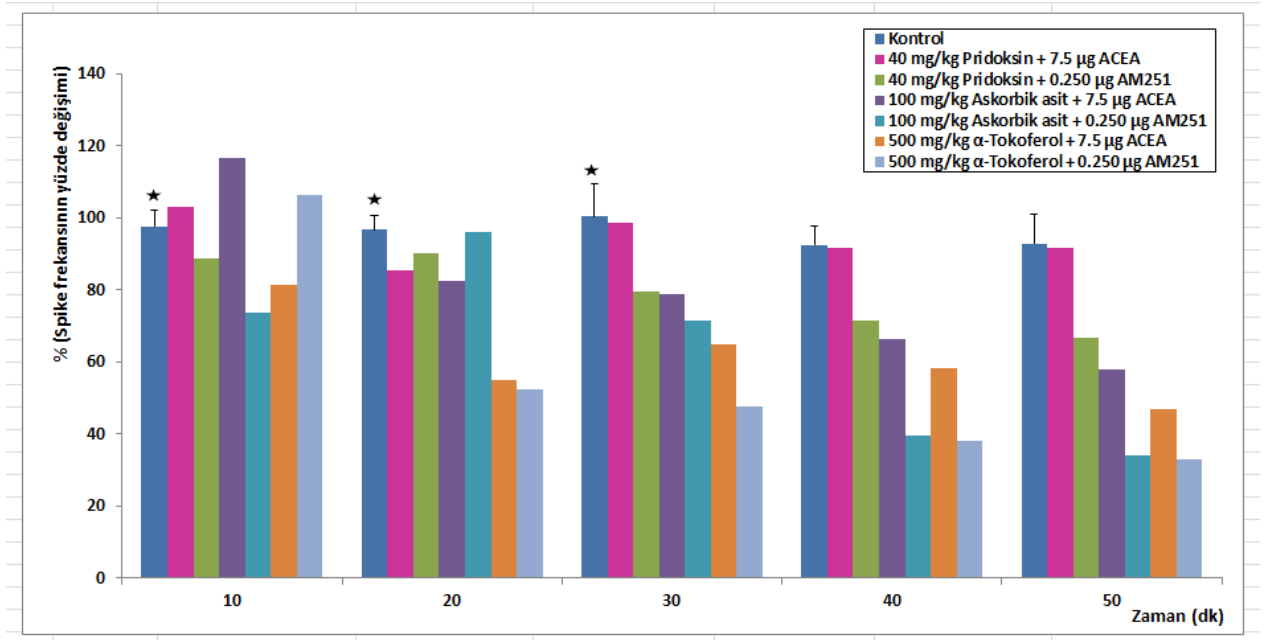


Şekil 4.11. A) Penisilin + Vit. B6 (40 mg/kg i.p) + AM251 (0.25 µg i.c.v),

B) Penisilin + Vit. C (100 mg/kg) + AM251 (0.25 µg i.c.v)

C) Penisilin + Vit. E (500 mg/kg) + AM251 (0.25 µg i.c.v)

120. dakikalar arasında alınan ve 120. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.



Şekil 4.12. Etkileşim gruplarının spike frekansının % değişimi.

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Sunulan çalışmada vitaminlerle, kanabinoid CB1 reseptör agonisti olan ACEA'nın ve CB1 reseptör antagonisti olan AM251'in penisilinle oluşturulan epileptik aktiviteye etkileri ve yine bu aktivite üzerindeki etkileşimleri incelendi. Deney hayvanlarında penisilin (500 IU, i.c) ile epileptiform aktivite oluşturuldu. Penisilin epilepsisinde ACEA ve AM251'in etkin dozları için daha önce Kozan ve ark. tarafından yapılan çalışmalar referans alındı (101).

Bu dozlar, ACEA için 7.5 ug (i.c.v), AM 251 için 0.25 ug (i.c.v) olarak kullanıldı ve deney hayvanlarına uygulandı. Daha sonra penisilin aktivitesi üzerine vitaminlerin, ACEA'nın ve AM251'in etkin dozlarının birbirleri ile etkileşimi araştırıldı.

5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Deney hayvanlarına 500 IU i.c penisilin uygulandı, penisilin enjeksiyonundan sonra 2-4 dakika içinde epileptik spike'lar ve spike-dalga kompleksleri görülmeye başlandı. Epileptiform aktivite yaklaşık 30 dk içinde kararlı hale geldi ve 3 saatten uzun sürdü. Penisilin enjeksiyonundan epilepsi oluşumuna kadar geçen sürede deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Penisilin enjeksiyonundan sonraki 30 dk içinde deney grupları arasında kaydedilen epileptik aktivitenin spike frekansı veya amplitüdü açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$).

Penisilinden sonra uygulanan ilk maddelerin enjeksiyonları 30. dakikada yapıldı. Daha sonra uygulanan maddeler ise 15'er dk arayla verildi. Penisilin'in uygulanma şekilleri, elde edilmek istenen nöbet modeline göre intraperitoneal (i.p), intramuskuler (i.m), intravenöz (i.v) veya intrakortikal (i.c) olabilir. Penisilin uygulanarak oluşturulan epileptiform aktivite ve özellikleri ile ilgili literatürde pek çok çalışma mevcuttur. Sullivan ve Osorio (102) i.p yolla penisilin G vererek ratlarda epileptik aktivite oluşturmuşlardır. Walden ve ark. (103); korteks yüzeyine lokal penisilin uygulamışlar ve 4-5 dakika sonra ECoG'da

epileptiform potansiyeller görüldüğünü bildirmişlerdir. Ondokuz Mayıs üniversitesinde yapılan çalışmalarda 500 IU intrakortikal (i.c) penisilin enjeksiyonunun uygulamadan 5 dakika sonra bilateral spike'lar ve spike-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktiviteye neden olduğu ve aktivitenin 3-5 saat kadar devam ettiği, kararlı frekans ve amplitüd düzeyine ise 30 dk içinde ulaştığı görülmüştür (104, 105, 106, 107).

Penisilin ile oluşturulan deneysel epilepsi modeli, insanda gözlenen nöbetlere kısmen benzemektedir (108). Beyin korteksine direkt olarak uygulanan penisilin epileptik nöbet oluşturmada; inhibitör postsinaptik potansiyeli (IPSP) bloke ederek meydana gelmektedir. Penisilin *in vitro* olarak hipokampus dilimlerinde IPSP'leri önler; asetilkolin'in uyarıcı etkisini ve presinaptik uçlardan asetilkolin salgısını artırır (109, 110). Penisilin'in korteks dilimlerinden glutamat salgısını artırdığı da bildirilmiştir (111). Ayrıca, anestezili kedide penisilin epilepsisi başlamadan önce ekstrasellüler Ca^{2+} seviyesinin arttığı gözlenmiş ve penisilin parasinaptik yollardan ve Ca^{2+} üzerinden de etki ederek burst aktivitesine yol açabileceği tespit edilmiştir. (112).

