



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA
OREKSİNERJİK VE KANABİNOİD CB1 RESEPTÖR
ETKİLEŞİMİ**

Doktora Tezi

Fatma Banu AYÇIK

Danışman
Prof. Dr. Erdal AĞAR

SAMSUN
2023

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI**



**GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA
OREKSİNERJİK VE KANABİNOİD CB1 RESEPTÖR
ETKİLEŞİMİ**

Doktora Tezi

Fatma Banu AYÇIK

Danışman

Prof. Dr. Erdal AĞAR

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1901.19.003 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Fatma Banu AYÇIK tarafından, **Prof. Dr. Erdal AĞAR** danışmanlığında hazırlanan “**GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/RİJ SIÇANLARDA OREKSİNERJİK VE KANABİNOİD CB1 RESEPTÖR ETKİLEŞİMİ**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 9.6.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Niyazi TAŞCI Ordu Üniversitesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Erdal AĞAR Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Mehmet YILDIRIM Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıbbi Fizyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Bahattin AVCI Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

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

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

08/05/ 2023

Fatma Banu AYÇIK

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA OREKSİNERJİK VE KANABİNOİD CB1 RESEPTÖR ETKİLEŞİMİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 09.06.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 14

Tek kaynak oranı : % 5 çıkmıştır.

09/05/ 2023

Prof. Dr. Erdal AĞAR

ÖZET

GENETİK ABSANS EPİLEPSİLİ WAG/Rij SIÇANLARDA OREKSİNERJİK VE KANABİNOİD CB1 RESEPTÖR ETKİLEŞİMİ

Fatma Banu AYÇIK
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Fizyoloji Ana Bilim Dalı
Doktora, Haziran/2023
Danışman: Prof. Dr. Erdal AĞAR

Amaç: Oreksin ve kanabinodlerin epilepsi gibi birçok nörolojik sistemde görev aldığı ve her iki sistemin birbiriyle bağlantılı olduğu bilinmektedir. Sunulan çalışmanın amacı genetik olarak epilepsili WAG/Rij sıçanlarda oreksinerjik ve kanabinoid sisteminin etkilerini ve birbirleriyle ilişkisini araştırmaktır.

Yöntem: Çalışmamızda elektrokortikogram kayıtları almak amacıyla Wistar ve WAG/Rij sıçanlar kullanıldı. Wistar sıçanlar ürethan, WAG/Rij sıçanlar ketamin/ksilazin anestezisi altında stereotaksik cihaza yerleştirildi, tripolar elektrotlar kafatasına sabitlendi. Wistar sıçanlarda penisilinle intrakortikal (i.k.) epileptiform aktivite oluşturduktan sonra 0,6 µg hemopressin, 7,5 µg ACEA, 0,50 µg AM251 uygulanması dışında OX-A'nın 2,4,8 ve 16 µg dozları ile SB334867'nin 1,5,3,6 ve 12 µg dozları intraserebroventriküler (i.s.v.) uygulanarak etkin doz tespit edildi. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt alındıktan sonra madde etkin dozları intraselüler yolla verildi, 180 dk daha kayıta devam edildi. Etkileşim gruplarıda aynı prosedüre tabi tutuldu. Kayıtlar nöbet süresi ile sayısı, spike sayısı ve amplitüd bakımından incelendi.

Bulgu ve Sonuçlar: 8 µg OX-A ve 12 µg SB334867 WAG/Rij sıçanlarda amplitüd hariç, nöbet süresi, sayısı ve spike sayısını anlamlı olarak azalttı ($p<0,05$). Hemopressin ve ACEA absans nöbet aktivitesini azaltırken AM251 artırdı. Etkileşim grup verilerine göre oreksinlerin kanabinoid yolakları üzerine etkisi hemopressinden daha fazla olabileceği, OX-A'nın kanabinoid sistem üzerindeki etkisinin yanı sıra başka bir mekanizma üzerinden antikonvulsan etki gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca oreksinerjik sistemin kanabinoiderjik sistem üzerinde hakimiyet gösterdiği de görülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Epilepsi, Penisilin, WAG/Rij, Orexin-A, SB334867, AM251, ACEA, Hemopressin.

ABSTRACT

OREXINERGIC AND CANNABINOID CB1 RECEPTOR INTERACTION IN WAG/Rij RATS WITH GENETIC ABSENCE EPILEPSY

Fatma Banu AYÇIK
Ondokuz Mayıs University
Institute of Graduate Studies
Department of Physiology
Ph.D., June/2023
Supervisor: Prof. Dr. Erdal AĞAR

Aim: It is subjected that orexin and cannabinoids are involved in many neurological systems such as epilepsy and that both systems are interrelated. This study goal is to research the effect and interrelationship of orexinergic and cannabinoid systems in WAG/Rij rats.

Methods: In our study, Wistar and WAG/Rij rats were used to electrocorticogram recordings. Wistar rats were placed in a stereotaxic device under urethane, WAG/Rij rats under ketamine/xylazine anesthesia, tripolar electrodes were fixed to the skull. After producing epileptiform activity by intracortical (i.c.) penicillin in Wistar rats, 0,6 µg hemopressin, 7,5 µg ACEA, 0,50 µg AM251 and also 2, 4, 8, 16 µg doses of OX-A with 1.5, 3, 6 and 12 µg i.c.v. doses of SB334867 applied and effective doses determined. After 3 hours of baseline recording in WAG/Rij rats, the effective doses of the substance were applied by i.c.v., and recording continued for 3 more hours. Interaction groups were also subjected to the same procedure. Records were analyzed in terms of seizure duration and number, spike number and amplitude.

Results and Conclusions: 8 µg OX-A and 12 µg SB334867 significantly decreased the duration and number of seizures, spike number, excluding amplitude, in WAG/Rij rats ($p < 0.05$). While hemopressin and ACEA decreased absence seizure activity, AM251 increased it. According to the interaction group data, it is thought that the effect of orexins to cannabinoid pathway may be higher than hemopressin, and that OX-A has an anticonvulsant effect through another mechanism besides binding to cannabinoidergic pathway. It is also seen that the orexinergic system dominates the cannabinoidergic system.

Keywords: Epilepsy, Epilepsi, Penicillin, WAG/Rij, Orexin-A, SB334867, AM251, ACEA, Hemopressin.

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Asistanlık hayatım boyunca her türlü yol gösterici olan, bilgisiyle benim olaylara farklı açılardan bakmamı sağlayan, birlikte çalışmaktan ve her zaman öğrencisi olmaktan gurur duyduğum değerli danışman hocam Prof. Dr. Erdal AĞAR'a, akademik hayatımda hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, tavsiyeleriyle yol gösteren, problemlerime babacan tavrıyla yaklaşan değerli hocam Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ'a, bu süreçte bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım hocam Prof. Dr. Ayhan BOZKURT'a, akademisyenliğin disiplinli olmak gerektiğini öğreten değerli emekli hocam Prof. Dr. Cafer MARANGOZ'a, laboratuvar ve analiz çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Gökhan ARSLAN ve Öğr. Gör. Süleyman Emre KOCACAN'a;

Asistanlığım boyunca aynı bölümde birlikte çalışmaktan zevk aldığım Sinem TOSUN, İsa YEŞİLYURT'a, aynı laboratuvarı paylaştığım Emre Soner Tiryaki, Elif Türkdönmez'e;

Tüm yaşamım boyunca her zaman yanımda olup yol gösteren sevgili Annem'e, kardeşlerime, eve gittiğimde tüm sıkıntılarımı unutturan, doktora çocukları olan Lale'm ve Deniz'ime, bana her zaman destek veren eşim Araş. Gör. Dr. Fırat AYÇIK'a teşekkür ederim.

Fatma Banu AYÇIK

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Epilepsi	5
2.2. Epileptogenez	5
2.3. Epilepsinin Sınıflandırılması.....	5
2.4. Absans Epilepsi	6
2.4.1. Absans Epilepsinin Deneysel Modelleri	7
2.4.2. Absans Epilepsinin EEG Özellikleri.....	7
2.4.3. Absans Epilepsinin Sınıflandırılması.....	7
2.4.4. Absans Epilepsinin Epidemiyolojisi	8
2.4.5. Absans Epilepsinin Etiyolojisi.....	8
2.4.6. Absans Epilepsinin Patofizyolojisi	9
2.5. Kanabinoidler	12
2.5.1. Kanabinoid Reseptörleri.....	12
2.5.2. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri	18
2.5.3. Kanabinoidlerin Epilepsi Üzerine Etkisi.....	20
2.6. Oreksin.....	21
2.6.1. Oreksin Reseptörleri	22
2.6.2. Oreksinerjik Nöronların ve Reseptörlerinin Dağılımı.....	25
2.6.3. Oreksinlerin Fizyolojik Etkileri	27
2.6.4. Oreksin ve Epilepsi	30
2.7. Hemopressin.....	32
2.7.1. Hemopressin'in Fizyolojik Etkileri.....	32
3. MATERYAL VE METOT.....	35
3.1. Deney Hayvanları.....	35
3.2. Kimyasal Maddeler ve Veriliş Yolları.....	35
3.3. Deney Grupları.....	36
3.4. Cerrahi Prosedür ve ECoG Kayıtlarının Elde Edilmesi.....	37
3.5. ECoG Kayıtlarının İncelenmesi	39
3.6. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptik Aktivite	42
4.2. Orexin-A'nın Epileptik Aktivite Üzerine Etkisi.....	42
4.3. SB-334867'nin Epileptik Aktivite Üzerine Etkisi.....	46
4.4. WAG/Rij Ratlarda Çözücü Grubu Olan DMSO'nun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi	50
4.5. Oreksin-A'nın Absans Epilepsi Üzerine Etkisi	50
4.6. SB-334867'nin Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi.....	55
4.7. 0,6 µg Hemopressin'in Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi	59
4.8. CB1 Reseptör agonisti ACEA'nın (7,5 µg) Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi ..	62
4.9. CB1 Reseptör antagonisti AM-251'in (0,50 µg) Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi	65
4.10. Oreksinerjik ve Kanabinoidlerjik Sistem Etkileşiminin Absans Nöbetler Üzerine Etkisi	68

4.10.1. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi.....	68
4.10.2. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi.....	71
4.10.3. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM-251 Etkileşim Grubunun WAG/Rij Ratlarda Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi	74
4.10.4. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi.....	77
4.10.5. 8 µg OX-A + 7,5 µg ACEA Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi.....	79
4.10.6. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi.....	82
5. TARTIŞMA.....	86
5.1. Hemopressinin Absans Epilepsi Üzerine Etkisi	87
5.2. Kanabinoid CB1 Reseptörünün Absans Epilepsideki Rolü	88
5.3. Oreksinin Absans Epilepsiye Etkisi	90
5.4. Kanabinoid ve Oreksin'in Absans Epilepside Etkileşimi	93
6. SONUÇ	97
KAYNAKLAR.....	98
EKLER.....	121
ÖZGEÇMİŞ.....	122

SİMGELER VE KISALTMALAR

2-AG	: 2-araşidonilgliserol
aDDD	: DDD amplitüdü
AE	: Absans epilepsi
DDD	: Diken Dalga Deşarjı
DDD	: Diken ve yavaş dalga deşarjı
DMSO	: Dimetil sülfoksit
ECoG	: Elektrokortigoram
EEG	: Elektroensefalografi
GABA	: Gama amino butirik asit
Hz	: Hertz
ILAE	: Uluslararası Epilepsiyle Savaş Birliği
i.k.	: İntrakortikal
i.p.	: İntraperitoneal
i.s.v.	: İntraserebroventriküler
kDDD	: DDD küme sayısı
MAGL	: Monoaçilgliserol lipaz
nDDD	: DDD sayısı
NRT:	: Retiküler talamik çekirdek
OX1R	: Oreksin-A reseptörü
OX2R	: Oreksin-B reseptörü
OX-A	: Oreksin-A
OX-B	: Oreksin-B
Pen	: Penisilin
PLC	: Fosfolipaz C
sDDD	: DDD küme süresi
SEM	: Ortalama $\pm$ standart hata
SF	: Serum fizyolojik
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
VPM	: Ventroposteromedyal talamik çekirdek
μ l	: Mikrolitre
μ V	: Mikrovolt

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. ILAE 2017 nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması (Fisher et al., 2017).....	6
Şekil 2.2. Jeneralize absans nöbetlerin kökenine ilişkin 5 teorinin şematik gösterimi.....	10
Şekil 2.3. CB1 ve CB2 reseptörlerinin insan vücudunda dağılımı.....	13
Şekil 2.4. Kanabinoidlerin hücrel faaliyetleri.....	14
Şekil 2.5. Başlıca fitokanabinoidlerin kimyasal yapıları ve bunların antikonvülsan etkiler uyguladıkları olası hedefleri	15
Şekil 2.6. Endo (anandamid ve 2-araşidonoil gliserol) ve fito (D9-THC ve kannabidiol) - kanabinoidlerin kimyasal yapısı.....	16
Şekil 2.7. Endokanabinoidlerin sinaptik aralıktaki etki mekanizması	17
Şekil 2.8. CB1 reseptörü ve bu reseptöre bağlanan kanabinoidler.....	18
Şekil 2.9. OXA ve OXB'nin amino asit dizilimi	21
Şekil 2.10. İnsan OX-1 reseptörünün bilinen aminoasitinin sekans değişken varyantı.....	22
Şekil 2.11. İnsan OX-1 reseptörünün bilinen aminoasitinin sekans değişken varyantı.....	23
Şekil 2.12. Oreksin nöronal sistemini özetleyen, sıçan beyninden alınan koronal ve sagittal kesitin şematik çizimi.....	25
Şekil 2.13. OX reseptörlerinin beyindeki dağılımı.....	27
Şekil 2.14. Oreksin nöronlarının insan beyinde ana projeksiyonlarını gösteren şematik çizim.....	27
Şekil 2.15. Oreksin reseptörünün uyarılması, hem PLC (PLC β ?) - DAGL hem de cPLA2 kaskadlarının aktivasyonuna yol açar.....	30
Şekil 2.16. Hemopressinler, hemoglobin α zincirinden türetilen endokanabinoidlerdir.....	34
Şekil 3.1. Hamilton enjektörü ile enjeksiyon yapılması.....	38
Şekil 3.2. Sıçan kafatasına paslanmaz çelik vidaların yerleştirilmesi sonrası dental akrilik ile hem vidaların hem i.s.v. kanülün sabitlenmesi.....	39
Şekil 3.3. Jak çıkışının Powerlab sistemine bağlanıp kayıt alınması işlemi.....	39
Şekil 3.4. ECoG kayıtlarının LabChart yazılımı yardımıyla dijital ortamda görüntülenmesi.....	40
Şekil 4.1. A) Sadece penisilin (500 IU i.k.) B) 2 μ g OX-A C) 4 μ g OX-A D) 8 μ g OX-A E) 16 μ g OX-A gruplarından 100. dakikada alınan ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.....	45
Şekil 4.2. Kontrol (penisilin, 500 IU), OX-A (2, 4, 8 ve 16 μ g) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi.....	46
Şekil 4.3. Kontrol (penisilin, 500 IU), OX-A (2, 4, 8 ve 16 μ g) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri.....	46
Şekil 4.4. A) 1,5 μ g SB-334867 B) 3 μ g SB-334867 C) 6 μ g SB-334867 D) 12 μ g SB-334867 gruplarından 100. dakikada alınan ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.....	49
Şekil 4.5. Kontrol (penisilin, 500 IU), SB-334867 (1,5, 3, 6 ve 12 μ g) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi.....	49

Şekil 4.6. Kontrol (penisilin, 500 IU), SB-334867 (1,5, 3, 6 ve 12 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri	50
Şekil 4.7. Kontrol grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	51
Şekil 4.8. 4 µg Oreksin-A grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	52
Şekil 4.9. 8 µg Oreksin-A grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	53
Şekil 4.10. 16 µg Oreksin-A grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	53
Şekil 4.11. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	54
Şekil 4.12. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	54
Şekil 4.13. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	55
Şekil 4.14. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması	55
Şekil 4.15. 6 µg SB-334867 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	56
Şekil 4.16. 12 µg SB-334867 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	57
Şekil 4.17. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	58
Şekil 4.18. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması	58
Şekil 4.19. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	59
Şekil 4.20. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması	59
Şekil 4.21. 0,6 µg Hemopressin grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	60
Şekil 4.22. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	61
Şekil 4.23. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.	61
Şekil 4.24. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	62
Şekil 4.25. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması.	62
Şekil 4.26. 7,5 µg ACEA grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	63
Şekil 4.27. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	64

Şekil 4.28. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	64
Şekil 4.29. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	65
Şekil 4.30. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	65
Şekil 4.31. 0,50 µg AM251 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	66
Şekil 4.32. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	67
Şekil 4.33. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	67
Şekil 4.34. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla spike sayısı yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	68
Şekil 4.35. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	68
Şekil 4.36. OX-A+Hemopressin grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	69
Şekil 4.37. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	69
Şekil 4.38. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması (küme süresi yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$) ($***=p<0,001$)......	70
Şekil 4.39. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayısı yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	70
Şekil 4.40. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	71
Şekil 4.41. SB334867+Hemopressin grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	72
Şekil 4.42. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	72
Şekil 4.43. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	73
Şekil 4.44. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	73
Şekil 4.45. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	74
Şekil 4.46. OX-A+AM-251 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri.....	75
Şekil 4.47. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	75
Şekil 4.48. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması.....	76

Şekil 4.49. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması	76
Şekil 4.50. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması	76
Şekil 4.51. SB334867+AM-251 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri	77
Şekil 4.52. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	78
Şekil 4.53. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması	78
Şekil 4.54. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla spike sayısı yüzde değişiminin karşılaştırılması	79
Şekil 4.55. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması.	79
Şekil 4.56. OX-A+ACEA grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri	80
Şekil 4.57. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	81
Şekil 4.58. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde değişiminin karşılaştırılması	81
Şekil 4.59. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	82
Şekil 4.60. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde değişimi±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$).	82
Şekil 4.61. SB334867+ACEA grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri	83
Şekil 4.62. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde değişiminin karşılaştırılması	84
Şekil 4.63. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla küme süresi yüzde değişiminin karşılaştırılması	84
Şekil 4.64. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla spike sayısı yüzde değişiminin karşılaştırılması	85
Şekil 4.65. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde değişiminin karşılaştırılması	85

1. GİRİŞ

Epilepsi; spontan olarak tekrar eden nöbetlerle karakterize bir nörolojik hastalıktır ve merkezi sinir sisteminde bulunan nöron topluluğunun şiddetli, normal olmayan ve aşırı eş zamanlı aktivite deşarjı olarak tanımlanır. Epilepsi oluşum mekanizması tam anlamıyla bilinmemesine rağmen kafa travmaları, beyindeki gerçekleşen kanamalar, beyinde meydana gelen bir takım enfeksiyonlar, inme, beyindeki tümör ve yapısal damar bozuklukları benzeri faktörler epilepsiye sebep olurlar (Fisher, 1989; Löscher, 1997). Epilepside görülen nöbetler beyinde istem dışı ve ritmik nöronal deşarjlar sonucunda ortaya çıkan, belli bir sürede meydana gelen, akut ve geçici atak halinde oluşan durumlardır.

İdiyopatik epilepsiler beyin hasarı olmaksızın tekrar eden lokal veya büyük (jeneralize) nöbetlerle karakterizedir (Crunelli and Leresche, 2002). İdiyopatik jeneralize epilepsi sınıfı içinde bulunan tipik absans epilepsi, çocukluk çağında görülen ve tüm pediatrik epilepsilerin %10'unu oluşturan (Garzon et al., 2016), elektroensefalogram (EEG)'da iki buçuk-dört Hz frekansında çift taraflı ve simetrik diken-dalga deşarjlarla (DDD) birlikte, akut ve kısa süreli bilinç kaybıyla karakterize jeneralize bir epilepsi formudur. Absans epilepsinin altında yatan mekanizmalar net olarak bilinmemektedir. Absans epilepsi çalışmalarının insan üzerinde yapılması etik açıdan uygun olmadığı için farklı deneysel modeller kullanılmaktadır. Rijswijk'ten Wistar Albino Glaxo Sıçanlar (WAG/Rij), non-konvülsif bir epilepsi tipi olan genetik absans epilepsiye sahip, inbred (kendi içinde) olarak üretilen bir sıçan türüdür. Bu suşun tüm sıçanları, insanlardaki absans nöbetlerinin ana göstergeleri olan spontan EEG'ye ve jeneralize DDD'lere sahiptir (Sarkisova and Kulikov, 2006). WAG / Rij sıçanlarının bu özelliği, onların insan absans epilepsisi, yani çocukluk çağı absans epilepsisi için genetik bir hayvan modeli olarak kullanılmasını sağlar (Coenen et al., 1995; Coenen and van Luijtelaar, 2003).Yapılan çalışmalara göre, absans epilepsi beyinde, bilateral somatosensoriyel korteksin perioral bölgesindeki glutamaterjik odaklardan kaynaklanır (Russo et al., 2016; Scicchitano et al., 2015). Bu bölge kortiko-talamo-kortikal devreyi (KTK) etkiler. Talamus çekirdeklerindeki T tipi kalsiyum kanallarının aktivitesi tipik DDD'lerin görülmesine sebep olur.

Nöropeptidler, reseptörler ve nörotransmitterler gibi sistemler epilepsi oluşumunda görev alır. Bir nöropeptid olan oreksin (OX) enerji homeostazı (Haynes et al., 1999; Sakurai, 2005), uyku-uyanıklık döngüsü (Sakurai, 2005), içme davranışı

(Kunii et al., 1999), analjezi (Mobarakeh et al., 2005), dikkat (Fadel and Burk, 2010), öğrenme (Telegdy and Adamik, 2002) ve hafıza (Akbari et al., 2007; Jaeger et al., 2002) gibi çeşitli fizyolojik görevlerde rol almaktadır. Oreksin nöroeksitatör etkiye sahiptir (de Lecea et al., 1998; van den Pol et al., 2002). Literatürde oreksin-epilepsi arasındaki ilişkiyi araştıran birkaç çalışma bulunmaktadır (Doruulee et al., 2010; Kortunay vd, 2012). İntrakortikal penisilin G enjeksiyonundan sonra oreksin enjeksiyonu kortikal epileptik aktiviteyi artırmıştır (Erken. vd, 2012). Ayrıca insan OX1 ve OX2 reseptörlerinin CB1 kannabinoid reseptörleri ile heterodimerize olduğu bildirilmiştir (Jantti et al., 2013;2014). Oreksin reseptör sinyalizasyonunun 2-arasidonil gliserol (2-AG) üretimini tetikleyebileceği ve bunun da CB1 reseptörlerini aktive ettiği söylenmiştir (Jantti et al., 2013; Haj-Dahmane et al., 2005; Ho et al., 2011).

Merkezi sinir sistemi ve nörofizyolojik olaylardaki görevinden ötürü kanabinoid sistem önemlidir (Ağar, 2015). Kanabinoid merkezli tedavilerin gelişmesi adına kanabinoid sistem önemli bir hedeftir. Kanabinoid sistemin beyinde gerçekleşen nöbet aktivitelerin düzenlenmesinde önemli bir role sahiptir (Wallace et al., 2003; Luszczki et al., 2006; Deshpande et al., 2007). Selektif CB1 reseptör agonisti ACEA'nın farelerde PTZ ile indüklenen nöbetlere karşı antikonvulsan etki oluşturduğu gösterilmiştir (Bahremand et al., 2009). Epileptiform aktivitenin kanabinoidlerin tarafından baskılandığı bilinmektedir ancak mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. CB1 reseptörleri, Gi/o proteinlerini aracılığıyla adenilat siklazin (AC) inhibe olmasına neden olur. Adenilat siklaz da ATP'den cAMP oluşumunu katalizler. PKA cAMP tarafından aktive edilir. Böylelikle A-tipi potasyum kanalının (K^+ A) fosforillenir ve kanal kapanır. Özetle, CB1 reseptör aktivasyonu sonucunda AC inhibe olur ve cAMP oluşumu önlenir. cAMP azalınca da PKA inaktive edilir ve böylelikle K^+ A kanalı stimüle edilerek hücre içinden ekstraselüler sıvıya K^+ çıkışı olur (Kyrou et al., 2006). CB1 reseptör aktivasyonu ile birlikte, doz bağımlı olarak glutaminerjik sistemlerin baskılandığı, GABAerjik sistemlerin ise aktive olduğu düşünülmektedir (Feigenbaum et al., 1989).

Absans modeli WAG/Rij sıçanlarda CB1 reseptör agonisti R(+)-WIN55,212'nin doz bağımlı olan DDD insidansını azalttığı, CB1 reseptör ekspresyonunun retiküler talamik çekirdekte azalmasının diken dalga deşarjlarının gelişmesiyle ilişkili olabileceği söylenmiştir. Yine aynı çalışmada bu verilerin, CB1

reseptörlerinin talamik-kortikal ağ içindeki senkronizasyon mekanizmalarında yer aldığı ve CB1 reseptörlerinin yeni anti-absans ilaçları tarafından hedef alınmasının olasılığını arttıracakını vurgulanmaktadır (van Rijn CM et al., 2010). WAG/Rij sıçanlardaki absans epilepsi modelinde endokanabinoid sistemin azalması, kortekste azalmış mRNA seviyelerine ek olarak talamusta CB1 reseptörlerinin azaltılmış ekspresyonu ile gösterilmiştir (van Rijn CM et al., 2010). Endokanabinoidler tarafından CB1 reseptörlerinin aktivasyonu GABA salınımını inhibe eder, böylelikle depolarizasyonun indüklediği inhibisyon (DSI) baskılanır (Pitler and Alger, 1994; Hajos et al., 2000; Yoshida et al., 2002; Storozhuk et al., 2006). Ventrobazal talamik çekirdekteki (VBTN) yüksek GABAerjik ton DDD'lerin oluşumunu kolaylaştırır (McCormick and Bal, 1997).

Hemopressin kanabinoid CB1 reseptörlerini bağlayan (selektif olarak) peptid ligantıdır ve G-protein ile ilişkili reseptör ailesini (CB2 reseptörü de dahil olmak üzere) etkilemezken CB1 reseptör agonisti ya da antagonisti olduğu net değildir (Heimann et al., 2007; Dodd et al., 2010; Li et al., 2016). Penisilin modeli epilepside 0,6 µg i.s.v. hemopressinin epileptik aktiviteyi artırırken, WAG/Rij sıçanlarda 0,6 µg hemopressinin DDD'lerin toplam süresini, toplam sayısını ve spike sayısını azalttığı gösterilmiştir (Aygün vd, 2017).

Oreksin-1 reseptörü ile CB1 reseptörlerinin her ikisi de G protein bağlı reseptörlerin (GPCR) süper-familyasında yer almakta olup özellikle hipokampus olmak üzere beyindeki dağılımları örtüşebilmektedir (Zhu et al., 2015). Elektron mikroskop deneyleri CB1 ve OX1 reseptörlerinin plazma zarının yakınında yerleştiğini ve bir heterodimer oluşturduğu için birbirlerine yeterince yakın olduklarını ortaya koymuştur (Hilair et al., 2003). OX1 reseptör sinyalizasyonunun fosfolipaz C (PLC) yolağı aracılığıyla diaçil gliserolü (DAG) oluşturduğu, DAG'ın da diaçil gliserol lipaz (DGL) enzimi ile 2-araşidonil gliserole (2-AG) hidroliz edildiği ve 2-AG'nin CB1 reseptörlerini stimüle ederek ERK aktivasyonunu uyardığı bildirilmiştir (Kukkonen and Leonard, 2014). Oreksin reseptörlerinin, PLC'nin olası aktivasyonuna ek olarak 2-AG salınımını uyarmak için özel bir eğilime sahip olup olmadığı henüz net değildir. Oreksin reseptörleri reseptör ile çalıştırılan Ca^{2+} akımına aracılık eder ve bu da DGL'nin uyarılmasında veya bazı PLC türlerinin aktivitesinin arttırılmasında önemli bir faktör olabilir (Kukkonen and Leonard, 2014). Endokanabinoidler postsinaptik olarak üretilir ve CB1 reseptörü aracılığıyla

presinaptik terminaller üzerinde retrograd inhibitör etkilere aracılık eder (Kano et al., 2009).

Tüm bu verilerden yola çıkarak oreksinin epilepside rolü olduğu, kanabinodlerin de epilepsi gibi birçok nörolojik sistemde görev aldığı ve her iki sistemin birbiriyle bağlantılı olduğu anlaşılmaktadır. Fakat literatürde absans epilepsili WAG/Rij sıçanlarda oreksinerjik sistem ile kanabinoid sistem arasında ilişkinin incelendiğine dair bir çalışma olmadığından sunulan çalışmada bu ilişkinin araştırılması amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Epilepsi

Epilepsi, beyindeki anormal elektriksel aktiviteden kaynaklanan tekrarlayan spontan nöbetlerle karakterize, yaygın bir nörolojik hastalıktır. Dünya çapında, genel nüfusunun % 3'ünün hayatlarının bir noktasında epilepsi vardır (Wyllie, 2015). Yetişkin insanlarda epilepsi beyin damar hastalıklarından sonra görülen 2. rahatsızlık olmasına karşın çocukluk ve ergenlik döneminde ise en fazla rastalanan hastalıktır.

Sinir hücrelerinin her biri elektrik akımı oluşturup, bunları bir hücreden diğerine iletebilir. Farklı tip bozukluklar nöronlarda normal olmayan elektrik akımı deşarjlarına ya da elektrik fırtınalarına sebep olabilir. Normal olmayan elektrik akımları nöbetleri ortaya çıkarır. Epileptik nöbet, beyindeki belli bir nöron topluluğunun aşırı deşarjı ve elektrofizyolojik anormalliği sonucunda görülen klinik bir görünümdür. Epileptik nöbetler, genetik hipoksi, enfeksiyon ve iltihaplanma gibi önceki travmalardan kaynaklanan nöronal anormalliklere kadar değişen çeşitli etiyolojilere sahiptir. Ayrıca altta yatan bir bozukluktan veya psikiyatrik semptomlardan kaynaklanıyor olabilir (Motamedi and Meador, 2003; Schmidt, 2009; Eddy et al., 2011).

2.2. Epileptogenez

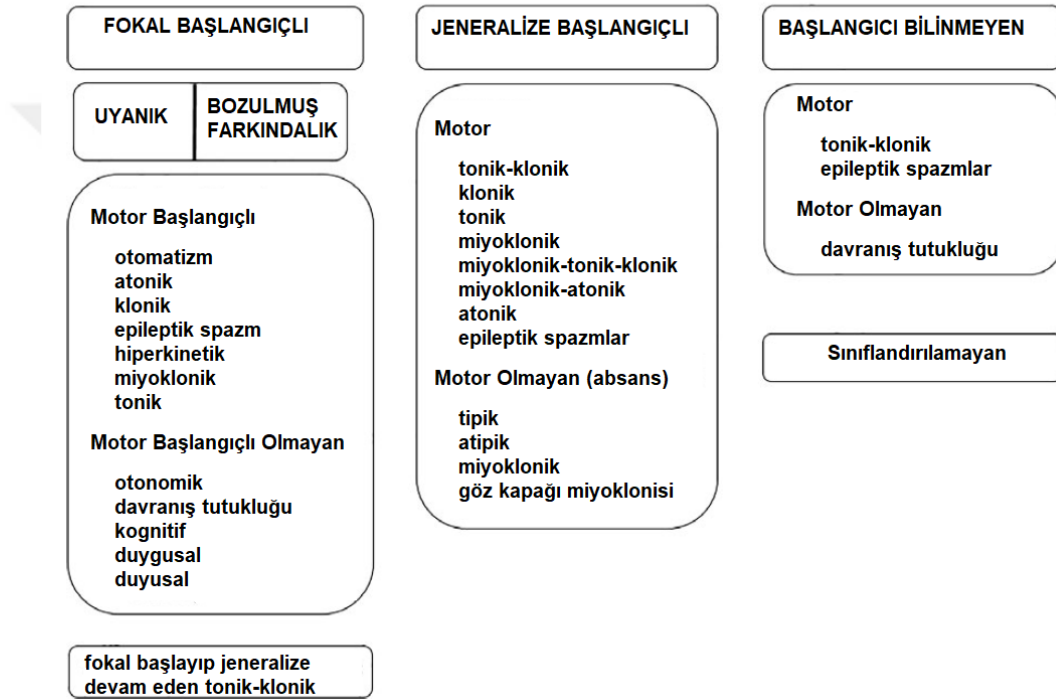
Epilepsi oluşum (epileptogenez) sürecinin moleküler, anatomik ve sinaptik düzeyde kesin mekanizmalarını ele alan, iyonik kanalların veya nörotransmitter reseptörlerinin düzensizliğini içeren birkaç teori vardır (Curia et al., 2014). Epileptogenez sırasında, azalmış GABA üretiminin aşırı nöronal uyarılmaya neden olur ve GABA aktivitesini artıran ligandların antiepileptik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Olsen et al., 1999). Epilepsi oluşum sürecinde rolü olan muhtemel farklı moleküller vardır. Örneğin, beyindeki glutamatin (en sık uyarıcı nörotransmitter) fazlalığı nöbet riskini artırır (McNamara et al., 2006).

2.3. Epilepsinin Sınıflandırılması

Epilepsi ve nöbetlerin sınıflandırmaları daha önce 1981 (ILAE, 1981), 1985 (ILAE, 1985) ve 1989'da (ILAE, 1989) yapılmıştır. Nöbet ve epilepsi sınıflandırmasına sahip olmak klinisyenler ve bakım ekipleri, hastalar ve aileler ile araştırmacılar için son derece önemlidir. Araştırma açısından bakıldığında, bu sınıflandırmalara sahip olmak, farklı nöbet ve epilepsi türleri için ilaç veya cerrahi

tedavilerin, tepkilerin ve tipik klinik yolların araştırılmasını sağlar. Nöbet çeşitleri ve epilepsiler için Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliği (ILAE) yeni bir sınıflandırma yapmıştır. Yeni 2017 sınıflandırmalarında, 1981-1985-1989 sınıflandırmalarıyla karşılaştırıldığında, alternatif ifadeler kullanılmakta ve önemli ilave içermektedir. Bu değişiklikler, sınıflandırmaların şeffaflığını ve çok yönlülüğünü geliştirir ve önceden sınıflandırılmayan nöbet ve epilepsi türlerinin dahil edilmesine / sınıflandırılmasına izin verir (Jessica et al., 2018).

ILAE 2017 NÖBET TİPLERİ GELİŞMİŞ SINIFLANDIRMASI



Şekil 2.1. ILAE 2017 nöbet tiplerinin genişletilmiş sınıflandırması (Fisher et al., 2017).

2.4. Absans Epilepsi

Absans epilepsi (AE), çocukluk çağında görülen, bedensel aktivitenin durmasıyla eşzamanlı olan, bilinçte ve yanıt vermede geçici bir duraksama/değişiklik ile ilişkilendirilen jeneralize konvülsif olmayan nöbetlerle karakterize olan bir epilepsi türüdür (Luijtelaar et al., 2017) ve genellikle 5-30 saniye sürer (Russo et al., 2016).

İlk olarak absans nöbetler Poupart tarafından 1705 yılında tanımlanmıştır. Sonrasında 1770 yılında Tissot adlı araştırmacı tarafından ayrı bir kategoride değerlendirilerek küçük nöbet şeklinde ifade edilmiştir (Brigo et al., 2018). 1824 yılında ise Calmeil absans terimini kullanan kişi olmuştur (Temkin, 1971).

Absans epilepsi modelindeki absans nöbetlerinin genetik arka planı, klinik durumlara yakın bir doğal geçmişi olan bireyleri incelemek için eşsiz bir fırsat sağlar; insandaki nöbetlerin patofizyolojisini ve yaşam boyu evrimini anlamak için ideal bir modeldir (Jarre et al., 2016).

2.4.1. Absans Epilepsinin Deneysel Modelleri

Farelerde ve sıçanlarda absans epilepsi için farklı genetik modeller oluşturulmuştur. WAG/Rij (van Luijtelaar and Coenen, 1986; Sarkisova and van Luijtelaar, 2011) ve GAERS (Vergnes et al, 1982; Depaulis et al., 2016) suşları Absans tipi non-konvulsif nöbet kriterlerine sahip olan ve en sık tercih edilen deneysel modeller arasındadır ve kendiliğinden diken-ve-yavaş dalga deşarjlı (DDD) genetik hayvan modelleridir. 1980'li dönemlerde bu modeller Wistar ratlardan “inbred” olarak çoğaltılmıştır. EEG kayıtlarına bakıldığında bilateral, düzenli, diken ve yavaş dalga deşarjları görülür. İnsanda gözlenen absans epilepsisinin nörofizyolojik, farmakolojik ve davranışsal nitelikleri GAERS ve WAG/Rij suşu modelleri ihtiva eder (Marescaux et al., 1992; Coenen and Van Luijtelaar, 2003). Tam gelişmiş DDD'ler, tüm GAERS suşunda doğum sonrası 30 günde (Jarre et al., 2017) ve 3 aylık WAG/Rij ratlarının % 80'inde (Schridde U. and van Luijtelaar, 2004) mevcuttur.

2.4.2. Absans Epilepsinin EEG Özellikleri

Tipik absans nöbetlerine, EEG'de mevcut olan çift taraflı simetrik, senkron ve düzenli diken dalga deşarjları (DDD'ler) eşlik eder (Luijtelaar et al., 2017). Bu DDD'ler, farelerde ve sıçan modellerinde 5-9 Hz arasında bir frekansa ve 1 ila 60 saniyelik bir süreye sahiptir. DDD'lerin tekrarı, modele, hayvanların yaşına ve kayıt koşullarına bağlı olarak saatte 1 ila 260 DDD arasında değişebilir (Luijtelaar et al. 2017). DDD'ler iki-üç aylık WAG/Rij sıçanların kortikal EEG'lerinde ayırt edilmeye başlar ancak daha erken dönemlerde gözlenmemektedir. WAG / Rij'deki ilk çalışma, kortiko-kortikal ve kortikotalamik ağ analizlerine dayalı olarak, DDD'lerin somatosensoriyel kortekste (SoCx) başlatıldığını kuvvetle önermiştir (Meeren et al., 2005).

2.4.3. Absans Epilepsinin Sınıflandırılması

Nöbet sınıflandırmaları, 1964'te sunulan ilk modern sınıflandırma ile (Gastaut, 1964) ve 1970 yılında bu sınıflandırmanın uluslararası kullanımı (Gastaut et al., 1970) ile yüzyıllardır var olmuştur. 2017 Uluslararası Epilepsiyle Mücadele Birliği

(ILAE), absans nöbetleri "jeneralize başlangıçlı motor olmayan nöbetler" olarak tanımlamaktadır (Fisher et al., 2017). Absans nöbetler 4 sınıfta incelenmektedir:

- a. **Tipik absans nöbetler:** Çocukluk çağı absans epilepsisinin en yaygın görülen tipidir. Bunlarda nöbetler sık ve kısa olup, çoğunlukla birkaç saniye sürer. EEG'de daha düşük frekanslı (1,5-2 Hz) yavaş DDD'ler gözlenir (Fisher et al., 2017).
- b. **Atipik absans nöbetler:** Tipik absans nöbetlerle kıyaslandığında başlangıç ve bitiş uzun sürer. Vücut tonusunda değişiklikler meydana gelir (Fisher et al., 2017)
- c. **Miyoklinik absans nöbetler:** Saniyede üç ritmik miyoklonik hareketlerle gerçekleşir, üst ekstremitelerde hızlı bir şekilde abduksiyona neden olarak progresif kol hareketlerine neden olur ve saniyede üç jeneralize diken dalga deşarjları ile ilişkilendirilir. Süre tipik olarak 10-60 saniyedir. Bilinç kaybı net olmayabilir. Miyoklonik absans nöbetleri, çeşitli genetik koşullarda ve ayrıca bilinen ilişkiler olmadan meydana gelir (Fisher et al., 2017)
- d. **Göz kapağı miyoklinisi:** Göz kapaklarının miyoklonik çekilmeleri ve gözlerin yukarı doğru kayması hareketleri görülür. Göz kapağı miyoklinisi hem absansla hem de diğer motor nöbetlerle alakalı olabilir, bu yüzden sınıflandırma yapmak kolay değildir (Fisher et al., 2017).

2.4.4. Absans Epilepsinin Epidemiyolojisi

Absans epilepsi nöbetlerinin insidansı genel popülasyonda 100.000'de 0,7 ile 4,6 arasındadır ve 15 yaşın altı popülasyonda 100.000'de 6-8 arasındadır (Guilhoto, 2017). Çocukluk çağı epilepsisi, yaygın bir pediatrik epilepsi sendromudur. Okul çağındaki çocuklardaki tüm epilepsi vakalarının %10 ile %17'si absans epilepsiye bağlıdır (Matricardi et al., 2014). Absans epilepsi için başlangıç yaşı tipik olarak 4-10 yaş arasındadır ve tepe noktası 5-7 yaş arasındadır. Kızlarda görülen absans epilepsi erkeklerdekinden daha sıktır (Pearl, 2018).

