T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

PENİSİLİNLE OLUŞTURULAN EPİLEPTİFORM AKTİVİTE ÜZERİNE GHRELİNİN GÖSTERDİĞİ İNHİBİTÖR ETKİDE KANABİNOİD CB1 RESEPTÖRÜNÜN ROLÜ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gökhan ARSLAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Erdal AĞAR

SAMSUN
Ağustos - 2013

TEŞEKKÜR

Bana bilimi öğreten ve sevdiren, uzmanlık eğitimim süresince yaptığım çalışmalarda, tezimde ve her türlü konuda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Erdal AĞAR'a öncellikle teşekkürü bir borç bilirim. Engin tecrübelerinden ve bilgisinden her daim faydalandığım Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Cafer MARANGOZ'a, gönülden desteği ve teşvikiyle bugünlere gelmemde büyük katkısı olan, fikirlerine her zaman ihtiyaç duyduğum değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a, hoşgörüsünü, tecrübelerini ve muhabbetini hiç esirgemeyen ve fizyolojiyi sevmemde önemli katkıları bulunan saygıdeğer hocam Sayın Prof. Dr. Niyazi TAŞÇI'ya, güleryüzünü hiç eksik etmeyen ve ders anlatma becerimin gelişmesinde büyük katkısı olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Faruk BAĞIRICI'ya, laboratuvar çalışmalarıma her zaman destek veren ve bilimsel bakış açımın gelişmesinde büyük emeği olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ayhan BOZKURT'a, her türlü yardımları ve manevi destekleriyle yanımda olan çalışma arkadaşlarım Dr. Sabiha Kübra ALICI, Uz. Dr. Aliye Erguvan ARIK, Dr. Durmuş UÇAR, Yük. Lis. Öğr. Süleyman Emre KOCACAN, Dr. Fırat AYÇIK, doktora öğr. Hatice AYGÜN, Yük. Lis. Öğr. Elif ALTUNKAYNAK'a, anabilim dalı sekreterimiz Ayşe KÖSE'ye, personellerimiz Mehmet ÖZLAN ve Mehmet KANAR'a içtenlikle teşekkür ederim. Bugünlere gelebilmemin en büyük mimarları olan sevgili annem Cemile ARSLAN ve babam Musa ARSLAN'a da beni bu yolda hiç yalnız bırakmadıkları için gönülden teşekkür ederim. Ayrıca, elektrofizyolojik metodlarda her daim destekçim olan canım kardeşim Cumhur ARSLAN'a da teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

Teşekkür I
İçindekiler II
Simge ve kısaltmalar V
Tablo Listesi VII
Şekil Listesi X
ÖZET XV
Anahtar Kelimeler XVII
ABSTRACT XVIII
Key Words XX
1. GİRİŞ ve AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 7
2.1. Beyin Korteksi 7
2.1.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri 7
2.1.1.1. Yıldızsı Hücreler 7
2.1.1.2. İğsi (Fusiform) Hücreler 7
2.1.1.3. Martinotti Hücreleri 8
2.1.1.4. Cajal'ın Horizontal Hücreleri 8
2.1.1.5. Piramidal Hücreler 8
2.1.1.6. Sepet Hücreleri 8
2.1.2. Beyin Korteksinin Tabakaları 8
2.2. Nöbet ve Epilepsi 12
2.2.1. Nöbet 12
2.2.2. Epilepsi 12
2.2.2.1. Epilepside Etyolojik Faktörler 15
2.2.2.2. Epilepsinin Fizyopatolojisi 17
2.2.2.3. Epilepsi Tanısı 18
2.2.2.4. Epilepsi Tedavisi 19
2.2.3. EEG ve ECoG 19
2.2.3.1. Gama Dalgaları 20
2.2.3.2. Alfa Dalgaları 21
2.2.3.3. Beta Dalgaları 21
2.2.3.4. Teta Dalgaları 22
2.2.3.5. Delta Dalgaları 22
2.2.4. Deneysel Epilepsi Modelleri 22
2.2.4.1. Basit Parsiyel Epilepsinin Akut Modelleri 23
2.2.4.2. Basit Parsiyel Epilepsinin Kronik Modelleri 24
2.2.4.3. Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri 24
2.2.4.4. Petit Mal Epilepsi Modelleri 24
2.2.4.5. Grand Mal Epilepsi Modelleri 25
2.2.4.6. Status Epileptikus Modelleri 25
2.3. Ghrelin 26
2.3.1. Ghrelin Reseptörü 26
2.3.2. Ghrelinin Besin Alımı ve Enerji Metabolizması Üzerine Etkileri.. 28
2.3.3. Ghrelin ve Epilepsi 29
2.3.3.1. Ghrelin ve Epilepsi: Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar..... 29
2.3.3.2. Ghrelin ve Epilepsi: İnsanlarda Yapılan Çalışmalar 31

2.4. Kanabinoidler 33
2.4.1. Kanabinoid Reseptörleri 33
2.4.2. Fitokanabinoidler 36
2.4.3. Endokanabinoidler 36
2.4.4. Sentetik Kanabinoidler 37
2.4.5. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri 40
2.4.5.1. Kanabinoidlerin Akut Etkileri 40
2.4.5.2. Kanabinoidlerin Kronik Etkileri 40
2.4.5.3. Kanabinoidlerin Antikonvulsan Etkileri 42
3. GEREÇ ve YÖNTEM 44
3.1. Deney hayvanları 44
3.2. Elektrokortikogram Kayıtları 44
3.2.1. Uyanık Sıçanda ECoG Kayıtları 44
3.2.2. Anestezi Altındaki Sıçanda ECoG Kayıtları 45
3.3. İlaçlar ve Veriliş Yolları 46
3.4. Deney Grupları 48
3.5. Elektrofizyolojik Kayıtların Değerlendirilmesi 51
3.6. İstatistiksel Analiz 53
4. BULGULAR 54
4.1. Uyanık ve Anestezi Altındaki Sıçanlarda Penisilinin ve Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi 54
4.1.1. Penisilin İle Oluşturulan Epileptiform Aktivite (Uyanık Sıçan) 54
4.1.2. Penisilin İle Oluşturulan Epileptiform Aktivite (Anestezi Altındaki Sıçan) 55
4.1.3. CB_1 Reseptör Agonisti AM251'in (0.25 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Uyanık Sıçan) 58
4.1.4. CB_1 Reseptör Agonisti AM251'in (0.25 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan) 58
4.1.5. CB_1 Reseptör Agonisti ACEA'nın (7.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Uyanık Sıçan) 62
4.1.6. CB_1 Reseptör Agonisti ACEA'nın (7.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan) 62
4.1.7. AM251 (0.25) + ACEA (7.5) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan) 66
4.1.8. CB_1 Reseptör Agonisti AM251'in (0.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan) 69
4.1.9. CB_1 Reseptör Agonisti ACEA'nın (2.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan) 72
4.2. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi.. 75
4.3. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Ghrelin ve Kanabinoide Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi 78
4.3.1. AM251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 78
4.3.2. AM251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 82
4.3.3. Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 86

4.3.4. AM251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 89
4.3.5. AM251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 93
4.3.6. Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 97
4.3.7. AM251 (0.25 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 100
4.3.8. AM251 (0.5 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi..... 104
5. TARTIŞMA 108
5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite 108
5.1.1. Uyanık Sıçanlarda Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite.. 110
5.1.1. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite 113
5.2. Uyanık ve Anestezi Altındaki Sıçanlarda Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi 115
5.3. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi 120
5.4. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Ghrelin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi 122
6. SONUÇLAR 128
7. KAYNAKLAR 132

SİMGE ve KISALTMALAR

ACEA : Araşidonil-2-Kloroetilamid
ACTH : Adrenokortikotropik Hormon
AEA : Araşidonil Etanolamin
ALS : Amyotrofik Lateral Skleroz
AM251 : CB1 Reseptör Antagonisti
AMPA : α-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-4-İsoksazolProprionikAsid
AMPK : AMP-Aktif Protein Kinaz
ANOVA : Tek Yönlü Varyans Analizi
AgRP : Agouti İlişkili Protein
2-AG : 2-Araşidonil Gliserol
ARC : Arkuat Çekirdek
ATP : Adenozin Trifosfat
BAPTA : Hücre İçi Ca^{++} Şelatörü
BOS : Beyin Omurilik Sıvısı
BT : Bilgisayarlı Tomografi
Ca^{+2} : Kalsiyum
cAMP : Siklik AMP
CCK : Kolesistokinin
COX-2 : Siklooksijenaz-2
CT : Bilgisayarlı Tomografi
DMSO : Dimetil Sülfoksit
ECoG : Elektrokortikogram
EEG : Elektroensefalogram
FAAH : Yağ Asidi Amid Hidrolaz Enzimi
GABA : γ-Amino-Bütirik Asit
$GABA_A$: GABA-A Reseptörü
$GABA_B$: GABA-B Reseptörü
GHB : Gama-HidroksiBütirat
GH : Büyüme Hormonu
GHS-R1a : Tip 1a Büyüme Hormonu Sekrete Eden Reseptör
GHSH : Ghrelin Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon
GPCR : G-Proteiniyle Kenetli Reseptör
HDL : Yüksek Dansiteli Lipoprotein
HU210 : Kanabinoid Agonisti
ILAE : Uluslararası Epilepsi ile Savaş Derneği
IL-1β : İnterlökin 1 Beta
IP3 : İnozitol Trifosfat
IU : İnternal Ünite
i.s.v. : İntraserebroventriküler
i.p. : İntraperitoneal
i.m. : İntramüsküler
i.v. : İntravenöz
i.s.v : İntraserebroventriküler
i.k. : İntrakortikal
K^+ : Potasyum İyonu
K^+A : A-Tipi Potasyum Kanalı

L-NAME : NG-Nitro-L-arginine methyl ester
MES : Maksimal Elektroşok Nöbet Modeli
MR : Manyetik Rezonans
MRG : Manyetik Rezonans Görüntüleme
MS : Multipl Skleroz
Na^+ : Sodyum İyonu
NMDA : N-Metil-D-Aspartik Asit
NO : Nitrik Oksit
NPY : Nöropeptid Y
PDK : Paroksismal Depolarizasyon Kayması
PET : Pozitron Emisyon Tomografisi
PI3K : Fosfoinositid-3Kinaz
PKA : Protein Kinaz A
PKC : Protein Kinaz C
PLC : Fosfolipaz C
POMC : Proopiomelanokortin
PPAR : Peroksizom Prolifetör Aktive Edici Reseptör
PTZ : Pentilentetrazol
SEM : Standart Hata
SF : Serum Fizyolojik
SPECT : Tek Foton Emisyon Bilgisayarlı Tomografi
SR141716A : Rimonabant
THL : Tetrahidrolipstatin
TNFα : Tümör Nekroz Faktör Alfa
VIP : Vazoaktif İntestinal Polipeptid
Δ^9-THC : Δ9-Tetrahidrokannabinol

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo I. Epilepsi ve epileptik sendromların sınıflaması 15

Tablo II. Beyinden kaydedilen EEG dalgaları ve dalga frekansları 21

Tablo III. Kanabinoid sistemin tarihçesi 33

Tablo IV. Uyanık sıçanda, kontrol penisilin (300 IU), AM251 (0,25 µg) ve (ACEA 7,5) µg gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 57

Tablo V. Uyanık sıçanda, kontrol penisilin (300 IU), AM251 (0,25 µg) ve ACEA (7,5 µg) gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 57

Tablo VI. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol penisilin (500 IU), AM251 (0.25µg), ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ACEA gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 67

Tablo VII. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol penisilin (500 IU), AM251 (0.25µg), ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ACEA gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 68

Tablo VIII. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg) ve AM251 (0.5 µg) gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 70

Tablo IX. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg) ve AM251 (0.5 µg) gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 71

Tablo X. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (penisilin, 500 IU), ACEA (7.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 73

Tablo XI. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ACEA (7.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 74

Tablo XII. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1µg) ve ghrelin (0.5 µg) gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 76

Tablo XIII. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg) ve ghrelin (0.5 µg) gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 77

Tablo XIV. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 μg), ghrelin (1 μg) ve AM251 + ghrelin + gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 80

Tablo XV. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 μg), ghrelin (1 μg) ve AM251 + ghrelin gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 80

Tablo XVI. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM251 (0.5 μg), ghrelin (1 μg) ve AM251 + ghrelin gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 83

Tablo XVII. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM251 (0.5 μg), ghrelin (1 μg) ve AM251 + ghrelin gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 84

Tablo XVIII. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 μg), ACEA (2.5 μg) ve ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 87

Tablo XIX. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 μg), ACEA (2.5 μg) ve ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 87

Tablo XX. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 μg), ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 91

Tablo XXI. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 μg), ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 91

Tablo XXII. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 μg), ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 95

Tablo XXIII. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 μg), ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 95

Tablo XXIV. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), ghrelin (1 μg), ACEA (7.5 μg) ve ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 98

Tablo XXV. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), ghrelin (1 μg), ACEA (7.5 μg) ve ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 99

Tablo XXVI. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 102

Tablo XXVII. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 102

Tablo XXVIII. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri 106

Tablo XXIX. Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri 106

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. Beyin korteksinin tabakaları ve kortekste bulunan neokortikal nöronlar 10

Şekil 2. **A)** GHS-R1a reseptörünün aminoasit dizisi 27
B) Ghrelinin intraselüler Ca kanallarına üzerine etkisi 27

Şekil 3. Parvoselüler nöronlarda ghrelinin endokanabinoid salınımına etkisi 32

Şekil 4. CB_1 ve CB_2 reseptörlerinin yapısı 34

Şekil 5. CB_1 reseptörünün intraselüler sinyal yolağı 35

Şekil 6. En çok bilinen fitokanabinoidlerin yapıları 36

Şekil 7. En çok bilinen endokanabinoidlerin yapıları 37

Şekil 8. CB_1-selektif sentetik kanabinoid reseptör agonistlerinin yapısı 38

Şekil 9. CB_1 reseptörü ve bu reseptöre bağlanan kanabinoidler 39

Şekil 10. Sentetik kanabinoid reseptör antagonistlerinin yapısı 39

Şekil 11. Uyanık sıçanda gerçekleştirilen işlemler 45

Şekil 12. Anestezi altındaki sıçana uygulanan işlemler 46

Şekil 13. **A)** ECoG kayıtlarının eldesinde kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü 52
B) Kaydedilen epileptik spikeların frekans ve amplitüd değerlerinin hesaplanması 53

Şekil 14. Kontrol gruplarından alınan ECoG kayıtları 56

Şekil 15. Uyanık sıçandan elde edilen ECoG kayıtları 59

Şekil 16. Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 μg) ve ACEA (7.5 μg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 60

Şekil 17. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 μg) ve ACEA (7.5 μg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 60

Şekil 18. Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 μg) ve ACEA (7.5 μg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 61

Şekil 19. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 61

Şekil 20. Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının nöbet davranış skorlaması ve bu değerlerin yüzde değişimleri 63

Şekil 21. Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının iktal nöbet sayısı ve bu değerlerin yüzde değişimleri 63

Şekil 22. Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının iktal spike sayısı toplamı ve bu değerlerin yüzde değişimleri 64

Şekil 23. Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının interiktal spike sayısı toplamı ve bu değerlerin yüzde değişimleri 64

Şekil 24. Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının toplam spike sayısı ve bu değerlerin yüzde değişimleri 65

Şekil 25. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının toplam spike sayısı ve bu değerlerin yüzde değişimleri 65

Şekil 26. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.25 µg), C) Penisilin + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + AM251 + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 67

Şekil 27. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ACEA gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 68

Şekil 28. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ACEA (7.5 µg) ve AM251 + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 69

Şekil 29. A) Penisilin kontrol (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.25 µg) ve C) Penisilin + AM251 (0.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler 70

Şekil 30. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg) ve AM251 (0.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 71

Şekil 31. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25µg) ve AM251(0.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 72

Şekil 32. A) Penisilin kontrol (500 IU), B) Penisilin + ACEA (7.5 µg) ve C) Penisilin + ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 73

Şekil 33. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ACEA (7.5µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 74

Şekil 34. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ACEA (7.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 75

Şekil 35. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + ghrelin (1 µg) ve C) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 76

Şekil 36. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), Ghrelin (1 µg) ve Ghrelin (0.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 77

Şekil 37. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg) ve ghrelin (0.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 78

Şekil 38. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.25 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) ve D) Penisilin + AM251 + ghrelin gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 79

Şekil 39. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25µg), ghrelin (1 µg) ve AM251 (0.25 µg) + ghrelin (1µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 81

Şekil 40. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) ve AM251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 81

Şekil 41. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.5 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) ve D) Penisilin + AM251 + ghrelin gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 83

Şekil 42. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) ve AM251 (0.5 µg) + ghrelin (1 µg) gruplarının pike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 84

Şekil 43. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) ve AM251 + ghrelin gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 85

Şekil 44. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + ghrelin (0.5 µg), C) Penisilin + ACEA (2.5 µg) ve D) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 86

Şekil 45. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 µg), ACEA (2.5 µg) ve ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 88

Şekil 46. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 µg), ACEA (2.5 µg) ve (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 88

Şekil 47. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.25 µg), C) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve D) Penisilin + AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 90

Şekil 48. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM251 (0.25 µg) + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 92

Şekil 49. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM251 (0.25 µg) + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 92

Şekil 50. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.5 µg), C) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve D) Penisilin + AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 94

Şekil 51. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM251 (0.5 µg) + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 96

Şekil 52. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM251 (0.5 µg) + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 96

Şekil 53. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + ghrelin (1 µg), C) Penisilin + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 98

Şekil 54. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg), ACEA (7.5 µg) ve ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 99

Şekil 55. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg), ACEA (7.5 µg) ve ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 100

Şekil 56. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.25 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 101

Şekil 57. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 103

Şekil 58. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 103

Şekil 59. A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM251 (0.5 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + AM251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtları 105

Şekil 60. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 (0.5 µg) + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri 107

Şekil 61. Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM251 (0.5 µg) + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri 107

Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite Üzerine Ghrelinin Gösterdiği İnhibitör Etkide Kanabinoid CB1 Reseptörünün Rolü

ÖZET

Epilepsi, tekrarlayan nöbetlerle karakterize toplumda sık görülen nörolojik hastalıklardan birisidir. Birçok nöropeptid beynin fizyolojik ve patofizyolojik işlevinde rol almaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, açlık hormonu olarak da bilinen ghrelinin antikonvulsan etkiye sahip olduğunu göstermekte ve bu peptidin epilepsi hastalığının tedavisinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Kanabinoidler ise, bağımlılık yapıcı etkileri başta olmak üzere merkezi sinir sisteminde birçok fonksiyona sahip kimyasal bileşiklerdir. Endojen ve eksojen kanabinoidlerin epileptik nöbetlerin düzenlenmesinde rol oynadığı uzun zamandır bilinmektedir. Ghrelinin, besin alımı ve metabolizma üzerine olan etkilerinde endokanabinoid sistemin rol oynadığı gösterilmiştir. Ancak, ghrelin ve kanabinoid sistem etkileşiminin, epileptiform aktivitedeki rolleri henüz bilinmemektedir. Sunulan çalışmanın amacı, sıçanlarda penisilin ile indüklenen epileptiform aktivite üzerine, birlikte uygulanan ghrelin ile kanabinoid reseptör agonist ve antagonistlerinin, nasıl etki gösterdiklerini araştırmaktır.

Yapılan deneylerde, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 168 adet Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Uyanık sıçanlarda epileptiform aktivite oluşturmak için 300 IU penisilin-G i.s.v. (intraserebroventriküler) kanül aracığıyla lateral ventriküle enjekte edildi. Kanabinoid reseptör antagonisti AM251 (0.25 μg) ve kanabinoid reseptör agonisti ACEA (7.5 μg) i.s.v. olarak uygulandı. Hayvan davranışları, iktal nöbet sayısı, iktal ve interiktal dönemlerdeki spike frekansları ayrı ayrı hesaplanarak penisilin (kontrol) grubuyla karşılaştırıldı. Uyanık sıçan deneylerinde, hayvanların mortalitesinin çok yüksek olması (% 34), çalışmanın gidişatını önemli ölçüde etkiledi. Bu yüzden, anestezi altındaki sıçanlara intrakortikal (i.k.) olarak 500 IU penisilin-G enjeksiyondan sonra AM251 ve ACEA uyanık sıçanlara kullanılan dozlarda uygulandı. Uyanık ve anestezi altındaki sıçanlardan elde edilen veriler arasında büyük bir korelasyon tespit edildi ve ghrelin ile kanabinoid sistem arasındaki etkileşim deneylerinin anestezi altındaki sıçanlarda yapılmasına karar verildi.

Ghrelin, 0.5 µg dozunda % spike frekansında 180 dk boyunca anlamlı bir düşüş oluşturmazken, 1 µg dozunda 60. dakikadan itibaren % spike frekansını anlamlı derecede düşürdü. Benzer şekilde, ACEA 2.5 µg dozunda % spike frekansında 180 dk boyunca anlamlı bir düşüş oluşturmazken, 7.5 µg dozunda 60. dakikadan itibaren % spike frekansını anlamlı derecede azalttı. Buna karşın, kanabinoid reseptör antagonisti AM251, 0.25 µg ve 0.5 µg dozlarında sırasıyla 30. ve 40. dakikadan itibaren % spike frekansını anlamlı bir şekilde artırdı. Etkisiz doz ghrelin (0.5 µg) ile etkisiz doz ACEA (2.5 µg) birlikte uygulandığında, 80. dakikadan itibaren % spike frekansını anlamlı olarak azalttı. Etkin doz ghrelin (1 µg) ile etkin doz ACEA (7.5 µg) birlikte uygulandığında, ne tek başına uygulanan ghreline göre, ne de tek başına uygulanan ACEA'ya göre anlamlı bir fark ortaya çıkmadı. Ghrelin (1 µg) ile AM251'in 0.25 ya da 0.5 µg dozları birlikte uygulandığında ise ghrelin, AM251'in her iki dozunun da prokonvulsan etkisini baskıladı.

Sonuç olarak, elde edilen bulgular epileptiform aktivite üzerine ghrelin ile kanabinoid etkileşimini gösteren ilk verilerdir. Bu bulgular, ghrelin hormonunun antikonvulsan etkisinin endokanabinoid sistem ile bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. Ancak, ghrelin ile endokanabinoid sistem arasındaki bu ilişkinin ayrıntılı olarak ortaya çıkartılabilmesi için ileri düzey moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

ANAHTAR KELİMELER

1. Epilepsi
2. Penisilin
3. Ghrelin
4. AM251
5. ACEA
6. Endokanabinoidler

The role of the cannabinoid CB1 receptors in the inhibitor effect of ghrelin on penicilin-induced epileptiform activity

ABSTRACT

Epilepsy is a common neurological disease characterized by recurrent seizures. Many neuropeptides have role in the physiological and pathophysiological functions of the brain. Many neuropeptides have been tested in epilepsy researches. Ghrelin is known as a hunger hormone and recent studies show that ghrelin has anticonvulsant effects, suggesting a role in thetreatment of epilepsy. Cannabinoids are chemical compounds that have many functions in the central nervous system, especially addictive effects. Endogenous and exogenous cannabinoids have been known to play a role in regulating seizures. It has been shown that endocannabinoid system plays a role in the effects of ghrelin on food intake and metabolism. However, the interaction of ghrelin and cannabinoid system on epileptiform activity is not known yet. The aim of present study is to investigate the effects of cannabinoid receptor agonist and antagonist on the inhibitory effect of ghrelin on penicillin-induced epileptiform activity in rats.

In experiments, 168 male Wistar albino rats were used weighing 200-250 g. Epileptiform activity was induced by injection of 300 IU penicilin-G into the lateral ventricle through an intracerebroventricular (i.c.v.) cannula in awake rats. Cannabinoid receptor antogonist, AM251 (0.25 μg) and agonist, ACEA (7.5 μg) were administered intracerebroventricularly Animal behavior, the number of ictal seizures, spike frequency of ictal and interictal periods were calculated separately and compared with the penicillin (control) group. The high mortality rate (%34) in the awake rat experiments significantly affected the progress of the study. Therefore, AM251 and ACEA were administered at the same doses with awake rats following the intracortical (i.c.) injection of 500 IU penicillin-G in anesthetized rats. A great correlation was seen between the data obtained from anesthetized and awake rats, and the experiments were performed to evaluate the interaction of ghrelin and cannabinoid systems in anesthetized rats.

Ghrelin, at a dose of 0.5 μg did not cause a significant decrease during the experiments while ghrelin, at a dose of 1 μg, significantly decreased the mean of spike frequency within 60 minutes. Similarly, ACEA at a dose of 2.5 μg, did not changed the

frequency of penicillin-induced epileptiform activity while ACEA, at a dose of 7.5 µg significantly decreased the mean of spike frequency within 60 minutes. Whereas, cannabinoid receptor antagonist, AM251 at the doses of 0.25 and 0.5 µg, significantly increased the mean of spike frequency in the 30^{th} and 40^{th} minutes, respectively. The administration of non-effective doses of ghrelin (0.5 µg) and ACEA (2.5 µg) significantly decreased the mean of spike frequency in the 80^{th} minutes. The co-administration of the effective doses of ghrelin (1 µg) and ACEA (7.5 µg) did not alter the mean of spike frequency compared to either ghrelin or ACEA applied alone. Ghrelin (1 µg) suppressed the proconvulsant effect of each dose of AM251 (0.25 and 0.5 µg).

As a result, these are the first data showing the interaction of ghrelin and cannabinoids on the epileptiform activity. These findings suggest that the anticonvulsant effect of ghrelin associated with the endocannabinoid system. However, more molecular studies are needed to elucidate such interaction between ghrelin and the endocannabinoid system in epilepsy.

KEY WORDS

1. Epilepsy
2. Penicillin
3. Ghrelin
4. AM251
5. ACEA
6. Endocannabinoids

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi, mental ve fiziksel fonksiyon bozukluğuna yol açabilen, sinir sistemini etkileyen tekrarlayan nöbetlerle karakterize en yaygın nörolojik hastalıklardan birisidir (Dichter, 1994). Beyinde bulunan sinir hücrelerinin olağan dışı bir elekrokimyasal boşalım yapması sonucunda meydana gelen bu nörolojik bozukluk, beyinde normalde var olan elektriğin, aşırı ve kontrolsüz yayılımı sonucu oluşmaktadır. Her sinir hücresi ya kendiliğinden belli bir frekansta ya da diğer hücrelerden aldığı uyarıların cebirsel toplamına göre elektriksel boşalımlar oluşturur. Fakat bazı durumlarda bu düzen bozulur ve büyük bir nöron topluluğu eşzamanlı (senkron) ve anormal biçimde deşarj oluşturmaya başlar. Bu anormal deşarjla birlikte epileptik nöbetler ortaya çıkmaya başlar. Anormal hücre deşarjlarının nedenleri arasında ise; travma, oksijen yetersizliği, tümörler, enfeksiyonlar ve metabolik bozukluklar sayılabilir. Ancak, epilepsi nöbetlerinin hemen hemen yarısında herhangi bir neden tespit edilememiştir (Martin, 1991). Günümüzdeki epilepsi tedavi protokolleri daha çok bulguları gidermeye yöneliktir ve henüz kompleks parsiyel epilepsili hastalarının yaklaşık olarak yarısında epileptik nöbetler kontrol edilememektedir (Shin ve McNamara, 1994).

Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılır. İnsan beyninde hücre içi kayıtlar, mikrokimyasal analizler ve anatomik iz sürme işlemlerini yapmak tıbbi etik açısından mümkün değildir. Bu yüzden, epilepsi hastalığının mekanizmasını aydınlatmak ve tedavi yöntemleri geliştirmek amacıyla çeşitli hayvan epilepsi modelleri geliştirilmiştir (Marangoz, 1997). Deneysel epilepsi modelleri oldukça değişik yöntemlerin kullanıldığı bir araştırma alanıdır.

Penisilin kaynaklı deneysel epilepsi, epilepsi modelleri arasında oldukça yaygın kullanılanlardan birisidir. Kortekse enjeksiyonla, topikal (yüzeyden) olarak veya sistemik yoldan uygulanan penisilin, GABA sistemi ile etkileşerek özellikle beyin kabuğundaki sinir hücrelerinde aşırı aktivasyona ve sonuç olarak da epilepside görülenin benzeri bir aktivitenin ortaya çıkmasını sağlar. Bu tip bir deneysel model insanda gözlenen klinik epilepsi vakalarıyla aynı olmamakla birlikte, temel mekanizma açısından benzerlikler taşımaktadır (Walden ve ark., 1992)

Epilepsi hastalığına yönelik yapılan çalışmalarda birçok nöropeptid denenmiştir. Nöropeptid Y, somatostatin, galanin ve ghrelin bu hastalığın patogenezini ortaya koymak için kullanılmış olan nöropeptidlerden bazılarıdır. Ghrelin, epilepsi çalışmaları için umut vaat eden bir nöropeptid olarak görülmektedir (Hokfelt et al., 2003). Hayvanlarda ve insanlarda yapılan araştırmalarda ghrelinin epilepsi hastalığında aktif rol oynayan bir nöropeptid olduğunu düşündürmektedir.

Ghrelin, temel olarak mide fundusundan salınan 28 aminoasitlik bir peptid hormondur. 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilen bu hormon memeli ve memesiz hayvanların birçok dokusunda; santral sinir sistemi, paratiroid bezler, ince bağırsak, plesanta, pankreasın alfa hücreleri, akciğer ve immün hücrelerde sentezlenir (Kojima ve ark., 1999; Korbonits ve ark., 2004; Kojima ve Kangawa, 2005). Hayvanlar aleminin dışında bitkiler aleminde de insan anti ghrelini ile immüno reaksiyona giren ghrelin benzeri bir maddenin bulunduğu da rapor edilmiştir (Aydin ve ark., 2006). Ek olarak grelinin aktif formu, gram negatif bakterilerde bulunan n-oktanil-homoserin lakton ile yapısal homoloji göstermektedir (Tizzano ve Sbarbati, 2006).

Ghrelinin, genellikle leptinin etkilerine zıt metabolik etkilerinin olduğu, iştahı açarak besin alımını artırdığı, ancak bunu gerçekleştirirken karbonhidrat kullanımını artırıp, yağ kullanımını azalttığı bilinmektedir. Karbonhidrat ve yağdan zengin bir yemekten sonra ghrelin düzeyinde azalma olurken, protein alımı ile arttığı belirtilmektedir. Ghrelin bu şekilde enerji kazanılması ve sürdürülmesini sağlar (Vallejo ve ark., 2004). Şişman insanlarda aşırı beslenmeye cevaben ghrelin seviyesi azalır. Obez hastalardaki mide bağlama operasyonları sonrasında dolaşımdaki ghrelin seviyelerinde değişme olduğu ve ardından iştahın azaldığı gösterilmiştir (Gale ve ark., 2003). Erken hipotalamus gelişmesinde bir defekt sonucu oluştuğu düşünülen Prader Willi sendromunda yüksek ghrelin seviyeleri ile birlikte pediyatrik obezite görülmektedir. Bu çok nadir görülen sendrom, hipotoni, çocukluk çağında hiperfaji, obezite, hipogonadizm, zeka geriliği ve kısa boyla karakterizedir (Gültekin ve ark., 2004).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, epilepsi hastalığı bulunan insanların kan ghrelin düzeylerinde değişimler saptanmıştır. Berilgen ve arkadaşları, epilepsi hastası çocuklarda yaptığı çalışmada ortalama serum ghrelin düzeylerinin kontrol grubundan belirgin olarak yüksek olduğunu ve ghrelinin nöbet aktivitesinin oluşmasında bir etken

olabileceğini belirtilmiştir. Yapılan çalışmada, parsiyel ve jeneralize nöbet geçiren çocuklarda, parsiyel epilepsi hastası olan çocukların serum ghrelin seviyesinin jeneralize gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. (Berilgen ve ark., 2006). 2011 yılında yapılan başka bir çalışmada ise valproik asit tedavisi gören çocuklarda serum ghrelin seviyesinde anlamlı derecede bir artış olduğu ancak oxkarbazepin tedavisi gören hastalarda serum ghrelin seviyesinde herhangi bir değişim olmadığı tespit edilmiştir (Cansu ve ark., 2011a, 2011b). Sıçanlarda, pentilentetrazol ile oluşturulan nöbetlerde ghrelinin antiepileptik bir ajan olduğu söylenmektedir. Ghrelin, ilk myoklonik jerkin süresini uzatmakta, jeneralize tonik-klonik nöbetlerin derecesini düşürmektedir (Obay ve ark., 2007). Sıçanlarda penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteyi ghrelinin inhibe ettiği bulunmuştur (Aslan ve ark., 2009). Ancak ghrelinin bu etkiyi hangi moleküler mekanizma üzerinden gerçekleştirdiği konusunda farklı hipotezler olmasına rağmen kesin olarak bilinmemektedir.

Esrar bitkisinin içindeki en etkin psikoaktif madde olan Δ^9-tetrahidrokannabinol (Δ^9-THC) ve türevleri (kannabinoidler), sadece madde bağımlılığı açısından değil, aynı zamanda potansiyel terapötik kullanımı açısından da son yıllarda araştırmacılar için büyük önem arz etmektedir (Alıcı ve Uzbay, 2006). Δ^9-THC'nin ve endojen kanabinoidlerin keşfi, kanabinoid reseptörlerinin tanımlanması ve klonlanmasıyla son yıllarda kanabinoidlerin etki mekanizmalarına dair bilgilerimiz artmıştır (Herkenham ve ark., 1990). Bu çalışmalarla birlikte kendine ait endojen sinyal sistemi bulunan endokanabinoid sistemin temel özellikleri ortaya çıkmaya başlamıştır.

Bugüne kadar, CB_1 ve CB_2 olmak üzere iki adet kanabinoid reseptör geni klonlanmıştır (Wallace ve ark., 2003). CB_1 reseptörü merkezi sinir sisteminde baskın olan kanabinoid reseptörü olması nedeniyle bazı kaynaklarda "beyin kanabinoid reseptörü" olarak da adlandırılmaktadır. CB_2 reseptörleri ise çoğunlukla periferde bulunmakla birlikte bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri bilinmektedir. Bu zamana kadar yapılan çalışmalar, kanabinoidlerin davranışsal ve nöronal etkilerinin hemen hepsinin altında CB_1 reseptörünün rol oynadığını göstermektedir (Herkenham ve ark., 1990). CB_1 reseptörünün beynin hangi bölümlerinde var olduğu insan ve hayvan deneyleriyle açıkça ortaya konulmaktadır (Mailleux ve Vanderhaeghen,1992; Glass ve ark., 1997). Radyoaktif kanabinoid agonistleri kullanılarak yapılan çalışmalarda bu bağlanma alanlarının homojen dağılmadığı tespit edilmiştir (Herkenham ve ark., 1990,

Mailleux ve Vanderhaeghen,1992). Birçok beyin bölgesinde, kanabinoid reseptör yoğunluğu kortikal benzodiazepin, striatal dopamin ve hatta beyin glutamat reseptörleri kadar yoğun bir şekilde görülmektedir (Herkenham ve ark., 1990). Ancak, CB_1 reseptörlerinin en fazla bazal gangliyonlarda (substantia nigra, globus pallidus, enteropedünküler nükleus ve lateral kaudat putamen) ve serebellumun moleküler tabakasında bulunduğu kanıtlanmıştır. Bazal ganglionlarda yoğun bir şekilde bulunan kanabinoid reseptörlerinin varlığı, kemirgenlerde oluşturulan spontan motor aktivite deneyleri ve akut intoksikasyon esnasında görülen ataksi çalışmaları ile de kanıtlanmıştır (Compton ve ark.,1991; Martin ve ark., 1991, 1998; Pertwee, 1993). Yapılan çalışmalarda ilginç olarak, insan serebellumundaki kanabinoid reseptör yoğunluğunun sıçanlardan daha düşük olduğu gösterilmiştir (Herkenham ve ark., 1991). CB_1 reseptörleri, hipokampüsün piramidal hücrelerinin yoğun olduğu CA bölgesinde, dentat girusta ve korteksin 1. ve 4. bölgesinde de yoğun bir biçimde bulunmaktadır. Bu bölgelerdeki CB_1 reseptörlerinin varlığı kanabinoidlerin algı ve hafızaya etkileri gibi farmakolojik özelliklerini açıklamaktadır. Ayrıca, hipokampüste kanabinoid reseptörlerinin bulunması, kanabinoid sistemin antikonvulsan etkilerini de açıklamaktadır (Kuster ve ark., 1993). CB_2 reseptörleri, ağırlıklı olarak dalağın marjinal zonunda, tonsillerde, bağışıklık hücrelerinde, özellikle de makrofajlarda, B hücrelerinde, doğal öldürücü (natural killer) hücrelerde, monositlerde, T-lenfositlerde, polimorfonükleer nötrofillerde ve astrositlerde bulunmaktadırlar (Ameri, 1999). Apoptozun uyarılması, profilerasyonun ve sitokin ile kemokin üretiminin baskılanması yoluyla immünsupresyona yol açtığı düşünülmektedir (Rieder ve ark., 2010). CB_2 reseptör agonistleri, CB_1 reseptörlerinin oluşturduğu psikoaktif etkiyi ortaya çıkarmadan inflamasyon ağrısını düşürebilme olasılıkları nedeniyle, bu reseptörlerle ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Kannabinoid reseptör agonistlerinin meme kanseri metastazını ve tümor büyümesini azalttığı söylenmektedir (Qamri ve ark., 2009). Ayrıca, insan PC-3 prostat kanseri hücrelerinin büyümesini durdurduğu öne sürülmüştür (Olea-Herrero ve ark., 2009). Son yıllarda CB_2 reseptörlerinin beyin sapında, kortekste ya da serebellumda da yer aldığı ve kusmanın kontrolünde rolü olabileceği de bildirilmiştir (Van Sickle ve ark., 2005).

Kanabinoidlerin antikonvulsan etkileriyle ilgili yapılan çalışmaların sıklığı gün geçtikçe artmaktadır (Gordon ve Devinsky, 2001). *İn vitro* ve *in vivo* yapılan birçok deneysel epilepsi çalışmasında bol miktarda kanabinoid analoğu test edilmiştir. Bu

çalışmalarda beynin içindeki endokanabinoid sistemin nöbetlerin düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2003; Blair ve ark., 2006; Deshpande ve ark., 2007). Wallace ve ark. (2001), maksimal elektroşok epilepsi modelini kullanarak yaptıkları çalışmada, Δ^9-THC'nin ve kanabimimetik bileşiklerin (WIN55,212-2) antikonvulsan aktivite gösterdiklerini kanıtlamışlardır. Bu antikonvulsan etkinin kanabinoid CB_1 reseptöründen kaynaklandığını öne sürülmektedir Yine yapılan diğer çalışmalarda WIN 55,212-2 bileşiğinin status epilepticus modelinde, deneysel pilokarpin modelinde ve nöronal kültür ile oluşturulan epilepsi modelinde CB_1 reseptörü aktivasyonu aracılığıyla, spontan tekrarlayan epileptiform deşarjları bütünüyle baskıladığı gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2003; Blair ve ark., 2006). Bunun yanında, Nakatsuka ve arkadaşları CB_1 reseptör antagonisti AM-251 verildiğinde, CB_1 reseptör agonisti WIN 55,212-2'in etkisinin ortadan kalktığını, spike frekans ve amplitüdünde herhangi bir baskılanma olmadığını kanıtlamışlardır (Nakatsuka ve ark., 2003). Deshpande ve arkadaşları ise hipokampal nöron kültürüyle oluşturulan epilepsi modelinde, epileptik nöronlara uygulanan AM-251'in, CB_1 reseptörlerini bloklayarak status epileptikus tarzı aktivite ortaya çıkardığını ve bu aktivitenin yüksek doz CB_1 reseptör agonistleriyle (WIN 55,212-2) geri döndürülebilir olduğunu ortaya koymuşlardır (Deshpande ve ark., 2007). Maksimal elektroşok nöbet modeli kullanılarak yapılan başka bir deneyde ise sistemik enjekte edilen CB_1 reseptör agonisti araşidonil-2-kloroetilamid (ACEA) 5 ve 7,5 mg/kg dozlarında nöbet eşiğini anlamlı derecede yükseltmiş ancak 1,25 ve 2,5 mg/kg dozlarında anlamlı bir fark ortaya çıkaramamıştır (Luszczki ve ark., 2006). Bunun yanında, sistemik verilen ACEA 5 mg/kg dozunda kokainle indüklenen konvulsif nöbetleri azaltmaktadır (Hayase ve ark., 2001). Kozan ve arkadaşları, penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinde, intraserebroventriküler (i.s.v.) enjekte edilen ACEA'nın 7,5 μg dozunda spike frekansını anlamlı derecede azalttığını, yine i.s.v. enjekte edilen AM251'in 0,25 ve 0,5 μg dozlarında spike frekansını anlamlı ölçüde arttırdığını bulmuşlardır (Kozan ve ark., 2009).

Ghrelin ve kanabinoidlerin etkileşimi ile ilgili yapılan sınırlı sayıda çalışma vardır. Özellikle besin alımı ve metabolizma deneylerinde ghrelin ve kanabinoidlerin aynı yolağı kullandıklarına dair kanıtlara rastlanmaktadır. Hem ghrelin hem de kanabinoid reseptör agonistlerinin, hipotalamik AMP-aktif protein kinaz (AMPK) üzerinden besin alımını uyardıkları düşünülmektedir. AMPK, besin alımı ve

metabolizmanın düzenlenmesinde kilit role sahiptir. Ghrelin, hipotalamusta endokanabinoid miktarını arttırmakta ve besin alımını tetiklemektedir. Ancak bu etkinin rimonabant ile bloklandığı söylenmektedir. Genetik olarak CB_1 reseptörü olmayan hayvanlarda ise ghrelinin etkisinin ortaya çıkmaması, ghrelinin endokanabinoidler ve kanabinoid reseptör yolağını kullandığını düşündürmektedir (Kola ve ark., 2008).

Literatürde ghrelinin ve kanabinoidlerin epileptiform aktivite üzerine etkileri ayrı ayrı gösterilmiştir. Bu maddelerin hiç biri tek başına epileptik aktiviteyi tümüyle baskılamamıştır ve kısmi bir azalma meydana getirmiştir. Ayrıca bu etkilerin moleküler mekanizması halen araştırma konusudur. Antikonvulsan etki gösteren ghrelin ve kanabinoid agonistlerinin birlikte kullanıldığında nasıl bir etki gösterdiği de şimdiye kadar araştırılmamıştır. Bu amaçla, sunulan tez ile penisilin modeli deneysel epilepside, etkin dozu bilinen ghrelin ile CB_1 reseptör agonisti ACEA ve antagonisti AM-251 arasında nasıl bir ilişki olduğunun bulunması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Beyin Korteksi

Beyin korteksi, beyni en dış kısmından saran birkaç milimetre kalınlığında, genellikle 3-6 hücre tabakası içeren özelleşmiş bir yapıdır. İnsan beyin korteksi, evrende bilinen en karmaşık yapılardan biridir. Beyin korteksi, duyuların algılanması ve değerlendirilmesinde, bellek oluşumunda, hareketlerin planlanması ve eşzamanlı yürütülmesinde, değişik duyusal girdiler arasında ilişkilerin kurularak kararların verilmesinde ve iç dengenin korunmasında en üst kontrol noktası olarak işlev görmektedir (Purves ve ark., 2001).

2.1.1. Beyin Korteksindeki Hücre Tipleri

Beyin korteksi, hücre gövdelerinin şekilsel özelliklerine, dendritlerin uzunluk ve dağılımları ile akson dallanma ve sonlanma bölgelerine göre birçok kez sınıflandırılmıştır (Colonnier, 1968; Barr ve Kiernan, 1988). En çok kabul gören sınıflandırmaya göre beyin korteksinde; yıldızsı (granüler) hücreler, iğsi (fusiform) hücreler, Martinotti hücreleri, Cajal'in horizontal hücreleri ve piramidal hücreler bulunmaktadır (Gray's anatomy, 2005).

2.1.1.1. Yıldızsı Hücreler

Küçük gövdeli çok kutuplu (multipolar) hücrelerdir. Dendritler hücreden ayrıldıktan hemen sonra dallanma yaparlar. Dendritler, yaklaşık olarak 3-5 μm kalınlığındadır. Dendritik dallanmalar, 200-400 μm çaplı bir dağılım gösterirler. Hücrenin aksonu çoğunlukla büyük bir dendritten çıkar ve komşu hücre gövdeleri ile birlikte yüzeysel dendrit tabakalarında sonlanır. Yıldızsı hücrelerin az bir kısmı da beyin kabuğu dışındaki bölgelere uzantılar gönderirler (Şekil 1). Bu hücrelerin bazıları eksitatör, bazıları ise inhibitör etki gösterir. Eksitatör olanların aksonları genellikle piramidal hücrelerin tepe dendritlerine paralel ve birçok sinaps yaparak ilerlerken korteks yüzeyine dik bir seyir izlerler. Eksitatör yıldız hücreleri transmitter olarak daha çok nöropeptidleri (CCK, VIP) kullanırken, inhibitör yıldız hücreleri ise GABA salgılarlar (Barr ve Kiernan, 1988).

2.1.1.2. İğsi (Fusiform) Hücreler

Hücre gövdeleri iğ şeklinde olan bu hücrelerin iki sivri ucundan birer dendrit çıkar ve bunlar dallanırlar. Aksonlarının bir kısmı yüzeysel tabakalarda sonlanırlar. Geri

kalan büyük çoğunluğu ise geriye doğru dönen (recurrent) dallar oluşturduktan sonra beyin korteksinin dışına çıkarlar (Şekil 1), (Barr ve Kiernan, 1988).

2.1.1.3. Martinotti Hücreleri

Bu hücreler, kısa dendritlere sahip küçük multipolar nöronlardır. En önemli özellikleri aksonlarının doğrudan beyin korteksi yüzeyine doğru yönelmiş olmasıdır (Şekil 1), (Barr ve Kiernan, 1988).

2.1.1.4. Cajal'ın Horizontal hücreleri

1981 yılında tavşan marjinal zonunda tanımlanan bu bipolar hücre beyin kabuğunun en dış ve yüzeysel tabakasında bulunur ve bu hücrelerin aksonları beyin kabuğu yüzeyine paralel olarak seyreder (Şekil 1), (Barr ve Kiernan, 1988).

2.1.1.5. Piramidal Hücreler

Piramidal nöronlar prefrontal korteksin ve kortikospinal yolun eksitasyondan sorumlu ana hücreleridir. Serebral korteks dışında hipokampus ve amigdalada da bulunurlar (Şekil 1), (Barr ve Kiernan, 1988).

2.1.1.6. Sepet Hücreleri

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

2.1.2. Beyin Korteksinin Tabakaları

Memelilerde beyin korteksi "yeni korteks" anlamına gelen "neocortex" olarak adlandırılmaktadır. Archicortex olarak bilinen "eski korteks" ise memeli beyninde hipokampus bölgesine verilen isimdir (Andrew, 1991). Memeli neokorteksinde 6 tabaka vardır (Şekil 1). Beyin bölgeleri arasında bazı farklar bulunsa da genelde bu altı tabakalı yapı tüm beyin korteksi boyunca korunmaktadır. Bazı araştırmacılar bu tabakaların bazılarını alt tabakalara ayırmaktadırlar. Beyin korteksinin kalınlığı değişik bölgelerde 1,3 ile 4,5 mm arasında değişebilmektedir (Barr ve Kiernan, 1988; Schmidt, 1989).

Beyin korteksi tabakaları, pia materden aşağıya doğru şu şekilde sıralanır:

I. Moleküler tabaka: Pia mater'in hemen altından başlayan bu tabakanın ortalama kalınlığı 250 μm kadardır. Hücreleri küçüktür ve diğer tabakalara göre daha gevşek bir düzenlenme gösterir. II, III ve IV. tabakalardaki piramidal hücrelerin dikey dendritleri ve bazı akson uçları bu tabakada sonlanır. Cajal'in horizontal hücreleri ve

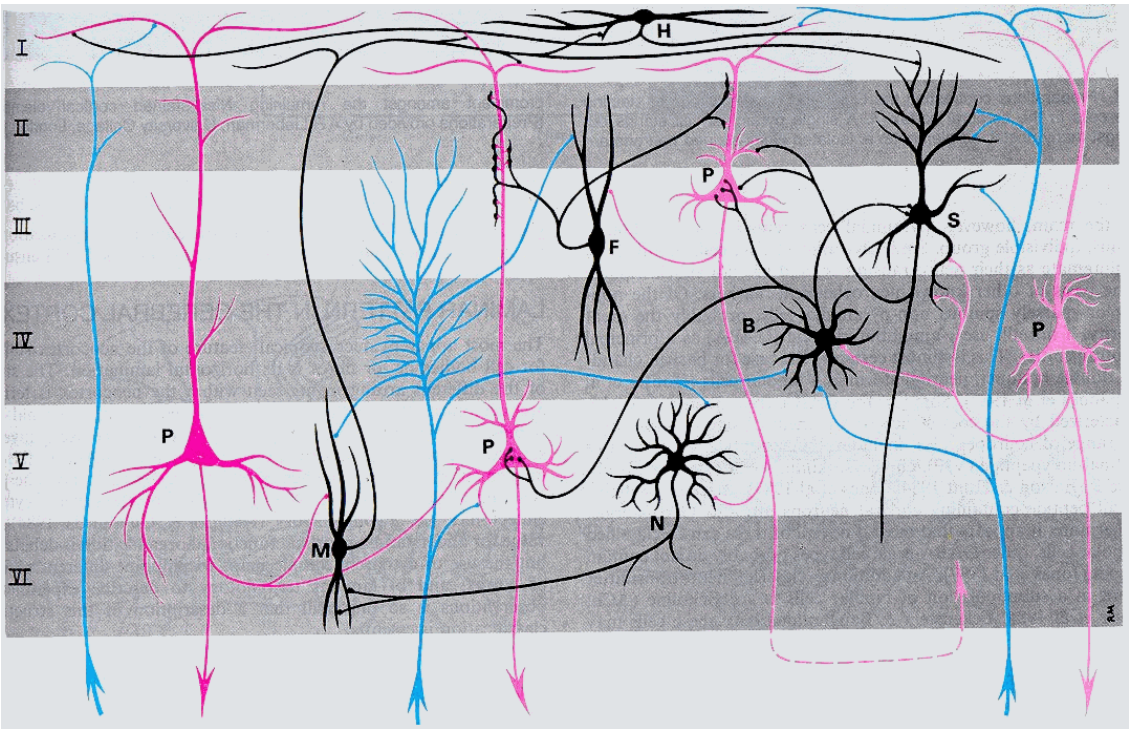
dağınık yıldız hücreleri de nadiren bu tabakada bulunabilir. Bu tabaka esas olarak korteksin sinaptik bir alanıdır (Marangoz, 1978; Barr ve Kiernan, 1988; Schmidt, 1989).

II. Dış granüler tabaka: Moleküler tabakaya göre daha kalın bir tabakadır ve daha yoğun hücre içerir. Hücrelerin şekli piramidal olduğundan buraya "küçük piramidal hücre tabakası" da denir. Yıldız hücreleri de çoğunlukla bu tabakadadır. Bu bölgeden çıkan dikey dendritler moleküler tabakada sonlanırlar. Aksonlar hücrelerin taban bölümlerinden çıkar ve genellikle V. ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Az da olsa bazı aksonlar beyin kabuğunu terk ederek ak maddeye geçebilirler. IV. tabakada bulunan granüler hücrelerin ve bazı piramidal hücrelerin aksonları ile geriye dönen yan dallar (recurrent collaterals) ve birleştirici lifler (asosiyasyon lifleri) bu tabakada sonlanırlar (Barr ve Kiernan, 1988).

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

IV. İç granüler tabaka: Bu tabaka küçük çaplı ve yoğun olarak paketlenmiş çok kutuplu hücrelerden oluşur. Bu hücrelere granül hücreleri adı verilir. Aksonları kısadır ve büyük bir çoğunlukla beyin kabuğu içinde sonlanırlar. Üst kısımlara gidenler I ve II. tabakalarda sonlanırken, alt kısımlara doğru gidenler V ve VI. tabakalarda sonlanırlar. Dendritleri aynı tabakada dallanarak dağılır. Özgül talamo-kortikal getirici bağlantıların büyük bir çoğunluğu bu hücrelerin üzerinde sonlanır. Bu tabakada bulunan bir diğer hücre tipi yıldızsı hücrelerdir ve onların dendritleri de aynı tabaka içinde dallanma gösterir. Aksonları ise III. tabakaya çıkarak burada sonlanırlar. Yıldızsı hücrelerin kısa olan aksonları V. ve VI. tabakalardaki hücrelerin bu tabakaya uzattığı dendritlerle sinaps yaparlar. Beyin kabuğunun girişlerini alan esas bölgesi bu IV.

tabakadır. Bu tabaka beyin kabuğunun bazı bölgelerinde iyi gelişmemiştir ve bundan dolayı bu bölgelere "agranüler korteks" adı verilmektedir (Barr ve Kiernan, 1988).



Şekil 1. *Beyin korteksinin tabakaları ve kortekste bulunan neokortikal nöronlar. Aferent lifler (mavi). Nöronlar (siyah). Piramidal hücreler (pembe). (Gray's anatomy, 2005)*

I. Moleküler tabaka	***Horizontal hücre (H)***
II. Dış granüler tabaka	***Yıldızsı hücre (S)***
III. Dış piramidal tabaka	***İğsi hücre (F)***
IV. İç granüler tabaka	***Sepet hücresi (B)***
V. İç (dev) piramidal hücre tabakası	***Piramidal hücre (P)***
VI. İğsi (fusiform) hücre tabakası	***Martinotti hücresi(M)***

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 yıldızsı hücrelerdir ve onların dendritleri de aynı tabaka içinde

dallanma gösterir. Aksonları ise III. tabakaya çıkarak burada sonlanırlar. Yıldızsı hücrelerin kısa olan aksonları V. ve VI. tabakalardaki hücrelerin bu tabakaya uzattığı dendritlerle sinaps yaparlar. Beyin kabuğunun girişlerini alan esas bölgesi bu IV. tabakadır. Bu tabaka beyin kabuğunun bazı bölgelerinde iyi gelişmemiştir ve bundan dolayı bu bölgelere "agranüler korteks" adı verilmektedir (Barr ve Kiernan, 1988).

V. İç (dev) piramidal hücre tabakası: Bu tabakadaki hücreler esas olarak büyük piramidal hücrelerdir. Tabaka içindeki tüm hücreler büyük değildirler fakat en büyük piramidal hücreler (Betz'in dev piramidal hücreleri de dahil olmak üzere) bu tabakada bulunduğundan, bu bölge "dev piramidal hücre tabakası" adıyla anılır. Büyük piramidal hücrelerin dendiritik dalları I. tabakaya kadar yükselerek orada geniş bir dallanma gösterirler (Barr ve Kiernan, 1988). Hücrenin taban bölümünde çıkan uzun akson ya korteks altı merkezlere uzanır ya da aynı ve karşı taraf beyin korteksinde bulunan asosiyasyon ve komissural merkezlere gider. Omuriliğe inen liflerin önemli bir kısmı V. tabakada bulunmaktadır ve bunların büyük bir çoğunluğu medulladaki piramis bölgesinden geçer (Rapisarda ve ark., 1985; Miller, 1987; Nudo ve Masterton, 1990). Bu aksonların oluşturduğu rekurrent kollaterallar geriye doğru dönüp III, II ve I. tabakalarda sonlanırlar. V ve VI. tabakalar korteksin ana çıkış tabakalarıdır. Piramidal yolu oluşturan aksonların hücre gövdeleri daha çok bu tabakada bulunur. Bu tabakada ayrıca yıldız ve Martinotti hücreleri de bulunmaktadır (Barr ve Kiernan, 1988).

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

2.2. Nöbet ve Epilepsi

2.2.1. Nöbet

Beyin milyarlarca sinir hücresi, hücrelerin uzantıları ve sinir hücrelerini destekleyen destek dokularından oluşmuştur. Sinir hücreleri elektrik akımlarıyla çalışırlar. Her sinir hücresi elektrik akımı oluşturma ve bu akımı diğer hücrelere iletme yeteneğine sahiptir. Değişik bozukluklar nedeniyle sinir hücrelerinde anormal elektrik akımı deşarjları ya da elektrik fırtınaları oluşabilir. İşte bu anormal elektrik akımları nöbetlere neden olur. Epileptik nöbetler, beyindeki nöronların genellikle sınırlı süreli, aşırı veya hipersenkron aktivitesinin klinik göstergesidir. Nöbet, hastanın hayatı boyunca tek nöbet olarak kalabilecegi gibi, zaman içinde tekrarlayabilir. Nöbet karşılığı olarak iktus (ictus) da kullanılır. Bu nedenle, nöbet sonrasına postiktal periyod, nöbetler arası zamana da interiktal periyod denir (Okan, 2004).

2.2.2. Epilepsi

Epilepsi, kendiliğinden ve tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize kronik nörolojik bir hastalıktır. Hastalığın ülkemizdeki prevalansı hakkında tam bir sayı verilmemekle birlikte, toplumdaki görülme oranı % 0.4-1 oranında gözlenir (Bell ve Sander, 2001). Epilepsi nörolojik hastalıklar arasında çocukluk ve ergenlik çağında en sık, erişkinlerde ise beyin damar hastalıklarından sonra en sık rastlanan ikinci hastalıktır. Üçüncü dünya ülkelerinde ve birinci dünya ülkelerinin bazı bölgelerinde görülme oranı iki katına kadar çıkmaktadır (Andreoli ve ark., 1997). Nöbetler kortikal nöronlardaki anormal ve aşırı elektriksel deşarj sonucu oluşmaktadır (Bernal ve Altman, 2003). Genel olarak bir nöbetin davranışsal dışa vuruş şekilleri etkilenen beyin dokusunun yerine ve genişligine göre degişir (Kandel ve Jessel, 2000). Uygulanan tedaviler esas olarak belirtileri gidermeye yönelik (semptomatik) olup, hastaların yaklasık % 30'unda nöbetler mevcut ilaçlarla kontrol altına alınamamaktadır (McNamara, 1999). Kontrol edilemeyen nöbetleri olan hastalar yüksek oranda morbidite ve mortalite oranına sahiptir.

Epilepsi tanısının konulabilmesi için epileptik nöbetlerin tekrarlayıcı karakter kazanması ve bu özelliğini uzun süre devam ettirmesi gerekmektedir. Kafa travmaları, inme, beyindeki hemorajiler, merkezi sinir sistemini etkileyen bazı enfeksiyonlar (menenjit, ansefalit, abse gibi), beyin damarlarındaki bazı yapısal bozukluklar, genetik faktörler, doğum travmaları ve tümörler belli başlı epilepsi nedenleri arasında yer

almaktadır. Neredeyse vakaların % 70'inde altta yatan neden bulunamamaktadır (Bruton, 1988; Engel ve ark., 1989; Ettinger, 1994).

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

1) Parsiyel (fokal) nöbetler: 'Nöbet odağı' adı verilen beynin belli bir bölgesinden kaynaklanırlar. Bazen, jeneralize olarak yayılabilirler. Bazı hastalarda karşı hemisferde etkilenebilir. Bu yayılımın talamusla ilgili olduğu düşünülmektedir.

A) Basit parsiyel nöbetler: Bilinç durumu bozulmaz.

a. Motor semptomlu

b. Somotosensoriyal veya özel duyusal semptomlu

c. Otonomik semptomlu

d. Psişik semptomlu

B) Kompleks parsiyel nöbetler: Bilinç bozukluğu ile ortaya çıkar. Psikomotor nöbetler ya da limbik nöbetler de denilir.

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 etkileyen, sıklıkla tonik-klonik konvulsiyonlarla karakterize nöbetlerdir.

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

B) Tonik-klonik nöbetler (Grand-mal)

C) Klonik nöbetler

D) Tonik nöbetler

E) Myoklonik nöbetler

F) Atonik nöbetler (astatik)

3) Sınıflandırılamayan epileptik nöbetler

Bu tarz nöbetlerde, nöbetin başlangıcında, olağan dışı bir koku veya ses ya da ani bir ruh hali degişikliği gibi durumlar oluşur. Genellikle irritabilite ve disfori görülür. Aura olarak bilinen ve genellikle kısa olan bu duyum, nöbetin kaynaklandıgı yerde veya yakınında paroksismal nöronal bir ateşlemeyi ifade eder. Aura, nöbetin hastanın hatırladıgı

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. İnteriktal dönem nöbetler arasındaki zamandır. İnteriktal dönemde hastalarda nöbet oluşmamasına rağmen, EEG'de yine de bir miktar paroksismal aktivite görülebilir. Epileptik tek nöbet aktivitesinin 30 dakikadan daha uzun sürmesi veya iki ve daha fazla nöbetin aralarında hasta bilinci açılmadan seriler halinde gelmesine "status epileptikus" adı verilir. Yüksek oranda morbidite ve mortaliteye sahiptir. Konvülzif status epileptikusta statusun nöbet tipine (tonik, klonik veya myoklonik) göre kasılmalara ilave olarak taşikardi, hiperpne, midriyasis ve hipersekresyon gibi önemli otonomik belirtiler vardır. Nöbet devam edecek olursa hastada ateş, hipotansiyon, asidoz ve solunum depresyonu görülebilir. (Okan, 2004).

Diğer taraftan epilepsilerde klinik seyir, prognoz, etyoloji ve dolayısı ile tedavi yaklaşımının farklı özellikler gösterebileceği dikkate alınarak yalnızca nöbet tipi ve EEG ile oluşturulan nöbet sınıflaması yetersiz kaldığı düşünülmüştür. Bu nedenle 1981 yılından sonra araştırmacılar çabalarını epileptik sendromları sınıflama yönünde yoğunlaştırmışlardır (Baykan ve ark., 2010). Bu şekilde yapılan ilk sınıflama 1985 yılında oluşturulmuştur. Bu tarihten sonra 1989 yılında epileptik sendromların sınıflamasına son şekli verilmiş ve "Uluslararası Epilepsi ve Epileptik Sendromların Sınıflaması" adı altında yayınlanmıştır (Tablo 1). Bu sınıflandırmada klinik nöbet tipi, iktal ve interiktal EEG bulguları, etiyolojik faktörler, anatomik lokalizasyon ve yaş faktörleri göz önüne alınmıştır. Bu kriterlere göre, jeneralize epilepsilerin parsiyel epilepsilerden, etiyolojisi bilinen epilepsilerin (semptomatik, sekonder) etiyoloji bilinmeyen (idyopatik) veya bulunamayan (kriptojenik) epilepsilerden ayırt edilmesi amaçlanmıştır (Engel, 1998; Kellinghaus ve ark., 2004; Para ve ark., 2001; Avanzini ve ark., 1996; Oka ve ark., 1995; Senanayake, 1993; Erten, 2005).