5.2. Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Kanabinoid CB1 reseptör agonisti ACEA (7.5 μ g, i.c.v) ve antagonisti AM251 (0.25 μ g, i.c.v)'in penisilinle oluşturulan epilepsi üzerine etkileri incelenmiş; ACEA'nın epileptiform aktiviteyi yaklaşık 60. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttığı, AM251'in ise 30. dakikadan itibaren epileptiform aktiviteyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artırarak status epileptikus benzeri deşarjlara neden olduğu görülmüştür. Ayrıca ACEA ve AM251 penisilin aktivitesi oluşturulmayan deney gruplarına tek başlarına uygulandıklarında bazal aktivite üzerinde herhangi bir etki ortaya çıkarmamışlardır. AM251 ve ACEA'nın birlikte uygulanması ise penisilin aktivitesi üzerine kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye neden olmamıştır. Buna göre AM251'in CB1 reseptörleri üzerinden etki ederek; ACEA'nın etkisini nötralize ettiği sonucuna varılmıştır. Aynı şekilde Desphande ve ark. (113); düşük Mg^{2+} içeren solüsyon içine koyarak SE benzeri aktivite oluşturdıkları nöron kültürlerine CB1 reseptör agonisti WIN 55,212-2 uyguladıklarında status epileptikus benzeri aktivitenin ortadan kalktığını, beraberinde AM251 uyguladıklarında ise status epileptikus aktivitesi üzerine herhangi bir etki

oluşturmadıklarını bildirmişlerdir. Bu veriler sunulan çalışmadan elde edilen verilerle uyumluluk göstermektedir.

ACEA ve AM251'in dozlarının tesbitinde daha önce bu maddelerin penisilin aktivitesi üzerine etkinliğini araştıran doz çalışmaları referans olarak kullanıldı (114) ve bu çalışmalarda belirlenen en etkin dozları (ACEA için 7.5 µg, AM251 için 0.25 µg) uygulandı.

Birçok hayvan nöbet modelinde kanabinoidlerin CB1 reseptörleri aracılığıyla antikonvulsan etki oluşturdukları bilinmektedir. Pentilentetrazol ile oluşturulan epilepside; seçici CB1 reseptör agonisti olan ACEA; 2-8 mg/kg (i.p) dozlarda antiepileptik etki ortaya çıkarmıştır (115). Yine ACEA'nın 5 mg/kg dozda sistemik uygulamasının da kokain ile oluşturulan konvulsiyonları önlediği bildirilmiştir (116). Kindling modeli epilepside çeşitli kanabinoidlerin 1-5 mg/kg (i.p) dozlarda güçlü antikonvulsan etki oluşturduğu (117), yine başka bir çalışmada 8 ve 9-THC'nin sistemik uygulamayla Senegal babunlarında amigdaloïd kindling nöbetleri güçlü olarak baskıladığı gösterilmiştir (118). Farelerde pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan epilepside 8 ve 9-THC antikonvulsan etki göstermiş (119), CB1 reseptör agonisti WIN 55,212-2'nin ise sıçan hipokampal nöron kültürlerinde 3 µM konsantrasyonda spontan tekrarlayan epileptik desarjları (SRED), 5 µM konsantrasyonda da düşük Mg⁺ düzeyleri ile oluşturulan status epileptikusunu tam olarak baskıladığı bildirilmiştir (120). Sıçanlarda pilokarpin modeli epilepside 9-THC'un 10 mg/kg dozda, yine bir kanabimimetik olan WIN55,212 'nin 5 mg/kg (ip) dozda spontan epileptik aktiviteyi tam olarak ortadan kaldırdığı gözlenmiştir (121). Bütün-hücre patch-clamp çalışmaları WIN 55,212-2'nin eksitator postsinaptik akım (EPSC) amplitüdünde hemen hemen tam bir inhibisyona neden olduğunu ve EPSC'deki bu azalmanın presinaptik CB1 reseptör aracılı bir etki olduğunu ortaya çıkarmıştır (122). Yapılan çalışmalarda kanabinoidlerin; nucleus accumbens, globus pallidus, striatum, serebellum, substantia nigra, prefrontal korteks, ventral tegmental alan, lateral amigdala ve spinal kord gibi birçok beyin alanında EPSC'leri azaltarak glutamat salınımını inhibe ettiği bildirilmektedir (123, 124, 125, 126, 127, 128, 129). Yine farelerde pentilentetrazol ile oluşturulan nöbetlerin tonik komponentinin PEA ile baskılandığı gözlenmiştir (130). Bu çalışmaların verileri bu çalışma ile uyumluluk göstermekte ve CB1 reseptörü ve endojen kanabinoid sisteminin epileptik nöroeksitasyonun sönmesinde kritik bir rol oynadığını göstermektedir. CB1 reseptör antagonistleri birçok deneysel epilepsi modelinde konvulsan etki ortaya çıkarmaktadırlar. Hipokampal nöronal kültürlerde oluşturulan epilepsi modelinde selektif

CB1 antagonisti AM251'in (1 μ M) epileptik nöronlara uygulanması elektrografik olarak status epileptikus ile uyumlu sürekli epileptiform aktivite oluşumuna neden olurken, kontrol nöronlara uygulanması herhangi bir aşırı uyarılmaya neden olmamış, ayrıca AM251'in epileptik nöronlarda oluşturduğu etki CB1 agonistleri ile tamamen geri çevrilmiştir (113). WIN 55,212-2'nin sıçan hipokampal nöron kültürlerinde düşük Mg^{+} düzeyleri ile oluşturulan status epileptikus benzeri aktiviteyi önleyici etkisi CB1 reseptör antagonisti SR141716A (1 μ M) ile bloklanmıştır (120). Yine SR141716A'nın sıçanlarda pilokarpin modeli epilepside WIN55,212 ile ortaya çıkan antiepileptik aktiviteyi engellediği, hem nöbet süresini hem de frekansını önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (121).