2.4.5. Absans Epilepsinin Etiyolojisi

Tüm jeneralize epilepsiler ve özellikle de absans epilepsi için genetik bir bileşen mevcuttur. 1951'de Lennox, monozygotik ikizlerin %66'sında görülen 3 Hz'lik diken-dalga aktivitesinin EEG modeli için uygunluk gösterdiğini bildirdi. Dooze ve arkadaşları, 3 Hz diken-dalga paterni olan absans epilepsili 252 hastayı tanımlamıştır ve çok faktörlü bir kalıtımın söz konusu olduğunu öne sürmüştür.

Voltaj kapılı T-tipi kalsiyum kanal geni, GABA-A reseptör alt birimleri GABRG2, GABRG3 ve CACNA1A geninin, kalsiyum kanalları (Robinson et al., 2002; Chen et al., 2003) veya klorür kanallarının çeşitli alt birimlerinin (Haug et al., 2003; Everett et al., 2007) bu epilepsi sendromunun etiolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir (Guilhoto, 2017; Kang and Macdonald, 2016; Pearl, 2018). Bununla birlikte, absans epilepside yer alan kalıtım modu ve genlerin çoğu hala bilinmemektedir (Pearl, 2018).

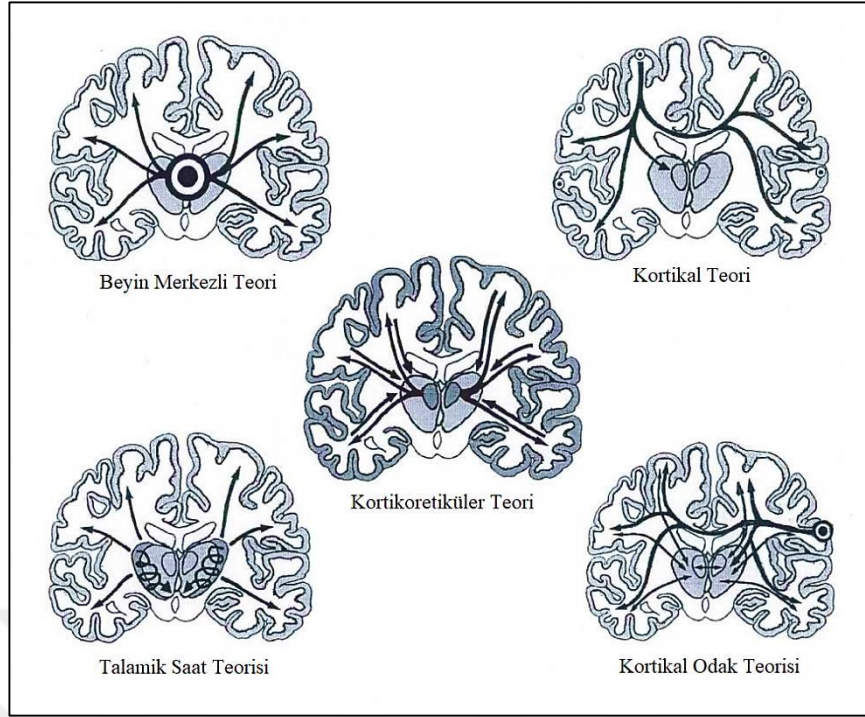
5. ve 9. kromozun belli gen lokasyonlarının WAG/Rij sıçanlarda absans oluşumu üzerine etkisi tanımlanmıştır. Ancak sıçanlar arasındaki değişiklik sebebinin, tek bir gendeki bozukluktan kaynaklanma ihtimalinin az olduğu ve bu değişikliklerde epigenetik mekanizmaların da etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (van Luijtelaar, and Sitnikova, 2006; Gauguier et al., 2004).

2.4.6. Absans Epilepsinin Patofizyolojisi

Absans epilepsinin oluşumuna dair çeşitli yollar tanımlansa da patofizyolojik mekanizmaları hala daha net anlaşılmamıştır fakat bazı teoriler ortaya atılmıştır (Şekil 2.2).

1954'te açıklanan beyin merkezli teoriye göre, talamusun medial hattında oluşan deşarjların, subkortikal bir uyarı odağından kaynaklanmaktadır. 1991 yılında açıklanan "Talamik saat" teorisinde; retiküler talamik çekirdeğin, kortekste meydana gelecek ritmik iletiler için talamik saati tetikleyen hücrelere sahip olduğu belirtilmiştir. Başka araştırmacılar ise, kortekste meydana gelen deşarjların absans nöbetlerin oluşmasında esas temel role sahip olduğu fikrini destekler. Buna ek olarak, DDD'nin kortekste hızlı bir şekilde jeneralize ve fokal orijinli olduğu söylenmiştir (Niedermeyer, 1996). 1968 yılındaki teori ise kortikoretiküler teoridir. Buna göre DDD'lerdeki içciklerin (spindle) meydana gelmesinde talamokortikal mekanizmalar rol alır (Gloor, 1968).

Epileptik ratlarda yapılan çalışmada, DDD'lerin ortaya çıkması için talamokortikal ağın var olması gerektiği söylenmiştir ve somatosensöriyel odakta tutarlı bağlantılar görülmüştür (Bertram, 2013). Buradan yola çıkarak, nöbetin başlangıcında korteks talamusu tetiklemekte ve sonrasında talamus ile korteks birlikte ritmik deşarjları düzenleyip, güçlendirmektedir (Meeren et al., 2002).



Şekil 2.2. Jeneralize absans nöbetlerin kökenine ilişkin 5 teorinin şematik gösterimi (Meeren et al., 2005'ten Türkçeleştirilmiştir)

Kortiko-talamik-kortikal devrenin absans nöbetlerinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı fikri Onat ve arkadaşları tarafından desteklenmektedir (Onat vd, 2013). Kortiko-talamik-kortikal sistemde yer alan bazı nöronlar şunları içerir:

- Kortikal glutamaterjik nöronlar; kortikal katman VI'dan köken alır ve talamusun retiküler çekirdeğine projekte olurlar.
- Kortikal piramidal nöronlara uyarıcı projeksiyonlara sahip talamik röle nöronları.
- Talamik nukleus retiküleristen gelen nöronlar; aynı çekirdekten diğer nöronlarla ve talamik röle nöronlarıyla bağlanan inhibitör GABAerjik projeksiyonlar içerir. Bu nöronlar doğrudan korteksle bağlantı kurmaz (Pearl, 2018).

Absans epilepsi modelleri incelendiğinde, DDD'lerin oluşumunda temelde talamokortikal döngüdeki anormal salınımların sorumludur ve bu ossilasyonların oluşumunda retiküler talamik çekirdeklerin pacemaker aktivite gösterdiği bilinir. Talamus, farklı çekirdeklerden oluşur ve her biri, senkronize EEG modelleri dahil olmak üzere belirli doğal ritimleri oluşturma ve bunu devam ettirme kabiliyetine sahiptir. Talamik retiküler çekirdekten gelen nöronların iki tip ateşleme modu vardır: osilatör mod (örneğin, uyku içciklerinin oluşumunda rol oynayan ritmik patlamalar

gibi) ve uyanık durumdaki tonik mod. Talamik retiküler çekirdekteki bu iki ateşleme modeli arasındaki geçişler, hem bu çekirdekten gelen hem de talamokortikal ağlarda bulunan nöronlardaki spike'lar tarafından modüle edilir. Bunlara, T-tipi kanallar olarak bilinen düşük eşikli geçici kalsiyum kanalları ve artmış GABA-B reseptör aktivitesi aracılık edilir. Depolarizasyon sonrası T-tipi kanallar hücre içine Ca^{+2} girişine izin verir. Reaktivasyon, GABA-B reseptörleri tarafından kolaylaştırılan nispeten uzun bir hiperpolarizasyon gerektirir. Bu nedenle, anormal salınım ritimleri, T-tipi kanal anormalliklerinden veya artmış GABA-B aktivitesinden kaynaklanabilir. (Pearl, 2018).

T-tipi kalsiyum kanalları ve GABA reseptörlerini kodlayan genler, absans epilepsinin etiyopatogenezi ile ilişkilendirilmiştir. Etosüksimid ve valproat gibi T-tipi kalsiyum kanallarını baskılayan ilaçlar, etkili absans önleyici ilaçlardır. Tersine, GABA-B aktivitesini artıran ilaçlar (vigabatrin gibi) absans nöbetlerinin sıklığını şiddetlendirir. Talamik nükleus retiküleristen gelen nöronlardaki GABAerjik aktiviteyi artıran GABA-A agonistleri (benzodiazepinler gibi), absans nöbetleri baskılayabilir (Pearl, 2018). GABA-A ve GABA-B agonistlerin, GABA transaminaz inhibitörlerinin veya GABA geri alım inhibitörlerinin sistemik enjeksiyonunun absans epilepsinin genetik modellerinde DDD'leri artırdığını, GABA-A iletimini güçlendiren benzodiazepinlerin ise her zaman bunları baskıladığını göstermiştir (Marescaux et al., 1992; Vergnes et al., 1984; Peeters et al., 1989; Coenen et al., 1992; Hosford et al., 1992).

Bunun yanı sıra talamokortikal nöronlar, inhibitör etkili retiküler talamik çekirdeğe (RTN) kollateralleri aracılığıyla eksitator uyarı gönderir. RTN aktive olunca buradan çıkan GABAerjik input talamik çekirdeklerdeki röle nöronlarına gider ve bu da bir miktar daha hiperpolarizasyona sebebiyet verir (Russo, 2016). Kortikal hipereksitasyona ilaveten, talamokortikal rölelerinin artan tonik inhibisyonu, absans nöbetlerin oluşmasına sebep olmaktadır (D'Amore et al., 2015; Cope et al., 2009). Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar, diken dalga deşarjlarının primer somatosensör kortekste başladığını ve daha sonra motor kortekslere ve talamik çekirdeklere hızla yayıldığını göstermiştir (Depaulis and Charpier, 2018). Yine bunların dışında perioral somatosensoriyel korteksin (S1po) derin katmanları, stimüle edilmeye hassas nöbet başlangıç bölgesi olarak tanımlanmıştır (Scicchitano et al., 2015; van Luijtelaar and Sitnikova, 2006; Meeren et al., 2002; Nersesyan et al., 2004; Luttjohann et al., 2011). Bazı hayvan çalışmaları S2 veya insüler kortekse

yakın bölgeleri merkez gösterir (Zheng et al., 2012) sağlam bir KTK ağ, iki yönlü eş zamanlı DDD'lerin oluşması adına şarttır (Russo et al., 2016).

2.5. Kanabinoidler

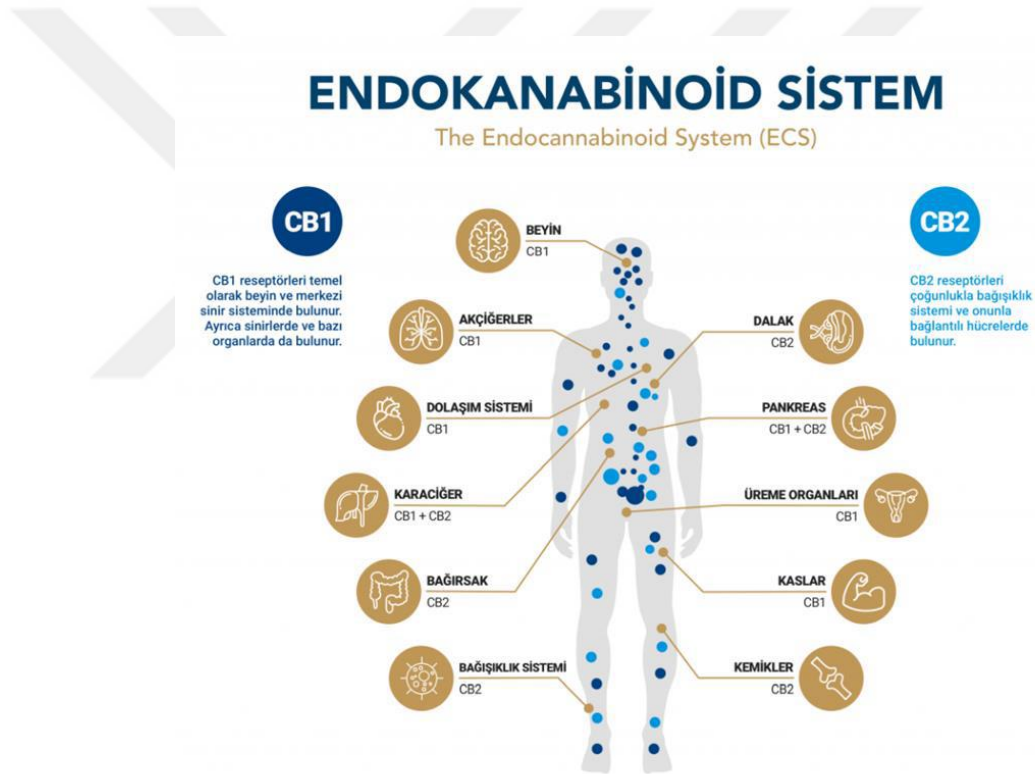
Marihuana olarak da bilinen esrar, kenevir bitkisine ait *Canabis sativa* / *Canabis indica* türlerinin hem çiçeklerinden hem de tohum yataklarından elde edilir. Kenevir bitkisi (*Cannabis sativa*), fitokanabinoidler olarak bilinen yaklaşık 100 bileşikten oluşur ve epilepsi tedavisinde esrar ürünleri üzerine yapılan araştırmaların büyük çoğunluğu, ana psikoaktif bileşen olan $\Delta 9$ -Tetrahidrokanabidiol ($\Delta 9$ -THC) üzerinde yapılmıştır (Gaston and Friedman, 2017). Vücutta kullanımı kişiye keyif ve sarhoşluk verir. Esrarın kullanımı uzun yıllara dayanmaktadır. Milattan önce yaklaşık 200'lü yıllarda tedavi edici özellikleri bahsedilmesine rağmen, özellikle son 100 yılda yapılan yoğun çalışmalar esrardan köken alan kimyasal bileşenlerin (kannabinoidlerin) hem yapıları hem de farmakolojik etki mekanizmaları aydınlığa kavuşturmuştur. Bu durumun sebebi nörofizyolojik süreçler ile merkezi sinir sisteminde kanabinoid sistemin öneminin olmasıdır. Görülen ilk tedaviye yönelik faydaları antihipertansif, anestezi, glokom düşürücü ve antiemetik etkileridir ancak uzun süre altta yatan fizyolojik ve moleküler mekanizmaları bilinmiyordu.

Kannabinoidler, reseptörlerinin endojen ligandları ve çok sayıda sentetik kannabinoid analogları dahil olmak üzere, kannabinoid reseptörünün tüm ligandlarını ve ilgili bileşiklerini içerebilir.

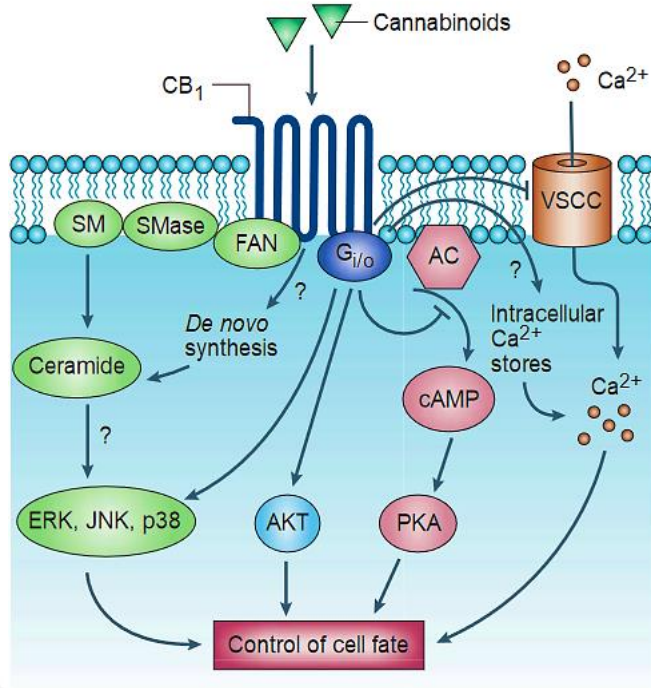
2.5.1. Kanabinoid Reseptörleri

Kanabinoidlerin CB1 ve CB2 olmak üzere iki tip reseptörü bulunur. MSS nöronlarının presinaptik terminallerinde bulunan CB1 reseptörleri, limbik yapılarda (amigdala, hipokampus, singulat), serebral kortekste, bazal gangliyonlarda ve orta beyin ve medullanın (Tsou et al., 1998) belirli bölgelerinde yüksek oranda ekspres edilir ve bir G proteinine bağlıdır. CB2 reseptörlerinin başlıca ekspresyonu, dalak, lenf düğümleri ve kemik iliği gibi periferik immün dokularda olduğu kadar aktivasyonun immünosupresif yanıtlara yol açabileceği B hücreleri, makrofajlar ve mikrogliya üzerindedir (Galiègue et al., 1995). Ayrıca, aktivasyonun nöronal uyarılabilirliği etkileyebileceği beyin sapı (Van SickleMD et al., 2005) ve hipokampus (Stempel et al., 2016) dahil olmak üzere MSS nöronlarında sınırlı CB2-reseptör ekspresyonu vardır.

Hem CB1 hem de CB2 reseptörleri birincil olarak inhibe edici G proteinleri G_i ve G_o (Howlett et al., 2002) aracılığıyla sinyal verir. Bununla birlikte, belirli koşullar altında ve belirli agonistlerle, G_s ve G_{q-11} yoluyla bağlanma gösterilmiştir. İnhibitör G protein aktivasyonunun etkileri, CB1 reseptörlerinin uyarılmasının adenil siklaz inhibisyonuna, mitojenle aktive olan protein kinazların aktivasyonuna, belirli voltaj kapılı kalsiyum kanallarının inhibisyonuna ve G proteinine bağlı içe doğru rektifiye edici potasyum kanal aktivasyonuna yol açmasıdır (Howlett et al., 2002). CB2 reseptörlerinin uyarılmasının benzer sonuçları vardır. CB1 reseptörlerinin aksine CB2 reseptörlerinin Q tipi Ca^{2+} kanalları üzerinde etkisi yoktur (Felder et al., 1995). CB2 reseptörleri tarafından iyon kanallarının modülasyonu daha değişkendir (Howlett et al., 2002).



Şekil 2.3. CB1 ve CB2 reseptörlerinin insan vücudunda dağılımı (Bonz et al., 2003).

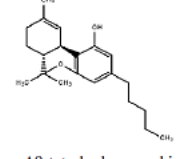
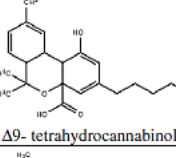
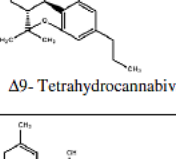
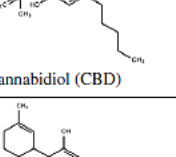
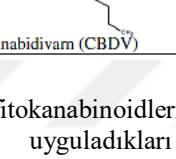


Şekil 2.4. Kanabinoidlerin hücresel faaliyetleri (Guzmán, 2003).

CB2 reseptörleri, CB1 reseptörlerinin aksine genellikle periferde bulunur ve temel etkileri bağışıklık sistemi üzerindedir (Herkenham et al., 1990). CB2 reseptörü ile CB1 reseptörleri arasında %45 oranında aminoasit benzerliği vardır. CB2, temel olarak lenfoid dokuda bulunur. Bunun yanı sıra merkezi sinir sisteminde mikrogliya-immün hücrelerinde de CB2 reseptörlerine rastlanmıştır, bu durumun esrarın immün fonksiyonlardaki inhibitör etkisinden kaynaklandığı düşünülür.

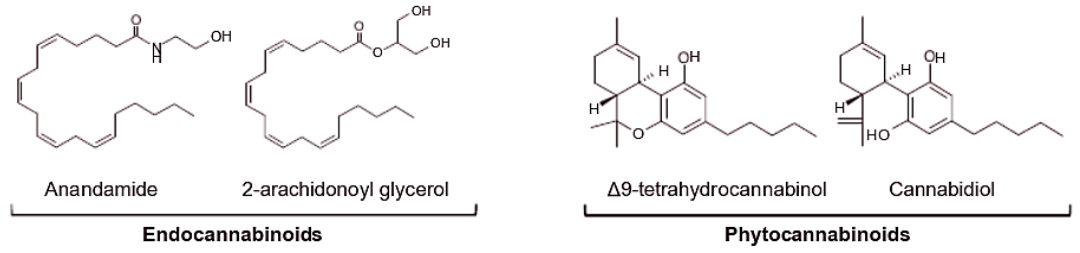
Kanabinoidler 3 sınıfta incelenir: Endokanabinoidler (vücutta doğal olarak üretilir) (Pacher et al., 2006), fitokanabinoidler (kenevir ve bazı bitkilerde bulunur) ve sentetik kanabinoidler (yapay olarak üretilir) dir.

Fitokanabinoidler bitkisel kaynaklıdır ve haliyle memeli canlılarda üretimi yoktur. Tüm fitokanabinoidler içinde en etkilisi THC (Tetrahidrokanabinol)'dir ve THC'ler içinde de Δ^9 -THC'nin panik atak, anksiyete, disfori, öfori gibi çok sayıda etkiye sahip olduğu görülmektedir (Haagen-Smit et al., 1940; Loewe, 1946; Howlett et al., 2004). Δ^9 -THC, fitokanabinoidler içinde en güçlü ve en etkili psikomotor bileşiktir, yağda çözünen bir moleküldür.

Chemical Structure	Potential Targets of Action in Epilepsy
 Δ9-tetrahydrocannabinidiol (THC)	CB1 CB2 TRPA1 TRPV2 TRPM8 GPR55 5-HT _{3A} PPAR γ μ - and δ -opioid receptors β -adrenoreceptors VGCC, VGKC, VGSC
 Δ9- tetrahydrocannabinolic acid (THCA)	TRPA1 TRPV4 TRPM8 DLG α COX 1, COX 2
 Δ9- Tetrahydrocannabivarin (THCV)	CB1 CB2 GPR55 TRPA1 TRPV1-4
 Cannabidiol (CBD)	TRPV1 VGCC, VGSC 5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} GPR55 Adenosine receptors A ₁ and A ₂ VDACC TNF α
 Cannabidivarin (CBDV)	CB1 and CB2 – independent – more data needed

Şekil 2.5. Başlıca fitokannabinoidlerin kimyasal yapıları ve bunların antikonvulsan etkiler uyguladıkları olası hedefleri (Gaston and Friedman, 2017).

Kanabinoid reseptörlerinin keşfedilmesiyle birlikte reseptörlerin endojen ligandlarının vücutta bulunabileceği düşünülmüştür, bu da endokanabinoidlerdir. Keşfedilen ilk endokanabinoid, sanscrit ananda'dan, "iç mutluluk" anandamid (AEA) olarak adlandırıldı (Devane et al., 1992) Anandamid'in hem CB1 reseptörlerine bağlandığı (Devane et al., 1992), düşük afiniteyle CB2 reseptörlerine bağlanıp antagonist gibi davranabildiği gösterilmiştir (Gonsiorek et al., 2000). Kanabinoid reseptörlerine bağlanan ikinci bir araşidonik asit türevi olan 2-arachidonoylglycerol (2-AG) daha sonra keşfedilmiştir (Mechoulam et al., 1995; Sugiura et al., 1995). 2-AG ise CB1 reseptöre daha düşük afiniteyle bağlanır ancak anadamide göre beyin ve diğer organlardaki miktarı çok daha fazladır ayrıca reseptör üzerindeki etkinliği yüksektir, dolayısı ile her iki reseptörün de (CB1 ve CB2) agonistidir. (Sugiura et al.,1995).



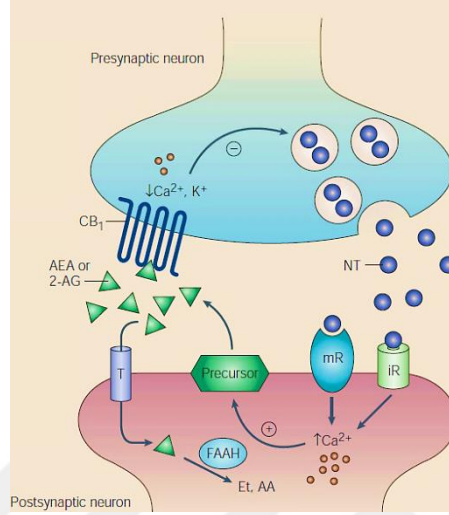
Şekil 2.6. Endo (anandamid ve 2-araşidonoil gliserol) ve fito (D9-THC ve kannabidiol) - kanabinoidlerin kimyasal yapısı (Le Boisselier et al., 2017).

Endokannabinoidlar, postsinaptik hücredeki meydana gelen aktivitelere göre serbestlenen lipofilik araşidonik asit türevleridir (Piomelli, 2003; 2005; Piomelli et al., 1998). İyi bilinen bir işlevi, beyin nöromodülasyonundaki rolüdür. Klasik nörotransmitterlerden farklı olarak veziküllerde depolanamaz ve oradan salgılanmaz. Nöronal aktivitenin enzimlerini tetiklemesiyle birlikte hücre içinde üretilir (Alger, 2004).

Nörotransmitterlerin (NT) ionotropik (iR) veya metabotropik (mR) reseptörlerine bağlanmasından sonra postsinaptik nöronlar, zara bağlı endokannabinoid öncülleri sentezler ve sitosolik serbest Ca^{2+} konsantrasyonlarındaki bir artışı takiben aktif endokannabinoidleri serbest bırakmak için onları böler (Piomelli et al., 2000). Endokannabinoidler daha sonra voltaja duyarlı Ca^{2+} kanallarının inhibisyonuna ve K^+ kanallarının (Wilson et al., 2001) aktivasyonuna nedne olan presinaptik CB1 kannabinoid reseptörlerine bağlanarak retrograd haberciler olarak hareket ederler. Bu, membran depolarizasyonunu ve ekzositozu engeller, böylece glutamat, dopamin ve γ -aminobütirik asit (GABA) gibi NT'lerin salınımını engeller ve sırasıyla öğrenme, hareket ve hafıza gibi süreçleri etkiler (Schlicker and Kathmann, 2001).

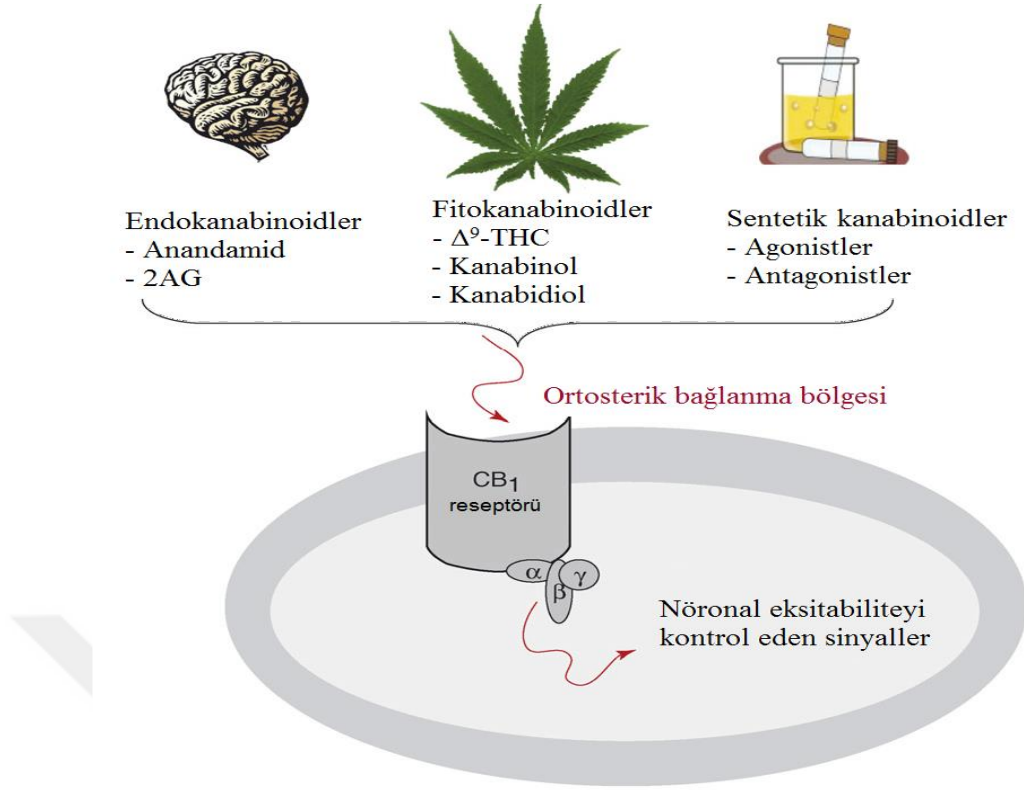
Anandamidin *in vivo* sentezi fosfolipaz D tarafından meydana gelir (Schmid et al., 1983). 2-AG diaçilgliserolden sentezlenir (diaçilgliserol lipaz aracılığıyla) (Sugiura et al., 2006). Yağ asidi ve etanolamin anandamidin yağ asidi amid hidrolaz enzimi (FAAH) tarafından parçalanmasıyla ortaya çıkar (Maccarrone et al., 1998). FAAH enzimi *in vivo* olarak sadece anandamidin parçalanmasına özgüdür, 2-AG'yi sadece *in vitro* ortamlarda yıkabilir (Goparaju et al., 1998; Lang et al., 1999). 2-AG'nin araşidonik asit ve gliserole hidrolizi monoaçilgliserol lipaz (MAGL) enzimi tarafından gerçekleştirir (Dinh et al., 2002; Saario et al., 2004). FAAH enzimi serebellum, hipokampus ve amigdalada postsinaptik terminallerde bulunmaktadır (Di

Marzo et al., 1994; Maccarrone et al., 1998; Goparaju et al., 1998; Lang et al., 1999; Gulyas et al., 2004; Sugiura et al., 2006; Cinar ve Cinar, 2011). MAGL enzimi presinaptik akson terminallerinde ve GABAerjik ara noronlarda bulunmaktadır (Gulyas vd, 2004).



Şekil 2.7. Endokanabinoidlerin sinaptik aralıktaki etki mekanizması (Guzmán, 2003).

Sentetik kanabinoidler, endojen kanabinoid sistemi araştırmak için veya potansiyel terapötikler olarak geliştirilen heterojen bir bileşikler grubudur. 2000’li dönemlerde varlığından bahsedilen sentetik kanabinoidler, ot ve benzer yapıların kimyasal sıvılarla spreylenmesiyle meydana getirilir. Sentetik kanabinoidler de tıpkı Δ^9 -THC gibi CB1 ve CB2 reseptörlerine bağlanarak etkilerini gösterir (Şekil 2.8). Sigara içerisinde bulunduklarından tüketimi genellikle bu yolla ve psikoaktif etki göstermektedir (Uchiyama et al., 2010).



Şekil 2.8. CB1 reseptörü ve bu reseptöre bağlanan kanabinoidler (Ross, 2007).

Sentetik kanabinoidlerin, kanabinoid reseptörlerine potensi ve ilgisi fazladır (Bretons et al., 2012). Kimisinin yarı ömürü daha uzundur, aktif metabolitlerin oluşumuna yol açar. Sentetik kanabinoidlerin, Δ^9 -THC'ye göre hipertansiyon, taşikardi, varsanılar, ajitasyon, nöbetler ve panik ataklar gibi yan etkilere sahiptir (Huffman and Padgett, 2005). Δ^9 -THC parsiyel agonisttir, sentetik kanabinoidler ise tersi olarak tam agonisttir.

Sentetik kanabinoidler kötü amaçlarla kullanılmasının yanı sıra bilimsel çalışmalar için de fazlaca tercih edilir. Uyuşturucu olarak en sık kullanılan kanabinoidler JWH-018, JWH-073, JWH-200, CP-47497 ve kanabisikloheksanol iken, bilimsel çalışmalara en sık ACEA, ACPA, metanandamid, O-1812 (agonistler), SR141716A (rimonabant), AM-251, AM-281, SR144528 ve LY320135 (antagonistler) dahil edilir.

2.5.2. Kanabinoidlerin Fizyolojik Etkileri

Sentetik kanabinoidler, kanabinoid reseptörlerini “selektif” olarak aktiveleştirebildikleri için terapötik anlamda bilim dünyasının ilgisini çekmişlerdir. 2000’li yılların başından bu günlere ise, içilebilir (inhale edilebilir) formdaki sentetik kanabinoidler, başlangıçta “yasal kafa yapıcılar” (legal highs) diye ortaya çıkarak

kötüye kullanılan maddeler piyasasındaki yerlerini almışlardır (Seely et al., 2012). İnsanlar tarafından kanabinoid komponentleri genel olarak sigara formunda tüketilir, ama buna ilaveten buharlaştırma ve oral yolla da kullanıldığı bildirilmektedir (Vandrey et al., 2012). Kanabinoidlerin inhalasyondan yalnızca birkaç dakika sonra maksimum konsantrasyona eriştiği ve sonrasında konsantrasyonun keskin bir şekilde azalma gösterdiği bulunmuştur. Bu da geniş doku distribüsyonu gösterdiklerini düşündürmektedir (Toennes, 2017). Özellikle inhalasyonla kronik kanabinoid kullanımı, solunum sisteminde büyük hasarlara sebep olur. Akut dönemde kronik bronşit benzeri semptomlar meydana gelirken, uzun dönemde solunum sistemi kanserlerin görülme sıklığını da artırmaktadır (Bloom et al., 1987).

Akut dönemde CB1 reseptörlerinin uyarılması konjunktival kızarıklık, kalp atım hızında artış, fiziksel gücün kaybı, iştahın artması gibi sonuçlara sebebiyet verir (Hollister, 1983). Esrarın insanlar üzerindeki subjektif etkileri; heyecanlanma ve fikir uçuşması, duyuların azalması, zaman ve mekan kavramlarının bozulması, duyu durum bozuklukları, illüzyonlar ve halüsinasyonlar şeklinde ortaya çıkar (Dewey, 1986).

Esrar eski zamanlarda ağrı kesici olarak kullanılmaktaydı. Hayvanlardaki ağrı modellerinde hem endokanabinoidler hem de sentetik CB1 reseptör agonistleri uygulanarak yapılan çalışmalar, kanabinoidlerin kimyasal, mekanik ve termal ağrı uyaranları ile oluşturulmuş akut ağrıya karşı etkili olduğunu göstermektedir (Guindon et al., 2006). Ayrıca, kanabinoidlerin kronik ağrılarda da etkilerinin var olduğu gösterilmiştir (Guindon and Beaulieu, 2006; Li et al., 1999). Kanabinoidlerin ağrı kesici özellikleri merkezi sinir sistemi, omurilik ve periferik sinir sisteminin dahil olduğu bir sistem ile orgaize edilir (Hohmann et al., 1998; Hohmann and Herkenham, 1998).

Kanser ağrıları, kemoterapi sürecindeki iştahsızlık ve bulantılar hastaların yaşamını etkileyen etkileyen faktörlerdir. Bu olumsuz durumları azaltmak amacıyla bitkisel kökenli kanabinoid agonistleri kullanılmaktadır. Kanabinoid reseptör aktivasyonunun kanserli dokularda anti-tümör etkili olduğu çalışmalarda kanıtlanmıştır (Ligresti et al., 2006; Ramer et al., 2010).

Mezokortikolimbik yolakta bulunan dopaminerjik nöronlar, endokanabinoidlerin presinaptik CB1 reseptörleri üzerinden ters yönde sinyal iletimi

ile etki gösterip, düzenledikleri glutamaterjik ve GABAerjik afferentler ile kontrol edilmektedir (Robbe et al., 2002). İlaç bağımlılığına neden olan kanabinoidler aynı opioidler, nikotin ve alkol gibi etkilerini ventral tegmental alanda endokanabinoid salınımıyla gösterirler (Maldonado et al., 2006).

2.5.3. Kanabinoidlerin Epilepsi Üzerine Etkisi

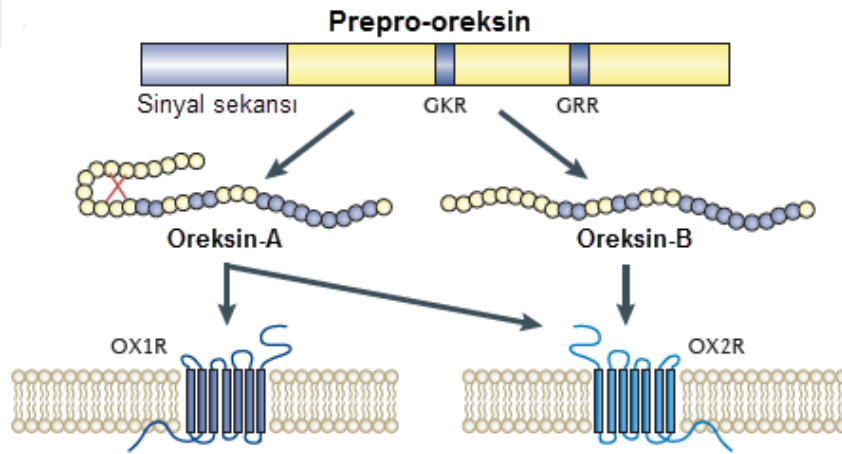
Kanabinoid sistem santral sinir sistemi ve nörofizyolojik olaylardaki etkisinden dolayı önemli bir çalışma alanıdır (Ağar, 2015). Dolayısıyla kanabinoid sistem, kanabinoid odaklı tedavilerin gelişmesi için önemli bir hedeftir. Kanabinoid sistemin beyinde gerçekleşen nöbet aktivitelerin düzenlenmesinde rolü vardır (Wallace et al., 2003; Luszczki et al., 2006; Deshpande et al., 2007). CB1 reseptör agonisti olan ACEA farelerde PTZ ile indüklenen nöbetlere karşı, antikonvulsan etkiye sahiptir (Bahremand et al., 2009). PTZ modelinde spesifik kanabinoid CB1 agonisti olan ACEA (2 ve 8 mg/kg) miyoklonik nöbet üzerinde antikonvulsan etki göstermektedir (Chesher and Jackson, 1974; Karler et al., 1989; Wallace et al., 2001; 2002; Shafaroodi et al., 2004; Blair et al., 2006). Kanabinoidlerin antikonvulsan etkilerinin moleküler mekanizması henüz net değildir. Ancak, CB1 reseptör aktivasyonu ile beraber, doz bağımlı olarak glutamaterjik sistemlerin baskılandığı, GABAerjik sistemlerin ise aktive olduğu düşünülmektedir (Feigenbaum et al., 1989).

Absans modeli WAG/Rij sıçanlarda CB1 reseptör agonisti R(+)WIN55,212'nin doz bağımlı olan DDD insidansını azalttığı, CB1 reseptör ekspresyonunun retiküler talamik çekirdekte azalmasının diken dalga deşarjlarının gelişmesiyle ilişkili olabileceği söylenmiştir. Yine aynı çalışmada bu verilerin, CB1 reseptörlerinin talamik-kortikal ağ içindeki senkronizasyon mekanizmalarında yer aldığı ve CB1 reseptörlerinin yeni anti-absans ilaçları tarafından hedef alınmasının olasılığını arttıracaklarını vurgulanmaktadır (van Rijn et al., 2010). Devamında da WAG/Rij sıçanlarda absans epilepsi modelinde endokanabinoid sistemin azalması, kortekste azalmış mRNA seviyelerine ek olarak talamusta CB1 reseptörlerinin azaltılmış ekspresyonu ile gösterilmiştir (van Rijn et al., 2010). Endokanabinoidler tarafından CB1 reseptörlerinin aktivasyonu GABA salınımını inhibe eder, böylelikle depolarizasyonun indüklediği inhibisyon (DSI) baskılanır (Pitler and Alger, 1994; Hajos et al., 2000; Yoshida et al., 2002; Storozhuk et al., 2006). Ventrobazal talamik çekirdekteki (VBTN) yüksek GABAerjik ton DDD'lerin oluşumunu kolaylaştırır (McCormick and Bal, 1997). Endojen kanabinoid olan anandamid (AEA) ve non-

selektif CB reseptör agonisti WIN55,212'nin retiküler talamik çekirdeğe (NRT) ve ventroposteromedyal talamik çekirdeğe (VPM) infüzyonu odak bölgesinden bağımsız olarak absans nöbetleri azaltırken, selektif CB1 reseptör antagonisti olan rimonabantın (SR141716A) VPM'ye fokal uygulandığında absans nöbetleri artırdığı gösterilmiştir (Citraro et al., 2013).

2.6. Oreksin

Oreksin/hipokretin sistemi 1998 yılında iki grup araştırmacı tarafından belirlendi (de Lecea et al., 1998). Bu peptid sıçanların lateral ventrikülüne enjeksiyonu sonucu besin alımının artırdığı için, araştırmacılar bu peptidi Yunanca'da 'iştah' anlamına gelen "orexis" kelimesinden esinlenerek "orexin" olarak tanımlamışlardır (Sakurai et al., 1998). Sakurai ve ekibi, ilk izole ettikleri peptit formunu oreksin-A (OX-A) olarak adlandırmıştır ve 33 aminoasit uzunluğunda olduğunu belirtirken, benzer şekilde hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda artışa neden olan ve ilkinin %46 oranında (13/28) homoloji gösteren 28 aminoasit uzunluğundaki ikinci peptidi ise oreksin-B (OX-B) olarak tanımlamışlardır.