Tablo 1: *Epilepsi ve epileptik sendromların sınıflaması (ILAE 1989)*

Lokalizasyona bağlı epilepsi ve sendromlar
İdiopatik
*Sentrotemporal diken dalgalı selim çocukluk epilepsisi
*Oksipital paroksizmleri olan çocukluk epilepsisi
*Primer okuma epilepsisi
Semptomatik
*Kronik ilerleyici epilepsi parsiyalis kontinua
*Özel biçimlerde ortaya çıkan nöbetlerle karakterize sendromlar
*Temporal, frontal, parietal, oksipital lob epilepsileri
Kriptojenik epilepsiler
*Temporal, frontal, parietal, oksipital lob epilepsileri
Jeneralize epilepsiler ve sendromlar
İdiopatik epilepsiler
*Bebeklik selim myoklonik epilepsisi
*Çocukluk absans/jüvenil absans epilepsisi
*Uyanıklıkta jeneralize tonik klonik nöbetler
*Özel şekilde ortaya çıkan nöbetler
*Diğer idiopatik jeneralize epilepsiler
Kriptojenik veya semptomatik epilepsiler
*West Sendromu
*Lennox-Gastaut Sendromu
*Myoklonik astatik nöbetlerle karakterize epilepsi
*Myoklonik absansla karakterize epilepsiler
Semptomatik epilepsiler
Non-spesifik etyoloji
*Erken myoklonik ensefalopati
*Supresyon “burst”leri ile giden erken infantil epileptik ensefalopati
*Diğer semptomatik jeneralize epilepsiler
Spesifik nörolojik hastalıklara bağlı epilepsiler
Fokal veya jeneralize olduğu belirlenemeyen epilepsi ve sendromlar
Hem jeneralize hem fokal nöbetler
*Bebeklik ağır myoklonik epilepsisi
*Uyku yavaş dalgası esnasında sürekli diken dalga gösteren epilepsi
*Landau-Kleffner Sendromu
*Diğer sınıflandırılmayan epilepsiler
Fokal veya jeneralize görünümün belirgin olmadığı durumlar
Özel durumlara bağlı epilepsiler
* Febril konvülsiyonlar
* İzole nöbetler veya status epileptikus
* Akut toksik veya metabolik nedene bağlı nöbetler

2.2.2.1 Epilepside Etyolojik Faktörler

İdiopatik epilepsinin sebebi bulunamasa da diğer epilepsi türlerine neden olan birçok etken bulunmaktadır.

Epilepsinin etyolojisinde yer alan bazı faktörler;

a. İnme: İnme esnasında, kan akımının kesilmesiyle beraber beyin hücreleri ölmekte ya da zarar görmektedir. Yaklaşık olarak %10 inme hastasında epileptik nöbetler görülmektedir. Bazı inme atakları çok küçük bir alanı kapsadığından sadece CT ve MRI ile görülebilmektedir. Bu kişilerde görülen inme nöbetleri nedeniyle görülen hemoraji, epilepsi nöbetinin bir tetikleyicisidir (Fisher ve Saul, 2010).

b. Enfeksiyon: Dünyada fokal nöbetlerin oluşumundaki en büyük neden enfeksiyonlardır. Bakteri, virüs, mantar ve parazit gibi organizmalar nöbetlere neden olabilirler. Bu organizmalardan herhangi biri beyin zarlarını enfekte ederse menenjit meydana gelir. Menenjit sonuncunda, hastalık esnasında ya da sonraki dönemlerde nöbetler meydana gelebilir (Fisher ve Saul, 2010).

c. Beyin Patolojileri: Doğum öncesi travmalara bağlı patolojiler, kalıtsal metabolik hastalıklar, kafa travması, serebral hastalıklar, beyinde bulunan ve gelişebilen tümörler epilepsi nöbetine yol açabilmektedir. Doğum öncesi veya doğum sırasında, henüz immatür olan beyinde oluşabilecek anormallikler (doğum travması vb.) ya da epileptik nöbetlerin kendisinin yol açtığı yaygın veya lokal hasarlar daha sonraki yaşlarda ortaya çıkan epilepsinin temelini oluşturmaktadır (Oun ve ark., 2003).

d. Kalıtım: Kalıtımın epileptik nöbete etkisi olduğu kesin olmamakla beraber, genetik bir yatkınlığın varlığını düşündüren kanıtlar vardır. İkizler üzerinde yapılan araştırmalarda tek yumurta ikizlerindeki epilepsi olasılığının, çift yumurta ikizlerine göre üç kat daha fazla oldugu görülmüştür. Bazı ailelerde epilepsi hastalığının fazlalığı genetik geçişin etkileri hakkındaki bulguları desteklemektedir. Kalıtım, idiyopatik epilepsileri ortaya çıkaran önemli bir belirleyicidir. Kalıtsal beyin hastalıklarında ve kalıtımsal metabolik hastalıklarda da epilepsi sık görülmektedir (Gardineer, 1996).

e. İlaç reaksiyonları: Bazı ilaçların kullanılması özellikle hassas kişilerde istenmeyen yan etki olarak nöbetlere neden olabilmektedir. Nöbete neden olabilecek bazı ilaçlar: antihistaminikler, siprofloksasin, metronidazol, trisiklik antidepresanlar, klozapin, lityum, haloperidol, digoksin, yüksek doz meperidin ve bazı kanser ilaçları. Bu liste aslında daha uzundur. Eğer bu ilaçlardan birini kullanacaksanız doktorunuza nöbetleriniz olduğunuzu vurgulamanız yararınıza olacaktır. Ayrıca nöbeti olan kişiler efedrin gibi doping ilaçlarından da uzak durmalıdırlar (Oun ve ark., 2003).

f. İdiopatik: Nedeni bulunamayan nöbetlere verilen isimdir. Tüm epilepsi nöbetlerinin yaklaşık %60'ı idiopatiktir. Fokal nöbetlere beyinde bir irritanın varlığı ya da skar odağı yol açmakla beraber, bazen MR görüntülemede skar odağı görülememektedir. Jeneralize nöbetlerde ise genetik altyapı veya metabolik hastalık odağı bulunamamaktadır. Nedenin bulunamaması hasta için bir problem oluşturmaktadır. MR görüntüleme ve diğer radyolojik tetkikler ilerledikçe daha çok epileptik neden ortaya konulacaktır (Oun ve ark., 2003).

2.2.2.2. Epilepsinin Fizyopatolojisi

Hayvan deneylerinde ve insanda yapılan çalışmalarda kortikal nöronların membran potansiyellerinde ve ateşlenme şekillerinde bazı karakteristik bozukluklar saptanmıştır. "Paroksizmal depolarizasyon kayması (PDK)" olarak bilinen bu durumda membranı depolarize eden postsinaptik potansiyelin anormal şekilde uzaması ve büyümesi söz konusudur. Bunun sonucu olarak nöronlar gruplar halinde ateşlenebilir ve etraflarındaki nöronları benzer şekilde ateşleyebilecek bir kapasiteye ulaşırlar. PDK'nın eksitatör nörotransmitterler olan glutamat ve aspartat ile inhibitör nörotransmitter GABA sistemleri arasındaki dengesizlikten kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Bunun dışında membranlardaki iyon kanallarındaki bozuklukların da PDK'nın ortaya çıkmasında etkili olduğu düşünülmektedir (Baykan ve ark., 2010).

Epileptojenik odak olarak adlandırılan da adalandırılan ateşlemenin başladığı bu bölgede "pacemaker" hücreler yer almaktadır ve bu hücreler tam olarak bilinmeyen nedenlerle, artmış uyarılma ve anormal ateşlenme özelliği gösterirler, etraflarındaki hücreleri de bu ateşlenmeye ortak edebilecek güçleri vardır. Sonradan katılan bu nöronların miktarı; tablonun EEG'de bir interiktal (nöbet arası dönem) dikenle sınırlı kalmasını ya da yeterli miktara ulaşabildiğinde EEG'de ve klinikte nöbet aktivitesinin oluşmasını belirler. Epileptik bir nöbet sırasında beyindeki nöronların hipersenkron ve tekrarlayıcı aktivasyonu söz konusudur. EEG'de görülen diken artmış eksitasyonu, dikeni izleyen yavaş dalga ise inhibisyonu göstermektedir. Özetle, fokal kortikal bir nöbet aktivitesinin oluşabilmesi için ilgili nöronlarda 2 temel fizyopatolojik özellik (hipereksitabilite ve senkronizasyon) birlikte bulunmalıdır. Nöbet aktivitesinin yayılması ise eksitasyon alanını çevreleyen inhibitör nöronların inaktivasyonu (çevresel inhibisyon alanının kaybı) ile gerçekleşmektedir (Baykan ve ark., 2010).

Yapılan çalışmalarda epileptik odaktaki nöronların dendritik çıkıntılarında azalma olduğu (dendritik deafferentasyon), epileptojenik fokusta yeni sinapslar oluştuğu, astrositlerin artışıyla birlikte gliozis oluştuğu gösterilmiştir (Jiang ve ark., 1998). Epileptojenik odaktaki gliozisli hücreler, hücre dışı K^+ iyonlarını dengeleme kabiliyetleri bozulduğundan, hücre dışında K^+ iyon artışına yol açarak, nöronların uyarılabilme eşiğinin düşmesine ve epilepsi nöbetlerinin oluşmasına neden olur. Ayrıca epileptojenik bölgelerde Na^+K^+/ATP'az aktivitesinin azalması nedeniyle de hücre dışı K^+ iyon konsantrasyonu artar (Heinemann ve ark., 1986). Bu mekanizmalar sonucunda nöronların membran potansiyelleri bozulmalar meydana gelir. Sonuç olarak, bu nöronlar normalden daha kolay depolarize olmaktadır, başka bir deyişle nöronun uyarılma eşiği düşmektedir.

2.2.2.3. Epilepsi Tanısı

Epilepsi tanısı koymak için öncelikle iyi bir anamnez alınmalıdır. Altta yatan çok sayıda sebepten hangisinin sorumlu olduğunu bulmak kimi zaman sadece iyi alınmış ayrıntılı bir anamnezle mümkün olmaktadır. Epilepsi tanısı ve değerlendirilmesinde anamnezde hastanın perinatal öyküsü, gelişme basamakları, kafa travması, MSS infeksiyonu, ailede epilepsi ve diğer sık görülen hastalıkların ayrıntılı bir şekilde sorgulanması büyük önem arz etmektedir.

Epilepsi tanısı için klinik bilgiler yanında en önemli yardımcı tanı yöntemi elektroensefalogram'dır (EEG) ve nöbet düşünülen her hastada EEG çekilmelidir. İlk tanı konulurken ilk 1 hafta içinde, diğer durumlarda EEG istenildikten en geç 4 hafta içinde EEG çekimi yapılıp yorumlanmalıdır. EEG, epilepsi olduğundan şüphelenilen bireylerde nöbet tipini ve epilepsi sendromunun prognozunu belirlemede yardımcı olarak kullanılabilir. Bu bireylerde prognozun doğru tahminini sağlayabilir. İlk kez tetikleyici bir neden olmaksızın ortaya çıkan nöbeti olan bireylerin EEG'lerinde epileptiform bir aktivite görülmesi, yüksek oranda nöbet tekrarlama olasılığını göstermektedir (Bingol ve ark., 2007)

Bilgisayarlı tomografi (BT) yönteminin nöroloji pratiğinde yerini alması özellikle semptomatik parsiyel epilepsiler açısından bir devrim niteliğinde olmuştur. Günümüzde ise beyin anatomisini daha detaylı bir şekilde gösteren manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yöntemi BT'nin yerini almıştır. Pozitron emisyon tomografisi (PET) ve single photon emission computerized tomography (SPECT) fonksiyonel

görüntüleme amacı ile başvurulacak diğer yöntemlerdir (Maytal ve ark., 2000; Palmini, 1997; Kuzniecky, 1997; Engel 1997; Erten, 2005).

2.2.2.4. Epilepsi Tedavisi

Epilepsi tedavisinde ilk yapılması gereken tanının doğru bir şekilde konulmasıdır. İlk aşamada ilaçla tedavi denenmekle birlikte, kontrol edilemeyen nöbetlerde cerrahi de uygulanabilmektedir. Epilepsi tedavisinde en önemli nokta nöbetleri durdurmaya yönelik olarak seçilen ilaçların düzenli ve planlı kullanımıdır. Uygun ilaçlar seçildiğinde ve yeterli dozda alındığında hastaların % 70-75'inde nöbetler engellenebilmektedir. Eğer bu ilaç nöbetleri yeterince kontrol altına alamıyorsa, o zaman ilaç değişimi yapılabilir veya ikinci bir ilaç eklenebilir. Epilepsili hasta ilacını kullanarak aktif ve başarılı bir yaşam sürebilir. Epilepsi tedavisinde kullanılan ilaçlar; hastanın yaşına, fiziksel durumuna ve nöbet tipine göre uzman doktor tarafından verilmelidir. Bilinçsizce kullanılacak ilaç, nöbetleri önlemediği gibi istenmeyen yan etkilere de neden olabilir.

Eğer tedavi ile nöbetler bir kaç yıl (hastanın durumuna göre 2-5 yıl gibi) arka arkaya görülmezse, doktor kontrolunda ilaçların azaltılıp kesilmesi denenebilir. Ancak ilaç kesiminden sonra, nöbet tipine göre değişmekle birlikte hastaların dörtte birinde nöbetlerin tekrarlama riski olduğu bilinmelidir. İlacın kesilmesi, mutlaka hastayı izleyen doktor tarafından karar verilmesi gereken önemli bir konudur.

Epilepsi cerrahisi yalnızca bazı epilepsi türlerinde yapılabilir. Ya da başka bir deyişle her epilepsi hastası cerrahi adayı değildir. Bir epilepsi hastasının cerrahi adayı olup olmadığına mutlaka epilepsi konusunda deneyimli bir nörolog karar vermelidir. Eğer nöroloji uzmanı epilepsinin kaynaklandığı beyin alanını net bir şekilde tesbit edebilirse ve bu alan sınırlı ve konuşma, lisan, işitme gibi önemli beyin alanlarına çok yakın veya doğrudan o bölgede değilse hasta cerrahi adayı olabilir.

2.2.3. EEG ve ECoG

İlk olarak 1940'larda kullanılmaya başlanmış ve o zamandan beri epilepsi tanısında en sık kullanılan yöntemdir. Elektroensefalografi (EEG) ile geniş bir nöron grubunun spontan elektriksel aktivitesindeki dalgalanmalar yüzeyden kaydedilir. ECoG ise genellikle deney hayvanlarında kullanılan bir yöntemdir ve EEG'nin direkt olarak korteksten kaydedilmesi işlemidir. EEG, beynin yapısal özelliklerinden çok o anki

fonksiyonel durumunu yansıtır. Bu nedenle yapısal görüntüleme yöntemlerindeki (BT, MRG gibi) gelişmelere rağmen halen önemini korumaktadır. Özellikle yapısal inceleme yöntemlerine yansıyan bir patolojik bulgunun olmadığı durumlarda EEG'nin önemi daha da artmaktadır.

EEG, epilepsi tanısında ve epileptik hastaların takibinde klinik bulguların ardından en önemli inceleme yöntemidir. Ayrıca, ensefalopati ve ensefalitler gibi birçok beyin hastalığı için çok önemli bir ek araştırma yöntemi özelliğini taşır. Bazı özel tablolarda (örneğin bazı yavaş virüs hastalıkları ve hepatik ensefalopati gibi) klinik tanı için oldukça kesin ipuçları verebilir. EEG tamamen ağrısız ve zararsız bir inceleme yöntemidir. Saçlı deriden kayıtlanan elektriksel potansiyellerin çoğu piramidal hücrelerdeki toplam eksitatör ve inhibitör sinaptik potansiyellerin ekstrasellüler iyon akımlarıyla ilişkisinin sonucudur. Normalde çok zayıf olan bu elektriksel potansiyeller saçlı deri üzerine yerleştirilen elektrodlar tarafından kayıtlanır ve amflikatörlerle güçlendirilir (Pillai ve Sperling, 2006; Daly ve Pedley, 1997).

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

• Klinik olarak konulmuş tanının desteklenmesi ve doğru tanı konmasına yardım

• Nöbet kaydı ile ya da dolaylı bazı bulgularla nöbet ve sendrom tipinin belirlenmesi

• Odağın lokalizasyonu hakkında bilgi edinilmesi

Normal bir insanda saçlı deriden kaydedilen EEG potansiyellerinin frekansı genel olarak 1 ile 30 Hz; yükseklikleri ise 20-100 mikrovolt civarındadır. Kafatası ve deri, EEG dalgalarının yüksekliğini azaltıcı bir etki göstermektedir. EEG dalgalarının hem frekansı hem de yüksekliği oldukça karmaşık bir yapıdadır ve çeşitli şartlarda değişebilir. Bununla birlikte EEG dalgaları frekanslarına göre beş gruba ayrılmaktadır (Schmidt, 1989; Miller ve ark., 1992; Timofeeva ve Gordon, 2001; Tablo 2)

2.2.3.1.Gama dalgaları

30 Hz ve üzeri dalgalar gama ritmi olarak adlandırılır. 40 Hz'lik aktivitenin bilişsel işlevlerde ve duyusal bilginin entegrasyonunda önemli olduğu ortaya konmuştur. Yüksek miktarda gama beyin dalgaları ile bellek canlanır. Geçmişteki olayları hatırlama yeteneği ile ilişkili bulunmuştur. 40 Hz gama frekansının, iyi bir hafıza ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Sağlıklı ve iyi düşünen bir bellek için, 40 Hz

Gamma beyin dalgaları gerekir. (Başar ve ark., 2001). Deney hayvanlarında bu dalgalar incelendiğinde, dikkat, dikkate bağlı hareketsizlik, odaklı uyanıklık, duyusal algılama ve paradoksik uyku ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Ferri ve ark., 2001). Anestezi altında yapılan EEG çalışmalarında bu dalgalar büyük oranda ortadan kaybolmaktadır (Nayak ve ark., 1994). Ayrıca, gama ritminin bazal önbeyin kolinerjik yolakları ve beyin sapı talamokortikal kolinerjik yolakları ile düzenlendiği kabul edilmektedir (Timofeeva ve Gordon, 2001).

Dalga	**Frekans (Hz)**
Gama	30-50
Alfa	13-30
Beta	8-13
Teta	4-8
Delta	0.5-4

Tablo 2: *Beyinden kaydedilen EEG dalgaları ve dalga frekansları*

2.2.3.2. Alfa Dalgaları

Kişi uyanık istirahat halinde ve gözleri kapalıyken, özellikle parietal ve oksipital bölgelerde daha belirgin olarak ortaya çıkan alfa aktivitesinden oluşan EEG ritmidir. Uyku esnasında kaybolmaktadır. Ancak, uykuda görülen uyku iğcikleri de yine alfa aralığına (7-14 Hz) denk gelen dalgalar olup, genlikleri alfa dalgalarına oranla biraz daha yüksektir. Alfa bandının oluşumunda, beyin sapı, önbeyin ve talamusun çeşitli bölgeleri işbirliği içindedir (Timofeeva ve Gordon, 2001).

2.2.3.3. Beta Dalgaları

Frontal ve paryetal bölgelerde daha belirgin kaydedilen, yüksek frekanslı (20-50 Hz), düşük voltajlı (10-20 μV) dalgalardır. Zihinsel aktivite durumunda belirgin hale gelirler. Beynin hasara uğrayan bölgelerinde azalır veya tamamen kaybolurlar. Ayrıca, bu dalgalar, uyku halinde azalma ve zihinsel rahatlık halinin bozulması durumlarında da ortaya çıkmaktadırlar.

2.2.3.4. Teta Dalgaları

Yetişkinlerde uyku haricinde çok fazla görülmeyen dalgalardır. Çocukların paryetal ve temporal bölgelerinde görülmekle birlikte erişkinlerde de duygusal streslerde ortaya çıkabilir. Bunun dışında beynin dejeneratif durumlarında da gözlenmektedirler (Guyton, 2007). Teta dalgalarının, yavaş (kolinerjik veya atropine duyarlı; 4-7 Hz) teta ve hızlı (atropine dirençli; 7-9 Hz) teta olmak üzere iki bileşeni bulunduğu gösterilmiştir (Timofeeva ve Gordon, 2001). Bu farmakolojik farklılıklar, bu dalgaların oluşumunda farklı nöronal yolakların devrede olduğunu göstermektedir.

2.2.3.5. Delta Dalgaları

Yine teta dalgaları gibi uyku haricinde erişkinde çok görülmeyen dalgalardır. EEG'nin frekansı saniyede 3.5'tan az olan tüm dalgaları delta dalgası olarak adlandırılır. Derin uykuda, çocuklukta ve ciddi organik beyin hasarında ortaya çıkmaktadırlar. İlginç olarak, subkortikal kesiyle korteksi talamustan ayrılan deney hayvanlarında da görülürler. Bu nedenle delta dalgalarının beynin aşağı bölgelerindeki etkinliklerden bağımsız olarak sadece kortekste oluştuğu sanılmaktadır.

2.2.4. Deneysel Epilepsi Modelleri

Epilepsi, mental ve fiziksel fonksiyon bozukluğuna yol açabilen, sinir sistemini etkileyen tekrarlayan nöbetlerle karakterize olan en yaygın nörolojik hastalıklardan birisidir (Dichter, 1994). Beyinde bulunan sinir hücrelerinin olağan dışı bir elekro-kimyasal boşalım yapması sonucunda meydana gelen bu nörolojik bozukluk, beyinde normalde var olan elektriğin, aşırı ve kontrolsüz yayılımı sonucu oluşmaktadır. Her sinir hücresi ya kendiliğinden belli bir frekansta ya da diğer hücrelerden aldığı uyarıların cebirsel toplamına göre elektriksel boşalımlar oluşturur. Fakat bazı durumlarda bu düzen bozulur ve büyük bir nöron topluluğu eşzamanlı (senkron) ve anormal biçimde deşarj oluşturmaya başlar. Bu anormal deşarjla birlikte epileptik nöbetler ortaya çıkmaya başlar. Anormal hücre deşarjlarının nedenleri arasında ise; travma, oksijen yetersizliği, tümörler, enfeksiyonlar ve metabolik bozukluklar sayılabilir. Ancak, epilepsi nöbetlerinin hemen hemen yarısında herhangi bir neden tespit edilememiştir (Martin, 1991). Günümüzdeki epilepsi tedavi protokolleri daha çok bulguları gidermeye yöneliktir ve henüz kompleks parsiyel epilepsili hastalarının yaklaşık olarak yarısında epileptik nöbetler kontrol edilememektedir (Shin ve McNamara, 1994).

Epilepsinin elektrofizyolojik temelleri ve diğer özellikleri hakkında akla gelen sorulara cevap aramak ve daha etkili antiepileptik ilaçlar geliştirmek için deneysel modeller üzerinde çalışılmaktadır. İnsan beyninde hücre içi kayıtlar, mikrokimyasal analizler ve anatomik iz sürme işlemlerini yapmak tıbbi etik açısından mümkün değildir. Bu yüzden, epilepsi hastalığının mekanizmasını aydınlatmak ve tedavi yöntemleri geliştirmek amacıyla çeşitli hayvan epilepsi modelleri geliştirilmiştir (Marangoz, 1997).

Deneysel epilepsi modelleri oldukça değişik yöntemlerin kullanıldığı bir araştırma alanıdır. Bunlar arasında, epilepsi oluşturucu (konvulsan) özelliği bilinen maddelerin direkt olarak beyne veya vücut boşluklarına verilmeleri sonrasında oluşturulan epileptik nöbetlerin mekanizmaları araştırılmaktadır.

Deneysel bir epilepsi modeli şu özelliklere sahip olmalıdır;

1-Spontan olarak tekrarlayan nöbetler olmalıdır

2-Nöbetler insan epilepsisine benzer olmalıdır

3-Modeldeki EEG'nin biçimi ilgili epilepsi çesidindekine benzemelidir

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

5-Antiepileptik ilaçların farmakokinetiği insandaki ile aynı olmalıdır

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

2.2.4.1. Basit Parsiyel Epilepsinin Akut Modelleri

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

a) Yüzeysel epileptik madde uygulamaları: Penisilin (Walker ve ark., 1946), bikukullin (Campbell ve Holmes, 1984), pikrotoksin (Usunoff ve ark., 1969), striknin (Fisher, 1989), kolinerjik (Ferguson ve Jasper, 1971) ve antikolinerjik maddeler (Daniels ve Spehlmann, 1973; Tan ve ark., 1978) akut fokal epilepsi oluşturmak için kortekse uygulanmaktadır.

b) Akut elektriksel uyarı (Fisher, 1989)

c) GABA kesilmesi (Brailowsky ve ark., 1988; Brailowsky ve ark., 1987)

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

2.2.4.2. Basit Parsiyel Epilepsinin Kronik Modelleri

a) Beyin kabuğuna metal uygulanması: Yüzeysel olarak beyne uygulanan alüminyum, kobalt, nikel (Kopeloff, 1960), krom, kalay, tungsten, bizmut, kadmiyum, titanyum, demir, civa, vanadyum, tantal (Chusid ve Kopeloff, 1962; Willmore ve ark., 1978), berilyum, kurşun (Chusid ve Kopeloff, 1962) ve çinko (Donaldson ve ark., 1971) basit parsiyel kronik epilepsi oluşturmak için günümüze kadar kullanılmış olan metallerdir.

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

c) Beynin belli bir bölgesi soğutularak fokal epilepsi oluşturulabilmektedir.

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

2.2.4.3. Kompleks Parsiyel Epilepsi Modelleri

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

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

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

c) Prepriform korteks modeli: "Fırtınalar alanı" olarak da anılan Prepriform kortekse bikukullin, kainik asit, glutamat, aspartat ve NMDA verilmesiyle çift taraflı klonik motor nöbetler oluşturulabilir (Piredda ve Gale, 1986).

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

b) Beyin dilimleri modeli (Wong ve ark., 1984)

2.2.4.4. Petit Mal Epilepsi Modelleri

a) Talamusun uyarılması (Hunter ve Jasper, 1949)

b) Çift taraflı odak modeli (Fisher ve Prince, 1977)

Beyin korteksinin her iki tarafına yaygın olarak konvülsan maddeler verilerek oluşturulmaktadır.

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

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

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

f) Genetik model: Wistar ve Sprague-Dawley sıçanlarının yaklaşık % 30 kadarı spontan olarak epilepsi nöbetleri geçirmeye genetik olarak yatkınlık göstermektedir (Coenen ve Van Luijtelaar, 1987).

2.2.4.5. Grand Mal (Jeneralize Tonik Klonik) Epilepsi Modelleri

Büyük nöbet diye adlandırılan bu epilepside EEG frekansı 10 Hz kadar olan aynı ana rastlayan bilateral ritmik boşalımlar ve miyoklonik kasılmalar gözlenmektedir (Gloor ve Fariello, 1988).

a) Genetik Modeller: Işığa duyarlı babun modeli (Meldrum, 1984); Farelerde sesle oluşturulan (odyojenik) epilepsi modeli (Fisher, 1989); Paytak fare modeli (Seyfried ve Glaser, 1985); Epileptik fare (E1) modeli (Suzuki, 1976); Genetik olarak epilepsiye yatkın sıçan modeli (Fisher, 1989)

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

c) Sistemik konvulsanlarla oluşturulan modeller: Pentilentetrazol, penisilin (Bo ve ark., 1984; Kozan ve ark., 2008), begmerid, bikukullin, pikrotoksin, homosistin ve eksitatör aminoasitler verilerek oluşturulur (Bağırıcı ve Bostancı, 2001) .

d) Metabolik bozukluklar sonucu meydana gelen epilepsi modelleri: Hipoksi, hipoglisemi, üremi, ilaç kesilmesi ve yüksek sıcaklık gibi durumlarda meydana gelen epileptik nöbetlerdir (Bağırıcı ve Bostancı, 2001).

2.2.4.6. Status Epileptikus Modelleri

a) Lityum pilokarpin modeli (Laird, 1989)

b) Kobalt homosistin modeli (Freed, 1985)

c) Elektriksel modeller (Vicedomini ve Nadler, 1987)

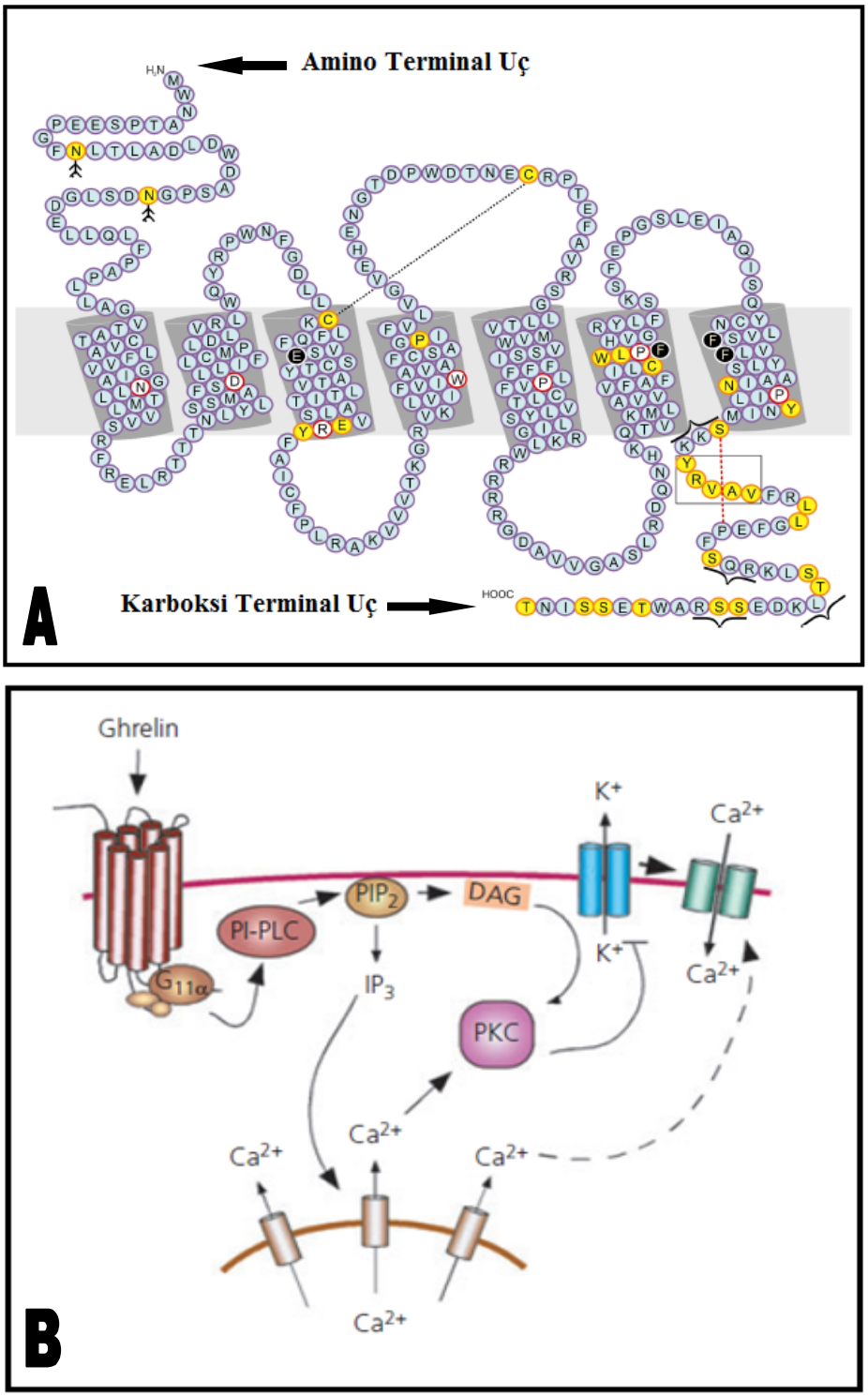
Bazı konvülsan maddeler birden fazla epilepsi modeli oluşturabilmektedir. Şu ana kadar, epilepsi konusunda akla gelen tüm sorulara cevap alabileceğimiz tek bir model yoktur. Bununla birlikte, modeller üzerinde yapılan çalısmaların ancak o modeli ilgilendiren temel mekanizmaları aydınlatabileceği bilinmelidir. Ayrıca, epilepsi modellerini değerlendirirken, bu modellerin, insanlarda ortaya çıkan klinik epilepsilerin aynısı olmadığı da göz önünde bulundurmakta fayda vardır (Marangoz, 1997).

2.3. Ghrelin

Ghrelin, 3.3 kilodalton ağırlığında 28 amino asitten oluşan bir peptid hormondur. Ghrelin kilo kontrolünde, glukoz ve lipid metabolizmasında rol oynamakla birlikte, GH, ACTH ve prolaktin salınımına da etki etmektedir (Arvat ve ark., 2001; Korbonits ve ark., 2004, Van der Lely ve ark., 2004). 1999 yılında tanımlanan bu hormonun tip 1a büyüme hormonu sekrete eden reseptöre (GHS-R1a) bağlandığı tespit edilmiştir. Sıçan midesinden salındığı tespit edilen ghrelin GHS-R1a reseptörlerine bağlanarak doz bağımlı olarak büyüme hormonu salınımını uyarmaktadır (Kojima ve ark., 1999). Ghrelin sentezi sıçanlarda, midenin submukozasında bulunan X/A-benzeri hücrelerde, insanlarda ise P/D_1 hücrelerinde gerçekleşmektedir (Date et al. 2000, Rindi et al. 2002). Gastrointestinal sistemde duodenum, jejunum, ileum ve kolonda da düşük seviyede ghrelin sentezi olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 2002). Bunun yanında santral sinir sisteminin bazı yerlerinde (arkuat nükleus ve hipotalamus), pankreasta, bazı immün sistem hücrelerinde ve periferal mononükleer hücreler (lenfosit ve monositler) de ghrelin üretmektedir (Lu ve ark., 2002; Date ve ark., 2002; Mager ve ark,. 2008). Ayrıca, overler ve testisler de ghrelin hormonu üretebilmektedir (García et al. 2007). Ancak, ghrelinin bu çok çeşitli hücrelerden sentezlenen grelinin işlevleri henüz bilinmemektedir. Şu an için sadece endokrin fonksiyonları bilinen ghrelinin, otokrin ve parakrin etkileri de olduğu düşünülmektedir.

2.3.1. Ghrelin Reseptörü (GHS-R1a)

Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda ghrelinin bağlandığı sadece 1 adet reseptör tanımlanmıştır. Büyüme hormonu salgısına yol açan GHS-R1a reseptörü ghrelinden 3 yıl önce keşfedilmiştir. 1999 yılında Kojima ve ark. ghrelin hormonunun bu reseptöre bağlandığını ve büyüme hormonu salınmasına yol açtığını bulmuşlardır. GHS-R1a reseptörü G-proteinine bağlı reseptör süperailesinin bir üyesidir ve bu reseptör ailesinin temel özelliklerini taşımaktadır. Hücre membranını yılan gibi 7 kez kateden bu reseptörün ektraselüler tarafta sonlanan bir amino terminal ucu, intraselüler tarafta sonlanan bir karboksi terminal ucu bulunmaktadır (Şekil 2-A). Reseptörün ekstraselüler ucunun ligand bağlanma bölgesi olduğu, intraselüler ucunun ise reseptör aktivasyon sinyallerini sitoplazmaya aktardığı düşünülmektedir. Yaklaşık 41 kilodalton ağırlığında olan bu reseptör 366 tane aminoasit içermektedir (Howard ve ark., 1996).



Şekil 2: A) *GHS-R1a reseptörünün aminoasit dizisi. Amino asitler harflerle gösterilmiştir. Ghrelin reseptörü 7 adet transmembran heliks yapı içermektedir. Amino terminal uç (H_2N) ekstraselüler tarafta, karboksi terminal uç ise intraselüler kısımda bulunmaktadır. Aminoterminal uca bağlanan ghrelin karboksi terminal uçta aktivasyon oluşturmaktadır (Feighner ve ark., 1998).* ***B)*** *Ghrelinin intraselüler Ca^{+2} kanallarına üzerine etkisini gösteren sinyal iletim yolu. PKC K^+ kanallarını kapatarak hücresel depolarizasyona neden olmaktadır. Hücresel depolarizasyon ise L- ve T-tipi Ca^{+2} kanallarının açılmasını sağlamaktadır. (Fosfotidilinositol-fosfoipaz C = PI-PLC, fosfotidilinositol 4,5-bifosfat = PIP_2, Protein kinaz C= PKC, inositol 1,4,5-trifosfat, diaçilgliserol = DAG) (Camina, 2006).*

Ghrelin hormonu karboksi terminal uca bağlandığı zaman aminoterminal uç aktive olur ve G-proteini $G_{\alpha 11}$ aracılığıyla fosfolipaz C (PLC) uyarılır. PLC'nin uyarılması inozitol trifosfatın (IP3) intraselüler konsantrasyonunu arttırır ve IP3 hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) depolarından Ca^{+2} salınmasına yol açar. Aynı zamanda, PLC başka bir alternatif yolaktan voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarını açarak da hücre içi Ca^{+2}'yi arttırmaktadır. Ca^{+2} nin hücre içinde artışı da büyüme hormonu salınımına neden olmaktadır. Ghrelin büyüme hormonu salgılatıcı hormona (GHSH) göre 2-3 kat daha fazla büyüme hormonu salgısına yol açmaktadır. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda eksojen ghrelinin en fazla büyüme hormonu salgılatıcı olduğu bildirilmiştir. Endojen ghrelinin büyüme hormonu salgılatıcı etkisi ise henüz bilinmemektedir (Arvat ve ark., 2001; Di Vito ve ark., 2002). Ghrelin ve büyüme hormonunun günlük sekresyon paternleri birbirinden farklıdır ve bu zamana kadar ghrelin ve büyüme hormonu arasında plazma konsantrasyonunu gösteren bir çalışma henüz yapılmamıştır.

2.3.2. Ghrelinin Besin Alımı ve Enerji Metabolizması Üzerine Etkileri

İnsanlarda ve kemirgenlerde yapılan çalışmalar ghrelinin iştahı ve besin alımını arttırdığını göstermektedir (Nakazato ve ark., 2001; Wren ve ark., 2001). Plazma ghrelin seviyeleri açlıkta önemli ölçüde artmakta, besin alımından hemen sonra ise azalmaktadır (Cummings ve ark., 2001). Bu yüzden ghrelin "açlık hormonu" olarak da adlandırılmaktadır. Ghrelin bu etkisini, kan-beyin bariyeri olmayan ön hipofize direkt olarak geçerek ve burada büyüme hormunu salgısını uyararak göstermektedir (Horvath ve ark.,. 2001). Yapılan çalışmalar, ghrelinin kan-beyin bariyerini de geçebildiğini göstermektedir (Banks ve ark., 2002).

Merkezi sinir sisteminde hipofizden başka, enerji dengesinin düzenlenmesinde rol oynayan birçok alan bulunmaktadır. Arkuat çekirdek (ARC), paraventriküler çekirdek, dorsomedyal hipotalamus ve area postrema besin alımının kontrolünde rol oynarlar. Bunlar arasında önemli alanlar birisi de ARC'dir. Ghrelin, ARC'deki nöronlardan nöropeptid Y (NPY) ve agouti ilişkili protein (AgRP) salınımını uyarır. Nakazato ve arkadaşlarının (2001) yaptığı çalışmada, NPY ve AgRP antagonistleriyle birlikte ghrelin verildiğinde, ghrelinin besin alımını arttırıcı etkisinin ortadan kalktığı gözlemlenmiştir. Aynı şekilde, leptin hormonu da NPY ve AgRP üzerinden etki göstermektedir. Ancak leptin, ghreline zıt etki göstererek NPY ve AgRP salınımını

azaltamakta, bu yolla da tokluk hissi oluşturarak besin alımını azaltmaktadır. (Abizaid ve Horvath, 2008; Traebert ve ark., 2002; Tung ve ark., 2001).

Ghrelinin kronik olarak uygulanması, yağların metabolik yakıt olarak daha efektif kullanılmasını ve bu sayede uzun dönem enerji metabolizmasında rol oynamaktadır (Tschöp ve ark., 2000). *İn vitro* yapılan çalışmalar, ghrelinin doz bağımlı olarak adipositlerde preadiposit diferansiyasyonunu uyardığını ve lipolizi antagonize ettiğini göstermektedir (Choi ve ark., 2003). Ayrıca, *in vivo* uygulanan ghrelin ve des-açil ghrelinin kemik iliğinde adipogenezi indüklediği görülmektedir. Ancak, bu etkisini GHS-R1a reseptörü üzerinden göstermediği düşünülmektedir (Thompson ve ark., 2004). Ghrelin enerji depolanmasıyla ilgili bu etkilerini doz bağımlı olarak göstermektedir. Yani, fizyolojik dozlardaki etkisi henüz bilinmemektedir.

2.3.3. Ghrelin ve Epilepsi

Epilepsi ve antiepileptik ilaçlar nöroendokrin sistemi etkilemekte ve hormonal değişiklikler nöbet eşiğinde değişimlere neden olmaktadır. Ghrelinin endokrin fonksiyonları yanında epilepsi ve nöbet ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Ghrelinin antikonvulsan özelliği birçok çalışmada belirtilmektedir. Yapılan çalışmalar, epilepside ve nöbet aktivitesinden sonra, hem insanlarda hem de kemirgenlerde ghrelin seviyelerinde düşüş olduğunu göstermektedir. Bunun yanında, ghrelin hormonunun nöroprotektif, antioksidan ve anti-inflamatuar özellikleri de bilinmektedir (Hokfelt et al., Aslan ve ark., 2009). Ancak, ghrelinin epilepsi ve nöbet aktivitesi üzerine etkisinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.3.3.1. Ghrelin ve Epilepsi: Hayvanlarda Yapılan Çalışmalar

Ghrelin ve epilepsi arasındaki ilişki insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir ancak sonuçlar halen tartışmalıdır (Dag ve ark., 2010). Bazı çalışmalar, ghrelinin antikolvulsan özelliği olduğundan bahsetmiştir. Sıçanlarda, intraperitoneal olarak uygulanan ghrelin pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan nöbetleri ertelemekte ve nöbet evresini düşürmektedir. Doz bağımlı olan bu çalışmada ghrelin antikonvulsan aktivite göstermekte ancak nöbetleri tamamen engelleyememektedir (Obay ve ark., 2007). Ghrelinin antikonvulsan etkisini NPY ve GABA üzerinden gösterdiği düşünülmektedir. Hipotalamusun arkuat çekirdeğinde, ghrelin sentezleyen nöronların NPY/AgRP ve

proopiomelanokortin (POMC) sentezleyen nöronlarla akso-somatic ve akso-dendritik bağlantıları olduğu tespit edilmiştir (Cowley ve ark., 2003). Cowley ve ark.'larının (2001) yaptığı başka bir elektrofizyolojik çalışmada ise beyin kaynaklı ghrelinin, NPY/AgRP nöronlarını ateşleyerek, bu peptidler üzerinden GABA-erjik inhibitör etkiyi arttırdığı tespit edilmiştir. İkinci olarak ise, ghrelinin vagal sinir stimülasyonu yaparak antikolvulsan aktivite ortaya çıkardığı düşünülmüştür (Macdonalds, 1997). Vagal sinirin stimülasyou, tedaviye dirençli epilepsi hastalarının %30'unda, nöbet frekansını %50 oranında azalttığı saptanmıştır (Ben-Menachem ve ark., 1999; Handforth ve ark., 1998; Morris ve Mueller, 1999).

Pilokarpin modeli deneysel epilepside ghrelinin nöroprotektif etkisi olduğu çalışılmıştır. Pilokarpinle oluşturulan nöbetlerde hipokampal nöronlarda kayıp olduğu ve ghrelinin buradaki nöronal ölümü engellediği belirtilmiştir. Ghrelin, hipokampal nöronlarda fosfoinositid-3-kinaz (PI3K)/Akt yolağını aktive ederek bu nöronal ölümün engellendiği düşünülmektedir (Xu ve ark., 2009; Chung ve ark., 2007). Bu yolak, intraselüler mekanizmalar aracılığıyla nöronların proliferasyonunda ve sağ kalımda önemli rol oynamaktadır (Cuevas ve ark., 2001; Franke ve ark., 1997; Henshall ve ark., 2002). Bunun yanı sıra, ghrelinin mitokondrial yolakları kullanarak da anti-apoptotik özellik gösterdiği de söylenmektedir (Miao ve ark., 2007; Xu ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2007). Özellikle, pilokarpinle oluşturulan nöbetler 24 saat içinde, önce Bax proteinini artırıp, sonra Bcl-2 proteinini azaltarak kaspaz-3 aktivasyonuna neden olmaktadır. Ghrelin ise, hem Bax hem de Bcl-2 proteini oranını azaltarak kaspaz-3 aktivasyonunu inhibe etmekte ve bu sayede hipokampal nöronları ölümden korumaktadır (Xu et al., 2009). Ayrıca ghrelin, kainik asitin mikroglia ve astrositler üzerindeki aktivasyonunu da azaltmakta, tümör nekroz faktör alfa (TNF_{α}), interlökin 1 beta ($IL\text{-}1_{\beta}$) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi proinflamatuar mediatörlerin ekspresyonunu bloke ederek, metaloproiteinaz-3 expresyonunu engellemektedir. Metaloproteinaz-3 hipokampal nöronlarda hasara neden olmaktadır (Lee ve ark., 2010).

Yapılan deneylerde, ghrelinin NO sentezini uyardığı ve bu sayede NO yolağıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir (Korbonits ve ark., 2004). Penisilin modeli deneysel epilepsi oluşturarak yapılan başka bir çalışmada ise, ghrelinin doz bağımlı olarak antiepileptik etki gösterdiği ve nitrik oksit (NO) yolağıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ghrelinin antiepileptiform aktivitesi seçici nitrik oksit sentez inhibitörü

7-Nitroindazol ile etkilenmemekte, spesifik olmayan nitrik oksit sentez inhibitörü (L-NAME) ile geri döndürülebilmektedir. Bu bulgular, ghrelinin NO yolağını kullanarak eksitatör ve inhibitör nörotransmitter sistemler arasındaki dengeyi etkilediğini göstermektedir (Aslan ve ark., 2009).

Ghrelinin endokanabinoid salınımını artırdığını yönünde çalışmalar vardır. Ghrelinin GHS-R1a reseptörünü bağlanması intraselüler Ca^{+2} iyon seviyesini artırarak protein kinaz C'yi (PKC) aktive etmekte ve PKC'nin uyarılması da di-açil gliserol lipazı kative ederek bir endokanabioid olan 2-Araşidonil gliserol (2-AG) salınımını uyarmaktadır. 2-AG ise presinaptik nöronda CB_1 reseptörüne bağlanarak glutamat salınımını azalttığı gösterilmiştir (Kola ve ark., 2008), (Şekil 3).

2.3.3.2. Ghrelin ve Epilepsi: İnsanlarda Yapılan Çalışmalar

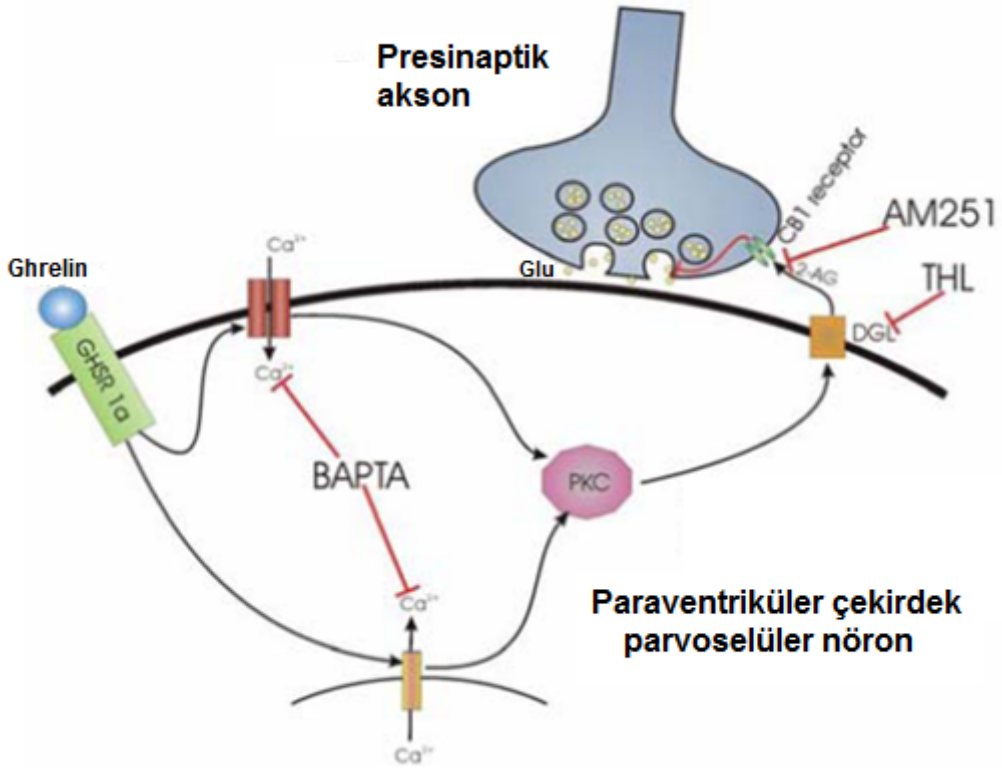
Ghrelin ile ilgili olarak yapılan çalışmalar önce hayvan deneyleriyle başlamış. Daha sonra insan deneyleriyle devam etmiştir. İnsanlarda ilk yapılan çalışmalarda, epilepsi hastalarında serum total ghrelin seviyeleri yüksek olarak bulunmuştur (Ataie ve ark., 2011; Berilgen ve ark., 2006; Obay ve ark., 2007). Ghrelin hormonu yüksek seviyelerinin, GH ve prolaktin salgısına etki ederek nöbet oluşumunu etkilediği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, ghrelinin uykuda görülen yavaş dalgaları arttırarak uyku düzenlenmesinde etkili olduğu ve non-REM dönemini uzattığı tespit edilmiştir (Weikel ve ark., 2003; Van Cauter ve ark., 2008; Van Cauter & Knutson, 2008). Buradan yola çıkarak, serum ghrelin seviyelerinin yüksekliği ve non-REM döneminin uzaması epilepsi hastalarında nöbet aktivitesine yatkınlığı arttırdığı düşünülmektedir (Berilgen ve ark., 2006).

Greco ve ark. (2005) valproik asit tedavisi gören epilepsi hastalarında ghrelin seviyesinin diğer epilepsi hastalarına göre anlamlı olarak düştüğünü, hatta zayıf hastaların ghrelin seviyelerinin de altında olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca, valproik asit tedavisi gören hastaların serum ghrelin seviyelerinin karbamazepin tedavisi görenlere oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Prodam ve ark., 2009).

Ghrelin hormonunun bu yükselişinin, nöbet aktivitesinin veya antiepileptik ilacın hipotalamo-hipofizer yolağa etki ederek büyüme hormonu salınımını azaltması olarak açıklanmaktadır (El-Khayat ve ark., 2010). GABA konsantrasyonunun düşmesi ya da

GABA antagonistleri kortikal epilepsi oluşumunu tetiklemektedir. GABA agonistleri ise büyüme hormonu salınımını arttırmaktadır (Tamminga ve ark., 1978).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, ghrelin hormonunun epilepsi hastalarında düşmesine rağmen serum ve salyada kromogranin-A ve obestatin seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır (Dag ve ark., 2010). Kromogranin-A sekresyon yapan endokrin hücrelerde ve nöron veziküllerinde bulunan asidik bir glikoproteindir ve stres belirteci olarak bilinmektedir (Hendy ve ark., 1995; Zheng ve Moritani, 2008). Ghrelinin öncül proteini pre-proghrelinin parçalanmasıyla açığa çıkan obestatinin ise ghrelinin antagonisti olduğu düşünülmüştür (Tang ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2005). En ilginç kısım ise, epilepsi hastalarında aynı genden sentezlenen obestatin artmakta, ghrelin ise azaltmaktadır. Bu mekanizma henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (Dag ve ark., 2010). Ek olarak, epilepsi hastalarında yüksek dansiteli lipoproteinin (HDL) serum düzeylerinde düşüş saptanmıştır (Aydin ve ark., 2009; Dag ve ark., 2010). Bu düşüş ghrelinle karşılaştırıldığında normal kabul edilebilir, çünkü ghrelin, HDL ile işbirliği yapan hormonlardan bir tanesidir. Yani, ghrelin ve HDL'nin artışı ve düşüşü birbirleriyle korele olmaktadır (Beaumont et al., 2003).



Şekil 3: *Parvoselüler nöronlarda ghrelinin endokanabinoid salınımına etkisi (Kola ve ark., 2008).*

2.4. Kanabinoidler

Esrar (marijuana), eski çağlardan beri bilinen, bağımlılığa yol açan ve dünyada en yaygın kötüye kullanılan yasadışı maddedir. Esrarın kötüye kullanım sıklığı sigara, kafein ve alkolden hemen sonra gelir. Esrar bitkisinin içinde bulunan en etkin psikoaktif madde olan Δ^9-tetrahidrokanabinol (Δ^9-THC) ve türevleri (kanabinoidler), yalnızca madde bağımlılığı hususunda değil, aynı zamanda tedavi edici kullanımı açısından da son zamanlarda araştırmacılar için büyük önem taşımaktadır (Alıcı ve Uzbay, 2006). Δ^9-THC'un ve endojen kanabinoidlerin keşfi, kanabinoid reseptörlerinin tanımlanması ve klonlanmasıyla son yıllarda kanabinoidlerin etki mekanizmalarına dair bilgilerimiz artmıştır (Herkenham ve ark., 1990). Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda, CB_1 ve CB_2 olmak üzere iki tane kanabinoid reseptörü tanımlanmıştır (Wallace ve ark., 2003). Kanabinoid reseptörlerinin uyarılması, insanlarda öforiye, duysal algılamada artışa, taşikardiye, ağrı kesici etkiye, antikonvulsan etkiye, konsantrasyon güçlüğüne ve algıda zayıflamaya neden olmaktadır.

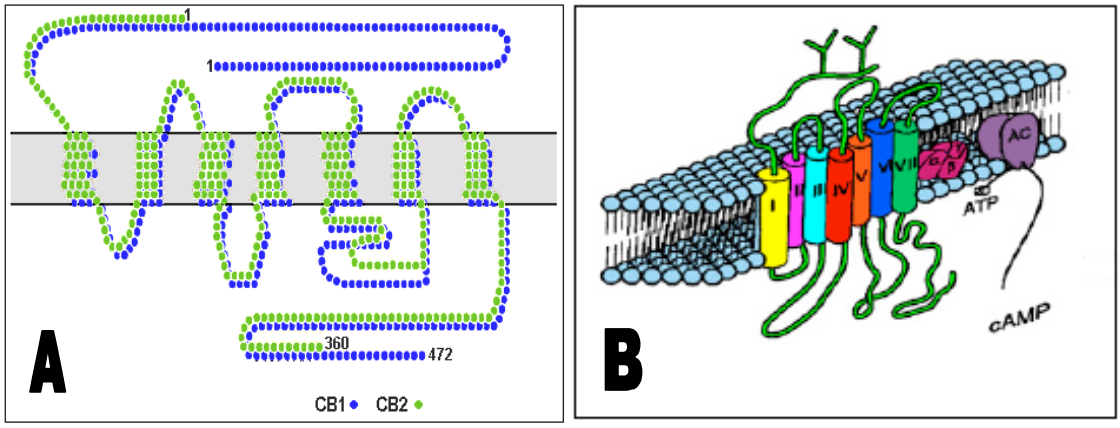
YIL	BULGULAR
1964…….	*Cannabis sativa*'nın aktif yapısı Δ^9-THC izole edildi
1988…….	Sıçan beyinlerinde, kanabinoid bağlama sisteminin yeri keşfedildi.
1990…….	Sıçanların G proteini ile bağlantılı kanabinoid reseptör tip 1 (CB1) klonlandı.
1991…….	İnsan CB1 reseptörü klonlandı.
1992…….	İlk endojen kanabinoid olan anandamid keşfedildi.
1993…….	Periferdeki CB2 reseptörü klonlandı.
1995 ……....	Mide ve beyindeki ikinci endokanabinoid olan 2-araşidonil gliserol (2-AG) izole edildi.
2000-2005…...	CB1 reseptörlerinin yaygın olduğunun bulunması ile periferik EKS karakterize edildi ve EKS'nin obezitedeki rolü, sigara bağımlılığı, kalp-damar sistemi ve metabolik fonksiyonları ile ilgili çalışmalar yapıldı.

Tablo 3: *Kanabinoid sistemin tarihçesi (Plutzky ve Woods, 2006).*

2.4.1. Kanabinoid Reseptörleri (CB_1 ve CB_2)

CB_1 reseptörü nöronlarda bol miktarda bulunmaktadır. Bu zamana kadar yapılan çalışmalar, kanabinoidlerin davranışsal ve nöronal etkilerinin hemen hepsinin altında CB_1 reseptörünün rol oynadığını göstermektedir (Herkenham ve ark., 1990). CB_1 reseptörünün beynin hangi bölümlerinde var olduğu insan ve hayvan deneyleriyle açıkça ortaya konulmaktadır (Mailleux ve Vanderhaeghen,1992; Glass ve ark., 1997). Birçok beyin bölgesinde, kanabinoid reseptör yoğunluğu kortikal benzodiazepin, striatal dopamin ve hatta beyin glutamat reseptörleri kadar yoğun bir şekilde görülmektedir (Herkenham ve ark., 1990). Ancak, CB_1 reseptörlerinin en fazla bazal gangliyonlarda

(substantia nigra, globus pallidus, enteropedünküler nükleus ve lateral kaudat putamen) ve serebellumun moleküler tabakasında bulunduğu kanıtlanmıştır.



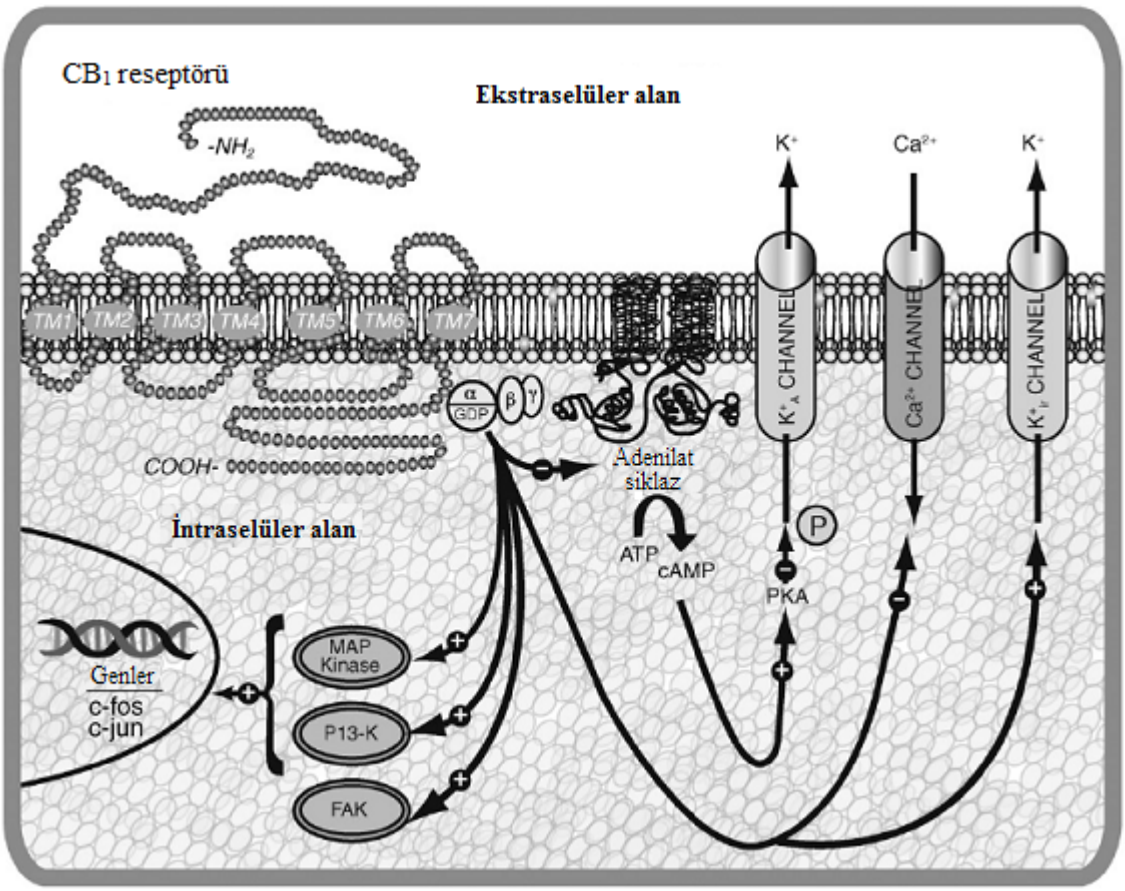
Şekil 4: *A) CB_1 ve CB_2 reseptörlerinin yapısı, B) CB_1 reseptörünün 3 boyutlu görünümü*

Δ^9-THC ve sentetik analoglarının hem yapısal selektivite hem de stereoselektivite göstermelerinden yola çıkılarak kendilerine özgü bir reseptörlerinin olduğu düşüncesi ilk kez sentetik kanabinoid agonisti [3H]CP-55,940'ın sıçan beyin membranına yüksek afiniteli, doygun ve stereoselektif bağlanmasıyla gösterilmiştir. Bu bağlanma bölgesi G-proteiniyle kenetlenmiş (GPCR) bir reseptör olan CB_1'dir (Şekil 4), (Matsuda ve ark., 1990).

CB_2 reseptörleri ise, CB_1 reseptörlerinden farklı olarak çoğunlukla periferde bulunmaktadır. Yapılan çalışmlarda ana etkilerinin bağışıklık sistemi üzerine olduğu bilinmektedir (Herkenham ve ark., 1990). Apoptozun uyarılması, profilerasyonun ve sitokin ile kemokin üretiminin baskılanması yoluyla immünsupresyona yol açtığı da düşünülmektedir (Rieder ve ark., 2010). Ayrıca, insan PC-3 prostat kanseri hücrelerinin büyümesini durdurduğu öne sürülmüştür (Olea-Herrero ve ark., 2009).

CB_2 reseptörleri ağırlıklı olarak, dalağın marjinal zonunda, tonsillerde, makrofajlarda, B lenfositlerde, doğal öldürücü (natural killer) hücrelerde, monositlerde, T-lenfositlerde, polimorfonükleer nötrofillerde ve astrositlerde bulunmaktadırlar (Ameri, 1999). Son yıllarda CB_2 reseptörlerinin beyin sapında, kortekste ya da serebellumda da yer aldığı ve kusmanın kontrolünde rolü olabileceği de bildirilmiştir (Van Sickle ve ark., 2005).

Aynı CB_1 reseptörü gibi, CB_2 reseptörü de G-proteiniyle bağlı reseptördür. CB_2 reseptörünün aktivasyonu (Gi/o proteininin altbirimi üzerinden) adenilat siklazı inhibe eder ve sonuçta yine protein kinaz inhibe olur. CB_1 reseptörlerinin aksine CB_2 reseptörü Q tipi Ca^{+2} kanalları veya içe yönelik rektifiye edici K^+ kanallarını uyarmaz, (Felder ve ark., 1995). Bu zamana kadar yapılan çalışmalarda, henüz CB_2 reseptör antagonisti bulunamamıştır.