Beyinde bulunan kanabinoid reseptör alt tipi CB1 olduğu ve kanabinoidlerin antiepileptik etkilerini CB1 reseptörü üzerinden gösterdikleri bilindiğinden, sunulan çalışmada kanabinoidlerin penisilin epilepsisi üzerine etkilerini araştırmak için selektif CB1 reseptör agonisti ve antagonisti kullanılmıştır. Hillard ve ark. (131); ACEA'nın CB1 reseptörlerine CB2'ye oranla 1400 kat daha yüksek afinite gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu nedenle sunulan çalışmada CB1 agonisti olarak ACEA'nın kullanılması tercih edildi. Yine AM251 de selektif CB1 antagonisti olduğundan dolayı tercih edilmiştir.

Bunun yanında; aynı kanabinoid türevinin farklı nöbet modellerinde farklı etkiler ortaya çıkardığı, yine farklı beyin alanlarında oluşturulan *in vivo* epilepsi modellerinde kanabinoid reseptör agonist ve antagonistlerinin farklı etkiler oluşturduğu da gözlenmektedir. Weston ve ark.(132) 9-THC'un propil analogu 9-tetrahidrokanabivarin (9-THCV) ve selektif CB1 antagonisti AM251'in fare serebellumunda purkinje hücreleri ve inhibitör ara nöronlar arasındaki ileti hücreleri ve inhibitör ara nöronlar arasındaki iletiyi güçlendirerek inhibitör aktiviteyi artırdığını, ayrıca yine 9-THCV ve AM251'in sıçan piriform kortikal (PC) beyin dilimlerinde oluşturulan epilepsi modelinde antikonvulsan etki oluşturduğunu tespit etmişlerdir. SR141716A'nın MES modeli nöbetlerde nöbet eşiğini azalttığı ve pilokarpin modeli temporal lob epilepsisinde nöbet süresini ve frekansını azalttığı (133, 121); bununla birlikte; psikoaktif kanabinoidlerin genetik olarak yatkın hayvanlarda davranışsal konvulsiyonlara yol açabildikleri (134, 135), nöbete genetik yatkınlığı olmayan sıçanlarda, maymunlarda ve köpeklerde ise akut uygulanan letal ve letale yakın dozlarda veya aylarca tekrarlanan yüksek dozlarda

konvülsan etkiye neden oldukları bildirilmiştir (135). Bu sonuçlar ile sunulan çalışmadan elde edilen sonuçlar arasında uyumluluk yoktur.

Bunun yanında farklı dozlarda uygulanan CB1 agonist ve antagonistlerinin de farklı etkiler ortaya çıkarabileceği bildirilmektedir. Örneğin pentilentetrazol ile oluşturulan nöbet modelinde, 0.5 ve 1 mg/kg 'lık (i.p) dozlarda uygulanan ACEA tam etkin olmayan bir antiepileptik aktivite gösterirken, çok düşük doz (10 fg/kg - 100 ng/kg, i.p) uygulanan AM251 beklenmedik şekilde ACEA'nın antikonvulsan etkisini artırmış, bunun yanında antikonvulsan etki göstermeyen düşük doz (100 ng/kg - 100 mg/kg) ACEA ile düşük doz (100 pg/kg) AM251 kombinasyonu da antikonvulsan etki ortaya çıkarmıştır. (115). Bu durumda düşük dozda uygulanan kanabinoid agonist veya antagonistlerinin GABA sistemi gibi diğer bazı nörotransmitter sistemleri ile etkileşime girebileceği ihtimali muhtemeldir. Tam mekanizmasının aydınlatılması için bu konuda daha ileri çalışmalar yapılmalıdır. Yapılan *in vivo* çalışmaların çoğunda kanabinoidler sistemik olarak uygulandığından beyne ulaşana kadar çeşitli farmakokinetik etkileşimlere uğramaları beklenen bir sonuçtur. Örneğin MES modeli epilepside ACEA'nın 1.25-2.5 mg/kg dozda düşük antiepileptik aktivite gösterirken, 5-7.5 mg/kg dozda etkisinin arttığı, yine 1.25-2.5 mg/kg (i.p) dozdaki uygulamasının valproatın antiepileptik etkisini artırdığı, bunu da plazma ve beyin valproat seviyelerini artırarak yaptığı, 15 mg/kg dozda uygulanan ACEA'nın ise yağ asidi amid hidrolazlar tarafından hızla metabolik yıkıma uğratıldığı ve bu nedenle epileptik aktivite üzerine etkili olamadığı gösterilmiştir (136). Yine Moreira ve ark. (137); CB1 reseptör antagonistlerinin sistemik uygulanmasının anksiyojenik ve anksiyolitik aktivite gibi birbirinin tersi etkiler oluşturabildiğini bildirmişlerdir. Yapılan deneylerden elde edilen sonuçların birbiri ile uyumsuzluk göstermesinin nedenlerinden biri de bu maddelerin sistemik uygulanması olabilir. Bu sebeple çalışmamızda kanabinoidleri i.c.v olarak uygulamayı tercih ettik, bu şekilde uygulanan maddelerin farmakokinetik etkileşiminden kaynaklanan farklılıkları en aza indirebilmeyi hedefledik. Endojen kanabinoid sistem beyindeki sinaptik nörotransmisyonun anahtar düzenleyicisidir. Postsinaptik nöronlardan salınan endokanabinoidler, presinaptik CB1 reseptörlerini etkileyerek birçok tipte akson terminalinden nörotransmitter salınımını azaltabilirler. Böylece retrograt endokanabinoid sinyal iletimi, nöronal uyarı dengesiz bir şekilde arttığında aşırı presinaptik aktiviteyi kontrol eden fizyolojik bir anahtar rolü oynar (138). Bu sistemin beyindeki antikonvulsan aktivitenin oluşmasında da bir yol olabileceği düşünülmektedir (139, 133). Endokanabinoid sistemin CB1 komponentinin önemli bir