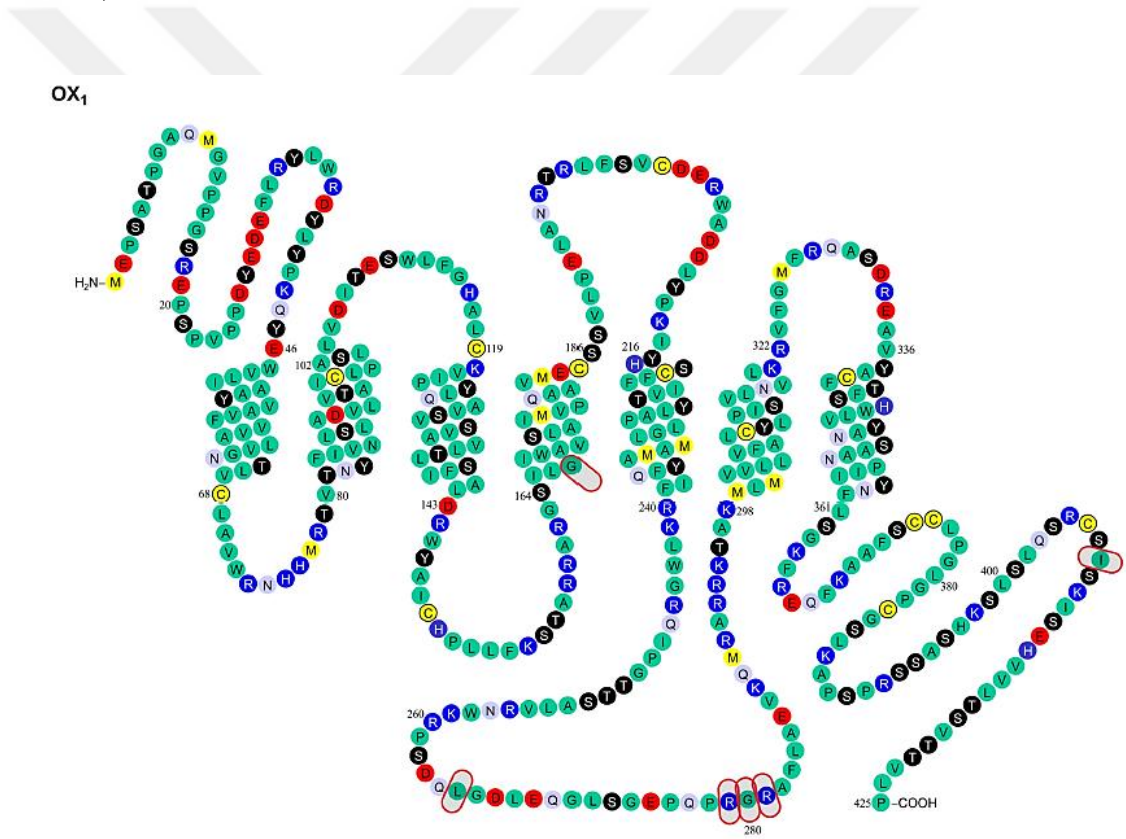
Şekil 2.9. OXA ve OXB'nin amino asit dizilimi (Sakurai, 2014).

Fizyolojik koşullarda OX-A, OX-B'ye göre daha yüksek bir moleküler stabiliteye sahiptir (de Lecea et al., 1998; Sakurai et al., 1998). OX-A, yüksek lipofilik özelliği sayesinde kan-beyin bariyerini hızlı bir şekilde geçer, ancak OX-B düşük lipofilik özelliğe sahip olduğundan kan-beyin bariyerini geçemez ve kanda hızlı şekilde metabolize olur (Mondal et al., 2000; Ripley et al., 2001).

2.6.1. Oreksin Reseptörleri

Oreksin peptitleri için gen varyantları ve özellikle onların G protein-bağlı reseptörleri, OX1 ve OX2 tanımlanmış (Şekil 2.10, Şekil 2.11) ve uyku-uyanıklık dahil olmak üzere şizofrenide polidipsi (Meerabux et al., 2005; Fukunaka et al., 2007), panik bozukluğu (Annerbrink et al., 2011), duygudurum bozuklukları (Rainero et al., 2011), migren (Schürks et al., 2007; Rainero et al., 2011) gibi birçok MSS bozukluğunda araştırılmıştır (Lin et al., 1999).

Bu iki reseptör tipinin sekans homolojisi %64 oranındadır. OX1R için insan ve fare arasında %94 sekans homolojisi bulunurken, OX2R için ise bu oran %95'dir (Smart et al., 1999; Ebrahim et al., 2002; Korczynski et al., 2006; Heinonen et al., 2008).



Şekil 2.10. İnsan OX-1 reseptörünün bilinen aminoasitinin sekans değişken varyantı (Kukkonen, 2013).

bağlanabilir (Milasta et al., 2005; Dalrymple et al., 2011; Duguay et al., 2011). Bu proteinlerin her ikisine bağlanma, reseptörün C-terminalinde gerçekleşir. Bu bölgelerdeki varyasyonlar, oreksin reseptörünün efektörlerle etkileşimini doğrudan etkileyebilirken, aynı zamanda bu etkileşimlerin özgünlüğünü belirleyen reseptör konfigürasyonundaki değişikliklerin bir sonucu olarak efektör eşleşmesini dolaylı olarak değiştirebilir.

GPCR'nin ligand etkileşimi ve sinyalizasyonundaki karmaşıklık, birçok GPCR'nin dimerleşmesinden kaynaklanır (Bulenger et al., 2005; Milligan, 2009). Oreksin reseptörlerinin rekombinant ekspresyon sistemlerinde homo ve hetero dimerize/oligomerize olduğu bilinmektedir (Ellis et al., 2006; Ward et al., 2011; Jäntti et al., 2014). GPCR'ler, dimerizasyon sırasında etkileşim için transmembran sarmalların hidrofobik dış yüzeylerinin yanı sıra hem hücre dışı hem de hücre içi kısımları kullanabilir (Liang et al., 2003). İnsan oreksin reseptörlerinde de benzer bir yapı mevcuttur. Oreksin reseptör sinyalizasyonunu güçlendirmek için OX1-CB1 dimerizasyonu önerilmiştir, bu sinyalizasyonun güçlenmesi için olası açıklama OX1 reseptör sinyalinin 2-araşidonil gliserol, CB1 reseptör ligandı, üretme kabiliyetinin oluşu ve ardından reseptörlerin bir ortak sinyali tarafından sunulduğu yönündedir (Haj-Dahmane and Shen, 2005; Turunen et al., 2012; Jäntti et al., 2013). Fosfolipaz-C (PLC), oreksin aracılı endokannabinoid oluşumunda rol alır (Haj-Dahmane and Shen, 2005; Ho et al., 2011). PLC, sn-1 konumunda DAG lipaz tarafından hidrolize edilerek sn-2-monoasilgliserol üreten DAG üretir. sn-2 yağ asidinin araşidonik asit olduğu durumlarda ortaya çıkan monoasilgliserol, güçlü bir endokannabinoid, yani CB1 ve CB2 kanabinoid reseptörlerinde agonist olan 2-araşidonil gliseroldür (2-AG). O halde oreksin sinyali, sıçan dorsal rafe çekirdeğinde ve periakvaduktal gri maddede şu şekilde CB1 reseptörü aktivasyonuna dayandığı gösterilmiştir: oreksin reseptör→Gq→DAG (PLC)→ 2-AG (DAG lipaz)→ CB1 reseptör (Lawrence and Lecea, 2017).

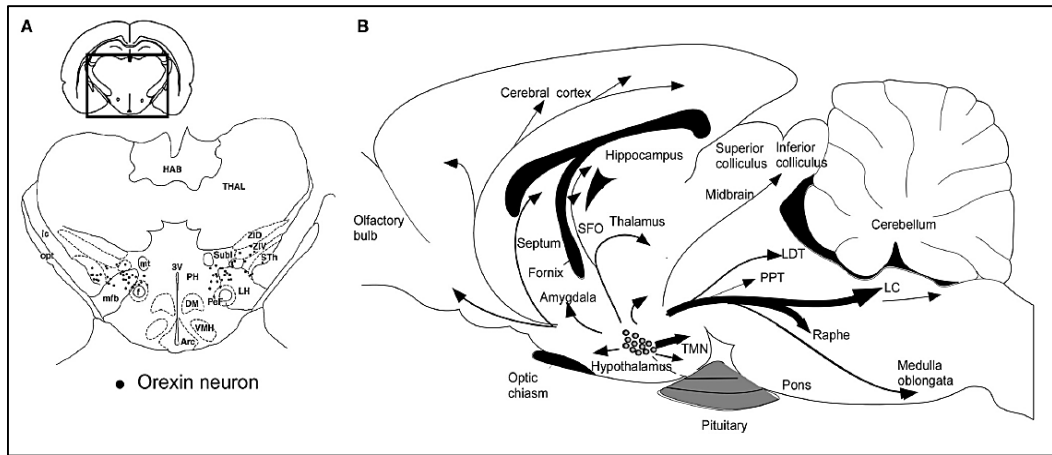
Her iki reseptörün aktivasyonu sonucu hücrede iki farklı yanıt oluşur. Bunlardan ilki fosfolipaz-C (PLC)'nin aktivasyonu, diğeri ise hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışıdır (Lund et al., 2000). Kalsiyum yanıtında hızlı bir pik evresini kademeli olarak azalan bir plato evresinin takip etmesi hem hücre içi, hem de hücre dışı kalsiyum kaynaklarının katkısını göstermektedir (Ebrahim et al., 2002; Kukkonen et al., 2002). İzole sıçan ventral tegmental nöronlarında OX-A'ya bağlı

artan sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonunun PLC inhibitörü D609 ve protein kinaz-C (PKC) inhibitörü kalfostin-C ile engellendiği tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra bu kalsiyum artışı, N ve L tipi voltaja duyarlı kalsiyum kanal blokörleri ω -conotoxin ve nitrendipine ile de inhibe edildiği gösterilmiştir (Uramura et al., 2001).

2.6.2. Oreksinerjik Nöronların ve Reseptörlerinin Dağılımı

Oreksinerjik nöronlar, lateral hipotalamustan beyin sapı, serebral korteks ve limbik sistem dahil olmak üzere beyin farklı bölgelerine, hücre ölümüne kadar çeşitli aktivitelere aracılık ederek projekte olurlar (Kukkonen and Leonard, 2014).

Oreksin nöronlarına girdilerin ilk kapsamlı çalışması, özellikle oreksin nöronlarına girdileri ortaya çıkarmak için genetik olarak kodlanmış retrograd izleyici, tetanoz toksini kullanılarak Sakurai ve arkadaşları (Sakurai et al., 2005) tarafından gerçekleştirildi. Bu yaklaşımı kullanarak araştırmacılar, medial prefrontal korteks (mPFC), bazal ön beyin, bazolateral ve medial amigdala, arkuat çekirdek, paraventriküler çekirdek ve medyan rafe çekirdeği (MRN) dahil olmak üzere ödülle ilgili çeşitli bölgelerden güçlü projeksiyonların varlığını belirlemişlerdir. Yoshida ve arkadaşları (Yoshida et al., 2006) nükleus accumbens kabuğu, dorsolateral septum, ventral pallidum, merkezi amigdala, VTA ve ventromedial ve ön hipotalamustan gelen güçlü projeksiyonların yanı sıra Sakurai ve diğerleri tarafından tanımlanan girdilerin çoğunu doğrulamıştır.



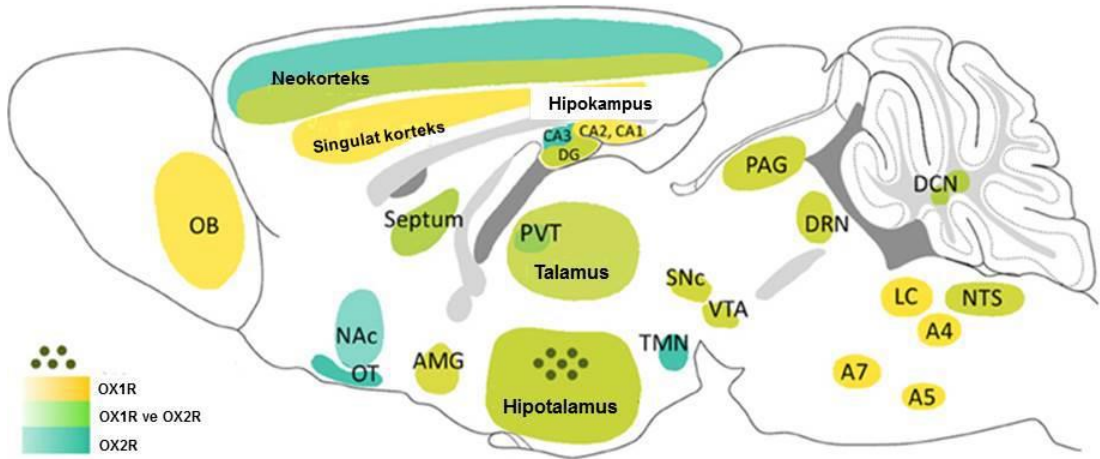
Şekil 2.12. Oreksin nöronal sistemini özetleyen, sıçan beyninden alınan koronal ve sagittal kesitin şematik çizimi. A. Prepro-oreksin mRNA içeren nöronlar, siyah olarak gösterilmiştir. LH, lateral hipotalamik alan; PeF, perifornik çekirdek; PH, arka hipotalamik alan; Sth, subtalamik çekirdek; SubI, subincertal çekirdek; ZIV, ventral zona incerta. THAL, talamus; HAB, habenüler kompleks; ic, iç kapsül; opt, optik yol; mt, mamillotalamik yol; f, forniks; mfb, medial ön beyin demeti; 3V, üçüncü ventrikül; Ark, kavisli hipotalamik çekirdek; DM, dorsomedial hipotalamik çekirdek; ve VMH, ventromedial hipotalamik çekirdek. B. Oreksin nöronları yalnızca lateral hipotalamik bölgede bulunur

ve tüm merkezi sinir sistemine yansır. Okların kalınlığı nispi bolluğu temsil eder. projeksiyonlar. Kısaltmalar: 3V, üçüncü ventrikül; 4V, dördüncü ventriküler; TMN, tuberomamiller çekirdek; LC, locus coeruleus; LDT, laterodorsal tegmental çekirdek; PPT, pedünkülopontin çekirdek (Tsujino and Sakurai 2013).

Beyinde oreksin nöronlarının bulunduğu bölgelerinin hasar görmesi veya nörodejeneratif hastalıklar (Huntington's hastalığı, Guillain-Barre Sendromu, Parkinson hastalığı gibi) bu nöronların kaybına neden olabilmektedir (Allard et al., 2004; Nakamachi et al., 2005).

Rat beyinde pre-pro oreksin mRNA perifornikal, lateral ve dorsal hipotalamustaki nöronların etkisi altındadır (Rodgers et al., 2002; Baumann and Bassetti, 2005; Bellinge. and Bernardis, 2002). Nakabayashi ve arkadaşlarının (Nakabayashi et al., 2003) yaptığı çalışmada pre-pro oreksin için mRNA ekspresyonunun; böbrek, adrenal bez, pankreas, plesanta, mide, ileum, kolon ve kolorektal epitel hücrelerinde olduğu tanımlanmıştır. Bu sonuç, oreksin A yapımının insan periferik dokularında da olduğunu göstermektedir (Nakabayashi et al., 2003). Oreksinin pankreasın endokrin hücrelerinde de olduğu saptanmış fakat buradaki fonksiyonel önemi net olarak tanımlanamamıştır (Ouedraogo et al., 2003).

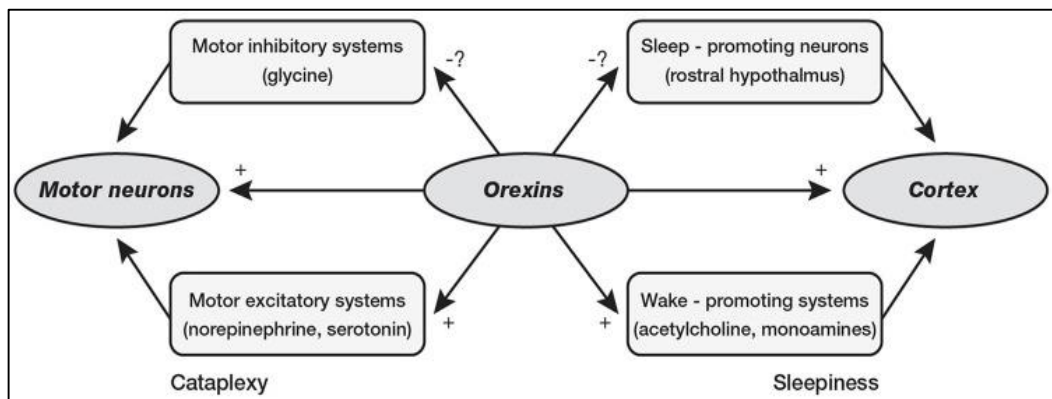
Beyinde OX-1R ve OX-2R'nin farklı yerleşim yerleri vardır. Oreksin reseptörleri, hipotalamus, paraventriküler çekirdek, tenia tekta, hipokampal formasyon, dorsal rafe ve lokus seruleus dahil olmak üzere beyin farklı bölgelerinde ifade edilir. Ratlarda OX-1R daha çok hipotalamusta OX-2R ise paraventriküler çekirdekte bulunur. Ek olarak OX-2R serebral korteks, nükleus akkumbens, subtalamik çekirdeklerde ve anterior pretektal çekirdekte de (Trivedi et al., 1998) ekprese edilir. Çalışmalarda oreksin reseptörlerinin bağırsak ve hipofiz bezinde bulunduğunu hatta OX-1R'nin kahverengi yağ dokusunda, OX-2R'nin adrenal medullada olduğu belirtilmiştir. Oreksin A'nın OX1R ile, oreksin B'nin ise OX2R ile daha iyi bağlandığı gösterilmiştir (Hungs and Mignot, 2001; Mieda and Yanagisawa, 2002; Smart and Jerman, 2002; Gültekin et al., 2004; Wilding, 2002). Oreksin reseptörleri insanlarda suprakiasmatik çekirdeklerde, hipofiz bezinde, periferik dokularda (kalp, karaciğer, böbrek, akciğer) testis ve bağırsakta çok az olmakla birlikte bulunmaktadır (Ripley et al., 2001; Rodgers et al., 2002; Mitsuma et al., 2000) (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. OX reseptörlerinin beyindeki dağılımı. AMG, amigdala; DCN, derin serebellar nükleus; DRN, dorsal rafe nükleus; LC, locus coeruleus; NAc, nükleus akkumbens; NTS, nükleus traktus solitarius; OB, olfaktör bulbu; olfT, olfaktör tüberkül; PAG, periaquaduktal gri cevher; PVT, talamusun paraventriküler nükleusu; SNc, substansiya nigra pars kompakta; TMN, tüberomamiller nükleus; VTA, ventral tegmental alan (Flores et al., 2013).

2.6.3. Oreksinlerin Fizyolojik Etkileri

Oreksinin normal uyku sürecinin düzeni, iştah, nöroendokrin fonksiyon ve enerji metabolizması üzerine etkileri vardır. Ayrıca üreme sistemi ve insülin, leptin, katekolaminler gibi bazı hormonların salınımında düzenleyici olduğu bilinmektedir (Hungs and Mignot, 2001; De Lecea et al., 2002; Baumann and Bassetti, 2005; Espana and Scammell, 2004; Gültekin ve Şahin , 2005; Steininger et al., 2004; Schneider, 2004). Bunun yanı sıra ağrı iletimi, gastrointestinal ve kardiyovasküler sistemde etkili olduğu bilinmektedir (Ebrahim et al., 2002; Kukkonen et al., 2002).



Şekil 2.14. Oreksin nöronlarının beyinde ana projeksiyonlarını gösteren şematik çizim. Lateral hipotalamik alandan (LHA) ve posterior hipotalamustan (PH) kaynaklanan oreksin nöronları, özellikle monoaminerjik ve kolinerjik çekirdeklere yoğun projeksiyonlarla serebellum hariç locus coeruleus (noradrenalin içeren LC), tüberomamiller çekirdek (histamin içeren TMN), rafe çekirdekleri (Raphe, serotonin içeren) ve laterodorsal/pedunklopontin tegmental çekirdekler (LDT/PPT), asetilkolin içeren dahil beyin sapı ve hipotalamik bölgeleri içeren tüm MSS'ye uyarıcı projeksiyonlar göndererek uyku ve uyanıklığı ve uyarılmanın sürdürülmesini düzenler. Oreksin nöronları

ayrıca ventral tegmental alan (VTA, dopamin içeren) ve beslenme davranışını uyaran hipotalamik çekirdekler aracılığıyla ödül sistemi ile bağlantılara sahiptir (Chieffi et al., 2017).

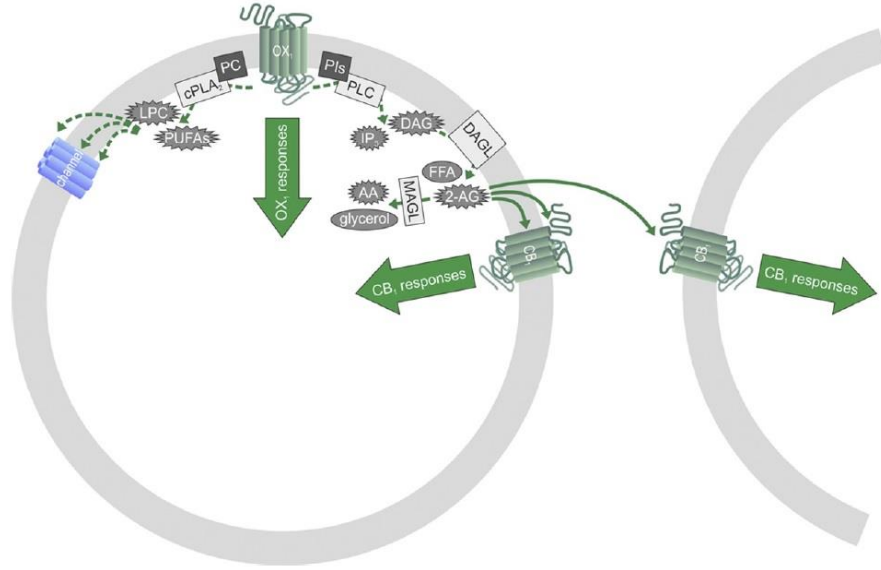
İnsan ve hayvanlarda oreksin eksikliğinin neden olduğu narkolepsi ile gösterildiği gibi, orexin sistemi uyanıklık durumunun korunması için çok önemli görünmektedir (Chemelli et al., 1999; Lin et al., 1999). Narkolepsi, uyanıklık sırasında aktivitelerini artırma eğiliminde olan ve locus coeruleus, raphe gibi aminerjik çekirdekleri aktive eden oreksin içeren nöronların kaybının sonucudur (Saper et al., 2001; Espana and Scammell, 2011). Oreksin nöronları uykudan uyanıklığa geçiş dönemi olan hızlı göz hareketleri (REM) döneminde aktif, derin uykunun yaşandığı hızlı olmayan göz hareketleri (NREM) döneminde ise daha az aktiftir (Espana and Scammell, 2004; Grady et al., 2006). Ayrıca, muhtemelen uyku modülasyonundaki aynı role bağlı olarak, oreksin de NREM uyku dengesizliği ile bilişsel bozulma ve davranış sorunları (McCoy and Strecker, 2011) riski arasındaki bağlantı tarafından önerildiği gibi migrenin (Rainero et al., 2008) patogenezinde rol oynuyor gibi görünmektedir.

Oreksinlerin beslenme ve enerji metabolizması üzerinde de etkili olduğu bilinmektedir. Transgenik farelerde hipotalamik oreksin içeren nöronların kaybı beslenme anormallikleri ve enerji homeostazında düzensizliğe sebep olmuştur (Yokobori et al., 2011). Shiuchi ve arkadaşları (2009), oreksinerjik sistemin kas glukoz metabolizması üzerindeki aracılık ettiği düzenlemenin, β 2-adrenerjik sinyalizasyon üzerinden ve dolayısıyla periferik enerji harcamasından kaynaklandığını gözlemlemiştir. Oreksinlerin aracılık ettiği kalıcı bir uyanıklık durumu, gıda alımı motivasyonu için de önemli olabilir. Hayvanlar gıda erişiminin azaltılması ile karşı karşıya kaldıklarında, bu duruma daha uzun bir uyanıklık periyodu ile uyum sağlar (Viggiano et al., 2009). Lateral hipotalamusa oreksin enjekte edilen ratların beyinlerinde, yemeyi düzenleyen nöronların aktive olduğu ve yemek yemenin uyarıldığı saptanmıştır (Smart and Jerman, 2002; Peyron et al., 1998; Kalra et al., 1999; Espana et al., 2002). Yamada ve arkadaşları (Yamada et al., 2000) 24 saat aç bırakılan ratlara oreksin ve oreksin reseptör antagonisti olan SB-334867-A'nın i.s.v. enjeksiyonu sonrasında, oreksin enjeksiyonuyla yiyecek alımının arttığını, SB-334867-A enjeksiyonu ile yiyecek alımının azaldığı gözlemlemiştir. Oreksinlerin ve endokannabinoidlerin iştah uyarımındaki fizyolojik işlevleri benzerdir ve tokluk habercisi ve oreksinerjik nöronların negatif düzenleyicisi olan

leptin (Håkansson et al., 1999; Lo'pez et al., 2000), aynı zamanda endokannabinoid düzeylerinin de negatif düzenleyicisidir (Di Marzo et al., 2001). OX1 reseptörü stimülasyonu CHO (Chinese hamster ovary) hücrelerinde, DAGL'yi aktive ederek önemli endokannabinoid olan 2-AG üretimini indükler (Turunen et al., 2012). Diğer bir çalışmada, bu 2-AG'nin CB1 kanabinoid reseptörleri üzerinde hem oto- hem de parakrin haberci olarak hareket edebildiğini gösterilmiştir (Jäntti et al., 2013) (Şekil 2.15). Floresan rezonans enerji transferi görüntüleme yöntemi, CB1R-OX1R heterodimerlerinin, hücre içi veziküllerde bulunduğunu gösterir (Ellis et al., 2006; Ward et al., 2011). Bu reseptör alt tiplerini birlikte eksprese eden rekombinant hücrelerde, OX1R aktivitesi yalnızca 2-AG sentezini indüklemekle kalmaz, aynı zamanda bu rekombinant hücrelerin hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) aktivitesini de güçlendirir (Jäntti et al., 2014).

Oreksinin kardiyovasküler sistem üzerine olan etkilerine bakıldığında, oreksin sempatik sinir sistemini aktive ederek kan basıncı ve kalp atım sayısını etkilediği görülmüştür (Williams et al., 2001; Williams et al., 2004; Geerling et al., 2003; Dun et al., 2000). Samson ve arkadaşları (1999) oreksin A ve oreksin B enjekte edilen ratlarda kan basıncının arttığını bildirmişlerdir.

Oreksinerjik sinir liflerinin projeksiyonlarının tüm medulla spinalis segmentlerine kadar ulaşması, oreksinlerin ağrı iletiminde düzenleyici bir etkisinin olabileceği fikrini akıllara getirmiştir. OX-A santral yoldan uygulandığında mekanik, kimyasal, termal uyarılara karşı antinosiseptif etki gösterirken, bu etkiler adenosin tip-1 reseptör antagonisti ile ortadan kaldırılmıştır (Mobarakeh et al., 2005). Oreksinlerin analjezik etkilerinin opioid sistemden bağımsız olduğu ve söz konusu bu etkilerini hem beyin, hem de medulla spinaliste eksprese olan reseptörleri aracılığı ile yaptığı düşünülmektedir (Ebrahim et al., 2002; Korczynski et al., 2006).



Şekil 2.15. Orexin reseptörünün uyarılması, hem PLC (PLCβ)-DAGL hem de cPLA2 kaskadlarının aktivasyonuna yol açar. CB1 reseptörü-bağımlı ve diğer OX1 ile tetiklenen sinyal basamakları, hücre içinde etkileşime girebilir. 2-AG hücrelerden çıkabilir ve çevre hücrelerde CB1 reseptörlerini uyarabilir. DAGL aktivitesinin diğer ürünleri, özellikle doymuş serbest yağ asitleri (FFA), önemli sinyal rollerine sahip olmayabilir. cPLA2 muhtemelen fosfatidilkolin (PC) üzerinde etki ederek lizofosfatidilkolin (LPC) ve AA gibi çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA'lar) üretimine yol açar. Ya lizofosfatidilkolin ya da çoklu doymamış yağ asitleri ya da bunların metabolitleri, oreksin reseptörü tarafından işlenen Ca^{2+} kanal aktivasyonuna katkıda bulunur (Turunen et al., 2012).

2.6.4. Oreksin ve Epilepsi

Son yıllarda, epilepside ilaç hedefi olarak oreksinerjik sistemin kullanımı artmaktadır. Ancak oreksinlerin epilepsi patogenezindeki rolleri tartışmalıdır. Bazı çalışmalar oreksinlerin antiepileptik olduğunu gösterirken (Rejdak et al., 2009; Doreulee et al., 2010) diğer yandan oreksinlerin epilepsi patogenezinin artırdığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Goudarzi et al., 2015; Roundtree et al., 2016; Ng, 2017). Oreksin nörotransmisyonunun uyanıklıkta yüksek, yavaş dalga uykusunda hafif ve REM uykusunda olmadığı çalışmalarda gösterilmiştir (Tsujino and Sakurai, 2009; Schwartz and Kilduff, 2015). Öte yandan, uyku yoksunluğunun beyin omurilik sıvısındaki oreksin düzeylerini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Tsujino and Sakurai, 2009; Schwartz and Kilduff, 2015). Tüm bu sonuçlar birlikte ele alındığında, oreksin seviyesinin yüksek olduğu dönemlerde nöbet eğiliminin daha yüksek, oreksinin olmadığı dönemlerde ise daha az olduğu sonucuna varılabilir. Bu nedenle, oreksinerjik iletimin aşırı aktivitesinin nöbet ile ilişkili olduğunu tahmin etmek mümkündür (Berhe et al., 2020). Ancak bunların aksine Oreksin-A'nın bikukilin modeli epilepsi gibi patolojik durumlarda amplitüdün uzun süreli depresyonuna, çoklu spike'ların süresine ve CA1 bölgesindeki deşarjlardan sonra

spontan epileptiform aktivitenin inhibisyona neden olduğu da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Doreulee et al., 2010). Fakat mekanizmasıyla alakalı net bir yorum yapılmamıştır.

Kortunay ve arkadaşları, kortikal penisilin modeli epileptik yetişkin ratlarda oreksin-A ve oreksin-B'nin intrakortikal uygulanmasının epileptik aktiviteyi artırdığını göstermişlerdir, ayrıca spike sayısı ve amplitüdünde kontrol grubuna göre epileptik kasılmalarında artış gözlemlemişlerdir (Kortunay vd, 2012). Bu çalışmayla uyumlu olarak Erken ve arkadaşları (2012) herhangi bir epileptojenik ilaç kullanmadan her iki oreksinin epileptojenik etkisini araştırmıştır. Orexin-A ve B ile tedavi edilen sıçanların ekstremitelerinde EEG toplam spektrumunda ve tonik-klonik kasılmalarda artış gözlemlerken, negatif kontrollerde herhangi bir değişiklik gözlenmemişlerdir (Erken vd, 2012). Ayrıca moleküler ve hücresel düzeyde, oreksinlerin hipokampal nöronların uyarılabilirliğini arttırdığı ve uyarıcı nörotransmitter seviyelerini arttırdığı bulunmuştur (Chen et al., 2017). Birkaç çalışma, oreksin reseptör antagonistlerinin intrahipokampal ve intraventriküler enjeksiyonlarının, hayvan pentilentetrazol (PTZ) modellerinde nöbet şiddetini ve süresini azalttığını göstermiştir (Ni et al., 2014; Goudarzi et al., 2015; Kordi Jaz et al., 2017).

Hipokampus, öğrenme ve hafıza için çok önemlidir, ayrıca nöbetlere ve epilepsiye karşı oldukça hassastır (Goudarzi E. et al., 2015). Hipokampal OX1R ve OX2R, OX-A'nın i.s.v. enjeksiyonları (Aou et al., 2003; Jaeger et al., 2002; Telegdy and Adamik, 2002) ve OX-A'nın PTZ kaynaklı öğrenme bozukluğu üzerindeki iyileştirici etkisi (Zhao et al., 2014) ile kanıtlandığı gibi öğrenme ve bellek paradigmlarında temel bir rol ile CA1, CA2, CA3 ve dentat girusta (Cluderay et al., 2002; Marcus et al., 2001; Trivedi et al., 1998) tanınmıştır. Ayrıca, kainik asit uygulanan sıçanlarda status epileptikustan (SE) sonra oreksin reseptörlerinin (OXR'ler) kademeli olarak arttığı gözlemlenmiştir (Zhu et al., 2015). Glutamat ve GABA (gama-aminobütirik asit), temel eksitator ve inhibitör nörotransmitterlerdir ve düzeylerindeki herhangi bir dengesizlik ilgili devrelerin uyarılabilirliğini değiştirir, bu da epilepsinin karakteristik bir özelliğidir (Andre et al., 2001; Bernard et al., 1997). OXA'nın hipokampal dilimlere uygulanması GABAerjik ve glutamaterjik sinir iletimi arasındaki dengeyi modüle ettiğinden, lateral hipotalamik nöronlardan kaynaklanan hipokampusta salınan oreksinler hipokampal uyarılabilirliği

etkileyebilir (Selbach et al., 2004). Bu nedenle, OXR'leri nöbet ve epilepsiye dahil olabilir, epilepside ve hatta status epileptikusta tekrarlayan spontan nöbetlere yol açabilir, hipokampal nörotransmisyon yoluyla davranışsal kasılmaları kontrol edebilir (Stanley and Fadel, 2011).

2.7. Hemopressin

Hemopressin (PVNFKFLSH), hemoglobinin α zincirinden köken alan bir nanopeptittir ve ilk olarak 2003'te endopeptidaz 24,16 (neurolysin), endopeptidaz 24,15 (thimet oligopeptidase) ve anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) substratı olarak sıçan beyin homojenatlarından izole edilmiştir (Rioli et al., 2003). Hemopressin adının kökeni, hipotansif aktivitesi ile ilgilidir (Rioli et al., 2003). Bu nedenle hemopressin, kan basıncını etkileyen hemoglobin türevli bir peptit anlamına gelir (Blais et al., 2005; Lipton et al., 2006; Rioli et al., 2003).

Hemopressinin, selektif olarak CB1 kanabinoid reseptörlerine bağlanır, CB2 reseptörünü de içeren tüm G-protein ile ilişkili reseptör familyasını etkilemez ancak CB1 reseptör agonisti veya antagonisti olup olmadığı net değildir (Heimann et al., 2007; Dodd et al., 2010; Li et al., 2016). Yapılan bir çalışmada hemopressinin hücresel hedefi CB1 reseptörü olarak tanımlandı ve in vitro testler, hemopressinin CB1 reseptörünün selektif ters agonisti olduğunu ortaya çıkardı (Heimann et al., 2007). Peptidin, CB1 için benzer bir bağlanma afinitesi ($EC_{50}=0,35$ nM) sergilediği ve reseptörde Rimonabant, CB1 Reseptör agonisti, ile benzer bir şekilde sinyal verdiği gösterilmiştir (Heimann et al., 2007). Ayrıca, hemopressinin normal ve obez hayvan modellerinde olumsuz yan etkilere neden olmadan CB1'e bağlı bir şekilde gıda alımını engellediği gösterilmiştir (Dodd et al., 2010). Hemopressinin, esas olarak mediobazal hipotalamusun beslenmeyle alakalı kısımlarında ve santral amigdala, talamus gibi bölgelerinde aktivitesinin olduğu, basal ganglionlarda herhangi bir aktiviteye sahip olmadığı yapılan çalışmada gösterilmiştir (Dodd et al., 2013).

2.7.1. Hemopressin'in Fizyolojik Etkileri

Hemopressin, merkezi veya sistemik olarak uygulandığında, normal erkek sıçanlarda ve farelerde ve ayrıca obez ob/ob erkek farelerde doza bağlı olarak gece gıda alımını azaltır (Dodd et al., 2010). Hemopressinin anorektik etkisi, CB1R olmayan mutant erkek farelerde görülmediği için bu etkisinin CB1R aracılığıyla olduğu söylenmiştir (Dodd et al., 2010). Hemopressinin anorektik etkilerine aracılık eden nöronal devre esas olarak mediobazal hipotalamusun beslenmeyle ilgili

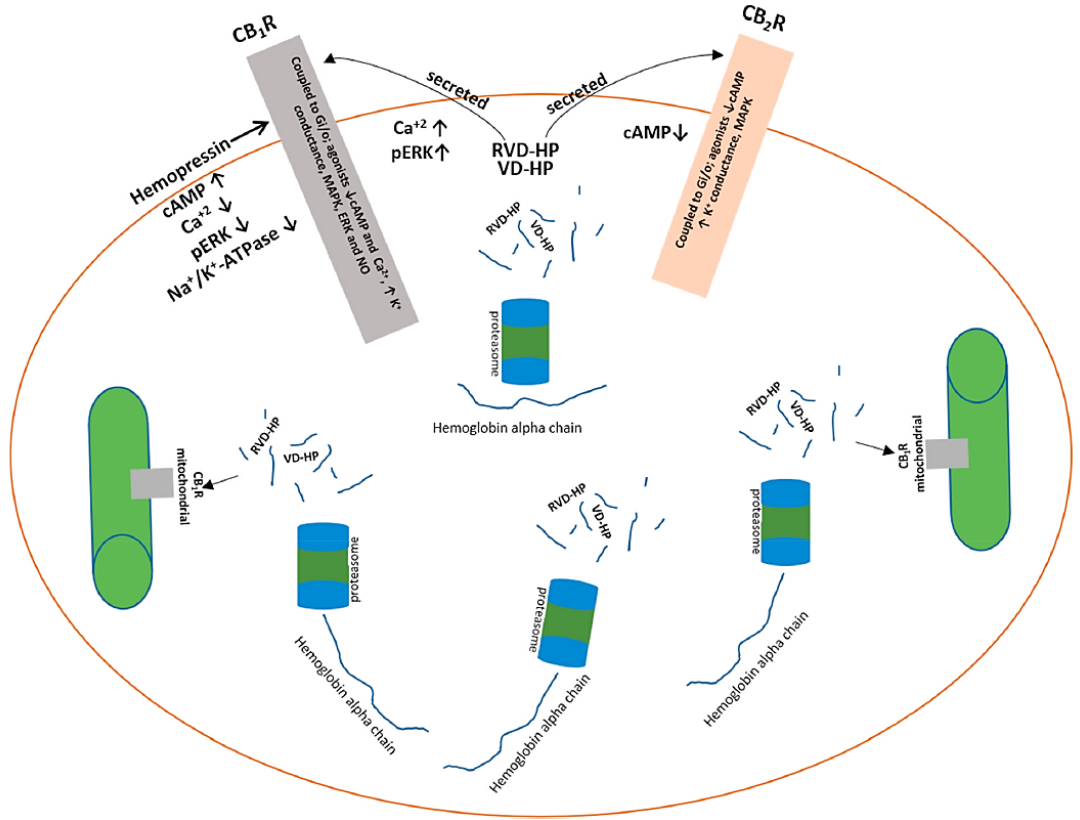
devrelerini ve periakvaduktal gri ve dorsal rafenin nosiseptif bölgelerini içerir (Dodd et al., 2010; Reckziegel et al., 2017).

Hemopressin, prostasiklin dahil siklooksijenaz ürünlerinin oluşumundan bağımsız olarak nitrik oksitin endojen salınımı yoluyla sıçan sistemik vasküler yatağın dilatasyonunda bir azalmaya neden olur (Lippton et al., 2006). Hemopressinin antinosiseptif aktivitesi, intratekal, intraplantar veya oral yoldan uygulanıp uygulanmadığına bakılmaksızın farklı ağrı modellerinde de gözlemlendi (Dale et al., 2005; Hama and Sagen, 2011; Heimann et al., 2007; Toniolo et al., 2014). İntraplantar hemopressin uygulaması (eş zamanlı olarak veya 2,5 saat sonra), bradikinin tarafından indüklenen hiperaljeziyi tersine çevirmiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, hemopressinin antinosiseptif etkisi sıçanların sağ patisine karragenan (200 µg) ve sol patisine hemopressin (10 µg) enjekte edilmiş ve sağ pati hiperaljezisi 3 saat sonra ölçüldüğünde bile gözlemlenmiştir (Dale et al., 2005). Hemopressinin bu sistemik antinosiseptif etkisi, nalokson tarafından antagonize edilmemiştir, bu da opioid reseptörlerinin dahil olmadığını düşündürmüştür (Dale et al., 2005). Oral olarak uygulanan hemopressinin etki mekanizması CB1R ters agonizmine ek olarak, anandamidin lokal salınımını ve periferik K⁺ kanallarının açılmasını da içerir (Toniolo et al., 2014).