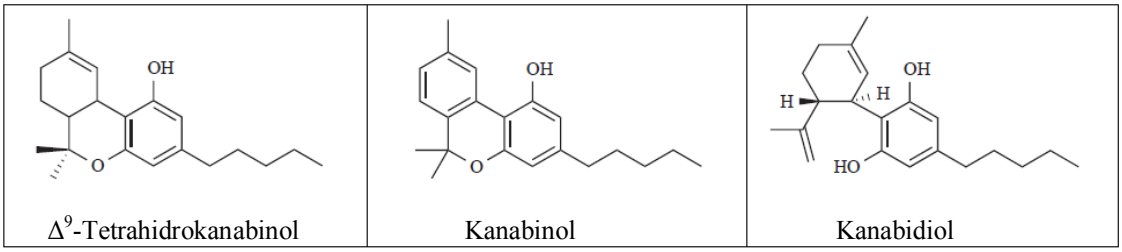


Şekil 5: *CB_1 reseptörünün intraselüler sinyal yolağı. Adenilat siklaz adenozin trifosfattan (ATP) siklik AMP (cAMP) oluşumuna aracılık etmektedir. CB_1 reseptör aktivasyonu ise, Gi/o proteinlerini uyararak adenilat siklazı inhibe etmektedir. Normalde cAMP, protein kinaz A'nın (PKA) düzenleyici alt ünitesine bağlanarak PKA'yı aktive etmekte, PKA'nın aktivasyonu ise A-tipi potasyum kanalının (K^+_A) fosforillenmesine ve kanalın kapanmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, CB_1 reseptör aktivasyonu cAMP oluşumunu engellemekte ve böylece K^+_A kanalı uyarılmaktadır. Yine, CB_1 reseptörü tarafından Gi/o proteinlerinin uyarılması, direkt olarak N-tipi veya P/Q-tipi Ca^{+2} kanallarının inhibisyonuna, içe yönelik rektifiye edici K^+ kanallarının (K^+_{ir}) ise aktivasyonuna neden olur. Bunların yanında, CB_1 reseptör aktivasyonu fokal adezyon kinazı (FAK), fosfotidil inozitol-3-kinaz ve mitojen ile aktive edilmiş protein kinaz (MAP kinaz) gibi birçok intraselüler kinazın salınımını uyarmaktadır. Kinazların uyarılması, c-fos ve c-jun gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonuna neden olmaktadır. Ancak, buradaki mekanizmaların tümü aynı hücre içerisinde gerçekleşmeyebilir (Kyrou ve ark., 2006).*

2.4.2. Fitokanabinoidler

Fitokanabinoidler, *Cannabis sativa* (esrar, marijuana) bitkisinden elde edilen, kanabinoid resptörlerine bağlanabilen bitkisel bileşiklerdir. Yaklaşık sayıları 70 civarındadır. Bunlardan en çok bilineni, 1964 yılında bulunan ve keşfedilmiş ilk kanabinoid bileşiği olan Δ^9-THC'dir. Daha sonra kanabiol ve kanabidiol keşfedilmiştir (ElSohly ve Slade, 2005), (Şekil 6, 8).

Δ^9-THC hem CB_1 hem de CB_2 reseptör agonistidir. Δ^9-THC, CB_1 reseptörlerinin parsiyel agonistidir. Yani, sentetik agonistler (CP 55,940, WIN 55,212-2) gibi reseptörde maksimum düzeyde bir aktivasyon ortaya çıkaramamaktadır. Δ^9-THC'nin reseptörüne bağlanması adenilat siklazı bloklamakta, MAP-kinazı ise aktive etmektedir. Bunun yanında, Gi/o proteinleri aracılığıyla N-tipi ve P/Q-tipi kalsiyum kanallarını bloklamakta, potasyum kanallarını ise aktive etmektedir (Şekil 5). Kalsiyum kanallarının inhibisyonu, glutamat, γ-amino-bütirik asit (GABA), asetilkolin ve norepinefrin gibi nörotransmitterlerin presinaptik terminallerden salınımını azaltmaktadır (Ameri ve ark., 1999).



Δ^9-Tetrahidrokanabinol | Kanabinol | Kanabidiol

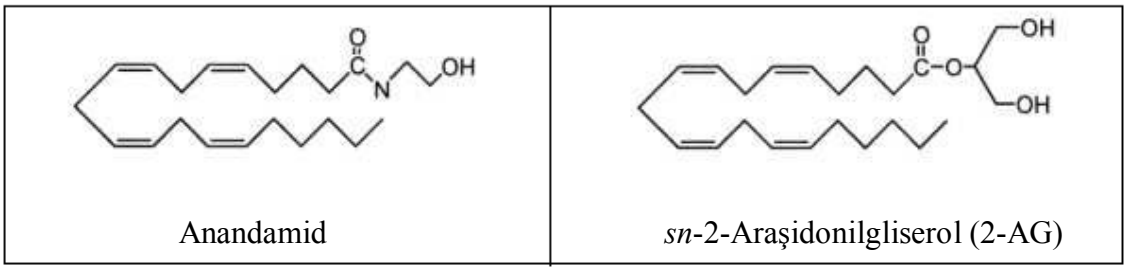
Şekil 6: *En çok bilinen fitokanabinoidlerin yapısı.*

2.4.3. Endokanabinoidler

Kannabinoid reseptörlerine, bitkisel kaynaklı fitokanabinoidlerden başka endojen maddelerin ve araşidonik asit türevi kimyasal yapıların da etkin şekilde bağlanabildiği gösterilmiştir. Endokanabinoidlerden ilk olarak, endojen bir lipid olan araşidoniletanolamin (AEA) 1992 yılında domuz beyninde keşfedilmiş ve CB_1'e bağlandığı gosterilmiştir. Bu endojen lipide Sanskritcede keyif ve mutluluk verici anlamına gelen "ananda" ile kimyasal yapısındaki "amid"in birleşimi olarak Anandamid ismi verilmiştir. Anandamid'in tanımlanmasından sonra 1995 yılında yine bir araşidonik asit türevi olan ester yapısındaki 2-araşidonil gliserol (2-AG) gösterilmiştir (Şekil 7, 8).

Endokanabinoidler, *in vivo* olarak membran fosfolipidlerinden sentezlenen lipofilik sinyal moleküllerdir. Anandamid, bir membran fosfolipid prekürsörü olan N-araşidonik fosfotidiletanolamidin fosfolipaz D tarafından enzimatik olarak katalizlenmesiyle, 2-AG ise diaçilgliserol lipaz tarafından diaçilgliserolden sentezlenir. İhtiyaca göre sentezlenip yıkılma özelliğine sahip olan endokannabinoidlerden anandamid, yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından yağ asidi ve etanolamine hidrolize edilir. FAAH enzimi *in vivo* olarak sadece anandamidin yıkılımına spesifik olup, 2-AG'yi sadece *in vitro* ortamlarda yıkabilir. FAAH enzimi hipokampus, serebellum ve amigdalada postsinaptik terminallerde bulunmaktadır (Di Marzo ve ark., 1994; Maccarrone ve ark., 1998; Goparaju ve ark., 1998; Lang ve ark., 1999; Gulyas ve ark., 2004; Sugiura ve ark., 2006; Cinar ve Cinar, 2011).

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



Anandamid | *sn*-2-Araşidonilgliserol (2-AG)

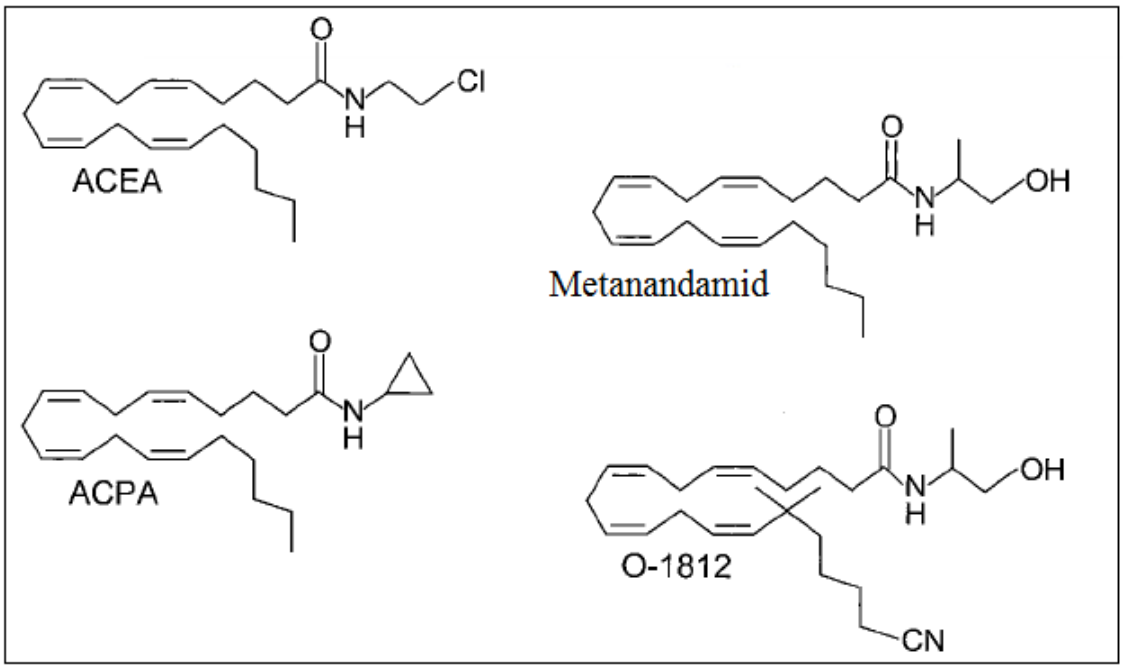
Şekil 7: *En çok bilinen endokanabinoidlerin yapısı.*

2.4.4. Sentetik Kanabinoidler

2000'li yıllarda ortaya çıkan bu kanabinoidler, laboratuar ortamında, bitkilerden elde edilen doğal kanabinoidlerle kimyasal maddeleri karıştırarak oluşturulurlar. Sentetik kannabinoidler, içerdikleri çeşitli çalışmalarla saptanan bu bitkisel karışımların Δ^9-THC gibi CB_1 ve CB_2 reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterdikleri saptanmıştır.

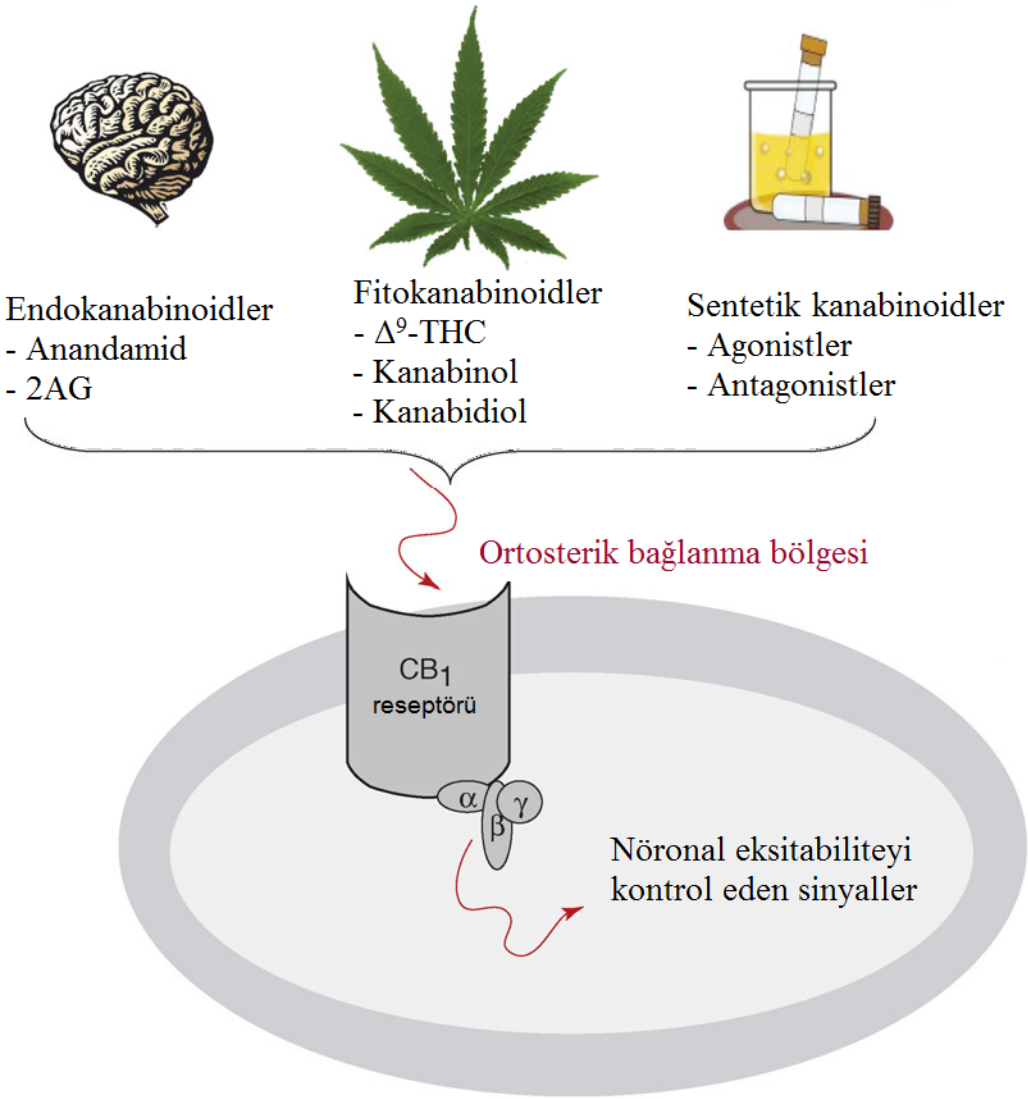
Bu maddeler sıklıkla sigara içerisinde içilerek kullanılmakta olup esrar etken maddesi THC'nin yarattığına benzer psikoaktif etki göstermektedirler (Uchiyama ve ark., 2010).

Δ^9-THC plato etkisi gösteren bir parsiyel agonisttir ve bunun ötesinde eklenen madde miktarı etkiyi arttırmaz. Diğer taraftan, sentetik kanabinoidler tam agonistlerdir ve bu nedenle de daha yüksek dozlar, plato etkisi yaratmadan daha büyük bir etkiye neden olurlar. Sentetik kanabinoidlerin etki süresi Δ^9-THC'ye göre daha uzun ya da daha kısa olabilir, ancak etkileri daha güçlüdür (Jerry ve ark., 2012). Sentetik kanabinoidler, kannabinoid reseptörelerine daha yüksek bir potens ve afinite gösterirler (Brents ve ark., 2012) ve bazılarının yarı ömürleri daha uzundur ya da aktif metobolitlerin oluşumuna yol açarlar. Bunların yanında sentetik kanabinoidler, Δ^9-THC'ye göre hipertansiyon, taşikardi, varsanılar, ajitasyon, nöbetler ve panik ataklar gibi genelde acil tıbbi tedavi gerektiren ciddi yan etkilerlerle açıkça daha sıklıkla ilişkilidir (Huffman ve Padgett, 2005).

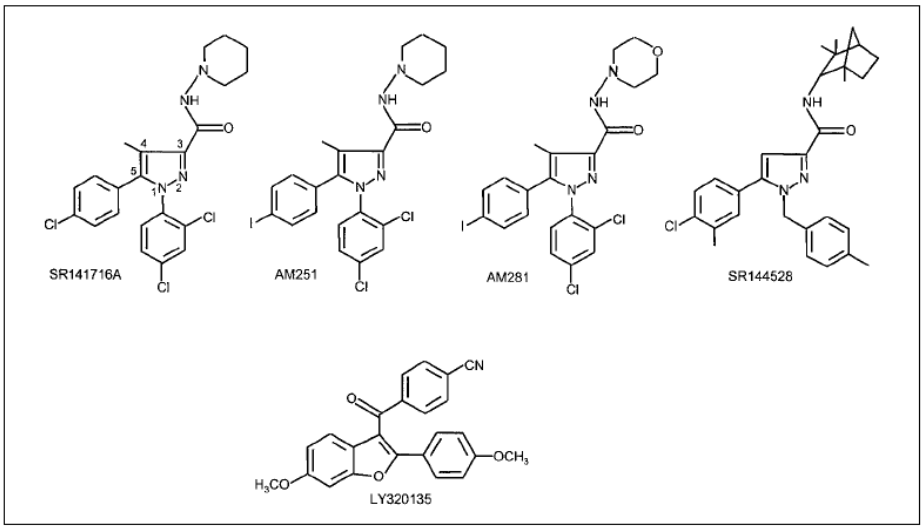


Şekil 8: *CB_1-selektif sentetik kanabinoid reseptör agonistlerinin yapısı.*

Sentetik kanabinoidler, uyuşturucu madde olarak kullanılmalarının yanı sıra bilimsel deneyler için de önemli bir çalışma alanıdır. Uyuşturucu olarak en sık kullanılan kanabinoidler JWH-018, JWH-073, CP-47497, JWH-200 ve kanabisiklo-heksanol iken, bilimsel çalışmalarda en sık ACEA, ACPA, metanandamid, O-1812 (agonistler), SR141716A (rimonabant), AM251, AM281, SR144528 ve LY320135 (antagonistler) kullanılmaktadır (Şekil 9, 10)



Şekil 9: *CB_1 reseptörü ve bu reseptöre bağlanan kanabinoidler (Ross, 2007)*



Şekil 10: *Sentetik kanabinoid reseptör antagonistlerinin yapısı.*

2.4.5. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri

CB1 reseptörleri merkezi sinir sistemi ve periferik organlardaki etkilerinden dolayı pek çok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynarlar. Genel olarak CB1 reseptörünün aktivasyonu ağrı, anksiyete, depresyon, travma sonrası stres bozukluğu, postmenopozal osteoporoz, kanser ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde, inhibisyonu ise obezite, diyabet, karaciğer hastalıkları, alkol ve ilaç bağımlılığı ve tedavisinde terapötik amaçlı kullanılabilirler (Cinar ve Cinar, 2012).

2.4.5.1. Kanabinoidlerin Akut Etkileri

İnsanda kanabinoid bileşikleri genellikle sigara şeklinde içilse de, buharlaştırma ve oral yolla da kullanıldıkları da bildirilmiştir (Vandrey ve ark., 2012). Parenteral yolla kullanımı ise henüz bildirilmemiştir. İçildikten hemen sonra akciğerlerden absorbe edilmesi ve kısa sürede beyin gibi diğer organlara tekrar dağılımın gerçekleşmesiyle kanabinoidlerin akut etkileri genelde bir kaç dakika içinde başlar. Ancak, oral kullanım sonrasında, gıda alımına, sindirim aktivitesine ve ilk geçiş etkisindeki değişikliklere bağlı olarak etkinin başlamasında bir gecikme olabilir. Lipofilik olan bu moleküller, büyük olasılıkla yüksek dağılım hacmine sahiptir ve kronik kullanım sonrasında vücudun yağ içeren kompartmanlarında depolandıkları düşünülmektedir (UNODC, 2013).

CB_1 reseptörlerinin uyarılması akut dönemde, kalp atım hızında artma, konjunktival kızarıklık, fiziksel güçte azalma, iştahın ve yiyecek alımının artması gibi birtakım etkilere yol açmaktadır (Hollister, 1983). Esrarın insanlar üzerindeki subjektif etkileri; heyecanlanma ve fikir uçuşması, duyuların azalması, zaman ve mekan kavramlarının bozulması, duygudurum bozuklukları, illüzyonlar ve halüsinasyonlar şeklinde ortaya çıkar (Dewey, 1986). Bu etkiler alkol ile beraber alındığında daha da artmaktadır. Yapılan hayvan çalışmalarında kanabinoidler azalmış spontan aktivite, analjezi, azalmış rektal ısı ve rijit immobilite (katalepsi)'yi içeren bazı davranış parametrelerini degiştirmektedir. Bu farmakolojik etkiler kemirgenlerde kanabimimetik aktivitenin göstergesi olarak bilinir (Ameri, 1999).

2.4.5.2. Kanabinoidlerin Kronik Etkileri

Merkezi sinir sistemi: Endokannabinoid sistemin merkezi sinir sistemi hastalıklarındaki rolü kannabinoid sistem farmakolojisi alanında en yoğun çalışılan araştırma alanı olmuştur.

Endokannabinoidler CB_1 ve CB_2 reseptörleri aracılığıyla immün yanıtı düzenleyerek nöroprotektif etki gösterirler. Bu mekanizmalardan dolayı endokanabinoid sistem hem epilepsi, travmatik beyin hasarı ve felç gibi akut sinirsel hasarlarda hem de multipl skleroz (MS), Parkinson, Huntington, amyotrofik lateral skleroz (ALS) ve Alzheimer hastalıkları gibi kronik nörodejeneratif hastalıklarda önemli nöroprotektif role sahiptir (Mechoulam, 2002).

Sağlıklı bireylerde, aşırı dozda esrar ve Δ^9-THC kullanımından sonra psikotik belirtilerin (delüzyon, sanrı, bilişsel bozukluklar) gelişimi ve şizofrenlerde ise esrar kullanımının psikotik semptomları depreştirmesi söz konusudur (Emrich ve ark., 1997). Δ^9-THC'nin hayvanlar üzerinde düşük dozlarda anksiyolitik, bazı sentetik kannabioidlerin ise yüksek dozlarında anksiyojenik etkileri görülmüştür (McGregor ve ark., 1996; Arevalo ve ark., 2001). Öte yandan CB1 reseptör aktivasyonu antidepresan benzeri etki gösterebileceği gibi, reseptör blokajı anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilere neden olur. CB1 reseptörü bulunmayan transgenik farelerde anksiyete ve depresyon benzeri bir fenotip görülmüştür (Haller ve ark., 2002).

Bağımlılık: Mezokortikolimbik yolaktaki dopaminerjik nöronlar, endokanabinoidlerin presinaptik CB1 reseptörleri üzerinden aksi yönde sinyal iletimi ile etki gösterip, düzenledikleri glutamaterjik ve GABAerjik afferentler ile kontrol edilmektedir (Melis ve ark., 2004; Robbe ve ark., 2002). İlaç bağımlılığına neden olan kanabinoidleraynı opioidler, nikotin ve alkol gibi etkilerini ventral tegmental alan'da endokannabinoid salınımıyla gösterirler (Maldonado ve ark., 2006).

Ağrı: Esrarın bilinen en eski tıbbi kullanımı ağrı kesici etkisidir. Hayvanlardaki ağrı modellerinde gerek endokanabinoidler gerekse sentetik CB_1 reseptör agonistleri uygulanarak yapılan çalışmalar, kanabinoidlerin kimyasal, mekanik ve termal ağrı uyaranları ile oluşturulmuş akut ağrıya karşı etkili olduğunu göstermektedir (Guindon ve ark., 2006). Ayrıca, kanabinoidlerin inflamasyon kaynaklı ve nöropatik ağrı gibi kronik ağrılarda da etkili oldukları kanıtlanmıştır (Guindon ve Beaulieu, 2006; Li ve ark., 1999). Kanabinoidlerin ağrı kesici özellikleri merkezi sinir sistemi, omurilik ve periferik sinir sisteminin katıldığı karmaşık bir mekanizma ile düzenlenmektedir (Hohmann ve ark., 1998; Hohmann ve Herkenham, 1999).

Obezite: Santral sinir sisteminde endokanabinoid sistem aktivasyonunun oreksijenik etkileri hipotalamus ve limbik sistemdeki yemek yeme davranışını artırması

sonucunda gerçekleşmektedir (Tucci ve ark., 2004; Di Marzo ve ark., 2001). Enerji homeostazını periferde kontrol eden karaciğer, yağ dokusu, pankreas ve iskelet kasları gibi dokularda endokanabinoid sistemin aktivasyonu, metabolik hastalıklarda karında yağ birikimine, hiperglisemiye ve dislipidemiye neden olmaktadır (Osei-Hyiaman ve ark., 2005; Kunos ve ark., 2008).

Kardiyovasküler sistem: Endokanabinoid sistemin damarlar, miyokard, otonom sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi üzerinden önemli kardiyovasküler etkileri buunmaktadır (60,61). CB_1 reseptörleri miyokardda negatif inotropik etki gösterirken, damarlar üzerindeki CB_1 reseptörlerinin ise vasodilatör etkileri bilinmektedir (Batkai ve ark., 2004; Gebremedhin ve ark., 1999).

Kanser: Endokanabinoid sistemin etkilerinin ve mekanizmalarının zamanla anlaşılması ve meme, prostat, glioma, karaciğer, kemik kanserleri gibi birçok kanser türünde son zamanlarda yapılan çalışmalar, endokanabinoidleri katabolize eden enzimlerin ve kanabinoid reseptörlerinin kanserli dokularda fonksiyonel olarak bulunduğunu ve hatta bazı kanser türlerinde arttığını göstermektedir (Endsley ve ark., 2008). CB_1 reseptör aktivasyonu kanserli dokularda hücre bölünmesini, tümör büyümesini, metastazı önleyerek ve programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) artırarak antitümöral etki gösterdiği birçok çalışmada bulunmuştur (Ligresti ve ark., 2006; Ramer ve ark., 2010).

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

2.4.6. Kanabinoidlerin Antikonvulsan Etkileri

İn vitro ve *in vivo* yapılan birçok deneysel epilepsi çalışmalarında çok miktarda kanabinoid analoğu test edilmiştir. Bu çalışmalarda, beynin içindeki endokanabinoid sistem, nöbetlerin düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu gösterilmiştir (Blair ve ark., 2006; Deshpande ve ark., 2007). Kanabinoidlerin antikonvulsan etkilerinin moleküler mekanizması henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak, CB_1 reseptör aktivasyonuyla beraber, doz bağımlı olarak glutaminerjik sistemlerin baskılandığı, GABAerjik sistemlerin ise aktive olduğu düşünülmektedir. (Feigenbaum ve ark., 1989).

Wallace ve ark. (2011), maksimal elektroşok modeli kullanarak yaptıkları çalışmada, Δ^9-THC'nin ve kanabimimetik bileşiklerin (WIN55,212-2) antikonvulsan aktivite gösterdiklerini kanıtlamışlardır. Bu antikonvulsan etkinin kanabinoid CB_1 reseptöründen kaynaklandığını öne sürülmektedir. Yine yapılan diğer çalışmalarda WIN 55,212-2 bileşiğinin status epilepticus modelinde, deneysel pilokarpin modelinde ve nöronal kültür ile oluşturulan epilepsi modelinde CB_1 reseptörü aktivasyonu aracılığıyla, spontan tekrarlayan epileptiform deşarjları bütünüyle baskıladığı gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2003; Blair ve ark., 2006). Bunun yanında, Nakatsuka ve arkadaşları CB_1 reseptör antagonisti AM-251 verildiğinde, CB_1 reseptör agonisti WIN 55,212-2'in etkisinin ortadan kalktığını, spike frekans ve amplitüdünde herhangi bir baskılanma olmadığını kanıtlamışlardır (Nakatsuka ve ark., 2003). Kozan ve arkadaşları ise, penisilinle oluşturulan deneysel epilepsi modelinde, intraserebroventriküler (i.s.v.) enjekte edilen ACEA'nın spike frekansını anlamlı derecede azalttığını, AM251'in ise spike frekansını anlamlı ölçüde arttırdığını bulmuşlardır (Kozan ve ark., 2009). Sonuç olarak, insanlardaki çalışmalarda ve hayvanlarda yapılan birçok nöbet modelinde, kanabinoidlerin doza bağlı olarak antikonvulsan özellikler gösterdiği saptanmıştır (Cunha ve ark., 1980; Karler ve ark., 1981).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

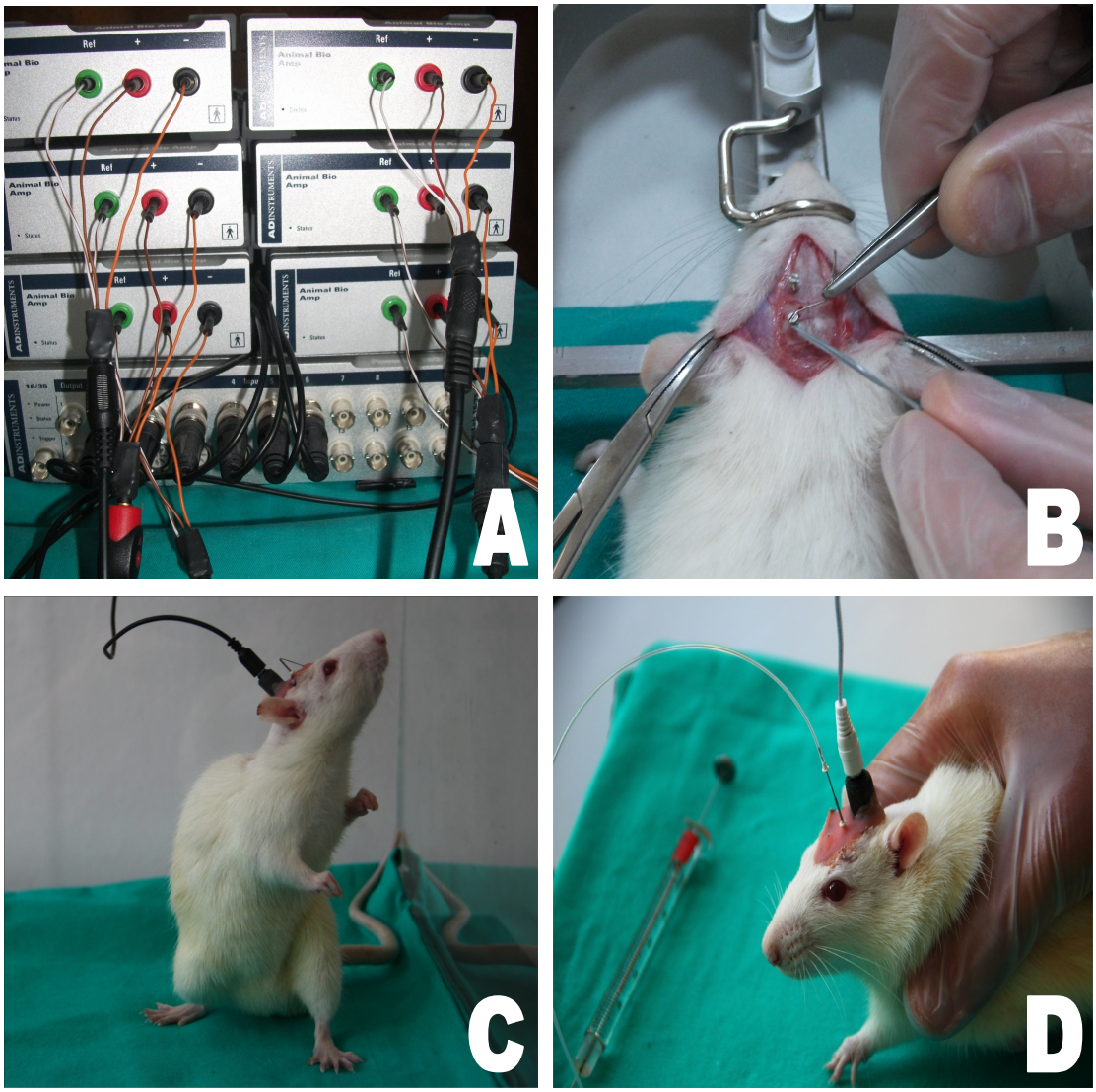
Sunulan çalışmada, ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen 168 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Bu merkezde hayvanlar yem ve su kısıtlaması olmaksızın doğal aydınlık-karanlık döngüsünde 12-16 haftalık oluncaya kadar yetiştirildiler. Hayvanlar, deneysel çalışmalardan yaklaşık 1 hafta önce araştırma merkezinden alınıp Anabilim Dalımızdaki hayvan laboratuarında aynı şartlar sağlanarak kontrol altında tutuldular. Deneysel araştırma standartlarına uymayan sıçanlar çalışma dışı bırakıldılar.

3.2. Elektrokortikogram (ECoG) Kayıtları

3.2.1. Uyanık Sıçanda ECoG Kayıtları

Operasyondan 1 gün önce aç bırakılan sıçanlar, 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin ile anesteziye alındıktan sonra stereotaksi cihazına sabitlendi. Kafa derisi yaklaşık 3 cm uzunluğunda bir insizyonla rostro-kaudal doğrultuda açıldı. Kemik doku üzerindeki zar temizlendikten sonra bregma saptandı (referans noktası). Bir el drilli kullanılarak, 1 mm genişliğinde matkap ucu ile kafatasının 4 ayrı noktasına delik açıldı. Bu deliklerden 3 tanesine elektrokortikogram kaydı için, beyin zarlarına temas edecek şekilde paslanmaz çelik vida yerleştirildi (Şekil 11-B). Yerleştirilen 3 vida, 3 adet 0.5 mm kalınlığındaki kablo ile hayvanın hareketlerini kısıtlayamayacak küçük bir jak çıkışına bağlandıktan sonra vidalar ve intraserebroventriküler (i.s.v.) kanül sıçanın kafasına dental akrilik ile sabitlenip, kurumaya bırakıldı. 45 dakika sürecek bu işlemden sonra enfeksiyonu önlemek için hayvana 3 gün boyunca günde 2 kez intraperitoneal yol ile 50 mg/kg ampisid enjekte edildi. Cerrahi işlemden sonra hayvan 1 hafta dinlenmeye bırakıldı. 1 hafta sonra cerrahi işlem ile yerleştirilen jak çıkışına, jak girişi takıldı (Şekil 11-C) ve bu giriş PowerLab veri kazanım sistemine bağlandı (Şekil 11-A). Bu şekilde beyinden ECoG kaydı elde edildi ve elde edilen bu kayıtlar offline olarak analiz edildi.
Vidalar aşağıdaki koordinatlara göre sabitlendi (Şekil 11-B):

1. Bregmanın 4 mm anterioru, orta çizginin 3 mm sol laterali (Pozitif elektrot)
2. Bregmanın 4 mm posterioru, orta çizginin 3 mm sol laterali (Negatif elektrot)
3. Bregmanın 4 mm posterioru, orta çizginin 3 mm sağ laterali (Toprak elektrodu)



Şekil 11: *Uyanık sıçanda gerçekleştirilen işlemler.*

A- *16 kanallı Powerlab veri kazanım sistemi ve bağlantıları*

B- *Vidalara elektrot kablolarının sarılması işlemi*

C- *Deney sırasında cam kafes içerisindeki hayvanın görüntüsü*

D- *i.s.v. kanülden Hamilton mikroenjektör ile enjeksiyon işlemi*

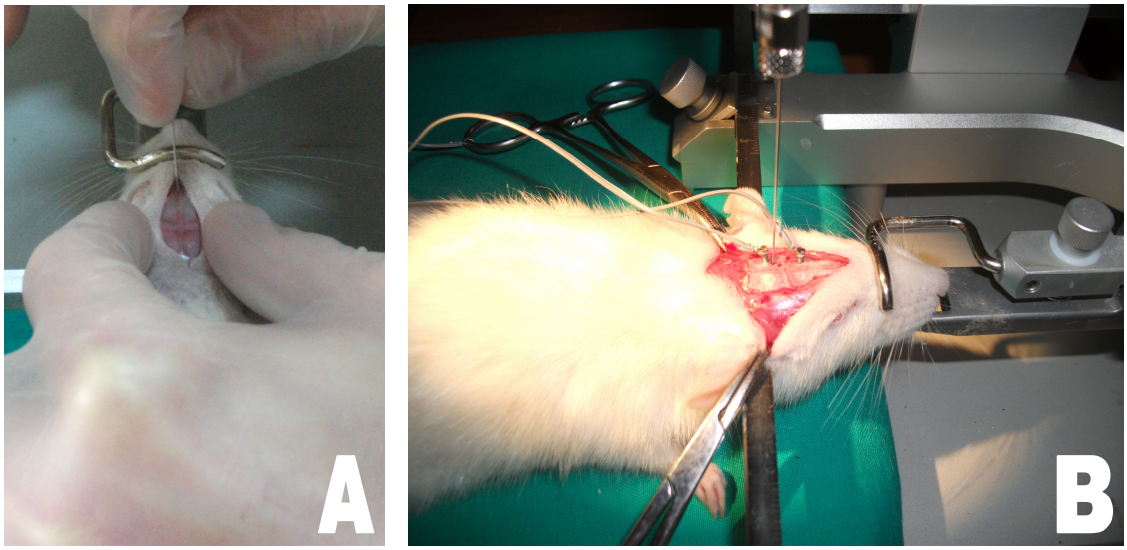
3.2.2. Anestezi Altındaki Sıçanda ECoG Kayıtları

Epileptiform aktivite oluşturmak üzere operasyondan 1 gün önce aç bırakılan sıçanlar, 1,25 gr/kg üretan (i.p.) ile anesteziye alındıktan sonra başının üst kısmındaki tüyler temizlenerek stereotaksik cihaza sabitlendi. Spontan solunuma bırakılan hayvanların kafa derisi rostro-kaudal doğrultuda ortalama 3 cm uzunluğunda bir insüzyonla açıldı (Şekil 12-A). Somatomotor korteks üzerindeki yumuşak doku uzaklaştırıldıktan sonra varsa küçük kanamalar bonewax (kemik mumu) (W810, ETHİCON) yardımıyla durduruldu. Daha sonra bregma (referans noktası) saptandı.

Stereotaksik cihaz ile bregma referans alınarak 1 mm çapında 2 adet delik el drilli yardımıyla açıldı (bregmadan 3 mm lateral, 4 mm rostral doğrultusunda 1 delik; bregmadan 3 mm lateral, 4 mm kaudal doğrultuda 1 delik). Açılan deliklere özel yapım paslanmaz çelik vidalar yerleştirildi ve vidalar vertikal yönde 1 mm derine iletildi. Daha sonra bu vidalara stereo jaktan yapılmış olan dişi elektrot sabitlendi ve erkek jakla birlikte sistem Powerlab veri kazanım sistemine bağlandı. Bu şekilde beyinden ECoG kaydı elde edildi ve elde edilen bu kayıtlar offline olarak analiz edildi.

Vidalar aşağıdaki koordinatlara göre sabitlendi:

1. Bregmanın 4 mm anterioru, orta çizginin 3 mm sol laterali (Pozitif elektrot)
2. Bregmanın 4 mm posterioru, orta çizginin 3 mm sol laterali (Negatif elektrot)
3. Toprak elektrot ekartasyon için kullanılan mosquitoya sarıldı



Şekil 12: *Anestezi altındaki sıçana uygulanan işlemler.*

A- *Kafa derisinin rostro-kaudal doğrultuda açılması*

B- *Hamilton mikroenjektör ile intrakortikal penisilin enjeksiyonu*

3.3. İlaçlar ve Veriliş Yolları

Uyanık sıçana yapılan tüm enjeksiyonlar i.s.v. kanül aracılığıyla gerçekleştirildi. Eksternal kanül bregma noktasından 1.1 mm lateral, 1.5 mm rostral ve 3.2 mm derine yerleştirildi (lateral ventriküle 1 mm mesafeye kadar). Deney günü, internal kanül ise hamilton mikroenjektöre bağlandı ve eksternal kanülün içinden 4.2 mm derine ilerletilerek enjeksiyon gerçekleştirildi (Şekil 11-D).

Anestezi altındaki sıçanda ise, Hamilton mikroenjektör ile direkt olarak 1.1 mm lateral, 1.5 mm rostral ve 4.2 mm derinliğe i.s.v. enjeksiyonlar gerçekleştirildi. Beyin korteksine yapılan penisilin enjeksiyonu, Bregma noktasından 2 mm lateral, 2 mm rostral ve 2.5 mm derinliğe yine Hamilton mikroenjektörü aracılığıyla intrakortikal olarak enjekte edildi (Şekil 12-B).

Penisilin G Potasyum :

Moleküler formülü: $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ (İ.E. Ulagay 1.000.000 Ünite)

Moleküler ağırlığı: 372.48 g/mol

Çözündürme ve saklama: Uyanık sıçanlarda deneyden hemen önce 67 mg penisilin tartılarak 1 ml distile suda çözündürüldü. Oluşan çözeltiden 3µl Hamilton ile çektiğimizde 300 IU penisilin elde ettik. Anestezi altındaki sıçanlarda ise deneyden hemen önce 67 mg penisilin tartılarak 0.5 ml distile suda çözündürüldü. Oluşan çözeltiden 2.5 µl Hamilton ile çektiğimizde 500 IU penisilin elde ettik.

Uygulanma şekli: Uyanık sıçanda spike aktivitesi oluşturmak üzere 300 IU dozunda 3 µl hacimde (i.s.v.) olarak yukarıda belirtilen koordinatlarda enjekte edildi (çözücü: distile su). Anestezili deneylerde ise 500 IU dozunda 2.5 µl hacimde Penisilin-G kortekse (i.k.) enjekte edildi

Ghrelin : (Rat)

Moleküler formülü: $C_{139}H_{231}N_{45}O_{41}$ (Tocris 2951)

Moleküler ağırlığı: 3188.63 g/mol

Çözündürme ve Saklama: 1 mg ghrelini 2 ml distile suyla çözdük ve çözeltiyi ikiye böldük. 1 mililitresinin üstüne 1 ml daha ekledik ve 0.5 µg ghrelin (2 µl) için yeterli hacme ulaştık. Her iki çözeltiyi de 5 µl'lik hacimlerde ependorflara bölerek -20 ^{0}C'de deney gününe kadar dondurduk ve deney günü enjeksiyondan 15 dakika önce çözündürerek oda sıcaklığına getirildi.

Uygulanma şekli: Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra, etkileşim deneylerinde maddenin uygulanmasından 10 dakika sonra 0.5 µg ve 1 µg dozlarında 2 µl hacimde i.s.v. olarak enjekte edildi.

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

Moleküler formülü: $C_{22}H_{21}N_4OCl_2I$ (Sigma A6226)

Moleküler ağırlığı: 555.24 g/mol

Çözündürme ve Saklama: 10 mg AM-251 önce 28 ml DMSO ile çözündürüldükten sonra üzerine 12 ml SF eklendi. Böylece 40 ml solüsyon içinde 10 mg AM-251 elde ettik. Oluşan çözelti 20 µl'lik ependorflara bölünerek -20 ^{0}C'de donduruldu ve enjeksiyondan 15 dakika önce çözündürerek oda sıcaklığına getirildi.

Uygulanma şekli: Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra 0.25 µg ve 0.5 µg dozlarında 2 µl hacimde i.s.v. olarak enjekte edildi.

ACEA : (Araşidonyl-2- chloroethylamide hydrate)

Moleküler formülü: $C_{139}H_{231}N_{45}O_{41}$ (Sigma A9719)

Moleküler ağırlığı: 3188.63 g/mol

Çözündürme ve Saklama: 25 mg ACEA önce 4.667 ml DMSO ile çözündürüldükten sonra üzerine 2 ml SF eklendi. Böylece 40 ml solüsyon içinde 6.667 mg ACEA elde ettik. Oluşan çözelti 20 µl'lik ependorflara bölünerek -20 ^{0}C'de donduruldu ve enjeksiyondan 15 dakika önce çözündürerek oda sıcaklığına getirildi.

Uygulanma şekli: Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra, etkileşim deneylerinde maddenin uygulanmasından 10 dakika sonra 2.5 µg ve 7.5 µg dozlarında 1 µl hacimde i.s.v. olarak enjekte edildi (çözücü: DMSO/Salin: 7/3).

3.4. Deney Grupları

Uyanık sıçanlarda deneysel epilepsi oluşturmak için 300 IU (i.s.v.) Penisilin-G potasyum kullanıldı. Anestezili hayvanlarda ise 500 IU Penisilin-G potasyum kortekse enjekte edildi. Ghrelinin epileptiform aktivite üzerine en etkin ve etkisiz dozları daha önce laboratuarımızda yapılmış olan bir çalışmanın verilerine dayanarak belirlendi (Aslan ve ark., 2009). Kanabinoid sistemin uyanık sıçanda epileptik aktivite üzerine etkilerini araştırmak için de CB1 reseptör agonisti ACEA 7.5 µg (i.s.v.) ve CB1 reseptör antagonisti AM-251 0.25 µg (i.s.v.) kullanıldı. Bu maddelerin dozları yine laboratuarımızda daha önce yapılmış olan bir çalışma baz alınarak çalışıldı (Kozan ve ark., 2009) Ardından da iki sistemin birbiri ile etkileşimini incelemek için ghrelin ile kanabinoid reseptör agonistleri ve antagonistleri kombine edilerek çalışıldı.

Deney grupları aşağıdaki gibi belirlenmiştir:

1. Kontrol grubu (uyanık sıçan): 3 µl serum fizyolojik (SF) i.s.v. enjeksiyonun etkisini kontrol etmek amacıyla kanülden lateral ventriküle uygulandı (n=7).

2. Kontrol grubu (anestezili sıçan): 2.5 µl SF intrakortikal olarak penisilin enjeksiyonlarının yapıldığı koordinatlar üzerinden somatomotor kortekse uygulandı (n=7).

3. Penisilin (300 IU) grubu (uyanık sıçan): 300 IU penisilin i.s.v. olarak uygulandı, 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).

4. Penisilin (500 IU) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandı ve 3 saat boyunca ECoG kaydı alındı (n=7).

5. Penisilin (300 IU) + AM-251 (0.25 µg) grubu (uyanık sıçan): 300 IU penisilin i.s.v. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM25 0.25 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

6. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.25 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 0.25 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

7. Penisilin (300 IU) + ACEA (7.5 µg) grubu (uyanık sıçan): 300 IU penisilin i.s.v. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ACEA 7.5 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

8. Penisilin (500 IU) + ACEA (7.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ACEA 7.5 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

9. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 0.5 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

10. Penisilin (500 IU) + ACEA (2.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ACEA 2.5 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

11. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 (0.25 µg, i.s.v.) verildi. AM-251'den 10 dk sonra ACEA (7.5 µg, i.s.v.) uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

12. Penisilin (500 IU) + Ghrelin grubu (1 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ghrelin 0.5 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

13. Penisilin (500 IU) + Ghrelin (0.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ghrelin 1 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

14. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 (0.25 µg, i.s.v.) verildi. AM-251'den 10 dk sonra ghrelin (1 µg, i.s.v.) uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

15. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 (0.5 µg, i.s.v.) verildi. AM-251'den 10 dk sonra ghrelin (1 µg, i.s.v.) uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

16. Penisilin (500 IU) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ghrelin (0.5 µg, i.s.v.) verildi. Ghrelinden 10 dk sonra ACEA (2.5 µg, i.s.v.) uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

17. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 (0.25 µg, i.s.v.) verildi. AM-251'den 10 dk sonra ghrelin (0.5 µg, i.s.v.) uygulandı. Ghrelinden 10 dk sonra ise ACEA (2.5 µg, i.s.v.) enjekte edildi ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

18. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 (0.5 µg, i.s.v.) verildi. AM-251'den 10 dk sonra ghrelin (0.5 µg, i.s.v.) uygulandı. Ghrelinden 10 dk sonra ise ACEA (2.5 µg, i.s.v.) enjekte edildi ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

19. Penisilin (500 IU) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra ghrelin (1 µg, i.s.v.) enjekte edildi. Ghrelinden 10 dk sonra ACEA (7.5 µg, i.s.v.) uygulandı ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

20. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 (0.25 µg, i.s.v.) verildi. AM-251'den 10 dk sonra ghrelin (1 µg, i.s.v.) uygulandı. Ghrelinden 10 dk sonra ise ACEA (7.5 µg, i.s.v.) enjekte edildi ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

21. Penisilin (500 IU) + AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu (anestezili sıçan): 500 IU penisilin i.k. olarak uygulandıktan 30 dk sonra AM-251 (0.5 µg, i.s.v.) verildi. AM-251'den 10 dk sonra ghrelin (1 µg, i.s.v.) uygulandı. Ghrelinden 10 dk sonra ise ACEA (7.5 µg, i.s.v.) enjekte edildi ve 3 saat ECoG kaydı alındı (n=7).

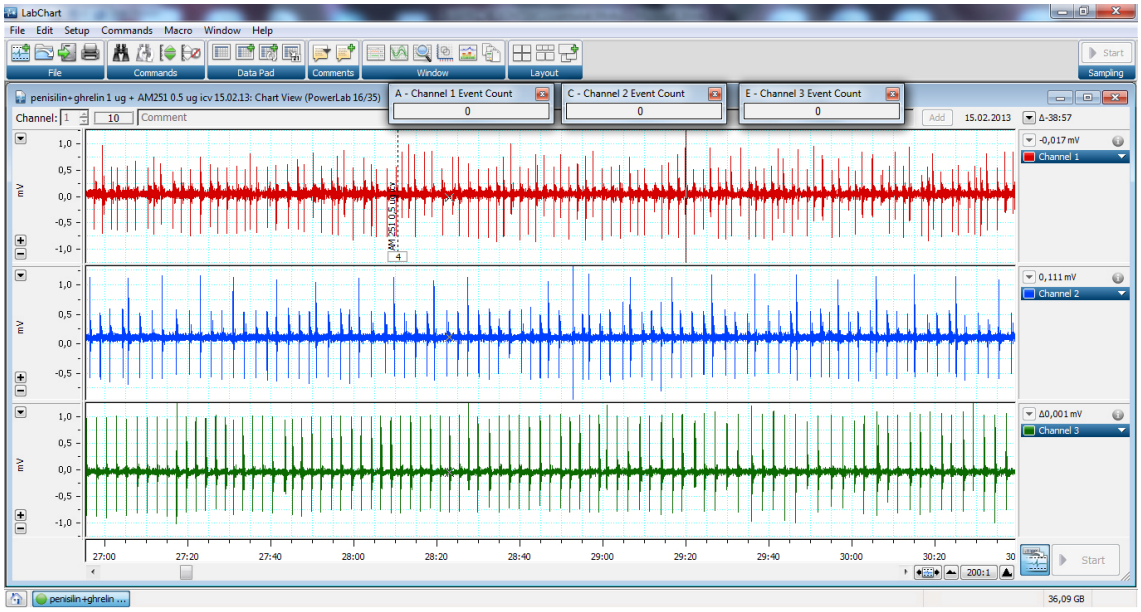
22. Ghrelin grubu: Tek başına ghrelin 1 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saatlik ECoG kaydı alındı (n=7).

23. ACEA grubu: Tek başına ACEA 7.5 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 3 saatlik ECoG kaydı alındı (n=7).

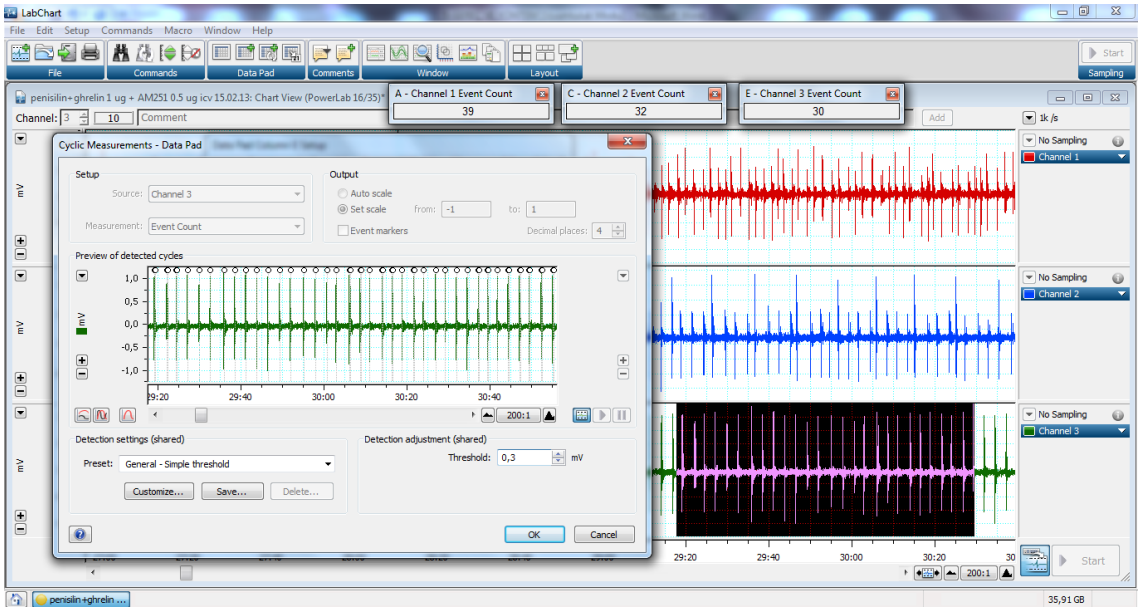
24. AM-251 grubu: Tek başına AM-251 0.25 µg dozda i.s.v. olarak uygulandı ve 2 saatlik ECoG kaydı alındı (n=7).

3.5. Elektrofizyolojik Kayıtların Değerlendirilmesi

Deneylerde kullanılan tüm sıçanların 5 dakikalık bazal aktivite kayıtları alındıktan sonra intrakortikal penisilin enjeksiyonu yapıldı. Penisilin enjeksiyonundan en fazla 2 dk sonra spike aktivitesi görülmeye başlandı. Etkileşim deneylerinde, son maddenin enjeksiyonundan sonra 3 saat kayıt alındı ve kayıt sonlandırıldı. Alınan ECoG kayıtları online olarak PowerLab veri kazanım sistemi ile bilgisayara kaydedildi ve depolandı. Deneyler sonucunda elde edilen epileptiform aktivite offline olarak spike frekansı ve amplitüdü açısından analiz edildi. ECoG kayıtları Chart v7.0.3 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı ve bu yazılımın makro özellikleri sayesinde birer dakikalık bölümlere ayrıldı (Şekil 13). Her dakika başına düşen spike sayısı ve spike'ların ortalama amplitüdleri (peak to peak) bu yazılımın özellikleri sayesinde otomatik olarak hesaplatıldı (Şekil 14). Deneyde kullanılan tüm hayvanlardan elde edilen kayıtlar için bu hesaplama ayrı ayrı yapıldı.



Şekil 13-A: *ECoG kayıtlarının eldesinde kullanılan paket program ve kayıt anından bir görüntü.*



Şekil 13-B: *Kaydedilen epileptik spikeların frekans ve amplitüd değerlerinin hesaplanması.*

3.6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen elektrofizyolojik kayıtların tamamı sayısal değerlere dönüştürüldü. İstatistiksel analiz için GraphPad Instat (v3.06) yazılımı kullanıldı (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Elde edilen verilerin normal dağılıma uyduğu tespit edildikten sonra tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Varyans analizi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptandı ve grup varyanslarının heterojen oldukları görüldü. Bu farkın nereden kaynaklandığını saptamak maksadıyla bir Post-Hoc testi yapıldı (One-Way Anova Tukey Kramer Post-Hoc Test). Grafik, tablo ve metin içerisinde kullanılan deney gruplarına ait değerler, ortalama ± standart hata (SEM) olarak ifade edildi. Testlerden elde edilen sonuçlara göre $p<0.05$'in altında olan değişmeler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Sunulan çalışma iki aşamadan oluşmaktadır;

1. Uyanık sıçanlarda, CB_1 reseptör agonisti ACEA ve antagonisti AM-251'in etkisi incelendi. Penisilin 300 IU (3 µl), AM-251 0.25 µg (2 µl), ACEA ise 7.5 µg (1 µl) dozlarında i.s.v. olarak enjekte edildi.

2. Anestezi altındaki hayvanlarda, ghrelinin kanabinoid CB_1 reseptörü üzerine etkisi incelendi. Penisilin 500 IU (2.5 µl) dozunda intrakortikal olarak enjekte edilerek epileptiform aktivite oluşturuldu. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ghrelin 0.5 µg (2 µl) ve 1 µg (2 µl), ACEA 2.5 µg (1 µl) ve 7.5 µg (1 µl), AM-251 ise 0.25 µg (2 µl) ve 0.5 µg (2 µl) dozlarında i.s.v. olarak enjekte edildi.

Çözücü olarak kullanılan distile su, DMSO ve serum fizyolojik tek başlarına denendiler ve epileptik aktiviteyi etkilemedikleri tespit edildi. Deneylerde kullanılan AM-251, ACEA ve ghrelinin de tek başlarına epileptik aktivite oluşturmadıkları gözlendi. Çalışılan maddelerin spike frekansına, spike amplitüdüne ve epileptik davranışa (uyanık sıçan grupları) olan etkileri her bir doz için ayrı ayrı hesaplanıp ortalama ± standart hata (SEM) değerleri tespit edilerek istatistiki analize tabi tutuldu. Spike sayısı ve spike amplitüd ölçümleri LabChart 7.0 yazılımı ile otomatik olarak yapıldı.

Tüm deneylerde enjeksiyonun yapıldığı 30. dakikadan önceki 20-30. dakikalar arası sıfır noktası olarak kabul edildi. Yüzde değişim hesaplamaları yapılırken bu 10 dakikadaki spike sayısı toplamı 10'a bölündü ve elde edilen değer %100 olarak kabul edildi. 30-40. dakikalar arasındaki spike sayısı 10. dakika, 40-50. dakikalar arası ise 20. dakika olarak kabul edildi ve bu şekilde devam edilerek 180 dakikalık ECoG kayıt analizi tamamlandı. Amplitüd hesaplamaları da aynı şekilde elde edildi. İstatistiki analiz ise, yüzde spike değişimi ve yüzde amplitüd analizine göre yapıldı.

4.1. Uyanık ve Anestezili Sıçanlarda Penisilinin ve Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

4.1.1. Penisilin İle Oluşturulan Epileptiform Aktivite (Uyanık Sıçan)

Epileptik aktivite oluşturmak amacıyla 300 IU Penisilin-G 3 µl hacimde i.s.v. olarak uygulandı. Penisilin uygulamasını takiben 88 ± 26 saniye içerisinde spike dalga aktivitesi gözlenmeye başlandı (Şekil 14-C). Oluşan spikeların, iktal ve interiktal olmak

üzere birbirini takip eden iki farklı nöbet formasyonunda olduğu tespit edildi (Şekil 14-D). İktal dönem sırasında hayvanın jeneralize tonik-klonik nöbet geçirdiği gözlenirken, interiktal dönemde ise özellikle sağ ekstremitelerde myoklonik kasılmalar tespit edildi. Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra 3 µl hacimde, i.s.v. olarak SF enjekte edildi ve SF enjeksiyonundan sonra 180 dk boyunca ECoG kaydı alındı.

Penisilin enjeksiyonuyla birlikte spike frekansı hızla arttı ve 50-60. dakikalarda maksimuma ulaştı (175.35 ± 25.39). Spike frekansı bir süre sabit devam ettikten sonra 110-120. dakikalardan (169.67 ± 24.27) sonra azalmaya başladı (Tablo IV). Tablo IV'de sıfır olarak gösterilen dakikada, SF enjeksiyonu anındaki (30. dk) ortalama spike frekansı görülmektedir ve bu değer %100 olarak kabul edilmiştir.

Hayvanların davranışları da 180 dk boyunca belirlenen zamanlarda (0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180. dakikalarda) izlendi ve kontrol grubunda ortalama davranış skoru 2.62 ± 0.21 olarak bulundu (Şekil 20). Ayrıca iktal nöbet sayısı, iktal spike sayısı, interiktal spike sayısı ve toplam spike sayıları da ayrı ayrı hesaplandı. Ortalama toplam iktal nöbet sayısı 106.57 ± 13.35 olarak bulundu (Şekil 21). Ortalama toplam iktal spike sayısı 17322 ± 1694 iken (Şekil 22), ortalama toplam interiktal spike sayısı 10783 ± 1048 olarak hesaplandı (Şekil 23). 180 dakika boyunca kaydedilen toplam spike sayısı ise 28105 ± 2131 olarak ölçüldü (Şekil 24). Çalışılan 11 hayvandan 4'ü SF enjeksiyonundan önce öldüğü için çalışma dışı bırakıldı.

4.1.2. Penisilin İle Oluşturulan Epileptiform Aktivite (Anestezi Altındaki Sıçan)

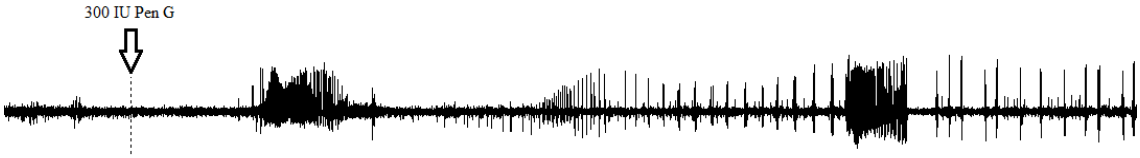
Epileptiform aktivite oluşturmak amacıyla Penisilin-G 500 IU dozunda, 2.5 µl hacimde i.k. olarak uygulandı. Penisilin uygulamasını takiben 97 ± 23 saniye içerisinde bilateral spike dalga kompleksleri gözlenmeye başlandı ve oluşan spike aktivitesinin interiktal formda olduğu tespit edildi (Şekil 14-E). Epileptik aktivite yaklaşık 20-30. dakikada kararlı hale geldi ve bu dakikada i.k. olarak SF (2.5 µl) enjeksiyonu yapıldı. SF enjeksiyonundan sonra 180 dakika boyunca spike frekansında anlamlı bir düşüş gözlenmedi ($p>0.05$). 30. dakikadaki (kararlı duruma geçiş zamanı = 0. dakika olarak tabloda yer almaktadır) hesaplanan spike frekansı 41.23 ± 3.03 iken, 180. dakikadaki spike frekansı 38.4 ± 3.63 olarak bulundu ($p>0.05$), (Tablo VI).

Deneyler süresince hesaplanan ortalama toplam spike sayısı ise, 7712 ± 639 olarak tespit edildi. Spike amplitüd değerleri ise Tablo VII' de görülmektedir.

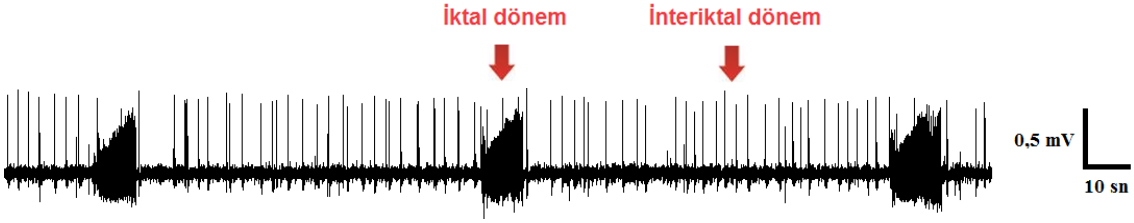
A) Bazal aktivite

B) Serum Fizyolojik (2 µl)

C) Penisilin G (300 IU)



D) Penisilin G (300 IU)



A) Penisilin G (500 IU)

Şekil 14: *Kontrol gruplarından alınan ECoG kayıtları. A) Beyine herhangi bir madde enjeksiyonu yapılmadan alınan bazal aktivite kaydı. B) i.s.v. enjeksiyonun beyin aktivitesi üzerine etkisini incelemek için yapılan serum fizyolojik (3 µl) enjeksiyonu sonrası 90. dakikadan alınan örnek ECoG kaydı. SF enjeksiyonu beyin aktivitesini etkilemedi. C) Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU, i.s.v.) enjeksiyonundan yaklaşık 20 sn sonra bilateral spikelar ve spike-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktivite D) Uyanık sıçanda, penisilin enjeksiyonu sonrası 90. dakikadan alınan örnek ECoG kaydı. E) Anestezi altındaki sıçanda, penisilin enjeksiyonu (500 IU, i.k.) sonrası 90. dakikadan alınan örnek ECoG kaydı.*

Zaman	Kontrol	AM-251 (0.25 µg)	ACEA (7.5 µg)
0. dakika	162.25 ± 21.42	168.15 ± 22.46	150.83 ± 15.21
10. dakika	173.62 ± 22.71	189.18 ± 23.62	146.73 ± 16.49
20. dakika	169.58 ± 21.45	203.63 ± 22.65	142.45 ± 14.64
30. dakika	175.35 ± 25.39	221.40 ± 22.94	134.10 ± 15.95
40. dakika	172.95 ± 25.23	240.42 ± 31.6	129.23 ± 16.11
50. dakika	170.85 ± 24.07	240.80 ± 22.24	116.08 ± 13.24
60. dakika	156.18 ± 23.89	243.80 ± 21.69	110.58 ± 13.55
70. dakika	169.67 ± 24.72	246.43 ± 23.74	98.60 ± 14.58
80. dakika	156.75 ± 26.16	243.82 ± 23.04	92.83 ± 9.53
90. dakika	151.32 ± 25.22	238.30 ± 20.40	85.63 ± 10.60
100. dakika	151.02 ± 25.84	247.20 ± 24.61	80.57 ± 9.91
110. dakika	149.22 ± 20.23	245.23 ± 28.44	70.53 ± 12.94
120. dakika	129.53 ± 14.74	248.88 ± 25.14	70.17 ± 8.57
130. dakika	124.80 ± 13.48	250.75 ± 20,02	63.45 ± 7.48
140. dakika	124.88 ± 13.74	241.62 ± 16.34	59.43 ± 7.83
150. dakika	123.45 ± 14.25	236.77 ± 15.85	58.43 ± 8.09
160. dakika	113.45 ± 16.55	234.38 ± 22.01	46.42 ± 8.18
170. dakika	107.28 ± 14.22	231.15 ± 21.84	39.72 ± 11.16
180. dakika	103.98 ± 16.06	220.40 ± 26.70	39.72 ± 10.47

Tablo IV: *Uyanık sıçanda, kontrol penisilin (300 IU), AM-251 (0.25) µg ve ACEA (7.5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	AM-251 (0.25 µg)	ACEA (7.5 µg)
0. dakika	760 ± 72	712 ± 35	777 ± 133
10. dakika	754 ± 69	706 ± 28	758 ± 109
20. dakika	770 ± 79	671 ± 20	702 ± 84
30. dakika	798 ± 89	631 ± 32	715 ± 101
40. dakika	796 ± 79	644 ± 40	686 ± 115
50. dakika	786 ± 72	610 ± 26	677 ± 118
60. dakika	781 ± 69	633 ± 22	677 ± 116
70. dakika	808 ± 93	630 ± 16	666 ± 110
80. dakika	787 ± 99	642 ± 18	655 ± 102
90. dakika	742 ± 86	636 ± 22	655 ± 100
100. dakika	767 ± 102	674 ± 35	645 ± 94
110. dakika	742 ± 106	673 ± 38	643 ± 94
120. dakika	749 ± 116	630 ± 36	626 ± 83
130. dakika	705 ± 101	630 ± 35	622 ± 77
140. dakika	699 ± 100	617 ± 39	641 ± 84
150. dakika	664 ± 89	614 ± 39	618 ± 81
160. dakika	658 ± 90	602 ± 37	607 ± 80
170. dakika	662 ± 114	576 ± 34	610 ± 87
180. dakika	626 ± 98	586 ± 36	615 ± 90

Tablo V: *Uyanık sıçanda, kontrol penisilin (300 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

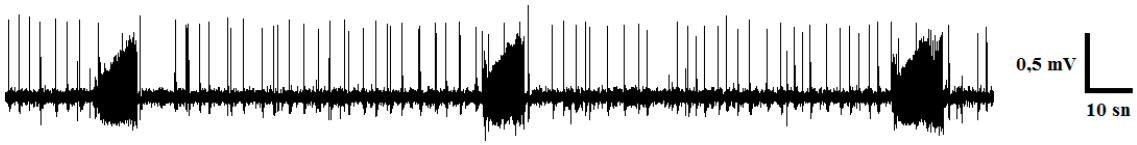
4.1.3. CB_1 Reseptör Antagonisti AM-251'in (0.25 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Uyanık Sıçan)

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.25 µg dozda (2 µl) i.s.v. olarak uygulandı. Kontrol grubundan 30. dakikada elde edilen spike frekansı değeri 175.35 ± 25.39 iken, bu değer AM-251 grubunda 221.4 ± 22.94'e çıktı (Tablo IV). Eşzamanlı yüzde spike değişimi ise kontrol grubunda % 97.9 ± 4.4 iken, AM-251 grubunda % 135.12 ± 7.17 olarak hesaplandı ($p<0.05$), (Şekil 16). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca spike amplitüdünde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$), (Şekil 18).