rolünün MSS’de aşırı nöronal aktiviteyi önlemek ve homeostazın sürdürülmesini sağlamak için gerekli nörotransmitter salınımını düzenlemek olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (121, 140). Bunlar arasında nöronal CB1 reseptörlerinin santral ve periferik sinir terminallerinde bulunması, bu reseptörlerin asetilkolin, noradrenalin, dopamin, 5-hidroksitriptamin, GABA, glutamat, D-aspartat ve kolesistokinin gibi birtakım eksitator ve inhibitör transmitterlerin inhibisyonunu düzenlemesi (141, 142, 143), endokanabinoidlerin retrograd sinaptik mesajcılar olarak davranmaları sayılabilir (144, 145). Bunlara dayanarak; bazı nörotransmitterlerin neden olduğu intraselüler Ca^{2+} ’daki postsinaptik artış endokanabinoid moleküllerin biyosentezini ve salınımını tetikleyebilir, bu moleküller de presinaptik CB1 reseptörleri üzerine etkileyerek glutamat ve GABA gibi nörotransmitter salınımını inhibe edebilir. Endojen olarak salınan kanabinoidler gibi, CB1 reseptör agonistleri de nöronal presinaptik CB1 reseptörleri üzerine etkileyerek devam eden nörotransmitter salınımını inhibe ederler (143, 144). G proteini ile eşleşmiş CB1 reseptörleri memeli beyindeki neokortikal, limbik duyu ve motor alanlarda bulunurlar ve endojen kanabinoidler ile aktive edilirler. Endojen kanabinoidler; Ca^{2+} ’a bağlı olarak depolarize olan postsinaptik nöronlardan salınırlar ve retrograd olarak hareket ederek presinaptik nöronlardaki CB1 reseptörleri yoluyla hem eksitator (125, 140) hem de inhibitör (146, 147) nöronal iletiyi baskırlar. CB1 reseptör mekanizmasının voltaj bağımlı N (ve muhtemelen P/Q) tipi Ca^{2+} kanallarının direkt inhibisyonu şeklinde de olabileceği düşünülüyor (125, 140). CB1 reseptör aktivasyonunun ayrıca postsinaptik etki mekanizmalarıyla bazı intrinsek nöronal membran iletkenliklerini de değiştirdiği biliniyor (148). NG 108-15 ve N-18 nöroblastoma hücreleri üzerinde yapılan deneylerden elde edilen kanıtlara göre kanabinoid reseptörleri Ca^{2+} kanallarıyla Gi-Go proteinleri aracılığıyla negatif olarak bağlantılıdır. Bu nedenle birçok kanabinoid reseptör agonisti bu hücrelerde voltajla aktive olan içe yönelik Ca^{2+} akımında konsantrasyona bağlı inhibisyon sağlar. Ca^{2+} kanallarıyla olan bu negatif bağlantı sadece CB1 reseptörlerinde vardır, CB2 reseptörlerinde söz konusu değildir (149). Turkanis ve ark. (150); NIE-115 fare nöroblastoma hücrelerinde bütün-hücre voltaj-klemp tekniğini kullanarak 9-THC’nin voltaj kapılı Na^{2+} akımlarına etkisini araştırmışlar, sonuç olarak 9-THC’nin içeriye olan Na^{2+} akımında azalma saptamışlar ve maddenin Na^{2+} kanallarını blokladığı sonucuna varmışlardır. Ayrıca maddenin bu kanalların aktivasyon ve inaktivasyon oranlarını da azalttığı ve bu üç etkinin de konsantrasyona bağlı ortaya çıktığı bildirilmiştir. Shen ve arkadaşları (122, 151) CB1 kanabinoid reseptör agonistlerinin rat hipokampal nöron

kültürlerinde glutamaterjik sinaptik iletiyi inhibe ettiğini ve bu hücreleri eksitotoksisteden koruduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmadan elde edilen verilere dayanarak; ACEA'nın 7.5 µg'lık dozda CB1 reseptörlerine presinaptik yoldan etki ederek aşırı miktarda glutamat salınımını veya direkt Ca²⁺ kanallarını etkileyerek hücre içi aşırı Ca²⁺ birikimini engellediği ve bu şekilde penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi baskıladığı söylenebilir. AM251'in ise 0.25 µg'lık dozda ACEA'nın tam tersi etki göstererek epileptiform aktiviteyi artırdığı sonucuna varılabilir.

5.3. Vitamin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

B6, C ve E vitaminlerinin epileptiform aktiviteyi baskıladığı bilinmektedir (152). CB1 reseptör agonisti ACEA ve CB1 reseptör antagonist AM251' in vitaminlerle etkileşimi ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur.

CB1 reseptör agonisti ACEA, B6 vitamini ile birlikte uygulandığında 70-110. dakikalar arasında epileptiform aktiviteyi baskılamış, 110 dakikadan itibaren baskılama ortadan kalkmıştır. Genlik üzerinde ise ACEA' nın 40 ve 80. dakika istatistiksel olarak anlamlı düşüşler yaşanmasına rağmen genel olarak amplitüd üzerine etkisi olmadığı düşünülmektedir.

ACEA' nın C vitaminiyle etkileşim grubunda ise 30. dakikadan itibaren süren kararlı epileptiform aktivite 60. dakikadan sonra frekans istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde baskılanmış ve kayıt sonuna kadar böyle devam etmiştir. Amplitüd üzerinde ise 120. dakikadan sonra süren anlamlı baskılanma deney sonuna kadar devam etmiştir.

E vitamini ve ACEA grubunda ise frekans, epileptiform aktivitenin kararlı duruma geçmesinden hemen sonra baskılama başlamış ve hemen hemen aynı düzeyde sona kadar devam etmiştir. E vitamini etkileşim grubu üzerinde amplitüdü etkileyen hiçbir baskılayıcı istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

CB1 reseptör antagonist AM251' in, B6 vitamini ile etkileşim grubunda frekans üzerine 60. dakikadan itibaren baskılayıcı bir etki görülmüş, AM251 in etkisi olduğu düşünülmemektedir. Amplitüd üzerinde ise 90. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş yaşanmıştır.

AM251'in C vitamini ile etkileşim grubunda ise frekansta 30. dakikadan itibaren anlamlı bir baskılama görülmüştür. Amplitüd üzerinde ise 90. Dakikadan itibaren düşüş yaşanmış ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