Hemopressin'in hem normal kilodaki ve hem de obez hayvanlarda kan beyin bariyerini geçip iştah üzerinde baskılayıcı etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Dodd et al., 2010). Farklı çalışmada farelerde i.s.v. hemopressinin verilmesinin gastrointestinal motile üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ve bu etkinin AM-251 (selektif CB1 reseptör antagonisti) ile yok edildiği bildirilmiştir (Li et al., 2016).

Xapelli ve arkadaşları (Xapelli et al., 2014), CB1R reseptörlerinin bir modülatörü olarak görev yapan hemopressinin, yeni doğmuş olan farelerin subventriküler bölgesinden türetilen kök hücreleri içeren nöral kültürlerde oligodendroglia farklılaşmasını arttırdığını göstermiştir. Bu sonuçlar ayrıca hemopressinlerin endokannabinoidler gibi fizyolojik bir işleve sahip olduğunu ve demiyelinizan hastalıkları tedavi etmek için terapötik olarak kullanılabileceğini ileri sürdü (Xapelli et al., 2014). Hemopressin ve fragmanı NFKF ile yapılan bir çalışmada oral verildiğinde aktif olduğu, ayrıca farelerde pilokarpin kaynaklı nöbetlerin ilk salivasyonunu ve nöbetini geciktirdiği, oral uygulanan NFKF'nin, farelerde pilokarpinin neden olduğu ilk nöbeti geciktirmede kannabidiolden yüz kat

daha etkili olduğu gösterilmiştir (de Araujo et al., 2019). Ayrıca 0.6 µg hemopressinin, penisilin modeli epileptik aktiviteyi artırdığı görülmüştür (Aygün vd., 2020). Kanabinoid CB1 reseptör sisteminin epilepside rol oynadığı açıkça belirtilmiştir, ancak hemopressinin epilepsi üzerindeki etkisi yine daha önce laboratuvarımız dışında çalışılmamıştır. Hemopressinin epileptik aktivite üzerindeki etkisinin aydınlatılması bu açıdan önemlidir. Böylelikle hemopressinin epilepsideki rolünün CB1 reseptör agonisti gibi mi yoksa antoginisti gibi mi olduğu anlaşılacaktır.



Şekil 2.16. Hemopressinler, hemoglobin α zincirinden türetilen endokannabinoidlerdir. Hemopressin, sentetik kannabinoid aracılı sinyalleşmeyi bloke etmesi bakımından bir CB1R antagonisti olarak işlev görür. Ancak kendi başına, CB1R antagonisti AM251 gibi KCl⁻ ile uyarılan Ca²⁺ artışını azalttığı için (Toniolo et al., 2014) ters bir agonisttir. CB1R ters agonisti olarak davranan hemopressin, yüksek bazal inhibitör G-protein aktivitesini ve yüksek bazal ERK fosforilasyonunu antagonize edebilir (Heimann et al., 2007). CB1R üzerinde etkili olan hemopressin, böbrek epitel hücreleri LLC-PK1'de Na⁺/K⁺ ATPaz aktivitesini inhibe eder (Sampaio et al., 2015). Kendi başına RVD-HP ve VD-HP salgılandıktan sonra (Gelman et al., 2013), CB1R aracılı ERK fosforilasyonunu ve Ca²⁺ salınımını artırarak agonist gibi davranabilir (Gomes et al., 2009). RVD-HP ayrıca CB2R'nin pozitif bir allosterik modülatörü olarak işlev görür.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Deney Hayvanları

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 2018/44 Kabul nolu çalışmamızda 180-270 gr olan 70 tane erkek Wistar sıçan ve 240-310 gr ağırlığında 84 adet erkek WAG/Rij sıçan kullanıldı. Wistar sıçanlar doğal aydınlık-karanlık döngüsünde 3-5 aylık oluncaya kadar, WAG/Rij sıçanlar da 6-8 aylık döneme kadar su-yem kısıtlaması olmadan yetiştirildi.

3.2. Kimyasal Maddeler ve Veriliş Yolları

Penisilin G Potasyum

Moleküler formülü: $(C_{16}H_{17}KN_2O_4S)$,

Molekül ağırlığı: 372,48 g/mol

Çözücü: Steril fizyolojik tuzlu su (SF)

AM-251:

Spesifik kanabinoid-1 reseptör antagonisti

Moleküler formülü: $C_{22}H_{21}N_4OClI$ (A6226, Sigma)

Moleküler ağırlığı: 555.24 g/mol

Çözücü: DMSO

7,5 µg AM251 2 µl hacminde i.s.v. enjekte edildi.

ACEA :

Spesifik kanabinoid-1 reseptör agonisti

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

Moleküler ağırlığı: 3188,63 g/mol

Çözücü: DMSO

7,5 µg ACEA 1 µl hacminde i.s.v. enjekte edildi.

Oreksin-A: (OX-A, Hipokretin-1)

Oreksin reseptör agonisti

Moleküler formülü: $C_{152}H_{243}N_{47}O_{44}S_4$ (Cayman 15073),

Moleküler ağırlığı: 3561,10 g/mol

Çözücü: DMSO

2 µg OX-A 1 µl hacimde, 4 µg OX-A 1,33 µl hacimde, 8 µg OX-A 2,66 µl hacimde, 16 µg OX-A 5,33 µl hacimde i.s.v. enjekte edildi.

SB-334867:

Oreksin reseptör antagonisti

Moleküler formülü: $C_{17}H_{13}N_5O_2$, 319,32 g/mol (Sigma SML1530)

Çözücü: DMSO

1,5 µg SB-334867 1 µl hacimde, 3 µg SB-334867 1 µl hacimde, 6 µg SB-334867 1,2 µl hacimde, 12 µg SB-334867 2,4 µl hacimde i.s.v. yolla enjekte edildi.

Hemopressin trifluoroacetate salt:

Moleküler formülü: $C_{53}H_{77}N_{13}O_{12} \cdot xC_2HF_3O_2$ (Sigma H3042)

Moleküler ağırlığı: 1088,26 g/mol

Çözücü: SF.

0,6 µg Hemopressin 1 µl hacimde i.s.v. yolla enjekte edildi.

3.3. Deney Grupları

Penisilin modeli için:

1. DMSO grubu
2. 500 IU Penisilin grubu (i.k.)
3. 500 IU Penisilin + 2 µg OX-A (i.s.v.) grubu
4. 500 IU Penisilin + 4 µg OX-A (i.s.v.) grubu
5. 500 IU Penisilin + 8 µg OX-A (i.s.v.) grubu
6. 500 IU Penisilin + 16 µg OX-A (i.s.v.) grubu
7. 500 IU Penisilin + 1,5 µg SB-334867 (i.s.v.) grubu
8. 500 IU Penisilin + 3 µg SB-334867 (i.s.v.) grubu
9. 500 IU Penisilin + 6 µg SB-334867 (i.s.v.) grubu
10. 500 IU Penisilin + 12 µg SB-334867 (i.s.v.) grubu

Absans modeli için:

11. WAG/Rij kontrol grubu
12. OX-A (i.s.v.) grubu

13. SB-334867 (i.s.v.) grubu
14. Hemopressin (0,6 µg, i.s.v.) grubu
15. AM-251 (0,50 µg, i.s.v.) grubu
16. ACEA (7,5 µg, i.s.v.) grubu
17. OX-A (i.s.v.) + 0,6 µg Hemopressin (i.s.v.) grubu
18. SB-334867 (i.s.v.) + 0,6 µg Hemopressin (i.s.v.) grubu
19. OX-A (i.s.v.) + 0,50 µg AM-251 (i.s.v.) grubu
20. SB-334867 (i.s.v.) + 0,50 µg AM-251 (i.s.v.) grubu
21. OX-A (i.s.v.) + 7,5 µg ACEA (i.s.v.) grubu
22. SB-334867 (i.s.v.) + 7,5 µg ACEA (i.s.v.) grubu

3.4. Cerrahi Prosedür ve ECoG Kayıtlarının Elde Edilmesi

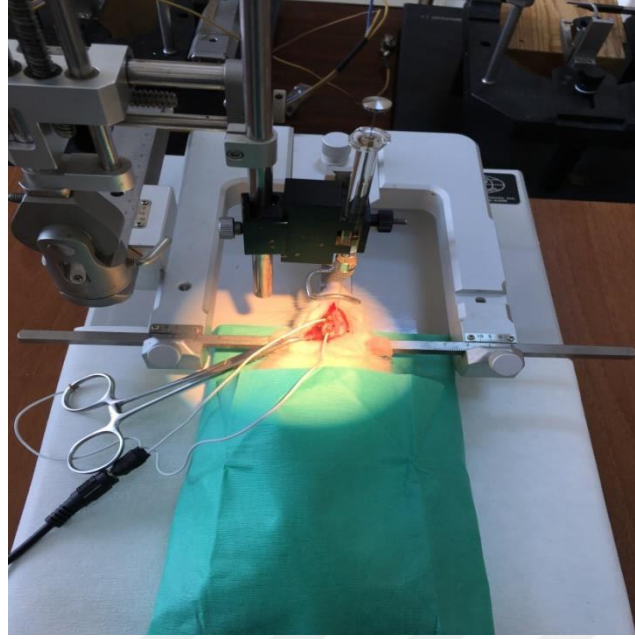
Deneyisel epilepsi modeli oluşturmak için kayıttan önceki gün aç bırakılan sıçanlar %25'lik 1,25 gr/kg (intraperitoneal) üretan çözeltisiyle anestezi altına alındı. Ardından sıçanların kafası traşlandıktan sonra stereotaksik cihaza sabitlendi. Hayvanların kafa derileri 2-5 cm kesilerek açıldı. Fasyalar temizlendikten sonra bregma noktası belirlenip 1 mm çaplı 2'ser delik manuel matkap ile delindi. Paslanmaz çelik vidalar bu deliklere yerleştirildi. Bu vidalarla Powerlab sistemi arasındaki bağlantı iletken kablolarla sağlandı. Elektrotlar aracılığı ile kaydedilen ECoG, deneyin bitmesinin ardından offline analize tabi tutuldu.

Wistar sıçanlar için elektrot koordinatları şu şekilde;

(+) elektrot; orijinin 3 mm lateral ve 4 mm posteriorüne,

(-) elektrot; orijinin 3 mm lateral ve 4 mm anteriorüne,

Toprak elektrot ise ekartasyon amacıyla mosquitoya yerleştirildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Hamilton mikroyenjeksiyonu ile madde uygulanması

Absans modeli epilepsi için kullanılan WAG/Rij sıçanların cerrahisi için ketamin (90 mg/kg) ile ksilazin (10 mg/kg) ile anesteziye alınmasının ardından kafa derisindeki tüyler traşlandı. Stereotaksik cihaza yerleştirilen hayvanların kafa derisi açıldı. Bregma noktası referans alınarak elektrot koordinatları belirlendi.

WAG/Rij sıçanlar için elektrot koordinatları ise şu şekilde;

Frontal bölge koordinatları; 3 mm anterior ve 4 mm lateral,

Pariyetal bölge koordinatları; 6 mm posterior ve 4 mm lateral,
İntraserebroventriküler (i.s.v.) koordinatları; 1,5 mm lateral ve 1,1 mm posterior,
Serebellumun üzerinde olacak şekilde toplamda 4 adet delik açılarak referans elektrot korteks üzerine yerleştirildi (Przewlocka vd, 1998).

ECoG kaydı için açılan deliklerden 3 tanesine paslanmaz çelik vidalar sabitlendi ve tripolar elektrod sabitlenen vidalara yerleştirildi. Eksternal kanül ise orijinden 1,1 mm lateral, 1,5 mm rostral ve 3,2 mm derine konuldu. Ardından hem vidalar hem de i.s.v. kanül dental akrilik yardımıyla kafatasına sabitleştirilip, kuruması için beklenildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Sıçan kafatasına paslanmaz çelik vidaların yerleştirilmesi sonrası dental akrilik ile hem vidaların hem i.s.v. kanülün sabitlenmesi.

Cerrahi işlemin ardından hayvanlar 1 hafta iyileşme sürecine bırakıldı. Jak çıkışı Powerlab veri kazanım sistemine yönlendirilerek ECoG kayıtları elde edildi (Şekil 3.3). ECoG kayıtlara günün aynı saatinde (09.00) başlandı ve 180 dk bazal kayıt alındıktan sonra enjeksiyon yapıldı. Enjeksiyonun ardından 180 dk daha kayıt alındı.



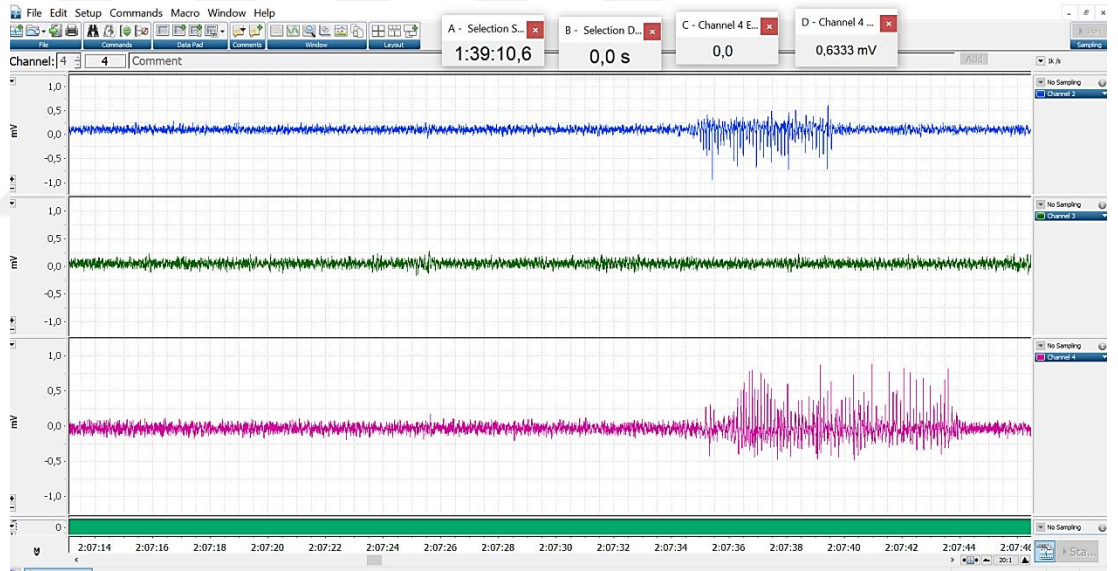
Şekil 3.3. Powerlab sistemine bağlanıp kayıt alınması işlemi.

3.5. ECoG Kayıtlarının İncelenmesi

Penisilin enjeksiyonundan 2-5 dakika içinde epileptik aktivite görüldü. Bu aktivitenin kararlı hale geçmesi için 30 dakika beklendi ve ardından i.s.v. enjeksiyon yapıldı. ECoG kayıtları online olarak PowerLab veri kazanım sistemi ile bilgisayara aktarıldı. Tüm deneylerde penisilin enjeksiyonundan sonraki 30 dakikanın son 10 dakikasındaki (20-30. dakikalar arası) ortalamalar alınarak her bir hayvan için elde edilen değer %100 olarak kabul edildi. 30-40. dakikalar arasındaki spike sayısı 10.

dakika, 40-50. dakikalar arası ise 20. dakika olarak kabul edildi ve bu şekilde devam edilerek 180 dakikalık ECoG kayıt analizi tamamlandı. Deneyler sonucunda elde edilen epileptiform aktivite spike frekansı ve amplitüdü açısından analiz edildi.

Absans modeli epilepside deneyler bittikten sonra alınan epileptiform aktivite küme sayısı, süresi, spike sayısı ve amplitüd açısından tayin edildi. Ardından nöbet kümeleri manüel olarak seçildi ve Chart v7.0.3 (ADInstruments, Avustralya) yazılımı (Şekil 3.4) ile kümelerin süresi, sayısı, spike sayısı ve amplitüdü hesaplanarak 20'şer dakikalık kısımlar halinde ECoG kayıtlarının analizi yapıldı. Her 20 dakikadaki nöbet, küme sayısı, süresi, spike sayısı ve amplitüdü ortalamaları kullanıldı. İlk 180 dakikada elde edilen veriler 20 şer dakikalık aralıklara bölündü ve elde edilen 9 adet 20 dakikalık bölümün ortalaması hesaplandı. Enjeksiyon sonrasında elde edilen her 20'şer dakikalık aralık bu ortalama ile yüzdesel açıdan karşılaştırıldı.



Şekil 3.4. ECoG kayıtlarında DDD'lerin LabChart yazılımı yardımıyla görüntülenmesi

3.6. İstatistiksel Analiz

Kaydedilen elektrofizyolojik veriler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 17.0 ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Normal dağılıma uyan bağımsız iki grubun değerleri arasındaki farkın ortaya konmasında bağımsız Independent samples t-test kullanıldı, normal dağılıma uymayanlara ise Mann-Whitney U testi uygulandı. Normal dağılıma uyan çoklu grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA)

yapıldı. Gruplar arası farklılıkların belirlemek için Bonferroni post-hoc testi uygulandı. Normal dağılıma uymayan verilerde ise Kruskal Wallis testi ve sonrasında post-hoc Dunn testi uygulandı. Grafik ve metinlerdeki deney gruplarına ait değerler ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edildi, $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Penisilinle Oluşturulan Epileptik Aktivite

Epileptiform aktivite meydana getirmek için 2,5 mikrolitre hacimde 500 IU penisilin-G, i.k. uygulandı. Penisilin uygulamasından sonraki 2-5 dk. içerisinde spike ve spike dalga kompleksleri gözlemlendi ve aktivite 3 saat boyunca sürdü. Kararlı duruma geçiş zamanı 0. dk. olarak kabul edildi ve bu dakikada hesaplanan spike frekansı ortalaması $44,1 \pm 2,9$ spike/dk iken, 180. dakikadaki spike frekansı $41,8 \pm 2,7$ spike/dk, amplitüd $990,9 \pm 93,7$ μ V olarak saptandı (Şekil 4.1-A).

4.2. Orexin-A'nın Epileptik Aktivite Üzerine Etkisi

Penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonu takiben 30 dk sonra OX-A'nın sırayla 2, 4, 8 ve 16 μ g dozları i.s.v. yol ile verildi ve epileptiform aktivite üzerine etkisi incelendi.

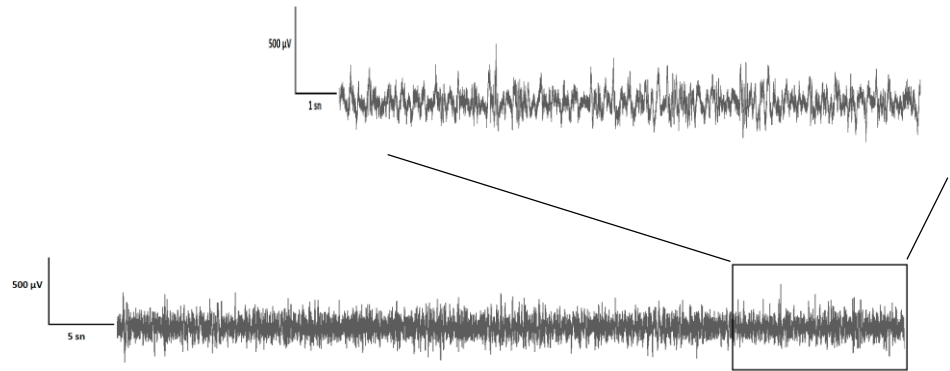
2 μ g OX-A uygulanan grupta 100. dakikada spike frekansı $43,5 \pm 1,4$ spike/dk, amplitüdü $1179,0 \pm 112,5$ μ V olarak kaydedildi (Şekil 4.1-B). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 2 μ g OX-A enjeksiyonunun spike frekansı ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi ($p > 0,05$) (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).

4 μ g OX-A uygulanan grupta 100. dakikada spike frekansı $48,8 \pm 5,7$ spike/dk, amplitüdü $1001,9 \pm 78,8$ μ V olarak kaydedildi (Şekil 4.1-C). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 4 μ g OX-A enjeksiyonunun spike frekansı ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi ($p > 0,05$) (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).

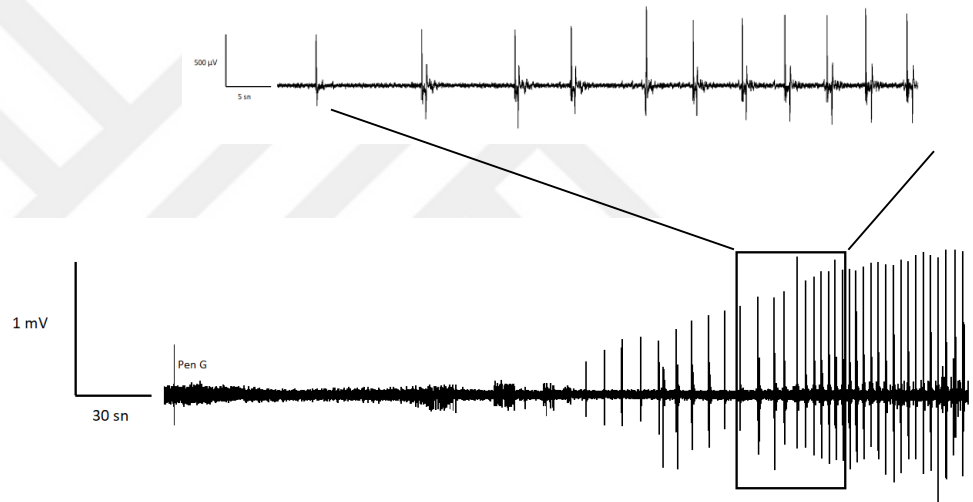
8 μ g OX-A uygulanan grupta 100. dakikada spike frekansı $26,2 \pm 2,8$ spike/dk, amplitüdü $1056,3 \pm 43$ μ V olarak kaydedildi (Şekil 4.1-D). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 8 μ g OX-A enjeksiyonunun 20. dakikadan itibaren spike frekansını istatistiksel olarak azaltırken ($p < 0,05$), amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadı ($p > 0,05$) (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).

16 μ g OX-A uygulanan verilen grupta 100. dakikada spike frekansı $49,7 \pm 4,3$ spike/dk, amplitüdü $1005,2 \pm 50,7$ μ V olarak kaydedildi (Şekil 4.1-E). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 16 μ g OX-A enjeksiyonunun spike frekansı ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi ($p > 0,05$) (Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).

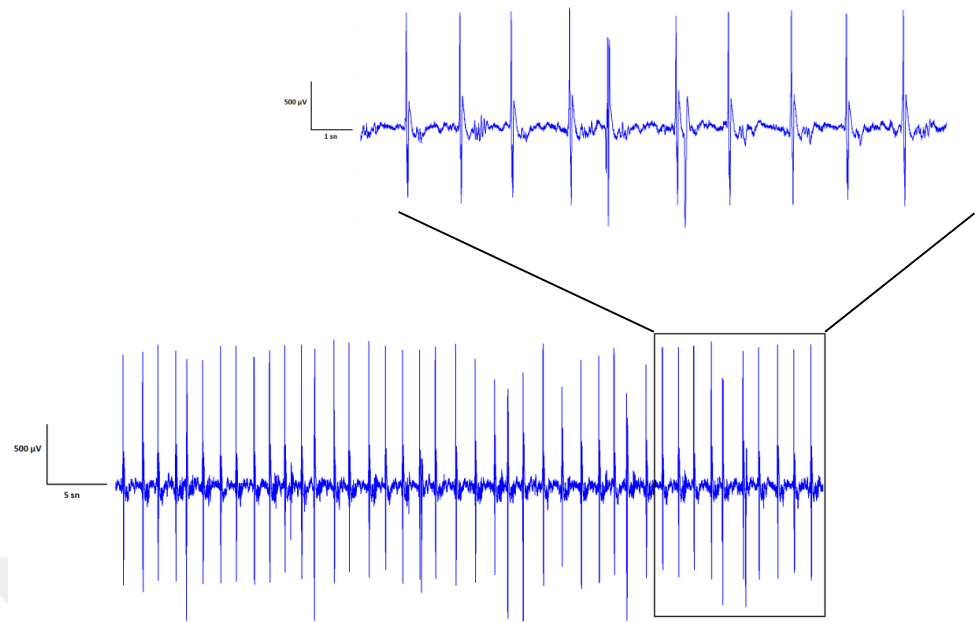
A. DMSO grubu



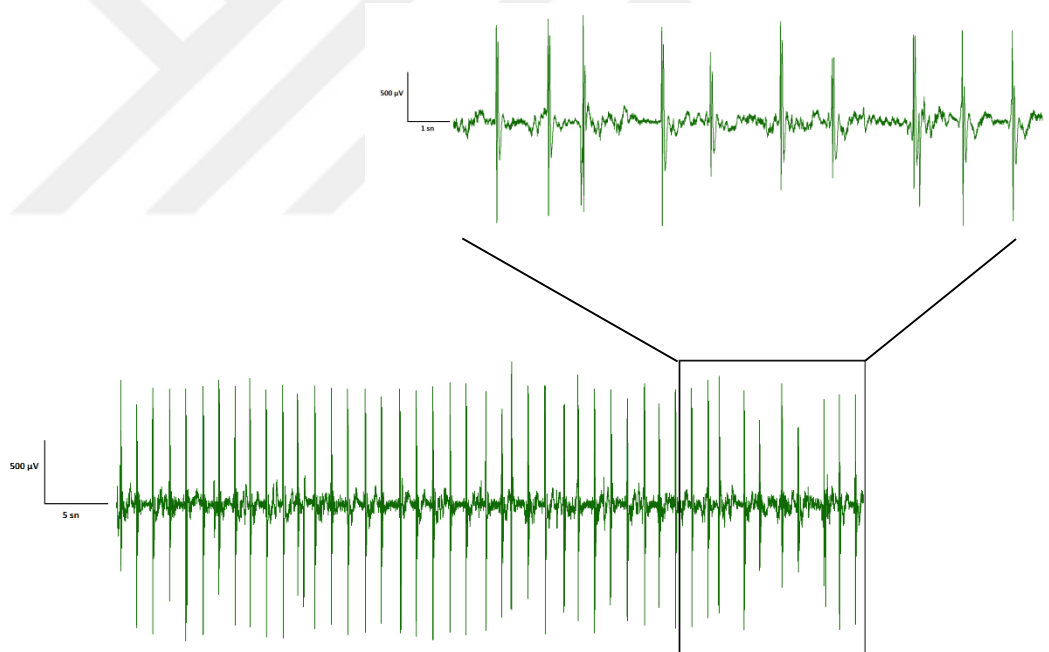
B. Penisilin G (500 IU i.k.)



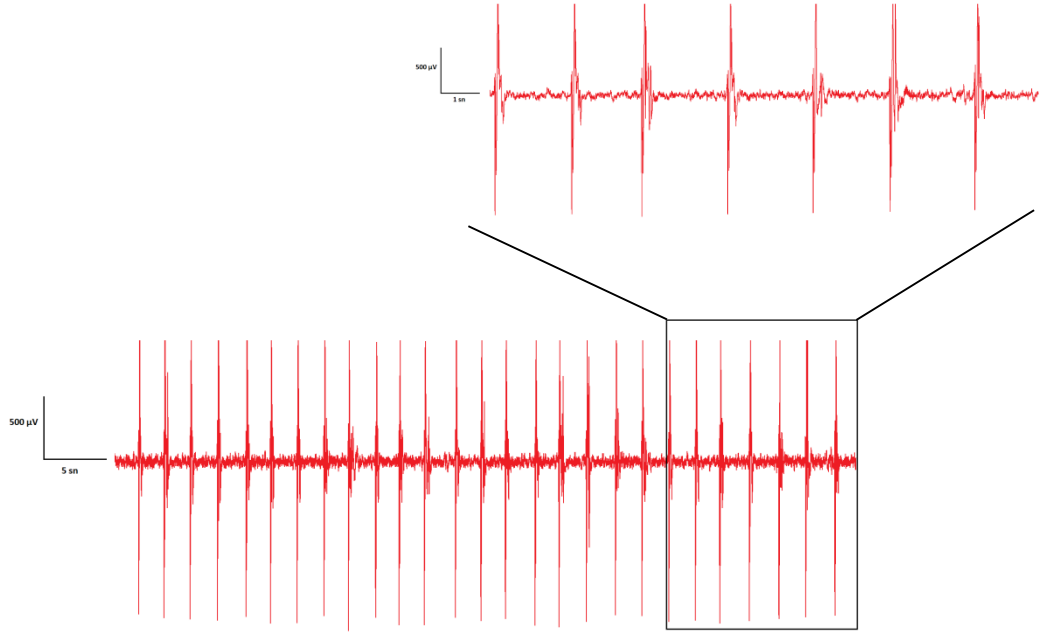
C. 2 μg OX-A



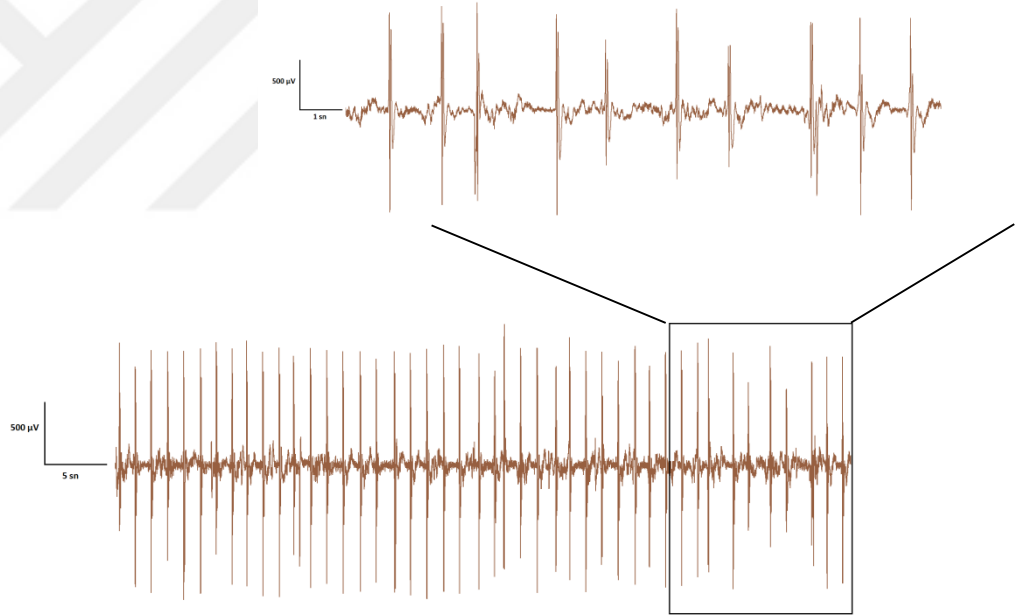
D. 4 μg OX-A



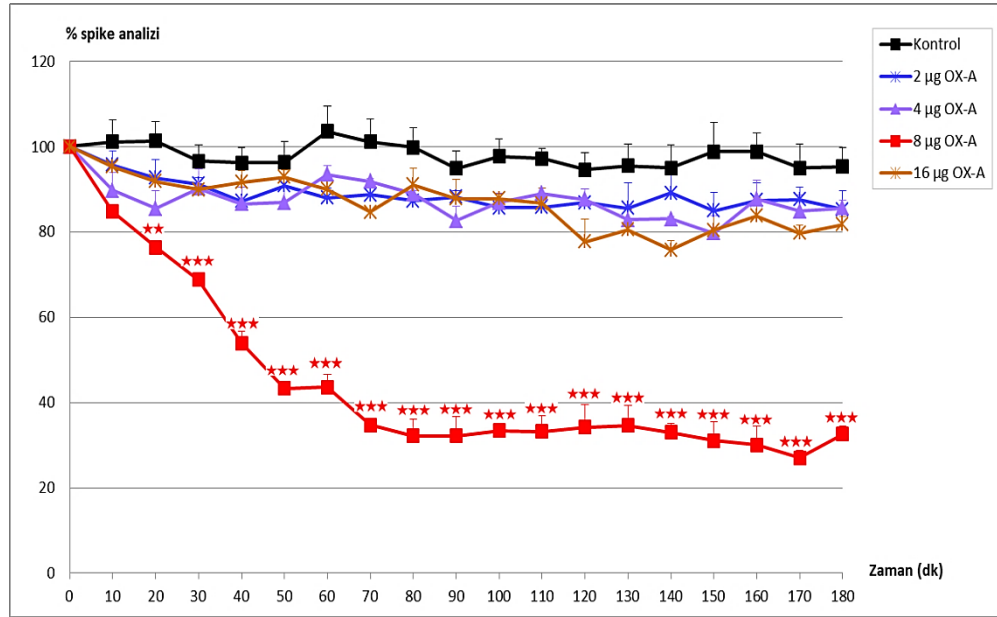
E. 8 µg OX-A



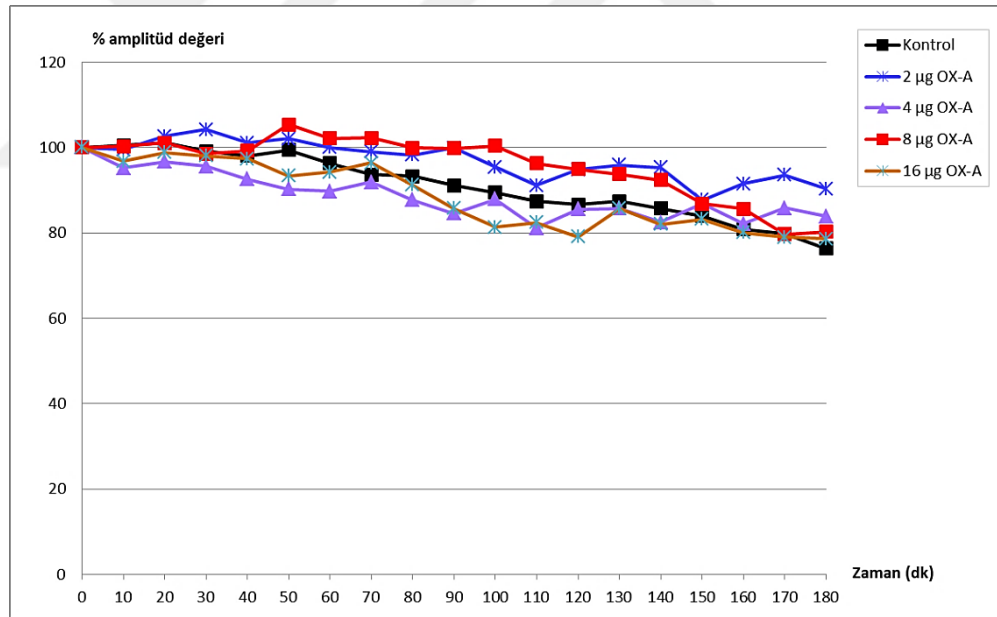
F. 16 µg OX-A



Şekil 4.1. A) Kontrol grubu B) Sadece penisilin (500 IU i.k.) C) 2 µg OX-A D) 4 µg OX-A E) 8 µg OX-A F) 16 µg OX-A gruplarından 100. dakikada alınan ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.



Şekil 4.2. Kontrol (penisilin, 500 IU), OX-A (2, 4, 8 ve 16 µg) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi $\pm$ SEM). Kontrol grubuna göre OX-A (8 µg) spike aktivitesini 20. dakikadan itibaren anlamlı bir azalma gözlemlendi (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.3. Kontrol (penisilin, 500 IU), OX-A (2, 4, 8 ve 16 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi $\pm$ SEM). Kontrol grubu ile OX-A grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlemlenmedi.

4.3. SB-334867'nin Epileptik Aktivite Üzerine Etkisi

Penisilin (500 IU, i.k.) enjeksiyonu takiben 30 dakika sonra SB-334867'nin sırayla 1,5, 3, 6 ve 12 µg dozları i.s.v. yol ile verildi ve epileptiform aktivite üzerine etkisi incelendi.

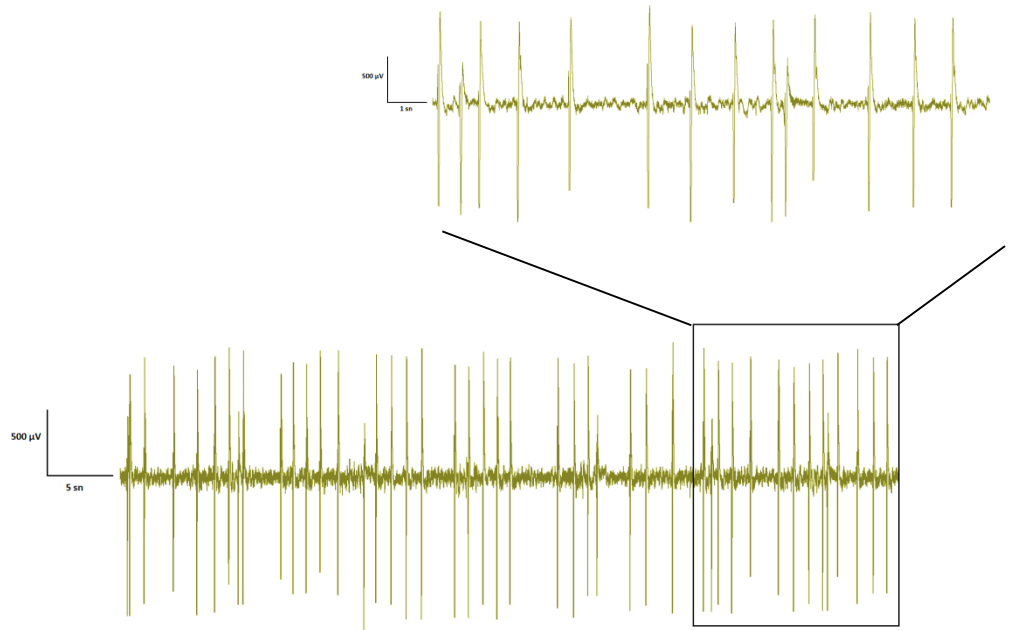
1,5 µg SB-334867 uygulanan grupta 100. dakikada spike frekansı $44,7 \pm 1,5$ spike/dk, amplitüdü $1048,3 \pm 99$ µV olarak kaydedildi (Şekil 4.4-A). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 1,5 µg SB334867 enjeksiyonunun spike frekansı ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı saptandı (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

3 µg SB-334867 uygulanan grupta 100. dakikada spike frekansı $45,8 \pm 1,7$ spike/dk, amplitüdü $1093,0 \pm 45,6$ µV olarak kaydedildi (Şekil 4.4-B). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 3 µg SB334867 enjeksiyonunun spike frekansı ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

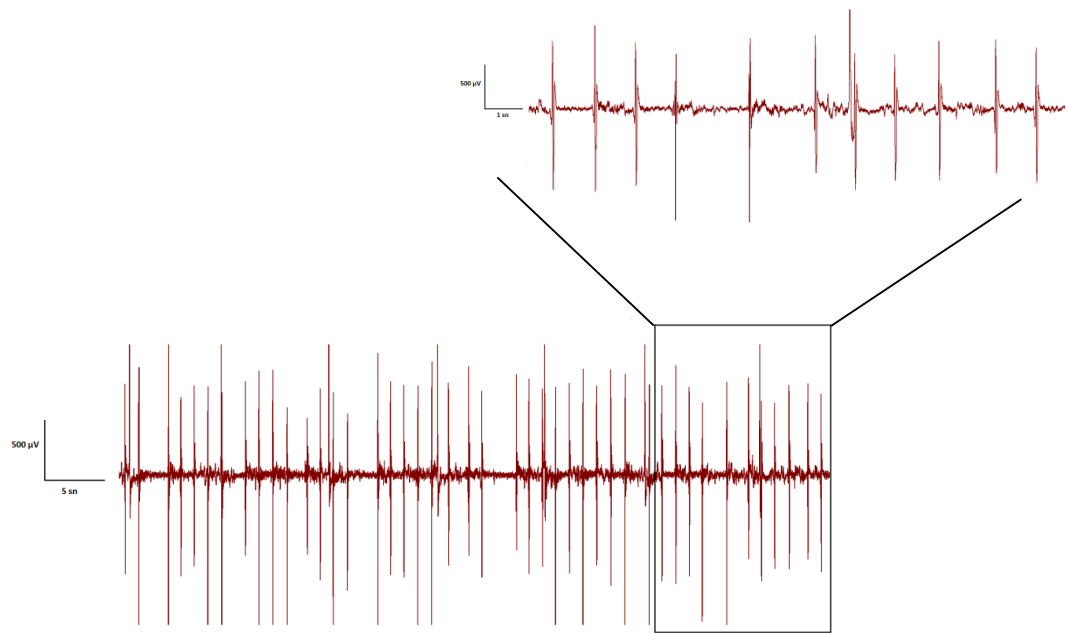
6 µg SB-334867 uygulanan grupta 100. dakikada spike frekansı $44,1 \pm 8,5$ spike/dk, amplitüdü $1093,8 \pm 56,0$ µV olarak kaydedildi (Şekil 4.4-C). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 6 µg SB334867 enjeksiyonunun spike frekansı ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

12 µg SB-334867 uygulanan grupta 100. dakikada spike frekansı $44,2 \pm 1,7$ spike/dk, amplitüdü $1011,2 \pm 38,8$ µV olarak kaydedildi (Şekil 4.4-D). 180 dk. boyunca alınan kayıtlar kontrol grubuna göre kıyaslandığında 12 µg SB334867 enjeksiyonunun spike frekansı ve amplitüdünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edildi (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).