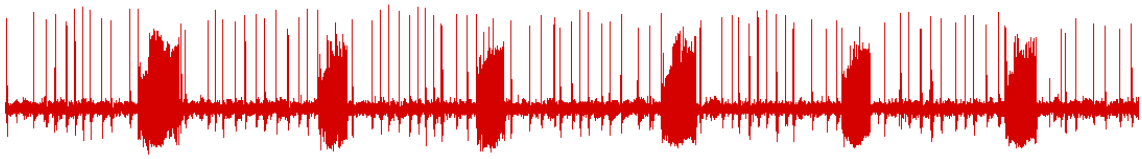
Hayvanların davranışları incelendiğinde, kontrol grubunda 2.62 ± 0.21 olan nöbet evresi % 34 artarak 3.53 ± 0.28'e çıktığı gözlendi ($p<0.05$), (Şekil 20). Ortalama toplam iktal nöbet sayısı kontrol grubunda 106.57 ± 13.35 iken, AM-251 (0.25 µg) grubunda % 79 oranında arttı ve 191.29 ± 14.3 olarak bulundu ($p<0.001$), (Şekil 21). Ortalama toplam iktal spike sayısı kontrol grubunda 17322 ± 1694 olarak saptanırken, bu değer AM-251 (0.25 µg) grubunda % 67 artışla birlikte 28835 ± 2467 olarak saptandı ($p<0.001$), (Şekil 22). Ortalama toplam interiktal spike sayısı da kontrol grubuna oranla (10783 ± 1048) % 47 artarak15828 ± 1120 olarak hesaplandı ($p<0.01$), (Şekil 23). 180 dakika boyunca kaydedilen toplam spike sayısı ise kontrol grubunda 28105 ± 2131 olarak ölçülürken, deney grubunda % 59 artarak 44663 ± 3432 olarak tespit edildi ($p<0.001$), (Şekil 24). Çalışılan 11 hayvandan 4'ü AM-251 (0.25 µg) enjeksiyonundan önce öldüğü için çalışma dışı bırakıldı.

AM-251'in (0.25 µg) ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 15-B'de gösterilmiştir.

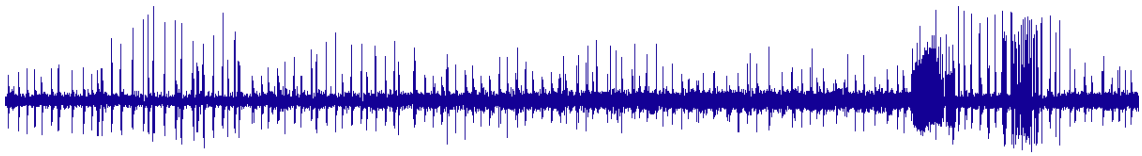
A) Penisilin G (300 IU)



B) AM-251 (0.25 µg)



C) ACEA (7.5 µg)



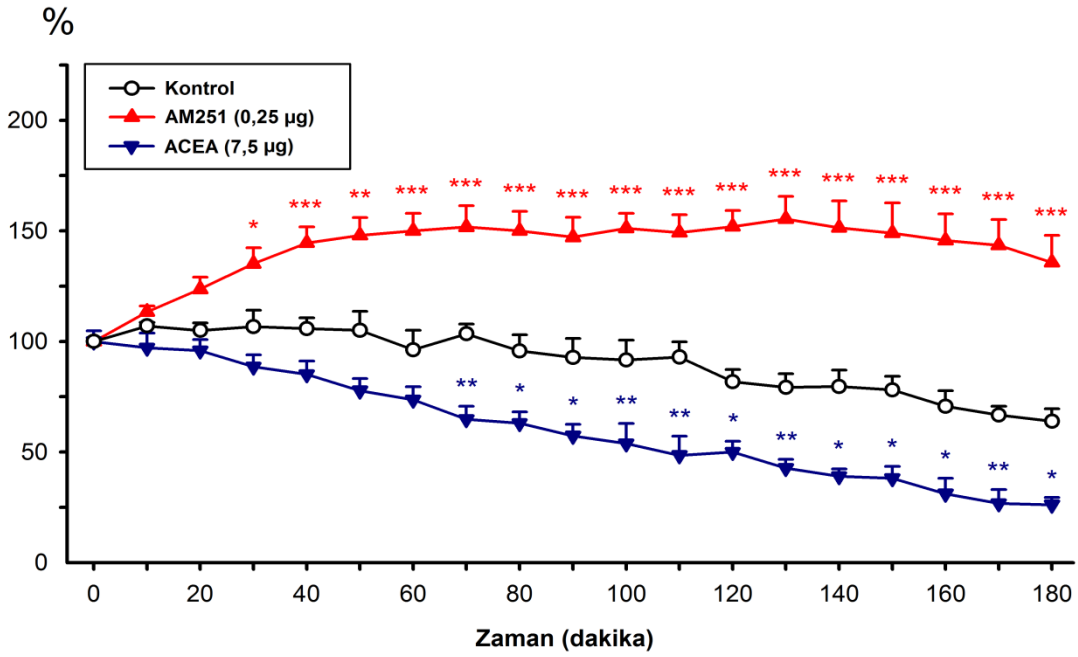
Şekil 15: *Uyanık sıçandan elde edilen ECoG kayıtları. A) Penisilin kontrol grubu (300 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.25 µg), C) Penisilin + ACEA (7.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

4.1.4. CB_1 Reseptör Antagonisti AM-251'in (0.25 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan)

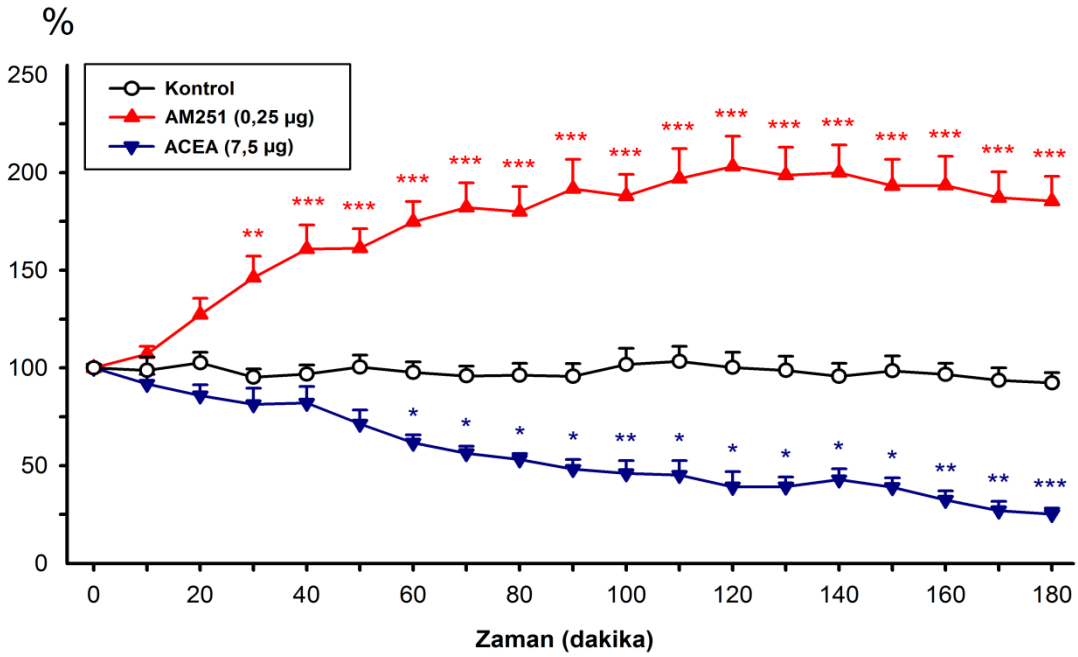
Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.25 µg (2 µl) dozunda i.s.v. olarak uygulandı. Kontrol grubundan 30. dakikada elde edilen spike frekansı değeri 39.52 ± 3.89 iken bu değer AM-251 (0.25 µg) grubunda 61.49 ± 4.16'e çıktı (Tablo VI). Eşzamanlı yüzde spike değişimi ise kontrol grubunda % 95.36 ± 4.11 iken, AM-251 (0.25 µg) grubunda % 146.32 ± 11.02 olarak hesaplandı ($p<0.01$) (Şekil 17). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca spike amplitüdü yüzde değişiminde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$), (Şekil 19).

Yapılan analizlerin yanı sıra, hem AM-251 0.25 µg grubunda uyanık sıçan kayıtlarındaki iktal nöbetlere benzeyen nöbet aktiviteleri gözlendi (Status benzeri aktiveteler), (Şekil 26).

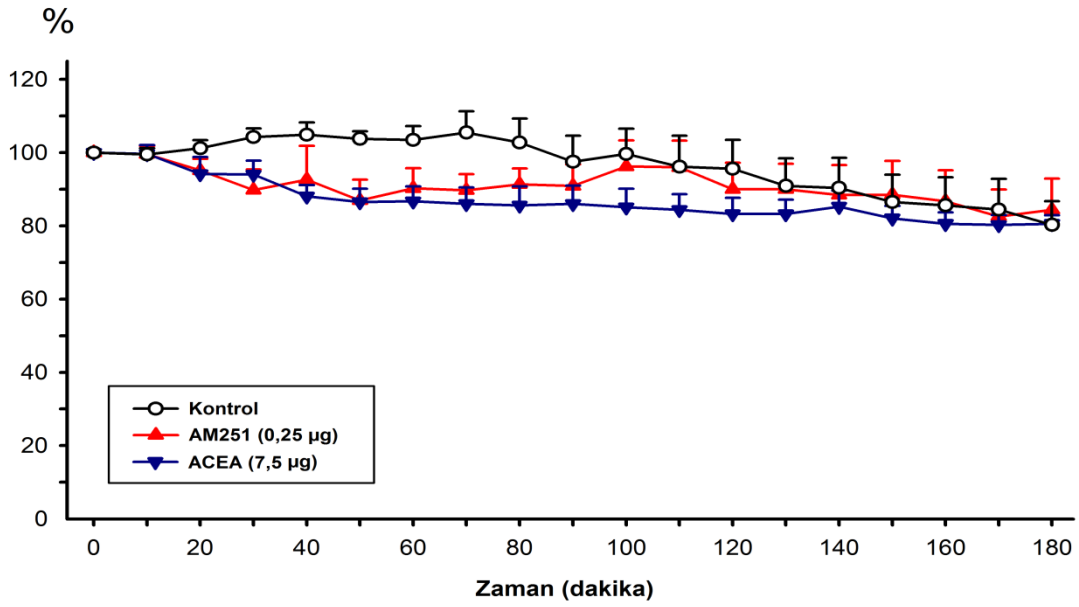
AM-251 0.25 µg grubunun ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri Şekil 26-B'de gösterilmiştir.



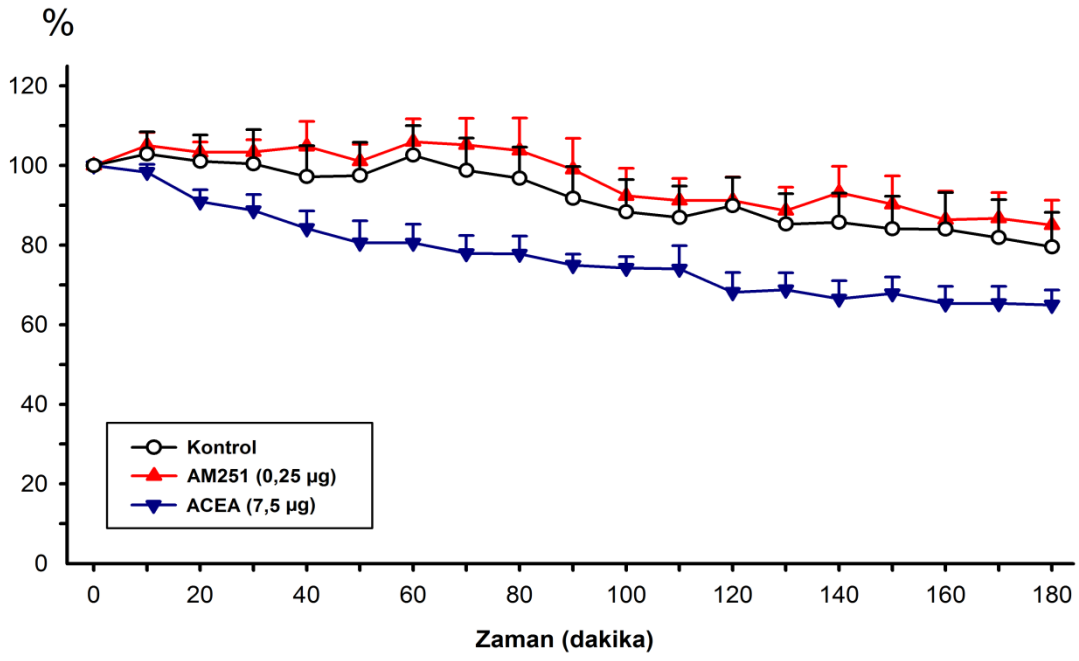
Şekil 16: *Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM-251(0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda 30. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. ACEA grubunda ise 70. dakikadan sonra anlamlı oranda bir azalma gözlendi (*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 17: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda 30. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı. ACEA grubunda ise 60. dakikadan sonra anlamlı oranda bir azalma gözlendi (*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 18: *Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında ne AM-251 ne de ACEA grubunda istatistiksel açıdan bir farklılık saptanmadı.*



Şekil 19: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 istatistiksel anlamda bir değişiklik oluşturmadı. ACEA grubunda ise, bir miktar azalma meydana gelmiş olsa da bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi.*

4.1.5. CB_1 Reseptör Agonisti ACEA'nın (7.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Uyanık Sıçan)

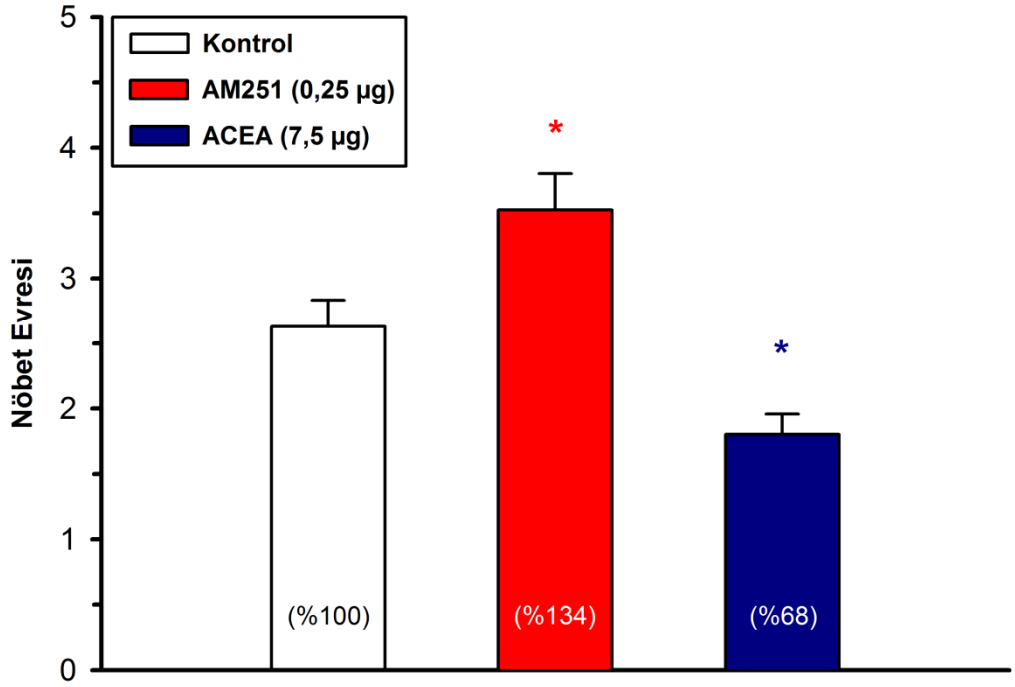
Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ACEA 7.5 µg dozda (1 µl) i.s.v. olarak uygulandı. Kontrol grubundan 70. dakikada elde edilen spike frekansı değeri 169.67 ± 24.27 iken bu değer ACEA grubunda 98.6 ± 14.58' e düştü (Tablo IV). Eşzamanlı yüzde spike değişimi ise kontrol grubunda % 97.9 ± 4.4 iken, ACEA grubunda % 62.27 ± 5.91 olarak hesaplandı ($p<0.01$) (Şekil 16). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca spike amplitüdünde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$), (Şekil 18).

Hayvanların davranışları incelendiğinde, kontrol grubunda 2.62 ± 0.21 olan nöbet evresi % 32 azalarak 1.79 ± 0.16'e düştüğü gözlendi ($p<0.05$), (Şekil 20). Ortalama toplam iktal nöbet sayısı kontrol grubunda 106.57 ± 13.35 iken, ACEA (7.5 µg) grubunda % 43 düşerek 61.43 ± 8.66 olarak bulundu ($p<0.05$), (Şekil 21). Ortalama toplam iktal spike sayısı kontrol grubunda 17322 ± 1694 olarak saptanırken, bu değer ACEA (7.5 µg) grubunda % 38 düşüşle 10717 ± 968 olarak saptandı ($p<0.05$), (Şekil 22). Ortalama toplam interiktal spike sayısı da % 35 azalarak 6992 ± 809 olarak hesaplandı ($p<0.05$), (Şekil 23). 180 dakika boyunca kaydedilen toplam spike sayısı ise kontrol grubunda 28105 ± 2131 olarak ölçülürken, ACEA (7.5 µg) grubunda % 27 azalarak 17709 ± 1681 olarak tespit edildi ($p<0.05$), (Şekil 24). Çalışılan 10 hayvandan 3'ü ACEA (7.5 µg) enjeksiyonundan önce öldüğü için çalışma dışı bırakıldı.

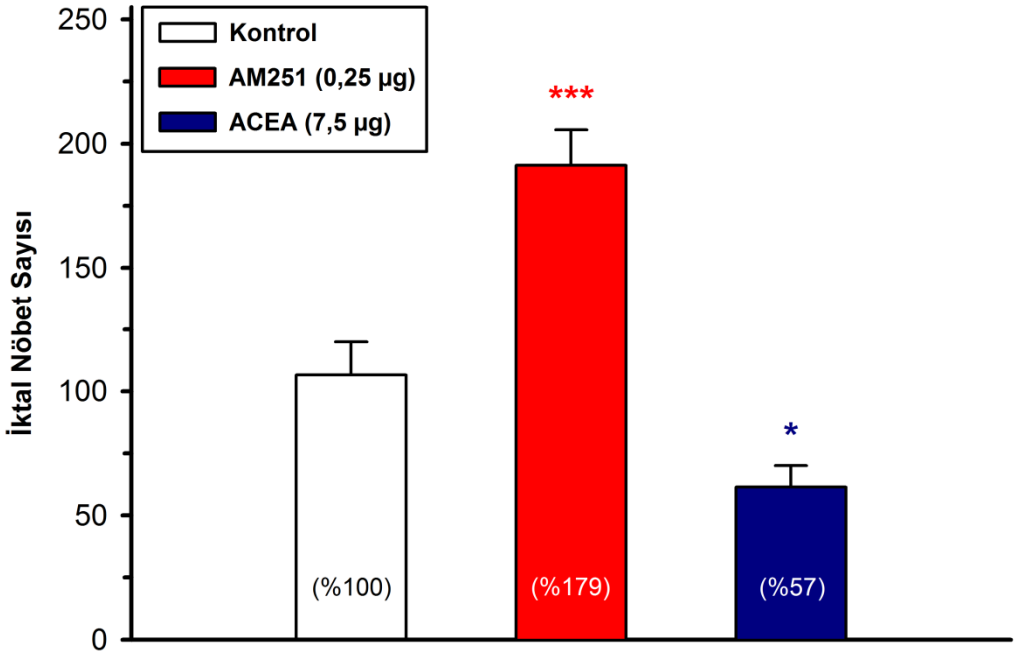
ACEA'nın (7.5 µg) ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 15-C'de gösterilmiştir.

4.1.6. CB_1 Reseptör Agonisti ACEA'nın (7.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan)

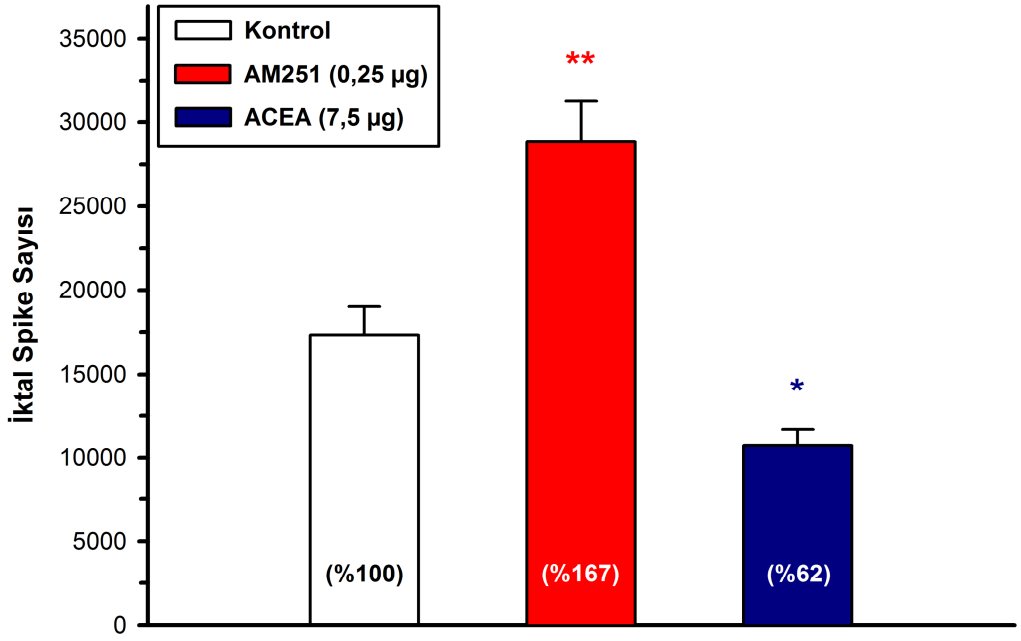
Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ACEA 7.5 µg (1 µl) dozunda i.s.v. olarak uygulandı. ACEA'nın (7.5 µg) 60. dakikadaki spike frekansı 31.78 ± 2.77 olarak hesaplanırken, kontrol grubunda bu dakikadaki değer 40.69 ± 41.33 olarak bulundu (Tablo VI). Eşzamanlı yüzde spike değişimi ise, kontrol grubunda % 97.77 ± 5.33 iken, ACEA (7.5) µg grubunda % 61.78 ± 4.07 olarak hesaplandı ($p<0.05$) (Şekil 17). ACEA (7.5) µg grubunda, 180 dakikalık kayıt boyunca spike amplitüdü yüzde değişiminde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$), (Şekil 19).



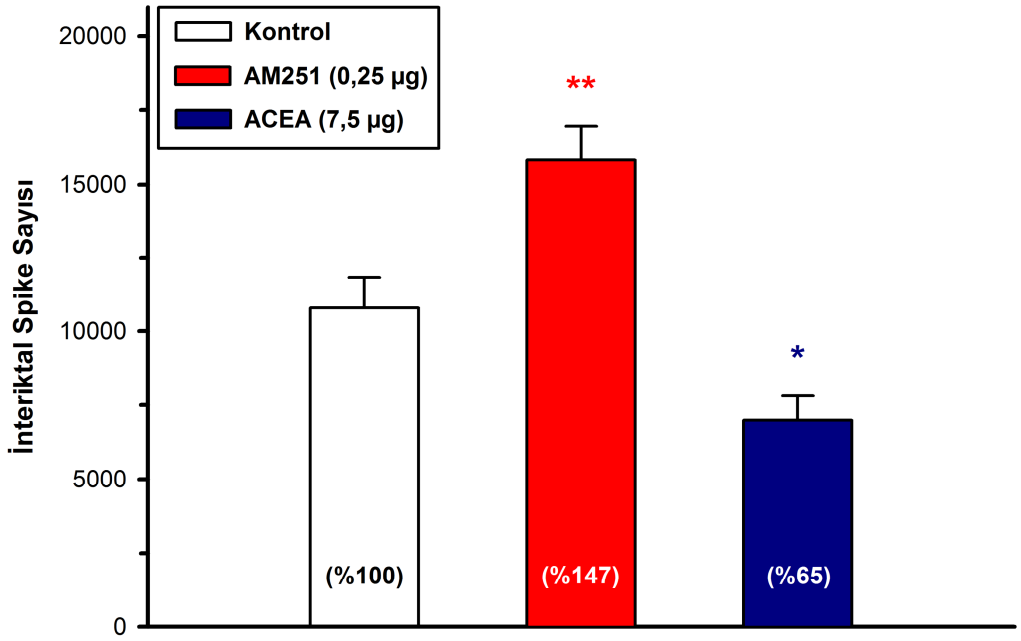
Şekil 20: *Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının nöbet davranış skorlaması ve bu değerlerin yüzde değişimleri (Nöbet evresi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda istatistiksel anlamda bir artış saptandı. ACEA grubunda ise anlamlı oranda bir azalma meydana geldi (*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



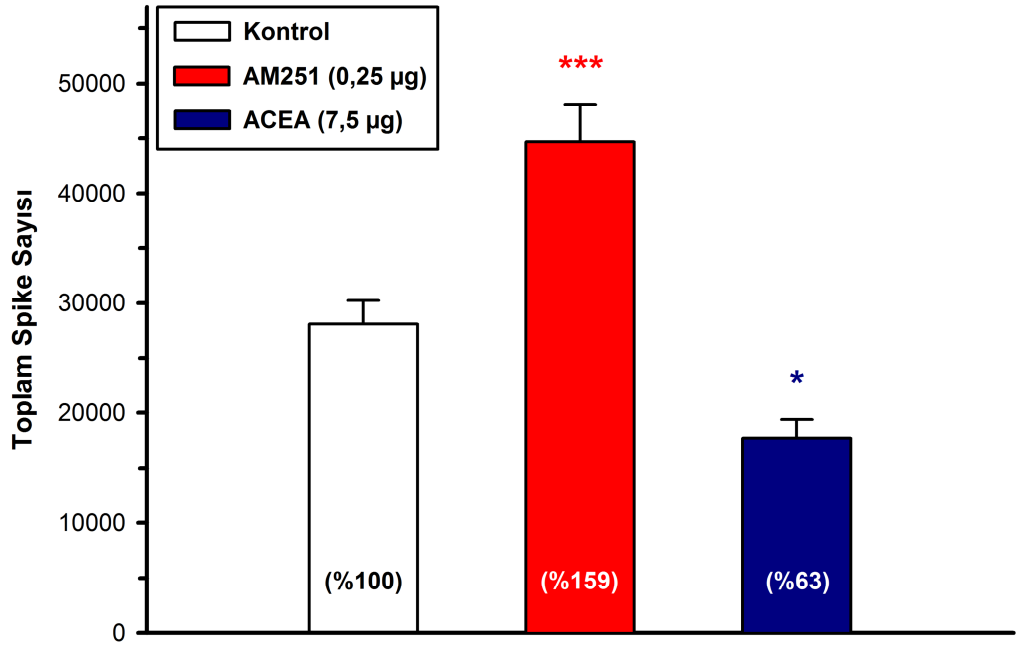
Şekil 21: *Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının iktal nöbet sayısı ortalamaları ve bu değerlerin yüzde değişimleri (spike sayısı ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda istatistiksel anlamda bir artış saptandı. ACEA grubunda ise anlamlı oranda bir azalma meydana geldi (*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



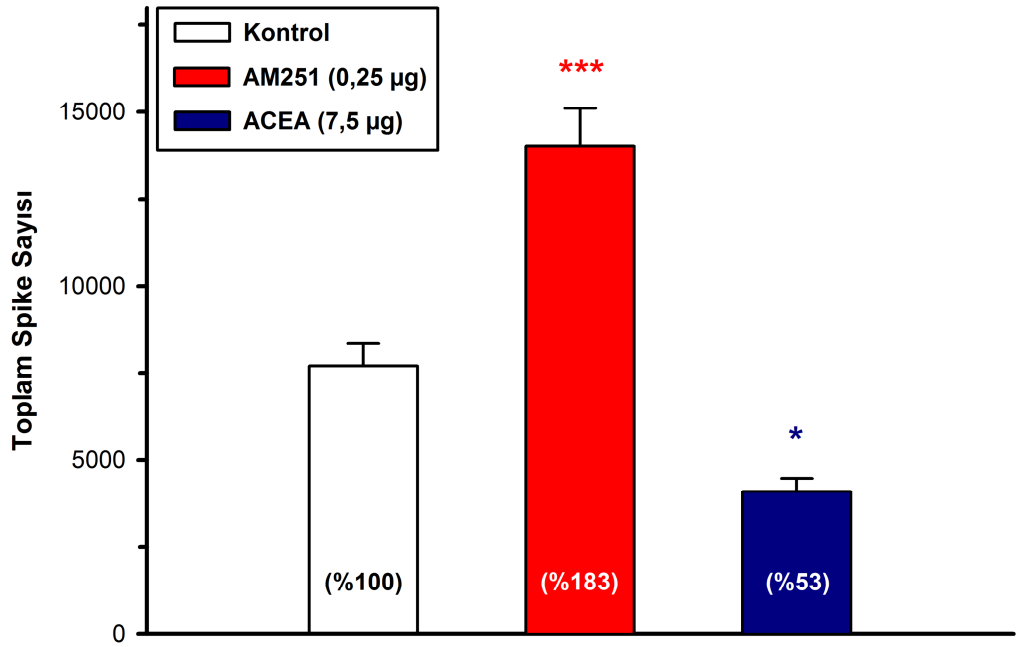
Şekil 22: *Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının iktal spike sayısı toplamı ortalamaları ve bu değerlerin yüzde değişimleri (spike sayısı ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bir artış saptandı. ACEA grubunda ise anlamlı oranda bir azalma meydana geldi(*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 23: *Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının interiktal spike sayısı toplamı ortalamaları ve bu değerlerin yüzde değişimleri (spike sayısı ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bir artış saptandı. ACEA grubunda ise anlamlı oranda bir azalma meydana geldi(*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 24: *Uyanık sıçanda, penisilin (300 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının toplam spike sayısı ortalamaları ve bu değerlerin yüzde değişimleri (spike sayısı ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bir artış saptandı. ACEA grubunda ise anlamlı oranda bir azalma meydana geldi(*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 25: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (300 IU), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarının toplam spike sayısı ortalamaları ve bu değerlerin yüzde değişimleri (spike sayısı ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 grubunda istatistiksel açıdan anlamlı bir artış saptandı. ACEA grubunda ise anlamlı oranda bir azalma meydana geldi(*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*

4.1.7. AM-251 (0.25) + ACEA (7.5) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan)

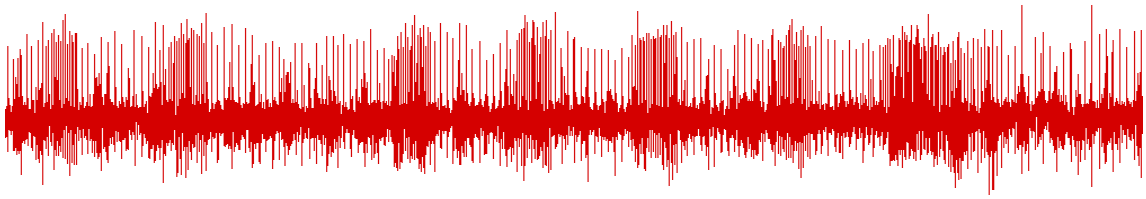
Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.25 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra da ACEA 7.5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0.25 µg), kontrol grubuna 30. dakikada spike aktivitesini anlamlı bir şekilde artırdı ($p<0.01$) (Şekil 27). Tek başına ACEA (7.5 µg) ise kontrol grubuna göre spike aktivitesini 60. dakikada anlamlı ölçüde azalttı ($p<0.05$) (Şekil 27). AM-251 + ACEA grubu kontrol grubuna göre spike yüzdesini 30. dakikada anlamlı olarak artırdı ($p<0.05$), (Şekil 27). AM-251 + ACEA kombinasyon grubunda 20. dakikadaki spike sayısı ve yüzde spike değişimi sırasıyla 52.52 ± 4.86, % 124.39 ± 3.33 iken, ACEA grubunda sırasıyla 32.98 ± 2.81, % 85.9 ± 5.54 olarak hesaplandı (Tablo VI). AM-251 + ACEA grubunun yüzde spike değişimi, ACEA grubuna göre 20. dakikada istatistiksel açıdan anlamlı olarak saptandı ($p<0.01$), (Şekil 27). Ancak, AM-251 + ACEA kombinasyon grubu tek başına enjekte edilen AM-251'e göre anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 27). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 28).

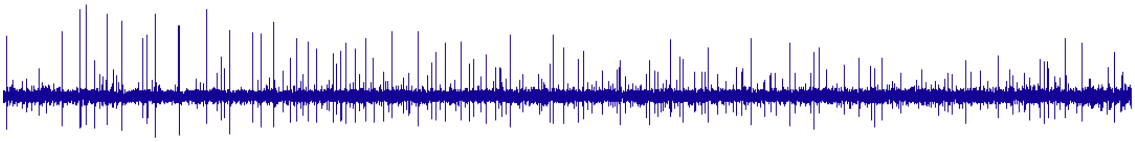
AM-251 0.25 µg, ACEA 7.5 µg ve AM-251 + ACEA gruplarınınECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 26'da gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

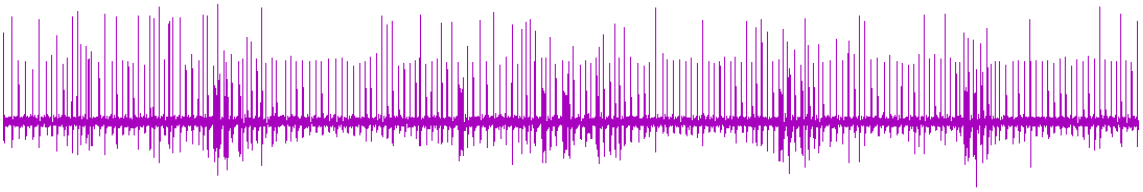
B) AM-251 (0.25 µg)



C) ACEA (7.5 µg)



D) AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg)



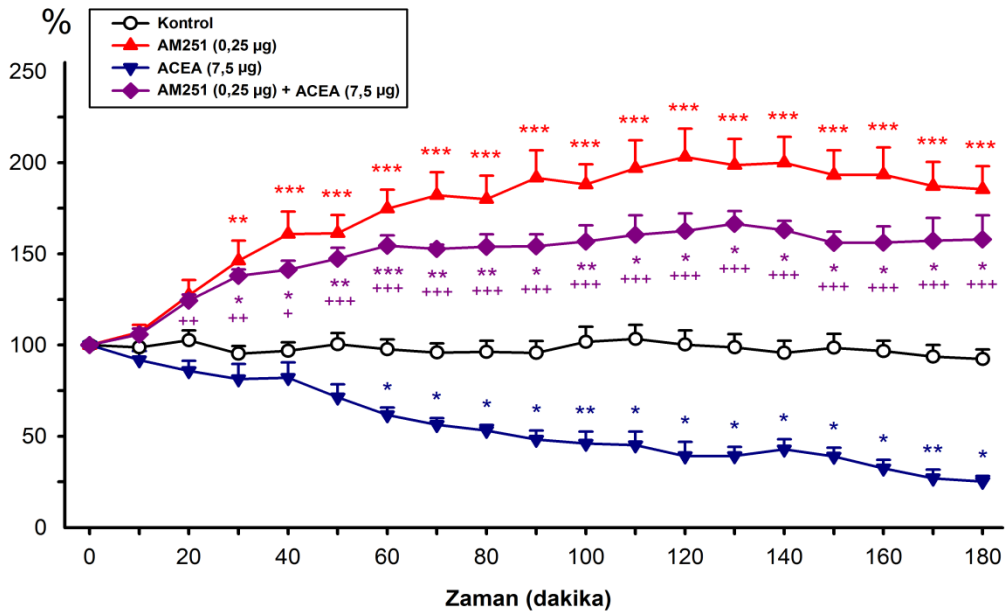
Şekil 26: *A)Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.25 µg), C) Penisilin + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + AM-251+ ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.25 µg)**	**ACEA (7.5 µg)**	**AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	42.61 ± 2.06	39.1 ± 3.82	42.3 ± 3.86
10. dakika	41.45 ± 5.37	45.73 ± 2.8	35.23 ± 2.68	44.92 ± 4.42
20. dakika	42.35 ± 4.29	54.11 ± 4.08	32.98 ± 2.81	52.52 ± 4.86
30. dakika	39.52 ± 3.89	61.49 ± 4.16	31.1 ± 3.4	58.28 ± 5.16
40. dakika	40.28 ± 4.08	67.95 ± 5.3	31.28 ± 3.31	59.68 ± 5.5
50. dakika	41.15 ± 3.92	68.06 ± 4.03	27.7 ± 3.5	62.18 ± 5.72
60. dakika	40.69 ± 4.33	74.32 ± 5.41	23.9 ± 2.69	64.95 ± 5.56
70. dakika	39.66 ± 3.54	78.27 ± 7.45	21.85 ± 2.44	64.65 ± 6.02
80. dakika	39.98 ± 3.85	77.52 ± 7.95	20.6 ± 2.14	64.08 ± 4.15
90. dakika	39.43 ± 3.44	82.36 ± 8.47	18.82 ± 2.6	64.35 ± 4.48
100. dakika	41.88 ± 4.11	80.37 ± 6.89	18.18 ± 3.59	64.95 ± 3.85
110. dakika	42.59 ± 4.04	84.26 ± 8.27	17.54 ± 3.5	66.2 ± 3.83
120. dakika	41.29 ± 3.92	86.64 ± 8.02	14.68 ± 3.28	67.07 ± 2.98
130. dakika	40.76 ± 4.24	85.33 ± 8.34	14.52 ± 1.53	69.28 ± 4.21
140. dakika	39.69 ± 4.16	85.86 ± 8.34	15.7 ± 1.53	68.13 ± 4.44
150. dakika	40.78 ± 4.23	82.91 ± 7.85	14.48 ± 1.58	65.07 ± 4.33
160. dakika	40.29 ± 3.94	83.61 ± 9.19	11.87 ± 1.48	64.95 ± 4.52
170. dakika	38.7 ± 3.67	80.38 ± 7.84	10.04 ± 1.56	64.58 ± 3.4
180. dakika	38.4 ± 3.63	79.84 ± 8.09	9.61 ± 1.31	64.83 ± 3.55

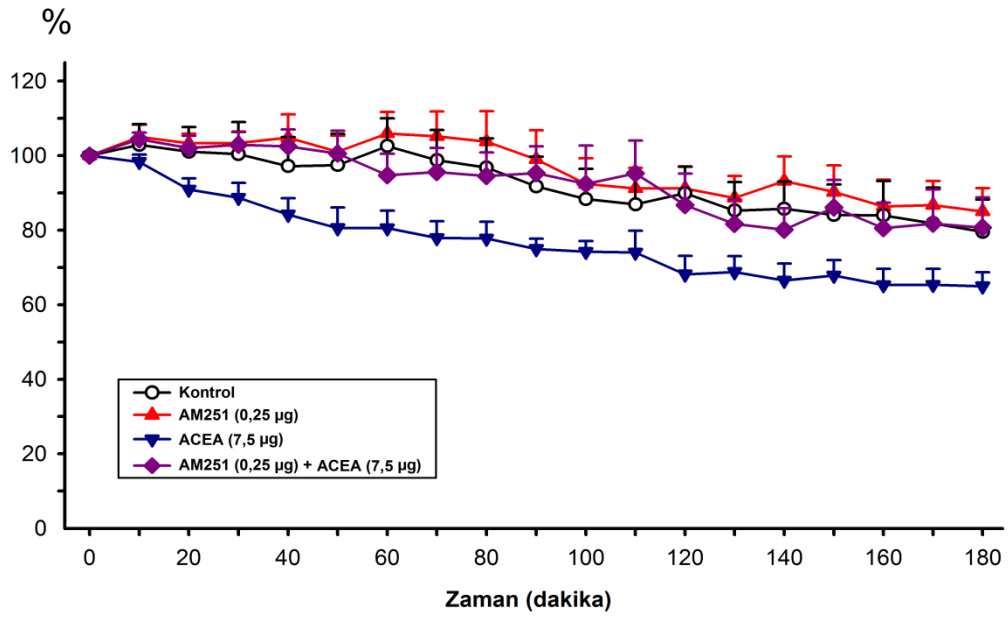
Tablo VI: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol penisilin (500 IU), AM-251 (0.25µg), ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	AM-251 (0.25 µg)	ACEA (7.5 µg)	AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg)
0. dakika	1061 ± 100	1085 ± 78	1130 ± 141	1043 ± 69
10. dakika	1101 ± 131	1135 ± 82	1118 ± 148	1089 ± 76
20. dakika	1096 ± 157	1121 ± 87	1051 ± 159	1055 ± 59
30. dakika	1092 ± 170	1122 ± 88	1024 ± 152	1079 ± 91
40. dakika	1065 ± 171	1123 ± 81	960 ± 127	1067 ± 83
50. dakika	1054 ± 152	1086 ± 69	906 ± 111	1047 ± 93
60. dakika	1088 ± 124	1149 ± 95	927 ± 136	997 ± 105
70. dakika	1051 ± 126	1137 ± 96	877 ± 110	992 ± 86
80. dakika	1018 ± 104	1121 ± 108	885 ± 128	977 ± 80
90. dakika	970 ± 111	1066 ± 104	840 ± 97	971 ± 48
100. dakika	919 ± 90	996 ± 96	832 ± 97	944 ± 95
110. dakika	905 ± 88	988 ± 91	829 ± 97	962 ± 53
120. dakika	936 ± 84	987 ± 92	763 ± 92	875 ± 52
130. dakika	891 ± 94	957 ± 89	775 ± 93	835 ± 60
140. dakika	891 ± 81	1013 ± 103	747 ± 92	822 ± 59
150. dakika	872 ± 86	978 ± 103	762 ± 88	872 ± 45
160. dakika	863 ± 78	930 ± 91	735 ± 90	822 ± 61
170. dakika	840 ± 79	944 ± 99	734 ± 88	824 ± 64
180. dakika	816 ± 70	928 ± 100	734 ± 90	822 ± 77

Tablo VII: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol penisilin (500 IU), AM-251 (0.25µg), ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 27: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25µg), ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ACEA gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). AM-251 grubu 30. dakikadan itibaren, ACEA (7.5 µg) grubu 60. dakikadan itibaren, AM-251 + ACEA grubu ise 30. dakikadan itibaren penisilin (kontrol) grubuna göre spike frekans yüzdesini anlamlı oranda artırdı (*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). AM-251 + ACEA grubu, ACEA (7.5 µg) grubuna göre 20. dakikadan itibaren spike frekans yüzdesini anlamlı oranda arttırırken ($^{+}$=p<0.05, $^{++}$=p<0.01, $^{+++}$=p<0.001), AM-251 (0.25 µg) grubuna göre hiçbir dakikada anlamlı değildi.*



Şekil 28: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25µg), ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

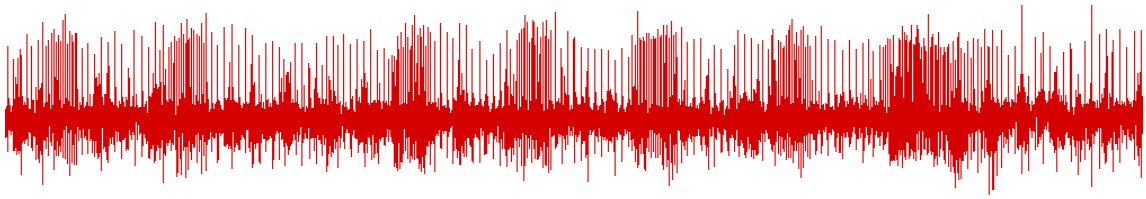
4.1.8. CB_1 Reseptör Agonisti AM-251'in (0.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan)

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.5 µg dozunda (2 µl) i.s.v. olarak uygulandı. 40. dakikada hesaplanan spike frekansı değeri 56.04 ± 2.48 iken, kontrol grubunda bu dakikadaki spike frekansı değeri 40.28 ± 4.08 olarak bulundu (Tablo VIII). Eşzamanlı yüzde spike değişimi ise, kontrol grubunda % 96.94 ± 4.53 iken, AM-251 (0.5 µg) grubunda % 145.95 ± 9.02 olarak hesaplandı ($p<0.05$), (Şekil 30). AM-251 (0.5 µg) grubu 40. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre yüzde spike frekansını anlamlı oranda arttırdı ($p<0.05$), (Şekil 30). Alınan 180 dakikalık kayıt boyunca spike amplitüdü yüzde değişiminde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$), (Şekil 31). Ayrıca, AM-251 (0.5 µg) grubunda, AM-251 (0.25 µg) grubundaki kadar olmasa da, uyanık sıçan kayıtlarındaki iktal nöbetlere benzeyen nöbet aktiviteleri gözlendi (Status benzeri aktiveteler), (Şekil 29-C).

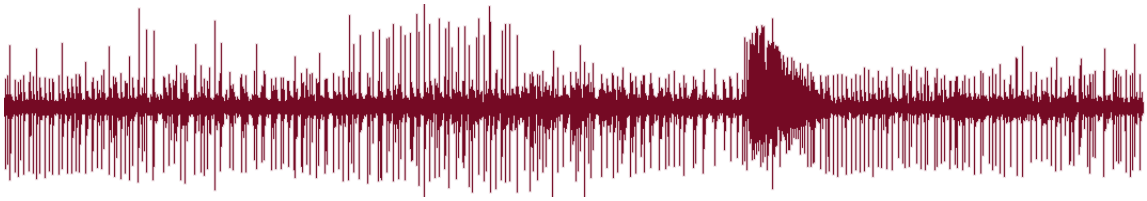
AM-251'in (0.5 µg) ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 29-C'da gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

B) AM-251 (0.25 µg)



C) AM-251 (0.5 µg)



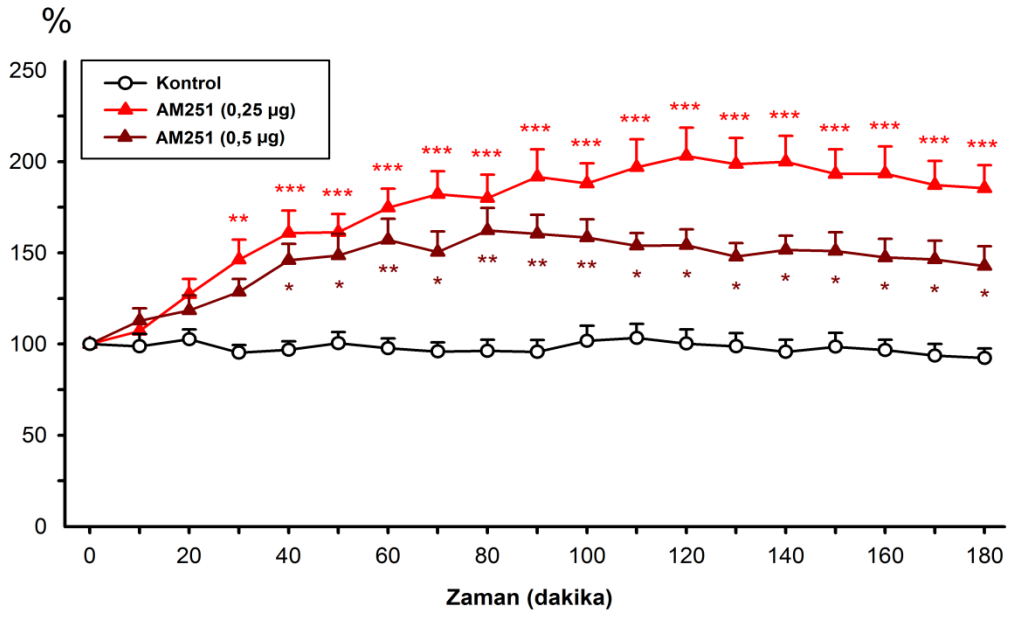
Şekil 29: *A) Penisilin kontrol (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.25 µg) ve C) Penisilin + AM-251 (0.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.25 µg)**	**AM-251 (0.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	42.61 ± 2.06	38.90 ± 1.92
10. dakika	41.45 ± 5.37	45.73 ± 2.80	43.97 ± 3.62
20. dakika	42.35 ± 4.29	54.11 ± 4.08	45.77 ± 3.21
30. dakika	39.52 ± 3.89	61.49 ± 4.16	49.47 ± 1.87
40. dakika	40.28 ± 4.08	67.95 ± 5.30	56.04 ± 2.48
50. dakika	41.15 ± 3.92	68.06 ± 4.03	57.03 ± 3.50
60. dakika	40.69 ± 4.33	74.32 ± 5.41	60.24 ± 3.18
70. dakika	39.66 ± 3.54	78.27 ± 7.45	58.07 ± 4.25
80. dakika	39.98 ± 3.85	77.52 ± 7.95	62.66 ± 4.82
90. dakika	39.43 ± 3.44	82.36 ± 8.47	62.29 ± 4.64
100. dakika	41.88 ± 4.11	80.37 ± 6.89	60.99 ± 3.34
110. dakika	42.59 ± 4.04	84.26 ± 8.27	59.41 ± 2.54
120. dakika	41.29 ± 3.92	86.64 ± 8.02	59.61 ± 3.28
130. dakika	40.76 ± 4.24	85.33 ± 8.34	57.11 ± 2.78
140. dakika	39.69 ± 4.16	85.86 ± 8.34	58.34 ± 2.29
150. dakika	40.78 ± 4.23	82.91 ± 7.85	57.86 ± 2.35
160. dakika	40.29 ± 3.94	83.61 ± 9.19	56.73 ± 2.98
170. dakika	38.70 ± 3.67	80.38 ± 7.84	56.39 ± 3.24
180. dakika	38.40 ± 3.63	79.84 ± 8.09	54.94 ± 3.37

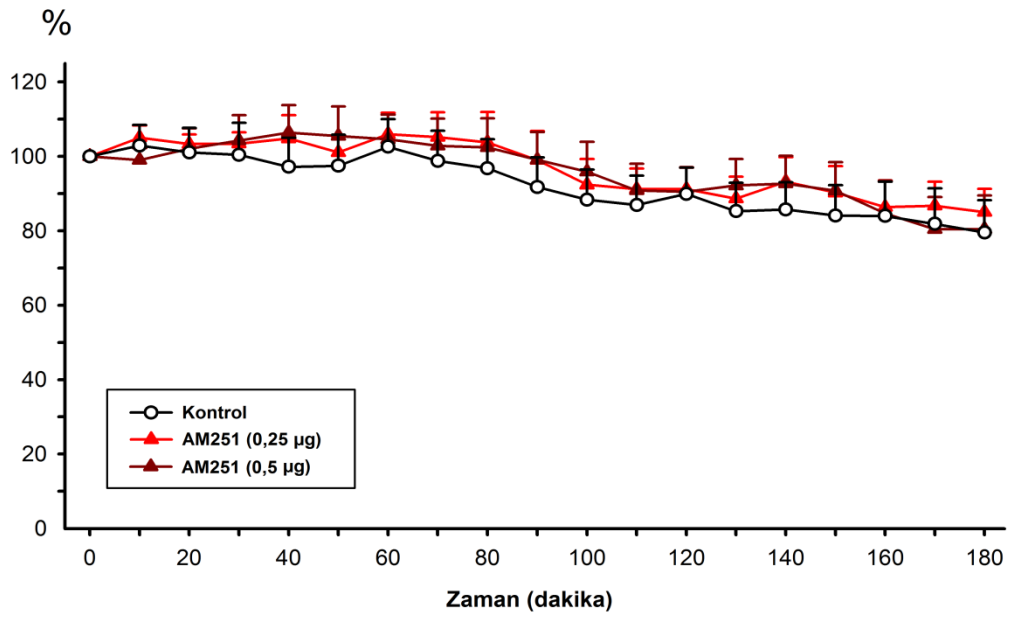
Tablo VIII: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg) ve AM-251 (0.5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	AM-251 0.25 µg	AM-251 0.5 µg
0. dakika	1061 ± 100	1085 ± 78	1140 ± 122
10. dakika	1101 ± 131	1135 ± 82	1114 ± 102
20. dakika	1096 ± 157	1121 ± 87	1147 ± 117
30. dakika	1092 ± 170	1122 ± 88	1169 ± 124
40. dakika	1065 ± 171	1123 ± 81	1200 ± 143
50. dakika	1054 ± 152	1086 ± 69	1203 ± 173
60. dakika	1088 ± 124	1149 ± 95	1199 ± 168
70. dakika	1051 ± 126	1137 ± 96	1169 ± 152
80. dakika	1018 ± 104	1121 ± 108	1160 ± 150
90. dakika	970 ± 111	1066 ± 104	1124 ± 147
100. dakika	919 ± 90	996 ± 96	1110 ± 181
110. dakika	905 ± 88	988 ± 91	1051 ± 165
120. dakika	936 ± 84	987 ± 92	1043 ± 155
130. dakika	891 ± 94	957 ± 89	1050 ± 141
140. dakika	891 ± 81	1013 ± 103	1075 ± 173
150. dakika	872 ± 86	978 ± 103	1056 ± 180
160. dakika	863 ± 78	930 ± 91	966 ± 158
170. dakika	840 ± 79	944 ± 99	913 ± 148
180. dakika	816 ± 70	928 ± 100	915 ± 156

Tablo IX: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg) ve AM-251 (0.5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 30: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg) ve AM-251(0.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında AM-251 (0.25 µg) grubunda 30. dakikadan itibaren istatistiksel anlamda bir artış saptandı. AM-251 (0.5 µg) grubu ise, kontrol grubuna göre 40. dakikada anlamlı olarak arttı. (*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 31: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25µg) ve AM-251(0.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında ne AM-251(0.25 µg) ne de AM-251 (0.5 µg) grubunda istatistiksel anlamda bir değişim saptanmadı.*

4.1.9. CB_1 Reseptör Agonisti ACEA'nın (2.5 µg) Epileptiform Aktiviteye Etkisi (Anestezi Altındaki Sıçan)

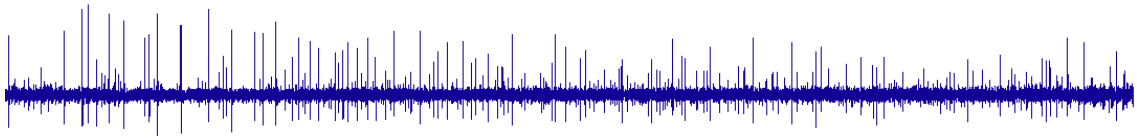
Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ACEA 2.5 µg (1 µl) dozunda i.s.v. olarak uygulandı. 80. dakikadan sonra bir miktar düşüş gözlense de, bu düşüş kontrol grubuna göre 180. dakika sonuna kadar istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 33). 80. dakikada ACEA (2.5 µg) grubundan hesaplanan spike frekansı 20.60 ± 2.14 iken, kontrol grubunda aynı dakikadaki değer 39.98 ± 3.85 olarak tespit edildi

ACEA (2.5 µg) grubu amplitüd değerleri açısından da kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 34).

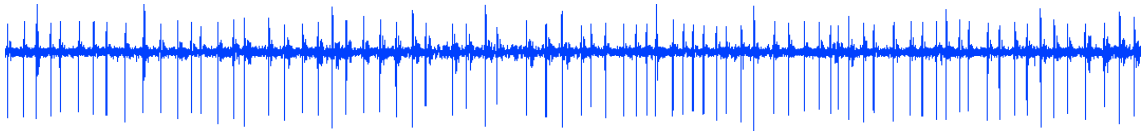
ACEA (2.5 µg) grubunun ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 32-C'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

B) ACEA (7.5 µg)



ACEA (2.5 µg)



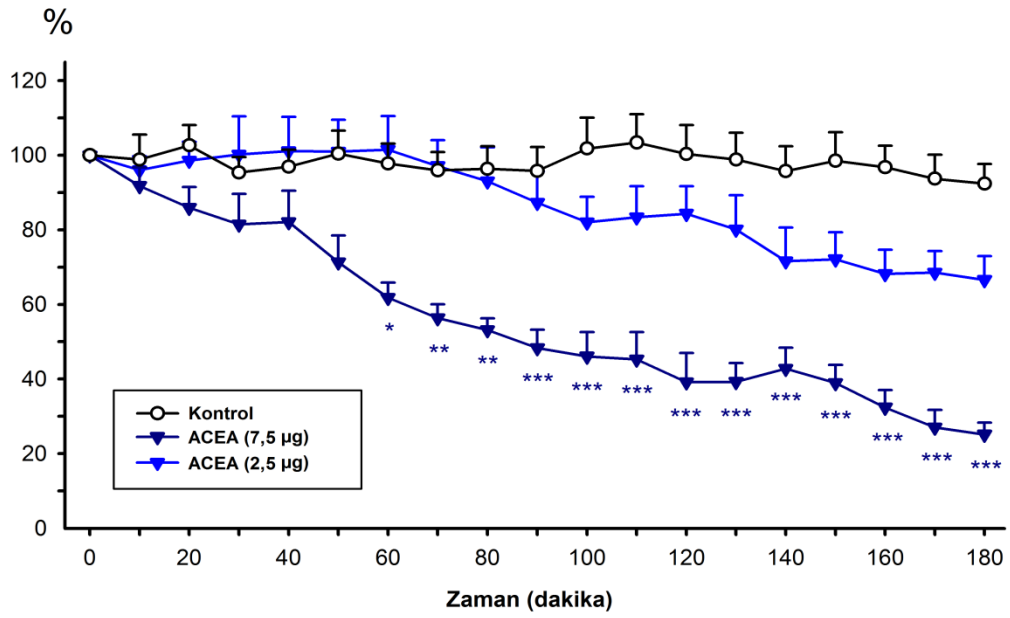
Şekil 32: *A)Penisilin kontrol (500 IU), B) Penisilin + ACEA (7.5 µg) ve C) Penisilin + ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**ACEA (7.5 µg)**	**ACEA (2.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	39.10 ± 3.82	39.23 ± 3.15
10. dakika	41.45 ± 5.37	35.23 ± 2.68	37.90 ± 2.40
20. dakika	42.35 ± 4.29	32.98 ± 2.81	37.74 ± 2.32
30. dakika	39.52 ± 3.89	31.10 ± 3.40	37.21 ± 2.63
40. dakika	40.28 ± 4.08	31.28 ± 3.31	35.71 ± 3.14
50. dakika	41.15 ± 3.92	27.70 ± 3.50	34.04 ± 3.51
60. dakika	40.69 ± 4.33	23.90 ± 2.69	31.78 ± 2.77
70. dakika	39.66 ± 3.54	21.85 ± 2.44	31.56 ± 3.27
80. dakika	39.98 ± 3.85	20.60 ± 2.14	31.38 ± 3.35
90. dakika	39.43 ± 3.44	18.82 ± 2.60	32.22 ± 2.73
100. dakika	41.88 ± 4.11	18.18 ± 3.59	32.61 ± 2.53
110. dakika	42.59 ± 4.04	17.54 ± 3.50	31.70 ± 2.67
120. dakika	41.29 ± 3.92	14.68 ± 3.28	31.24 ± 3.58
130. dakika	40.76 ± 4.24	14.52 ± 1.53	28.98 ± 4.35
140. dakika	39.69 ± 4.16	15.70 ± 1.53	27.65 ± 2.37
150. dakika	40.78 ± 4.23	14.48 ± 1.58	26.88 ± 2.82
160. dakika	40.29 ± 3.94	11.87 ± 1.48	29.81 ± 4.51
170. dakika	38.70 ± 3.67	10.04 ± 1.56	27.45 ± 4.20
180. dakika	38.40 ± 3.63	9.61 ± 1.31	28.40 ± 3.96

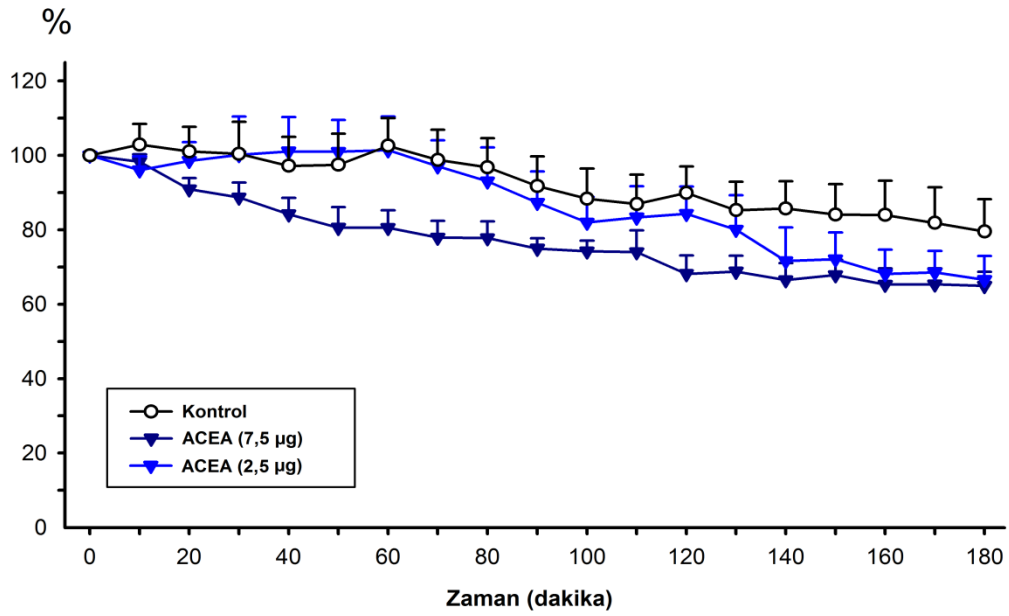
Tablo X: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (penisilin, 500 IU), ACEA (7.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	ACEA (7.5 µg)	ACEA (2.5 µg)
0. dakika	1061 ± 100	1130 ± 141	1169 ± 140
10. dakika	1101 ± 131	1118 ± 148	1117 ± 132
20. dakika	1096 ± 157	1051 ± 159	1174 ± 173
30. dakika	1092 ± 170	1024 ± 152	1208 ± 212
40. dakika	1065 ± 171	960 ± 127	1237 ± 237
50. dakika	1054 ± 152	906 ± 111	1230 ± 228
60. dakika	1088 ± 124	927 ± 136	1225 ± 226
70. dakika	1051 ± 126	877 ± 110	1175 ± 207
80. dakika	1018 ± 104	885 ± 128	1132 ± 221
90. dakika	970 ± 111	840 ± 97	1057 ± 196
100. dakika	919 ± 90	832 ± 97	999 ± 188
110. dakika	905 ± 88	829 ± 97	1027 ± 208
120. dakika	936 ± 84	763 ± 92	1034 ± 195
130. dakika	891 ± 94	775 ± 93	985 ± 218
140. dakika	891 ± 81	747 ± 92	878 ± 202
150. dakika	872 ± 86	762 ± 88	883 ± 181
160. dakika	863 ± 78	735 ± 90	827 ± 166
170. dakika	840 ± 79	734 ± 88	820 ± 153
180. dakika	816 ± 70	734 ± 90	791 ± 152

Tablo XI: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ACEA (7.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 33: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ACEA (7.5µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında ACEA (7.5 µg) grubunda 60. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan anlamlı anlamda bir azalma saptandı. ACEA (2.5 µg) grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma tespit edilmedi (p>0.05), (*= p< 0.05,**=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 34: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ACEA (7.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında ne (ACEA 7.5 µg) ne de ACEA (2.5µg) grubunda istatistiksel açıdan anlamlı anlamda bir değişim saptanmadı.*

4.2. Anestezili Sıçanlarda Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

500 IU Penisilin enjeksiyonundan 30 dakika sonra ghrelin 1µg (2 µl) ve ghrelin 0.5 µg dozları (2 µl) i.s.v. olarak uygulandı.