E vitamini ile AM251 etkileşim grubunda ise frekansta 10. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir baskılanma olup amplitüd ise 100. dakikadan sonra baskılanma olduğu görülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Dichter MA: The Epilepsies and Convulsive Disorders. in *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 13th ed. McGraw-Hill, p.2229, 1994.
2. Brailowsky, S. and Garcia, O. Ethanol, GABA and epilepsy. *Archives of Medical Research* 30, 3–9, 1999.
3. Sridharan R. Epidemiology of Epilepsy; Special Section: Recent Advances In Epilepsy. *Current Science*, 82: 664–670, 2002.
4. De Bittencourt Prm. Epilepsy in the Tropics: Epidemiology, socioeconomic risk factors, and etiology. *Epilepsia*, 37: 1121–1127, 1996.
5. Pedley TA. Epilepsy: A Comprehensive Textbook. Lippincott-Raven, 1998.
6. Cockerell OC, Shorvon SD. Epilepsy:Current concepts. *Current Medical Literature*, London 1996.
7. Hopkins A, Shorvon S, Cascino G. Epilepsy. Chapman-Hall Medical, 1995.
8. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy. Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia*; 22: 489–501,1981.
9. Avanzini G, Franceschetti S. (2003) Cellular biology of epileptogenesis. *Lancet*, 2: 33-42.
10. Hamed S, Abdullah M. Trace elements and electrolytes homeostasis and their relation to antioxidant enzyme activity in brain hyperexcitability of epileptic patients. *Journal of Pharmacological Sciences* 96:349–359, 2004.
11. Arzimanoglou A, Hirsch E, Nehlig A, Castelnau P, Gressens P, de Vasconcelos AP. Epilepsy and neuroprotection: An illustrated review. *Epileptic Disorders* 3: 173-182, 2002.
12. Marangoz C., Deneysel Epilepsi Modelleri, O.M.Ü. Tıp Dergisi, 14: 147-186, 1997.
13. Engel JJ. Experimental animal models of epilepsy; Classification and relevance to human epileptic phenomena. *Epilepsy Res*, 8: 9–20. 1992.
14. Fisher RS, Prince DA. Spike-wave rhythms in cat cortex induced by parenteral penicilin, II. Cellular features electroencephalography. *Clinical Electrophysiology*, 42: 625–639, 1977.

15. Straub H, Köhling R, Speckmann EJ. Picrotoxin-induced epileptic activity in hippocampal and neocortical slices (guinea pig): suppression by organic calcium channel blockers. *Brain Research*, 658:119–126, 1994.
16. De Lorenzo RJ. Antagonistic action of diphenylhydantoin and calcium on the level of phosphorylation of particular rat and human brain proteins. *Brain Research*, 134:125–138, 1977.
17. Martin HJ. The collective electrical behaviour of cortical neurons: the electroencephalogram and the mechanism of epilepsy. In: Kandel, ER, Schwartz, JH, and Jessell, TM. Eds. *Principles of Neural Science*. 3rd Ed., New York, Amsterdam: Elsevier Science Publishing; 77-791, 1991.
18. Marangoz C, Ayyıldız M, Agar E. Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport*; 5: 2454–2456, 1994.
19. Uemastu D, Araki N, Greenberg JH, et al. Alterations in cytosolic free calcium in the cat cortex during bicuculline-induced epilepsy. *Brain Res Bull*;24: 285, 1990.
20. Heinemann U, Lux HD, Gutnick MJ. Extracellular free calcium and potassium during paroxysmal activity in the cerebral cortex of the cat. *Expl Brain Res*; 27: 237–243, 1977.
21. Rodger C, Pleuvry BJ. Protective effect of flunarizine and nifedipine alone and in combination with anticonvulsant drugs against PTZ-induced seizures in mice. *Neuropharmacology*; 32: 257–263, 1993.
22. Halliwell B. and Gutteridge J. M. C. 1990 Role of free radicals and catalytic metal ions in human diseases: An overview; *Methods Enzymol*. 186 1-86, 1990.
23. Niki, E. Action of ascorbic acid as a scavenger of active and stable oxygen radicals. *American Journal of Clinical Nutrition* 54, 1119-1124, 1991.
24. Frei B, Stocker R, Ames BN. Small molecule antioxidant defences in human extracellular fluids. *Current Communications in Cell & Molecular Biology* 5:23–45, 1992.
25. Fighera M.R., Queiroz C.M., Stracke M.P., Nin Brauer M.C., Gonzalez-Rodriguez L.L., Frussa-Filho R., Wajner M., de Mello C.F. Ascorbic acid and α -tocopherol attenuate methylmalonic acid-induced convulsions. *Neuroreport* 10:2039–2003, 1999.

26. Yamamoto N, Kabuto H, Matsumoto S, Ogawa N, Yokoi I. α -Tocopheryl-L ascorbate-2-O-phosphate diester, a hydroxyl radical scavenger, prevents the occurrence of epileptic foci in a rat model of post-traumatic epilepsy. *Pathophysiology* 8:205–214, 2002.
27. Oliveira M. S., Furian A.F., Royes L.F.F., Figuera M.R., De Carvalho J., Fiorenza N.G., Mello C.F. Ascorbate modulates pentylentetrazol-induced convulsions biphasically *Neuroscience* 128:721–728, 2004.
28. Ayyildiz, M., Yildirim, M., Agar, E., 2006a. The effect of vitamin E on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Exp. Brain Res.* 174, 109—113, 2006.
29. Ayyildiz, M., Yildirim, M., Agar, E., 2006b.: Involvement of nitric oxide in the anticonvulsant effects of α -tocopherol on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Research* 73, 166 – 172, 2007.
30. Ayyildiz, M., Coskun S, Yildirim, M., Agar, E., 2006c.: The effects of ascorbic acid on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsia* 48(7):1388–1395, 2007.
31. Beckett, 1998 A. Beckett, Debate continues on vitamin B6, *Lancet* 352, p. 62. 1998.
32. Bosnak M, Ayyildiz M, Yildirim M, Agar E: The role of nitric oxide in the anticonvulsant effects of pyridoxine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Research*, 76,(1), 49-59, 2007.
33. Lukomskaya, NY., Rukoyatkina NI., Gorbunova, L V., Gmiro VE., Magazanik MG. Studies of the roles of NMDA and AMPA glutamate receptors in the mechanism of corasole convulsions in mice. *Neurosci Behav Physiol.* 34 (8):783–9, 2004.
34. Pearsons C.G., W. Danysz and G. Quack. Memantine is a clinically well tolerated *N* methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist—a review of preclinical data *Neuropharmacology* 38:735–767, 1999.
35. Folbergrova J, Druga R, Otahal J, Haugvicova R, Mares P, Kubova H. Effect of free radical spin trap N-tert-butyl-alpha-phenylnitron (PBN) on seizures induced in immature rats by homocysteic acid. : *Exp Neurol.* Sep;201(1):105–19, 2006.
36. Chen HS, and Lipton SA, Mechanism of memantine block of NMDA-activated channels in rat retinal ganglion cells: uncompetitive antagonism *The Journal of Physiology*, 499: 27–46, 1997.
37. Deshpande LS, Sombati S, Blair RE, Carter DS, Martin BR, DeLorenzo RJ (2007a) Cannabinoid CB1 receptor antagonist cause status epilepticus-like activity in the

hippocampal neuronal culture model of acquired epilepsy, *Neuroscience Letters* 411:11–16.