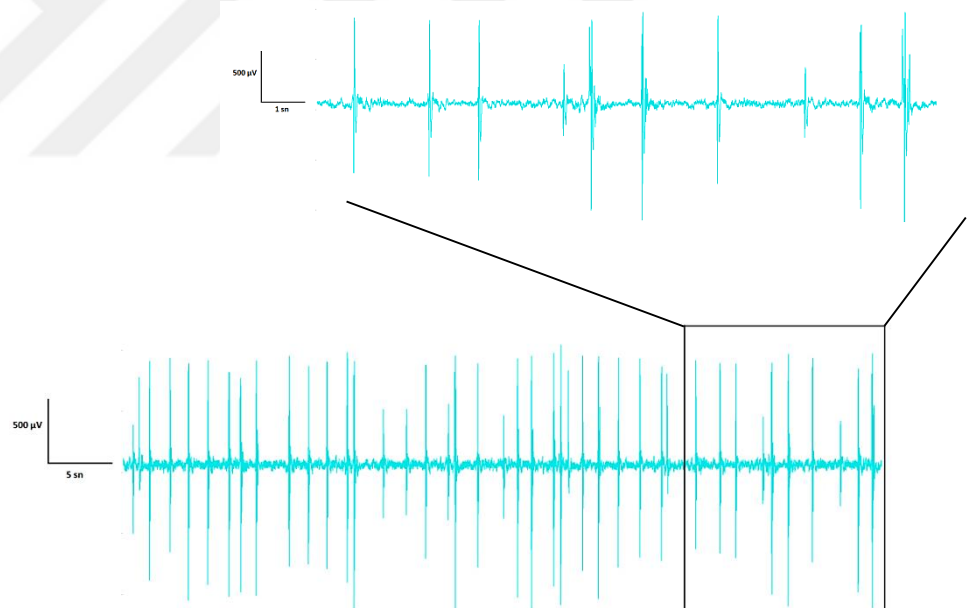
A. 1,5 µg SB-334867



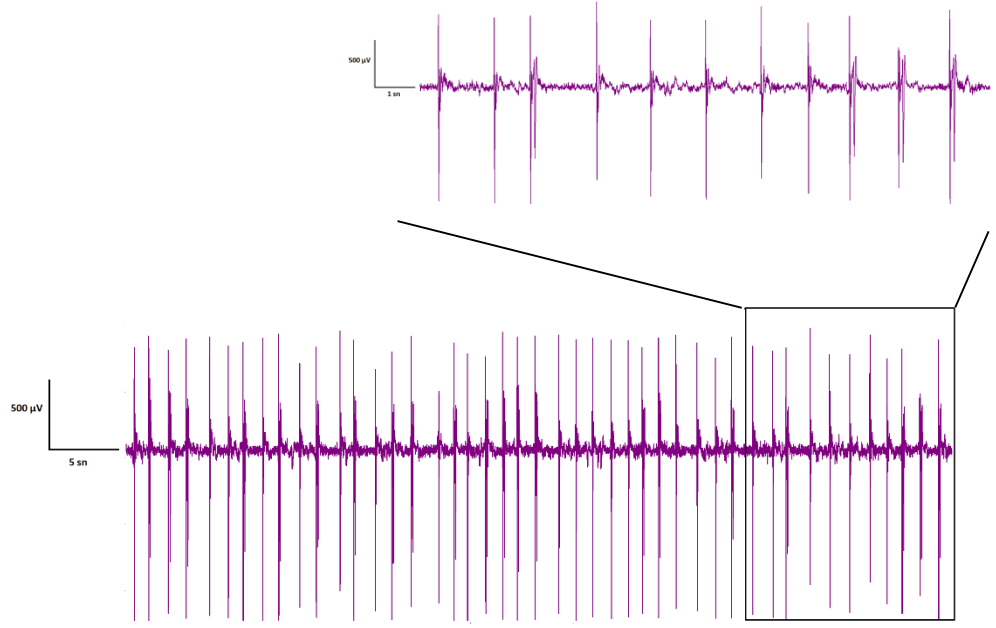
B. 3 μg SB-334867



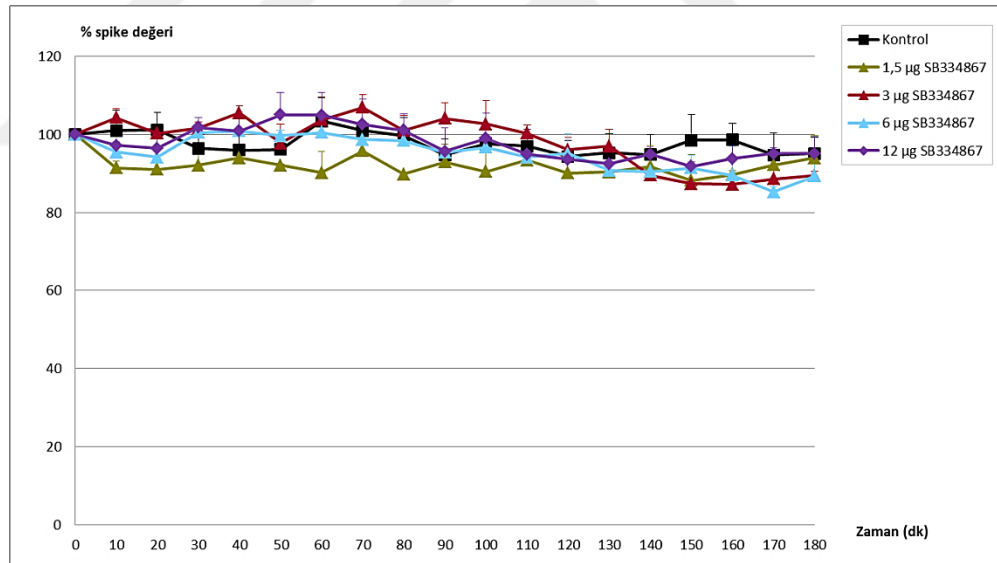
C. 6 μg SB-334867



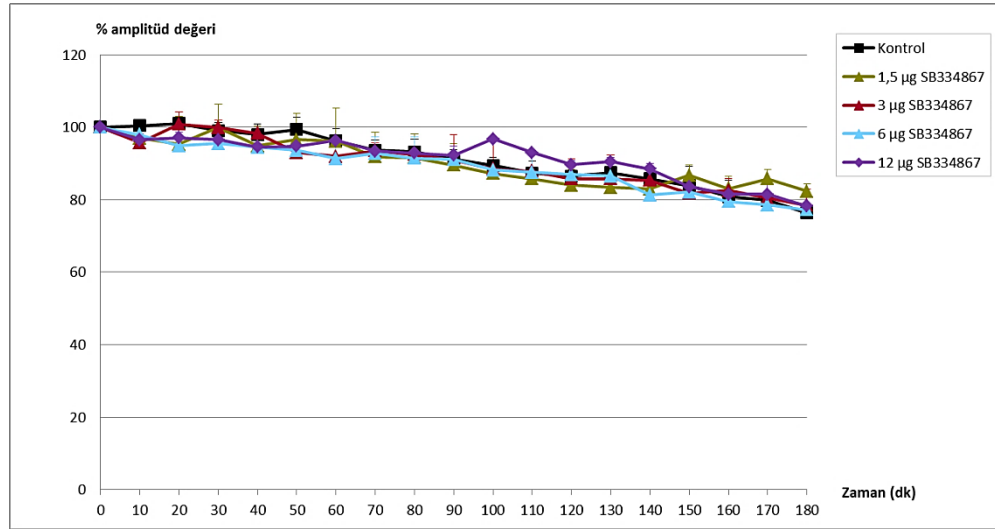
D. 12 μ g SB-334867



Şekil 4.4. A) 1,5 μ g SB-334867 B) 3 μ g SB-334867 C) 6 μ g SB-334867 D) 12 μ g SB-334867 gruplarından 100. dakikada alınan ECoG kayıtlarından örnek görüntüler.



Şekil 4.5. Kontrol (penisilin, 500 IU), SB-334867 (1,5, 3, 6 ve 12 μ g) gruplarının spike frekans değerlerinin yüzde değişimi (spike yüzde değişimi $\pm$ SEM). Kontrol grubuna göre SB334867'nin hiç bir dozunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel istatistiksel açıdan değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$).



Şekil 4.6. Kontrol (penisilin, 500 IU), SB-334867 (1,5, 3, 6 ve 12 µg) gruplarının spike amplitüd değerlerinin yüzde değişimleri (amplitüd yüzde değişimi $\pm$ SEM). Kontrol grubu ile SB-334867 grupları arasında istatistiksel açıdan değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$).

4.4. WAG/Rij Ratlarda Çözücü Grubu Olan DMSO'nun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

Kontrol grubu için WAG/Rij'larda çözücü olarak kullanılan DMSO ECoG kaydının başlamasından üç saat sonra i.s.v. olarak uygulandı. DMSO sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalaması 100. dakikada $6,0 \pm 0,3$, sDDD $38,3 \pm 3,7$ sn, nDDD $212,6 \pm 7,0$ ve aDDD $0,8367 \pm 0,0311$ mV olarak tespit edildi (Şekil 4.7).

4.5. Oreksin-A'nın Absans Epilepsi Üzerine Etkisi

Wistar ratlarda yapılan çalışmalardan yola çıkarak WAG/Rij ratlarda OX-A'nın etkin dozunu saptamak adına 4, 8 ve 16 µg'lık dozları uygulandı. ECoG kaydını başlattıktan sonra 3 saat boyunca bazal kayıt alındı. Ardından maddelerin i.s.v. enjeksiyonu yapıldı ve 3 saat daha enjeksiyon sonrası kayıt alındı.

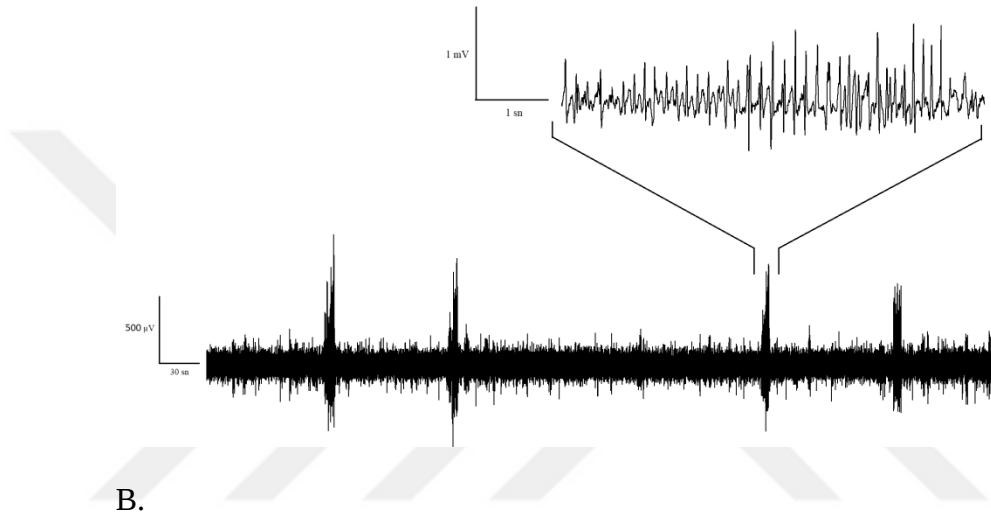
4 µg OX-A'nın enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalaması 100. dakikada $3,5 \pm 0,2$, sDDD $15,5 \pm 0,6$ sn, nDDD $73,5 \pm 1,1$ ve aDDD $0,7312 \pm 0,0142$ mV olarak tespit edildi (Şekil 4.8).

8 µg Oreksin-A enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalaması 100. dakikada $1,2 \pm 0,2$, sDDD $4,4 \pm 1,0$ sn, nDDD $6,8 \pm 2,0$ ve aDDD $0,7507 \pm 0,0389$ mV olarak tespit edildi (Şekil 4.9).

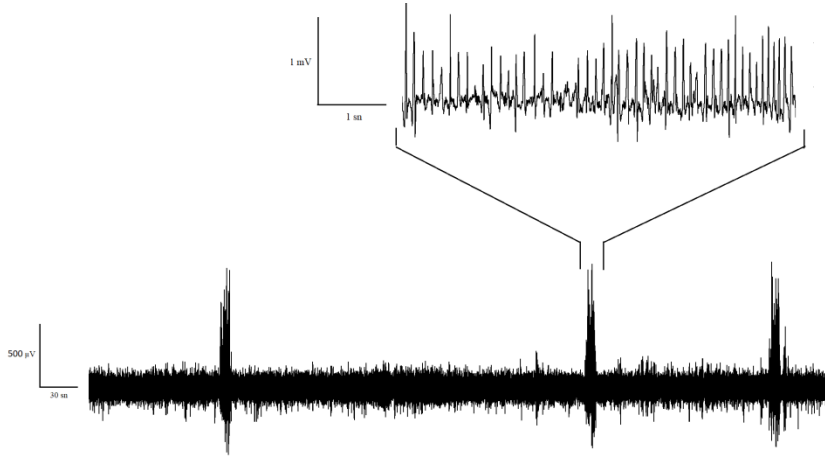
16 µg Oreksin-A enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalaması 100. dakikada $1,5 \pm 0,4$, sDDD $2,3 \pm 1,2$ sn, nDDD $11,1 \pm 6,7$ ve aDDD $0,7817 \pm 0,0189$ mV olarak tespit edildi (Şekil 4.10).

Oreksin-A'nın bu dozları kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD, nDDD değerlerinde anlamlı bir azalma gözlenirken ($p<0,05$) (Şekil 4.11, 4.12, 4.13) ve % aDDD istatistiksel anlamda bir değişiklik görülmedi ($p>0,05$) (Şekil 4.14). Ancak kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak en fazla azalma 8 μg ve 16 μg 'lık dozlarda görüldü. Bu iki grubu da kendi arasında kıyasladığımızda istatistiksel açıdan bir farklılık olmadığı ($p>0,05$) için düşük hacimde uygulanan 8 μg Oreksin-A etkin doz olarak kabul edildi.

A.

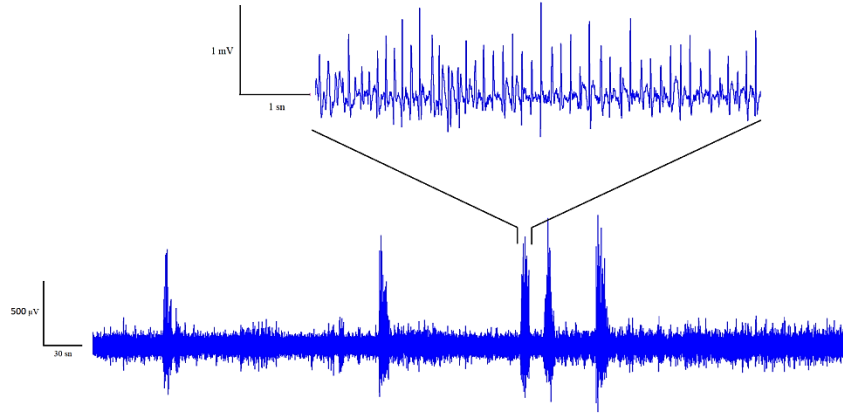


B.

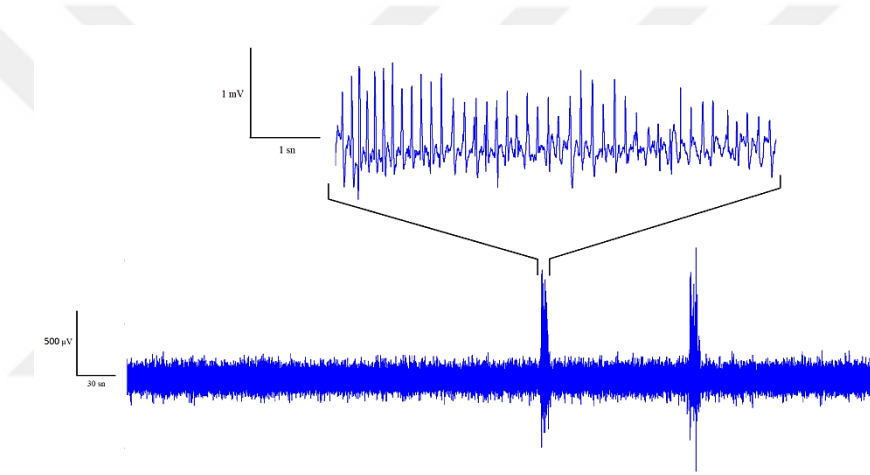


Şekil 4.7. Kontrol grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri

A.

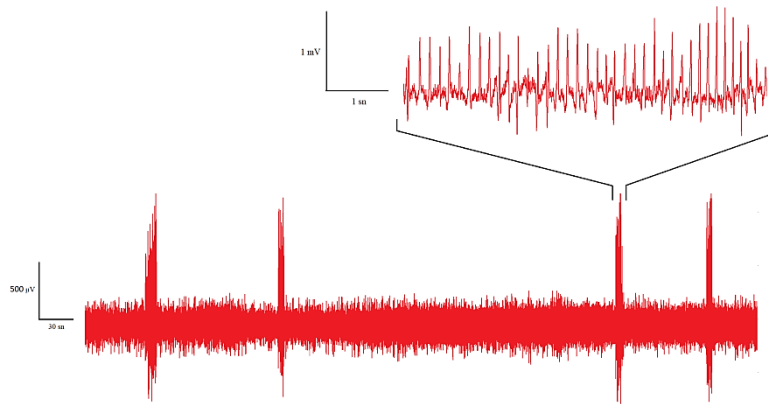


B.

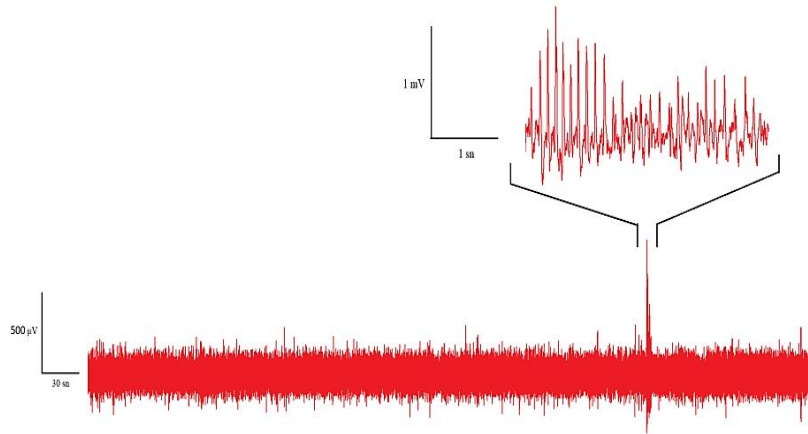


Şekil 4.8. 4 μ g Oreksin-A grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri

A.

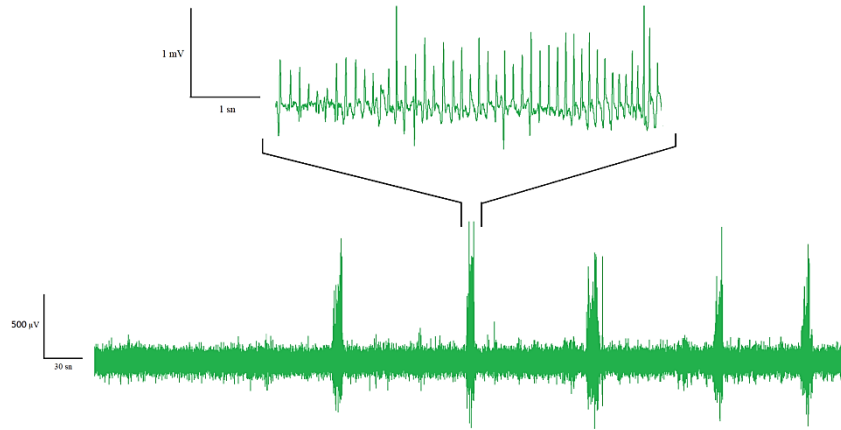


B.

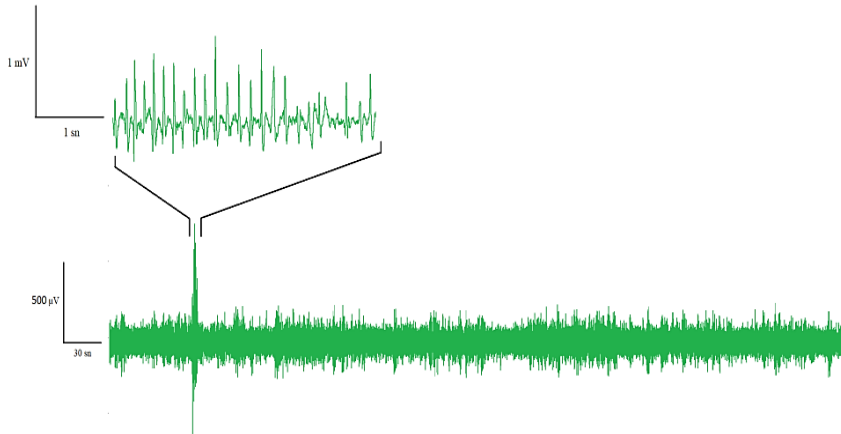


Şekil 4.9. 8 µg Oreksin-A grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri

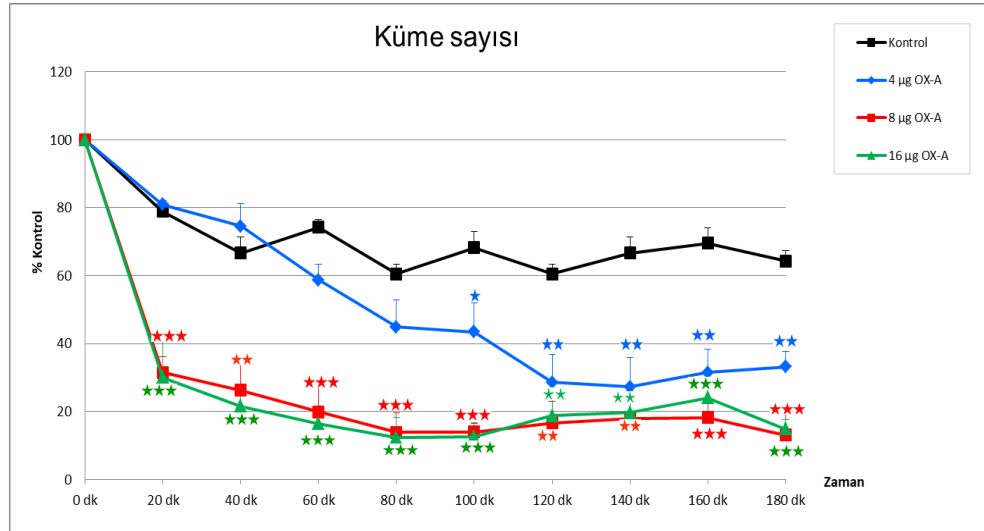
A.



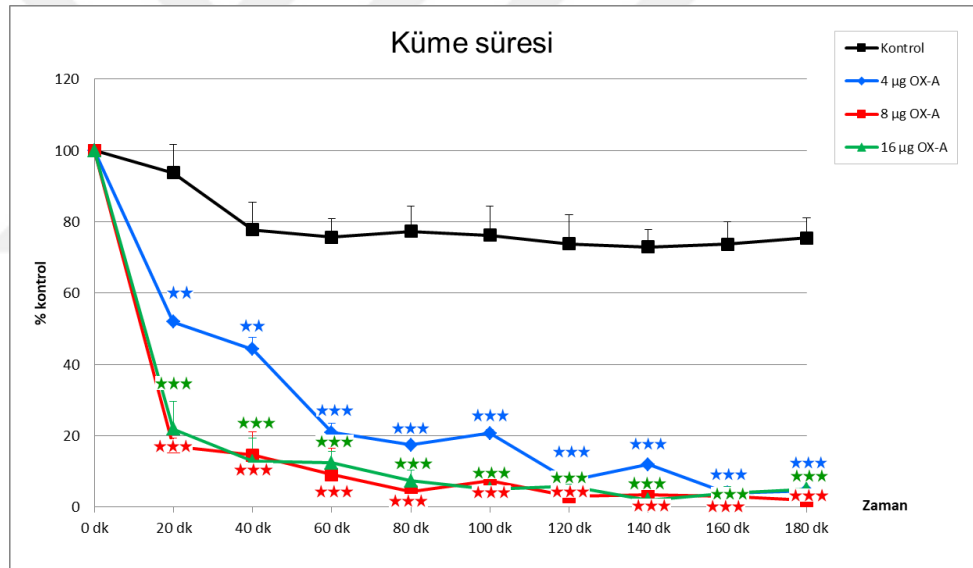
B.



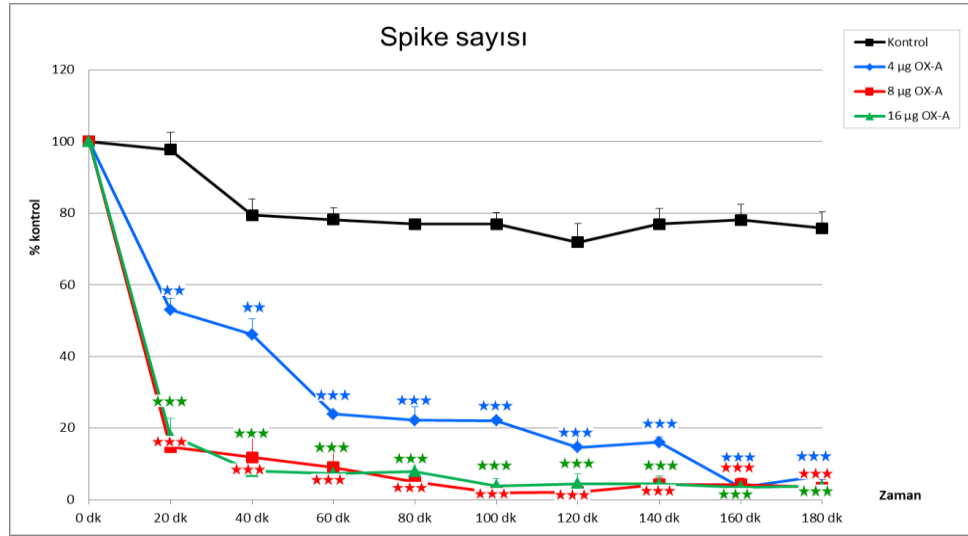
Şekil 4.10. 16 µg Oreksin-A grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



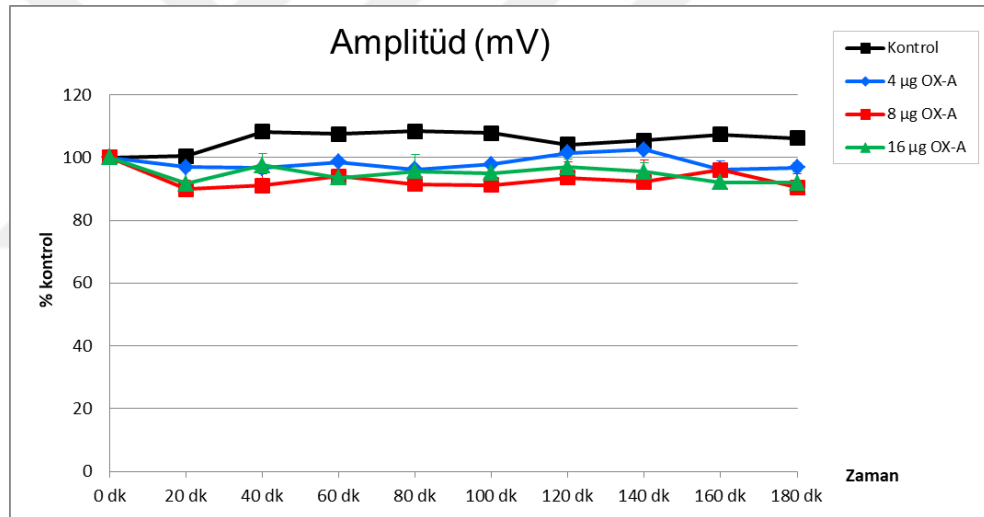
Şekil 4.11. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla Oreksin-A'nın bu dozları kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.12. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla Oreksin-A'nın bu dozları kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (**= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.13. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla Oreksin-A'nın bu dozları kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (**= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.14. Oreksin-A'nın, 4 µg, 8 µg ve 16 µg gruplarının, kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla Oreksin-A'nın bu dozları kıyaslandığında istatistiksel açıdan değişiklik gözlenmedi.

4.6. SB-334867'nin Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

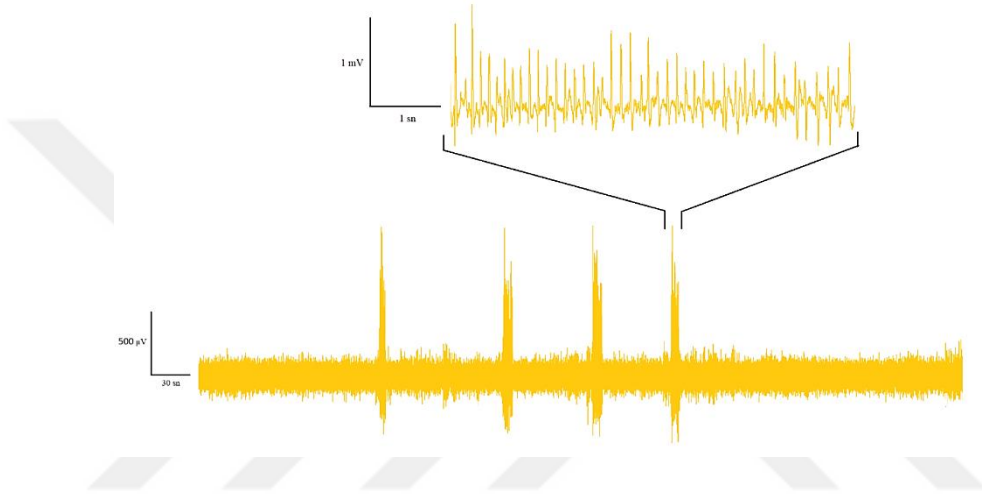
WAG/Rij sıçanlarda SB-334867'nin etkin dozu belirlerken 6 ve 12 µg'lık dozları uygulandı. ECoG kaydı başladıktan sonra 3 saat boyunca bazal kayıt alındı. Ardından maddelerin i.s.v. enjeksiyonu yapıldı ve 3 saat daha enjeksiyon sonrası kayıt alındı.

6 µg SB-33486'nin enjeksiyonu sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalaması 100. dakikada $4,0\pm0,1$, sDDD $24,6\pm1,7$ sn, nDDD $156,5\pm12,0$ ve aDDD $0,9381\pm0,0171$ mV olarak tespit edildi (Şekil 4.15).

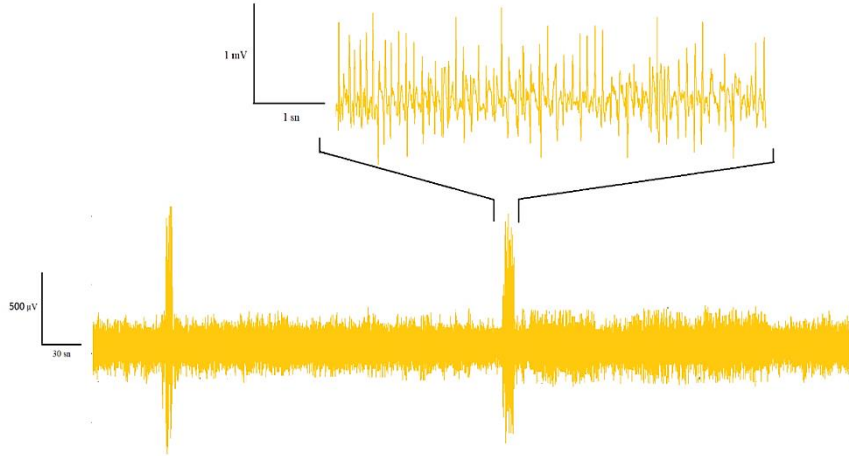
12 μg SB334867'nin enjeksiyonu sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalaması 100. dakikada $1,6 \pm 0,6$, sDDD $7,4 \pm 2,7$ sn, nDDD $47,2 \pm 6,4$ ve aDDD $0,6832 \pm 0,0162$ mV olarak tespit edildi (Şekil 4.16).

6 μg SB334867 kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan bir farklılık oluşturmada ancak 12 μg SB334867 istatistiksel olarak % kDDD, sDDD ve % nDDD'yi anlamlı ölçüde azalttığı için etkin doz olarak kabul edildi (Şekil 4.17, 4.18 ve 4.19).

A.

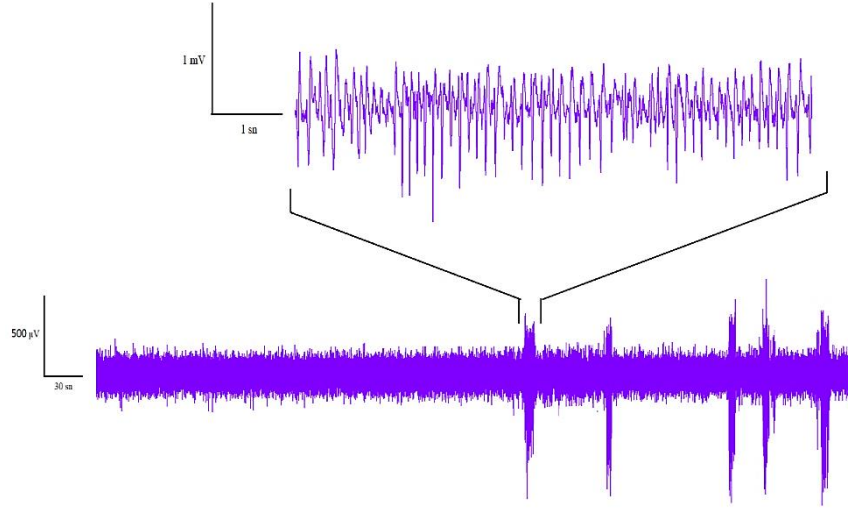


B.

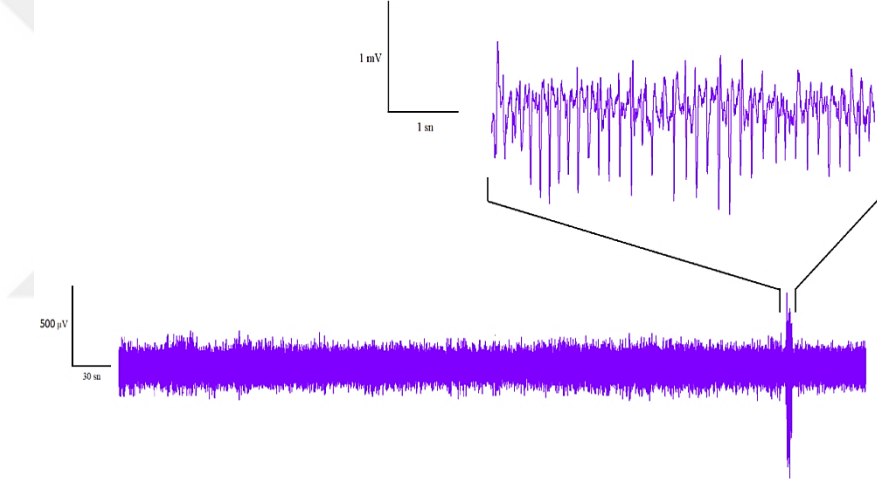


Şekil 4.15. 6 μg SB-334867 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri

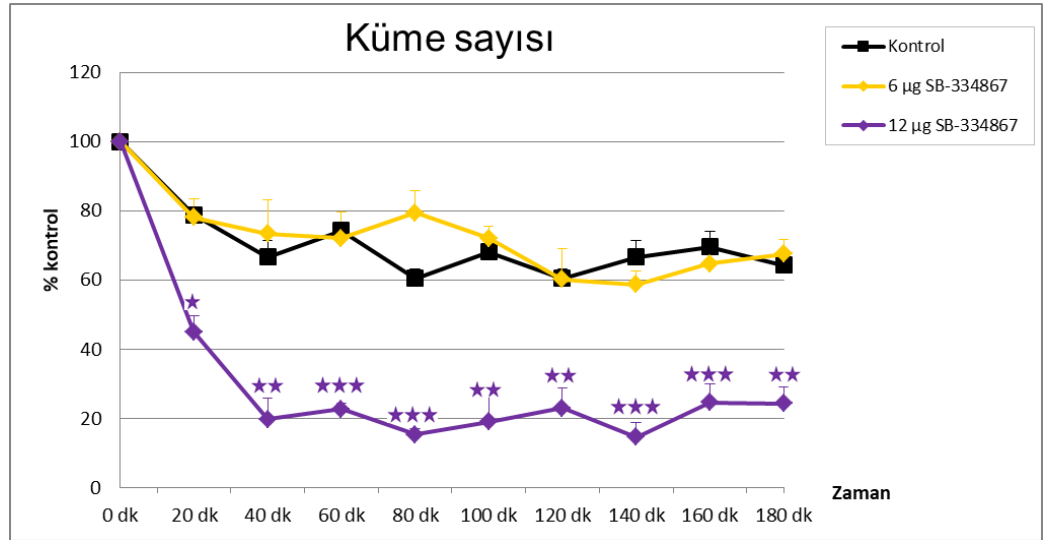
A.



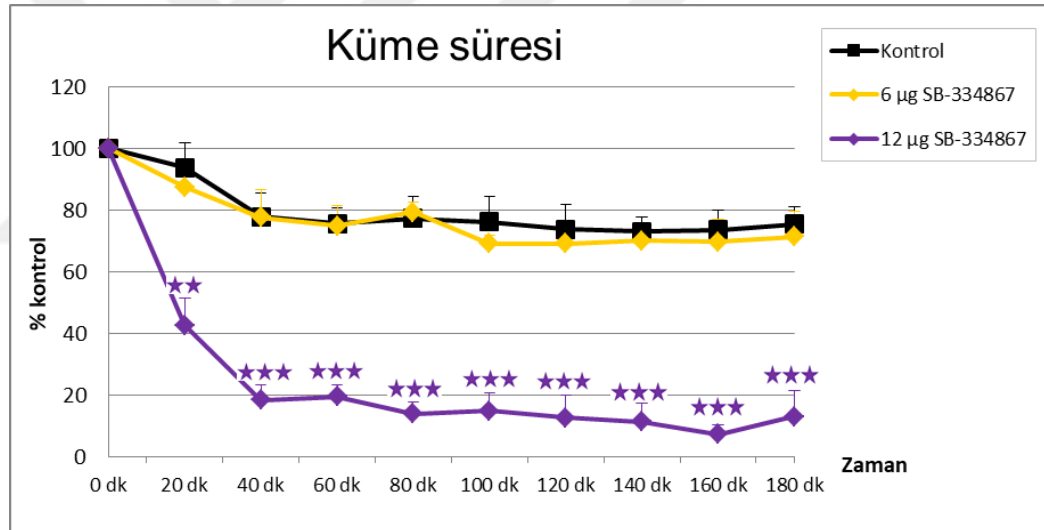
B.



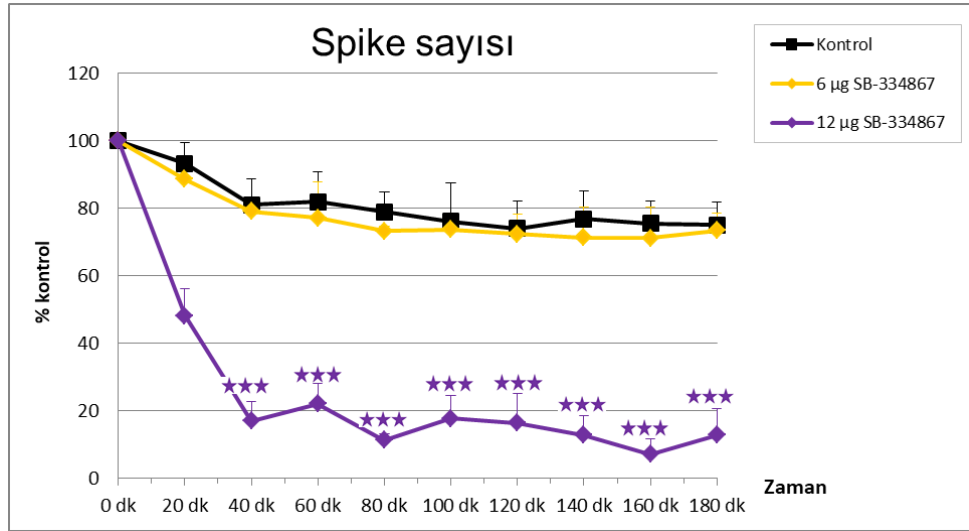
Şekil 4.16. 12 μ g SB-334867 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



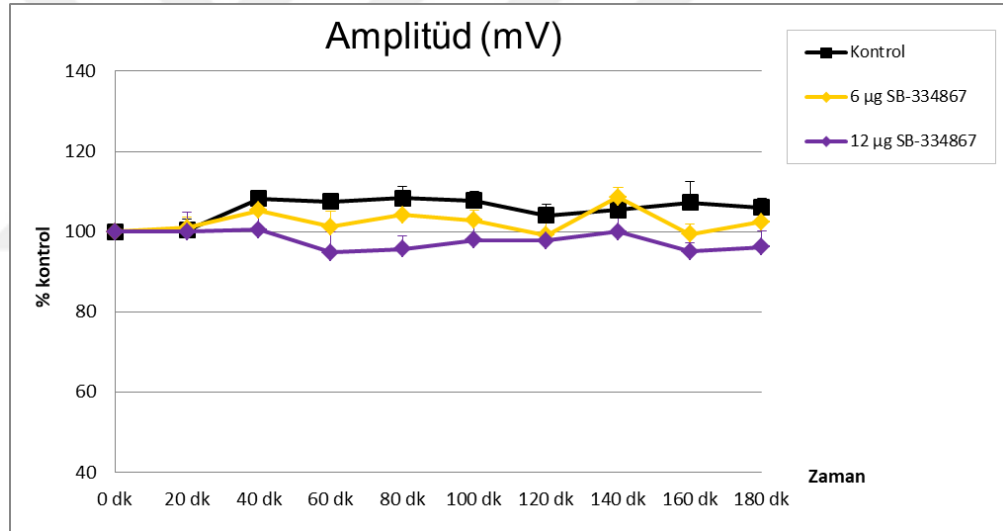
Şekil 4.17. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla 12 µg SB-334867 kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.18. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla 12 µg SB-334867 kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0,05$) (**= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.19. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla 12 µg SB-334867 kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (***=p<0,001).