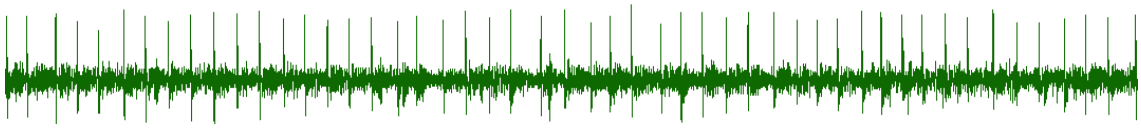
Ghrelin (1 µg) grubunda 60. dakikadaki spike frekansı 27.63 ± 3.67 olarak saptandı. Kontrol grubunda ise bu dakikadaki değer 40.69 ± 4.33 olarak hesaplandı (Tablo XII). Eşzamanlı spike frekans yüzde değişimi ise, ghrelin 1 µg grubunda % 69.34 ± 6.70 olarak saptanırken, kontrol grubunda % 97.78 ± 5.33 olarak bulundu ($p<0.05$). Ghrelin (1 µg), 60. dakikadan 180. dakika sonuna kadar olan tüm dakikalarda kontrol grubuna göre yüzde spike frekansını istatistiksel açıdan düşürdü ($p<0.05$), (Şekil 36).

Ghrelin (0.5 µg) grubunda ise, 40. dakikadan sonra bir miktar düşüş gözlense de, bu düşüş kontrol grubuna göre 180. dakika sonuna kadar istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 36). Her iki grubun spike amplitüd yüzde değişim değerleri de kontrol grubuna göre anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 37).

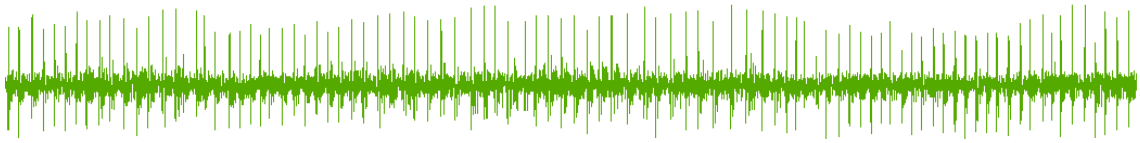
Ghrelin (1 µg) ve Ghrelin (0.5 µg) gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 35'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

B) Ghrelin (1 µg)



C) Ghrelin (0.5 µg)



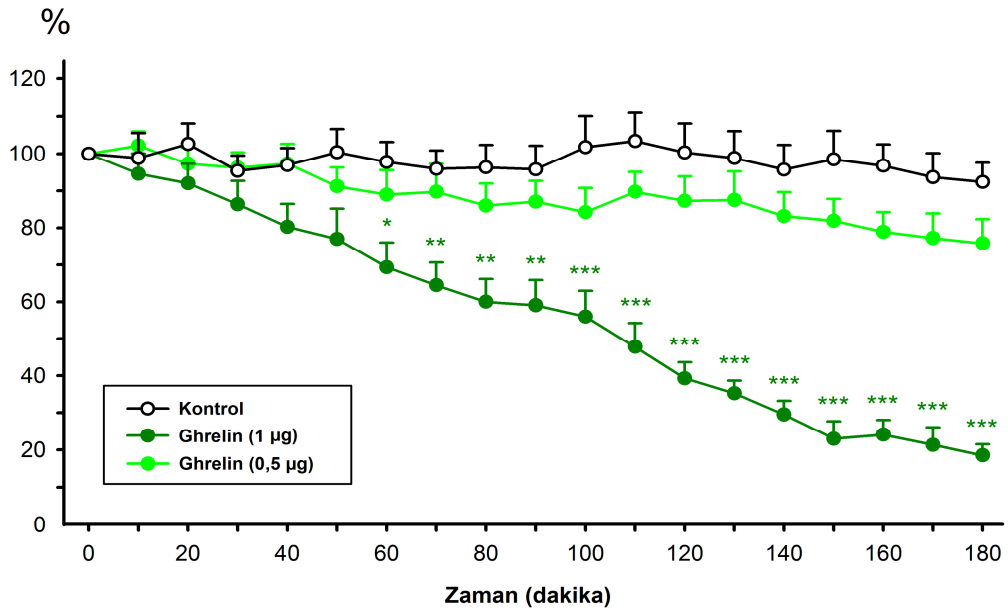
Şekil 35: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + ghrelin (1 µg) ve C) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**Ghrelin (1 µg)**	**Ghrelin (0.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	40.69 ± 5.21	42.60 ± 3.90
10. dakika	41.45 ± 5.37	37.23 ± 3.24	42.97 ± 3.22
20. dakika	42.35 ± 4.29	36.20 ± 3.1	40.80 ± 2.88
30. dakika	39.52 ± 3.89	34.07 ± 3.25	40.97 ± 4.14
40. dakika	40.28 ± 4.08	32.02 ± 3.74	40.59 ± 2.71
50. dakika	41.15 ± 3.92	31.04 ± 4.72	38.66 ± 4.02
60. dakika	40.69 ± 4.33	27.63 ± 3.67	37.29 ± 3.40
70. dakika	39.66 ± 3.54	26.74 ± 4.63	37.64 ± 3.72
80. dakika	39.98 ± 3.85	25.06 ± 4.63	36.49 ± 4.23
90. dakika	39.43 ± 3.44	24.73 ± 4.75	37.11 ± 4.45
100. dakika	41.88 ± 4.11	23.69 ± 4.92	35.31 ± 3.74
110. dakika	42.59 ± 4.04	19.87 ± 4.10	37.87 ± 3.66
120. dakika	41.29 ± 3.92	15.76 ± 2.58	37.01 ± 4.46
130. dakika	40.76 ± 4.24	13.61 ± 1.30	36.90 ± 4.56
140. dakika	39.69 ± 4.16	11.09 ± 1.17	34.83 ± 3.67
150. dakika	40.78 ± 4.23	8.46 ± 1.46	34.33 ± 3.48
160. dakika	40.29 ± 3.94	9.07 ± 1.39	33.41 ± 3.79
170. dakika	38.70 ± 3.67	7.73 ± 1.22	32.53 ± 3.84
180. dakika	38.40 ± 3.63	7.06 ± 1.08	32.14 ± 4.10

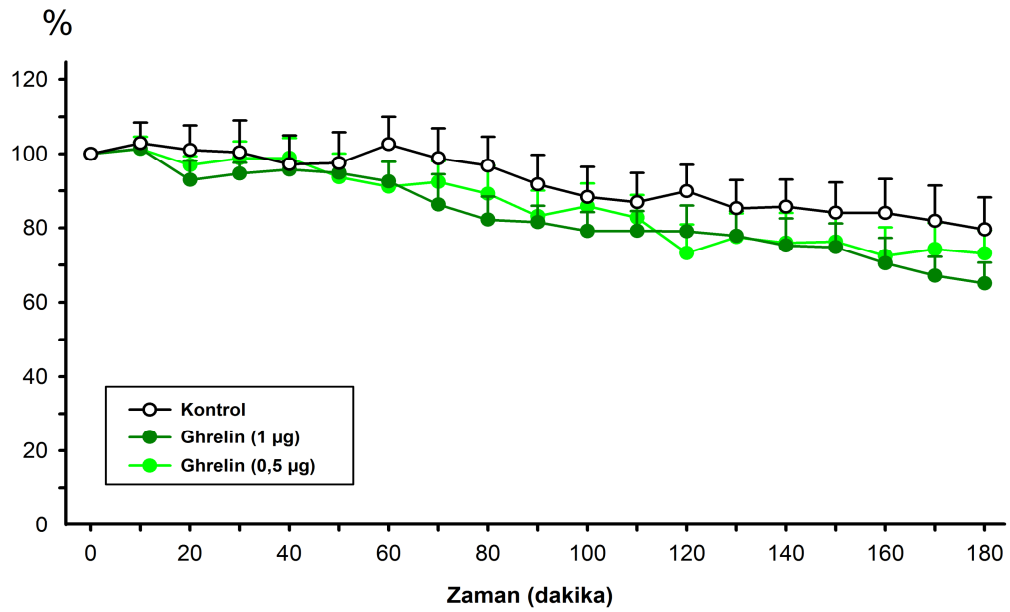
Tablo XII: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1µg) ve ghrelin (0.5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	Ghrelin (1 µg)	Ghrelin (0.5 µg)
0. dakika	1061 ± 100	1186 ± 112	1080 ± 72
10. dakika	1101 ± 131	1200 ± 109	1100 ± 96
20. dakika	1096 ± 157	1118 ± 147	1051 ± 80
30. dakika	1092 ± 170	1129 ± 122	1084 ± 119
40. dakika	1065 ± 171	1140 ± 118	1071 ± 90
50. dakika	1054 ± 152	1126 ± 114	1002 ± 78
60. dakika	1088 ± 124	1098 ± 121	970 ± 67
70. dakika	1051 ± 126	1029 ± 138	992 ± 74
80. dakika	1018 ± 104	982 ± 129	960 ± 98
90. dakika	970 ± 111	971 ± 113	886 ± 68
100. dakika	919 ± 90	942 ± 114	913 ± 57
110. dakika	905 ± 88	942 ± 115	876 ± 50
120. dakika	936 ± 84	942 ± 127	762 ± 50
130. dakika	891 ± 94	921 ± 116	817 ± 49
140. dakika	891 ± 81	889 ± 115	792 ± 60
150. dakika	872 ± 86	882 ± 107	800 ± 60
160. dakika	863 ± 78	834 ± 114	756 ± 58
170. dakika	840 ± 79	799 ± 109	782 ± 58
180. dakika	816 ± 70	774 ± 111	775 ± 59

Tablo XIII: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg) ve ghrelin (0.5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 36: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), Ghrelin (1 µg) ve Ghrelin (0.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında ghrelin 1 µg grubunda, 60. dakikadan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. Ghrelin 0.5 µg grubunda ise, bir miktar azalma meydana gelmiş olsa da bu düşüş istatistiksel açıdan anlamlı değildi (*= p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001).*



Şekil 37: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg) ve ghrelin (0.5 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Penisilin (kontrol) grubu ile karşılaştırıldığında ne ghrelin 1 µg ne de ghrelin 0.5 µg grubunda istatistiksel anlamda bir değişim saptanmadı.*

4.3. Anestezili Sıçanlarda Ghrelin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

4.3.1. AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.25 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra da ghrelin 1 µg (2 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

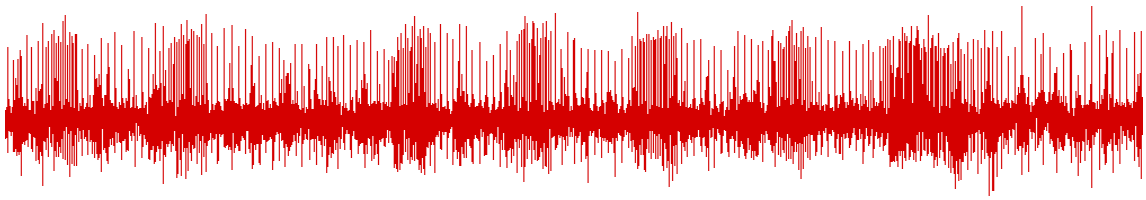
Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0.25 µg), kontrol grubuna göre 30. dakikada spike aktivitesini anlamlı bir şekilde artırdı ($p<0.001$) (Şekil 39). Tek başına ghrelin (1 µg) ise, kontrol grubuna göre spike aktivitesini 70. dakikada anlamlı düzeyde azalttı ($p<0.05$) (Şekil 39). Ancak, AM-251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) grubundaki değişim kontrol grubuna göre anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 39). AM-251 + ghrelin kombinasyon grubunda, 20. dakikadaki spike sayısı ve yüzde spike değişimi sırasıyla 51.18 ± 4.45, % 123.01 ± 3.33 iken, ghrelin grubunda sırasıyla 36.2 ± 3.10, % 95.05 ± 5.22 olarak hesaplandı (Tablo XIV). AM-251 + ghrelin grubunun yüzde spike değişimi, ghrelin grubuna göre 20-70. dakikalar arasında ve 130. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan anlamlıydı ($p<0.05$), (Şekil 39). Ayrıca, AM-251 + ghrelin

grubu, tek başına enjekte edilen AM-251'e (0.25 µg) göre 50. dakikadan itibaren yüzde spike frekansını anlamlı düzeyde azalttı ($p<0.05$), (Şekil 39). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 40).

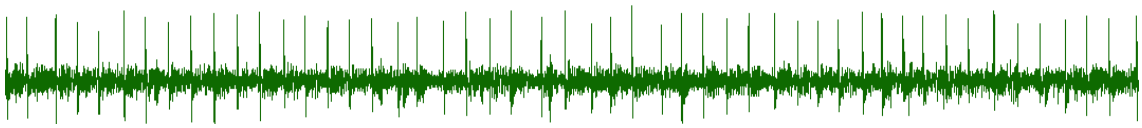
AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 38'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

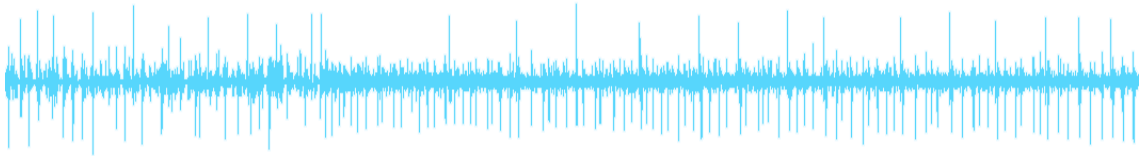
B) AM-251 (0.25 µg)



C) Ghrelin (1 µg)



D) AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg)



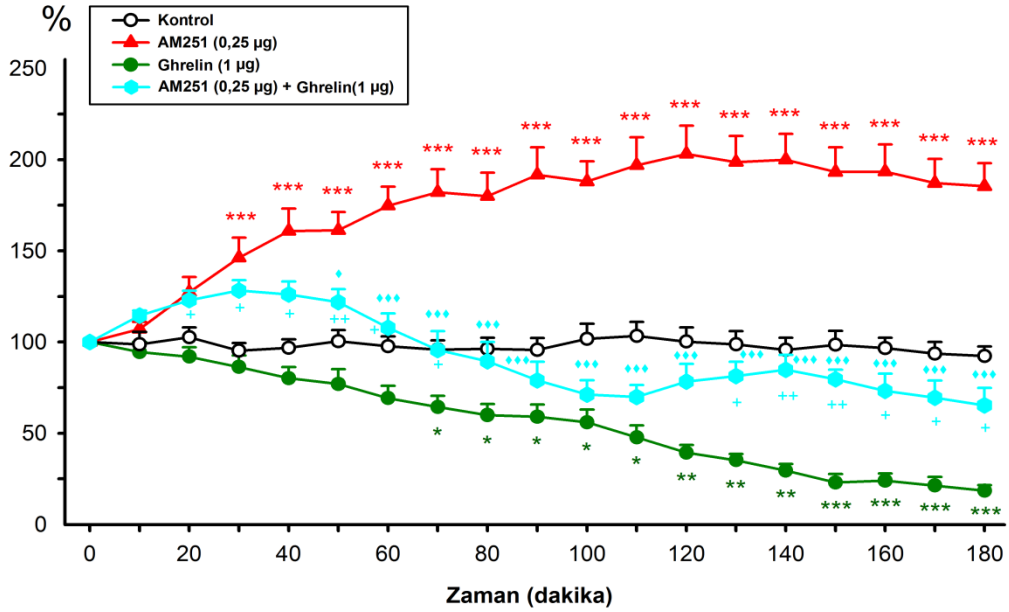
Şekil 38: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.25 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) ve D) Penisilin + AM-251 + ghrelin gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**Ghrelin (1 µg)**	**AM-251 (0.25µg)**	**AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	40.69 ± 5.21	42.61 ± 2.06	41.57 ± 3.04
10. dakika	41.45 ± 5.37	37.23 ± 3.24	45.73 ± 2.80	47.72 ± 3.90
20. dakika	42.35 ± 4.29	36.20 ± 3.10	54.11 ± 4.08	51.18 ± 4.45
30. dakika	39.52 ± 3.89	34.07 ± 3.25	61.49 ± 4.16	53.66 ± 5.24
40. dakika	40.28 ± 4.08	32.01 ± 3.74	67.95 ± 5.30	51.99 ± 3.75
50. dakika	41.15 ± 3.92	31.04 ± 4.72	68.06 ± 4.03	50.30 ± 3.85
60. dakika	40.69 ± 4.33	27.63 ± 3.67	74.32 ± 5.41	44.78 ± 4.62
70. dakika	39.66 ± 3.54	26.74 ± 4.63	78.27 ± 7.45	39.79 ± 5.13
80. dakika	39.98 ± 3.85	25.06 ± 4.63	77.52 ± 7.95	37.30 ± 5.35
90. dakika	39.43 ± 3.44	24.73 ± 4.75	82.36 ± 8.47	33.12 ± 5.34
100. dakika	41.88 ± 4.11	23.69 ± 4.92	80.37 ± 6.89	30.28 ± 5.26
110. dakika	42.59 ± 4.04	19.87 ± 4.10	84.26 ± 8.27	29.80 ± 4.70
120. dakika	41.29 ± 3.92	15.76 ± 2.58	86.64 ± 8.02	33.16 ± 5.67
130. dakika	40.76 ± 4.24	13.61 ± 1.30	85.33 ± 8.34	33.87 ± 4.20
140. dakika	39.69 ± 4.16	11.09 ± 1.17	85.86 ± 8.34	35.30 ± 4.43
150. dakika	40.78 ± 4.23	8.46 ± 1.46	82.91 ± 7.85	33.32 ± 3.65
160. dakika	40.29 ± 3.94	9.07 ± 1.39	83.61 ± 9.19	31.04 ± 5.46
170. dakika	38.70 ± 3.67	7.73 ± 1.22	80.38 ± 7.84	29.12 ± 4.76
180. dakika	38.40 ± 3.63	7.06 ± 1.08	79.84 ± 8.09	27.17 ± 4.35

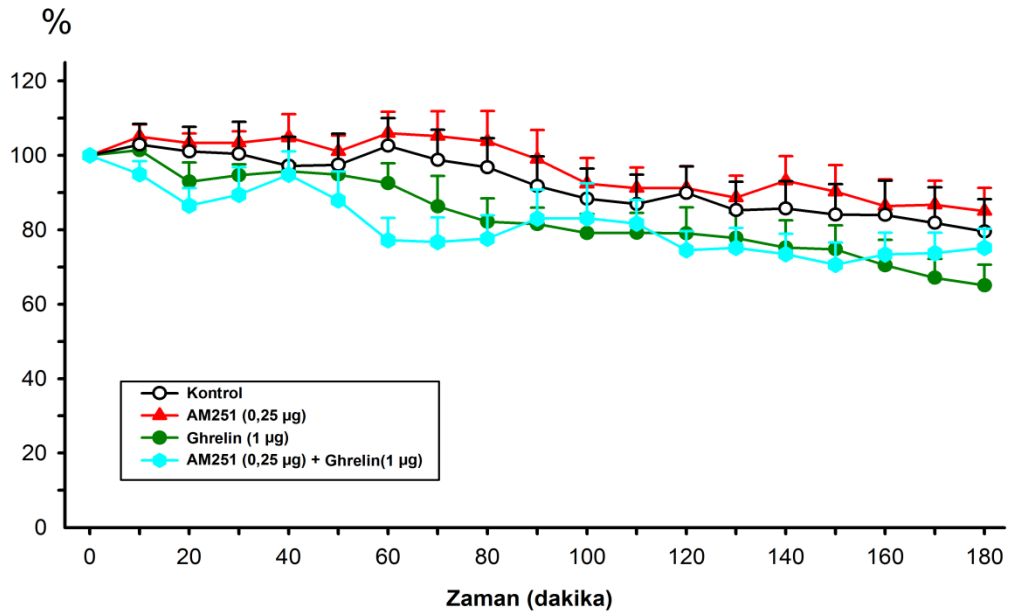
Tablo XIV: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 + ghrelin + gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	**Kontrol**	**Ghrelin (1 µg)**	**AM-251 (0.25 µg)**	**AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg)**
0. dakika	1061 ± 100	1186 ± 112	1085 ± 78	1090 ± 182
10. dakika	1101 ± 131	1200 ± 109	1135 ± 82	1062 ± 223
20. dakika	1096 ± 157	1118 ± 147	1121 ± 87	968 ± 205
30. dakika	1092 ± 170	1129 ± 122	1122 ± 88	1017 ± 248
40. dakika	1065 ± 171	1140 ± 118	1123 ± 81	1050 ± 220
50. dakika	1054 ± 152	1126 ± 114	1086 ± 69	972 ± 200
60. dakika	1088 ± 124	1098 ± 121	1149 ± 95	854 ± 171
70. dakika	1051 ± 126	1029 ± 138	1137 ± 96	864 ± 193
80. dakika	1018 ± 104	982 ± 129	1121 ± 108	885 ± 208
90. dakika	970 ± 111	971 ± 113	1066 ± 104	906 ± 169
100. dakika	919 ± 90	942 ± 114	996 ± 96	908 ± 176
110. dakika	905 ± 88	942 ± 115	988 ± 91	891 ± 155
120. dakika	936 ± 84	942 ± 127	987 ± 92	802 ± 122
130. dakika	891 ± 94	921 ± 116	957 ± 89	822 ± 144
140. dakika	891 ± 81	889 ± 115	1013 ± 103	787 ± 118
150. dakika	872 ± 86	882 ± 107	978 ± 103	766 ± 131
160. dakika	863 ± 78	834 ± 114	930 ± 91	786 ± 121
170. dakika	840 ± 79	799 ± 109	944 ± 99	809 ± 146
180. dakika	816 ± 70	774 ± 111	928 ± 100	824 ± 148

Tablo XV: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 + ghrelin gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 39: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 (0.25 µg) + ghrelin (1µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). AM-251 grubu 30. dakikadan itibaren, Ghrelin grubu ise 70. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlıydı. AM-251 + Ghrelin grubunun ise kontrol grubuna göre anlamlı olmadığı tespit edildi. (*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). AM-251 + Ghrelin kombinasyonu, AM-251 grubuna göre 50. dakikadan sonra yüzde spike frekansını istatistiksel açıdan anlamlı şekilde azaltırken (◆=p<0.05, ◆◆=p<0.01, ◆◆◆=p<0.001), ghrelin grubuna göre 20-70. dakikalar arasında ve 130. dakikadan itibaren anlamlı bir oranda arttırdı (+=p<0.05, ++=p<0.01, +++=p<0.001).*



Şekil 40: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında deney gruplarının, ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

4.3.2. AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

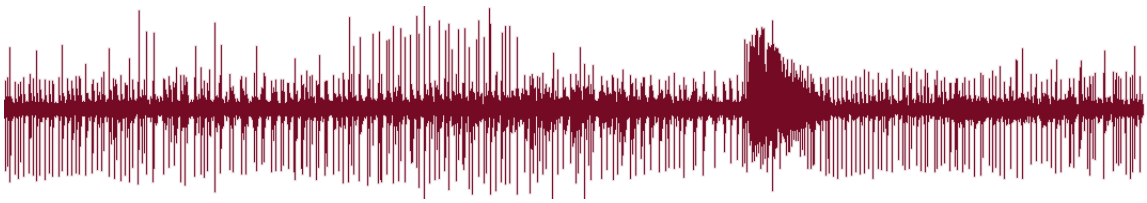
Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.5 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra da ghrelin 1 µg (2 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0.5 µg), kontrol grubuna göre 30. dakikadan itibaren spike aktivitesini anlamlı bir şekilde artırdı ($p<0.05$), (Şekil 42). Tek başına ghrelin (1 µg) ise kontrol grubuna göre spike aktivitesini 70. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde azalttı ($p<0.05$) (Şekil 42). Ancak, AM-251 + ghrelin grubunun frekansı sadece 30. ve 40. dakikalarda kontrol grubuna göre daha yüksekti ($p<0.05$), (Şekil 42). AM-251 + ghrelin kombinasyon grubunda, 60. dakikadaki spike sayısı ve yüzde spike değişimi sırasıyla 47.63 ± 4.33, % 114.39 ± 10.75 iken, AM-251 (0.5 µg) grubunda sırasıyla 60.24 ± 3.18, % 157.15 ± 11.55 olarak hesaplandı (Tablo XIV). AM-251 + ghrelin grubunun yüzde spike değişimi AM-251 (0.5 µg) grubuna göre 60. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde düşüktü ($p<0.05$), (Şekil 42). Ayrıca, AM-251 + ghrelin grubu ile tek başına enjekte edilen ghrelin (1 µg) grubu arasındaki fark 30. dakikadan itibaren anlamlı hale geldi ve bu artış deney sonuna kadar devam etti ($p<0.05$), (Şekil 42). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının, ne kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 43).

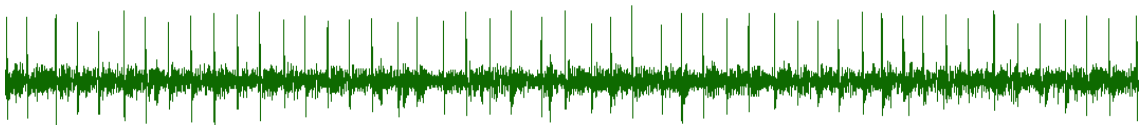
AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 (0.5 µg) + ghrelin (1 µg) gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 41'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

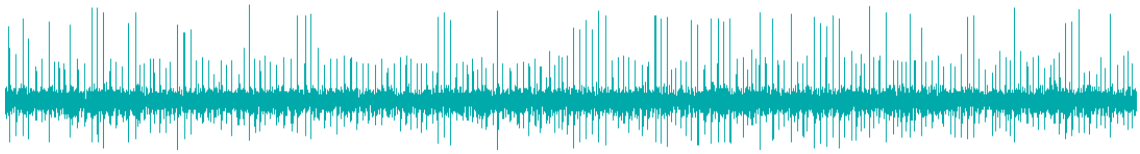
B) AM-251 (0.5 µg)



C) Ghrelin (1 µg)



D AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg)



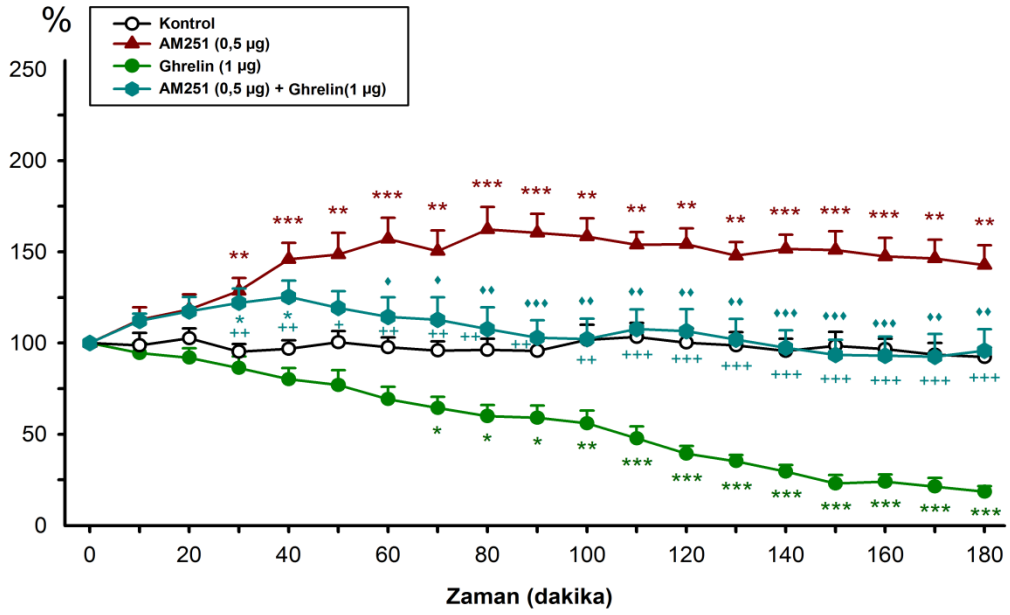
Şekil 41: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.5 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) ve D) Penisilin + AM-251 + ghrelin gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**Ghrelin (1 µg)**	**AM-251 (0.5 µg)**	**AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	40.69 ± 5.21	38.9 ± 1.92	42.57 ± 4.04
10. dakika	41.45 ± 5.37	37.23 ± 3.24	43.97 ± 3.62	47.7 ± 4.64
20. dakika	42.35 ± 4.29	36.2 ± 3.1	45.77 ± 3.21	48.73 ± 3.21
30. dakika	39.52 ± 3.89	34.07 ± 3.25	49.47 ± 1.87	50.63 ± 2.95
40. dakika	40.28 ± 4.08	32 ± 3.74	56.04 ± 2.48	51.82 ± 2.89
50. dakika	41.15 ± 3.92	31.04 ± 4.72	57.03 ± 3.5	49.93 ± 4.33
60. dakika	40.69 ± 4.33	27.63 ± 3.67	60.24 ± 3.18	47.63 ± 4.33
70. dakika	39.66 ± 3.54	26.74 ± 4.63	58.07 ± 4.25	46.8 ± 4.56
80. dakika	39.98 ± 3.85	25.06 ± 4.63	62.66 ± 4.82	44.8 ± 4.43
90. dakika	39.43 ± 3.44	24.73 ± 4.75	62.29 ± 4.64	42.65 ± 3.37
100. dakika	41.88 ± 4.11	23.69 ± 4.92	60.99 ± 3.34	42.31 ± 3.82
110. dakika	42.59 ± 4.04	19.87 ± 4.1	59.41 ± 2.54	44.83 ± 4.18
120. dakika	41.29 ± 3.92	15.76 ± 2.58	59.61 ± 3.28	44.73 ± 5.31
130. dakika	40.76 ± 4.24	13.61 ± 1.3	57.11 ± 2.78	42.58 ± 5.06
140. dakika	39.69 ± 4.16	11.09 ± 1.17	58.34 ± 2.29	41.39 ± 5.38
150. dakika	40.78 ± 4.23	8.46 ± 1.46	57.86 ± 2.35	39.79 ± 5.21
160. dakika	40.29 ± 3.94	9.07 ± 1.39	56.73 ± 2.98	39.44 ± 5.51
170. dakika	38.7 ± 3.67	7.73 ± 1.22	56.39 ± 3.24	39.07 ± 5.65
180. dakika	38.4 ± 3.63	7.06 ± 1.08	54.94 ± 3.37	40.32 ± 5.14

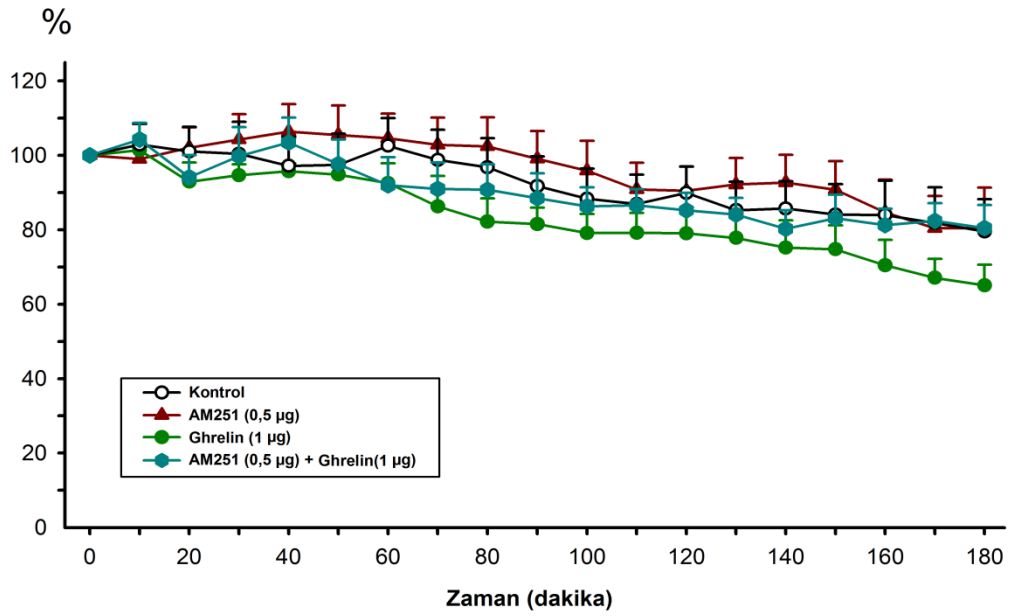
Tablo XVI: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 + ghrelin gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	Ghrelin (1 µg)	AM-251 (0.5 µg)	AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg)
0. dakika	1061 ± 100	1186 ± 112	1140 ± 122	1127 ± 179
10. dakika	1101 ± 131	1200 ± 109	1114 ± 102	1193 ± 211
20. dakika	1096 ± 157	1118 ± 147	1147 ± 117	1083 ± 197
30. dakika	1092 ± 170	1129 ± 122	1169 ± 124	1165 ± 234
40. dakika	1065 ± 171	1140 ± 118	1200 ± 143	1185 ± 211
50. dakika	1054 ± 152	1126 ± 114	1203 ± 173	1105 ± 182
60. dakika	1088 ± 124	1098 ± 121	1199 ± 168	1023 ± 154
70. dakika	1051 ± 126	1029 ± 138	1169 ± 152	1020 ± 160
80. dakika	1018 ± 104	982 ± 129	1160 ± 150	1012 ± 148
90. dakika	970 ± 111	971 ± 113	1124 ± 147	989 ± 148
100. dakika	919 ± 90	942 ± 114	1110 ± 181	962 ± 141
110. dakika	905 ± 88	942 ± 115	1051 ± 165	956 ± 126
120. dakika	936 ± 84	942 ± 127	1043 ± 155	931 ± 107
130. dakika	891 ± 94	921 ± 116	1050 ± 141	926 ± 123
140. dakika	891 ± 81	889 ± 115	1075 ± 173	887 ± 129
150. dakika	872 ± 86	882 ± 107	1056 ± 180	908 ± 128
160. dakika	863 ± 78	834 ± 114	966 ± 158	896 ± 129
170. dakika	840 ± 79	799 ± 109	913 ± 148	922 ± 153
180. dakika	816 ± 70	774 ± 111	915 ± 156	907 ± 165

Tablo XVII: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 + ghrelin gruplarından hesaplanan spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 42: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 (0.5 µg) + ghrelin (1 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). AM-251 (0.5 µg) grubu 30. dakikadan itibaren, ghrelin (1µg) grubu ise 70. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlıydı. AM-251 + Ghrelin grubu ise, kontrol grubuna göre sadece 30. ve 40. dakikalarda anlamlı olarak saptandı (*=p<0.05, **=p<0.01,***=p<0.001). AM-251 + Ghrelin kombinasyonu, AM-251 (0.5 µg) grubuna göre 60. dakikadan itibaren spike frekans yüzde değişimini anlamlı bir şekilde azaltırken ($^{\blacklozenge}$=p<0.05, $^{\blacklozenge\blacklozenge}$=p<0.01,$^{\blacklozenge\blacklozenge\blacklozenge}$=p<0.001), ghrelin (1 µg) grubuna göre 30. dakikadan itibaren anlamlı bir şekilde artırdı ($^{+}$=p<0.05, $^{++}$=p<0.01, $^{+++}$=p<0.001).*



Şekil 43: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) ve AM-251 + ghrelin gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarının ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

4.3.3. Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

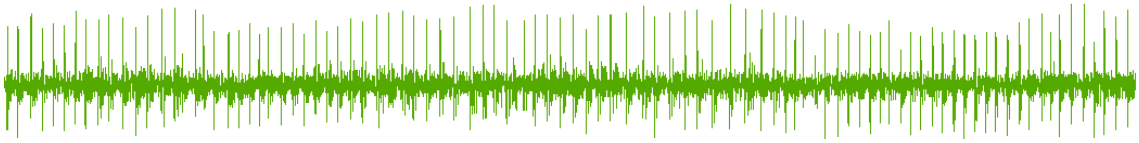
Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ghrelin 0.5 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, ghrelinden 10 dk sonra da ACEA 2.5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına Ghrelin (0.5 µg) ve tek başına ACEA (2.5 µg) kontrol grubuna göre 180 dk boyunca anlamlı bir fark oluşturmadı ($p>0.05$), (Şekil 45). Ghrelin + ACEA kombinasyonu ise kontrol grubuna göre spike yüzde değişimini 80. dakikada anlamlı olarak azalttı ($p<0.05$), (Şekil 45). 80. dakikada kontrol grubunda spike sayısı ve yüzde spike değişimi sırasıyla 39.98 ± 3.85, % 96.33 ± 6.07 iken, kombinasyon grubunda sırasıyla 25.12 ± 2.72, % 64.9 ± 7.31 olarak saptandı (Tablo XVIII). Ghrelin (0.5 µg)+ ACEA (2.5 µg) grubu, ACEA 2.5 µg grubuna göre 90. dakikada ($p<0.05$) , ghrelin 0.5 µg grubuna göre ise 110. dakikada anlamlı oldu ($p<0.05$) (Şekil 45). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 46).

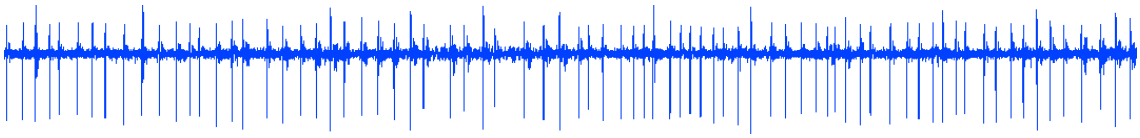
Ghrelin (0.5 µg), ACEA (2.5 µg) ve Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri Şekil 44'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

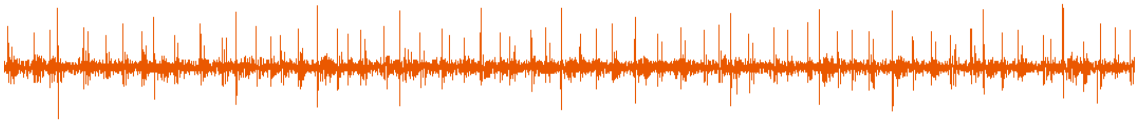
B) Ghrelin (0.5)



C) ACEA (2.5 µg)



D) Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)



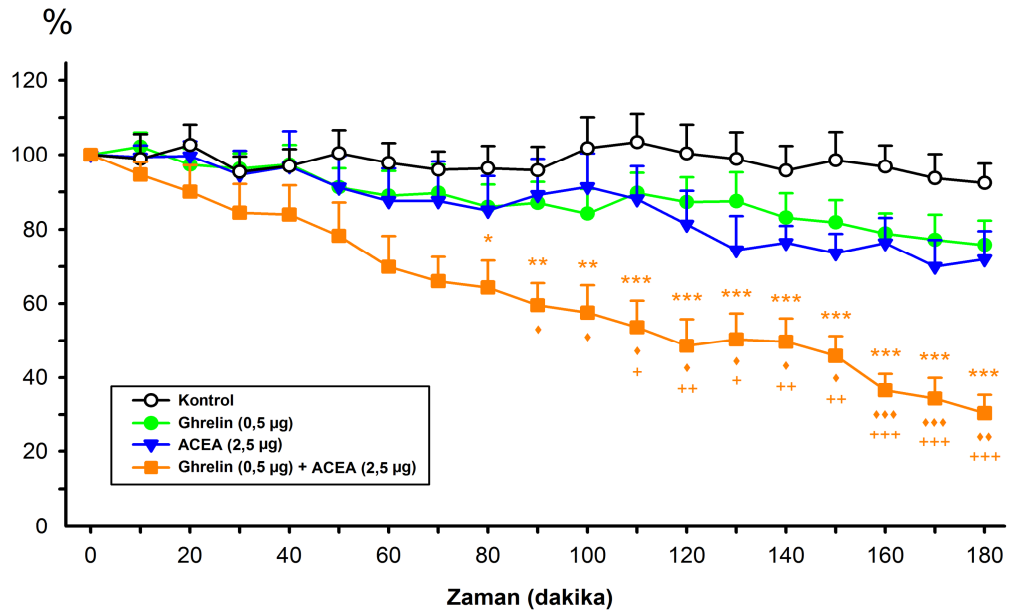
Şekil 44: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + ghrelin (0.5 µg), C) Penisilin + ACEA (2.5 µg) ve D) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**Ghrelin (0.5 µg)**	**ACEA (2.5 µg)**	**Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	42.60 ± 3.90	39.23 ± 3.15	40.57 ± 4.46
10. dakika	41.45 ± 5.37	42.97 ± 3.22	37.90 ± 2.40	37.90 ± 3.51
20. dakika	42.35 ± 4.29	40.80 ± 2.88	37.74 ± 2.32	36.03 ± 4.12
30. dakika	39.52 ± 3.89	40.97 ± 4.14	37.21 ± 2.63	33.72 ± 4.11
40. dakika	40.28 ± 4.08	40.59 ± 2.71	35.71 ± 3.14	33.32 ± 3.84
50. dakika	41.15 ± 3.92	38.66 ± 4.02	34.04 ± 3.51	30.77 ± 3.73
60. dakika	40.69 ± 4.33	37.29 ± 3.40	31.78 ± 2.77	27.48 ± 3.62
70. dakika	39.66 ± 3.54	37.64 ± 3.72	31.56 ± 3.27	26.02 ± 2.93
80. dakika	39.98 ± 3.85	36.49 ± 4.23	31.38 ± 3.35	25.12 ± 2.72
90. dakika	39.43 ± 3.44	37.11 ± 4.45	32.22 ± 2.73	23.43 ± 2.57
100. dakika	41.88 ± 4.11	35.31 ± 3.74	32.61 ± 2.53	22.53 ± 3.03
110. dakika	42.59 ± 4.04	37.87 ± 3.66	31.70 ± 2.67	21.15 ± 3.19
120. dakika	41.29 ± 3.92	37.01 ± 4.46	31.24 ± 3.58	18.97 ± 2.74
130. dakika	40.76 ± 4.24	36.90 ± 4.56	28.98 ± 4.35	19.70 ± 2.69
140. dakika	39.69 ± 4.16	34.83 ± 3.67	27.65 ± 2.37	19.63 ± 2.87
150. dakika	40.78 ± 4.23	34.33 ± 3.48	26.88 ± 2.82	18.32 ± 2.8
160. dakika	40.29 ± 3.94	33.41 ± 3.79	29.81 ± 4.51	14.65 ± 2.26
170. dakika	38.70 ± 3.67	32.53 ± 3.84	27.45 ± 4.20	13.63 ± 2.48
180. dakika	38.40 ± 3.63	32.14 ± 4.10	28.40 ± 3.96	11.97 ± 1.81

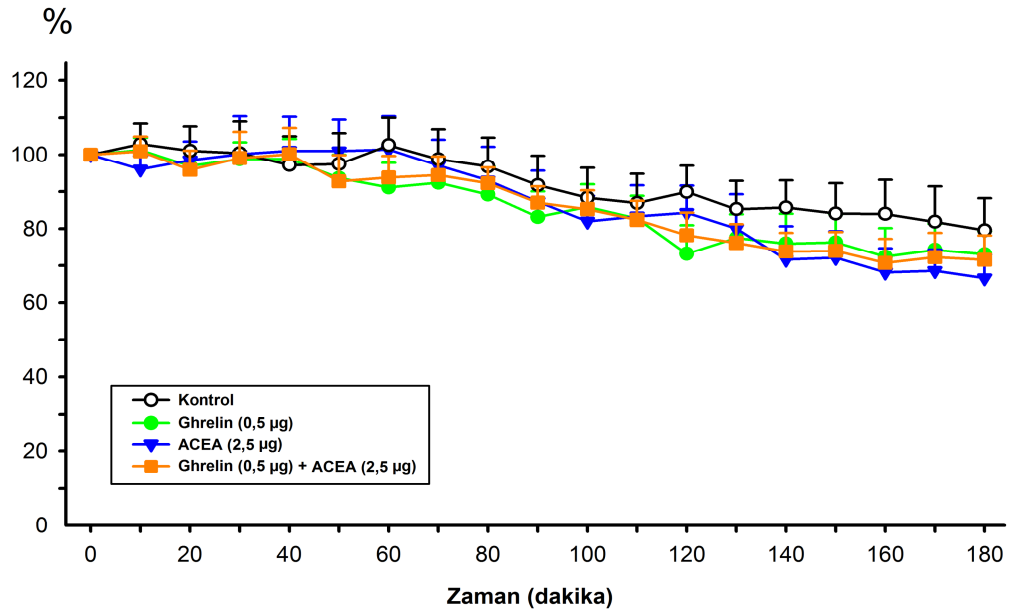
Tablo XVIII: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 µg), ACEA (2.5 µg) ve ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	**Kontrol**	**Ghrelin (0.5 µg)**	**ACEA (2.5 µg)**	**Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**
0. dakika	1061 ± 100	1127 ± 179	1169 ± 140	1057 ± 147
10. dakika	1101 ± 131	1193 ± 211	1117 ± 132	1060 ± 151
20. dakika	1096 ± 157	1083 ± 197	1174 ± 173	1014 ± 158
30. dakika	1092 ± 170	1165 ± 234	1208 ± 212	1072 ± 208
40. dakika	1065 ± 171	1185 ± 211	1237 ± 237	1083 ± 211
50. dakika	1054 ± 152	1105 ± 182	1230 ± 228	998 ± 191
60. dakika	1088 ± 124	1023 ± 154	1225 ± 226	998 ± 168
70. dakika	1051 ± 126	1020 ± 160	1175 ± 207	1003 ± 162
80. dakika	1018 ± 104	1012 ± 148	1132 ± 221	980 ± 161
90. dakika	970 ± 111	989 ± 148	1057 ± 196	938 ± 175
100. dakika	919 ± 90	962 ± 141	999 ± 188	913 ± 158
110. dakika	905 ± 88	956 ± 126	1027 ± 208	872 ± 134
120. dakika	936 ± 84	931 ± 107	1034 ± 195	817 ± 111
130. dakika	891 ± 94	926 ± 123	985 ± 218	794 ± 102
140. dakika	891 ± 81	887 ± 129	878 ± 202	760 ± 85
150. dakika	872 ± 86	908 ± 128	883 ± 181	759 ± 80
160. dakika	863 ± 78	896 ± 129	827 ± 166	702 ± 48
170. dakika	840 ± 79	922 ± 153	820 ± 153	716 ± 45
180. dakika	816 ± 70	907 ± 165	791 ± 152	710 ± 49

Tablo XIX: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 µg), ACEA (2.5 µg) ve ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 45: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 µg), ACEA (2.5 µg) ve ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Ghrelin (0.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) gruplarının kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edildi (p>0.05). Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubu ise, 80. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre yüzde spike frekansını anlamlı oranda azalttı (*= p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). Ghrelin + ACEA kombinasyonu yüzde spike frekansını, ACEA grubuna göre 90. dakikada anlamlı olarak azaltırken ($^{\blacklozenge}$=p<0.05, $^{\blacklozenge\blacklozenge}$=p<0.01, $^{\blacklozenge\blacklozenge\blacklozenge}$=p<0.001), yine ghrelin (0.5 µg) grubuna göre 110. dakikada anlamlı biçimde düşürdü ($^{+}$= p< 0.05, $^{++}$=p<0.01, $^{+++}$=p<0.001).*



Şekil 46: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (0.5 µg), ACEA (2.5 µg) ve ghrelin + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

4.3.4. AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.25 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra ghrelin 0.5 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, ghrelinden 10 dk sonra da ACEA 2.5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

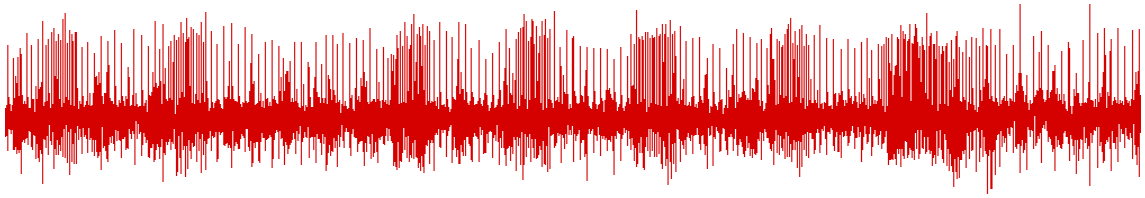
Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0.25 µg) grubu kontrol grubuna göre 30. dakikada spike sayısını anlamlı olarak artırdı ($p<0.01$), (Şekil 48). Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubu kontrol grubuna göre 110. dakikadan itibaren anlamlı oranda yüzde spike frekansını azalttı ($p<0.05$), (Şekil 48). AM-251 + ghrelin + ACEA grubu ise, 180 dk boyunca kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmadı ($p>0.05$), (Şekil 48). AM-251 + ghrelin + ACEA kombinasyonunun yüzde spike değişimi, AM-251 grubuna göre 50. dakikadan itibaren anlamlı olarak azaldı ($p<0.01$), (Şekil 48). Bu dakikadaki AM-251 + ghrelin + ACEA grubundaki spike frekansı ve yüzde değişimi sırasıyla 52.57 ± 4.38, % 117.25 ± 9.2 iken, AM-251 (0.25 µg) grubunda 68.06 ± 4.03, % 161.42 ± 9.85 olarak bulundu (Tablo XX).

AM-251 + ghrelin + ACEA grubunu, ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubuyla karşılaştırdığımızda ise, 30. dakikada istatistiksel açıdan anlamlı bir artış tespit edildi ve bu artış deney sonuna kadar devam etti ($p<0.05$), (Şekil 48). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 49).

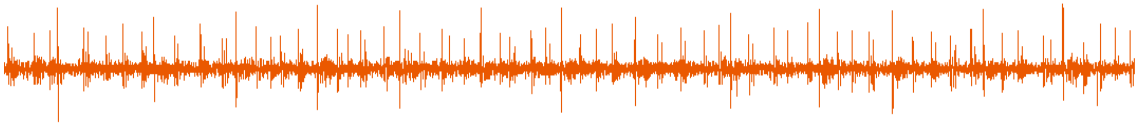
AM-251 (0.25 µg), Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + Ghrelin + ACEA gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 47'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

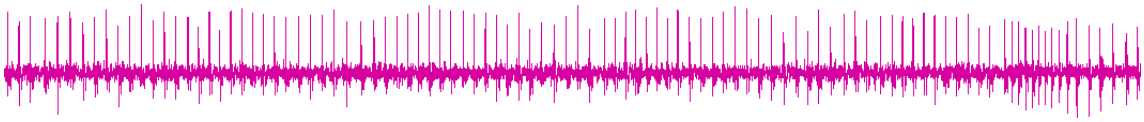
B) AM-251 (0.25 µg)



C) Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)



D) AM-251 (0.25 µg) + (Ghrelin 0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)



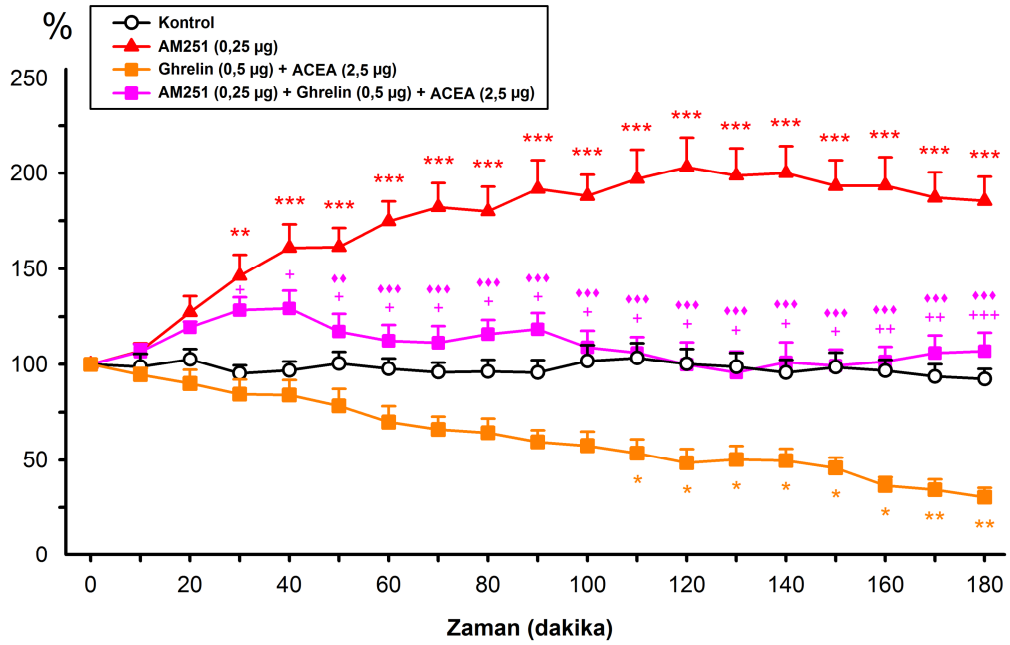
Şekil 47: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.25 µg), C) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve D) Penisilin + AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.25µg)**	**Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**	**AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	42.61 ± 2.06	40.57 ± 4.46	45.65 ± 4.26
10. dakika	41.45 ± 5.37	45.73 ± 2.80	37.90 ± 3.51	48.64 ± 4.79
20. dakika	42.35 ± 4.29	54.11 ± 4.08	36.03 ± 4.12	54.49 ± 4.97
30. dakika	39.52 ± 3.89	61.49 ± 4.16	33.72 ± 4.11	57.55 ± 3.83
40. dakika	40.28 ± 4.08	67.95 ± 5.30	33.32 ± 3.84	57.33 ± 3.07
50. dakika	41.15 ± 3.92	68.06 ± 4.03	30.77 ± 3.73	52.57 ± 4.38
60. dakika	40.69 ± 4.33	74.32 ± 5.41	27.48 ± 3.62	50.71 ± 4.74
70. dakika	39.66 ± 3.54	78.27 ± 7.45	26.02 ± 2.93	50.55 ± 5.25
80. dakika	39.98 ± 3.85	77.52 ± 7.95	25.12 ± 2.72	52.12 ± 4.36
90. dakika	39.43 ± 3.44	82.36 ± 8.47	23.43 ± 2.57	52.32 ± 2.27
100. dakika	41.88 ± 4.11	80.37 ± 6.89	22.53 ± 3.03	48.29 ± 3.41
110. dakika	42.59 ± 4.04	84.26 ± 8.27	21.15 ± 3.19	47.02 ± 3.07
120. dakika	41.29 ± 3.92	86.64 ± 8.02	18.97 ± 2.74	44.02 ± 3.66
130. dakika	40.76 ± 4.24	85.33 ± 8.34	19.70 ± 2.69	42.10 ± 3.39
140. dakika	39.69 ± 4.16	85.86 ± 8.34	19.63 ± 2.87	44.69 ± 3.64
150. dakika	40.78 ± 4.23	82.91 ± 7.85	18.32 ± 2.80	44.26 ± 3.64
160. dakika	40.29 ± 3.94	83.61 ± 9.19	14.65 ± 2.26	45.22 ± 3.55
170. dakika	38.70 ± 3.67	80.38 ± 7.84	13.63 ± 2.48	47.07 ± 3.92
180. dakika	38.40 ± 3.63	79.84 ± 8.09	11.97 ± 1.81	47.50 ± 4.07

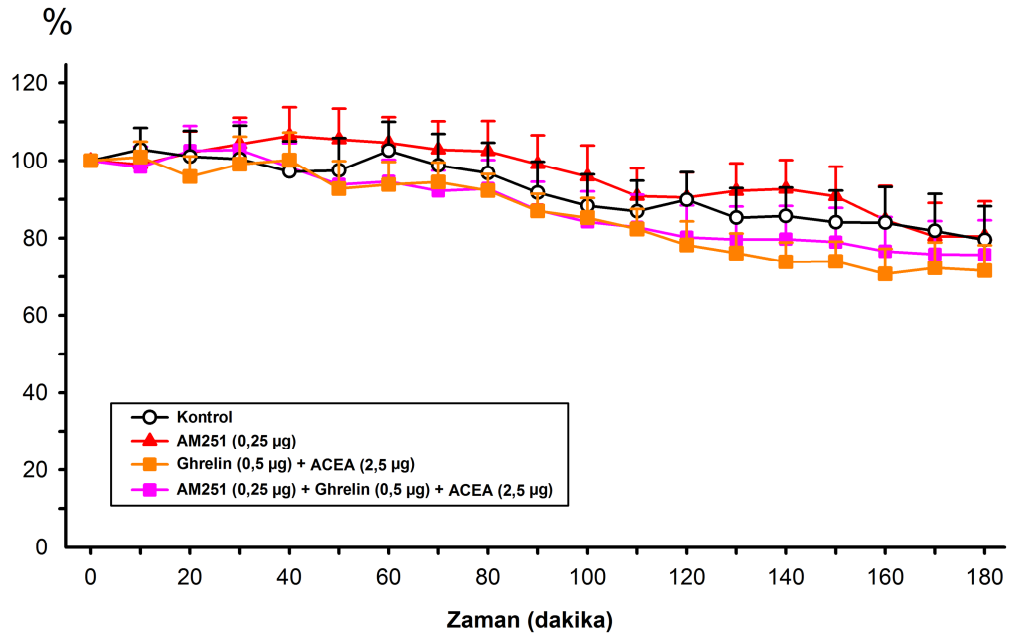
Tablo XX: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.25 µg)**	**Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**	**AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**
0. dakika	1061 ± 100	1085 ± 78	1057 ± 147	1083 ± 136
10. dakika	1101 ± 131	1135 ± 82	1060 ± 151	1071 ± 154
20. dakika	1096 ± 157	1121 ± 87	1014 ± 158	1089 ± 123
30. dakika	1092 ± 170	1122 ± 88	1072 ± 208	1072 ± 86
40. dakika	1065 ± 171	1123 ± 81	1083 ± 211	1029 ± 86
50. dakika	1054 ± 152	1086 ± 69	998 ± 191	988 ± 88
60. dakika	1088 ± 124	1149 ± 95	998 ± 168	1002 ± 101
70. dakika	1051 ± 126	1137 ± 96	1003 ± 162	964 ± 84
80. dakika	1018 ± 104	1121 ± 108	980 ± 161	966 ± 95
90. dakika	970 ± 111	1066 ± 104	938 ± 175	902 ± 83
100. dakika	919 ± 90	996 ± 96	913 ± 158	869 ± 87
110. dakika	905 ± 88	988 ± 91	872 ± 134	852 ± 90
120. dakika	936 ± 84	987 ± 92	817 ± 111	829 ± 92
130. dakika	891 ± 94	957 ± 89	794 ± 102	823 ± 98
140. dakika	891 ± 81	1013 ± 103	760 ± 85	823 ± 100
150. dakika	872 ± 86	978 ± 103	759 ± 80	815 ± 105
160. dakika	863 ± 78	930 ± 91	702 ± 48	791 ± 101
170. dakika	840 ± 79	944 ± 99	716 ± 45	783 ± 101
180. dakika	816 ± 70	928 ± 100	710 ± 49	783 ± 110

Tablo XXI: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 48: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 (0.25 µg) + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). AM-251 grubu 30. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre yüzde spike frekansını artırırken, ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubu, 110. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre spike yüzdesini azaltı (*= p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). AM-251 + Ghrelin + ACEA grubunun ise kontrol grubuna göre hiçbir dakikada anlamlı olmadığı tespit edildi. AM-251 + Ghrelin + ACEA kombinasyonu, AM-251 (0.25 µg) grubuna göre 50. dakikadan itibaren spike yüzde değişimini anlamlı olarak azaltırken (♦=p<0.05,♦♦=p<0.01, ♦♦♦=p<0.001), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubuna göre 30. dakikadan itibaren anlamlı bir biçimde arttırdı (+=p<0.05, ++=p<0.01, +++=p<0.001).*



Şekil 49: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında deney gruplarının ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

4.3.5. AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.5 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra ghrelin 0.5 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, ghrelinden 10 dk sonra da ACEA 2.5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0.5 µg) grubu kontrol grubuna göre 30. dakikada spike sayısını anlamlı düzeyde artırdı ($p<0.05$), (Şekil 51). Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubundaki azalma kontrol grubuna göre 90. dakikadan itibaren anlamlı oldu ($p<0.05$), (Şekil 51). AM-251 + Ghrelin + ACEA grubundaki yüzde spike frekansı artışı kontrol grubuna göre 120. dakikadan itibaren anlamlıydı ($p<0.05$), (Şekil 51).