38. Wallace MJ, Blair RE, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ (2003) The endogenous cannabinoid system regulates seizure frequency and duration in a model of temporal lobe epilepsy, *J Pharmacol Exp Ther* 307(1):129–37.
39. Luszczki JJ, Czuczwar P, Cioczek-Czuczwar A, Czuczwar SJ (2006) 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* 547: 65-74.
40. Bozbuğa, M., Nörobilim renkli Atlası., s. 444, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2004.
41. Noyan, A., Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, s. 1157, Meteksan, Ankara, 1999.
42. Marangoz, C., Sinir Fizyolojisine Giriş, s. 370, Basılmamış Ders Notu, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2004.
43. Shepherd, G.M.(1974).*The Synaptic Organization of the Brain*, **First Ed.** Oxford University Press, London, pp: 288–328.
44. Shepherd, G.M. (1998). *The Synaptic Organization of the Brain*, **Fourth Ed.** Oxford University Press, New York, pp: 459.
45. Schmidt, R.F. (1989). Integrative functions of the central nervous system. In : *Human Physiology*. Schmidt R.F., Thews G. **Second Ed.**, Heidelberg, Springer Verlag, Berlin 124-165.
46. Barr ML, Kiernan JA. The human nervous system. 5th Ed. Lippincott Company, Philadelphia, 1988; 224-230.
47. Marangoz C. Beyin korteksinde bulunan piramidal nöron tipleri ve bunların desarij şekli ile elektrokortikogram arasındaki ilişki. Doktora tezi. Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 1978.
48. Erkoçak A. Sinir Sistemi, özel Histoloji, 1984; 230-240. İzmir
49. Ross M, Wojciech P. Histology: A text and Atlas Lipincott. 2006.
50. Despopoulos A, Sibernagl S. Color Atlas of Physiology. 5.th edition, 2003; 344-345.
51. Saatçi I, Sener N. Pediatrik nöroradyoloji. Ankara: Türk Tıbbi Görüntüleme ve Girişimsel Radyoloji Dernegi, 1999; 57-65.
52. Shneker, B.F., and Fountain, N.B. (2003). Epilepsy. *Dis Mon.* 49, 426-478.

53. O'Donohoe N.V., Epilepsies of childhood, 2nd ed. London Butterworth-Heinemann, 1985.
54. Engel, J.J., ILAE Commission Report. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology, *Epilepsia*, 42, 796 -803, 2001.
55. Per, H., Dirençli Epilepsili Çocuklarda Selenyum ve Bor Düzeylerinin Serum ve İdrarda Degerlendirilmesi, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2010.
56. Griffin, J., Wyles, M., Epilepsy Towards Tomorrow, Office of Health Economics, London, 1991.
57. Naderi, S., Acar, F., Mertol, T., Arda, M.N., Functional anatomy of the spine by Avicenna in his eleventh century treatise "Al-Qanun fial-Tibb" (The Canons of Medicine), *Neurosurgery*, 52, 1449–1453, 2003.
58. Jackson, J.H., On a particular variety of epilepsy (Intellectual aura): One Case with Symptoms of Organic Brain Disease. In: Taylor J, ed. Selected writing of JH. Jakson, Hodder and stroughton, London Vol 1, 400–405, 1958.
59. Berger, H., Über das Elektrenkephalogramm des Menschen, 1st report, *Arch. Psychiat. Nervenkr.*, 87, 527-570, 1929.
60. Bell GS, Sander JW. The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure* 2001; 16: 165–170.
61. Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CJ, Plum F. Cecil essentials of medicine. 4th ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1997. Çeviri editörü: Çalangu S, Sıva A. 4. Baskı: Nobel Tıp Kitabevi.
62. Okan M. Güncel Pediatri 2004; 2: 116-119.
63. Marangoz, C . (1997). Deneysel epilepsi modelleri. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* **14**, 147-186.
64. Löscher, W., Schmidt, D. (1994). Strategies in antiepileptic drug development: is rational drug design suDeriorto random screening and structural variation? *Epilepsy Res.* 17, 95-134.
65. Biziere, K., and Chambon, J.P. (1987). Animal models of epilepsy and experimental seizures. *Rev.Neural.* 143, 329-340.
66. Creutzfeldt, O., Watanabe, S., Lux, H.D. (1966). Relations between EEG-phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked responses after

- thalamic and epicortical stimulation. II. Spontaneous and convulsoid activity. *Electroencephalic Neurophysiol*; **20**, 1-37.
67. Fisch, B.J. and Pedley, T.A. (1987). Generalized tonic-clonic epilepsies. In: Lüders, H. and Lesser, R.P. (Eds). *Epilepsy: Electroclinical Syndromes*. New York, Springer,; 151-185.
68. Göksan, B. (1998). Epilepside tanı yöntemleri. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri (Epilepsilerde Tanı ve Tedavi Sempozyumu)* İstanbul, s. 39-50.
69. Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol* 1999; 58: 315-348.
70. Hall W, Solowij N. Adverse effects of cannabis. *Lancet* 1998; 352: 1611-1616.
71. Ögel K, Corapçıoğlu A, Sir A, Tamar M, Tot S, Dogan O, Uguz S, Yenilmez C, Bilici M, Tamar D, Liman O. Tobacco, alcohol and substance use prevalence among elementary and secondary school students in nine cities of Turkey. *Türk Psikiyatri Derg.* 2004; 15(2):112-118.
72. Tjeerdema RS. The pyrolysis of cannabinoids. *Rev. Environ. Contam. Toxic.* 1987; 99, 61-81.
73. Hollister LE. Health aspects of cannabis. *Pharmacol rev.* 1983; 38: 1 -6.
74. Timpone JG, Wright DJ, Li N, Egorin MJ, Enama ME, Mayers J, Galetto G. The safety and pharmacokinetics of single-agent and combination therapy with megestrol acetate and dronabinol for the treatment of HIV wasting syndrome. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 1997; 13, 305–315.
75. Volicer L, Stelly M, Morris J, McLaughlin J, Volicer BJ. Effects of dronabinol on anorexia and disturbed behavior in patients with Alzheimer's disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry.* 1997; 12,. 913–919.
76. Abood ME, Martin BR. Neurobiology of marijuana abuse. *Trends Pharmacol. Sci.* 1992; 13, 201–206.
77. British Medical Association. *Therapeutic Uses of Cannabis*. London: Harwood Academic Publishers, 1997.
78. Leirer VO, Yesavage JA, Morrow DG. Marijuana carry over effects on aircraft pilot performance. *Aviation Space and Environmental Medicine* 1991; 62: 221-227.