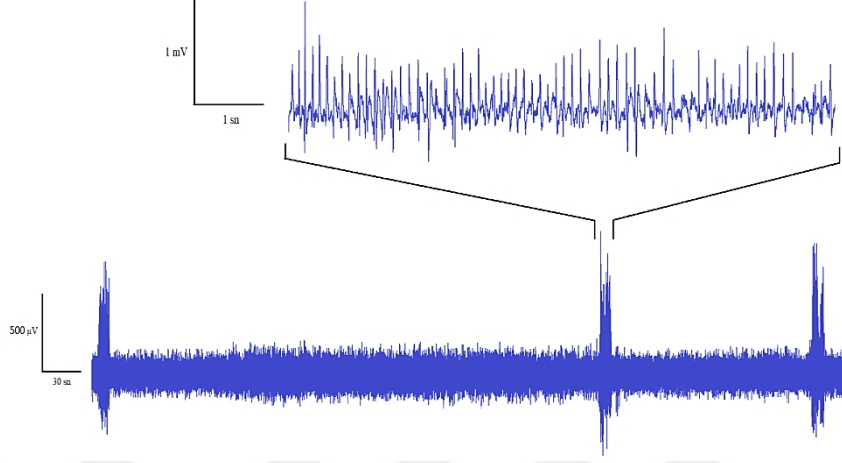
Şekil 4.20. SB-334867'nin, 6 µg ve 12 µg gruplarının, kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla 12 µg SB-334867 kıyaslandığında istatistiksel açıdan değişiklik gözlenmedi.

4.7. 0,6 µg Hemopressin'in Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

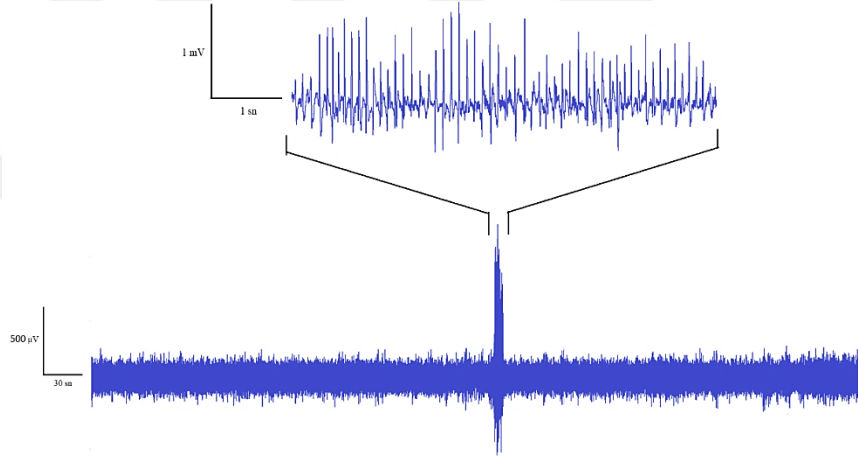
Laboratuvarımızda daha önce yapılan çalışmada hemopressinin 0,6 µg dozunun küme süresini, sayısını ve spike sayısını azalttığı görülmüştür (Al-Kaleel et al.,2023). Sunulan çalışmada aynı doz olan 0,6 µg hemopressinin enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $1,8\pm0,2$, sDDD $10,6\pm3,5$ sn, nDDD $69,3\pm9,6$ ve aDDD $0,830\pm0,0247$ mV olduğu tespit edildi (Şekil 4.21). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında % kDDD, sDDD ve nDDD değerlerinde

istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlenirken ($p<0,05$) (Şekil 4.22, 4.23 ve 4.24), % aDDD değerinde ise anlamlı bir farklılık gözlenmedi. (Şekil 4.25).

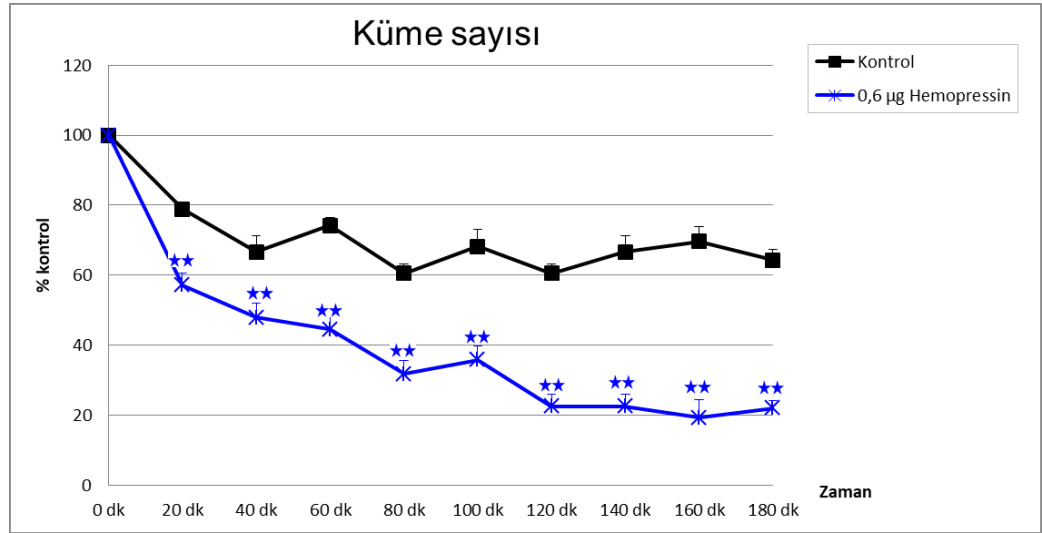
A.



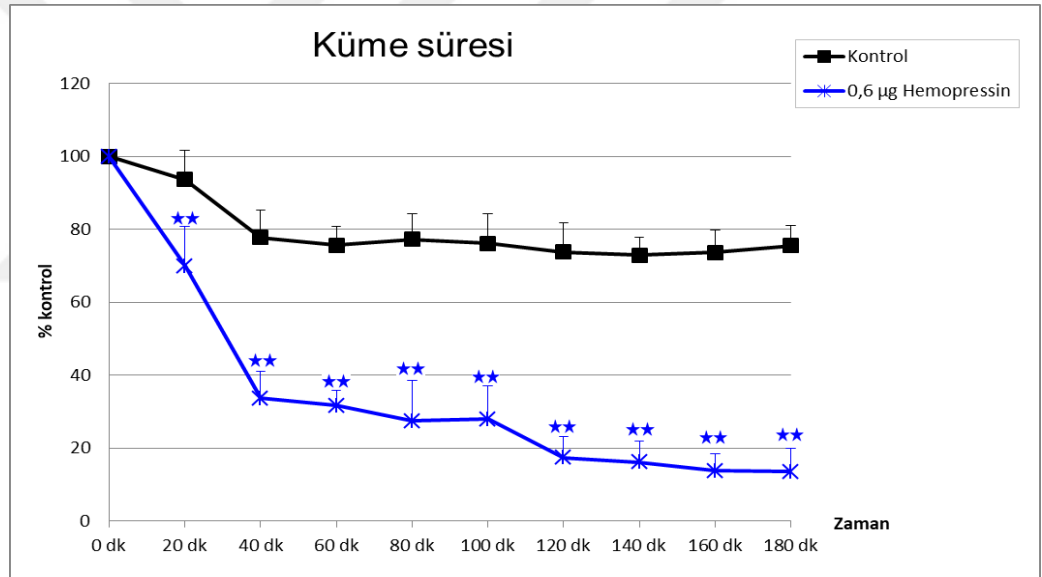
B.



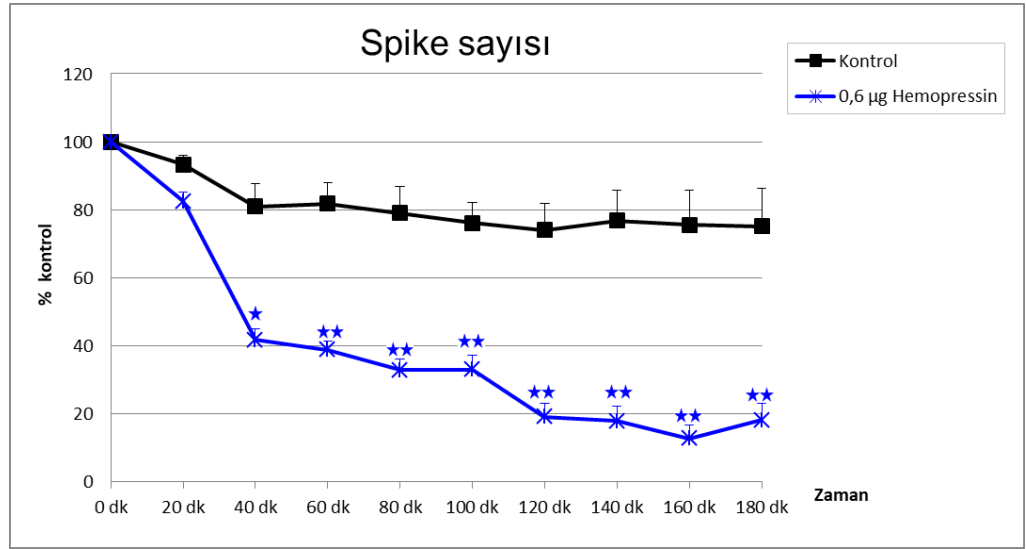
Şekil 4.21. 0,6 μ g Hemopressin grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



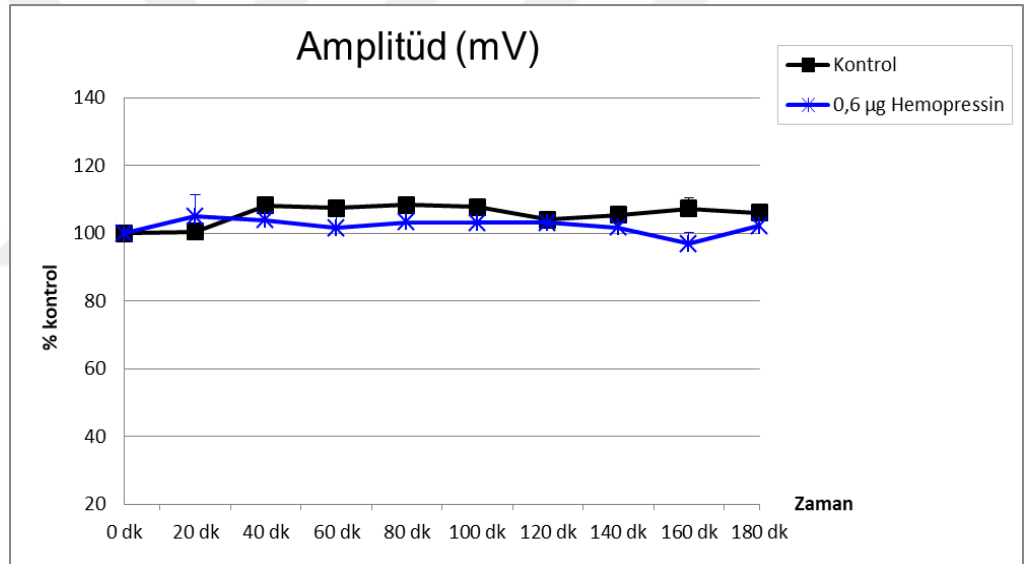
Şekil 4.22. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01).



Şekil 4.23. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*=p<0,05, **=p<0,01).



Şekil 4.24. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$).



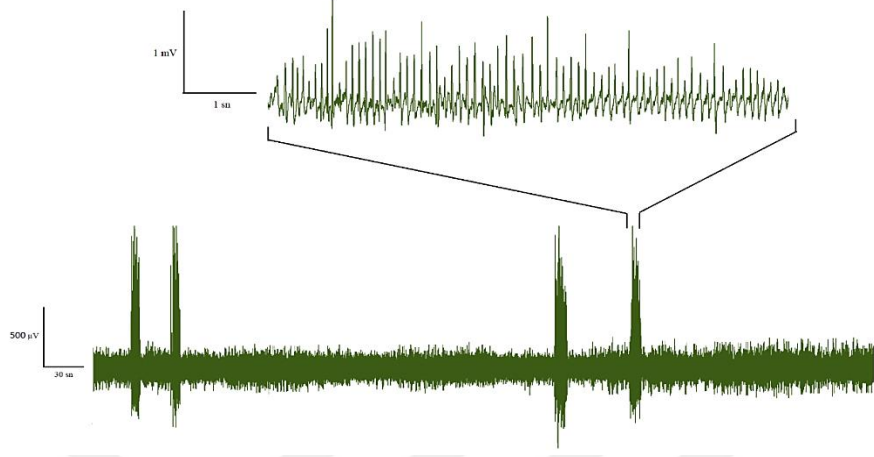
Şekil 4.25. 0,6 µg Hemopressin'in, kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

4.8. CB1 Reseptör agonisti ACEA'nın (7,5 µg) Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

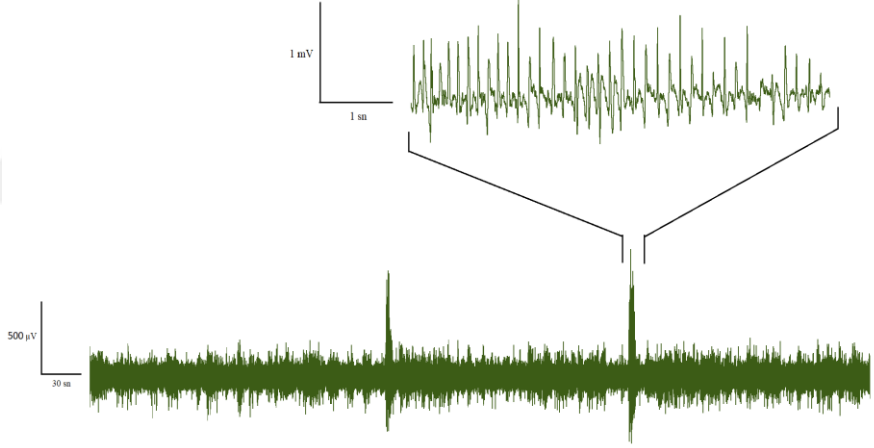
7,5 µg ACEA'nın enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $2,1\pm0,4$, sDDD $6,8\pm2,2$ sn, nDDD $13,4\pm4,5$ ve aDDD $0,9258\pm0,0319$ mV olarak tespit edildi (Şekil 26). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 7,5 µg ACEA grubunda % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri

istatistiksel anlamda anlamlı bir şekilde azalma görülürken ($p<0,05$) (Şekil 4.27, 4.28 ve 4.29), % aDDD değerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.30).

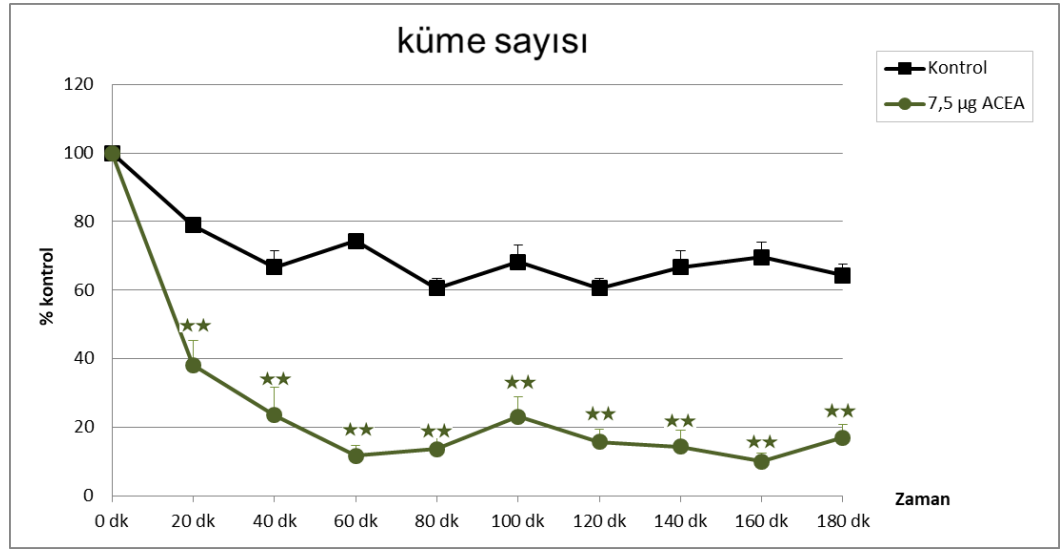
A.



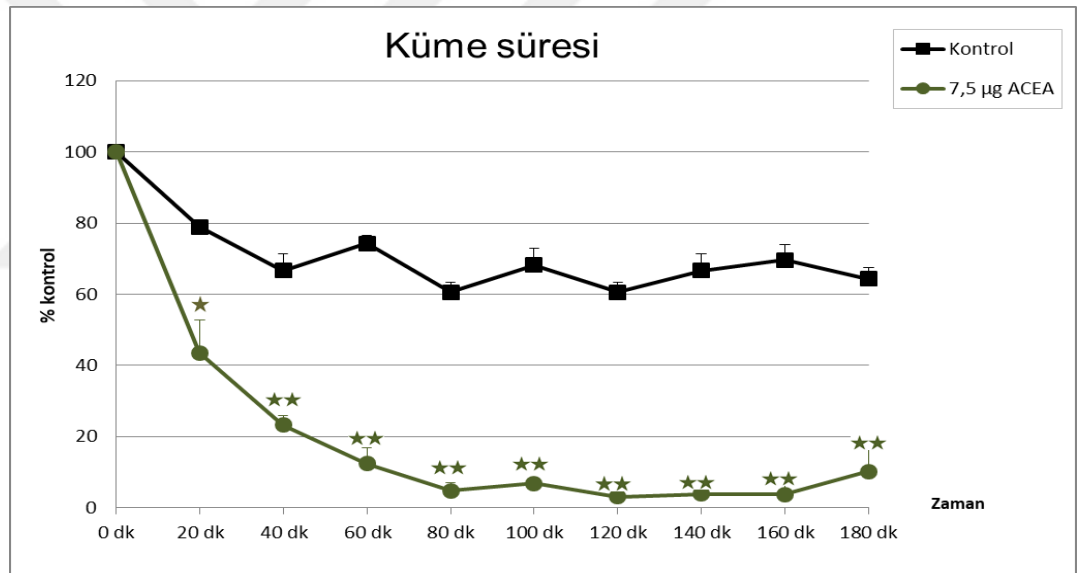
B.



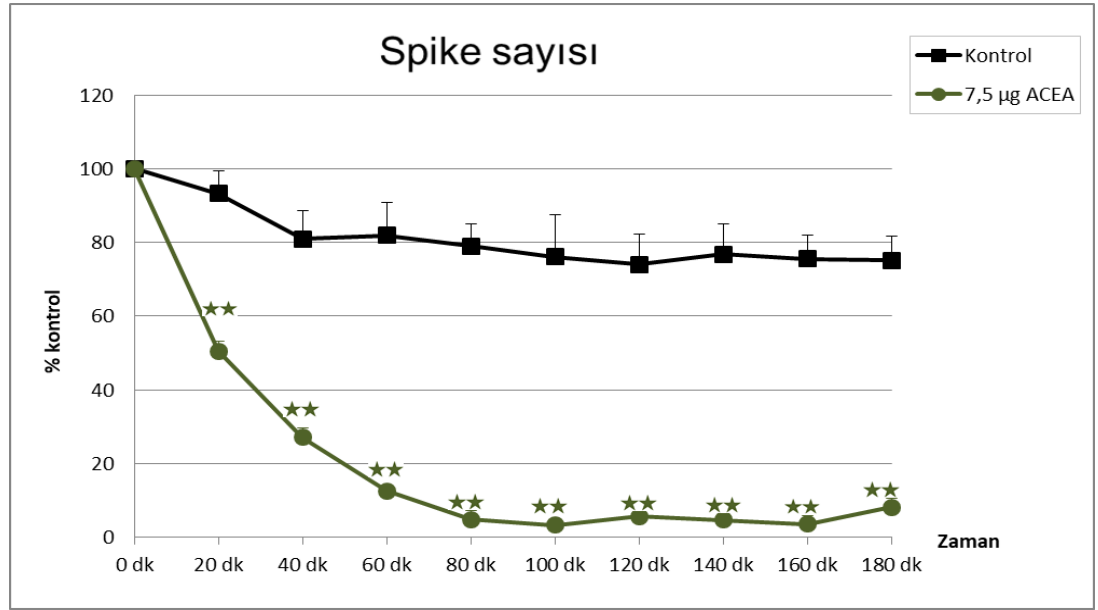
Şekil 4.26. 7,5 µg ACEA grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



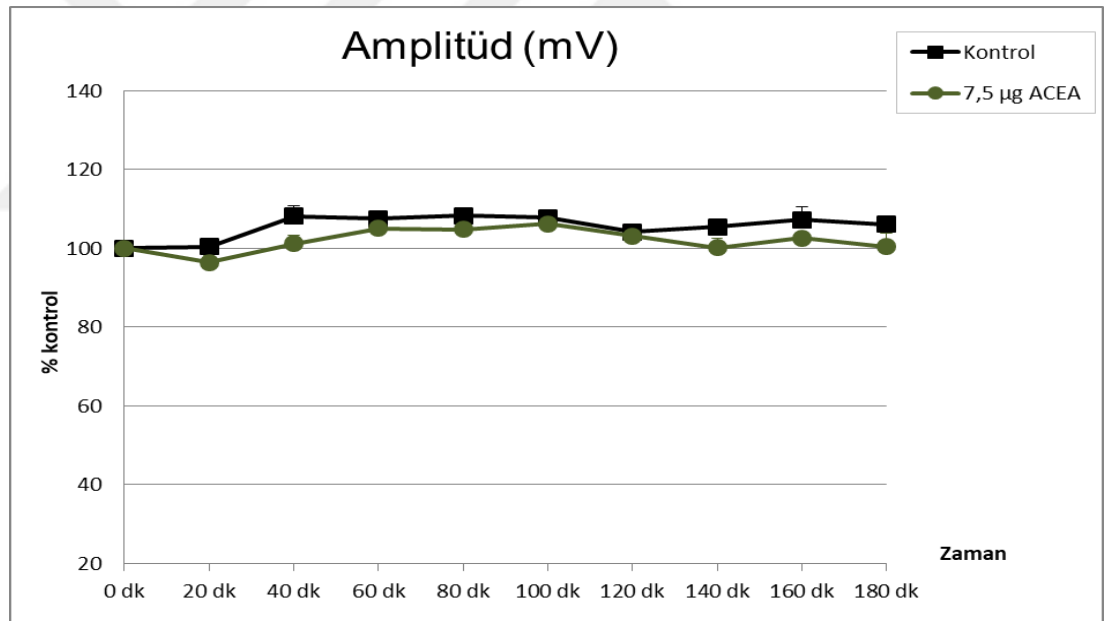
Şekil 4.27. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01).



Şekil 4.28. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*=p<0,05, **=p<0,01).



Şekil 4.29. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01).



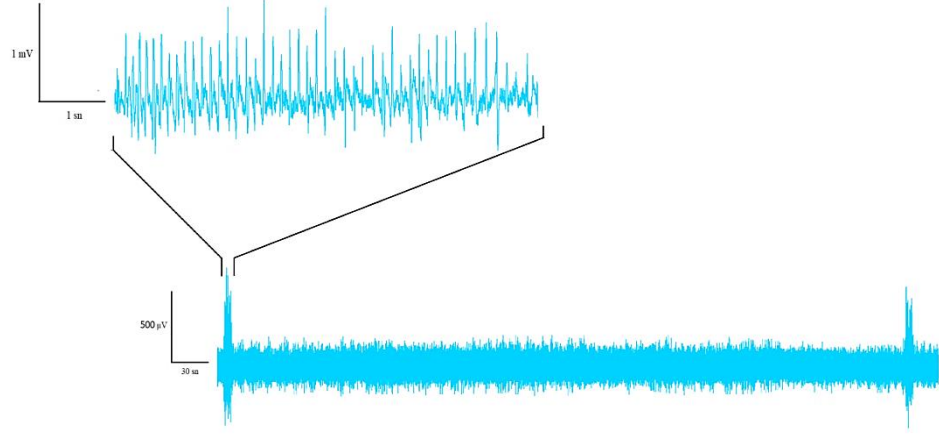
Şekil 4.30. 7,5 µg ACEA'nın, kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlenmedi.

4.9. CB1 Reseptör antagonisti AM-251'in (0,50 µg) Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

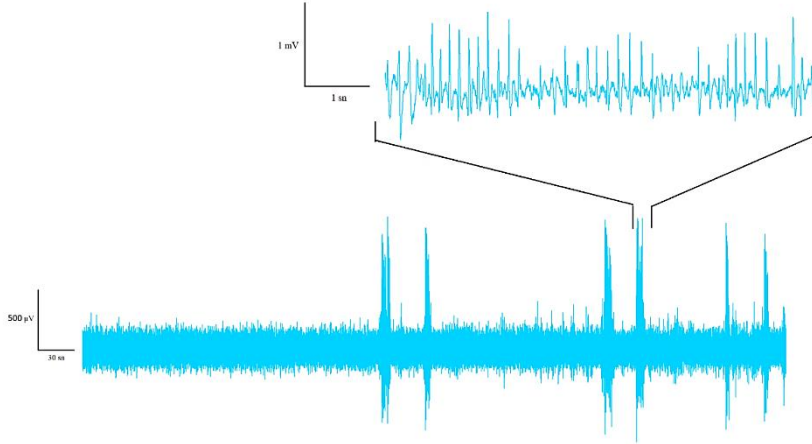
0,50 µg AM-251'in enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $13\pm0,3$, sDDD $67,3\pm4,2$ sn, nDDD $498,6\pm2,2$ ve aDDD $0,9189\pm0,0556$ mV olarak tespit edildi (Şekil 31). Kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri anlamlı ölçüde artarken ($p<0,05$) (Şekil 4.32, 4.33 ve 4.34), % aDDD değerinde ise bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.35).

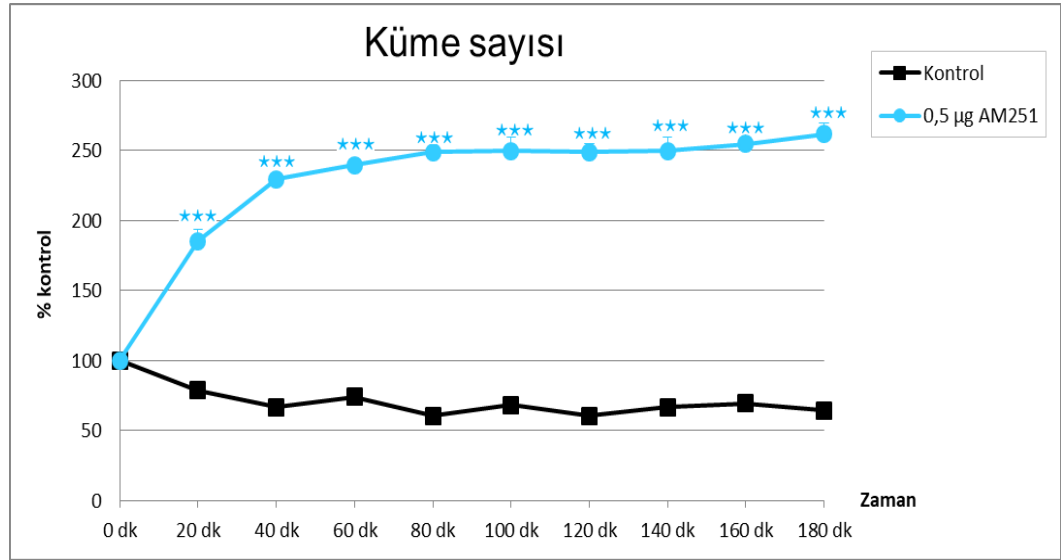
A.



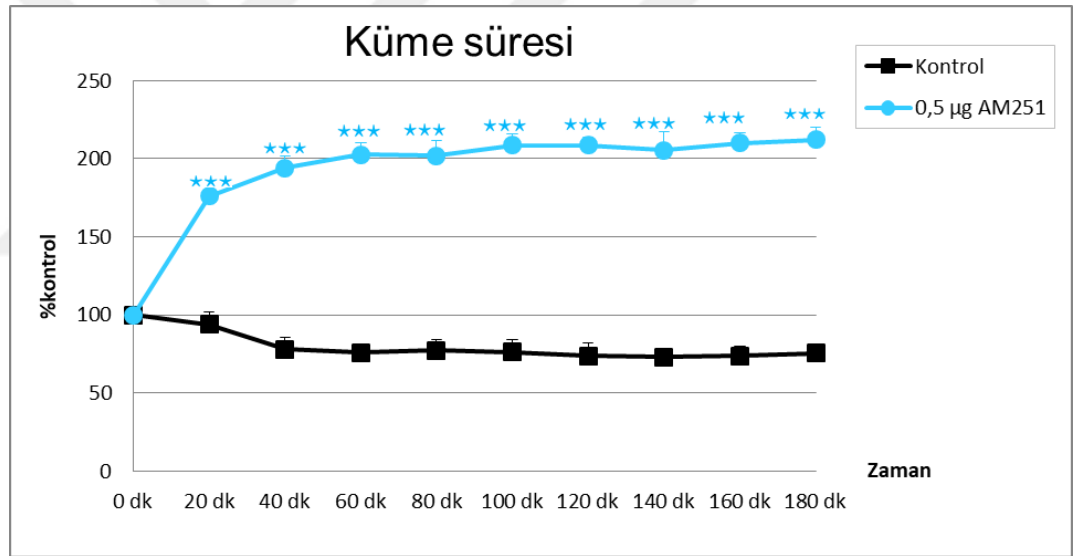
B.



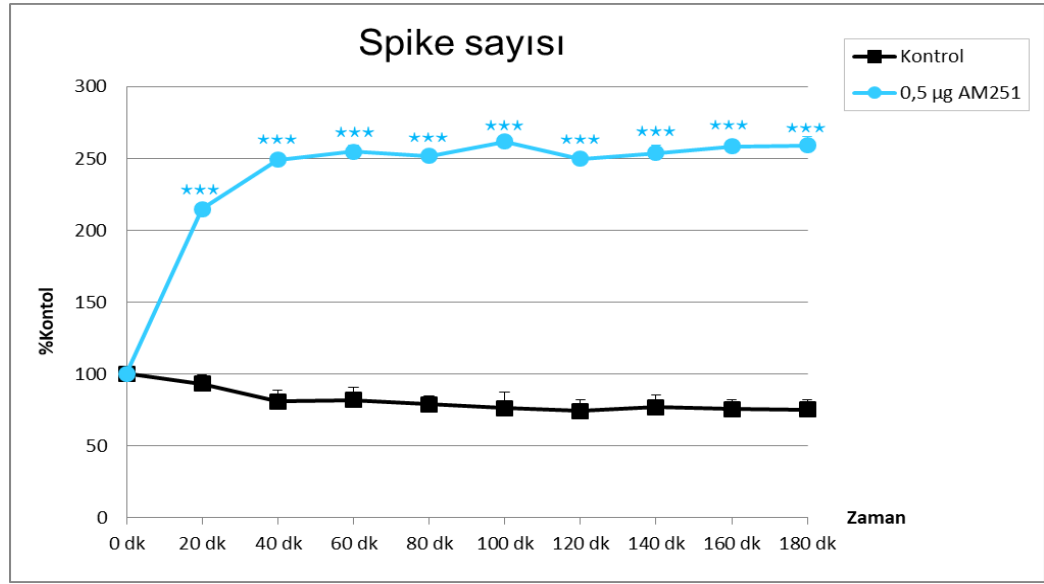
Şekil 4.31. 0,50 µg AM251 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



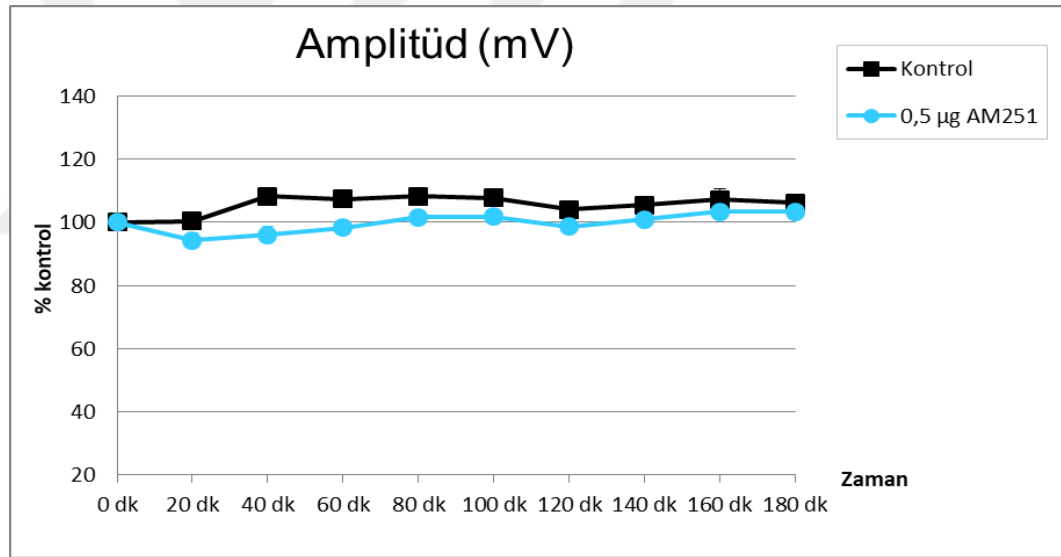
Şekil 4.32. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlemlendi (***=p<0,001).



Şekil 4.33. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlemlendi (***=p<0,001).



Şekil 4.34. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla spike sayısı yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlemlendi (***=p<0,001).



Şekil 4.35. 0,50 µg AM251'in, kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlenmedi.

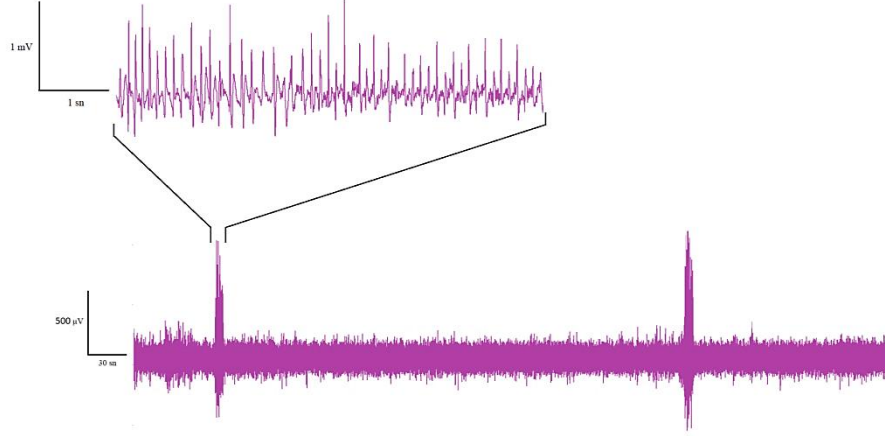
4.10. Oreksinerjik ve Kanabinoiderjik Sistem Etkileşiminin Absans Nöbetler Üzerine Etkisi

4.10.1. OX-A (8 µg) + Hemopressin (0,6 µg) Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

8 µg OX-A+0,6 µg Hemopressin grubunun enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $0,3\pm0,2$, sDDD $2\pm1,2$ sn, nDDD $10,6\pm6,7$ ve aDDD $0,8226\pm0,0478$ mV olarak tespit edildi (Şekil 36). Kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri anlamlı ölçüde azalırken ($p<0,05$) (Şekil 4.37, 4.38 ve 4.39), % aDDD değerinde ise bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.40).

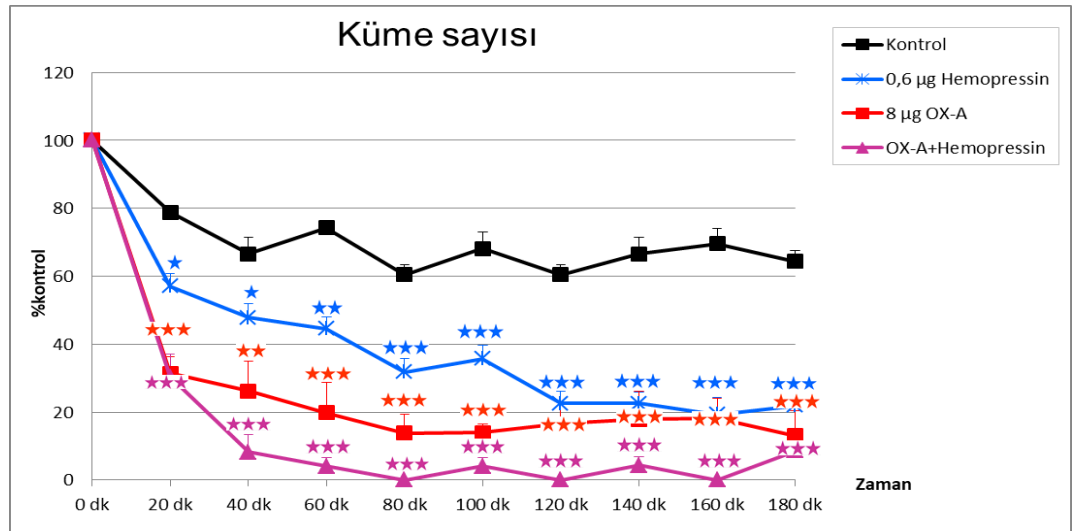
A.



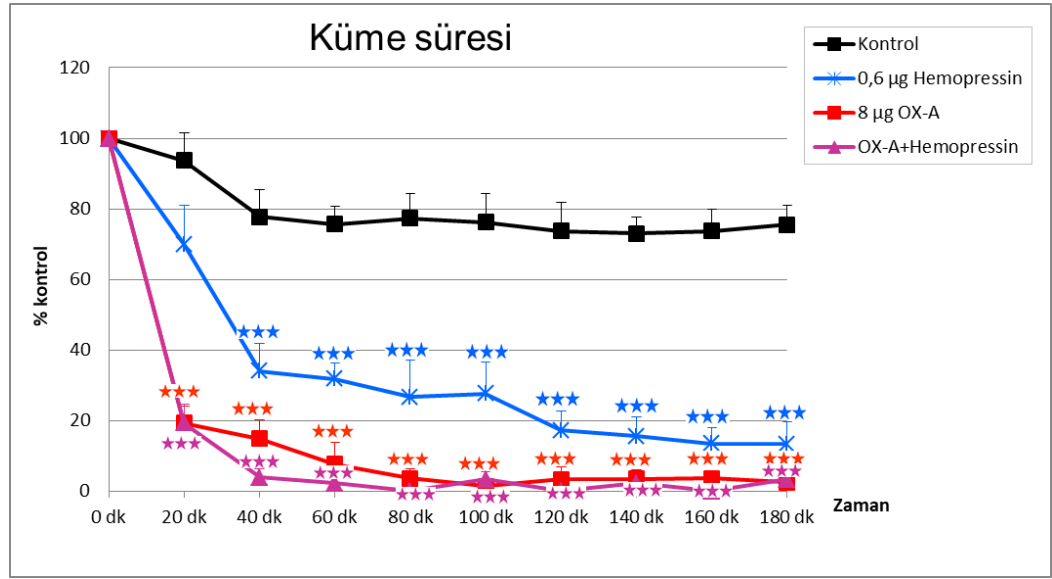
B.