AM-251 + Ghrelin + ACEA kombinasyonunun yüzde spike frekans değişimi AM-251 (0.5 µg) grubuna göre sadece 50-90. dakikalar arasında anlamlıydı ($p<0.05$), (Şekil 51). 50. dakikada AM-251 + Ghrelin + ACEA grubundaki spike frekansı ve yüzde değişimi sırasıyla 43.81 ± 3.17, % 115.29 ± 6.78 iken, AM-251 (0.5 µg) grubunda 57.03 ± 3.5, % 148.62 ± 11.79 olarak bulundu (Tablo XXII).

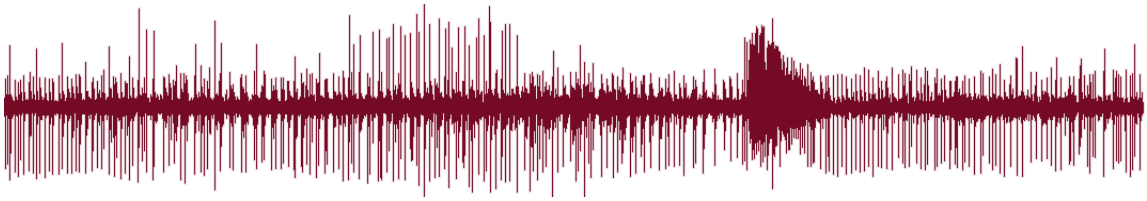
AM-251 + Ghrelin + ACEA grubunu, ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubuyla karşılaştırdığımızda ise, 30. dakikada anlamlı oranda bir artış tespit edildi ve bu anlamlılık deney sonuna kadar devam etti ($p<0.05$), (Şekil 51).

Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 52).

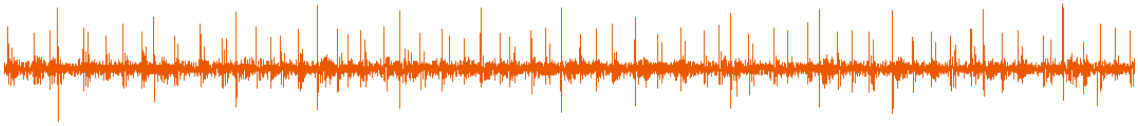
AM-251 (0.5 µg), Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + Ghrelin + ACEA gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 50'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

B) AM-251 (0.5 µg)



C) Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)



D) AM-251 (0.5 µg) + (Ghrelin 0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)

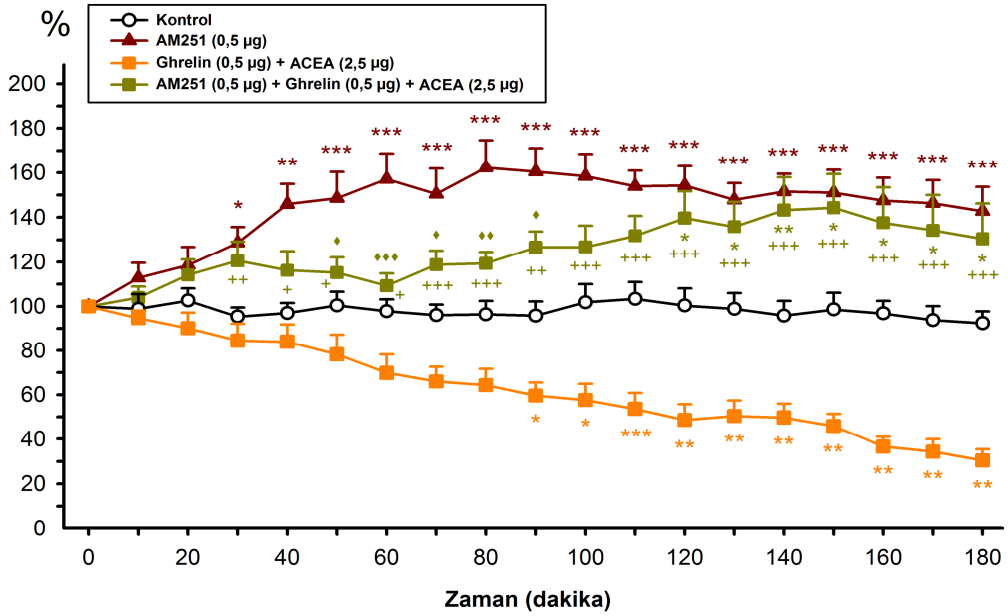
Şekil 50: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.5 µg), C) Penisilin + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve D) Penisilin + AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.5 µg)**	**Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**	**AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	38.90 ± 1.92	40.57 ± 4.46	38.61 ± 3.34
10. dakika	41.45 ± 5.37	43.97 ± 3.62	37.90 ± 3.51	40.12 ± 3.83
20. dakika	42.35 ± 4.29	45.77 ± 3.21	36.03 ± 4.12	44.43 ± 5.14
30. dakika	39.52 ± 3.89	49.47 ± 1.87	33.72 ± 4.11	45.91 ± 3.82
40. dakika	40.28 ± 4.08	56.04 ± 2.48	33.32 ± 3.84	44.16 ± 3.69
50. dakika	41.15 ± 3.92	57.03 ± 3.50	30.77 ± 3.73	43.81 ± 3.17
60. dakika	40.69 ± 4.33	60.24 ± 3.18	27.48 ± 3.62	41.85 ± 3.36
70. dakika	39.66 ± 3.54	58.07 ± 4.25	26.02 ± 2.93	45.44 ± 3.55
80. dakika	39.98 ± 3.85	62.66 ± 4.82	25.12 ± 2.72	45.88 ± 3.76
90. dakika	39.43 ± 3.44	62.29 ± 4.64	23.43 ± 2.57	48.62 ± 3.32
100. dakika	41.88 ± 4.11	60.99 ± 3.34	22.53 ± 3.03	48.22 ± 4.21
110. dakika	42.59 ± 4.04	59.41 ± 2.54	21.15 ± 3.19	50.10 ± 3.92
120. dakika	41.29 ± 3.92	59.61 ± 3.28	18.97 ± 2.74	53.51 ± 5.53
130. dakika	40.76 ± 4.24	57.11 ± 2.78	19.70 ± 2.69	51.94 ± 5.71
140. dakika	39.69 ± 4.16	58.34 ± 2.29	19.63 ± 2.87	54.83 ± 6.36
150. dakika	40.78 ± 4.23	57.86 ± 2.35	18.32 ± 2.80	55.32 ± 6.44
160. dakika	40.29 ± 3.94	56.73 ± 2.98	14.65 ± 2.26	52.43 ± 6.03
170. dakika	38.70 ± 3.67	56.39 ± 3.24	13.63 ± 2.48	50.71 ± 5.57
180. dakika	38.40 ± 3.63	54.94 ± 3.37	11.97 ± 1.81	49.34 ± 5.71

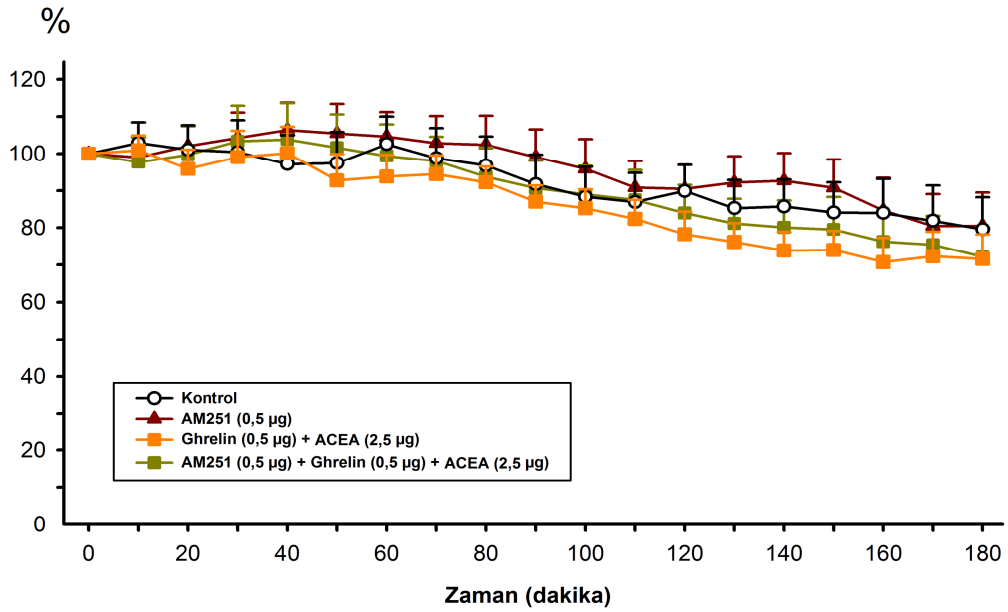
Tablo XXII: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.5 µg)**	**Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**	**AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg)**
0. dakika	1061 ± 100	1140 ± 122	1057 ± 147	1044 ± 122
10. dakika	1101 ± 131	1114 ± 102	1060 ± 151	997 ± 93
20. dakika	1096 ± 157	1147 ± 117	1014 ± 158	1008 ± 86
30. dakika	1092 ± 170	1169 ± 124	1072 ± 208	1056 ± 111
40. dakika	1065 ± 171	1200 ± 143	1083 ± 211	1062 ± 111
50. dakika	1054 ± 152	1203 ± 173	998 ± 191	1041 ± 107
60. dakika	1088 ± 124	1199 ± 168	998 ± 168	1016 ± 100
70. dakika	1051 ± 126	1169 ± 152	1003 ± 162	1003 ± 101
80. dakika	1018 ± 104	1160 ± 150	980 ± 161	946 ± 90
90. dakika	970 ± 111	1124 ± 147	938 ± 175	917 ± 89
100. dakika	919 ± 90	1110 ± 181	913 ± 158	895 ± 83
110. dakika	905 ± 88	1051 ± 165	872 ± 134	883 ± 97
120. dakika	936 ± 84	1043 ± 155	817 ± 111	854 ± 103
130. dakika	891 ± 94	1050 ± 141	794 ± 102	823 ± 95
140. dakika	891 ± 81	1075 ± 173	760 ± 85	814 ± 96
150. dakika	872 ± 86	1056 ± 180	759 ± 80	798 ± 91
160. dakika	863 ± 78	966 ± 158	702 ± 48	772 ± 98
170. dakika	840 ± 79	913 ± 148	716 ± 45	775 ± 119
180. dakika	816 ± 70	915 ± 156	710 ± 49	730 ± 99

Tablo XXIII: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 51: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 (0.5 µg) + ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). AM-251 (0.5µg) grubu 30. dakikadan itibaren, ghrelin (0.5µg) + ACEA (2.5 µg) grubu ise 90. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlıydı. AM-251 + Ghrelin + ACEA grubu ise, kontrol grubuna göre 120. dakikadan itibaren yüzde spike frekansını anlamlı biçimde artırdı (*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). AM-251 + Ghrelin + ACEA kombinasyonu, AM-251 (0.5 µg) grubuna göre 50-90. dakikalar arasında anlamlı bir şekilde spike frekansını azaltırken (◆=p<0.05, ◆◆=p<0.01, ◆◆◆=p<0.001), ghrelin (0.5µg) + ACEA (2.5 µg) kombinasyon grubuna göre 30. dakikadan itibaren anlamlı bir biçimde artırdı (+=p<0.05, ++=p<0.01, +++=p<0.001).*



Şekil 52: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında, deney gruplarının ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

4.3.6. Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ghrelin 1 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, ghrelinden 10 dk sonra da ACEA 7.5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

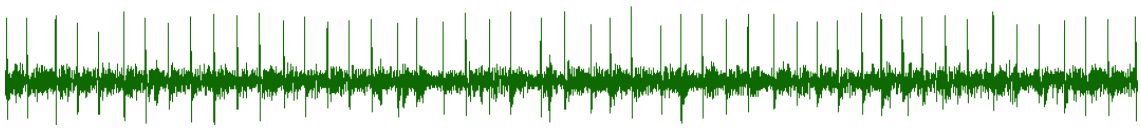
Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına ghrelin (1 µg), kontrol grubuna göre 60. dakikadan itibaren spike aktivitesini anlamlı bir şekilde azalttı ($p<0.05$), (Şekil 54). Tek başına ACEA (7.5 µg) ise, kontrol grubuna göre spike aktivitesini 60. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde azalttı ($p<0.05$) (Şekil 54). Yine, ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu da, yüzde spike frekansını 50. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalttı ($p<0.05$), (Şekil 54). Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) kombinasyon grubunda, 50. dakikadaki spike sayısı ve yüzde spike değişimi sırasıyla 26.91 ± 4.33, % 60.82 ± 9.17 iken, kontrol grubunda sırasıyla 41.15 ± 3.92, % 100.42 ± 6.17 olarak hesaplandı (Tablo XXIV).

Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubunun yüzde spike değişimi, ne ghrelin (1 µg), ne de ACEA (7.5 µg) grubuna göre anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 54). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 55).

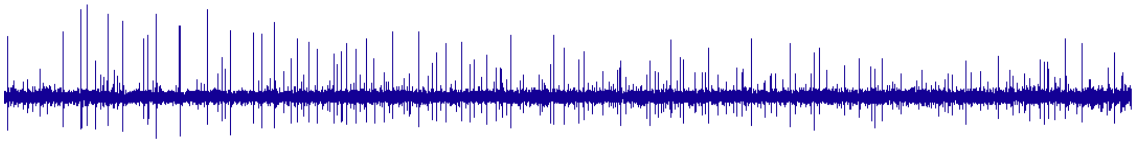
Ghrelin (1 µg), ACEA (7.5 µg) ve Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 53'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

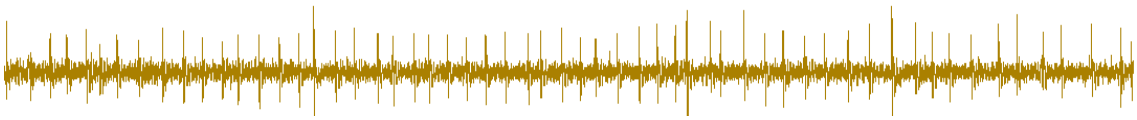
B) Ghrelin (1 µg)



C) ACEA (7.5 µg)



D) Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)



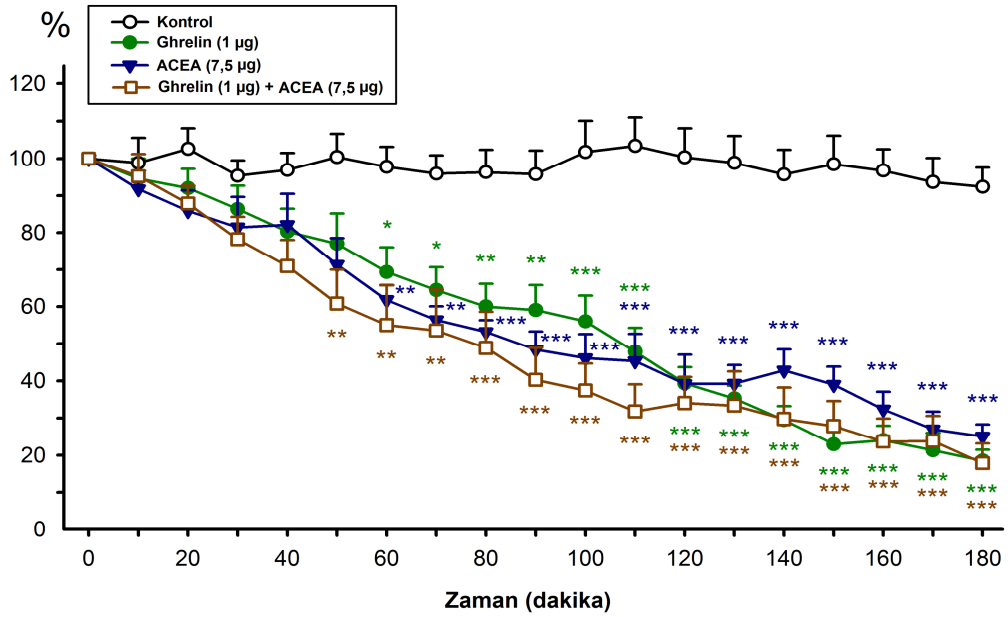
Şekil 53: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + ghrelin (1 µg), C) Penisilin + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**Ghrelin (1 µg)**	**ACEA (7.5 µg)**	**Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	40.69 ± 5.21	39.10 ± 3.82	43.67 ± 1.98
10. dakika	41.45 ± 5.37	37.23 ± 3.24	35.23 ± 2.68	41.27 ± 2.01
20. dakika	42.35 ± 4.29	36.20 ± 3.10	32.98 ± 2.81	38.23 ± 2.38
30. dakika	39.52 ± 3.89	34.07 ± 3.25	31.10 ± 3.40	33.81 ± 2.18
40. dakika	40.28 ± 4.08	32.12 ± 3.74	31.28 ± 3.31	30.91 ± 3.12
50. dakika	41.15 ± 3.92	31.04 ± 4.72	27.70 ± 3.50	26.91 ± 4.59
60. dakika	40.69 ± 4.33	27.63 ± 3.67	23.90 ± 2.69	24.47 ± 5.19
70. dakika	39.66 ± 3.54	26.74 ± 4.63	21.85 ± 2.44	23.91 ± 5.49
80. dakika	39.98 ± 3.85	25.06 ± 4.63	20.60 ± 2.14	21.85 ± 4.86
90. dakika	39.43 ± 3.44	24.73 ± 4.75	18.82 ± 2.60	17.79 ± 3.77
100. dakika	41.88 ± 4.11	23.69 ± 4.92	18.18 ± 3.59	16.62 ± 3.37
110. dakika	42.59 ± 4.04	19.87 ± 4.10	17.54 ± 3.50	14.17 ± 3.33
120. dakika	41.29 ± 3.92	15.76 ± 2.58	14.68 ± 3.28	15.15 ± 3.25
130. dakika	40.76 ± 4.24	13.61 ± 1.30	14.52 ± 1.53	14.61 ± 3.82
140. dakika	39.69 ± 4.16	11.09 ± 1.17	15.70 ± 1.53	13.08 ± 3.59
150. dakika	40.78 ± 4.23	8.46 ± 1.46	14.48 ± 1.58	12.26 ± 2.93
160. dakika	40.29 ± 3.94	9.07 ± 1.39	11.87 ± 1.48	10.55 ± 2.80
170. dakika	38.70 ± 3.67	7.73 ± 1.22	10.04 ± 1.56	10.35 ± 2.68
180. dakika	38.40 ± 3.63	7.06 ± 1.08	9.61 ± 1.31	7.83 ± 2.25

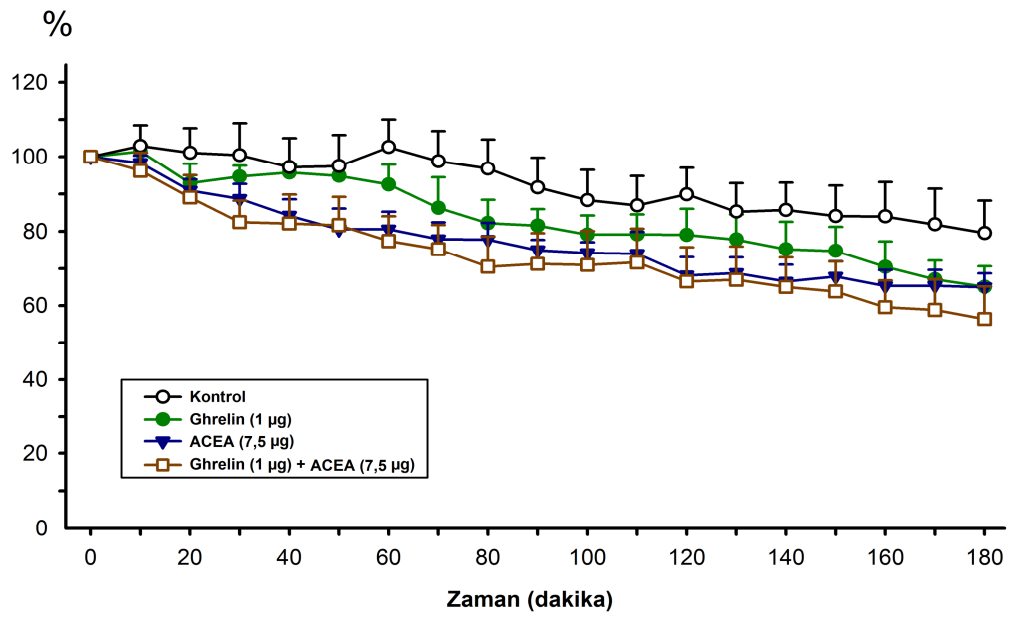
Tablo XXIV: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), ghrelin (1 µg), ACEA (7.5 µg) ve ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	Ghrelin (1 µg)	ACEA (7.5 µg)	Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)
0. dakika	1061 ± 100	1186 ± 112	1130 ± 141	1142 ± 118
10. dakika	1101 ± 131	1200 ± 109	1118 ± 148	1107 ± 147
20. dakika	1096 ± 157	1118 ± 147	1051 ± 159	1022 ± 139
30. dakika	1092 ± 170	1129 ± 122	1024 ± 152	938 ± 115
40. dakika	1065 ± 171	1140 ± 118	960 ± 127	912 ± 89
50. dakika	1054 ± 152	1126 ± 114	906 ± 111	933 ± 140
60. dakika	1088 ± 124	1098 ± 121	927 ± 136	878 ± 121
70. dakika	1051 ± 126	1029 ± 138	877 ± 110	884 ± 156
80. dakika	1018 ± 104	982 ± 129	885 ± 128	801 ± 122
90. dakika	970 ± 111	971 ± 113	840 ± 97	804 ± 119
100. dakika	919 ± 90	942 ± 114	832 ± 97	806 ± 135
110. dakika	905 ± 88	942 ± 115	829 ± 97	802 ± 117
120. dakika	936 ± 84	942 ± 127	763 ± 92	750 ± 129
130. dakika	891 ± 94	921 ± 116	775 ± 93	743 ± 108
140. dakika	891 ± 81	889 ± 115	747 ± 92	725 ± 103
150. dakika	872 ± 86	882 ± 107	762 ± 88	695 ± 73
160. dakika	863 ± 78	834 ± 114	735 ± 90	646 ± 60
170. dakika	840 ± 79	799 ± 109	734 ± 88	626 ± 52
180. dakika	816 ± 70	774 ± 111	734 ± 90	594 ± 58

Tablo XXV: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), ghrelin (1 µg), ACEA (7.5 µg) ve ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 54: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg), ACEA (7.5 µg) ve ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Ghrelin grubu 60. dakikadan itibaren, ACEA grubu 60. dakikadan itibaren, ghrelin + ACEA grubu ise, 50. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre spike yüzde frekansını anlamlı oranda azalttı (*=p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). Ghrelin + ACEA kombinasyonu, ne ACEA (7.5 µg) grubuna göre ne de ghrelin (1 µg) grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı değildi.*



Şekil 55: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), ghrelin (1 µg), ACEA (7.5 µg), ve ghrelin + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında deney gruplarının, ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlı olmadıkları tespit edildi.*

4.3.7. AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.25 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra ghrelin 1 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, ghrelinden 10 dk sonra da ACEA 7.5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0.25 µg) grubu kontrol grubuna göre 30. dakikada spike sayısını anlamlı olarak artırdı ($p<0.001$), (Şekil 57). Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu ise, kontrol grubuna göre 70. dakikadan itibaren yüzde spike frekansını anlamlı şekilde azalttı ($p<0.05$), (Şekil 57). AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg)+ ACEA (7.5 µg) grubu ise, kontrol grubuna göre anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 57).

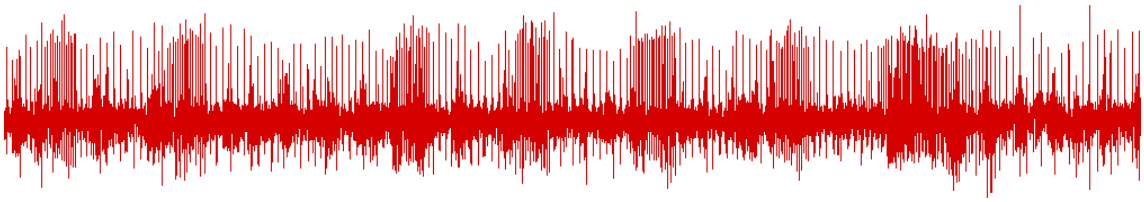
AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) kombinasyonunun, AM-251 (0.25 µg) grubuna göre 30. itibaren dakikadan anlamlı olduğu gözlendi ve bu düşüş deney sonuna kadar devam etti ($p<0.05$), (Şekil 57). 30. dakikada AM-251 + Ghrelin + ACEA grubundaki spike frekansı ve yüzde değişimi sırasıyla 47.6 ± 9.26, % 109.03 ± 6.33 iken, AM-251 (0.25 µg) grubunda 61.49 ± 4.16, % 146.32 ± 11.02 olarak bulundu (Tablo XXVI). AM-251 + Ghrelin + ACEA grubunu ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)

grubuyla karşılaştırdığımızda ise, herhangi bir zaman diliminde istatistiksel anlamlılık saptanmadı ($p>0.05$), (Şekil 57). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde ise, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre, ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 58).

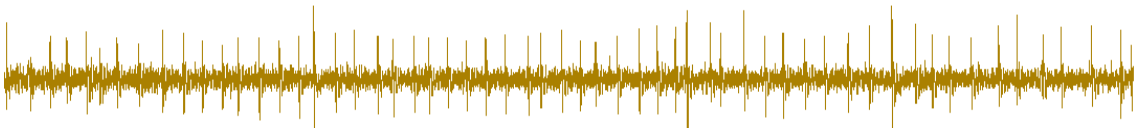
AM-251 (0.25 µg), Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + Ghrelin + ACEA gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 56'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

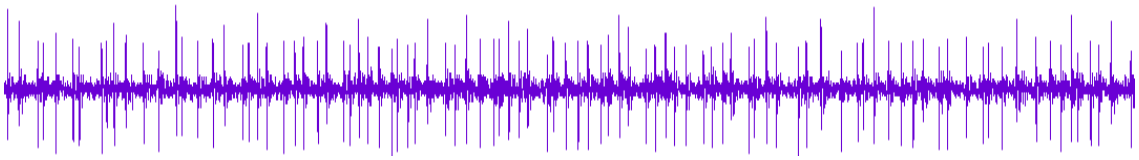
B) AM-251 (0.25 µg)



C) Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)



D) AM-251 (0.25 µg) + (Ghrelin 1 µg) + ACEA (7.5 µg)



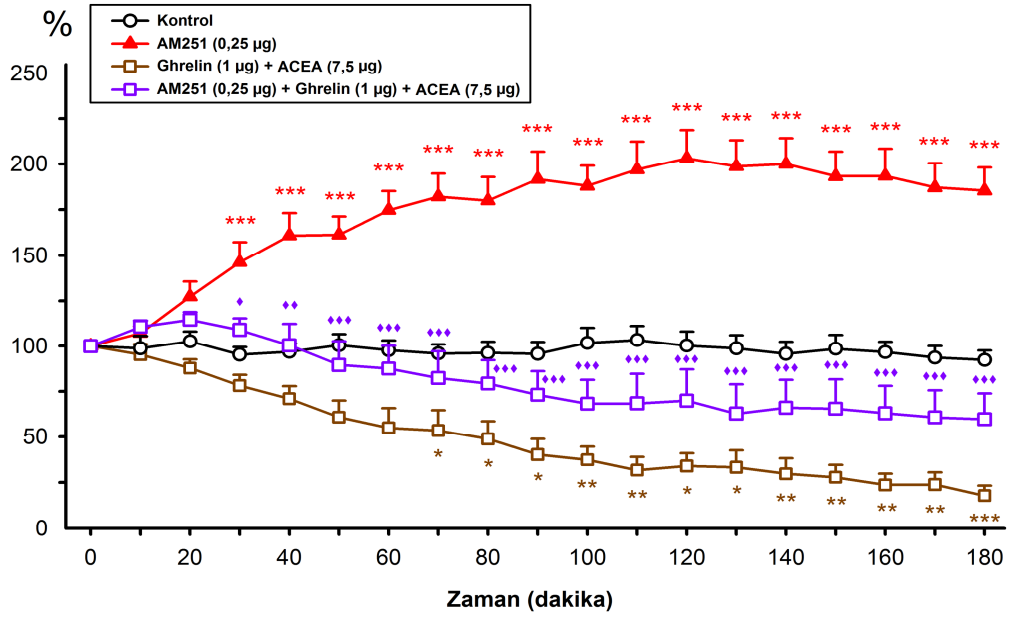
Şekil 56: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.25 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.25 µg)**	**Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)**	**AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)**
0. dakika	41.23 ± 3.03	42.61 ± 2.06	43.67 ± 1.98	43.81 ± 7.72
10. dakika	41.45 ± 5.37	45.73 ± 2.80	41.27 ± 2.01	48.83 ± 9.41
20. dakika	42.35 ± 4.29	54.11 ± 4.08	38.23 ± 2.38	49.61 ± 8.73
30. dakika	39.52 ± 3.89	61.49 ± 4.16	33.81 ± 2.18	47.60 ± 9.26
40. dakika	40.28 ± 4.08	67.95 ± 5.30	30.91 ± 3.12	44.27 ± 9.99
50. dakika	41.15 ± 3.92	68.06 ± 4.03	26.91 ± 4.59	40.16 ± 10.68
60. dakika	40.69 ± 4.33	74.32 ± 5.41	24.47 ± 5.19	37.81 ± 8.67
70. dakika	39.66 ± 3.54	78.27 ± 7.45	23.91 ± 5.49	34.40 ± 7.45
80. dakika	39.98 ± 3.85	77.52 ± 7.95	21.85 ± 4.86	33.32 ± 7.63
90. dakika	39.43 ± 3.44	82.36 ± 8.47	17.79 ± 3.77	30.96 ± 7.47
100. dakika	41.88 ± 4.11	80.37 ± 6.89	16.62 ± 3.37	28.65 ± 6.61
110. dakika	42.59 ± 4.04	84.26 ± 8.27	14.17 ± 3.33	27.25 ± 5.32
120. dakika	41.29 ± 3.92	86.64 ± 8.02	15.15 ± 3.25	28.38 ± 6.30
130. dakika	40.76 ± 4.24	85.33 ± 8.34	14.61 ± 3.82	25.77 ± 6.46
140. dakika	39.69 ± 4.16	85.86 ± 8.34	13.08 ± 3.59	28.33 ± 7.33
150. dakika	40.78 ± 4.23	82.91 ± 7.85	12.26 ± 2.93	28.14 ± 8.27
160. dakika	40.29 ± 3.94	83.61 ± 9.19	10.55 ± 2.80	27.42 ± 8.25
170. dakika	38.70 ± 3.67	80.38 ± 7.84	10.35 ± 2.68	26.40 ± 7.44
180. dakika	38.40 ± 3.63	79.84 ± 8.09	7.83 ± 2.25	25.72 ± 7.52

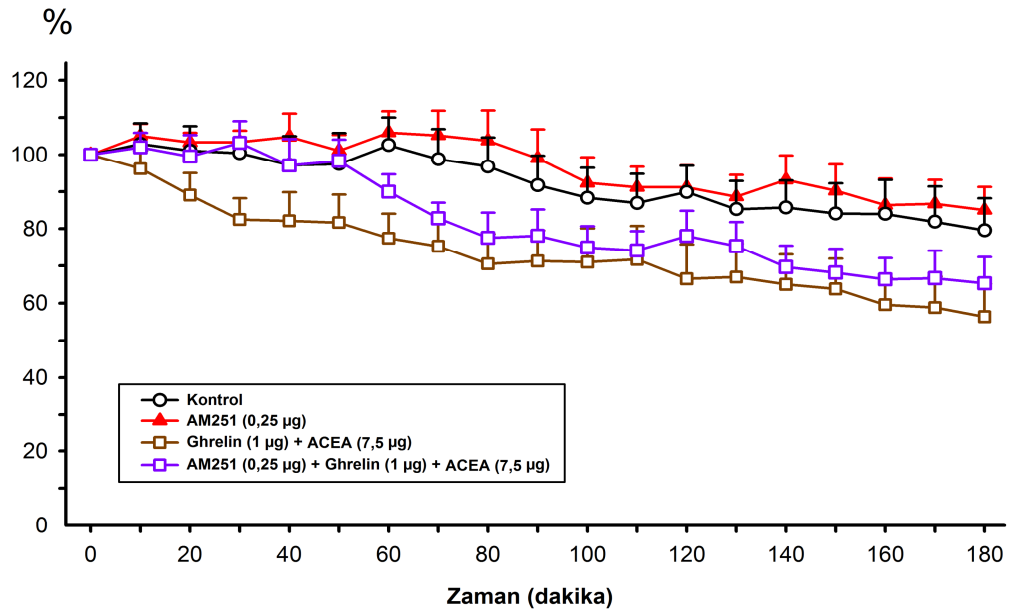
Tablo XXVI: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	**Kontrol**	**AM-251 (0.25 µg)**	**Ghrelin (1 µg) + Acea (7.5 µg)**	**AM-251 (0.25 µg) + Ghrelin (1 µg) + Acea (7.5 µg9**
0. dakika	1061 ± 100	1085 ± 78	1142 ± 118	1107 ± 89
10. dakika	1101 ± 131	1135 ± 82	1107 ± 147	1144 ± 127
20. dakika	1096 ± 157	1121 ± 87	1022 ± 139	1126 ± 146
30. dakika	1092 ± 170	1122 ± 88	938 ± 115	1170 ± 155
40. dakika	1065 ± 171	1123 ± 81	912 ± 89	1096 ± 143
50. dakika	1054 ± 152	1086 ± 69	933 ± 140	1104 ± 132
60. dakika	1088 ± 124	1149 ± 95	878 ± 121	1007 ± 116
70. dakika	1051 ± 126	1137 ± 96	884 ± 156	910 ± 68
80. dakika	1018 ± 104	1121 ± 108	801 ± 122	884 ± 153
90. dakika	970 ± 111	1066 ± 104	804 ± 119	887 ± 151
100. dakika	919 ± 90	996 ± 96	806 ± 135	838 ± 118
110. dakika	905 ± 88	988 ± 91	802 ± 117	812 ± 80
120. dakika	936 ± 84	987 ± 92	750 ± 129	868 ± 123
130. dakika	891 ± 94	957 ± 89	743 ± 108	830 ± 106
140. dakika	891 ± 81	1013 ± 103	725 ± 103	755 ± 69
150. dakika	872 ± 86	978 ± 103	695 ± 73	735 ± 65
160. dakika	863 ± 78	930 ± 91	646 ± 60	715 ± 53
170. dakika	840 ± 79	944 ± 99	626 ± 52	710 ± 62
180. dakika	816 ± 70	928 ± 100	594 ± 58	693 ± 51

Tablo XXVII: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 57: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.25 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). AM-251 (0.25µg) grubu 30. dakikadan itibaren, ghrelin (1µg) + ACEA (7.5 µg) grubu ise 70. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlıydı (*= p< 0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). AM-251 + Ghrelin + ACEA grubunun ise kontrol grubuna göre anlamlı olmadığı tespit edildi. AM-251 + Ghrelin + ACEA kombinasyonu, AM-251 (0.25µg) grubuna göre 30. dakikadan itibaren yüzde spike frekansını anlamlı ölçüde azalttı (♦=p<0.05, ♦♦=p<0.01, ♦♦♦=p<0.001). AM-251 + Ghrelin + ACEA grubunun ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubuna göre anlamlı olmadığı tespit edildi.*



Şekil 58: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251(0.25 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında deney gruplarının, ne penisilin (kontrol) grubuna göre ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

4.3.8. AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) Grubunun Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM-251 0.5 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, AM-251'den 10 dk sonra ghrelin 1 µg (2 µl) dozda i.s.v. olarak, ghrelinden 10 dk sonra da ACEA 7.5 µg (1 µl) dozda yine i.s.v. olarak enjekte edildi.

Yüzde spike değişimleri incelendiğinde, tek başına AM-251 (0.5 µg) grubu kontrol grubuna göre 30. dakikada spike sayısını anlamlı olarak artırdı ($p<0.05$), (Şekil 60). Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu, kontrol grubuna göre 50. dakikadan itibaren anlamlı oranda yüzde spike frekansını düşürdü ($p<0.05$), (Şekil 60). AM-251 + Ghrelin + ACEA grubu ise, kontrol grubuna göre anlamlı değildi ($p>0.05$), (Şekil 60).

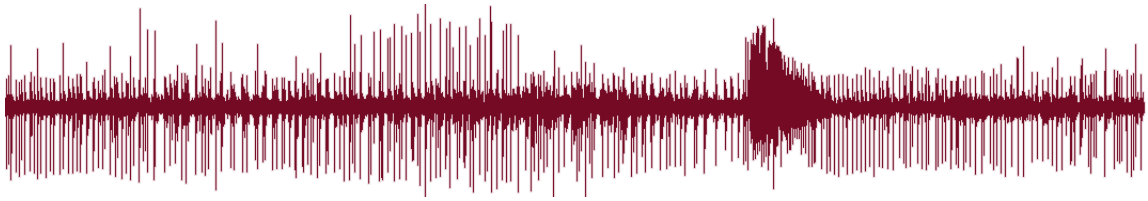
AM-251 + Ghrelin + ACEA kombinasyonunun, AM-251 (0.5 µg) grubuna göre 40. dakikadan itibaren dakikadan anlamlı olduğu gözlendi ve bu azalma deney sonuna kadar devam etti ($p<0.01$), (Şekil 60). 40. dakikada AM-251 + Ghrelin + ACEA grubundaki spike frekansı ve yüzde değişimi sırasıyla 43.50 ± 5.93, % 109.38 ± 5.69 iken, AM-251 (0.5 µg) grubunda 56.04 ± 2.48, % 145.95 ± 9.03 olarak bulundu (Tablo XXVIII).

AM-251 + Ghrelin + ACEA grubunu ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubuyla karşılaştırdığımız-da ise, 20. dakikadan itibaren anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0.05$), (Şekil 60). Spike amplitüd yüzde değişimleri incelendiğinde, deney gruplarının ne kontrol grubuna göre, ne de kendi aralarında anlamlı olmadıkları tespit edildi ($p>0.05$), (Şekil 61).

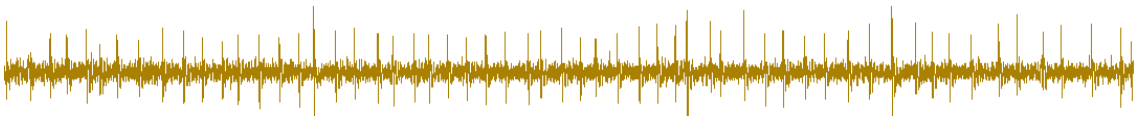
AM-251 (0.5 µg), Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + Ghrelin + ACEA gruplarının ECoG'da kaydedilen epileptik aktivite üzerine olan etkileri şekil 59'de gösterilmiştir.

A) Penisilin G (500 IU)

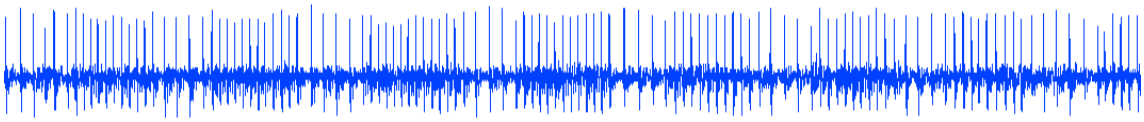
B) AM-251 (0.5 µg)



C) Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)



D) AM-251 (0.5 µg) + (Ghrelin 1 µg) + ACEA (7.5 µg)



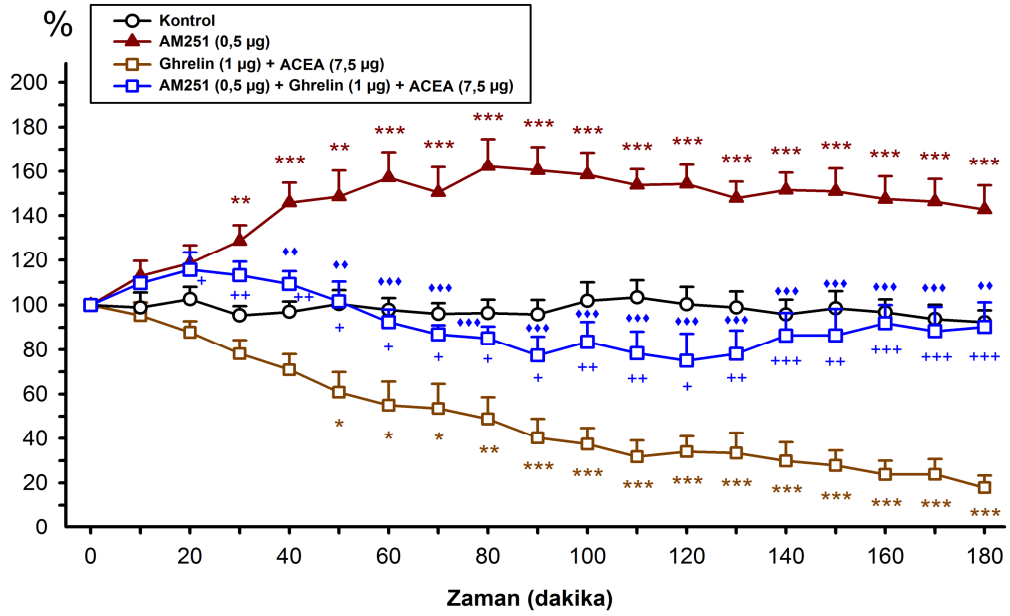
Şekil 59: *A) Penisilin (500 IU), B) Penisilin + AM-251 (0.5 µg), C) Penisilin + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve D) Penisilin + AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen 90. dakikadaki ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.*

Zaman	Kontrol	AM-251 (0.5 µg)	Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)	AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)
0. dakika	41.23 ± 3.03	38.90 ± 1.92	43.67 ± 1.98	39.61 ± 4.74
10. dakika	41.45 ± 5.37	43.97 ± 3.62	41.27 ± 2.01	43.44 ± 5.22
20. dakika	42.35 ± 4.29	45.77 ± 3.21	38.23 ± 2.38	45.50 ± 5.74
30. dakika	39.52 ± 3.89	49.47 ± 1.87	33.81 ± 2.18	44.67 ± 5.61
40. dakika	40.28 ± 4.08	56.04 ± 2.48	30.91 ± 3.12	43.50 ± 5.93
50. dakika	41.15 ± 3.92	57.03 ± 3.50	26.91 ± 4.59	41.19 ± 6.87
60. dakika	40.69 ± 4.33	60.24 ± 3.18	24.47 ± 5.19	36.74 ± 4.89
70. dakika	39.66 ± 3.54	58.07 ± 4.25	23.91 ± 5.49	34.94 ± 4.91
80. dakika	39.98 ± 3.85	62.66 ± 4.82	21.85 ± 4.86	34.41 ± 5.52
90. dakika	39.43 ± 3.44	62.29 ± 4.64	17.79 ± 3.77	30.43 ± 4.23
100. dakika	41.88 ± 4.11	60.99 ± 3.34	16.62 ± 3.37	32.74 ± 4.26
110. dakika	42.59 ± 4.04	59.41 ± 2.54	14.17 ± 3.33	30.94 ± 4.61
120. dakika	41.29 ± 3.92	59.61 ± 3.28	15.15 ± 3.25	30.12 ± 5.70
130. dakika	40.76 ± 4.24	57.11 ± 2.78	14.61 ± 3.82	30.73 ± 4.77
140. dakika	39.69 ± 4.16	58.34 ± 2.29	13.08 ± 3.59	34.16 ± 5.08
150. dakika	40.78 ± 4.23	57.86 ± 2.35	12.26 ± 2.93	33.88 ± 5.17
160. dakika	40.29 ± 3.94	56.73 ± 2.98	10.55 ± 2.80	36.25 ± 4.76
170. dakika	38.70 ± 3.67	56.39 ± 3.24	10.35 ± 2.68	34.70 ± 4.78
180. dakika	38.40 ± 3.63	54.94 ± 3.37	7.83 ± 2.25	35.35 ± 4.74

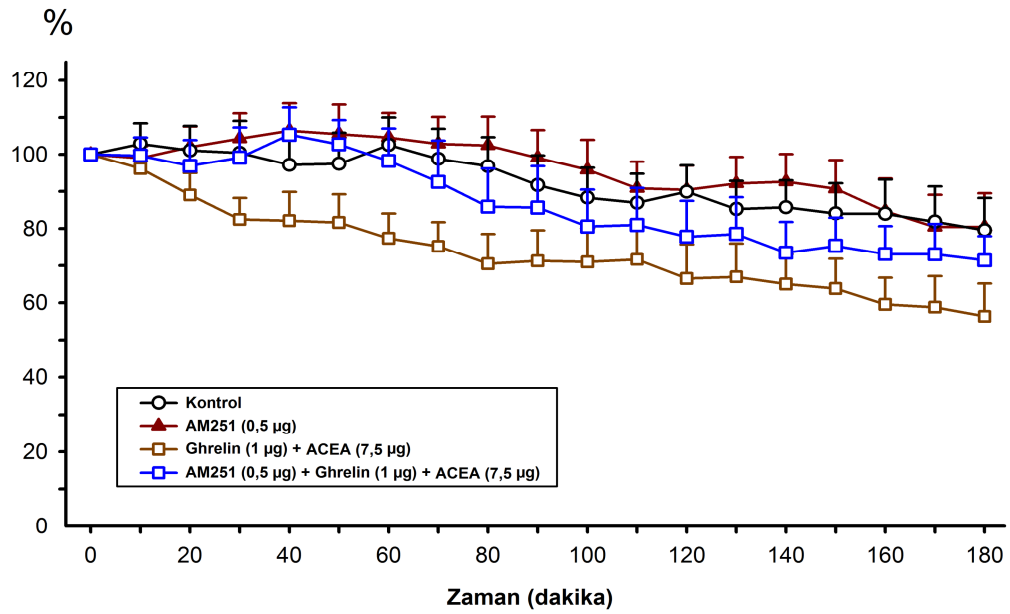
Tablo XXVIII: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike frekanslarının her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*

Zaman	Kontrol	AM-251 (0.5 µg9	Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)	AM-251 (0.5 µg) + Ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg)
0. dakika	1061 ± 100	1140 ± 122	1142 ± 118	1016 ± 78
10. dakika	1101 ± 131	1114 ± 102	1107 ± 147	998 ± 54
20. dakika	1096 ± 157	1147 ± 117	1022 ± 139	964 ± 57
30. dakika	1092 ± 170	1169 ± 124	938 ± 115	983 ± 63
40. dakika	1065 ± 171	1200 ± 143	912 ± 89	1045 ± 50
50. dakika	1054 ± 152	1203 ± 173	933 ± 140	1019 ± 43
60. dakika	1088 ± 124	1199 ± 168	878 ± 121	964 ± 46
70. dakika	1051 ± 126	1169 ± 152	884 ± 156	901 ± 71
80. dakika	1018 ± 104	1160 ± 150	801 ± 122	835 ± 66
90. dakika	970 ± 111	1124 ± 147	804 ± 119	830 ± 74
100. dakika	919 ± 90	1110 ± 181	806 ± 135	780 ± 62
110. dakika	905 ± 88	1051 ± 165	802 ± 117	786 ± 61
120. dakika	936 ± 84	1043 ± 155	750 ± 129	754 ± 60
130. dakika	891 ± 94	1050 ± 141	743 ± 108	761 ± 63
140. dakika	891 ± 81	1075 ± 173	725 ± 103	717 ± 51
150. dakika	872 ± 86	1056 ± 180	695 ± 73	735 ± 37
160. dakika	863 ± 78	966 ± 158	646 ± 60	713 ± 40
170. dakika	840 ± 79	913 ± 148	626 ± 52	715 ± 50
180. dakika	816 ± 70	915 ± 156	594 ± 58	702 ± 36

Tablo XXIX: *Anestezi altındaki sıçanda, kontrol (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarından elde edilen spike amplitüdlerinin her 10 dakika ortalama değerleri (spike sayısı ± SEM).*



Şekil 60: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 (0.5 µg) + ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). AM-251 (0.5 µg) grubu 30. dakikadan itibaren, ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu ise 70. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre anlamlıydı (*= p<0.05, **=p<0.01, ***=p<0.001). AM-251 + Ghrelin + ACEA grubunun ise kontrol grubuna göre anlamlı olmadığı tespit edildi. AM-251 + Ghrelin + ACEA kombinasyonu, AM-251 grubuna göre 40. dakikadan itibaren spike yüzde frekansını azaltırken (◆=p<0.05, ◆◆=p<0.01, ◆◆◆=p<0.001), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) grubuna göre 20. dakikadan itibaren anlamlı oranda artırdı (+=p<0.05, ++=p<0.01, +++=p<0.001).*



Şekil 61: *Anestezi altındaki sıçanda, penisilin (500 IU), AM-251 (0.5 µg), ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) ve AM-251 + ghrelin + ACEA gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (spike yüzde değişimi ± SEM). Amplitüd yüzde değişim değerleri karşılaştırıldığında deney grupları ne penisilin (kontrol) grubuna göre, ne de kendi aralarında istatistiksel açıdan bir anlamlılık saptanmadı.*

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada, gastrointestinal sistemden salınanbir hormon olan ghrelinin oluşturduğu antikonvulsan etkinin, kanabinoid reseptör sistemiyle ilişkisi, penisilin modeli deneysel epilepside incelendi. Bu amaçla, ghrelin (Aslan ve ark., 2009) ve kanabinoidlerin dozları daha önce laboratuarımızda yapılan çalışmalar referans alınarak belirlendi (Kozan ve ark., 2009). Uyanık sıçanda 300 IU (i.s.v.) penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra AM251 0.25 µg/sıçan (i.s.v.) ve ACEA 7.5µg/sıçan (i.s.v.) dozlarında uygulandı. Uyanık sıçan ile anestezi altındaki sıçan deneyleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Bu yüzden sunulan çalışmanın anestezi altındaki sıçanlarda yapılması tercih edildi. Anestezi altındaki sıçanda 500 IU (i.k.) penisilin enjeksiyonundan 30 dk sonra ghrelin 0.5 µg ve 1 µg (i.s.v.), AM-251 0.25 µg ve 0.5 µg (i.s.v.), ACEA ise 7.5 µg ve 2.5 µg (i.s.v.) dozlarında uygulanarak, bu maddelerin birbirleri üzerine etkileri araştırıldı.

5.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Epilepsi, mental ve fiziksel fonksiyon bozukluğuna yol açabilen, sinir sistemini etkileyen tekrarlayan nöbetlerle karakterize olan en yaygın nörolojik hastalıklardan birisidir (Dichter, 1994). Beyinde bulunan sinir hücrelerinin olağan dışı bir elekro-kimyasal boşalım yapması sonucunda meydana gelen bu nörolojik bozukluk, beyinde normalde var olan elektriğin, aşırı ve kontrolsüz yayılımı sonucu oluşmaktadır. Her sinir hücresi ya kendiliğinden belli bir frekansta ya da diğer hücrelerden aldığı uyarıların cebirsel toplamına göre elektriksel boşalımlar oluşturur. Fakat bazı durumlarda bu düzen bozulur ve büyük bir nöron topluluğu eşzamanlı (senkron) ve anormal biçimde deşarj oluşturmaya başlar. Bu anormal deşarjla birlikte epileptik nöbetler ortaya çıkar. Anormal hücre deşarjlarının nedenleri arasında ise; travma, oksijen yetersizliği, tümörler, enfeksiyonlar ve metabolik bozukluklar sayılabilir. Ancak, epilepsi nöbetlerinin hemen hemen yarısında herhangi bir neden tespit edilememiştir (Martin, 1991). Günümüzdeki epilepsi tedavi protokolleri daha çok bulguları gidermeye yöneliktir ve henüz kompleks parsiyel epilepsili hastalarının yaklaşık olarak yarısında epileptik nöbetler kontrol edilememektedir (Shin ve McNamara, 1994).

Deneysel epilepsi modelleri, epilepsinin temelinde yatan mekanizmaları ortaya çıkartmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Bu modeller üzerinde denenen maddelerin epileptiform aktivite üzerine olan etkileri farklı yöntemlerle araştırılmaktadır. Sonuç olarak, epilepsinin temel mekanizması açıklanmaya çalışılmakta ve bu sayede de önemli bir sağlık sorunu olan epileptik sendromlara kalıcı ve etkin bir tedavi yöntemi geliştirilmeye çalışılmaktadır. Epilepsi çalışmalarında kullanılan deneysel modeller oldukça fazladır. Bunlar arasında, konvulsan ajanlarla (pentilentetrazol, bikukulin, pikrotoksin, penisilin,… vs.) kimyasal olarak oluşturulan, elektriksel uyaranlarla oluşturulan ve genetik olarak epilepsiye yatkın hayvan türleriyle oluşturulan modeller oldukça sık kullanılmaktadır (Marangoz, 1997).

Penisilinin epileptojenik etkisi 1945'te keşfedilmiştir. Walker ve Johnson (1945) kedi, köpek ve maymunun serebral korteksine penisilin uygulanmasının, epileptik aktiviteye neden olduğunu bildirmişlerdir. Penisilin, yapısal olarak GABA antagonisti bikukuline benzemesinden dolayı, beyinde bulunan en önemli inhibitör sistemlerden GABA sistemini bloklamakta ve eksitasyon-inhibisyon arasındaki dengeyi bozarak epileptik nöbet oluşumuna yol açmaktadır (Walden ve ark., 1992). Penisilin modeli deneysel epilepside, piramidal hücrelerdeki paroksismal depolarizasyon değişikliklerine, $GABA_A$ ve $GABA_B$'ye bağımlı potansiyeller ile hücre içi kalsiyumla aktiflenen potasyum iyonlarının katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (Dichter ve Ayala, 1987; Domann ve ark., 1986; 1989). Deneysel epilepsi modelleri arasında penisilin epilepsisi sık kullanılan modellerden biridir. Edmonds ve ark. (1974), sıçanın diğer laboratuar hayvanlarına göre penisilin epilepsisine daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Edmonds ve ark. (1974) göre penisilin modeli deneysel epilepsinin bazı avantajları vardır:

1. Penisilin balık ve insanı da kapsayan vertebralılarda fokal nöbetlere neden olmaktadır.

2. Nöbetlerin ortaya çıkması hızlıdır ve çok kolaylıkla kaydedilebilir. Epileptik aktivite penisilin uygulanmasından 15 dakika sonra başlar ve en az birkaç saat boyunca devam etmektedir.

3. Penisilin uygulanmasını takiben patomorfolojik değişiklikler nadir olarak görülür.

4. Epileptik odaktan yayılan aktivitenin hızı ve nöbetin klinik belirtilerinin şiddeti uygulanan penisilin dozuna bağlıdır.

5. Penisilin ile oluşturulan nöbetler antikonvulzan maddelere dirençli değildir.

6. Meydana gelen epileptiform aktivite penisilin uygulamasından 24 saat sonra tamamen kaybolur.

Sunulan çalışmada, hem uyanık sıçana i.s.v. olarak uygulanan penisilinin nöbet aktivitesine etkisi, hem de anestezi altındaki sıçana i.k. uygulanan penisilinin epileptiform aktiveye etkisi ve iki farklı metot arasındaki benzerlikler çalışılmıştır. Her iki modelde de yukarıda belirtilen kriterlere uyumsuzluk gözlenmemiştir.

5.1.1. Uyanık Sıçanda Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Penisilinin uygulanma şekilleri, elde edilmek istenen nöbet modeline göre değişiklik göstermektir. İntraperitoneal (i.p.), intramüsküler (i.m.), intravenöz (i.v.), intraserebroventriküler (i.s.v.) veya intrakortikal (i.k.) olmak üzere çeşitli enjeksiyon türleri literatürde yer almaktadır. Kedilere sistemik olarak yüksek dozda penisilin uygulanması, insandaki petit mal epilepsiye benzer, EEG'de bilateral eş zamanlı diken-dalga deşarjlarıyla kendini göstermektedir (Martin, 1991). Sullivan ve Osorio (1991) ise, yine i.p. yolla penisilin G vererek ratlarda epileptik aktivite oluşturmuşlardır. Penisilinin kediye 300.000 - 600.000 IU/kg i.m. verilmesi jeneralize, senkron, bilateral diken dalga deşarjları meydana getirir. Bu esnada gözünü kırpma hareketi, miyoklonik kasılmalar ortaya çıkabilir (Fisher ve Prince, 1977). Kemirgenlere i.m. penisilin uygulanması, kedilerdeki bilateral senkron diken deşarjlara benzememektedir. Kemirgenlerde aralıklı patlamalar eşliğinde multifokal spike aktiviteleri meydana gelmektedir (Avoli, 1980). Gallitto ve arkadaşları (1986) ise, 1.000.000 IU penisilini i.v. olarak sistemik dolaşıma enjekte etmişler ve i.v. penisilinin kortekste ve talamusta multifokal interiktal spike deşarjlarına neden olduğunu saptamışlardır.

Literatürde, i.s.v. penisilin uygulanarak yapılan çok az sayıda çalışma mevcuttur. Laboratuarımızda yapılan başka bir çalışmada Canan ve ark. (2008) 400 IU penisilin G'yi anestezi altındaki sıçanlara i.s.v. olarak uygulanmış ve oluşan epileptiform aktivite gümüş top elektrotlarla beyin korteksinden kaydedilmiştir. Epileptiform aktivite 2 dk içerisinde başlamıştır. Kaydedilen spike aktivitesinin interiktal paternde olduğu gösterilmiştir (Canan ve ark., 2008). Bostancı ve Bağırıcı (2006, 2007) ise, uyanık

sıçanlara ventriküler kanül vasıtasıyla 300 IU i.s.v. penisilin-G uygulamış ve uygulanan penisilinin bifazik spikelar ve spike dalga kompleksleri oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmamızda da, literatürle benzer olarak (Bostancı ve Bağırıcı, 2006; 2007) uyanık sıçanlara, penisilin G potasyum tuzu 300 IU dozda, bir ventriküler kanül aracılığıyla i.s.v. olarak enjekte edildi. Enjeksiyondan sonra en fazla 2 dk içinde spike dalgaları görüldü. Spike dalgalarının birbirini takip eden iktal ve interiktal paternde oldukları gözlendi. İktal ve interiktal spike kompleksleri 30. dakikada kararlı hale geldi ve bu dakikada SF enjeksiyonu gerçekleştirildi. SF enjeksiyonundan sonra 110. dakikadan itibaren spike frekansı bir miktar düşse de bu düşüş anlamlı değildi ve 180. dakikaya kadar iktal ve interiktal patern gözlendi ve analiz edilmek üzere kaydedildi. Ayrıca, 180 dk. boyunca hayvan davranışları da gözlendi ve belirlenen dakikalarda (0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 ve 180. dk) LabChart programına not edildi.

Uyanık sıçanda yaptığımız çalışmamızın bu aşamasında, iktal nöbet sayısı, iktal nöbetlerin toplam spike sayısı, interiktal nöbetlerin toplam spike sayıları ve 180 dakikalık kayıt boyunca elde edilen toplam spike sayısı ayrı ayrı değerlendirildi. İktal nöbetler esnasında hayvanların jeneralize tonik-klonik nöbet geçirdiği gözlenirken, interiktal dönemde ise özellikle sağ ekstremitelerde myoklonik jerkler tespit edildi. Bu myoklonik kasılmaların çoğunlukla sağ ekstremitelerde görülmesi, penisilinin lateral ventrikülün sol tarafına enjekte edilmesinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Ancak bunu kanıtlayabilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

ILAE'nin 1981 epileptik nöbetler sınıflandırmasına göre status epileptikus, herhangi tipte bir epileptik nöbetin 30 dakikadan daha fazla devam etmesi ya da nöbetlerin, aralarında nörolojik durumun düzelmesine olanak tanımayacak kadar sık olarak tekrarlanması, hali olarak tanımlanmıştır. Bu sınıflandırmada yer alan jeneralize tonik-klonik nöbet statusu, mortalite ve morbidite riski açısından önemli acil bir problemdir. Dünyada her yıl 20.000 ile 40.000 arasında jeneralize status epileptikusa bağlı ölüm gerçekleşmektedir. Ölümlerin en sık nedeni ise, nöbet nedeniyle beynin anoksik veya hipoksik kalmasıdır. Kompleks parsiyel ve absans status nöbetlerinin tanınması daha zordur. Hatta bazen, bu türlerdeki statuslara EEG yardımıyla tanı konulmaktadır. Çünkü, klinik açıdan bulgu vermeyebilirler (Shorvon, 1994).

Sunulan çalışmanın uyanık sıçanlarda gerçekleştirilen bu kısmında, iktal ve interiktal deşarjların çok uzun süre devam etmesi (3 saatten fazla) nöbet

sınıflamalarından status epileptikus tanımına uymaktadır. Status epileptikusun jeneralize mi yoksa fokal status tipinde mi olduğu bilinmemektedir. Çünkü her iki hastalık grubunda da iktal ve interiktal deşarjlar birlikte görülebilmektedir. Ancak, hayvan davranışları incelendiğinde, iktal dönemde sıçanlarda görülen tonik-klonik konvulsiyonlar jeneralize epilepsiye benzemektedir. İnteriktal dönemde hayvanların özellikle sağ ekstremitelerinde görülen myoklonik jerkler ise, bazı hastalarda görülen, jeneralize status epileptikusun interiktal dönemindeki myoklonik jerklerle uyum göstermektedir. Ayrıca, jeneralize status epileptikus geçiren hastaların mortalitesi çok yüksektir. Yaptığımız deneyde de penisilin enjekte edilen hayvanlarda mortalite oranı yüzde 34 civarında idi (32 sıçandan 11'i daha i.s.v. enjeksiyon zamanı olan 30. dakikaya ulaşamadan öldü). Bu yüksek mortalite oranı da jeneralize status epileptikusla uyumluluk göstermektedir (De Lorenzo ve ark., 1996). Buradan hareketle, i.s.v. olarak enjekte edilen 300 IU penisilinin status epileptikusa yol açtığı aşikârdır. Statusun tipi hakkında kesin bilgiye sahip olmamakla birlikte, bu model klinikte yüksek mortaliteye neden olan jeneralize status epileptikusa benzemektedir.

Literatürde, uyanık sıçana penisilin enjeksiyonuyla status epileptikus oluştuğunu gösteren çok az sayıda çalışma mevcuttur. Kohei ve ark. (2000) kedilerde yaptıkları çalışmada, 100.000 ünite penisilin sisterna magnaya enjekte edilerek status epileptikus oluşturmuş ve volatil anesteziklerin status epileptikusa etkisi araştırılmıştır. Bostancı ve Bağırıcı (2006, 2007), uyanık sıçanlara ventriküler kanül vasıtasıyla 300 IU i.s.v. penisilin-G uygulamış ve uygulanan penisilinin bifazik spikelar ve spike dalga kompleksleri oluşturduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu iki çalışmada da iktal ve interiktal periyotlardan bahsedilmemektedir. Penisilin modeli deneysel epilepside iktal ve interiktal dönemleri ayrı ayrı inceleyen bir kaç çalışma mevcuttur. Horn ve Gehring (1995), canlı hayvanda yaptıkları çalışmada, 125 IU penisilini intratalamik olarak ve motor kortekse uygulamışlardır. Yapılan çalışmada iktal ve interiktal nöbetler ayrı ayrı tanımlanmıştır ve iktal-interiktal dönemler 150 dk boyunca ard arda devam etmiştir. Motor kortekse penisilin uygulanması tonik, klonik ve tonik-klonik nöbetlere yol açmıştır. Sunulan çalışmada ise, tonik, klonik ve tonik-klonik nöbetler gözlendi. Ancak, Horn ve Gehring (1995)' in çalışmasından farklı olarak i.s.v. enjekte edilen penisilinin jeneralize yayılıma yol açtığı ve depolarizasyon dalgalarının motor kortekse ulaştığını düşünülmektedir. İktal dönemde sıçanda, tonik-klonik veya uzun süren tonik davranışlar

gözlenirken, interiktal periyotta ise, özellikle ekstremitelerde klonik jerklerin olduğu gözlenmiştir. Maresova ve Mares (1985) ise, her iki serebral hemisfer korteksine simetrik olarak penisilin uygulamışlar ve iki ayrı epileptik odak oluşturmuşlardır. Enjekte edilen valproik asit (i.p.) ve karbamazepinin (i.p.) interiktal fokal deşarjları anlamlı olarak azaltmadığı ancak her iki ilacın da doz bağımlı olarak iktal deşarjları baskıladığı gösterilmiştir (Maresova ve Mares, 1985).