79. Maykut MO. Health consequences of acute and chronic marihuana use. *Progress in Neuro Psycho-Pharmacology and Biological Psychiatry* 1985; 9: 209-38.
80. DiMarzo V, Petrosino S. Endocannabinoids and the regulation of their levels in health and disease. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 129–140.
81. Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog. Neurobiol.* 2001; 63, 569–611.
82. Lichtman A.H. SR141716A enhances spatial memory as assessed in a radial-arm maze task in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2000; 404, 175–179.
83. Kim D, Thayer SA. Cannabinoids inhibit the formation of new synapses between hippocampal neurons in culture. *J. Neurosci.* 2001; 21: 146.
84. DiMarzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Batkal S, Jarai Z, Feza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*, 2001; 410, 822–825.
85. Fride E, Ginzburg Y, Breuer A, Bisogno T, DiMarzo V, Mechaulam R. Critical role of the endogenous cannabinoid system in mouse pup suckling and growth. *Eur. J. Pharamcol.* 2001; 419, 207–214.
86. Kunos G. Endocannabinoids as cardiovascular modulators. *Chem. Phys. Lipids* 2000; 108, 159–168.
87. Paria BC, Dey SK. Ligand-receptor signaling with endocannabinoids in preimplantation embryo development and implantation. *Chem. Phys. Lipids* 2000; 108, 211–220.
88. Giuffrida A, Piomelli D. The endocannabinoid system: a physiological perspective on its role in psychomotor control. *Chem. Phys. Lipids*, 2000; 108, 151–158.
89. Klein TW, Newton C, Friedmann H. Cannabinoid receptors and immunity. *Immunol. Today*, 1998; 19, 373–381.
90. DiMarzo V, Breivogel CS, Tao Q, Bridgen DT, Razdan RK, Zimmer AM. Levels, metabolism, and pharmacological activity of anandamide in CB(1) cannabinoid receptor knockout mice: evidence for non-CB(1), non-CB(2) receptor-mediated actions of anandamide in mouse brain. *J Neurochem* 2000; 75: 2434–2444.
91. 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. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy* 2003, 307 (1):129-137.

92. Feigenbaum JJ, Bergmann F, Richmond SA. Nonpsychotropic cannabinoid acts as a functional NMDA receptor blocker. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 9584-9589.
93. Pertwee RG. The central neuropharmacology of psychotropic cannabinoids. *Pharmacol. Ther.* 1988; 36:189-97.
94. Feeney DM. Marijuana and epilepsy: Paradoxical anticonvulsant and convulsant effects. *Adv Biosci* 1978; 22-23 :643-657.
95. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Melvin MR, DeCosta BR, Rice KC. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the national academy of sciences* 1990; 87, 1932-1936.
96. Wilson RI, Nicoll RA. Endocannabinoid signaling in the brain, *Science*. 2002; 296: 678–682.
97. Görgülü A, Kırıs T, Eksitator aminoasitler ve eksitotoksiste, *Türk Nörosirürji Dergisi*, 2005, 15 (1), 33-38.
98. Carlini EA, Cunha JM. Hypnotic and antiepileptic effects of cannabidiol. *J. Clin. Pharmacol.* 1981; 21, 417-427.
99. Cunha JM, Carlini EA, Pereira AE, Ramos OL, Pimentel C, Gagliardi R, Sanvito WL, Lander N, Mechoulam R. Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology* 1980; 21, 17-19.
100. Karler R, Turkanis SA. The cannabinoids as potential antiepileptics. *J. Clin. Pharmacol.* 1981; 21, 437-444.
101. Kozan R, Ayyıldız M, Agar E. The effects of intracerebroventricular AM251, a CB1 receptor antagonist and ACEA, a CB1 receptor agonist on the penicillin induced epileptiform activity in rats. *Epilepsia* 2009.
102. Sullivan HC, Osorio I. Aggravation of penicillin-induced epilepsy in rats with locus ceruleus lesions. *Epilepsia* 1991;32: 591-6.
103. Walden J, Straub H, Speckmann EJ. Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. *Acta Neurologica Scandinavica* 1992; 150:41-6.
104. Ayyıldız M, Yıldırım M, Agar E, Baltacı AK. The effect of leptin on penicillin-induced epileptiform activity in the rats. *Brain Research Bulletin* 2006; 68 (5), 374-37.

105. Ayyildiz M, Coskun S, Yildirim M, Agar E. The Effects of Ascorbic Acid on penicillin -induced Epileptiform Activity in Rats. *Epilepsia*, 2007; 48(7):1388–1395
106. Bosnak M, Ayyildiz M, Yildirim M, Agar E. The role of nitric oxide in the anticonvulsant effects of pyridoxine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Research* 76 (1) : 49 – 59
107. 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
108. Edmonds HL, Stark GJ, Hollinger AM. The effects of diphenylhydantoin, phenobarbital, and diazepam on the penicillin-induced epileptogenic focus in the rat. *Experiment Neurol* 1974; 45:377–86.
109. Dingledine R, McBain CJ, McNamara JO. Excitatory amino acid receptors in epilepsy. *Trends Pharmacol. Sci.* 1990; 11, 334-338.
110. Schwarzkroin PA, Prince DA. Cellular and field potential properties of epileptogenic hippocampal slices. *Brain Res.* 1978; 147(1):117-30
111. DeBoer T, Stoof JC, vanDuijn H. The effects of convulsant and anticonvulsant drugs on the release of radiolabeled GABA, glutamate, noradrenaline, serotonin and acetylcholine from rat cortical slices. *Brain Res.* 1982; 253(1-2):153-60
112. Hökfelt T. Neuropeptides in perspective: the last ten years. *Neuron* 1991; 7: 867-879
113. Deshpande LS, Sombati S, Blair RE, Carter DS, Martin BR, DeLorenzo RJ. Cannabinoid CB1 receptor antagonists cause status epilepticus-like activity in the hippocampal neuronal culture model of acquired epilepsy. *Neuroscience Letters* 2007; 411, 11–16
114. Kozan R, Ayyıldız M, Agar E. The effects of intracerebroventricular AM251, a CB1 recepto antagonist and ACEA, a CB1 receptor agonist on the penicilin induced epileptiform activity in rats. *Epilepsia* 2009; yayında
115. Gholizadeh S, Shafaroodi H, Ghasemi M, Bahreman A, Sharifzadeh M, Dehpour AR. Ultra-low dose cannabinoid antagonist AM251 enhances cannabinoid anticonvulsant effects in the pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *Neuropharmacology*, 2007; 53:763-770

116. Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K. Protective effects of cannabinoid receptor ligands analogous to anandamide against cocaine toxicity. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi*. 2001; 36(6):596-608.
117. Corcoran ME, McCaughan JR, Wada JA. Acute antiepileptic effects of 9-tetrahydrocannabinol in rats with kindled seizures. *Exp Neurol*. 1973; 40:471-483
118. Wada JA, Sato M, Corcoran ME. Antiepileptic properties of 9-tetrahydrocannabinol. *Exp Neurol*. 1973; 39:157-165
119. Dwivedi C, Harbison RD. Anticonvulsant activities of delta -8 and delta- 9 tetrahydrocannabinol and uridine. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1975; 31: 452-458
120. Blair RE, Deshpande LS, Sombati S, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ. Activation of the CB1 receptor mediates the anticonvulsant properties of cannabinoids in the hippocampal neuronal culture models of acquired epilepsy and status epilepticus. *JPET*. 2006; 317: 1072-1078.
121. 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. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy* 2003, 307 (1):129-137
122. Shen M, Piser TM, Seybold VS, Thayer SA. Cannabinoid receptor antagonists inhibit glutamatergic synaptic transmission in rat hippocampal cultures. *J Neurosci*. 1996; 16:4322-4334.
123. Auclair N, Otani S, Soubrie P, Crepel F. Cannabinoids modulate synaptic strength and plasticity at glutamatergic synapses of rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neuropysiol*. 2000; 83: 3287-3293
124. Freiman I, Szabo B. Cannabinoids depress excitatory neurotransmission between the subthalamic nucleus and the globus pallidus. *Neuroscience*. 2005; 133: 305-313.
125. Huang CC, Lo SW, Hsu KS. Presynaptic mechanisms underlying cannabinoid inhibition of excitatory synaptic transmission in rat striatal neurons. *J Physiol*. 2001; 532: 731-748.
126. Morisset V, Urban L. Cannabinoid induced presynaptic inhibition of glutamatergic PSCs in substantia gelatinosa neurons of the rat spinal cord. *J Neurophysiol*. 2001; 86:40-48.

127. Robbe D, Alonso G, Duchamp F, Bockaert J, Manzoni OJ. Localisation and mechanisms of action of cannabinoid receptors at the glutamatergic synapses of the mouse nucleus accumbens. *J Neurosci.* 2001; 21: 109-116
128. Szabo B, Wallmichrath I, Mathonia P, Pfreundtner C. Cannabinoids inhibit excitatory neurotransmission in the substantia nigra pars reticulata. *Neuroscience.* 2000; 97: 89-97
129. Takahashi KA, Linden DJ. Cannabinoid receptor modulation of synapses received by cerebellar Purkinje cells. *J Neurophysiol.* 2000; 83: 1167-1180.
130. Lambert DM, Vandevoorde S, Diepeaale G, et al. Anticonvulsant activity of N-palmitoylethanolamide, a putative endocannabinoid, in mice. *Epilepsia* 2001, 42:321-327
131. 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. Ther.* 1999; 289: 1427–1435.
132. Weston S, Williamson E, Constanti A, Stephens GJ, Whalley BJ. Tetrahydrocannabivarin exhibits anticonvulsant effects in a piriform cortical brain slice model of epileptiform activity. *Proceedings of the British Pharmacological Society.* 2006; at <http://www.pA2online.org/abstract/abstract.jsp?abid%428533>.
133. 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.
134. Consroe P, Martin P, Einstein D. Anticonvulsant drug antagonism of delta-9 tetrahydrocannabinol -induced seizures in rabbits. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1977; 16: 1-13
135. Mechoulam R. *Cannabinoids as Therapeutic Agents.* Boca Raton, FL: CRC Press, 1986;
136. Luszczki JJ, Czuczwar P, Czuczwar AC, Czuczwar SJ. Arachydonyl-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
137. Moreira FA, Aguiar DC, Guimarães FS. Anxiolytic-like effect of cannabinoids injected into the rat dorsolateral periaqueductal gray. *Neuropharmacol.* 2007; 52 (3): 958-965

138. Lutz B. On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochem Pharmacol.* 2004; 68:1691–1698.
139. Karler R, Cely W, Turkanis SA. Anticonvulsant properties of delta 9 tetrahydrocannabinol and other cannabinoids. *Life Sci.* 1974; 15: 931–947.
140. Wilson RI, Nicoll RA. Endocannabinoid signaling in the brain, *Science.* 2002; 296:678–682
141. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. (2002). International Union of Pharmacology XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 54: 161–202.
142. Pertwee RG, Ross RA, Craib SJ, Thomas A. Cannabidiol antagonizes cannabinoid receptor agonists and noradrenaline in the mouse vas deferens. *Eur J Pharmacol.* 2002;456: 99–106.
143. Szabo B, Schlicker E. Effects of cannabinoids on neurotransmission. *Cannabinoids. Handbook of Experimental Pharmacology.* 2005; 168: 327–365.
144. Kleitzer AC. Neurotransmission: emerging roles of endocannabinoids. *Curr Biol.* 2005; 15: 549–551.
145. Vaughan CW, Christie MJ. Retrograde signalling by endocannabinoids. *Cannabinoids. Handbook of Experimental Pharmacology.* 2005; 168: 367–383.
146. Pertwee RG, Ross RA, Craib SJ, Thomas A. Cannabidiol antagonizes cannabinoid receptor agonists and noradrenaline in the mouse vas deferens. *Eur J Pharmacol.* 2002;456: 99–106.
147. Hoffman AF, Riegel AC, Lupica CR. Functional localization of cannabinoid receptors and endogenous cannabinoid production in distinct neuron populations of the hippocampus, *Eur. J. Neurosci.* 2003; 3: 524–534.
148. Kirby MT, Hampson RE, Deadwyler SA. Cannabinoid receptor activation in CA1 pyramidal cells in adult rat hippocampus, *Brain Res.* 2000; 863:120–131.
149. Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol* 1995; 48: 443–450.
150. Turkanis SA, Partlow LM, Karler R. Delta-9- tetrahydrocannabinol depresses inward sodium current in mouse neuroblastoma cells. *Neuropharmacology.* 1991;30(1):73-7

151. Shen M, Thayer SA. Cannabinoid receptor agonists protect cultured rat hippocampal neurons from excitotoxicity. *Mol. Pharmacol.* 1998; 54, 459–462.
152. Breivogel CS, Childers SR. The functional neuroanatomy of brain cannabinoid receptors. *Neurobiol Dis* 1998; 5: 417-431.