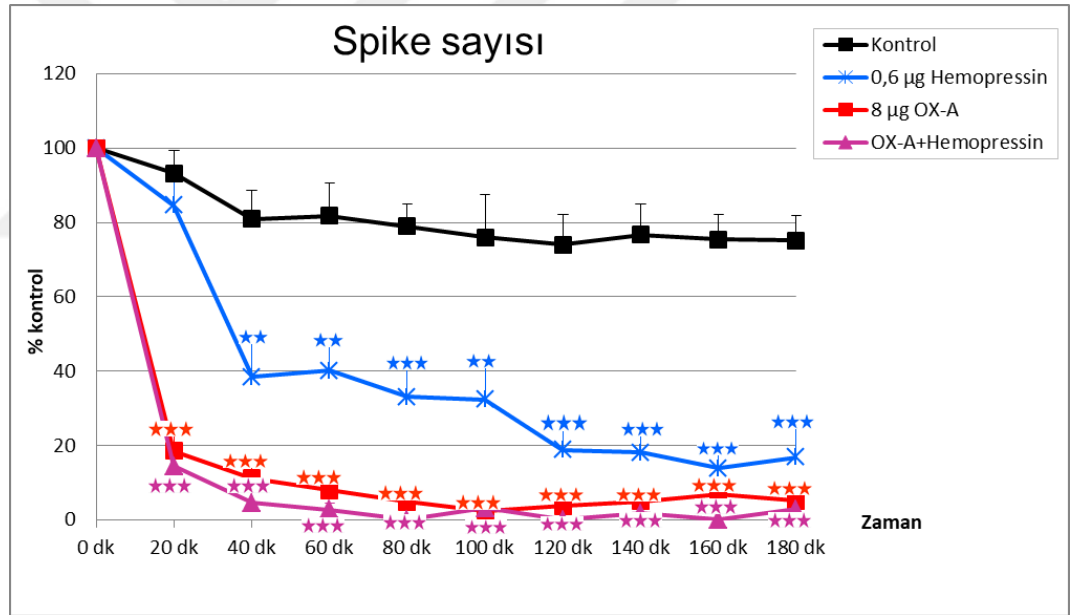
Şekil 4.36. OX-A+Hemopressin grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



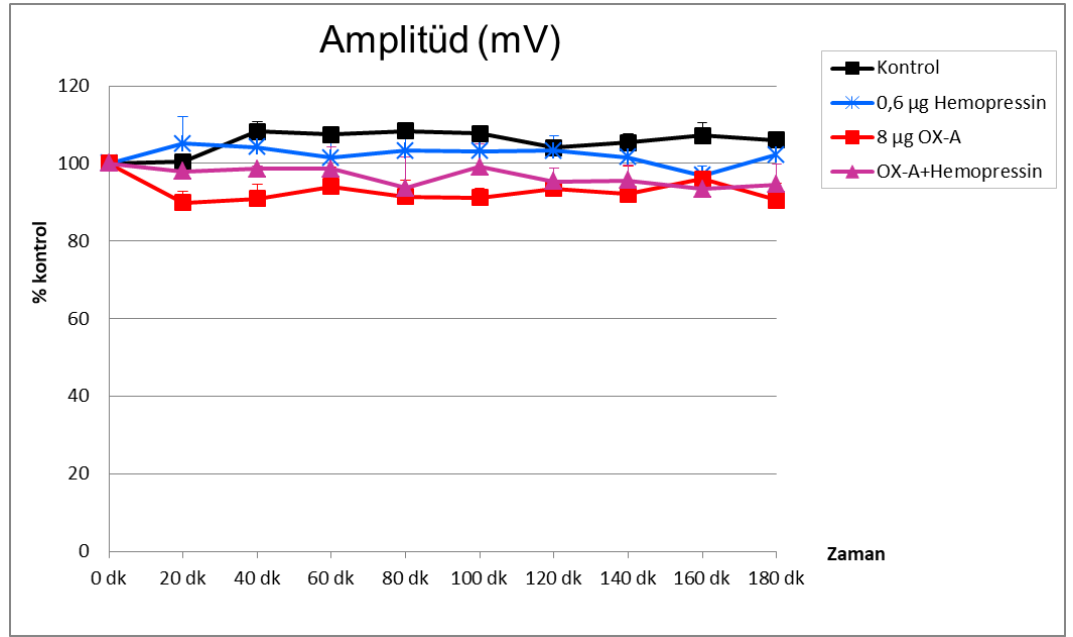
Şekil 4.37. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.38. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (***=p<0,001).



Şekil 4.39. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayısı yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).

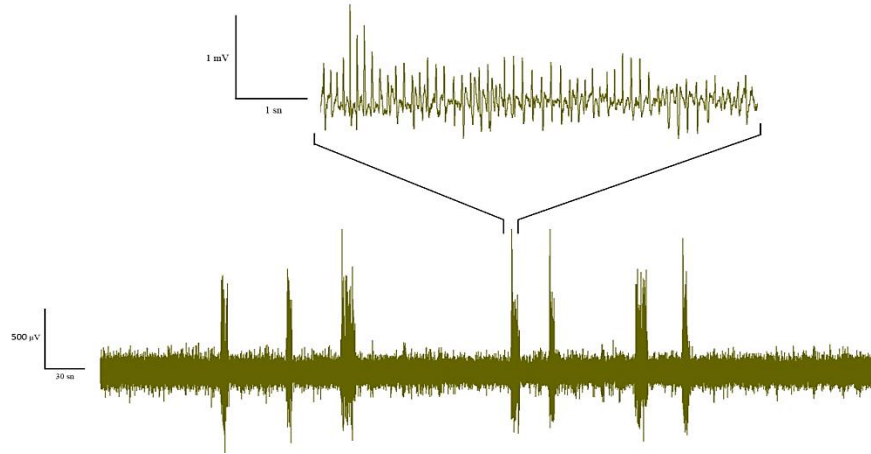


Şekil 4.40. 8 µg OX-A + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

4.10.2. SB-334867 (12 µg) + Hemopressin (0,6 µg) Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $0,7\pm0,4$, sDDD $5,0\pm3,2$ sn, nDDD $22,2\pm8,5$ ve aDDD $0,862\pm0,0306$ mV olarak tespit edildi (Şekil 41). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri anlamlı ölçüde azalırken ($p<0,05$) (Şekil 4.42, 4.43 ve 4.44), % aDDD değerinde ise bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.45) ($p>0,05$).

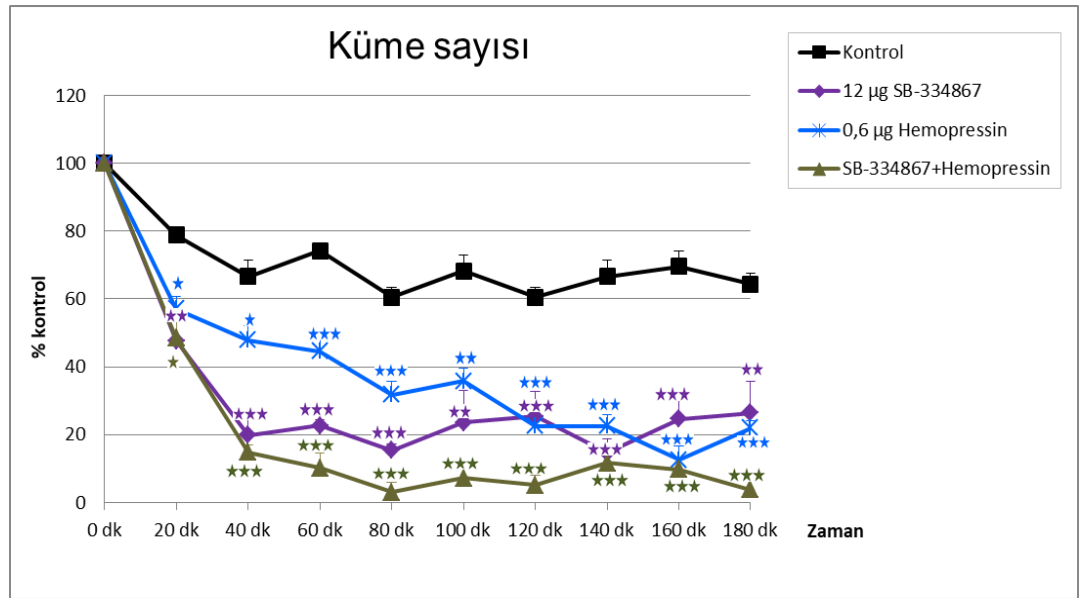
A.



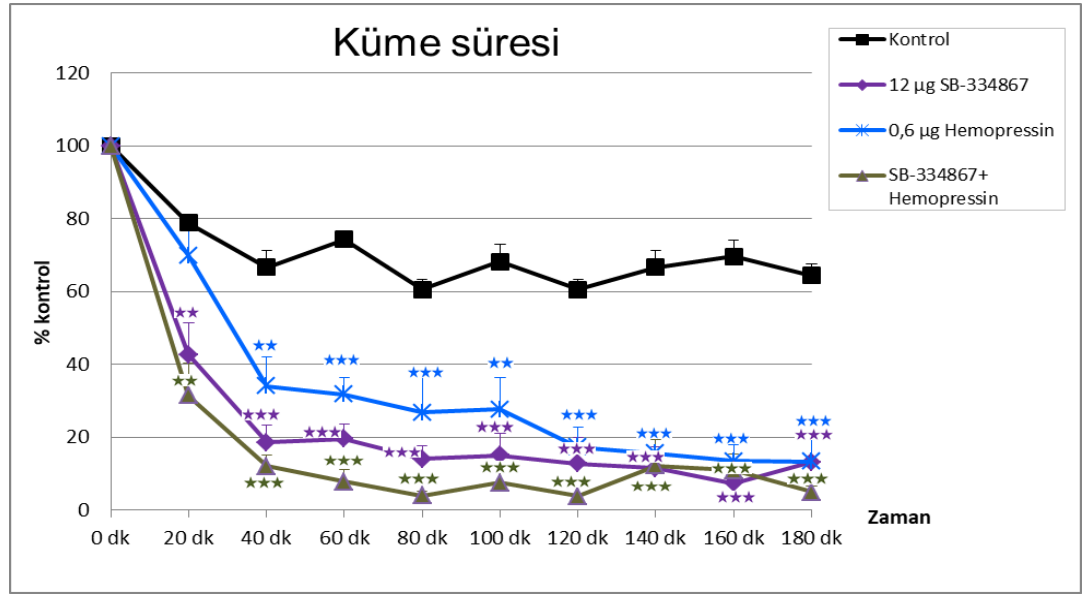
B.



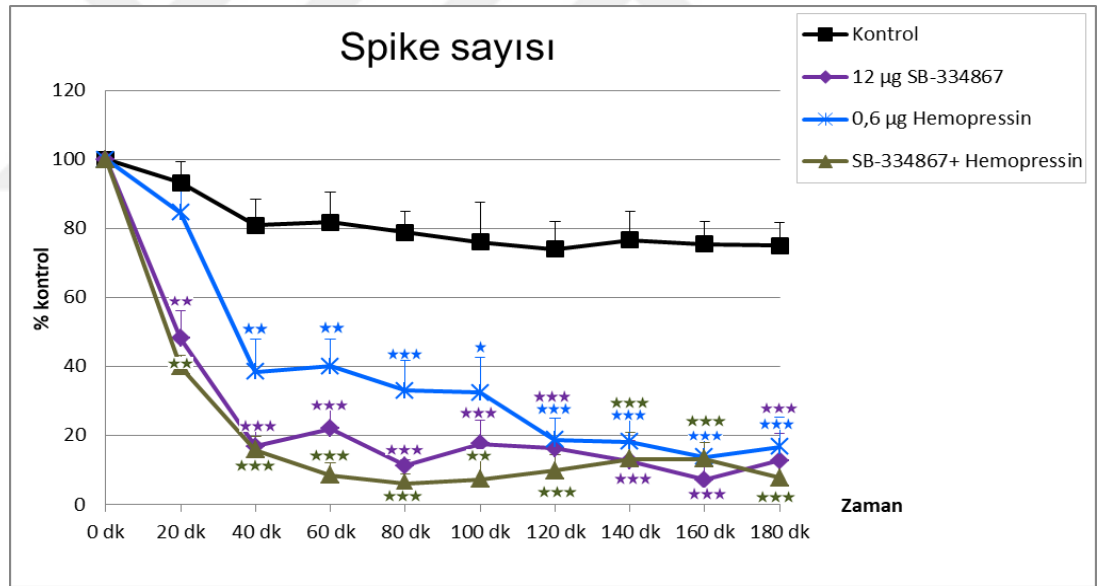
Şekil 4.41. SB334867+Hemopressin grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECOG görüntüleri



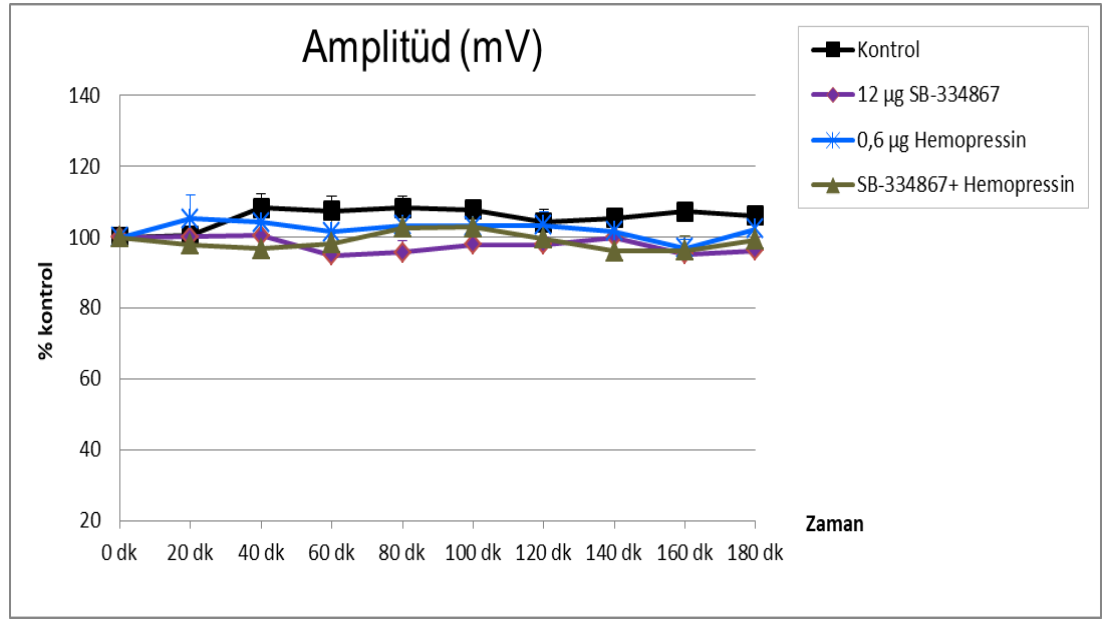
Şekil 4.42. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.43. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).



Şekil 4.44. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*=p<0,05, **=p<0,01, ***=p<0,001).

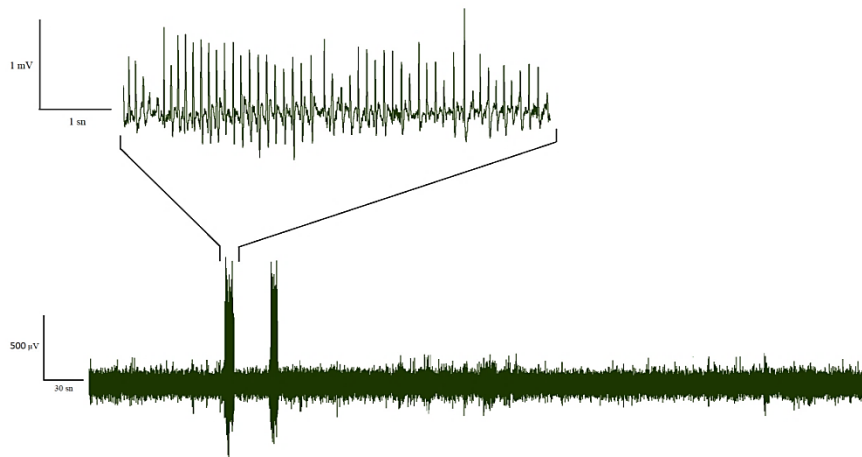


Şekil 4.45. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

4.10.3. OX-A (8 µg) + AM-251 (0,50 µg) Etkileşim Grubunun WAG/Rij Ratlarda Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

8 µg OX-A + 0,50 µg AM-251 grubunun enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $0,3\pm 0,2$, sDDD $2\pm 1,2$ sn, nDDD $17,3\pm 5,6$ ve aDDD $0,8912\pm 0,0249$ mV olarak tespit edildi (Şekil 46). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri anlamlı ölçüde azalırken ($p<0,05$) (Şekil 4.47, 4.48 ve 4.49), % aDDD değerinde ise bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.50).

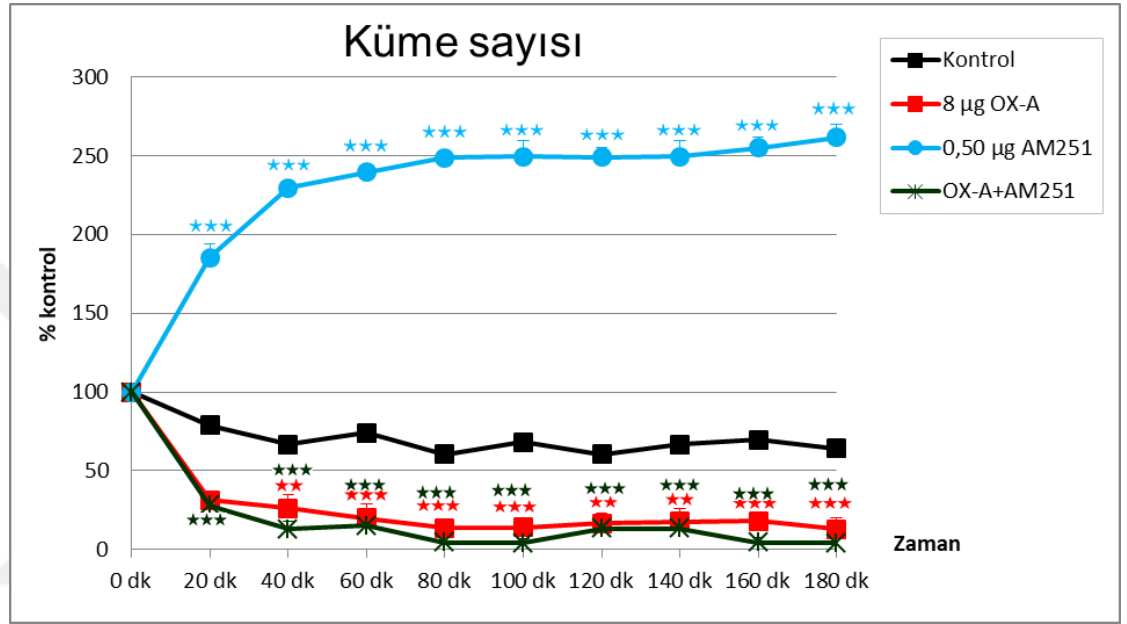
A.



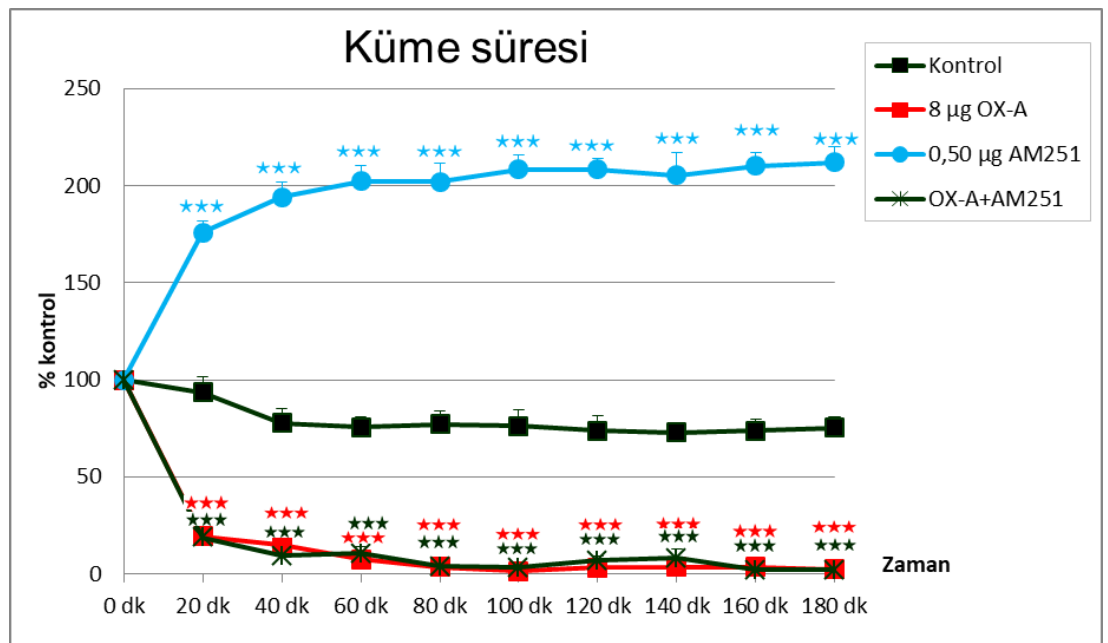
B.



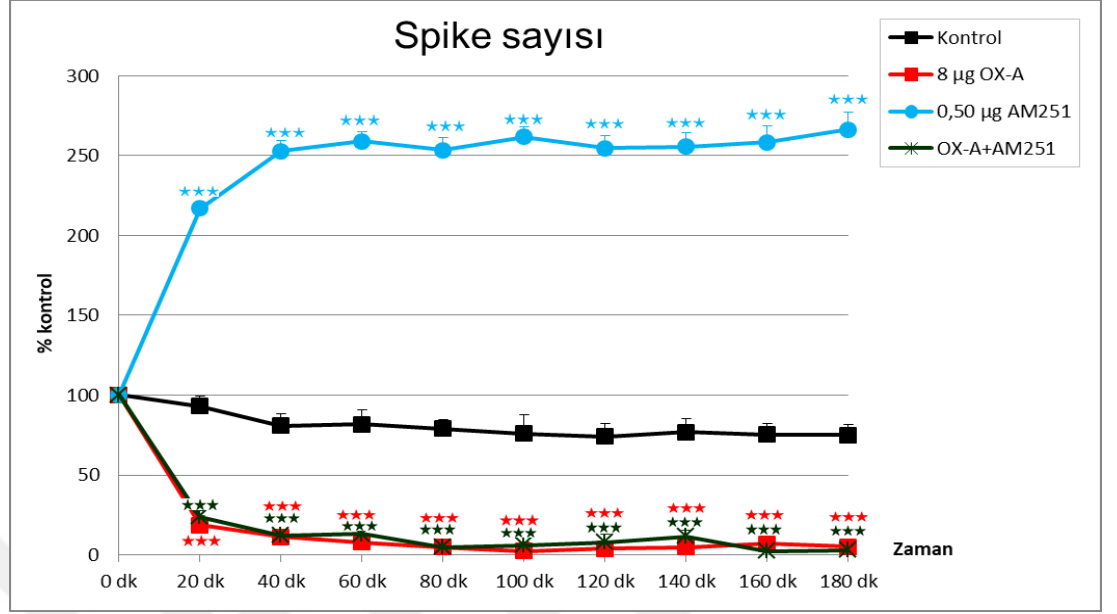
Şekil 4.46. OX-A+AM-251 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECOG görüntüleri



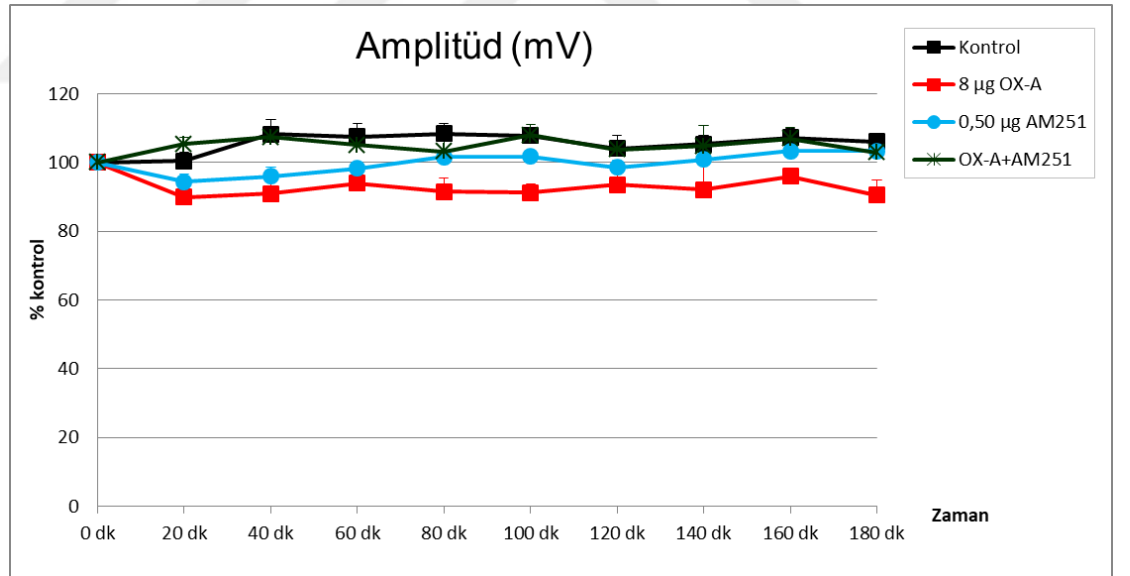
Şekil 4.47. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).



Şekil 4.48. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 gubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (***=p<0,001).



Şekil 4.49. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 gubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (***=p<0,001).

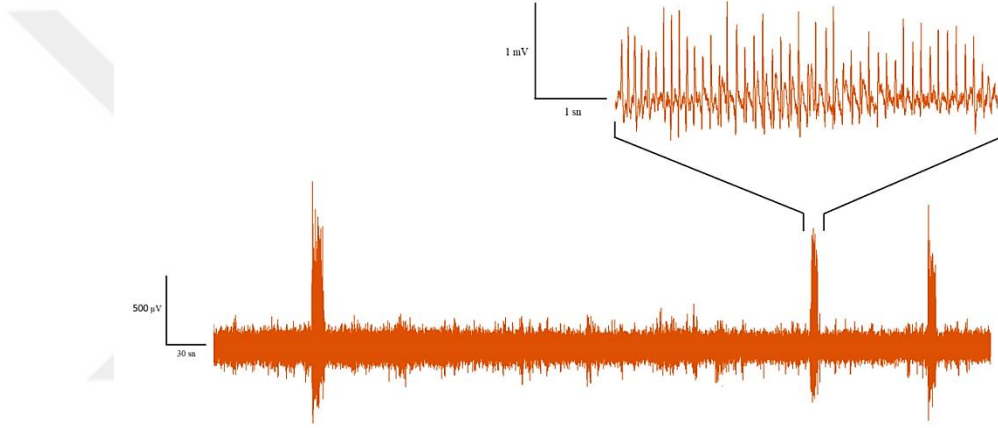


Şekil 4.50. 8 µg OX-A + 0,50 µg AM251 gubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

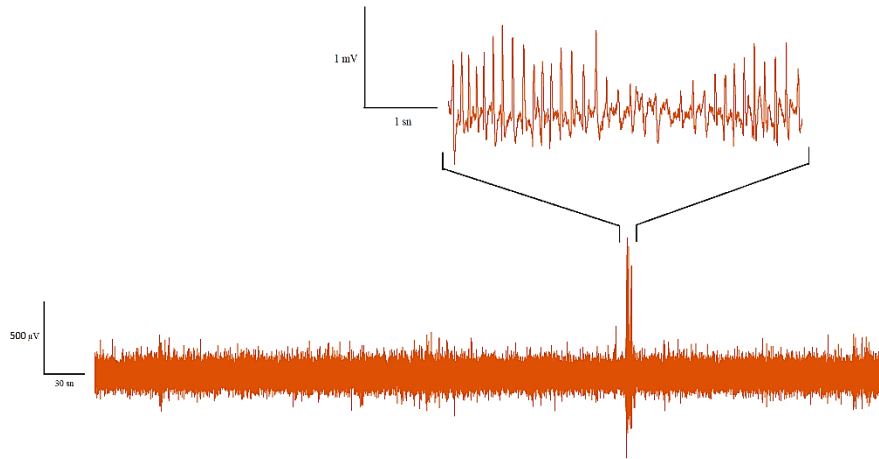
4.10.4. SB-334867 (12 µg) + AM-251 (0,50 µg) Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $2,2 \pm 0,8$, sDDD $10,2 \pm 4,3$ sn, nDDD $69,6 \pm 9,7$ ve aDDD $0,7907 \pm 0,0459$ mV olarak tespit edildi (Şekil 51). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri anlamlı ölçüde azalırken ($p < 0,05$) (Şekil 4.52, 4.53 ve 4.54), % aDDD değerinde ise bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.55).

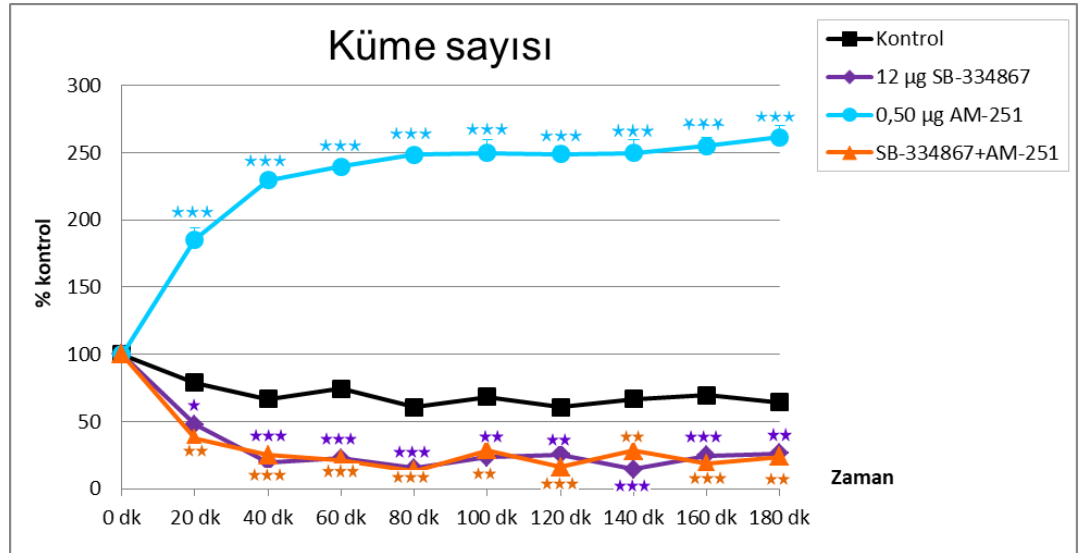
A.



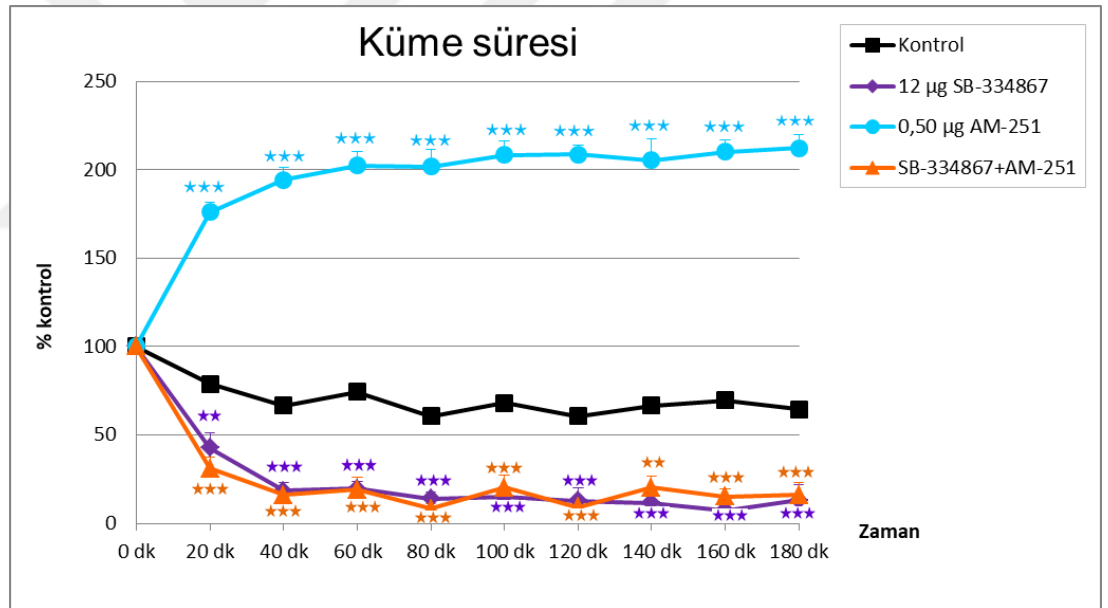
B.



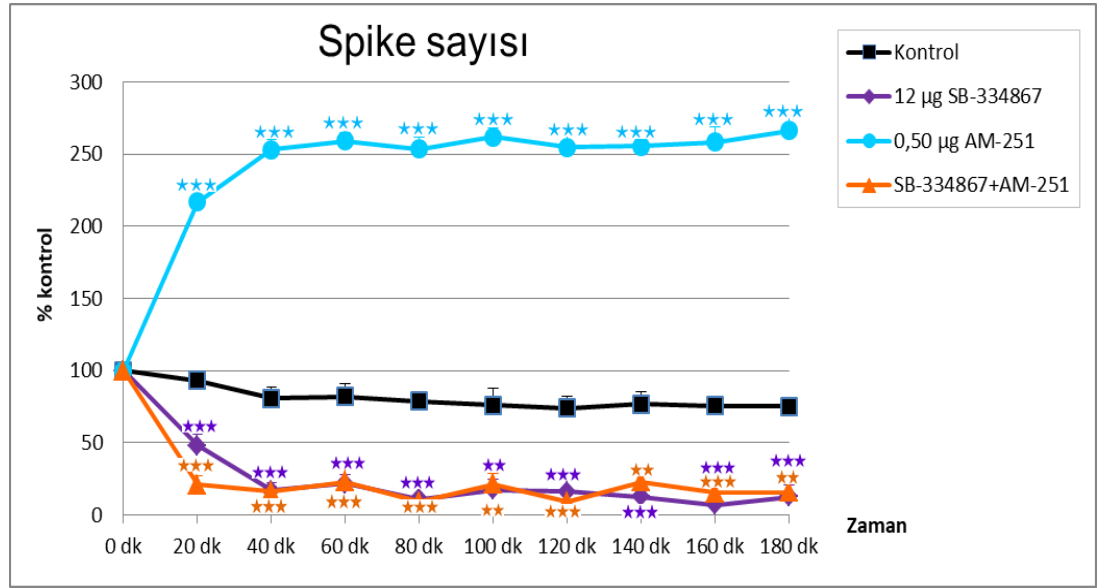
Şekil 4.51. SB334867+AM-251 grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



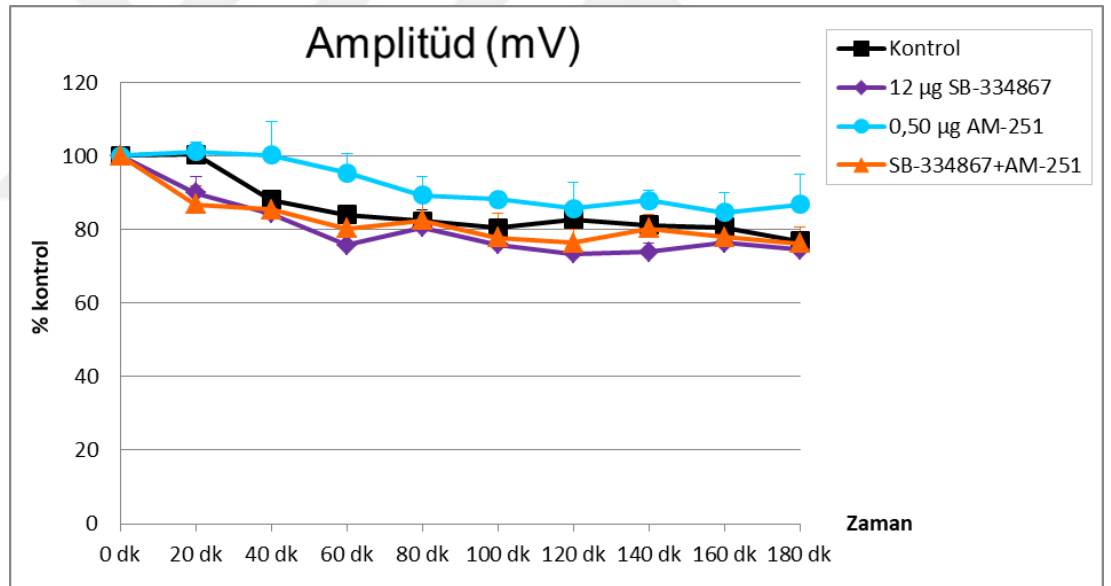
Şekil 4.52. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.53. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.54. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla spike sayısı yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).



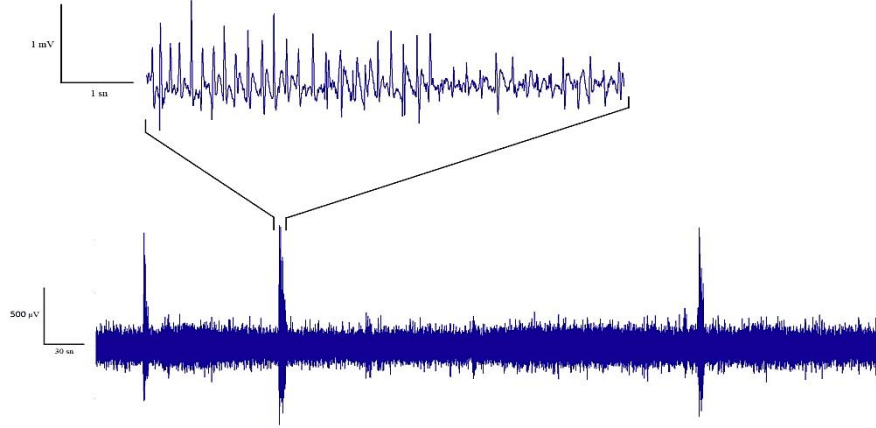
Şekil 4.55. 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

4.10.5. OX-A (8 µg) + ACEA (7,5 µg) Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

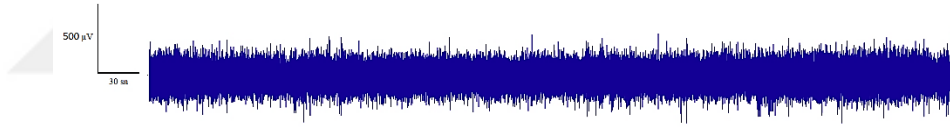
8 µg OX-A + 7,5 µg ACEA grubunun enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $0,4\pm0,2$, sDDD $2,0\pm1,3$ sn, nDDD $16,2\pm8,7$ ve aDDD $0,8456\pm0,0371$ mV olarak tespit edildi (Şekil 56). Kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri anlamlı ölçüde azalırken ($p<0,05$) (Şekil 4.57, 4.58 ve 4.59), % aDDD değerinde ise bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.60).

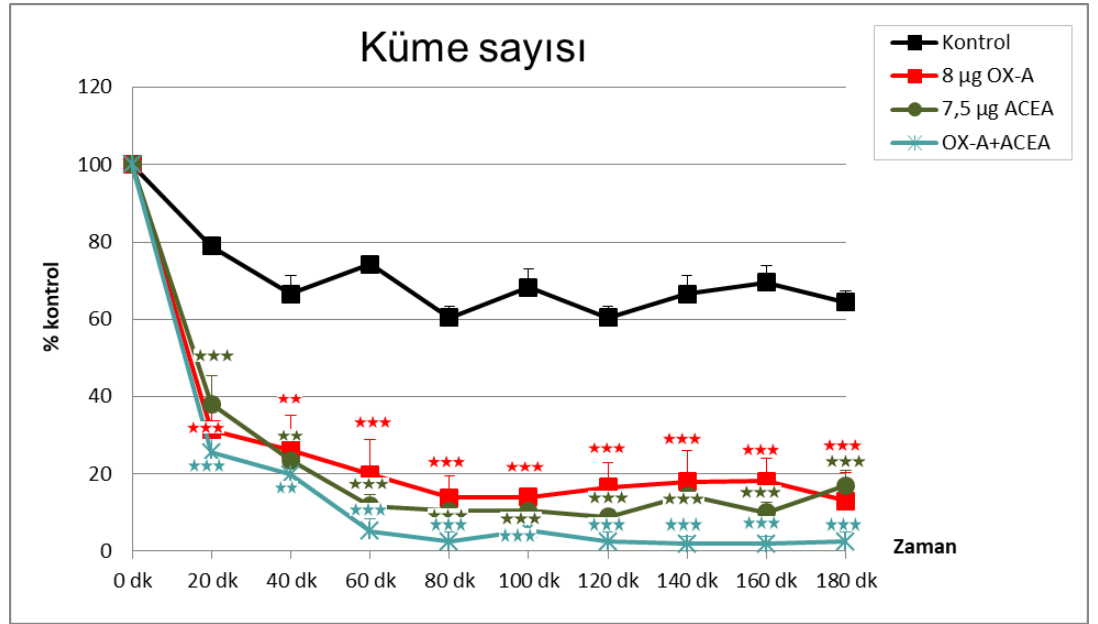
A.