Bu çalışma, canlı hayvanda penisilinle yapılan çalışmalar baz alındığında, i.s.v. penisilin uygulanarak status epileptikus oluşturulan ve iktal-interiktal dönemleri ayrı ayrı değerlendiren ilk çalışma olma niteliğindedir.

5.1.2. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktivite

Korteksin bir bölgesinde inhibisyon miktarının azalması, nöron gruplarının davranışlarının değişmesine neden olmaktadır. Bu nedenle, inhibitör etkiyi bloklayan konvülsan bir maddenin serebral kortekse uygulanması, hücrede morfolojik değişikliklere sebep olmaksızın akut fokal epilepsi oluşumunu tetiklemektedir (Martin, 1991).

Penisilin, yapısal olarak GABA antagonisti bikukuline benzemektedir.Kortekse direkt olarak penisilin uygulanması, beyinde bulunan en önemli inhibitör sistem olan GABA sistemini bloklamakta ve eksitasyon-inhibisyon arasındaki dengeyi bozarak epileptik nöbet oluşumuna neden olmaktadır (Walden ve ark., 1992). Penisilinle oluşturulan epileptik nöbet, insanda görülen epileptik nöbetlerin tam karşılığı değildir. Bu deneysel modelde, dendritlerde ve astrositlerde orta derecede bir şişme olduğu ve sinaptik vezikül teşekkülünde azalma olduğu tespit edilmiştir (Harris ve ark., 1979).

Walker ve Johnson (1945) kedi, köpek ve maymunun serebral korteksine penisilin uygulanmasının, epileptik aktiviteye neden olduğunu bildirmişlerdir.Walden ve ark. (1992) ise, korteks yüzeyine lokal penisilin uygulamışlar ve dakikalar içerisinde ECoG'da epileptiform potansiyeller görüldüğünü bildirmişlerdir. Laboratuarımızda yapılan çalışmalar, 500 IU i.k. penisilin enjeksiyonunun uygulama anından itibaren2-4 dakika içerisinde bilateral spike'lar ve spike-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktiviteye neden olduğunu göstermektedir. Epileptiform aktivitenin 3-5 saat kadar devam ettiği,kararlı frekans ve amplitüd düzeyine ise 30 dk içinde ulaştığı

belirtilmektedir (Kozan ve ark., 2006; Ayyildiz ve ark., 2006; Ayyildiz ve ark., 2007; Bosnak ve ark., 2007).

Sunulan çalışmada, epileptiform aktivite oluşturmak amacıyla Penisilin-G 500 IU dozunda, 3 µl hacimde i.k. olarak uygulandı. Penisilin uygulamasını takiben 2 dakika içerisinde bilateral spike dalga kompleksleri gözlenmeye başlandı ve oluşan spike aktivitesinin interiktal formda olduğu tespit edildi. Epileptik aktivite yaklaşık 20-30. dakikada kararlı hale geldi ve bu dakikada i.k. olarak SF (2.5 µl) enjeksiyonu yapıldı. SF enjeksiyonundan sonra, 180 dakika boyunca spike frekansında anlamlı bir düşüş gözlenmedi.

Uyanık sıçan ile anestezi altındaki sıçan karşılaştırıldığında, her iki deneyde de, spike dalgalarının görülme süresinin 3 saatten fazla olduğu tespit edildi. Anestezi altındaki sıçanda interiktal spikelar gözlenmekte iken, iktal spike görülmemektedir. Uyanık sıçanda lokal ya da i.s.v. penisilin uygulanmasıyla gözlenen iktal spikeların, anestezi altındaki hayvanlarda görülmemesine neden olan mekanizma bilinmemekle birlikte, anestezi en fazla suçlanan durumdur.

Spike frekansları karşılaştırıldığında, anestezi altındaki hayvandan elde edilen spike frekansının uyanık hayvanlara göre 4 kattan daha az olduğu tespit edildi. Kararlı nokta (0. dk) baz alındığında uyanık sıçanda 1 dakikadaki ortalama spike frekansı 162.25 ± 21.42 olarak bulunurken, anestezi altındaki sıçanda aynı dakikadaki değer 41.03 ± 3.03 olarak tespit edildi. Deney boyunca elde edilen toplam spike sayıları ise, uyanık sıçan grubunda 28105 ± 2131 iken, bu sayı anestezi altındaki sıçan grubunda 7712 ± 639 spike olarak tespit edildi. İki deneysel deney prosedür arasında bu kadar fazla spike sayısı farkı olmasının en önemli nedeni anestezi altındaki sıçanlarda iktal nöbetlerin baskılanmasıdır. Çünkü iktal nöbetler esnasında, interiktal nöbetlere oranla çok daha fazla spike dalga aktivitesi gözlenmektedir. Bu farkın başka bir nedeni de penisilinin uygulanma şekli olabilir. Arık'ın (2011) yaptığı tez çalışmasında, anestezi altındaki hayvanlara 500 IU i.s.v. penisilin uygulanmıştır. Kararlı durumdaki spike frekansını ise 162.29 ± 24.22 olarak hesaplanmıştır. Bu değer çalışmamızda bulduğumuz değerle birebir örtüşmektedir (162.25 ± 21.42). Ancak uygulanan penisilin dozu, kullandığımız dozdan 200 IU daha fazladır. Biliyoruz ki, penisilin doz bağımlı olarak spike sayısını arttırmaktadır (Edmonds ve ark., 1974). Buradan yola çıkarak, anestezinin bir yandan iktal spike dalgalarını baskıladığı, diğer taraftan da interiktal

spike sayısını azalttığı sonucuna varılabilir. Ek olarak, Arık'ın yaptığı çalışmayla, anestezi altında yaptığımız bu çalışmada, aynı penisilin dozunu kullanmamıza rağmen spike sayısı açısından yaklaşık 4 kat fark bulunmaktadır. Demek ki, i.s.v. enjekte edilen penisilin, i.k. enjekte edilen penisiline göre çok daha fazla nöbet aktivitesine neden olmaktadır. Anestezik maddelerin membran geçirgenliğini etkileyerek iyon transportunu sınırlaması ve buna bağlı olarak uyanık hayvanlara göre spike frekansını azaltması söz konusu olabilir (Macdonald ve Barker, 1979; Skerritt ve Johnston, 1983).

5.2. Uyanık ve Anestezi Altındaki Sıçanlarda Kanabinoidlerin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Kanabinoidlerin antikonvulsan etkileri uzun zamandır bilinmektedir (Karler et al., 1974). Son yıllarda, sentetik kanabinoidlerin de artmasıyla birlikte, kanabinoidlerin epilepsi üzerine etkilerini aydınlatmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda beynin içindeki endokanabinoid reseptör sisteminin nöbetlerin düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu bilinmektedir (Wallace ve ark., 2003; Blair ve ark., 2006; Deshpande ve ark., 2007). Wallace ve ark. (2001) yaptıkları çalışmadamaksimal elektroşok epilepsi modelini kullanarak, Δ^9-THC'nin ve kanabimimetik bileşiklerin (WIN55,212-2) antikonvulsan aktivite gösterdiklerini bulmuşlardır. Bu antikonvulsan etkinin kanabinoid CB_1 reseptöründen kaynaklandığı öne sürülmektedir. Yine yapılan diğer çalışmalarda WIN 55,212-2 bileşiğinin status epileptikus modelinde, deneysel pilokarpin modelinde ve nöronal kültür ile oluşturulan epilepsi modelinde CB_1 reseptörü aktive ederek, spontan tekrarlayan epileptiform deşarjları baskıladığı gösterilmiştir (Wallace ve ark., 2003; Blair ve ark., 2006). Nakatsuka ve arkadaşları ise, CB_1 reseptör antagonisti AM-251 verildiğinde, CB_1 reseptör agonisti WIN 55,212-2'in etkisinin ortadan kalktığını, spike frekans ve amplitüdünde herhangi bir baskılanma olmadığını kanıtlamışlardır (Nakatsuka ve ark., 2003). Deshpande ve ark. (2007) ise hipokampal nöron kültürüyle oluşturulan epilepsi mode-linde, epileptik nöronlara uygulanan AM-251'in, CB_1 reseptörlerini bloklayarak status epileptikus tarzı aktivite ortaya çıkardığını ve bu aktivitenin yüksek doz CB_1 reseptör agonistleriyle (WIN 55,212-2) geri döndürülebilir olduğunu ortaya koymuşlardır. Maksimal elektroşok nöbet modeli kullanılarak yapılan başka bir deneyde ise sistemik enjekte edilen CB_1 reseptör agonisti araşidonil-2-kloroetilamid

(ACEA) 5 ve 7,5 mg/kg dozlarında nöbet eşiğini anlamlı derecede yükseltmiş ancak 1,25 ve 2,5 mg/kg dozlarında anlamlı bir fark ortaya çıkaramamıştır (Luszczki ve ark., 2006). Bunun yanında, sistemik verilen ACEA 5 mg/kg dozunda kokainle indüklenen konvulsif nöbetleri azaltmaktadır (Hayase ve ark., 2001). ACEA ve AM251'in dozlarının tespitinde laboratuarımızda daha önce bu maddelerin penisilin aktivitesi üzerine etkinliğini araştıran doz çalışmalarını kullandık ve bu çalışmalarda belirlenen en etkin dozlar (ACEA için 7.5 µg, AM251 için 0.25 µg) uygulandı (Kozan ve ark., 2009). Sunulan çalışmada, öncelikle uyanık sıçanlarda AM-251 (0.25 µg) ve ACEA'nın (7.5 µg) etkin dozları i.s.v. olarak çalışıldı ve her iki dozun da etkili olduğu tespit edildi. Buradan hareketle, hem i.p., hem de i.s.v. olarak enjekte edilen kanabinoidler nöbet aktivitesi üzerine etki etmektedir. Ancak, i.p. dozun etkin olması için i.c.v. dozdan yaklaşık 1000 kat daha fazla uygulanması gerektiği görülmektedir. Sistemik olarak uygulanan THC'nin yüksek derecede lipofilik olduğu ve bu nedenle emildikten sonra vücutta hemen her yere dağıldığı bilinmektedir. Yüksek doz sistemik kanabinoid alınımının beyinde özellikle neokaortikal, limbik, duyu korteksi ve motor kortekse ulaşabildiği gösterilmiştir (Nahas, 1975).

Uyanık sıçana AM-251 (0.25 µg) uygulanan grubun hayvan davranış parametleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre nöbet evresinin % 34, iktal nöbet sayısının % 79, iktal spike sayısının % 67, interiktal spike sayısının % 47, toplam spike sayısının ise % 59 oranında arttığı tespit edildi. Bu sonuçlar, uyanık sıçanda penisilinle oluşturulan status epileptikus aktivitesinin AM-251 (0.25 µg) enjeksiyonuyla birlikte arttığını işaret etmektedir. AM-251 (0.25 µg) interiktal spike sayısını arttırmaktadır (% 47). Ancak, iktal spike sayısını (% 67) ve özellikle iktal nöbet sayısını (%79) daha da fazla artırdığı tespit edilmiştir. Hayvan ölümleri göz önüne alındığında ise, AM-251 (0.25 µg) spike aktivitesini artırmasına rağmen, enjeksiyona kadar sağ kalan hayvanların ölümüne neden olmadı. Bunun en önemli nedeni, penisilin enjekte edilen hayvanların, genellikle çok uzun süreli (>1 dk) jeneralize iktal aktiviteden sonra öldüğü gözlendi. Uzun süreli iktal nöbetlerden sonra sıçanın öncelikle solunumu durmakta ve solunum yetmezliği nedeniyle ölmekteydi. Klinikte de, jeneralize status epileptikus nöbeti geçiren hastaların mortalitesine baktığımızda, en çok ölüm nedeninin solunum yetmezliği olduğu söylenmektedir (De Lorenzo ve ark., 1996). Yaptığımız deneyde AM-251 iktal nöbet

spike sayısını arttırmasına rağmen, iktal periyotların latansını artırmadı. Bu sebeple, AM-251 enjekte edilen hayvanlar solunum yetmezliğine girmediler ve hayatta kaldılar.

AM-251 (0.25 µg) anestezi altındaki sıçanlara uygulandığında, daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmaya (Kozan ve ark., 2009) benzer sonuçlar elde edildi. 30. dakikada yüzde spike değişimi kontrol grubunda % 95.36 ± 4.11 iken, AM-251 (0.25 µg) grubunda % 146.32 ± 11.02 olarak hesaplandı. Ayrıca, anestezi altındaki sıçanlarda normalde görülmeyen iktal aktivitelerin (status benzeri aktiviteler), AM-251 (0.25 µg) enjeksiyonuyla beraber ortaya çıktı. Bu sonuç, uyanık sıçanlarda AM-251'in (0.25 µg) iktal nöbetleri ve iktal nöbet spike sayısını neden daha fazla artırdığı hususunda ipuçları vermektedir. Demek ki, AM-251 (0.25 µg) anestezi altındaki sıçanlarda iktal nöbetleri ortaya çıkarmakta ve uyanık sıçanlarda iktal nöbet sayısını ve iktal nöbet spike frekansını anlamlı şekilde arttırmaktadır. Özellikle iktal nöbetler üzerinden olan bu artış, AM-251'in her iki deney modelinde de aynı mekanizma üzerinden prokonvulsan aktivite gösterdiğini düşündürmektedir.

AM-251'in 0.25 µg lık doz grubunda, uyanık ve anestezi altındaki sıçanların % spike değişimlerini incelendiğinde ise, her iki grubun da 30. dakikada kontrol grubuna göre anlamlı olduğu tespit edildi. Uyanık sıçan AM-251 (0.25 µg) grubu spike yüzde değişim frekansını en fazla % 155.4 ± 10.23 oranında arttırırken, anestezi altındaki AM-251 (0.25 µg) grubu ise, en fazla % 203.2 ± 15.45 oranında arttırdı. Uyanık sıçanda dakika başına düşen ortalama spike sayısı anestezi altındaki gruba göre çok fazla olduğu tespit edildi. Bu nedenle, AM-251 (0.25 µg) uyanık sıçanda da maksimum etkisini ortaya koyuğunu ancak spike sayısı zaten çok fazla olduğu için anestezi altındaki hayvandaki kadar spike artışına ulaşamamakta olduğunu düşünmekteyiz. Bunu kanıtlayabilmek için daha düşük doz penisilinin i.s.v. olarak uygulandığı ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Uyanık sıçana ACEA (7.5 µg) uygulanarak, nöbet evresi, iktal nöbet sayısı, iktal nöbet spike sayısı, interiktal nöbet spike sayısı ve toplam spike sayısı bulundu. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında nöbet evresinde % 32, iktal nöbet sayısında % 43, iktal spike sayısında % 38 interiktal spike sayısında % 35, toplam spike sayısında ise % 27 oranında düşüş tespit edildi. Bu sonuçlar, uyanık sıçanda penisilinle oluşturulan status epileptikus aktivitesinin ACEA (7.5 µg) enjeksiyonuyla birlikte azaldığını

göstermektedir. ACEA (7.5 µg), iktal ve interiktal spike sayısını hemen hemen aynı oranda azaltmaktadır.

ACEA'nın 7.5 µg'lık dozu anestezi altındaki sıçanlara uygulandığında ise, daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmayla (Kozan ve ark., 2009) benzer sonuçlar elde edildi. ACEA'nın (7.5µg) 60. dakikadaki spike frekansı yüzde spike değişimi, kontrol grubunda % 97.77 ± 5.33 iken, ACEA (7.5) µg grubunda % 61.78 ± 4.07 olarak hesaplandı. ACEA (7.5 µg) grubunda, uyanık ve anestezi altındaki sıçanların % spike değişimlerini incelediğimizde, iki grup arasında benzerlik görülmektedir. Anestezi altındaki sıçan grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 60. dakikada istatistiksel olarak azaltırken, uyanık sıçan grubu 70. dakikada yüzde spike değişim frekansını anlamlı olarak azalttı. Anestezi altındaki sıçanlarda 60. dakikadaki % spike değişimi % 61.78 ± 4.06 iken, uyanık sıçan grubunda 70. dakikadaki değer % 64.79 ± 5.91 olarak tespit edildi. Buradan hareketle, ACEA'nın (7.5 µg) her iki deney grubunda da benzer aktivite ortaya çıkardığı görülmektedir.

Uyanık sıçanlarda planlanan bu çalışmada, penisilin 300 IU i.s.v. enjeksiyonun mortaliteyi önemli oranda (% 34) arttırması büyük bir sıkıntı ortaya çıkarmıştır. Hayvanlar genellikle deneylerin ilk 30 dakikasında uzun süren jeneralize iktal nöbetlere bağlı olarak öldüler. Penisilin (300 IU, i.s.v.), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) gruplarındaki deneyler tamamlandıktan sonra anestezi altındaki sıçanlara, penisilin (500 IU, i.k.), AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) enjekte edildi. Uyanık sıçan ve anestezi altındaki sıçan grupları karşılaştırıldığında AM-251 (0.25 µg) ve ACEA (7.5 µg) grupları arasında yüksek oranda bir korelasyon olduğu tespit edildi. Uyanık sıçanlarda ve anestezi altındaki sıçanlarda kanabinoid reseptör sistemi açısından fark olmadığını tespit edildi. Mortalitenin de çok fazla olması çalışmamızı önemli ölçüde etkiledi. Bu yüzden, bu aşamadan sonraki deneyler anestezi altındaki sıçanlarda gerçekleştirildi.

Anestezi altındaki sıçanlarda, AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu, kontrol grubuna göre spike frekans yüzdesini 30. dakikada anlamlı olarak artırdı. AM-251 + ACEA kombinasyon grubunun yüzde spike değişimi, ACEA grubuyla karşılaştırıldığında ise, 20. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan anlamlı olarak artış saptandı. Ancak, AM-251 + ACEA kombinasyon grubu tek başına enjekte edilen AM-251'e (0.25 µg) göre anlamlı değildi. Yapılan çalışmalar, ACEA'nın en etkin dozunda gösterdiği antikonvulsan etkiyi AM251' in (0.25 µg) inhibe ederek prokonvulsan

aktiviteye yol açtığını göstermektedir. Bahremand ve ark. (2009), AM-251' in 1 mg/kg (i.p.) dozunda (en etkin doz) nöbet eşiğini anlamlı olarak düşürdüğünü, ACEA'nın 2 mg/kg (i.p.) dozunun (en etkin doz) ise nöbet eşiğini anlamlı ölçüde artırdığını bulmuşlardır. AM-251 (1 mg/kg) ile ACEA'yı (2 mg/kg)birlikte uyguladıklarında ise, AM-251 (1mg/kg) + ACEA (2 mg/kg) grubunun nöbet eşiğinin, tek başına uygulanan AM-251 (1 mg/kg) seviyesinde olduğunu tespit etmişlerdir (Bahremand ve ark.,2009). Nakatsuka ve ark. (2003), CB_1 reseptör antagonisti AM-251 verildiğinde, CB_1 reseptör agonisti WIN 55,212-2'in etkisinin ortadan kalktığını, spike frekans ve amplitüdünde herhangi bir baskılanma olmadığını bulmuşlardır. Laboratuarımızda yapılan ve referans olarak kabul ettiğimiz başka bir çalışmada ise i.s.v. olarak uygulanan AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg) kombinasyonu, kontrol grubuna göre yüzde spike frekansını anlamlı ölçüde artırmıştır. Sunulan çalışmada da, daha önce yapılan çalışmalarla örtüşen bulgulara rastlandı. AM-251 (0.25 µg) + ACEA (7.5 µg) grubu yüzde spike frekansını, AM-251 (0.25 µg) lehine artırmıştır. Buradan hareketle, CB_1 reseptörüne bağlanan AM-251'in en etkin dozu ile ACEA'nın en etkin dozu birlikte uygulandığında AM-251' in daha baskın olması, AM-251'in CB_1 reseptörüne afinitesinin ACEA'dan daha fazla olduğunu düşündürmektedir.

Anestezi altındaki sıçanlara, AM-251'in 0.5 µg dozu uygulandığında ise, 40. dakikada yüzde spike frekansını kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde arttırdı. AM-251 (0.5 µg) grubunda, AM-251 (0.25 µg) grubundaki kadar olmasa da, uyanık sıçan kayıtlarındaki iktal nöbetlere benzeyen nöbet aktiviteleri gözlendi (status benzeri aktiviteler). Buradan yola çıkarak, ghrelin ile birlikte kombinasyon gruplarında kullandığımız AM-251'in 0.5 µg dozu, AM-251'in 0.25 µg'lık dozunun yanında diğer bir etkin doz olarak belirlendi.

Yine anestezi altındaki sıçanlara, ACEA (2.5 µg) uyguladığımızda penisilin (500 IU) enjeksiyonundan 80. dakikadan itibaren bir miktar düşüş gözlense de, bu düşüş kontrol grubuna göre 180. dakika sonuna kadar istatistiksel açıdan anlamlı değildi. Bu bulgular, ACEA'nın 2.5 µg dozunun yeterli reseptör aktivasyonu ortaya çıkaramadığını göstermektedir. Bu yüzden, ACEA'nın 2.5 µg dozu etkisiz olarak kabul edilerek kombinasyon gruplarına uygulandı.

Kanabinoidlerin epileptiform aktiviteyi baskıladığı bilinmektedir. Ancak, hangi yollarla nöronal eksitasyonu azalttığı tartışma konusudur. CB_1 reseptör aktivasyonu,

Gi/o proteinlerini uyararak adenilat siklazı inhibe etmektedir. Adenilat siklaz ise adenozin trifosfattan (ATP) siklik AMP (cAMP) oluşumuna aracılık etmektedir. cAMP, protein kinaz A'nın (PKA) düzenleyici alt ünitesine bağlanarak PKA'yı aktive etmektedir. PKA'nın aktivasyonu ise A-tipi potasyum kanalının (K^+_A) fosforillenmesine ve kanalın kapanmasına neden olmaktadır. Sonuç olarak, CB_1 reseptör aktivasyonunun adenilat siklaz inhibe ederek cAMP oluşumunu engellediği, cAMP azalmasının ise PKA inaktivasyonuna neden olduğu ve böylece K^+_A kanalı uyarılarak hücre içinden ekstraselüler sıvıya K^+ çıkışı olduğu düşünülmektedir (Kyrou ve ark., 2006). K^+ kanallarının açılması beyin hücrelerinde eksitabiliteyi azaltmaktadır. Bu kanallar özellikle membran eksitabilitesinin homeostatik düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Potasyum kanallarının epilepsi ve beyin iskemisi gibi hipereksitasyon görülen hasarın tedavisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Misonou, 2010). Yine, CB_1 reseptörü tarafından Gi/o proteinlerinin uyarılması, direkt olarak N-tipi veya P/Q-tipi Ca^{+2} kanallarının inhibisyonuna ve yine direkt olarak içe yönelik rektifiye edici K^+ kanallarının (K^+_{ir}) aktivasyonuna neden olduğu söylenmektedir (Kyrou ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar, kalsiyum iyonunun hücre içine girişinin epileptik aktivitenin oluşumunda kilit role sahip olduğunu göstermektedir. Kalsiyumun hücreye girişi, eksitatör aminoasitlerin, özellikle de glutamatın salınımına yol açmaktadır. Glutamat reseptörleri (NMDA, kainat, AMPA) aracılığıyla nöron deşarjını arttırmaktadır (Heinemann ve ark., 1977 ;Uemastu ve ark., 1990). Penisilin enjeksiyonuyla bloklanan GABA aktivitesine ek olarak glutamat düzeyinin artışı daha fazla deşarj oluşturabileceğini düşündürmektedir., kanabinoidlerin bir yandan K^+ kanallarını açarak eksitasyonu, diğer yandan da Ca^{++} iyonlarının hücre içerisine girişini bloklayarak eksitatör nörotransmitter salınımını inhibe ederek epileptiform aktiviteyi baskıladığı söylenebilir.

5.3. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Ghrelinin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Son yıllarda, epilepsi hastalığına yönelik çalışmalarda nöropeptidler büyük önem kazanmıştır. Somatostatin, nöropeptid Y, galanin, leptin ve ghrelin gibi nöropeptidler bu hastalığın patogenezini ortaya koymak için epilepsi çalışmalarında yer almaktadır. Ghrelin, epilepsi çalışmaları için umut vaat eden bir nöropeptid olarak

değerlendirilmektedir (Hokfelt et al., 2003). Hayvanlarda ve insanlarda yapılan araştırmalar, ghrelinin epilepsi hastalığında aktif rol oynayan ve antikonvulsan özellikleri olan bir nöropeptid olduğunu ortaya koymaktadır.

Sunulan çalışmada, anestezi altındaki hayvanlara ghrelinin 1 µg ve 0.5 µg dozları i.c.v. olarak uygulandı. Ghrelin (1 µg), 60. dakikadan itibaren kontrol grubuna göre yüzde spike frekansını istatistiksel açıdan anlamlı oranda azalttı ve bu azalma 180. dakika sonuna kadar devam etti. Ghrelin (0.5µg) grubunda ise, 40. dakikadan sonra bir miktar düşüş gözlense de, bu düşüş kontrol grubuna göre 180. dakika sonuna kadar istatistiksel açıdan anlamlı değildi. Bu bulgular, daha önce yapılan doz çalışmasıyla örtüşmektedir. Ghrelinin 1 µg dozu etkin doz, 0.5 µg dozu ise etkisiz doz kabul edilerek kombinasyon gruplarında kullanıldı. GHS-R1a reseptörünün aktivasyonu doz bağımlı olarak büyüme hormonu salınımını uyarmaktadır (Kojima ve ark., 1999). GHS-R1a reseptörü G-proteinine bağlı reseptör ailesinin bir üyesidir ve bu reseptör ailesinin temel özelliklerini taşımaktadır (Howard ve ark.,1996). Ghrelin, GHSR-1a reseptörüne bağlandığı zaman $G_{\alpha 11}$ aracılığıyla fosfolipaz C (PLC) uyarılmaktadır. PLC'nin uyarılması inozitol trifosfatın (IP_3) intraselüler konsantrasyonunu arttırır ve IP3 hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) depolarından Ca^{+2} salınmasına yol açar. Aynı zamanda, PLC başka bir alternatif yolaktan voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarını açarak da hücre içi Ca^{+2}'yi arttırmaktadır. Ca^{+2} nin hücre içinde artışı da büyüme hormonu salınımına neden olmaktadır (Arvat ve ark.,2001; Di Vito ve ark., 2002). Kalsiyum iyonunun artışı eksitasyona yol açacağından, ghrelinin epileptiform aktiviteyi azaltıcı etkisini bu hücre içi yolaktan göstermediğini akla getirmektedir. Diğer taraftan, büyüme hormonu salınımıyla endokanabinoid sistem arasında da bir ilişki vardır. Yapılan çalışmalar, kanabinoid reseptör analoglarının kandaki büyüme hormonu düzeyini düşürdüğü göstermektedir (Murphy ve ark., 1998; Wenger ve ark., 1995). Ghrelin, büyüme hormonu salgılattığına göre, tersten düşünürsek, büyüme hormonunun aşırı artışını durdurabilmek için beyinden endokanabinoid sentezlenebilir. Ancak, büyüme hormonunu inhibe eden somatostatin salgısı gibi kolay bir yol dururken, CB_1 reseptörüne afinitesi yüksek olan kanabinoid reseptör antagonisti AM-251'in prokonvulsan etkisini inhibe edecek kadar yoğun bir endokanabinoid sentezi çok mantıklı değildir.

Ghrelin ve epilepsi hastalığı ile ilgili çalışmalar da son yıllarda artarak ilerlemektedir. Sıçanlarda, i.p. olarak uygulanan ghrelin pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan nöbetleri doz bağımlı olarak azaltmakta ancak tamamen engelleyememektedir (Obay ve ark., 2007). Buradan hareketle, ghrelinin hem i.c.v. hem de i.p. uygulanması antikonvulsan aktiviteye neden olmaktadır. Demek ki, ghrelin intraperitoneal olarak da uygulansa kan-beyin bariyerini geçmektedir. Yapılan sınırlı sayıda çalışma da bu geçişin doğruluğunu kanıtlamaktadır (Banks ve ark., 2002).

Ghrelinin antikonvulsan etkisini NPY ve GABA üzerinden gösterdiği de söylenmektedir. Hipotalamusun arkuat çekirdeğinde, ghrelin sentezleyen nöronların NPY/AgRP ve proopiomelanokortin (POMC) sentezleyen nöronlarla akso-somatik ve akso-dendritik bağlantıları olduğu tespit edilmiştir (Cowley ve ark., 2003). Cowley ve ark. (2001) yaptığı başka bir elektrofizyolojik çalışmada ise beyin kaynaklı ghrelinin, NPY/AgRP nöronlarını ateşleyerek, bu peptidler üzerinden GABA-erjik inhibitör etkiyi arttırdığı tespit edilmiştir. Pilokarpin modeli deneysel epilepside ise, ghrelinin nöroprotektif etkisi çalışılmıştır. Pilokarpinle oluşturulan nöbetlerde hipokampal nöronlarda kayıp olduğu ve ghrelinin buradaki nöronal ölümü engellediği gösterilmiştir. Ghrelinin, hipokampal nöronlarda fosfoinositid-3-kinaz (PI_3K)/Akt yolağını aktive ederek bu nöronal ölümün engellendiği düşünülmektedir (Xu ve ark., 2009; Chung ve ark., 2007). Bu yolak, intraselüler mekanizmalar aracılığıyla nöronların proliferas-yonunda ve sağ kalımda önemli rol oynamaktadır (Cuevas ve ark., 2001; Franke ve ark., 1997; Henshall ve ark., 2002). Ancak, PI_3K ve epilepsi ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır ve ghrelinin bu yolak üzerinden etki gösterdiğini kanıtlayacak yeterli veri mevcut değildir. Ghrelinin endokanabinoid salınımı üzerine etkisi de yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Kola ve ark., 2005; 2008). Ghrelin ve endokanabinoidler arasındaki ilişki bölüm 5.4'te bahsedilmiştir.

5.4. Anestezi Altındaki Sıçanlarda Ghrelin ve Kanabinoidlerin Etkileşiminin Epileptiform Aktiviteye Etkisi

Yapılan sınırlı sayıda çalışmada ghrelin ve kanabinoidlerin, besin alımı ve metabolizma konusunda aynı yolağı kullandıklarına dair kanıtlara rastlanmaktadır (Kola ve ark., 2005; 2008). Ancak literatürde, ghrelin ve kanabinoidlerin epileptiform aktivite üzerine etkileşimi ile ilgili çalışma bulunmamaktır. Ghrelin ve kanabinoidler ayrı ayrı

uygulandığında, her ikisi de epileptiform aktiviteyi tümüyle baskılamayıp ancak kısmi bir azalmaya yol açtılar. Hücre içi ve hücre dışı yolakları değerlendirildiğinde, ghrelin ve kanabinoidlerin bazı etkilerini aynı sinyal mekanizmaları üzerinden gösterdiği görülmektedir (Kola ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalar, ghrelinin ve kanabinoidlerin iştah açıcı etkilerinin çok güçlü olduğunu göstermektedir (Kola ve ark., 2005, 2008; Kirkham ve Williams, 2001). Her iki grubun da besin alımını tetikleyici etkisinin olması, aynı yolağı kullanabileceklerini akla getirmektedir. Tucci ve ark. (2004), iştah ve enerji kontrolünde kilit bir bölge olan hipotalamusun paraventriküler çekirdeğine ghrelin ve kanabinoidleri ayrı ayrı uyguladıklarında, her iki grubun da besin alımını yüksek derecede arttırdığını bulmuşlardır. Ancak, CB_1 reseptör antagonisti rimonabant ile ghrelinin etkin dozu (100 pmol) birlikte uygulandığında, ghrelinin iştah açıcı etkisinin ortadan kalktığı tespit edilmiştir. Ghrelin ve kanabinoidlerin AMP-aktive eden protein kinaz (AMPK) üzerinden iştah açıcı etki gösterdikleri ilk kez 2005 yılında bulundu (Kola ve ark., 2005). AMPK, tıpkı bir yakıt sensörü gibi hücreyi uyaran ve hücresel düzeyde enerji dengesini düzenleyen heterotrimerik yapıda bir enzimdir. Bu enzim ayrıca, metformin ve PPAR (peroksizom prolifetör aktive edici reseptör) agonistlerine aracılık etmektedir. Yapılan çalışmada, kanabinoidlerin besin alımının haricinde, myokardial enfarktüste ve yağ dokusunun artışında da AMPK'ya ihtiyaç duyduğu belirtilmektedir. Ghrelinin ise, besin alımında, myosit apoptozunun azalmasında, lipogenezde ve karbonhidrat metabolizmasında AMPK aktivasyonuna ihtiyaç duyduğu söylenmektedir. Yani, ghrelin ve kanabinoidler sadece besin alımında değil, metabolizma ve periferal etkilerde de AMPK'ya ihtiyaç duymaktadır (Kola ve ark., 2005). Diğer bir taraftan, endokanabinoid sistemin etkilerini AMPK aktivasyonu üzerinden gerçekleştirdiği düşünülmektedir (Kola ve ark., 2008). Lim ve ark. (2013), GSH-R olmayan farelerde yaptıkları çalışmada, kanabinoid agonisti HU210'un AMPK'yı aktive edemediğini gösterdiler. AMPK aktivasyonu için sağlıklı bir ghrelin yolağına ihtiyaç olduğunu belirttiler (Lim ve ark., 2013). Ghrelin ve kanabinoidlerin santral ve periferal etkilerinin bir kısmını, AMPK aktivasyonu üzerinden gerçekleştirdikleri gösterilmiştir. Ancak AMPK ile epilepsi hastalığı arasındaki bağlantı konusunda bilgilerimiz hala sınırlıdır. Thornton ve ark. (2011) alzheimer hastalığıyla ilgili yaptıkları bir çalışmada Aβ-(1–42) peptidinin NMDA reseptörü aracılığıyla AMPK'yı aktive ettiğini buldular. Glutamatın

reseptörlerinden biri olan NMDA'nın aktivasyonu nöronal deşarjın artışına yol açmaktadır (Uemastu ve ark., 1990). O halde, NMDA reseptörü aktive olduğunda hücre, bu nöronal deşarja cevap olarak AMPK aktivasyonu yoluyla eksitabiliteyi azaltmaya çalışabilir. Sonuç olarak, ghrelin ve kanabinoidler, AMPK aktivasyonu üzerinden birçok işlevlerini gerçekleştirmektedirler ancak epileptiform aktiviteyi AMPK üzerinden gerçekleştirdiklerine dair bir kanıt yoktur. Bu hipotezin kanıtlanabilmesi için ileri düzeyde moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anestezi altındaki sıçanlarda, AM-251 (0.25 μg) + ghrelin (1 μg) grubu, yüzde spike frekansı açısından kontrol grubuna göre 180 dakika boyunca anlamlı değildi. AM-251 (0.25 μg) + ghrelin (1 μg) grubunun yüzde spike frekans değişimi, ghrelin grubuna göre 20-70. dakikalar arasında ve 130. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan daha fazlave istatistiksel açıdan anlamlıydı. AM-251 (0.25 μg) + ghrelin (1 μg) grubu tek başına enjekte edilen AM-251'e (0.25 μg) göre 50. dakikadan itibaren yüzde spike frekansını anlamlı düzeyde azalttı. Bu bulgular ışığında, ghrelin, AM251'in prokonvulsan aktivitesini blokladı ancak kendi lehine çeviremedi. Bunun yanında, kombinasyon grubu 80-120. dakikalar arasında ghrelin grubuna göre anlamlı değildi. Antikonvulsan etkisi 60. dakikadan sonra ortaya çıkan ghrelinin etkisini 80-120. dakikalar arasında ortaya çıkarması gayet doğaldır. Ancak 130. dakikadan itibaren ortaya çıkardığı bu antikonvulsan etkiyi sürdürememesinin nedeni bilinmemektedir. Yapılan çalışmalar, ghrelin'in yarı ömrünün 60 dakikadan kısa olduğunu (Tolle ve ark., 2002), çünkü plazma esteraz'ı tarafından kolayca yıkılıp des-octanoyl-ghrelin'e dönüştüğünü ve bu molekülün inaktif olduğunu göstermektedir (Ariyasu ve ark., 2001). Demek ki ghrelin, yarılanma ömrünü tamamladıktan sonra reseptöründen ayrılmakta ve yarılanma ömrü 22 saat olan AM251 halen ortamda olduğundan (McLaughlin ve ark., 2005), CB_1 reseptörüne bağlanarak antikonvulsan etkiyi baskıladığını bize düşündürmektedir.

Anestezi altındaki sıçanlarda, AM-251 (0.5 μg) + ghrelin (1 μg) grubu, yüzde spike frekansı açısından kontrol grubuna göre sadece 30 ve 40. dakikalarda spike frekans yüzdesini anlamlı olarak artırdı. AM-251 (0.5 μg) + ghrelin (1 μg) grubunun yüzde spike frekans değişimi, ghrelin grubuna göre 30. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan daha fazlaydı. AM-251 (0.5 μg) + ghrelin (1 μg) grubu tek başına enjekte edilen AM-251'e (0.5 μg) göre 60. dakikadan itibaren yüzde spike frekansını anlamlı düzeyde

azalttı. Bu bulgular, ghrelinin 1 µg dozunda AM251'in (0.5 µg) prokonvulsan etkisini blokladığını ancak yine de tersine çeviremediğini göstermektedir. Diğer taraftan, ekstraselüler ortamdaki AM-251 konsantrasyonu fazlalığı ghrelinin antikonvulsan etkisini blokladığını düşündürmektedir. Çünkü, AM-251 (0.25 µg) + ghrelin (1 µg) kombinasyon grubu 80-120. dakikalarda ghrelin grubuna göre anlamlı oranda spike yüzde değişimi azaltırken, AM-251 (0.5 µg) + ghrelin (1 µg) grubunda bu düşüş gözlenmedi. Literatürde, AM-251 ve ghrelinle ilgili sadece 1 tane çalışma bulunmaktadır. Kola ve ark. (2008), patch klamp (yama kıskacı) yöntemi kullanarak yaptıkları çalışmada, paraventriküler çekirdeğe tek başına ghrelin uygulandığında eksitatör sinaptik girişi inhibe ettiğini öne sürmüşlerdir. Ancak, ortamda kanabinoid reseptör agonistleri (rimonabant veya AM251) varken bu etki ortadan kalkmaktadır. Ayrıca, ortamda tetrahidrolipstatin (THL) (Diaçil-gliserol lipaz inhibitörü) varken ghrelin etki gösterememektedir. Yine, ekstraselüler ortamda BAPTA (hücre içi Ca^{++} şelatörü) varken ghrelin etkisini ortaya çıkaramamaktadır. CB1 reseptörü olmayan farelerde yapılan çalışmada, ghrelinin besin alımını arttırıcı yönde etkisinin ortaya çıkmaması, ghrelinin endokanabinoid salınımını arttırarak etki gösterdiğini düşündürmektedir. Sonuç olarak, Ghrelinin, Ca^{+2} üzerinden protein kinaz-C'yi (PKC) uyardığı, PKC'nin de diaçil-gliserol lipazı (DGL) aktive ettiği, DGL'nin aktivasyonuyla birlikte endokanabinoid sentezi (2-AG) ve/veya salınımının gerçekleştiği düşünülmektedir. 2-AG'nin (2-araşidonil gliserol) ekstraselüler alana geçerek presinaptik nöronun CB_1 reseptörüne tutunduğu ve presinaptik nörondan glutamat salınımını inhibe ettiği belirtilmiştir (Kola ve ark., 2008). Buradan hareketle, eğer ghrelin paraventriküler çekirdekten endokanabinoid salınımına neden oluyorsa, beyindeki GSH-R1a reseptörü bulunan hücrelerden de endokanabinoid salınımına yol açabilir. Ekstraselüler alana endokanabinoid salınımı ise AM-251 ile reseptör düzeyinde yarışarak, AM-251' in etkisini bloklamaktadır. Ters taraftan düşünecek olursak da, AM-251, ghrelinin antikonvulsan etkisini, kontrol grubuna yaklaştırarak etkisiz kılmaktadır.

Anestezi altındaki sıçanlara, her iki grubun da etkisiz dozu olan ghrelin (0.5 µg) ve ACEA (2.5 µg) birlikte uygulandığında, kontrol grubuna göre spike yüzde değişimini 80. dakikada anlamlı olarak azalttı. Ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) grubu, yüzde spike frekansını ACEA (2.5 µg) grubuna göre 90. dakikada, ghrelin 0.5 µg grubuna göre ise 110. dakikada istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalttı. CB_1 reseptörlerini,

antikonvulsan etki ortaya çıkartabilecek kadar aktive edemeyen ACEA'nın 2.5 μg dozuna ek olarak, endokanabinoid salınımını arttırdığı belirtilen ancak yine de CB_1 reseptörlerini yeterli düzeyde aktive edemeyen ghrelinin 0.5 μg'lık dozu birlikte uygulandığında, CB_1 reseptörlerinin aktive olduğunu ve antikonvulsan etkinin ortaya çıktığını düşündürmektedir.

Anestezi altındaki sıçanlarda, AM-251 (0.25 μg) + Ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) grubunun yüzde spike değişimi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 180 dk boyunca kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşturmadı. AM-251 + ghrelin + ACEA kombinasyonunun yüzde spike değişimi, AM-251 grubuna göre 50. dakikadan itibaren anlamlı olarak azaldı. AM-251 + ghrelin + ACEA grubunu, ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) grubuyla karşılaştırdığımızda ise, 30. dakikada istatistiksel açıdan anlamlı bir artış tespit edildi ve bu artış deney sonuna kadar devam etti. Bu bulgular eşliğinde, AM-251 (0.25 μg) grubunun prokonvulsan etkisi ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) kombinasyonu ile engellenmektedir.

Anestezi altındaki sıçanlarda, AM-251 (0.5 μg) + Ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) grubunun yüzde spike değişimi kontrol grubuna göre 120. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde arttı. AM-251 + ghrelin + ACEA kombinasyonunun yüzde spike değişimi, AM-251 grubuna göre sadece 50-90. dakikalar arasında anlamlı olarak azaldı. AM-251 + ghrelin + ACEA grubunu, ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) grubuyla karşılaştırdığımızda ise, 30. dakikada istatistiksel açıdan anlamlı bir artış tespit edildi ve bu artış deney sonuna kadar devam etti. Bu bulgular ışığında, AM-251'in (0.5 μg) prokonvulsan etkisi, ortamda ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) varken engellenememekte ancak AM-251'in (0.5 μg) etki süresi 80 dakika uzamaktadır. Çünkü AM-251 (0.5 μg), 120. dakikadan sonra epileptiform aktiviteyi kendi lehine çevirerek prokonvulsan aktivite göstermiştir. Bu dakikadan sonra prokonvulsan bir aktivetinin görülmesi ghrelinin yarılanma ömrünün kısa olması ve ACEA'nın CB_1 reseptörlerine afinitesinin AM251 kadar yüksek olmamasıyla açıklanabilir.

Anestezi altındaki sıçanlarda, ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubunun yüzde spike değişimi kontrol grubuna göre 50. dakikadan itibaren anlamlı ölçüde arttı. Ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubunun yüzde spike değişimi, ne ghrelin (1 μg), ne de ACEA (7.5 μg) grubuna göre anlamlı değildi. Ghrelin + ACEA'nın hem ghreline, hem de ACEA'ya göre spike frekans yüzdesini anlamlı ölçüde düşürmemesi, her iki maddenin

de aynı yolağı kullanabileceğini düşündürmektedir. Farmakolojik açıdan yaklaşırsak, ayrı ayrı uyguladığında her ikisi de antikonvulsan etki gösteren ghrelin ve ACEA'nın, birlikte uygulandıklarında sinerjistik etki göstererek spike frekansını çok daha fazla düşürmesi ya da tamamen ortadan kaldırması beklenir. Ancak, ghrelin (1 μg) ve ACEA (7.5 μg) sinerjistik etki göstermemektedirler. Bu da, ghrelinin kanabinoid reseptör sistemi üzerinden etki gösterdiğini düşündürmektedir.

Anestezi altındaki sıçanlarda, AM-251 (0.25 μg) + Ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubunun yüzde spike değişimini kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda 180 dk boyunca kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşmadı. AM-251 + ghrelin + ACEA kombinasyonunun yüzde spike değişimi, AM-251 (0.25 μg) grubuna göre 30. dakikadan itibaren anlamlı olarak azalırken, ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubuyla karşılaştırdığımızda deney sonuna kadar istatistiksel açıdan anlamlı bir artış tespit edilmedi. Diğer taraftan, AM-251 (0.5 μg) + Ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubunun yüzde spike değişimini kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda 180 dk boyunca kontrol grubuna göre anlamlı bir fark oluşmadı. AM-251 + ghrelin + ACEA kombinasyonunun yüzde spike değişimi, AM-251 grubuna göre 40. dakikadan itibaren anlamlı olarak azalırken, ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubuyla karşılaştırdığımızda 20. dakikadan itibaren istatistiksel açıdan anlamlı bir artış tespit edildi. Bu sonuçlar, AM-251 (0.25 μg)'in gösterdiği prokonvulsan etkinin, ortamda ghrelin (1 μg) ve ACEA (7.5 μg) varken bloklandığını göstermektedir, fakat antikonvulsan etki ortaya çıkmamaktadır. Doz bağımlı olarak, ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) kombinasyonu ise, AM-251 (0.5 μg)'in prokonvulsan etkisini bloklamakta ve kontrol grubuna yaklaştırmaktadır.

6. SONUÇLAR

1. Uyanık sıçanlara i.s.v. olarak enjekte edilen 300 IU penisilin, status epileptikusa neden oldu. 3 saatten fazla süren nöbetlerde jeneralize tarzda iktal nöbetler ve iktal nöbet aralarında interiktal deşarjlar görüldü. 300 IU penisilin hayvanların % 34'ünün ölümüne yol açtı.

2. Anestezi altındaki sıçanlara penisilinin 500 IU dozda i.k. uygulanması, bilateral diken dalgalar ve diken-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform aktivite ortaya çıkardı. Aktivite 20-30 dk içinde kararlı hale geldi ve 180 dk'lık kayıt boyunca devam etti.

3. Uyanık sıçanda AM-251 (0.25 μg), nöbet evresini, iktal nöbet sayısını, iktal toplam spike sayısını, interiktal toplam spike sayısını ve toplam spike sayısını kontrol grubuna göre anlamlı oranda arttırırken, ACEA (7.5 μg) ise, hesaplanan bu kriterlerin hepsini kontrol (penisilin) grubuna göre anlamlı ölçüde azalttı.

4. Uyanık sıçanda AM-251 (0.25 μg), 30. dakikadan itibaren kontrol grubuna yüzde spike değişimini anlamlı ölçüde arttırırken, ACEA (7.5 μg) 70. dakikadan itibaren kontrol grubuna yüzde spike değişimini anlamlı ölçüde azalttı. Anestezi altındaki sıçanda ise, AM-251 (0.25 μg) yüzde spike değişimini yine 30. dakikadan itibaren kontrol grubuna anlamlı ölçüde arttırırken, ACEA (7.5 μg) 60. dakikadan itibaren kontrol grubuna yüzde spike değişiminianlamlı ölçüde azalttı. Bu sonuçlar, CB_1 reseptörlerinin uyanık ve anestezi altındaki sıçanlarda aynı etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

5. Anestezi altındaki sıçanda, ghrelinin 1 μg dozu, yüzde spike frekansını 60. dakikadan itibaren anlamlı olarak azaltırken, 0.5 μg dozu kontrol grubuna göre deney sonuna kadar anlamlı bulunmadı. AM-251 0.25 μg dozunda, kontrol grubuna göre yüzde spike değişimini 30. dakikadan itibaren anlamlı olarak artırırken, 0.5 μg'lık dozu ise, 40. dakikadan itibaren anlamlı oranda artırdı. Anestezi altındaki sıçanda, ACEA'nın 1 μg dozu, yüzde spike frekansını 60. dakikadan itibaren anlamlı olarak azaltırken, 0.5 μg dozu ise anlamlı bir etki göstermedi.

6. Anestezi altındaki sıçanda, AM-251 (0.25 μg) + ACEA (7.5 μg) grubu kontrol grubuna göre, tıpkı AM-251 (0.25 μg)'deki gibi 30. dakikadan itibaren spike yüzde frekansını anlamlı oranda artırdı. ACEA (7.5 μg), AM-251'in (0.25 μg) etkisini bloklamadı.

7. Anestezi altındaki sıçanda, AM-251 (0.25 μg) + ghrelin (1 μg) grubu AM-251 (0.25 μg) grubuna göre 50. dakikadan itibaren spike frekans yüzdesini anlamlı düzeyde azaltırken, ghrelin (1 μg) grubuna göre ise, 20-70. dakikalar arasında ve 130. dakikadan sonra spike frekans yüzdesini anlamlı olarak artırdı. Sonuç olarak ghrelin (1 μg), AM-251'in (0.25 μg) prokonvulsan etkisini deney boyunca blokladı.

8. Anestezi altındaki sıçanda, AM-251 (0.5μg) + ghrelin (1 μg) grubu AM-251 (0.5 μg) grubuna göre 60. dakikadan itibaren spike frekans yüzdesini anlamlı olarak azaltırken, ghrelin (1 μg) grubuna göre ise 30. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde artırdı. Sonuç olarak ghrelin (1 μg), AM-251'in (0.5 μg) prokonvulsan etkisini deney boyunca blokladı ve kontrol grubuna yaklaştırdı.

9. Anestezi altındaki sıçanda, etkisiz doz ghrelin (0.5μg) ve etkisiz doz ACEA (2.5 μg) ayrı ayrı uygulandığında antikonvulsan etki ortaya çıkmazken, beraber uygulandıklarında kontrol grubuna göre 80. dakikadan itibaren yüzde spike frekansı anlamlı oranda azaldı. Ghrelinin endokanabinoid salgılatarak, ACEA ile birlikte antikonvulsan etki ortaya çıkarabilecek kadar CB_1 reseptörü aktivasyonuna yardımcı olduğu düşünülebilir.

10. Anestezi altındaki sıçanda, AM-251 (0.25 μg) + ghrelin (0.5μg) + ACEA (2.5 μg) grubu spike frekans yüzdesini AM-251 (0.25 μg) grubuna göre 50. dakikadan itibaren azaltırken, ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) grubuna göre ise 30. dakikadan itibaren anlamlı olarak artırdı. Ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) kombinasyonu AM-251'in (0.25 μg) prokonvulsan etkisini 180 dk boyunca blokladı ve kontrol grubuna yaklaştırdı.

11. Anestezi altındaki sıçanda, AM-251 (0.5 μg) + ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) grubu spike frekans yüzdesini AM-251 (0.5 μg) grubuna göre 50-90. dakikalar arasında

anlamlı olarak azaltırken, ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) grubuna göre ise 30. dakikadan itibaren anlamlı olarak artırdı. Ghrelin (0.5 μg) + ACEA (2.5 μg) kombinasyonu AM-251'in prokonvulsan etkisini bloklayamamış ancak AM-251'in (0.5 μg) etki latansını 80 dk uzattı. 120. dakikadan sonra prokonvulsan bir aktivetinin görülmesi ghrelinin yarılanma ömrünün kısa olması ve ACEA'nın AM-251 kadar CB_1 reseptörlerine afinitesinin yüksek olmamasıyla açıklanabilir.

12. Anestezi altındaki sıçanda, ghrelin (1 μg) ve ACEA (7.5 μg) ayrı ayrı uygulandığında antikonvulsan etki ortaya çıktı. Beraber uygulandıklarında ise kontrol grubuna göre 50. dakikadan itibaren yüzde spike frekansını anlamlı oranda azalttılar. Ghrelin + ACEA'nın hem ghreline, hem de ACEA'ya göre spike frekans yüzdesini anlamlı ölçüde düşürdü. Bu bulgular, ghrelinin ve kanabinoidlerin epileptiform aktivitede aynı yolağı kullandığını düşündürmektedir.

13. Anestezi altındaki sıçanda, AM-251 (0.25 μg) + ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubu spike frekans yüzdesini AM-251 (0.25 μg) grubuna göre 30. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde azaltırken, ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubuna göre ise deney boyunca anlamlı düzeyde etki göstermedi. Ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) kombinasyonu AM-251'in (0.25 μg) prokonvulsan etkisini blokladı, ancak tersine çevirmedi.

14. Anestezi altındaki sıçanda, AM-251 (0.5 μg) + ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubu spike frekans yüzdesini AM-251 (0.5 μg) grubuna göre 40. dakikadan itibaren anlamlı olarak azaltırken, ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) grubuna göre ise 20. dakikadan itibaren anlamlı düzeyde artırdı. Ghrelin (1 μg) + ACEA (7.5 μg) kombinasyonu AM-251'in (0.5 μg) prokonvulsan etkisini blokladı, ancak tersine çevirmedi.

15. Yüzde spike amplitüdü değişimi açısından değerlendirildiğinde deney grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı.

Yapılan bu çalışmayla, ghrelin hormonunun, kanabinoid reseptör antagonisti AM-251'in prokonvulsan aktivitesini blokladığı, ghrelin (0.5 µg) + ACEA (2.5 µg) etkisiz doz kombinasyonunun etkin hale gelerek, antikonvulsan aktiviteye neden olduğu ve ghrelin (1 µg) + ACEA (7.5 µg) etkin doz kombinasyonunun sinerjist etki göstermediği bulundu. Mevcut bulgular ışığında, ghrelinin endokanabinoid reseptör sistemi üzerinden antikonvulsan etki ortaya çıkardığını düşünmekteyiz. Ancak, bu hipotezin tamamen kanıtlanabilmesi için ileri düzeyde moleküler çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

Abizaid A, Horvath TL. (2008). Brain circuits regulating energy homeostasis. *Regul Pept.* 149(1-3): 3-10.

Adams IB, Compton DR, Martin BR. (1998). Assessment of anandamide interaction with the cannabinoid brain receptor: SR 141716A antagonism studies in mice and autoradiographic analysis of receptor binding in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther.* 284: 1209-17.

Alıcı T, Uzbay IT. (2006). Kannabinoidler: Ödüllendirici ve bağımlılık yapıcı etkilerinin nörobiyolojisi ve nöropsikofarmakolojisi üzerine bir gözden geçirme. *Bağımlılık Dergisi.* 7(3): 140-149

Alonso-Deflorida F, Delgado JM. (1958). Lasting behavioral and EEG changes in cats induced by prolonged stimulation of amygdala. *Am J Physiol*. 193: 223-229.

Ameri A. (1999). The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol*. 58: 315-348.

Andreoli TE, Bennett JC, Carpenter CJ, Plum F. (1997). *Cecil essentials of medicine.* 4th ed. Saunders WB. Philadelphia.

Andreoli TE, Carpenter CCJ, Griggs RC, Loscalzo J. (2001). *Cecil Essentials of Medicine,* 5th ed. Saunders WB. Philadelphia.

Andrew RJ. (1991). The use of domestic chick as a model. *Neural and behavioural plasticity.* New York University Press.

Arevalo C, de Miguel R, Hernandez-Tristan R. (2001). Cannabinoid effects on anxiety-related behaviours and hypothalamic neurotransmitters. *Pharmacol Biochem Behav*. 70(1): 123-131.

Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T ve ark. (2001). Stomach is a major source of circulating ghrelin and feeding state determines plasma ghrelin-like immuno reactivity levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 86: 4753-4758.

Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F ve ark. (2001). Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (ghs), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl ghs, and ghreleasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab*. 86(3): 1169-1174.

Aslan H. (1999). Bir ve yedi günlük civcivlerin hipokampuslarında toplam nöron sayısının optik parçalama metodu ile hesaplanması. *Uzmanlık tezi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun.

Aslan A, Yildirim M, Ayyildiz M, Güven A, Agar E. (2009). The role of nitric oxide in the inhibitory effect of ghrelin against penicillin-induced epileptiform activity in rat. *Neuropeptides.* 43: 295-302.

Ataie Z., Golzar MG, Babri S, Ebrahimi H, Mohaddes G. (2011). Does ghrelin level change after epileptic seizure in rats? *Seizure*. 20(4): 347-9.

Avanzini G, Franceschetti S, Binelli S, Panzica F, Granata T, Besta C ve ark. (1996). ILAE classification of epilepsies: its applicability and practical value of different diagnostic categories. *Epilepsia.* 37: 1051-9.

Aydin S, Geckil H, Zengin F, Ozercan IH, Karatas F, Aydin S, Turgut-Balik D, Ozkan Y, Dagli F, Celik V. (2006). Ghrelin in plants: What is the function of an appetite hormone in plants? *Peptides*. 27: 1597-1602.

Aydin S, Dag E, Ozkan Y, Erman F, Dagli AF, Kilic N, Sahin I, Karatas F, Yoldas T, Barim AO, Kendir Y. (2009). Nesfatin-1 and ghrelin levels in serum and saliva of epileptic patients: hormonal changes can have a major effect on seizure disorders. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 328: 49-56

Ayyildiz M**,** Yildirim M, Agar E, Baltacı AK. (2006). The effect of leptin on penicillin induced epileptiform activity in the rats. *Brain Research Bulletin*, 68 (5): 374-37.

Ayyildiz M, Coskun S, Yildirim M, Agar E. (2007). The Effects of Ascorbic Acid on penicillin -induced Epileptiform Activity in Rats. *Epilepsia*, 48(7): 1388-1395

Bağırıcı F. (1996). Penisilin modelli deneysel epilepside kalsiyum kanal blokerlerinin elektrokortikograma (ECoG) etkileri. *Doktora tezi*. OMÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Bağırıcı F, Bostancı M, (2001). Kalsiyum kanal blokerleri ve deneysel epilepsi. *OMU Tıp Dergisi.* 18: 135-149.

Bahremanda A, Sara Ebrahimi Nasrabadya, Hamed Shafaroodib, Mehdi Ghasemia, Ahmad Reza Dehpoura. (2009). Involvement of nitrergic system in the anticonvulsant effect of the cannabinoid CB1 agonist ACEA in the pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *Epilepsy Research* 84: 110-119

Banks WA, Tschop M, Robinson SM, Heiman ML. (2002). Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. (302): 822-827.

Barr ML, Kiernan JA. (1988). *The human nervous system.* 5th Ed. Lippincott Company. Philadelphia. 224-230.

Batkai S, Pacher P, Osei-Hyiaman D, Radaeva S, Liu J, Harvey-White J, Offertaler L, Mackie K, Rudd MA, Bukoski RD, Kunos G. (2004). Endocannabinoids acting at cannabinoid-1 receptors regulate cardiovascular function in hypertension. *Circulation.* 110(14): 1996-2002.

Baykan B, Gürses C, Gökyiğit A. (2004). *Epilepsi.* Öge AE. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; s.279-308.

Beaumont, NJ., Skinner, VO., Tan, TM., Ramesh, BS ve ark. (2003). Ghrelin can bind to a species of high density lipoprotein associated with paraoxonase. *The Journal of Biological Chemistry.* 278(11): 8877-8880

Beckstead RM. (1983). Long collateral branches of substantia nigra pars reticulata axons to thalamus, superior colliculus and reticular formation in monkey and cat. Multiple retrograde neuronal labeling with fluorescent dyes. *Neuroscience*, 10 (3): 767-773.

Bell GS, Sander JW. (2001). The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure.* 16: 165–170.

Bergeron A, Guitton D. (2001). Chapter 7 The superior colliculus and its control of fixation behavior via projections to brainstem omnipause neurons. *Progress in Brain Research.* (134): 97-107.

Berilgen MS, Mungen B, Üstündağ B, Demir C. (2006). Serum ghrelin levels are enhanced in patients with epilepsy. *Seizure.* 15: 106-11.

Bernal B, Altman N. (2003). Evidence-based medicine: neuroimaging of seizures. *Neuroimaging Clin N Am* 13: 211-224.

Ben-Menachem E. Hellström K, Waldton C, Augustinsson LE. (1999). Evaluation of refractory epilepsy treated with vagus nevre stimulation for up to 5 years. *Neurology*. 52(6): 265-267.

Bingöl CA, Aktekin B, Agan K ve ark. (2007). *Epilepsi rehberi.* Türk nöroloji derneği epilepsi çalışma grubu.

Bittencourt AS, Nakamura-Palacios EM, Mauad H, Tufik S, Schenberg LC. (2005). Organization of electrıcally and chemıcally evoked defensive behavıors wıthın the deeper collıcular layers as compared to the perıaquaductal gray matter of the rat. *Neuroscience,* (133): 873-892.

Blair RE, Deshpande LS, Sombati S, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ. (2006). Activation of the cannabinoid type-1 receptor mediates the anticonvulsant properties of cannabinoids in the hippocampal neuronal culture models of acquired epilepsy and status epilepticus. *J Pharmacol Exp Ther.* 317: 1072-1078.

Bloom JM, Kaltenborn WT, Paoletti P. (1987). Respiratory effects of non-tobacco cigarettes. *British Medical Journal.* 295: 1516-1518.

Bo GP, Fonzari M, Scotto PA, Benassi E. (1984). Parenteral penicillin epilepsy: tolerance to subsequent treatments. *Exp Neurol*. 85: 229-232.

Bosnak M, Ayyildiz M,Yildirim M, Agar E. (2007). The role of nitric oxide in the anticonvulsant effects of pyridoxine on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsy Research.* 76(1): 49-59.

Bostanci MO, Bagirici F. (2007). Anticonvulsive effects of quinine on penicillin induced epileptiform activity: An in vivo study. *Seizure.* 16: 166-172.

Bowers CY, Momany F,Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K. (1980). Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinol.* 106: 663-667.

Brailowsky S, Menini C, Silva-Barrat C, Naquet R. (1987). Epileptogenic gammaaminobutyric acid-withdrawal syndrome after chronic, intracortical infusion in baboons. *Neurosci Lett.* 74: 75-80.

Brailowsky S, Kunimoto M, Menini C, Silva-Barrat C, Riche D, Naquet R. (1988). The GABA-withdrawal syndrome: a new model of focal epileptogenesis. *Brain Res*. 442: 175-179.

Brents LK, Gallus-Zawada A, Radominska-Pandya A, Vasiljevik T, Prisinzano TE, Fantegrossi WE, Moran JH, Prather PL. (2012). Monohydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-073 retain intermediate to high cannabinoid 1 receptor (CB1R) affinity and exhibit neutral antagonist to partial agonist activity. *Biochem Pharmacol.* 83: 952-961.

Browning RA, Wang C. Nelson DK, Jobe PC. (1999). Effect of precollicular transection on audiogenic seizures in genetically epilepsy-prone rats. *Experimental neurology*. 155 (2): 295-301.

Bruton CJ. (1988). *The neuropathology of temporal lobe epilepsy*. New York: Oxford UP.

Camina JP. (2006). Cell biology of the ghrelin receptor. *J Neuroendocrinol.* 18: 65-76.

Campbell AM, Holmes O. (19849. Bicuculline epileptogenesis in the rat. *Brain Res*. 323: 239- 246.

Canan S, Şahin B, Ünal B, Aslan H, Bilgiç S, Kaplan S. (2002). Parçacıkların toplam sayısının hesaplanması için bir metot: Parçalama. *T. Klin. Tıp Bilimleri.* (22): 30-46.

Canan S. (2004). Nitrik oksit ve Kalsiyum kanal blokörlerinin deneysel epilepsideki yeri. *Doktora tezi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Canan S, Ankarali S, Marangoz C. (2008). Detailed spectral profile analysis of penicillin-induced epileptiform activity in anesthetized rats. *Epilepsy Res.* 82 (1): 7-14.

Cansu A, Serdaroglu A, Camurdan O, Hirfanoglu T, Cinaz P. (2011a). Serum insulin, cortisol, leptin, neuropeptide Y, galanin and ghrelin levels in epileptic children receiving valproate. *Horm Res Paediatr*. 76: 65-71.

Cansu A, Serdaroglu A, Cinaz P. (2011b) Serum insulin, cortisol, leptin, neuropeptide Y, galanin and ghrelin levels in epileptic children receiving oxcarbazepine. *Eur J Paediatr Neurol*. 15: 527-531.

Cant NB, Benson CB. (2005). An atlas of the inferior colliculus of the gerbil in three dimensions. *Hearing Research,* (206): 12-27.

Carney LH. (1999). Temporal response properties of neurons in the auditory pathway. *Neurobilogy,* (9): 442-446.

Carrea R, Lanari A. (1962). Chronic effect of tetanus toxin applied locally to the cerebral cortex of the dog. *Science.* 137: 342-343.

Cerutti SM, Chadi G. (2000). S100 Immunoreactivity is increased in reactive astrocytes of the visual pathways following a mechanical lesion of the rat occipital cortex. *Cell Biology İnternational,* 24 (1): 35-49.

Chakravarty DN, Faingold CL. (1997). *Brain Research*, (761): 263-270

Chambers AP, Sharkey KA, Koopmans HS. **(**2004). Cannabinoid (CB)1 receptor antagonist, AM 251, causes a sustained reduction of daily food intake in the rat. *Physiol Behav,* 82(5): 863-9.

Chen RZ, Huang RR, Shen CP, MacNeil DJ, Fong TM. **(**2004). Synergistic effects of cannabinoid inverse agonist AM251 and opioid antagonist nalmefene on food intake in mice. *Brain Res,* 999(2): 227-30.

Cinar R, Cinar OG. (2011). Kannabinoid Tip 1 Reseptör (CB1) ve Terapötik Yaklaşımlara Genel Bakış-I. *MUSBED.* 1(2): 149-154.

Cinar OG, Cinar R. (2012). Kannabinoid Tip 1 Reseptor (CB1) ve Terapötik Yaklaşımlara Genel Bakış-II. *MUSBED.* 2(1): 1-8.

Choi K, Roh S, Hong Y, Shrestha YB, Hishikawa D, Chen C, Kojima M, Kangawa K, Sasaki S. (2003). The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis. *Endocrinology*. 144(3): 754-759.

Chung H, Kim E, Lee DH, Seo S, Ju S, Lee D, Kim H, Park S. (2007). Ghrelin inhibits apoptosis in hypothalamic neuronal cells during oxygen-glucose deprivation. *Endocrinology*. 148(1): 148-159

Chusid JG, Kopeloff LM. (1962). Epileptogenic effects of pure metals implanted in motor cortex of monkeys. *J Appl Physiol*. 17: 697-700.

Coenen AM, Van Luijtelaar EL. (1987). The WAG/Rij rat model for absence epilepsy: age and sex factors. *Epilepsy Res.* 1: 297-301.

Colonnier M. (1968). Synaptic patterns on different cell types in the different laminas of the cat visual cortex: An electron microscopic study. *Brain Res*. 9: 268-287.

Compton DR, Johnson MR, Meloin LS, Martin BR. (1991). Pharmacological evaluation of a series of bicyclic cannabinoid analogs: classification as cannabimimetic agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 260, 201-209.

Cooper RM. (2002). Diffuse light increases metabolic activity in the lateral geniculate nucleus, visual cortex, and superior colliculus of the cone-dominated ground squirrel visual system. *Vision Research.* (42): 2899-2907.

Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdán MG, Diano S, Horvath TL, Cone RD. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neutral network in the arcuate nucleus. *Nature.* 411(6836): 480-484

Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N ve ark. (2003). The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrated a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*. 37(4): 649-661.

Cuevas BD, Lu Y, Mao M, Zhang J, LaPushin R, Siminovitch K, Mills GB. (2001). Tyrosine phosphorylation of p85 relieves its inhibitory activity on phosphatidylinositol-3-kinase. *The Journal of Biological Chemistry.* 276(29): 27455-27461.

Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. (2001). A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes.* 50(8): 1714-1719.

Cunha JM, Carlini EA, Pereira AE, Ramos OL, Pimentel C, Gagliardi R, Sanvito WL, Lander N, Mechoulam R. (1980). Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology.* 21: 17-19.

Dağ E, Aydin S, Ozkan Y, Erman F, Dagli AF, Gurger M. (2010). Alteration in chromogranin A, obestatin and total ghrelin levels of saliva and serum in epilepsy cases. *Peptides*. 31(5): 932-937.

Dailey JW, Jobe PC. (1985). Anticonvulsant drugs and the genetically epilepsy prone rat. *Fed. Proc.* 44, 2640-2644.

Daly DD, Pedley TA. (1997). Current practice of clinical electroencephalography. 2nd ed. Philadelphia, Lippincott-Raven.

Daniels JC, Spehlmann R. (1973). The convulsant effect of topically applied atropine. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 34: 83-87.

Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. (2000). Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*. 141(11): 4255-4261.

Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Arima T, Matsuo H, Matsukura S. (2002). Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes.* 51(1): 124-129.

Del-Bel EA, Oliveira PR, Oliveira JAC, Mishra PK, Jobe PC, Garcia-Cairasco N. (1997). Anticonvulsant and proconvulsant roles of nitric oxide in experimental epilepsy models. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research.* (30): 971-979.

DeLorenzo RJ, Hauser WA, Towne AR, Boggs JG, Pellock JM, Penberthy L, Barnett L, Fortner CA, Ko D. (1996). A prospective, population-based epidemiologic study of status epilepticus in Richmond, Virginia. *Neurology* 46: 1029-1035.

Depaulis A, Marescaux C, Liu Z, Vergues M. (1990). The GABAergic nigro- collicular pathway is not involved in the inhibitory control of audiogenic seizures in the rat. *Neuroscience Letters*. 111 (3): 269-274.

Deransart C, Le-Pham BT, Hirsch E, Marescaux C, Depaulis A. (2001). Inhibition of the substantia nigra suppresses absences and clonic seizures in audiogenic rats, but not tonik seizures: evidence for seizure specificity of the nigral control. *Neuroscience*. 105 (1): 203-11.

Deshpande LS, Sombati S, Blair RE, Carter DS, Martin BR, DeLorenzo RJ. (2007). Cannabinoid CB1 receptor antagonist cause status epilepticus-like activity in the hippocampal neuronal culture model of acquired epilepsy. *Neurosci Lett.* 411: 11–16.

Devane WA, Hanus L, Breuer A. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 258: 1946-1949.

Dewey WL. (1986). Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol rev.* 38: 151-178

Diaz F, Moreno P, Vıllena A, Vidal L, Perez De Vargas I. (2003). Effects of Aging on Neurons and Glial Cells From the Superficial Layers of the Superior Colliculus in Rats. *Microscopy Research And Technıque.* (62): 431-438.

Dichter MA, Ayala GF. (1987). Cellular mechanism of epilepsy: A status report. *Science*. 237: 157-164.

Dichter MA. (1994). The epilepsies and convulsive disorders. In Isselbacher KJ (Ed). *Harrison's principles of internal medicine*. McGraw-Hill, New York. 2223–2233.

Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D. (1994). Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature.* 372(6507): 686-691.

Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Batkai S, Jarai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G. (2001). Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. Nature. 410(6830): 822-825.

Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Prodam F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Ghigo E, Arvat E. (2002). The GH-releasing effect of ghrelin, a natural gh secretagogue, is only blunted by the infusion of exogenous somatostatin in humans. *Clin Endocrinol (Oxf).* 56(5): 643-648.

Drinkenburg WHIM, Schuurmans MLEJ, Coenen AML, Vossen JMH, van Luijtelaar ELJM. (2003). Ictal stimulus processing during spike-wave discharges in genetic epileptic rats. *Behavıoural Braın Research*. (143): 141-146.

Domann R, Dorn T, Witte OW. (1986). GABA-A and GABA-B dependent IPSPs following penicillin-induced paroxysmal depolarizations in the hippocampal slices. *Soc Neruosci Abstr.* 15: 340.

Domann, R, Dorn T, Witte OW. (1989). Calcium-dependent potassium current following penicillin-induced epileptiform discharges in the hippocampal slice. *Exp Brain Res*. 78, 646–648.

Donaldson J, St Pierre T, Minnich J, Barbeau A. (1971). Seizures in rats associated with divalent cation inhibition of NA+-K+-ATP'ase. *Can J Biochem*. 49: 1217-1224.

Drongelen W, Koch H, Marcuccilli C, Hecox K, Ramirez JM. (2003). Is burst activity in cortical slices a representative model for epilepsy? *Neurocomputing.* (52-54): 963-968.

Dujardin E, Jürgens U. (2006). Call type-specific differences in vocalization-related afferents to the periaquaductal gray of squirrel monkeys (Saimirisciureus). *Behavioural Brain Research*. (168): 23-36.

Eells JB, Clough RW, Browning RA, Jobe PC. (2004). Comparative fos imunreactivity In the brain after forebrain, brainstem, or combined seizure induced by electroshock, pentylenetetrazol, focally induced and audiogenic seizures in rats. *Neuroscience.* (123): 279-292.

Eichenberger GCD, Ribeiro SJ, Osaki MY, Maruoka RY, Resende GCC, Castellan-Baldan L, Correa SAL, Da Silva LA, Coimbra NC. (2001). Neuroanotomical and psychopharmacological evidence for interaction between opioid and GABAergic neurol pathways in the modulation of fear and defense elicited by electrical and chemical stimulation of the deep layers of the superior colliculus and dorsal periaqueductal gray matter. *Neuro Pharmacology.* (42): 48-59.

El-Bab MF. (2001). Cognitive Event Related potentials during a learning task. *Doctor of Philosophy.* Department of Clinical Neurological Sciences Faculty of Medicine University of Southampton United Kingdom.

El-Khayat HA, Aly GS, Tomoum HY, Mamdouh RM, Al-Badani AK, Mohamed EI. (2010). Growth hormone levels in children and adolescents with epilepsy. *European Journal Paediatric Neurology.* 14(6): 508-512.

ElSohly MA, Slade D. (2005). Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci.* 78: 539-48.

Emrich HM, Leweke FM, Schneider U. (1997). Towards a cannabinoid hypothesis of schizophrenia: cognitive impairments due to dysregulation of the endogenous cannabinoid system. *Pharmacol Biochem Behav.* 56(4): 803-807.

Endsley MP, Thill R, Choudhry I, Williams CL, Kajdacsy-Balla A, Campbell WB, Nithipatikom K. (2008). Expression and function of fatty acid amide hydrolase in prostate cancer. Int *J Cancer.* 123(6): 1318-1326.

Engel J. (1998). Classifications of the International League Against Epilepsy: time for reapprasial. *Epilepsia.* 39: 1014-7.

Engel J, Plum F, Gilman S, Martin JB. (1989). Causes of human epilepsy. *Seizures and Epilepsy*. 112-134.

Engel J. (1997). Positron emission tomography scanning in epilepsy. *Epilepsia*. 38(7): 2.

Erten E. (2005). Edirne ili merkez ilköğretim okulu çocuklarında epilepsi prevelansı ve epidemiyolojik özellikleri. *Uzmanlık tezi.* Trakya Üniversitesi Tıp fakültesi.

Ettinger AB. (1994). Structural causes of epilepsy. *Neurologie Clinics.* 12: 41-56.

Everling S, Dorris MC, Klein RM, Munoz DP. (1999). Role of Primate Superior Colliculus in Preparation and Execution of Anti-Saccades and ProSaccades. *The Journal of Neuroscience.* 19 (7): 2740-2754.

Faingold CL, Browning, RA. (1987). Mechanisms of anticonvulsant drug action. I. Drugs primarily used for generalized tonic-clonic and partial epilepsies. *Eur J Pediatr.* 146: 2-7.

Faingold CL, Millan MH, Boersma CA, Meldrum BS. (1988). Excitant amino acids and audiogenic seizures in the genetically epilepsy-prone rat. I. Afferent seizure initiation pathway. *Experimental Neurology*. 99 (3): 678-686.

Faingold CL, Marcinczyk MJ, Caseeber DJ, Randall ME, Arneric SP, Browning RA. (1994). GABA in the inferior colliculus plays a critical role in control of audiogenic seizures. Brain Research. (640): 40-47.

Faingold C, Casebeer D. (1999). Modulation of the audiogenic seizure network by noradrenergic and glutaminergic receptors of the deep layers of superior colliculus. *Brain Research*. 821 (2): 392-9.

Faingold CL. (1999). Neuronal Networks in the genetically epilepsy-prone rat. *Adv Neurol*. (79): 311-21.

Faingold CL, Randall ME. (1999). Neurons in the deep layers of superior colliculus play a critical role in the neuronal network for audiogenic seizures: mechanisms for production of wild running behavior. *Brain Research*. (815): 250-258.

Faingold CL. (2002). Role of abnormalities in the inferior colliculus pathophssiology-audiogenic seizures. *Hearing Research.* (168): 223-237.

Feigenbaum JJ, Bergmann F, Richmound SA. Nonpsychotropic cannabinoid acts as a functional NMDA receptor blocker. Proc. Natl Acad Sci USA 1989; 86: 9584-9589.

Feighner SD, Howard AD, Prendergast K, Palyha OC ve ark. (1998). Structural requirements for the activation of the human growth hormone secretagogue receptor by peptide and nonpeptide secretagogues. *Mol Endocrinol.* 12(1): 137-145.

Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J ve ark. (1995). Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol.* 48: 443-450.

Ferguson JH, Jasper HH. (1971). Laminar DC studies of acetylcholine-activated epileptiform discharge in cerebral cortex. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 30: 377-390.

Ferri R, Cosentino F, Elia M, Musumeci SA, Marinig R, Bergonzi P. (2001). Relationship between delta, sigma, beta and gamma EEG bands at REM sleep onset and REM sleep end. *Clinical Neurophysiology*. 112: 2046-2052.

Feng H, Faingold CL. (2002). Repeated generalized audiogenic seizures induce plastic changes on acoustically evoked neuronal firing in the amygdala. *Brain Research,* 932: 61-69.

Fisher R, M Saul. (2010). *Overview of epilepsy*. Comprehensive Epilepsy Center**,** Stanford Neurology.

Fisher RS, Prince DA. (1977). Spike-wave rhythms in cat cortex induced by parenteral penicillin. I. Electroencephalographic features. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 42: 608-624.

Fisher RS. (1989). Animal models of the epilepsies. *Brain Res Brain Res Rev*. 14: 245-278.

Franke TF, Kaplan D, Cantley LC. (1997). PI3K: downstream AKTion blocks apoptosis. *Cell*. 88(4): 435-437

Freed WJ. (1985). Selective inhibition of homocysteine-induced seizures by glutamic acid diethyl ester and other glutamate esters. *Epilepsia.* 26: 30-36.

Fuller JL, Sjursen FH. (1967). Audiogenic seizures in eleven mouse strains. *J. Hered*. 58, 135-140.

Gale SM, Castracane D, Mantzoros CS. (2003). Ghrelin and the regulation of energy homeostasis. *Clinical Laboratory İnternational*. 27: 12-14.

Gallitto G, Musolino R, Bonanzinga M, De Domenico P, Distefano G, Serra S, Di Perri R. (1986). Interictal EEG pattern in rabbit penicillin epilepsy. *Ital J Neurol Sci.* 7(4): 413-20.

Ganong WF. (2002). Tıbbi Fizyoloji. 20. Basım, Çev. *Türk Fizyolojik Bilimler Derneği*. Nobel Tıp Kitabevleri.

Garcia-Cairasco N, Terra VC, Doretto MC. (1993). Midbrain substrates of audiogenic seizures in rats. *Behavioral Brain Research.* 58 (1-2),: 57-67.

Garcia-Cairasco N, Wakamatsu H, Oliveira JA, Gomes EL, Del Bel EA, Mello LE. (1996). Neuroethological and morphological (Neo-Timm staining) correlates of limbic recruitment during the development of audiogenic kindling in seizure susceptible Wistar rats. *Epilepsy Research*. 26: 77-192.

Garcia-Cairasco N, Oliıveira JAC, Wakamatsu H, Bueno STB, Guimaraes FS. (1998). Reduced exploratory activity of audiogenic seizures susceptible wistwr rats. *Physiology & Behavior.* 64: 671-674.

Garcia-Cairasco N. (2002). A critical review on the participation of inferior colliculus in acoustic-motor and acoustic-limbic networks involved in the expression of acute and kindled audiogenic seizures. *Hearing Research*. 168: 208-222.

Garcia-Cairasco N, Rossetti F, Oliveira JAC, Furtado MA. (2004). Neuroethological study of status epilepticus induced by systemic pilocarpine in Wistar audiogenic rats (WAR strain). *Epilepsy Behavior.* 5: 455-463.

García MC, López M, Alvarez CV, Casanueva F, Tena-Sempere M, Diéguez C. (2007). Role of ghrelin in reproduction. *Reproduction.* 133(3): 531-540.

Gardineer N. (1996). Epilepsy Journal of the Turkish Epilepsy Society. *Genetics of Epilepsy.* 2(3): 23-31.

Gebremedhin D, Lange AR, Campbell WB, Hillard CJ, Harder DR. (1999). Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca2+ channel current. *Am J Physiol*. 276: 2085-2093.

Gitelman DR, Parrish TB, Friston KJ, Mesulam M.M. (2002). Functional Anatomy of Visual Search: Regional Segregations within the Frontal Eye Fields and Effective Connectivity of the Superior Colliculus. *NeuroImage.* 15, 970- 982.

Glass M, Faull RM, Dragunow M. (1997). Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatom- ical and quantitative autoradiographic study on the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience.* 77, 299-318.

Gloor P, Fariello RG. (1988). Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ from those of focal epilepsy. *Trends Neurosci.* 11: 63-68.

Goldman L, Bennet JC. (2000). *The textbook of Medicine*. 21.Edition. W.B. Saunders Company. Philadelphia.

Goparaju SK, Ueda N, Yamaguchi H, Yamamoto S. (1998). Anandamide amidohydrolase reacting with 2-arachidonoylglycerol, another cannabinoid receptor ligand. FEBS letters. 422(1): 69-73.

Gordon E, Devinsky O. (2001). Alcohol and marijuana: effects on epilepsy and use by patients with epilepsy. *Epilepsia*. 42: 1266-1272.

Gökçe F. (1999). Beyinde çinkonun sebep olduğu hücre ölümüne nitrik oksit sentaz inhibitörü aminoguanidinin etkisi. *Uzmanlık tezi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Samsun.

Grantyn AA, Moschovakis AK. (2004). Structure-Functionö in the Superior Colliculus of Higher Mammals. *CRC Press LLC.*

Grays anatomy. (2005). The Anatomical Basis of Clanical Practise. Susan Stanring. 40th edition.

Greco R, Latini G, Chiarelli F, Iannetti P, Verrotti A. (2005). Leptin, ghrelin, and adiponectin in epileptic patients treated with valproic acid. *Neurology*. 65(11): 1808-1809

Greger R, Windhorst U. (1996). Comprehensive Human Physiology from cellular mechanisms to integration. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. Vol.1, 41,729-839.

Guindon J, Beaulieu P. (2006). Antihyperalgesic effects of local injections of anandamide, ibuprofen, rofecoxib and their combinations in a model of neuropathic pain. Neuropharmacol 50(7): 814-823.

Guindon J, De Lean A, Beaulieu P. (2006). Local interactions between anandamide, an endocannabinoid, and ibuprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in acute and inflammatory pain. *Pain*. 121(1-2): 85-93.

Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boscia F, Freund TF. (2004). Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci.* 20(2): 441-458.

Gundersen HJG. (1986). Stereology of arbitrary particles. *J Microsc*. 143: 3-45.

Gundersen HJG, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, West MJ. (1988). The new stereological tools: Disector, fractionator, nucleator, and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS.* 96: 857-881.

Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, Sorensen FB, Vesterby A, West MJ. (1988). Some new, simple, and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS.* 96: 379-394.

Guyton AC. (2001). *Textbook of Medical Physiology.* 10th Ed. Saunders Comp. London.

Guyton AC, Hall JE. (2007). *Textbook of medical physiology.* 11th edition 761-768.

Gültekin, H., Sahin, S., Budak, N. (2004). Beslenme davranışı: Farmakolojik hedef moleküller. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 13(1): 77-87.

Hájos N, Freund TF. (2002). Distinct cannabinoid sensitive receptors regulate hippocampal excitation and inhibition. *Chem Phys Lipids.* 121: 73-82.

Haller J, Bakos N, Szirmay M, Ledent C, Freund TF. (2002). The effects of genetic and pharmacological blockade of the CB1 cannabinoid receptor on anxiety. *Eur J Neurosci.* 16(7): 1395-1398.

Handforth A, DeGiorgio CM, Schachter SC, Uthman BM ve ark. (1998). Vagus nerve stimulation therapy for partial onset seizures. A randomized active-control trial. *Neurology,* 51(1): 48-55.

Hanna GR, Stalmaster RM. (1973). Cortical epileptic lesions produced by freezing. *Neurology.* 23: 918-925.

Harris GL, Harris AB, Wick C. (1979). Penicilin effects on cortex synaptic vesicle uptake of horseradish peroxidase. *Brain Res*. 161, 361-366.

Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K. (2001). Protective effects of cannabinoid receptors ligands analogous to anandamide against cocaine toxicity. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi* 36: 596-608.

Heinemann U, Lux HD, Gutnick MJ. (1977). Extracellular free calcium and potassium during paroxysmal activity in the cerebral cortex of the cat. *Expl Brain Res.* 27: 237-243

Heinemann U, Konnerth A, Pumain R, Wadman WJ. (1986). Extracellular calcium and potassium concentration changes in chronic epileptic brain tissue. *Adv Neurol.* 44: 641-661

Hendy GN, Bevan S, Mattei MG, Mouland AJ. (1995). Chromogranin A. *Clinical and Investigative Medicine* 18(1): 47-65.

Henshall, DC., Araki, T., Schindler, CK., Lan, JQ., Tiekoter, KL., Taki, W. & Simon, RP. (2002). Activation of Bcl-2-associated death protein and counter-response of Akt within cell populations during seizure-induced neuronal death. *The Journal of Neuroscience*. 22(19): 8458-8465.

Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Melvin MR, DeCosta BR, Rice KC. (1990) Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the national academy of sciences.* 87, 1932-1936.

Herkenham M, Lynn, AB, de Costa BR, Richfield EK. (1991). Neuronal localization of cannabinoid receptors in basal ganglia of the rat. *Brain Res.* 547, 267-274.

Hiroaki Misonou. (2010). Homeostatic Regulation of Neuronal Excitability by K^+ Channels in Normal and Diseased Brains. *The Neuroscientist*. 16 (1): 51-64

Hironaka N, Niki H. (2000). Effects of N-methyl-D-aspartate receptor subunit antagonists on regulation of susceptibility to audiogenic seizures in rats. *Neuroscience Letters*. 288, 139-142.

Hohmann AG, Tsou K, Walker JM. (1998). Cannabinoid modulation of wide dynamic range neurons in the lumbar dorsal horn of the rat by spinally administered WIN55,212-2. *Neurosci Lett.* 257(3): 119-122.

Hohmann AG, Herkenham M. Cannabinoid receptors undergo axonal flow in sensory nerves. Neurosci 1999;92(4):1171-1175.

Hokfelt T, Bartfai T, Bloom F. (2003). Neuropeptides: opportunities for drug discovery. *Lancet Neurol.* 2: 463-472.

Hollister LE. (1983). Health aspects of cannabis. *Pharmacol rev.* 38: 1-6

Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP ve ark. (1996). A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science.* 273(5277): 974-977.

Huber A, Güttinger M, Möhler H, Boison D. (2002). Seizure suppresion by adenosine A2A receptor activation in a rat model of audiogenic brainstem epilepsy. *Neuroscience Letters.* 329, 289-292.

Huffman JW, Padgett LW. (2005). Recent developments in the medicinal chemistry of cannabinomimetic indoles, pyrroles and indenes. *Curr Med Chem.* 12: 1395-1411.

Hunter J, Jasper HH. (1949). Effects of thalamic stimulation in unanaesthetised animals; the arrest reaction and petit mal-like seizures, activation patterns and generalized convulsions. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1: 305-324.

ILAE. (1981). Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. *Epilepsia.* 22, 489-501

Ishida Y, Nakahara D, Hashiguchi H, Nakamura M, Ebihara K, Takeda R, Nishimori T, Niki H. (2002). Fos exspression in GABAergic cells and cells immunopositive for NMDA receptors in the inferior and superior colliculi following audiogenic seizures in rats. *Synapse*. 46 (2): 100-7.

Jerry J, Collins G, Streem D. (2012). Synthetic legal intoxicating drugs: The emerging 'incense' and 'bath salt' phenomenon. Cleve Clin J Med 79: 258-264.

Jiang ZD, Moore DR, King AJ. (1997). Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the ferret. *Brain Research.* 755, 279-292.

Jiang M, Lee CL, Smith KL, Swann JW. (1998). Spine Loss and Other Persistent Alterations of Hippocampal Pyramidal Cell Dendrites in a Model of Early-Onset Epilepsy. *The Journal of Neuroscience.* 18(20): 8356-8368.

Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. (1998). *Basic Histology*, eighth edition, Copyright, Barış kitabevi/Appleton & Lange.

Kai N, Niki H, (2002). Altered tone-induced Fos expression in the Mouse inferior colliculus after early exposure to intense noise. *Neuroscience Reserarch*. 44, 305-313.

Kanaseki T, Sprague JM. (1974). Anotomical organization of pretectal nuclei and tektal laminae in the cat. *J Comp Neuro.* 158, 319-338.

Kandel ER, Jessel TM. (2000). *Principles of neural science.* New york: Mc Graw- Hill companies, Inc.

Karler R, Turkanis SA. (1981). The cannabinoids as potential antiepileptics. *J. Clin. Pharmacol.* 21: 437-444

Kellinghaus C, Loddenkemper T, Najm IM, Wyllie E, Lineweaver T, Nair DR ve ark. (2004). Specific epileptic syndromes are rare even in tertiary epilepsy center: a patient-oriented approach to epilepsy classification. *Epilepsia.* 45: 268-75.

King AJ. (1996). The superior colliculus. *Current Biology*. 14: 9.

Kirkham T, Williams C. (2001). Endogenous cannabinoids and appetite. *Nutr. Res. Rev*. 14, 65-86.

Klitgaard H, Matagne A, Lamberty Y. (2002). Use of epileptic animals for adverse effect testing. *Epilepsy Research.* 50(1-2): 55-65

Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. (1999). Ghrelin is a growth hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 402: 656-60

Kojima M, Kangawa K. (2005). Ghrelin: Structure and function. *Physiol rev.* 85: 495-522

Kola B, Hubina E, Tucci SA, Kirkham TC, Garcia EA, et al. (2005). Cannabinoids and ghrelin have both central and peripheral metabolic and cardiac effects via AMP activated protein kinase. *J Biol Chem.* 280: 25196-25201.

Kola B, Farkas I, Christ-Crain M, Wittmann G, Lolli F ve ark. (2008). The Orexigenic Effect of Ghrelin Is Mediated through Central Activation of the Endogenous Cannabinoid System. *Plos One*. 3(3): 1797.

Kopeloff LM. (1960). Experimental epilepsy in the mouse. *Proc Soc Exp Biol Med.* 104: 500-504.

Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossmann AB, Ghrelin-a hormone with multiple functions. (2004). *Front Neuroendocrinol*. 25: 27-68

Kozan R, Ayyildiz M, Yildirim M and Agar E. (2006). The effects of ethanol intake and withdrawal on penicillin-induced epileptiform activity in rats**.** *Brain Research Bulletin.* 71 (1-3): 111-115

Kozan R, Sefil F, Bagirici F. (2008). Anticonvulsant effect of carnosine on penicillin induced epileptiform activity in rats. *Brain Res.* 1239: 249-255.

Kozan R, Ayyildiz M, Agar E. (2009). The effects of intracerebroventricular AM-251, a CB1-receptor antagonist, and ACEA, a CB1-receptor agonist, on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Epilepsia*. 50(7): 1760–1767.

Kulesza RJ, Vinuela A, Saldana E, Berrebi AS. (2002). Unbiased stereological estimates of neuron number in subcortical auditory nuclei of the rat. *Hearing Research.* 168, 12-24.

Kunos G, Osei-Hyiaman D, Liu J, Godlewski G, Batkai S. (2008). Endocannabinoids and the control of energy homeostasis. *J Biol Chem.* 283(48): 33021-33025.

Kuster JE, Stevenson JI, Ward SJ, D'Ambra TE, Haycock DA. (1993). Aminoalkylindole binding in rat cerebellum: selective displacement by natural and synthetic cannabinoids. *J Pharmacol Exp Ther.* 264: 1352-1363.

Kuzniecky R. (1997). SPECT in epilepsy. *Epilepsia.* 38(7): 1-2.

Kyrou I ve ark. (2006). The endocannabinoid system as a target for the treatment of visceral obesity and metabolic syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1083: 270-305.

Laird HE. (1989). The genetically epilepsy-prone rat. A valuable model for the study of the epilepsies. *Mol Chem Neuropathol.* 11: 45-59.

Lang W, Qin C, Lin S, Khanolkar AD, Goutopoulos A, Fan P, Abouzid K, Meng Z, Biegel D, Makriyannis A. (1999). Substrate specificity and stereoselectivity of rat brain microsomal anandamide amidohydrolase. *J Med Chem.* 42(5): 896-902.

Lee H, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley GHJ. (2002). Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology.* 143(1):185-190.

Lee J, Lim E, Kim Y, Li E, Park S. (2010). Ghrelin attenuates kainic acid-induced neuronal cell death in mouse hippocampus. *Journal of Endocrinology*. 205(3): 263-270.

Li J, Daughters RS, Bullis C, Bengiamin R, Stucky MW, Brennan J, Simone DA. (1999). The cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 mesylate blocks the development of hyperalgesia produced by capsaicin in rats. *Pain.* 81(1-2): 25-33.

Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L, Laezza C, Portella G, Bifulco M, Di Marzo V. (2006). Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther*. 318(3): 1375-1387.

Linden R, Renteria AS. (1988). Afferent control of neuron numbers in the developing brain. *Developmental Brain Research.* 44 (2): 291-295.

Lockort JS, Ward AAJ. (1980). Epilepsy: A window to brain mechanisms. *Rawen Press*, New York.

Löscher W. (2002). Animal models of epilepsy for the development of antiepileptogenic and disease-modifying drugs. A comparision of the pharmacology of kinling and post-status eepilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Research.* 50, 105-123.

Lu B, Coffey P, Lund R. (2004). Increased c-fos-like immunoreactivity in the superior colliculus and lateral geniculate nucleus of the rd mouse, *Brain Research.* 1025, 220-225.

Lu S, Guan J, Wang Q, Uehara K, Yamada S, Goto N, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Kangawa K, Shioda S. (2002). Immunocytochemical observation of ghrelin containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci Lett.* 321(3): 157-160.

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.

Maccarrone M, van der Stelt M, Rossi A, Veldink GA, Vliegenthart JF, Agro AF. (1998). Anandamide hydrolysis by human cells in culture and brain. *J Biol Chem.* 273(48): 32332-32339.

MacDonald RL, Barker JL. (1979). Anticonvulsant and anesthetic barbiturates: different postsynaptic actions in cultured mammalian neurons. *Neurology.* (4): 432-47.

Macdonalds RL. (1997). *Cellular effects of antiepileptic drugs, In: Epilepsy*. Engel Jr, Pedley TA. 1383-1391. Lippincott-Raven, New York.

Mager U, Kolehmainen M, de Mello VDF, Schwab U, Laaksonen DE, Rauramaa R, Gylling H, Atalay M, Pulkkinen L, Uusitupa M. (2008). Expression of ghrelin gene in peripheral blood mononuclear cells and plasma ghrelin concentrations in patients with metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol.* 158(4): 499-510.

Mailleux P, Vanderhaeghen JJ. (1992). Distribution of the neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a com- parative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience*. 48, 655-688.

Maldonado R, Valverde O, Berrendero F. (2006). Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends in neurosciences.* 29(4): 225-232.

Mana S, Chevalier G. (2001). Honeycomb-Like structure of the intermediate layers of the rat superior colliculus: afferent and efferent connections. *Neuroscience,* 103 (3), 673-693.

Mapping of cerebral blood flow changes during audiogenic seizures in Wistar rats: effect of kindling. (2006). *J Cereb blood Flow Metab.* 15(2): 259-69.

Marangoz C. (1978). Beyin korteksinde bulunan piramidal nöron tipleri ve bunların deşarj şekli ile elektrokortikogram arasındaki ilişki. *Doktora tezi.* Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

Marangoz C. (1997). Deneysel Epilepsi Modelleri. *OMÜ Tıp Dergisi*. 14 (3): 1997.

Maresova D, and Mares P. (1985). Influence of valproate and carbamazepine on symmetrical cortical penicillin foci in the rat. *Physiol Bohemoslov*. 34(6): 562-6.

Margolis FL, Carnosine. (1978). *Trends Neurosci*. 1: 42-44.

Martin BR, Compton DR, Thomas BF, Preskott WR, Little PJ. (1991). Behavioral, biochemical, and molecular modeling evaluations of cannabinoid analogs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 40: 471-478.

Martin DM, Skidmore JM, Philips ST, Vieira C, Gage PJ, Condie BG, Raphael Y, Martinez S, Camper SA. (2004). $PITX_2$ is reguired for normal development of neurons in the mouse subthalamic nucleus and midbrain. *Developmental Biology.* 267: 93-108.

Martin JH. (1991). The collective electrical behavior of cortical neurons: the electroencephalogram and the mechanisms of epilepsy. *Principles of Neural Science.* (3): 777-791.

Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature.* 346(6284): 561-564.

May PJ. (2005). The mammalian superior colliculus: laminar structure and connections. *Brain Research.* 151: 321-378.

Maytal J, Krauss JM, Novak G, Nagelberg J, Patel M. (2000). The role of brain computed tomography in evaluating children with new onset of seizures in the emergency department. *Epilepsia*. 41: 950-954.

McCormick DA, Connors BW, Lighthall JW, Prince DA. (1985). Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *J Neurophysiol.* 54: 782-806.

McGregor IS, Issakidis CN, Prior G. (1996). Aversive effects of the synthetic cannabinoid CP 55,940 in rats. *Pharmacology biochemistry and behavior.* 53(3): 657-664.

McLaughlin PJ**,** Winston KM, Limebeer CL, Parker LA, Makriyannis A, Salamone JD. (2005). The cannabinoid CB1 antagonist AM 251 produces food avoidance and behaviors associated with nausea but does not impair feeding efficiency in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 180: 286–293.

McNamara JO. Emerging insights into genesis of epilepsy. Nature 1999; 399, 15–22.

Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L ve ark. (1995). Identification of an endogenous 2 monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol.* 50: 83-90.

Mechoulam R. (2002). Discovery of endocannabinoids and some random thoughts on their possible roles in neuroprotection and aggression. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 66(2-3): 93-99.

Meldrum B, (1984). GABAergic agents as anticonvulsants in baboons with photosensitive epilepsy. *Neurosci Lett.* 47: 345-349.

Melis M, Pistis M, Perra S, Muntoni AL, Pillolla G, Gessa GL. (2004). Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors. *J Neurosci.* 24(1): 53-62.

Meredith MA, Miller LK, Ramoa AS, Clemo HRH, Behan M. (2001). Organization of the neurons of origin of the descending pathways from the ferret superior colliculus. *Neuroscience Research.* 40, 301-313.

Merrill MA, Clough RW, Jobe PC, Browning RA. (2003). Role of the Superior Colliculus and the Intercollicular Nukleus in the Brainstem Seizure Circuitry of the Genetically Epilepsy-prone Rat. *Epilepsia*. 44(3): 305-314.

Merrill MA, Clough RW, Jobe PC, Browning RA. (2005). Brainstem seizure severty regulates forebrain seizure expression in the audiogenic kindling model. *Epilepsia*. 46(9): 1380-8.

Miao YY, Xia Q, Hou Z, Zheng Y, Pan H, Zhu S. (2007). Ghrelin protects cortical neuron against focal ischemia/reperfusion in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 359(3): 780-795.

Midzyanovskaya IS, Kuznetsova GD, Vinogradova LV, Shatskova AB, Coenen AML, van Luijetelaar G. (2004). Mixed forms of epilepsy in a subpopulation of WAG/Rij rats. *Epilepsy and Behavior.* 5, 655-661.

Millan MH, Meldrum BS. (1986). İnduction of audiogenic seizure susceptibility by focal infusion of excitant amino acid or bicuculline into the inferior colliculus of normal rats. *Experimental Neurology*. 91 (3), 634-639.

Miller MW. (1987). The origin of corticospinal projection neurons in rats. *Exp Brain Res*. 67, 339-351.

Miller JW, Snyder AZ, Coben LA, Prensky AL. (1992). Clinical electroencephalography and related techniques. *Clinical Neurology*. 1: 5. Lippincott, Philadelphia.

Mitchell SE, Nogueiras R, Rance K, Rayner DV, Wood S, Dieguez C, Williams LM. (2006). Circulating hormones and hypothalamic energy balance: regulatory gene expression in the Lou/C and Wistar rats. *J. Endocrinol.* 190 (3): 571-579.

Moraes MFD, Galvis-Alonso OY, Garcia-Cairasco N. (2000). Audiogenic kindling in the wistar rat: a potential model for recruitment of limbic structers. *Epilepsy Research.* 39: 251-259.

Morris GL, Mueller WM. (1999). Long-term treatment with vagus nevre stimulation in patients refractory epilepsy. The Vagus Nevre Stimulation Study Group E01-E05. *Neurology.* 53(8): 1731-1735.

Murao K, Shingu K, Tsushima K, Takahira K ve ark., (2000). The Anticonvulsant Effects of Volatile Anesthetics on Penicillin-Induced Status Epilepticus in Cats. *Anesth Analg,* 90: 142-7

Murphy LL, Muñoz RM, Adrian BA, Villanúa MA. (1998). Function of cannabinoid receptors in the neuroendocrine regulation of hormone secretion. *Neurobiol Dis.* (6): 432-446.

Myllynen P, Pienimaki P, Vahakangas K. (2005). Human placental perfüsion method in the assesment of transplacental passage of antiepileptic drugs. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 207: 489-494.

N'Gouemo P, Faingold CL. (1997). Audioenic kindling increases neuronal responses to acoustic stimuli in neurons of the medial geniculate body of the genetically epilepsy-prone rat. *Brain Research*. 761: 217-224.

N'Gouemo P, Faingold CL. (1998). Periaquaductal gray neurons exhibit increased responsıveness associated with audiogenic seizures ın the genetically epilepsy-prone rat.. *Neuroscience.* 84: 619-625.

Nahas GG. (1975). Marijuana: toxicity and tolerance. *Medical Aspects of Drug Abuse*. Baltimore, MD. Harper & Row: 16-36

Najm I, Ying Z, Babb T, Crino PB, Macdonald R, Mathern GW, Spreafico R. (2004). Mechanisms of epileptogenicty in cortical dsyplasias. *Neurology*. 62 (3): 9-13.

Nakatsuka T, Chen H-X, Roper SN, Gu JG. (2003). Cannabinoid receptor-1 activation suppresses inhibitory synaptic activity in human dentate gyrus. *Neuropharmacology*. 45: 116-121.

Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S (2001). A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature.* 409(6817): 194-198.

Nayak A, Roy RJ, Sharma A. (1994). Time-frequency spectral representation of the EEG as an aid in the detection of depth of anesthesia. *Annals of Biomedical Engineering*. 22: 501-513.

Nehlig A, Vergnes M, Hirsch E, Boyet S, Koziel V, Marescaux C. (1995). *Neuroscience*. 10(3): 767-773.

Nudo RJ, Masterton RB. (1990). Descending pathways to the spinal cord III: Sites of origin of the corticospinal tract. *J Comp Neurol.* 296: 559-583.

Obay BD, Tasdemir E, Tumer C, Bilgin HM, Sermet A. (2007). Antiepileptic effects of ghrelin on pentylenetetrazole-induced seizures in rats. *Peptides*. 28: 1214-1219

Oka E, Ishida S, Ohtsuka Y, Ohtahara S. (1995). Neuroepidemiological study of childhood epilepsy by application of international clssification of epilepsies an epileptic syndromes (ILAE 1989). *Epilepsia.* 36: 658-61.

Okan M. (2004). *Güncel Pediatri*. 2: 116-119

Olea-Herrero N, Vara D, Malagarie-Cazenave S, Díaz-Laviada I. (2009). Inhibition of human tumour prostate PC-3 cell growth by cannabinoids R(+)-methanandamide and JWH-015: Involvement of CB2. *Br J Cancer.* 101: 940-950.

Onadera K, Tuomisto L, Tacke U, Airaksinen M. (1992). Strain differences in regional brain histamine levels between genetically epilepsy-prone and resistant rats. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 14, 13-16.

UNODC. (2013). *Synthetic cannabinoids in herbal products*. United Nations Office on Drugs and Crime.

Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Batkai S, Harvey-White J, Mackie K, Offertaler L, Wang L, Kunos G. (2005). Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest*. 115(5): 1298-1305.

Oun A, Haldre S, Magi M. (2003). Incidence of adult epilepsy in Estonia. *Acta Neurol Scand.* 108: 245-251.

Palas SL, Gilmour SM, Finlay BL. (1988). Control of cell number in the developing neocortex. I. Effects of early tectal ablation. *Developmental Brain Research.* 43 (1), 1-11.

Palmini A. (1997). Magnetic resonance imaging in developmental lesions. *Epilepsia.* 38(7): 1.

Para J, Augustijn PB, Geerts Y, van Emde Boas W. (2001). Classification of epileptic seizures: a comparison of two systems. *Epilepsia.* 42: 476-82.

Park VM, Kim MJ, Jeon CJ. (2004). Ionotropic glutamate receptor GluR2/3-immunoreactive neurons in the cat, rabbit, and hamster superficial superior colliculus. *Neuroscience Research.* 49: 139-155.

Paula HMG, Hoshino K. (2002). Correlation between the fighting rates of REM sleep-deprived rats and susceptibility to the 'wild running' of audiogenic seizures. *Brain Research.* 926: 80-85.

Paxinos G, Watson C. (1991). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Horcourt Brace Jovanovich, Publishers.

Pelt JV, Schierwagen A, Uylings HBM. (2001). Modeling dendritic morphological complexity of deep layer cat superior colliculus neurons. *Neurocomputıng.* 38(40): 403-408.

Pertwee RG. (1993). The evidence for the existence of cannabinoid receptors. *Gen. Pharmacol.* 24: 811-824.

Philips DE, Cummings JD, Wall KA. (2000). Prenatal alcohol exposure decreases the number of nitric oxide synthase positive neurons in rat superior colliculus and periaquaeductal gray. *Alcohol.* 22: 75-84.

Pillai J, Sperling MR. (2006). Interictal EEG and the diagnosis of epilepsy. *Epilepsia.* 47(1): 14-22

Piredda S, Gale K. (1986). Role of excitatory amino acid transmission in the genesis of seizures elicited from the deep prepiriform cortex. *Brain Res.* 377: 205-210.

Pirker S, Schwarzer C, Wieselthaler A, Sieghart W, Sperk G. (2000). GABA a Receptors: immunocytochemical distribution of 13 subunits in the adult rat brain. *Neuroscience.* 101 (4), 815-850.

Plutzky J, Woods SC. (2006). Define Understand Ackowledge Highligt Review. The Endocannabinoid System and the Regulation of Energy Metabolism. Eds. *Diabetes Care*. 9.

Prince D, Farrell D. (1969). "Centrencephalic" spike-wave discharges following parenteral penicillin injection in the rat. *Neurology.* 19: 309-310.

Prodam F, Bellone S, Casara G, De Rienzo F, Grassino EC, Bonsignori I, Demarchi I, Rapa A, Radetti G, Bona G. (2009). Ghrelin levels are reduced in prepubertal epileptic children under treatment with carbamazepine or valproic acid. *Epilepsia.* 51(2): 1-4

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D ve ark. (2001). *Neuroscience.* 2nd edition. Sunderland, Sinauer Associates.

Qamri Z, Preet A, Nasser MW, Bass CE, Leone G, Barsky SH, Ganju RK. (2009). Synthetic cannabinoid receptor agonists inhibit tumor growth and metastasis of breast cancer. *Mol Cancer Ther.* 8: 3117-3129.

Qu J, Zhou X, Zhu H, Cheng G, Ashwell KWS, Lu F. (2005). Development of the human superior colliculus and the retinocollicular projection. *Experimental Eye Research.* 82(2): 300-10.

Raisinghani M, Faingold CL. (2003). Identification of the requisite brain sites in the neuronal network subserving generalized clonic audiogenic seizures. *Brain Research.* 967: 113-122.

Ramer R, Merkord J, Rohde H, Hinz B. (2010). Cannabidiol inhibits cancer cell invasion via upregulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1. *Biochem Pharmacol*. 79(7): 955-966.

Rapisarda C, Simonelli G, Monti S. (1985). Cells of origin and topographic organization of corticospinal neurons in the guinea pig by the retrograde HRP method. *Brain Res*. 334: 85-96.

Reid KH, Young C, Schurr A, Tseng M, Payne RS, Keleen P, Miller J, Iyer V. (1996). Audiogenic seizures following global ischemia induced by chest compression in Long-Evans rats. *Epilepsy Research*. 23: 195-209.

Remler MP, Marcussen WH. (1986). Systemic focal epileptogenesis. *Epilepsia.* 27: 35-42.

Ribak CE, Lauterborn JC, Navetta MS, Gall CM. (1993). The inferior colliculus of GEPRs contains greater numbers of cells that express glutamate decarboxylase (GAD67) mRNA. *Epilepsy Research.* 14 (2): 105-113.

Ribak CE, Khurana V, Lien NT. (1994). The effect of midbrain collicular knife cuts on audiogenic seizure severty in the genetically epilepsy-prone rat. *J Hirnforsch*. 35(2): 303-11.

Ribak CE, Manio AL, Navetta MS, Gall CM. (1997). In situ hybridization for c-fos mRNA reveals the involvement of the superior colliculus in the propagation of seizure activity in genetically epilepsy-prone rats. *Epilepsy Research*. 26(3): 397-406.

Rieder SA, Chauhan A, Singh U, Nagarkatti M, Nagarkatti P. (2010). Cannabinoid induced apoptosis in immune cells as a pathway to immunosuppression. *Immunobiology.* 215: 598-605

Rindi G, Necchi V, Savio A, Torsello A, Zoli M, Locatelli V, Raimondo F, Cocchi D, Solcia E. (2002). Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochem Cell Biol*. 117(6): 511-519.

Robbe D, Kopf M, Remaury A, Bockaert J, Manzoni OJ. Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus
accumbens. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99(12):8384-8388.

Roldan M, Reinoso-Suarez F, Tortelly A. (1983). Parabigeminal projections to the superior colliculus in the cat. *Brain Research.* 280(1): 1-13.

Roser M, Corballis MC. (2002). Interhemispheric neural summation in the split brain with symmetrical and asymmetrical displays. *Neuropsychologia.* 40: 1300-1312.

Ross KC, Coleman JR. (2000). Developmental and genetic audiogenic seizure models: behavior and biological substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Rewiews*. 24: 639-653.

Ross KC, Coleman JR, Jones L. S. (2001). Anti-epileptiform effects of audiogenic seizure priming on in vitro kindling in rat hippocampus. *Neuroscience Letters.* 299: 234-238.

Ross KC, Waldman BC, Conejero-Goldberg C, Freed W. and Coleman JR. (2002). Transplation of M213-20 Cells with enhanced GAD67 Expression into the Inferior colliculus Alters Audıogenic Seizures. *Experimental Neurology.* 177: 338-340.

Ross RA. (2007). Allosterism and cannabinoid CB1 receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 30: 156-63.

Ruch TC, Patton HD. (1965). *Physıology and Biophysics*, W.B Saunders Company, Philadelphia and London. 18: 384.

Ryu JR, Shin CY, Park KH, Jeon GS, Kim HC, Kim WK, Dailey JW, Jobe PC, Cho SS, and Ko KH. (2000). Effect of repeated seizure experiences on tyrosine hydroxylase immunoreactivities in the brain of genetically epilepsy-prone rats. *Brain Research*. 53(6): 777-782.

Sahibzada N, Yamasaki D, Rhoades RW. (1987). The spinal and commissural projections from the superior colliculus in rat and hamsters arise from distinct neuronal populations. *Brain Research.* 415(2): 242-256.

Sakamoto T, Niki H. (2001). Acoustic priming lowers the threshold for electrically induced seizures in mice inferior colliculus, but not in the deep layers of superior colliculus.*Brain Research*. 898: 358-363.

Samoriski GM, Piekut DT, Applegate CD. (1997). Differential Spatial Patterns of Fos Induction Following Generalized Clonic and Generalized Tonic Seizures. *Experimental Neurology.* 143: 255-268.

Sarkisova KY, Kulikov MA. (2005). Behavioral characteristics of WAG/Rij rats susceptible and non-susceptible to audiogenic seizures. *Behavioural brain Research*. 166(1): 9-18.

Sarro G, Rizzo M, Sinopoll VA, Gitto R, Sarro A, Zappala M, Chimirri A. (1998). Relationship Between Anticonvulsant Activity and Plasma Level of Some 2,3-Benzodiazepines in Genetically Epilepsy-Prone Rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 61 (3): 215-220.

Scarlatelli-Lima AV, Magalhaes LHM, Doretto MC, Moraes MFD. (2003). Assesment of the seizure susceptibility of Wistar Audiogenic rat to electroshock, pentyleneterazole and pilocarpine. *Brain Research.* 960: 184-189

Schmidt RF. (1989). Integrative functions of the central nervous system. *Humanphysiology.* 2nd Ed. 124-165. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.

Schwartzkroin PA, Turner DA, Knowles WD, Wyler AR. (1983). Studies of human and monkey "epileptic" neocortex in the *in vitro* slice preparation. *Ann Neurol*. 13: 249-257.

Semyanov A, Morenkov E, Godukhin O. (1997). The decreased susceptibility to the development of in vitro kindling-lıke state in hippocampal CA1 slices of rats sensitive to audiogenic seizures. *Neuroscıence Letters.* 230: 187-190.

Senanayake N. (1993). Classification of epileptic seizures: a hospital-based study of 1250 patients in a developing country. *Epilepsia.* 34: 812-8.

Seyfried TN, Glaser GH. (1985). A review of mouse mutants as genetic models of epilepsy. *Epilepsia.* 26: 143-150.

Shan W, Wu X, Zhang G, Zhang Y, Liang Y, Wang Z. (1997). Effects of antisense oligodeoxynucleotides to NR1 on supression of seizures and protection of cortical neurons from excitotoxicity in vivo and in vitro. *Chin. Med. J. (Engl. Ed.).* 110: 579-583.

Shipp S. (2004). The brain circuitry of attention. *TRENDS in Cognitive Sciences.* (8): 5.

Shin C, McNamara JO. (1994). Mechanism of epilepsy. *Annu Rev Med.* 45: 379-389.

Shorvon, SD. (1994). Status epilepticus: Clinical features and treatment in children and adults, *Cambridge University Press.* Cambridge in: Hopkins A., Shorvon S. and Cascino G., Epilepsy, Chapman and Hall, London. 331-350

Shorvon SD, (2005). *Handbook Of Epilepsy Treatment*: Forms, Causes and Therapy in Children and Adults. Blackwell Publishing, 2nd ed.

Simler S, Vergnes M, Marescaus C. (1999). Spatial and temporal relationships between C-Fos expression and kindling of audiogenic seizures Wistar rats. *Exp. Neurol*. (157): 106-119.

Skerritt JH, Johnston GA. (1983). Interactions of some anaesthetic, convulsant, and anticonvulsant drugs at GABA-benzodiazepine receptor-ionophore complexes in rat brain synaptosomal membranes. *Neurochem Res.* (10): 1351-62.

Smith SA, and Bedi KS. (1998). Unilateral enucleation of adults rats does not effect the synapse-to-neuron ratio within the stratum griseum superficiale of the superior colliculu. *Vision Research,* 38(20): 3041-3050.

Snead OC, Bearden LJ. (1980). Anticonvulsants specific for petit mal antagonize epileptogenic effect of leucine enkephalin. *Science.* 210: 1031-1033.

Snead OC. (1988). Gamma-hydroxybutyrate model of generalized absence seizures: further characterization and comparison with other absence models. *Epilepsia*. 29: 361-368.

Solinas M, Tanda G, Justinova Z ve ark. (2007). The endogenous cannabinoid anandamide produces Δ-9-tetrahydrocannabinol-like discriminative and neurochemical effects that are enhanced by inhibition of fatty acid amide hydrolase but not by inhibition of anandamide transport. J *Pharmacol Exp Ther.* 321: 370-80.

Stannojlovic O, Zivanovic D, and Susic V. (2000). N-Methyle-D-Aspartic Acid and Metaphit-Induced Audiogenic Seizures ın Rat Model of Seizures. *Pharmacological Research.* 42(3): 247-253.

Sterio DC. (1984). The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector. *J Microsc.* 134: 127-136.

Stula TP. (2004). Mechanisms of epilepsy progression: current theories and perspectives from neuroplasticity in adulthood and development. *Epilepsy Research.* 60: 161-171.

Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A ve ark. (1995). 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 215: 89-97.

Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M. (2006). Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res.* 45(5): 405-446.

Sullivan HC, Osorio I. (1991). Aggravation of penicillin-induced epilepsy in rats with locus ceruleus lesions. *Epilepsia.* 32: 591-6.

Suzuki J. (1976). Paroxysmal discharges in the electroencephalogram of the E1 mouse. *Experientia.* 32: 336-338.

Tamminga CA, Neophytides A, Chase TN, Frohman LA. (1978). Stimulation of prolactin and growth hormone secretion by muscimol, a gamma-aminobutyric acid agonist. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 47(6): 1348-1351.

Tan U, Senyuva F, Marangoz C. (1978). Electrocorticographic effects of topically applied scopolamine. *Epilepsia.* 19: 223-232.

Tang SQ, Jiang QY, Zhang YL, Zhu XT, Shu G, Gao P, Feng DY, Wang XQ, Dong XY. (2008). Obestatin: its physicochemical characteristics and physiological functions. *Peptides.* 29(4): 639-645.

Tardif E, ve Clarke S. (2002). Commissural connections of human superior colliculus. *Neuroscience.* 111(2): 363-372.

Terzioğlu M, Çakar L. (1999). Fizyoloji Ders Kitabı, 3.basım, cilt1, syf.365. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. Terzioğlu, M., Çakar, L. (989). *Fizyoloji Ders Kitabı*, 3.basım, cilt1, syf. 365 İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları.

Thompson NM, Gill DAS, Davies R, Loveridge N, Houston PA, Robinson ICAF, Wells T. (2004). Ghrelin and des-octanoyl ghrelin promote adipogenesis directly *in vivo* by a mechanism independent of the type 1a growth hormone secretagogue receptor. *Endocrinology.* 145(1): 234-242.

Thornton C, Bright NJ, Sastre M, Muckett PJ, Carling D. (2011). AMP-activated protein kinase (AMPK) is a tau kinase, activated in response to amyloid β-peptide exposure. *Biochem. J.* 434: 503–512.

Timofeeva OA, Gordon CJ. (2001). Changes in EEG power spectra and behavioral states in rats exposed to acetylcholinesterase inhibitor chlorpyrifos and muscarinic agonist oxotremorine. *Brain Research*. 893: 165-177.

Tizzano M, Sbarbati A. (2006). Hormone fatty acid modifications: Gram negative bacteria and vertebrates demonstrate common structure and function. *Med Hypotheses*. 67: 513-516.

Tolle V, Bassant MH, Zizzari P. (2002). Ultradian rhythmicity of ghrelin secration in relation GH, feeding behaviour and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinology*. 143: 1353-1361.

Traebert M, Riediger T, Whitebread S, Scharrer E, Schmid HA. (2002). Ghrelin acts on leptin-responsive neurones in the rat arcuate nucleus. *J Neuroendocrinol*. 14(7): 580-586.

Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. (2000). Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 407(6806): 908-913.

Tsurudome K, Li X, Matsumoto N. (2005). Intracellular and current source density analyses of somatosensory input to the optic tectum of the frog. *Brain Research*. 1064(1-2): 32-41.

Tucci SA, Rogers EK, Korbonits M, Kirkham TC. (2004). The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexigenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *Br J Pharmacol*. 143: 520-523.

Tung YC, Hewson AK, Dickson SL. (2001). Actions of leptin on growth hormone secretagogue-responsive neurones in the rat hypothalamic arcuate nucleus recorded in vitro. *J Neuroendocrinol*. 13(2): 209-215.

Uchiyama N, Kikura-Hanajiri R, Ogata J, Goda Y. (2010). Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. *Forensic Sci Int*. 198: 31-38.

Uemastu D, Araki N, Greenberg JH ve ark. (1990). Alterations in cytosolic free calcium in the cat cortex during bicucilline-induced epilepsy. *Brain Research Bulletin*. 24: 285

Usunoff G, Atsev E, Tchavdarov D. (1969). On the mechanisms of picrotoxin epileptic seizure (macro- and micro-electrode investigations). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 27: 444.

Valjakka A, Jaakkola M, Vartiainen J, Olkkonen H, Semiokhina A, Fedotova I, Virkkala J, Ylikoski J, Tuomisto L. (2000). The relationship between audiogenic seizure (AGS) susceptibility and forebrain tone-responsiveness in genetically AGS-prone Wistar rats. *Physıology δ Behavior*. 70, 297-309.

Vallejo C, Gomez G, Chacatas C. Ve ark. (2004). Enriched protein diet-modified ghrelin expression and secretion in rats. *Regulatory Peptides*. 121(1-3): 113-119.

Van Cauter E, Knutson KL. (2008). Sleep and the epidemic of obesity in children and adults. *European Journal of Endocrinology*. 159(1): 59-66

Van Cauter E, Spiegel K, Tasali E, Leproult R. (2008). Metabolic consequences of sleep and sleep loss. *Sleep Medicine*. 9(1): 23-28.

Van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. (2004). Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of gherlin. *Endocrine Reviews.* 25(3): 426-657

Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling ER. (2012). A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend.* 120: 238-241.

Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ ve ark. (2005). Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*. 310: 329-332.

Vasconcelos AP, Vergnes M, Boyet S, Marescaux C, Nehlig A. (1997). Forebrain metabolic activation induced by the repetition of audiogenic seizures in Wistar rats. *Brain Research.* 762: 114-120.

Veliskova J, Miller AM, Nunes ML, Brown LL. (2005). Regional neural activity within the substantia nigra during peri-ictal flurothy generalized seizure stages. *Neurobiology of Disease.* 20: 752-759.

Verhagen JV, Engelen L. (2006). The neurocognitive bases of human multimodal food perception: Sensory integration. *Neuroscience and Biobehavıoral Rewiews.* 30: 613-650.

Vicedomini JP, Nadler JV. (1987). A model of status epilepticus based on electrical stimulation of hippocampal afferent pathways. *Exp Neurol.* 96: 681-691.

Walker AE, Johnson HC, Case TJ, Kollros JJ. (1946). Convulsive Effects of Antibiotic Agents on the Cerebral Cortex. *Science*. 103-116.

Walden J, Straub H, Speckmann EJ. (1992). Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. *Acta Neurologica Scandinavica.* 150: 41-46.

Wallace MJ, Wiley JL, Martin BR, DeLorenzo RJ. (2001). Assessment of the role of CB1 receptors in cannabinoid anticonvulsant effects. *Eur J Pharmacol.* 428: 51-57.

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. *Journal of Pharmacology and Experimental Theraphy* 307(1): 129-137.

Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, Mathias S, Schmid DA, Uhr M, Steiger A. (2003). Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism.* 284(2): 407-415

Wenger T, Tóth BE, Martin BR. (1995). Effects of anandamide (endogen cannabinoid) on anterior pituitary hormone secretion in adult ovariectomized rats.*Life Sci.* 56(23-24): 2057-63.

Wiley JL, Ryan WJ, Razdan RK, Martin BR. (1998). Evaluation of cannabimimetic effects of structural analogs of anandamide in rats. *Eur J Pharmacol.* 355: 113-8.

Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. (1995). *Gray's Anotomy*, Thirty-eighth edition, Pearson Professional Limited.

Willmore LJ, Sypert GW, Munson JB. (1978). Recurrent seizures induced by cortical iron injection: a model of posttraumatic epilepsy. *Ann Neurol.* 4: 329-336.

Willoughby JO. (2000). Mechanisms underlying partial (focal, or lesional) epilepsy. *Journal of Clinical Neuroscience.* 7(4): 291-294.

Winer JA, Chernock ML, Larue DT, Cheung SW. (2002). Descending projections to the inferior colliculus from the posterior thalamus and the auditory cortex in rat, cat, and monkey. *Hearıng Research.* 168: 181-195.

Wong RK, Traub RD, Miles R. (1984). Epileptogenic mechanisms as revealed by studies of the hippocampal slice. *Electrophysiology of epilepsy Academic Press*. 253-275.

Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillo WS, Ghatei MA, Bloom SR. (2001). Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 86(12): 5992.

Wyllie E. (2001). *The Treatment of Epilepsy Principles and Practise*, 3rd Edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Xu J, Wang S, Lin Y, Cao L, Wang R, Chi Z. (2009). Ghrelin protects against cell death of hippocampal neurons in pilocarpine-induced seizures in rats. *Neuroscience Letters.* 453(1): 58-61

Yan QS, Dailey JW, Steenbergen JL, Jobe PC. (1998). Anticonvulsant effect of enhancement of noradrenergic transmission in the superior colliculus in genetically epilepsy-prone rats (GEPRs): a microinjection study. *Brain Research.* 780: 199-209.

Yang L, Long C, Faingold CL. (2001). Neurons in the deep layers of superior colliculus are a requisite component of the neuronal networ for seizures during ethanol withdrawal. *Brain Research*. 920: 134-141.

Yechikkov S, Morenkov E, Chulanova T, Godukhin O, Shchipaklna T. (2001). İnvolvement of cAMP- and CA^{+2}/calmodulin dependent neuronal protein phosphorylation in mechanisms underlying genetic predisposition to audiogenic seizures in rats. *Epilepsy Research*. 46: 15-25.

Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ. (2005). Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science.* 310(5750): 996-999.

Zhang Y, Ying B, Shi L, Fan H, Yang D ve ark. (2007). Ghrelin inhibit cell apoptosis in pancreatic beta cell line HIT-T15 via mitogen-activated protein kinase/phosphoinositide3-kinase pathways. *Toxicology.* .237(1-3): 194-202.

Zheng A, Moritani T. (2008). Effect of the combination of ginseng, oriental bezoar and glycyrrhiza on autonomic nervous activity and immune system under mental arithmetic stress. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokjo).* 54(3): 244-249.

Zivanovic D, Susic V, Stanojlovic O. (1997). APH, an N-methyl-Daspartate receptor antagonist, blocks the metaphit-induced audiogenic seizures in rats. *J physiology*. 91: 317-323.

Zivanovic D, Susic V, Stanojlovic O. (1998). The Anticonvulsant Potency of 2-Amino-7-Phosphonoheptanoic Acid and 2-Amino-7-Phosphonovaleric Acid Agaınst Metaphit-Induced Audiogenic Seızures in Rats. *Pharmacological Research*. 38(5): 347-352.

Zivanovic D, Stanojlovic O, Stojanovic J, Susic V. (2004). Induction of audiogenic seizures in imipenem/cilastatin-treatad rats. *Epilepsy & Behavior*. 5(2): 151-8.