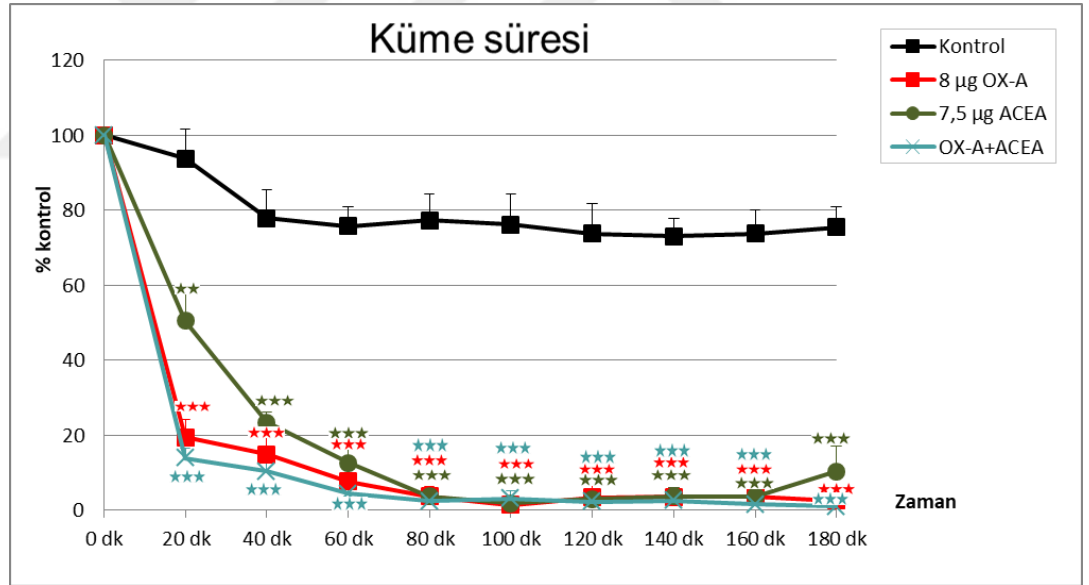
B.



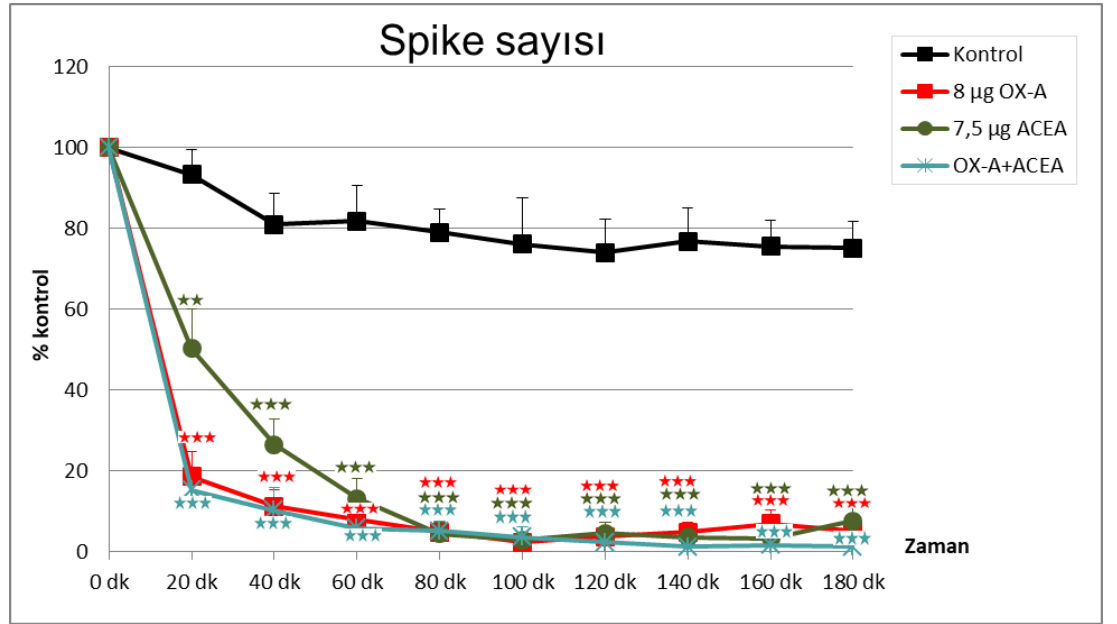
Şekil 4.56. OX-A+ACEA grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



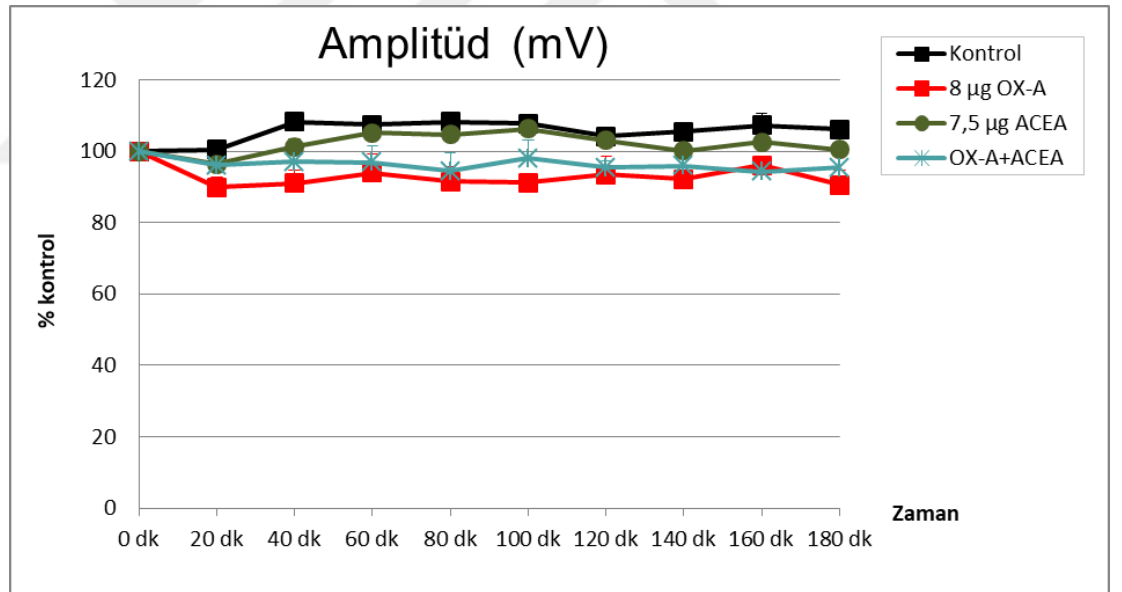
Şekil 4.57. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).



Şekil 4.58. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla küme sürelerinin yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).



Şekil 4.59. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla spike sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).



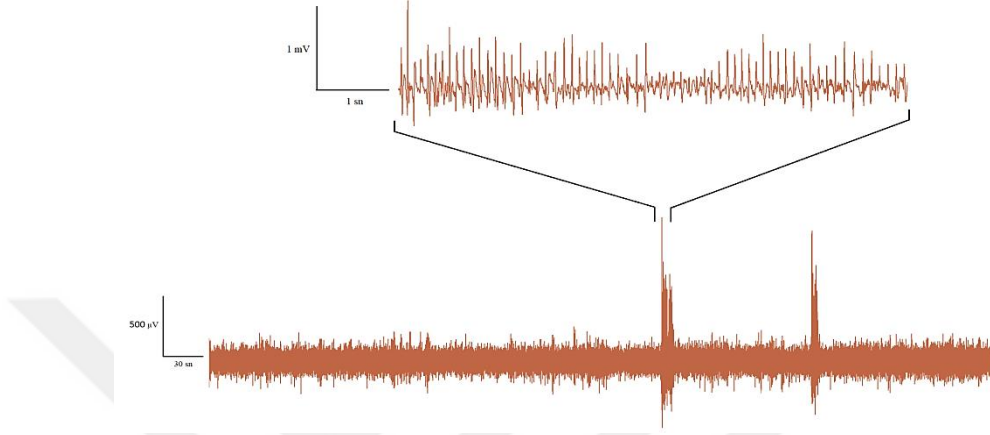
Şekil 4.60. 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

4.10.6. SB-334867 (12 µg) + ACEA (7,5 µg) Etkileşim Grubunun Absans Epilepsi Modeli Üzerine Etkisi

12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun enjeksiyon sonrası kDDD sayısının 20 dakikalık ortalamasının 100. dakikada $1,2 \pm 0,5$, sDDD $6,4 \pm 2,7$ sn, nDDD $44,8 \pm 10,7$ ve aDDD $0,8266 \pm 0,0383$ mV olarak tespit edildi (Şekil 61).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan % kDDD, sDDD ve nDDD değerleri anlamlı ölçüde azalırken ($p<0,05$) (Şekil 4.62, 4.63 ve 4.64), % aDDD değerinde ise bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 4.65).

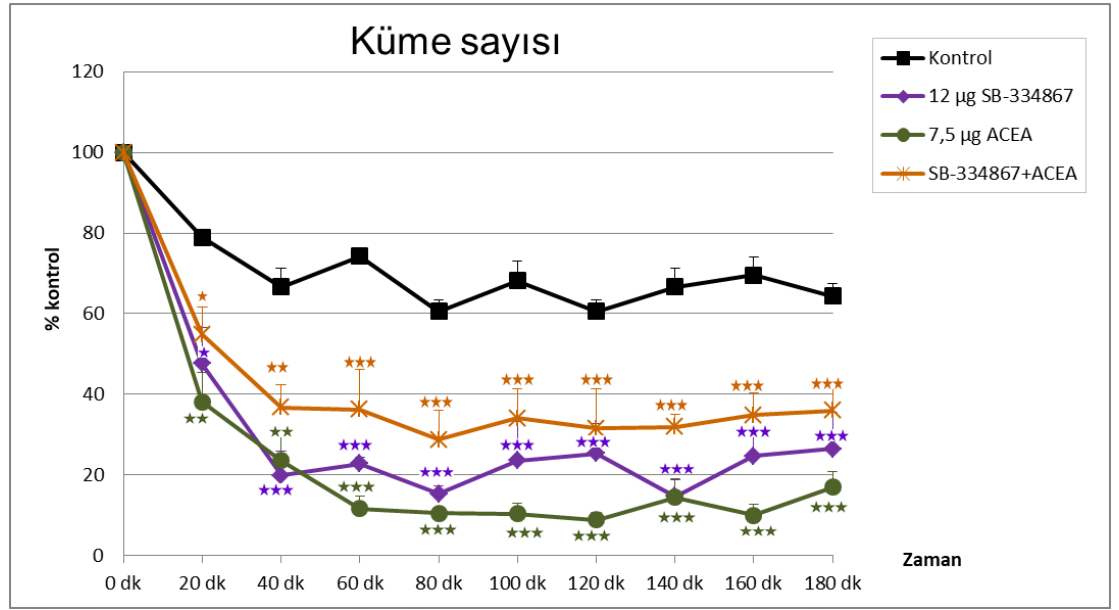
A.



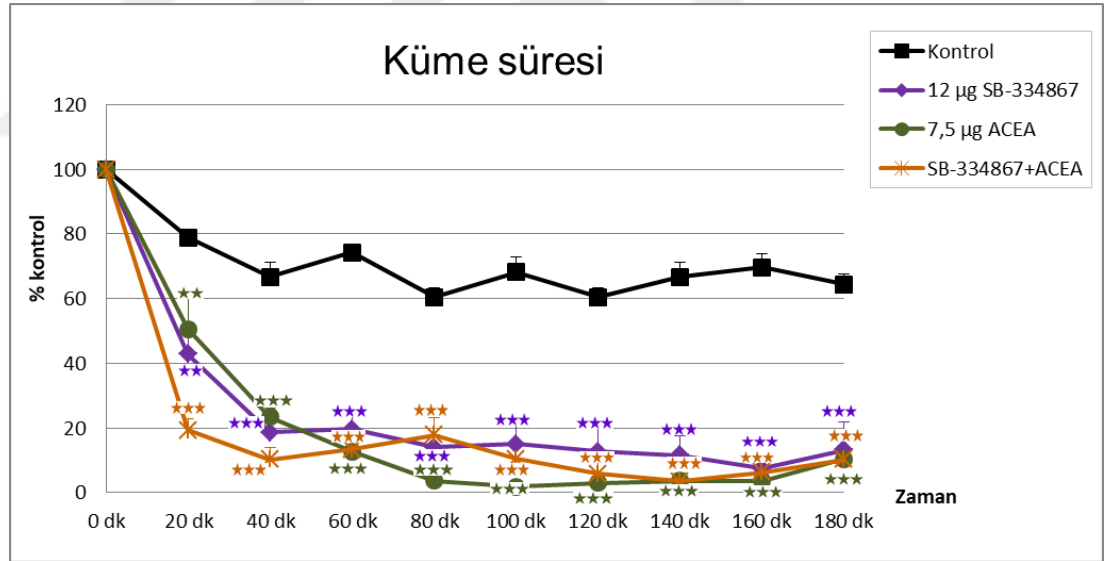
B.



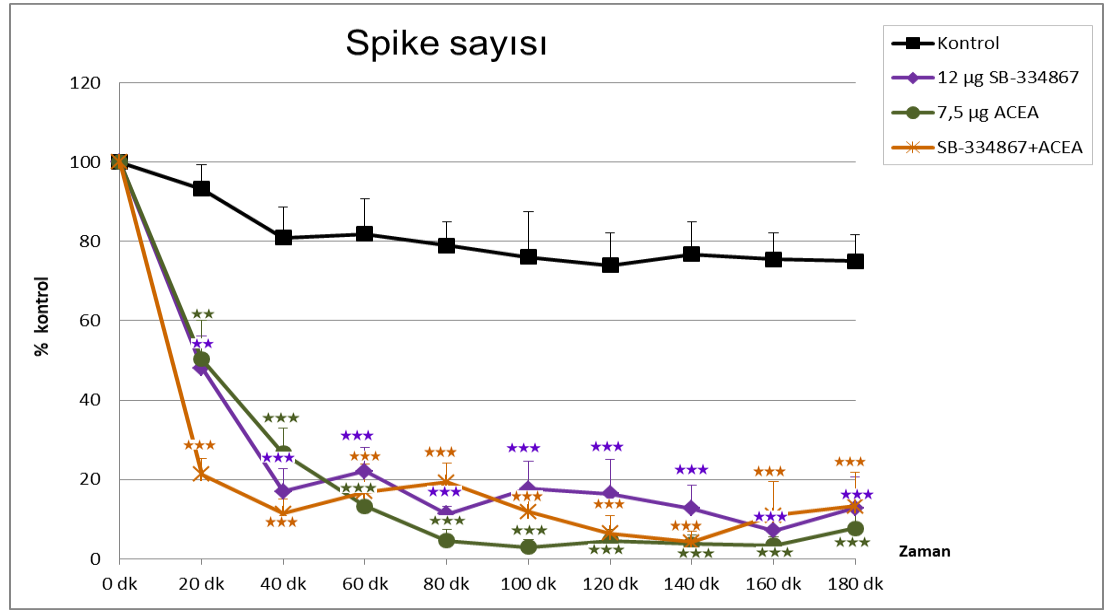
Şekil 4.61. SB334867+ACEA grubunun A) enjeksiyon öncesi ve B) enjeksiyon sonrası 100.dakikalardaki örnek ECoG görüntüleri



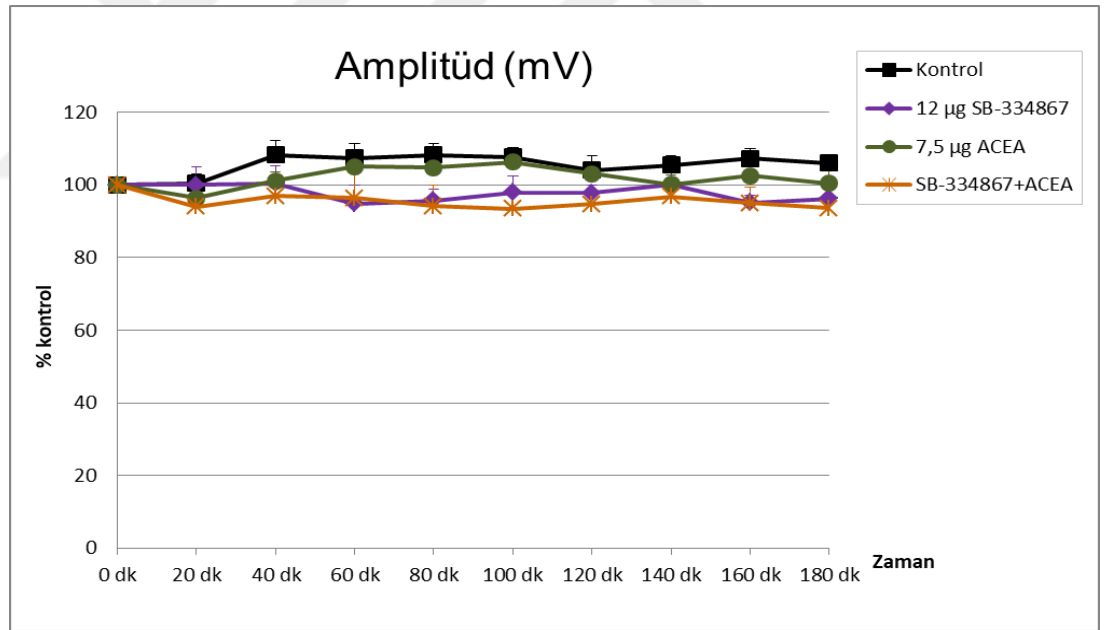
Şekil 4.62. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla küme sayılarının yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme sayısı yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (*= $p<0,05$, **= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.63. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla küme süresi yüzde kontrolünün karşılaştırılması (küme süresi yüzde kontrol±SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**= $p<0,01$, ***= $p<0,001$).



Şekil 4.64. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla spike sayısı yüzde kontrolünün karşılaştırılması (spike sayısı yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gözlemlendi (**=p<0,01, ***=p<0,001).



Şekil 4.65. 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA grubunun kontrol grubuyla amplitüd yüzde kontrolünün karşılaştırılması (ortalama amplitüd yüzde kontrol $\pm$ SEM). Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.

5. TARTIŞMA

Çocukluk döneminde ortaya çıkan absans epilepsi, yaşam kalitesini ve çocuğun okul başarısını olumsuz etkileyerek çevresel uyaranlara kısa süre cevapsız kalınması ile karakterize jeneralize nonkonvulsif bir epilepsi türüdür. Absans epilepsinin patofizyolojisinde görev alan mekanizmaları açığa çıkarmak ve tedavisine yol göstermek amacı ile EEG kayıtlarında insandaki absans epilepsi kayıtlarına benzer jeneralize DDD'ler kaydedilen WAG/Rij ırkı sıçanlar kullanılmaktadır. Bu hayvanlar yaklaşık 2 aylıkken, EEG'de senkron ve bilateral DDD'ler ile birlikte hızlı soluma, baş eğme ve genellikle, insandaki absans epilepside olduğu gibi göz seğirmesi gözlenir (van Luijtelaar and Zobeiri, 2014). Bu DDD'ler ne kendiliğinden düzelir ne de diğer nöbet tiplerine dönüşebilir, yaşamları boyunca devam eder (Coenen and Van Luijtelaar, 2003). Erişkin WAG/Rij sıçanların kortikal EEG'deki diken dalga aktivitesi 1-30 saniye süren deşarjlar ve 7-10 Hz frekansındaki diken dalgalarından oluşur (Drinkenburg et al., 1993). Bu diken dalga deşarjları somatosensoriyel korteksin piramidal nöronlarını, talamokortikal nöronları ve retiküler talamik çekirdeğin GABAerjik nöronlarını içeren kortiko-talamo-kortikal devrede üretilir (Steriade, 2003). T tipi Ca^{2+} kanalları absans epilepsinin patofizyolojisinde kritik bir öneme sahiptir (Celli and van Luijtelaar, 2022). Sunulan çalışmada kullanılan WAG/Rij ırkı sıçanların kendisi nöbet aktivitesine sahip olduğu için nöbet geliştirmek adına hiçbir kimyasal ajan uygulanmadı. Kontrol grubu oluşturmak için hayvanlardan 180 dk bazal kayıt alındıktan sonra çözücü olarak kullanılan DMSO uygulanıp kayıt 3 saat daha devam ettirildi. Sunulan çalışmada ilk 3 saatlik bazal kayıt sonrası toplam küme sayısı $80,4 \pm 1,5$ ve ortalama küme süresi $53,6 \pm 7,6$ sn olarak kaydedildi. Yapılan çalışmaların birinde 3 saatlik bazal kayıt sonrası toplam küme sayısı $71,1 \pm 4,1$, ortalama küme süresi $3,84 \pm 0,14$ sn (Tiryaki, 2021) iken, diğer çalışmada ise bazal kayıt sonrası toplam küme sayısı $99,8 \pm 0,5$, ortalama küme süresi $103,6 \pm 4,9$ sn olarak kaydedilmiştir (Şen, 2019). Son çalışmalar yaşa bağlı olarak WAG/Rij sıçanlarda DDD profilinin arttığını göstermektedir (Lazarini-Lope et al., 2021). Bir çalışmada 3, 6 ve 9 aylık WAG/Rij sıçanlarda gözlenen DDD sayısı incelenmiş; yaşa bağlı olarak DDD sayısının arttığı ve en fazla DDD sayısının 9 aylık sıçanlarda görüldüğü bulunmuştur (Çelik vd., 2023). Bu bulgular bize sunulan çalışma ile diğer çalışmalardaki toplam küme sayısı ve süresindeki farklılığın sebebinin hayvan yaşlarına bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Jeneralize

absans nöbetlerin patofizyolojisi tam aydınlatılamamış olsa da birtakım teoriler ortaya sürülmüştür. Bunlardan sentrensefalik teoriye göre DDD'ler subkortikal kökenlidir. Kortikoretiküler teori DDD'lerin talamokortikal mekanizmalarla ilişkili olduğunu, korteksin hipereksitabilitesinde ritmik iğ ossilasyonlarının talamusta DDD'lere dönüştüğünü ifade eder. Kortikal teoriye göre nöbet aktivitesi somatosensoriyal korteksin perioral bölgesinden hızla yayılmaktadır (Meeren et al., 2005). GAERS sıçanlarda somatosensoriyel korteksin inhibe edilmesi bu sıçanlarda görülen DDD'leri ortadan kaldırmıştır (Polack et al., 2009). Nöbetin ilk döngüleri sırasında korteks talamusu çalıştırırken, daha sonra korteks ve talamus birbirini harekete geçirerek ritmik deşarjı güçlendirir ve sürdürür (Meeren et al., 2005). Yapılan bazı çalışmalarda lateral hipotalamusta kimyasal lezyon sonucu WAG/Rij ve GAER'lerde DDD'lerin baskılandığı gözlenmiştir (Vergnes and Marescaux, 1992; Avanzini et al., 1993; Meeren et al., 2002). Her iki modelde de GABA transaminaz inhibitörü ve GABA_A agonisti olan musimolun talamusun ventrobazal kompleksine uygulanması DDD'leri artırmıştır (Vergnes et al., 1984; Danober et al., 1998; Coenen and Van Luijtelaa, 2003; Bouwman and van Rijn, 2004). Tüm bunların sonucunda DDD'lerin talamustan kaynaklandığı ve talamik GABAerjik nöronların DDD'leri kontrol ettiği görüşü desteklenmektedir. Fakat, talamusun retiküler çekirdeğe ait sinaptik organizasyon ve nöronal yapının epileptik olmayan hayvanlarınkinden farklı olmadığı görülmüştür (Sabers et al., 1996; van de Bovenkamp-Janssen et al., 2004).

5.1. Hemopressinin Absans Epilepsi Üzerine Etkisi

Hemopressin CB1 kanabinoid reseptörlerini selektif olarak bağlayan bir peptid ligantıdır ve CB2 reseptörünün de dahil olduğu diğer G-protein ile ilişkili reseptör familyasını etkilemediği kesin olarak bilinir. Buna rağmen CB1 reseptör agonisti ya da antagonisti olduğu net değildir (Heimann et al., 2007, Dodd et al., 2010, Li et al., 2016, Aygun vd., 2020). Yapılan çalışmalarda hemopressinin i.s.v., i.p. ve oral, uygulanmasının kan-beyin bariyerini geçip hipotansiyona neden olduğu, iştah üzerinde baskılayıcı etkiye sahip olduğu ve anksiyojenik etki göstererek CB1 reseptör antagonisti gibi davrandığı, ancak gastrointestinal motiliteyi baskılayarak CB1 reseptör agonisti gibi de etki ettiği, bazı çalışmalarda ise antinosisepsiyon etkisinin agonist veya antagonist olarak davranabileceği ileri sürülmüştür (Rioli et al., 2003; Dodd et al., 2010; Hama and Sagen, 2011). Hofer ve arkadaşları (2015)

hemopressinlerin hem adrenal medullada hem de rodentlerin merkezi sinir sisteminin katekolaminerjik nöronlarında baskın olarak bulunduğunu ve endokannabinoidlerle aynı biyolojik ve fizyolojik öneme sahip olduklarını öne sürmüşlerdir. Mitokondriyal CB1R'nin aktivasyonu yoluyla, hemopressinler ve CB1R'ye afinitesi olan hücre içi peptitler, cAMP konsantrasyonunu, protein kinaz A aktivitesini ve mitokondriyal fonksiyonu modüle edebilir (Heimann et al., 2007; Hofer et al., 2015). Hemopressinin epileptiform aktivite üzerine olan etkisini araştıran çalışmalar az sayıdadır. Penisilin modeli epilepside 0,6 µg i.s.v. hemopressin epileptik aktiviteyi artırdığı için, etkin doz olarak kabul edilmiştir (Aygün vd., 2020). Serebral iskemi/reperfüzyon fare modeliyle yapılan ve kanabinoid agonist ve antagonistlerinin nöroprotektif etkisinin araştırıldığı çalışmada hemopressinin (1 mg/kg, i.p.) kanabinoid reseptör agonisti ACEA'nın oluşturduğu nöroprotektif etkiyi az da olsa baskılandığı görülmüştür (Ma et al., 2015). Scrima ve arkadaşları (2010) hemopressinin yapısal özelliklerini incelemiş ve CB1 reseptörü ile etkileşim halinde olduğunu göstermişlerdir. Bir diğer çalışmada CB1 knock-out sıçanlarda hemopressinin besin alımı üzerine etkisinin görülmediği gösterilmiştir. Diğer taraftan PTZ tutuşma modeli epilepside 0,030 µg ve 0,6 µg hemopressin diken dalga deşarjlarının toplam süresini, toplam sayısını ve spike sayısını azaltmıştır (Al-Kaleel et al., 2023). Sunulan çalışmada da 0,6 µg hemopressin CB1 reseptör agonisti gibi davranarak absans epilepsili hayvanlardan kaydedilen DDD aktivitesini azalttığı görüldü.

5.2. Kanabinoid CB1 Reseptörünün Absans Epilepsideki Rolü

Kanabinoid sistemin beyindeki nöbet aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır (Wallace et al., 2003; Luszczki et al., 2006; Deshpande et al., 2007). Kozan ve arkadaşları (2009) sıçanda penisilin modeli epileptiform aktivite üzerine CB1 reseptör agonisti ACEA'nın (7,5 µg, i.s.v) spike frekansını anlamlı derecede azalttığını, CB1 reseptör antagonist AM251'in (0,25 µg, i.s.v) ise spike frekansını anlamlı ölçüde arttırdığını buldular. Başka bir çalışmada 0,25 µg (i.s.v.) AM-251'in epileptiform aktivitenin frekansını arttırdığı ve burst şeklinde spike'larla karakterize status epileptikus benzeri aktiviteler gösterdiği saptanmıştır (Arslan vd, 2013).

Literatürde absans modeli WAG/Rij sıçanlarda CB1 reseptör agonisti R(+)WIN55,212'nin doz bağımlı olarak DDD insidansını azalttığı, CB1 reseptör ekspresyonunun retiküler talamik çekirdekte azalmasının DDD'lerin gelişmesiyle

ilişkili olabileceği açıklanmıştır (van Rijn et al., 2010). Yine aynı çalışmada bu verilerin, CB1 reseptörlerinin talamik-kortikal ağ içindeki senkronizasyon mekanizmalarında yer aldığı ve CB1 reseptörlerinin yeni anti-absans ilaçlar tarafından hedef alınma olasılığını arttıracakı vurgulanmıştır (van Rijn et al., 2010). WAG/Rij sıçanlarda endokanabinoid sistemin azalması, kortekste azalmış mRNA seviyelerine ek olarak talamusta CB1 reseptör ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (van Rijn et al., 2010). Endojen kanabinoid olan anandamid (AEA) ve non-selektif CB reseptör agonisti WIN55,212'nin retiküler talamik çekirdeğe (NRT) ve ventroposteromedyal talamik çekirdeğe (VPM) infüzyonu odak bölgesinden bağımsız olarak absans nöbetleri azaltırken, selektif CB1 reseptör antagonisti olan rimonabantın (SR141716A) VPM'ye fokal uygulandığında absans nöbetleri artırdığı gösterilmiştir (Citraro et al., 2013). WAG/Rij sıçanlarda düşük dozlarda AM- 251 (0,125 µg ve 0,25 µg) uygulanması toplam diken dalga sayısını, süresini ve her kümedeki diken sayısını azaltırken, 0,50 µg dozundaki AM-251'in her üç parametreyi de artırmış, CB1 reseptör agonisti ACEA'nın 7,5 µg dozu absans nöbetleri azaltmıştır (Aygün vd, 2015). Sunulan çalışmada Aygün ve arkadaşlarının çalışmasıyla paralel olarak, 7,5 µg ACEA'nın (CB1 reseptör agonisti) WAG/Rij sıçanlarda DDD'leri azalttığı, 0,50 µg AM-251'in (CB1 reseptör antagonisti) ise DDD'leri artırdığı görüldü. Kanabinoidlerin epileptiform aktiviteyi baskıladığı bilinmektedir. Bunu farklı mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiğine dair çalışmalar mevcuttur. CB1 reseptör aktivasyonu, Gi/o proteinlerini aracılığıyla adenilat siklazın (AC) inhibe olmasına neden olur. Adenilat siklaz da ATP'den cAMP oluşumunu katalizler. PKA cAMP tarafından aktive edilir. Böylelikle A-tipi potasyum kanalının (K^+) fosforillenir ve kanal kapanır. Özetle, CB1 reseptör aktivasyonu sonucunda AC inhibe olur ve cAMP oluşumu önlenir. cAMP azalınca da PKA inaktive edilir. Böylelikle K^+ A kanalı uyarılır, hücre içinden ekstraselüler sıvıya K^+ çıkar (Kyrou et al., 2006). Bu kanallar özellikle membran eksitabilitesinin homeostatik düzenlenmesinde önemlidir. Epilepsi ve beyin iskemisi gibi hastalıkların iyileştirilmesinde potasyum kanalları görev alır (Misonou, 2010). Gi/o proteinlerinin CB1 reseptörü tarafından uyarılması, direkt olarak N-tipi veya P/Q-tipi Ca^{+2} kanallarının inhibisyonuna ve direkt olarak içe yönelik rektifiye edici K^+ aktivasyonuna neden olduğu ileri sürülmüştür (Kyrou et al., 2006). Epileptik aktivitenin oluşmasında Ca^{+2} 'un hücre içine girişi önem arz eder (Zhou et al., 2022). Bu durum glutamat olmak üzere eksitatör aminoasitlerin, salgılanmasına sebep olur.

CB1 reseptör aktivasyonu ile beraber, doz bağımlı olarak glutamaterjik sistemlerin baskılandığı, GABAerjik sistemlerin ise aktive olduğu düşünülmektedir (Feigenbaum et al., 1989).

5.3. Oreksinin Absans Epilepsiye Etkisi

Epilepsi oluşumunda nöropeptidler, reseptörler ve nörotransmitterler gibi çok sayıda sistemin rolü vardır. Oreksinler (OX-A ve OX-B) veya bir diğer adıyla hipokretinler, lateral hipotalamustaki nöronlar tarafından üretilen öncü bir peptidin proteolitik bölünmesiyle oluşan nöropeptitlerdir. Oreksin reseptörleri, G protein ile eşleşen reseptör (GPCR) süperfamilyasının rodopsin ailesine aittir. Bunlar birkaç heterotrimerik G protein alt familyasının yanı sıra hücresel yanıt veren iyon kanalları, fosfolipazlar ve protein kinazlarla etkileşime girebilecekleri şekilde tanımlanmıştır. Bu sinyal yolları nöronal eksitasyon, sinaptik plastisite ve hücre ölümü gibi sayısız olayları kontrol eder (Kukkonen et al., 2002; Leonard and Kukkonen, 2014). Sunulan bu çalışmada önce penisilin modeli epilepside 2, 4, 8 ve 16 µg OX-A dozları kullanılarak etkin doz tayin edildi. Bunlardan sadece 8 µg OX-A'nın epileptik aktiviteyi istatistiksel açıdan anlamlı şekilde azalttığı görüldü. Bu sonuçtan yola çıkarak WAG/Rij absans modeli epilepside 4,8 ve 16 µg OX-A dozları uygulandığında her üç dozun da kDDD, sDDD ve nDDD'yi azalttığı görüldü. Bu üç dozdan en etkili olanı 8 ve 16 µg OX-A idi. OX-A'nın 8 ve 16 µg dozları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistik açıdan anlamlı bir farklılık bulunmadığı için daha düşük hacimde verilen 8 µg OX-A dozu etkin doz olarak kabul edildi.

Literatürde oreksinlerin epilepsinin patogenezi üzerine etkisi konusunda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (Berhe et al., 2020). Bazı çalışmalarda oreksinlerin antiepileptik aktiviteye sahip olduğu (Rejdak et al., 2009; Doreulee et al., 2010; Zhao et al., 2014), bazılarında ise epilepsi patogenezi şiddetlendirdiği bildirilmiştir (Ni et al., 2014; Goudarzi et al., 2015; Roundtree et al., 2016; Ng, 2017). Kortunay ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ratlarda OX-A (100 pmol) ve OX-B'nin (100 pmol) intrakortikal (i.k.) enjeksiyonu penisilin modeli epilepside epileptik aktiviteye yol açmıştır (Kortunay vd, 2012). Bir diğer çalışmada OX-A ve OX-B ile tedavi edilen sıçanların ekstremitelerinde EEG toplam spektrumunda ve tonik-klonik kasılmalarda artış gözlemlenirken, negatif kontrollerde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (Erken vd, 2012). Bu çalışmanın aksine, 100 nM OX-A'nın bikukilinle oluşturulan epilepsi modelinde epileptik aktiviteyi baskıladığı bildirilmiştir (Doreulee et al.,

2010). Sunulan çalışmanın sonuçlarına bakıldığında OX-A'nın genetik absans epilepside DDD aktivitesini azalttığı görüldü. Yapılan bir çalışmada hem hipotalamusta (50 kat fazla) hem de hipokampusta prepro-OX mRNA ekspresyonunun arttığı bulunmuştur ve bu mRNA düzeyleri pilokarpin modelinde status epileptikus (SE) sonrası hipotalamusta belirgin şekilde azalmıştır (Morales et al., 2006). Yine bir diğer çalışmada da jeneralize tonik klonik nöbet veya SE sonrası, hipotalamustaki protein sentezinin düşük olmasından dolayı hipokretin-1 (OX-A) düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir (Rejdak et al., 2009). Ancak mekanizması tam aydınlatılamamıştır. Yapılan başka bir çalışmada bikukilin modeli epilepside OX-A'nın epileptiform aktiviteyi inhibe ettiği bulunmuş ve oreksinle ilgili çelişkili sonuçların varlığının farklı deneysel modellerden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Doreulee et al., 2010). Bu bulgular, oreksinerjik sistemin epilepsi gibi farklı patofizyolojik durumlara yanıt olarak farklı etkiler gösterebileceği ve antiepileptik aktivitesinin kullanılan deneysel model farklılığından kaynaklanabileceği görüşünü desteklemektedir.

Epileptik aktivite esnasında glutamaterjik ve GABAerjik sistem arasındaki dengenin bozulduğu bilinmektedir. Bazı çalışmalarda oreksinin glutamat (van den Pol AN et al., 1998; Kodama and Kimura, 2002; John et al., 2003) ve GABA (Martin et al., 2002) salınımını artırdığının aksine, glutamat (Haj-Dahmane et al., 2005) ve GABA (Thorpe et al., 2006) salınımını azalttığı da yer almaktadır. Sunulan çalışmada OX-A, eksitator bir nörotransmitter olan glutamat seviyelerini azaltıp nöron depolarizasyonu üzerine doğrudan etki edip antikonvulsan etki gösteriyor olabilir. Yapılan bir çalışmada OX1R'yi antagonize etmenin nöbet yoğunluğunu ve konvülsif evreyi azalttığı, oreksin reseptörlerinin uyarılmasının ise PTZ grubuna kıyasla nöbet yoğunluğunu artırmadığı gösterilmiştir (Akbari et al., 2014). Oreksinin arka hipotalamusta histamin salgılayan tuberomamiller çekirdeği (TMN) aktive ettiği, arka hipotalamusta derin beyin stimülasyonunu takiben PTZ modelinde antiepileptik etki gösterdiği tespit edilmiştir. TMN'deki ana oreksinerjik reseptör OX2R olduğundan ve bu reseptör aktivasyonu histamin salınımına yol açtığından, OX1R stimülasyonunun neden olduğu nöbet yoğunluğu üzerindeki OX-A'nın uyarıcı etkisini azaltması muhtemel olan OX2R'nin araştırılmaya dahil edilmesinin bu tutarsızlığı ortadan kaldırabileceği ileri sürülmüştür. Beyin omurilik sıvısındaki oreksinin, muhtemelen başka bir bilinmeyen süreç yoluyla konvülsif yoğunluk

üzerine inhibe edici etkisinin olduğu yine aynı çalışmada vurgulanmıştır (Akbari et al., 2014). OX1R protein seviyelerinin 25 günlük WAG/Rij, 6-7 aylık non-epileptik Wistar sıçanlara göre aynı yaştaki WAG/Rij'lerin talamusunda düşük olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada yaş arttıkça OX1R seviyesinin azaldığı, DDD'lerin oluşumunun OX1R protein seviyelerindeki azalmayla karakterize olduğu bildirilmiştir (Celli R, Luijtelaar GV, 2022). Orexin kaynaklı depolarizasyon, ventrobazal çekirdek veya retiküler talamik çekirdeklerde T tipi Ca^{2+} kanal inaktivasyonunu kolaylaştırabilir, böylece DDD'lerin gelişimini kısıtlayabilir (Celli R, Luijtelaar GV, 2022). Sunulan çalışmada OX-A'nın T-tipi Ca^{2+} kanalları üzerinden de etkisinin olduğu ve bu şekilde absans epilepside nöbet aktivitesini azalttığı düşünülebilir.

Sunulan çalışmada penisilin modeli epilepside önce 1,5, 3, 6 ve 12 µg OX-1 reseptör antagonisti olan SB334867 dozları denendi ve hiçbir dozun nöbet aktivitesine etki etmediği görüldü. Ardından absans modeli epilepside 6 ve 12 µg SB334867 dozları i.s.v. uygulandığında 12 µg SB334867'nin kDDD, sDDD ve nDDD'yi anlamlı şekilde azalttığı görüldü ve etkin doz olarak kabul edildi. Bazı *in vitro* deneysel çalışmalara göre, oreksinler nöronlarda depolarizasyona (Shirasaka et al., 2001) ve nöronların deşarj frekansında artışa neden oldukları bildirilmiştir (Burlet et al., 2002; Eriksson et al., 2001). Oreksinler bu etkilerini sodyumun akışını arttırıp nöronlar üzerinde doğrudan uyarıcı etkiler oluşturarak (Liu et al., 2002), sodyum-kalsiyum değiştirici pompayı aktive ederek (Eriksson et al., 2001), kalsiyum akışını arttırarak (Allard et al., 2004) veya potasyumun akışını azaltarak (Ivanov and Aston-Jones, 2000) gerçekleştirebilir. SB334867'nin PTZ'nin neden olduğu konvülsiyon yoğunluğunu azalttığı da görülmüştür (Akbari et al., 2014). SB-334867'nin (10 µg/rat dozda) i.s.v. olarak uygulanması ratlarda PTZ modelinde davranışla ilişkili nöbetleri azaltmıştır (Kordi Jaz et al., 2016). Primer motor kortekse penisilin enjeksiyonunun subtalamik nükleus ve substansiya nigrada oreksin ve reseptör ekspresyonunu artırdığı, subtalamik nükleusun derin beyin stimülasyonu sonrasında ekspresyonların azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada OX1 reseptör antagonisti SB334867 nöbet aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. Sunulan çalışmanın sonuçları da bu bulgularla uyumlu olduğundan bu çalışmalara dayanarak bir oreksin reseptör antagonisti olan SB334867'nin hücre dışına kalsiyum akışını artırarak veya

potasyum akışını azaltarak, sodyum-kalsiyum değiştirici pompayı aktive ederek epileptik aktiviteyi azalttığı ileri sürülebilir.

5.4. Kanabinoid ve Oreksin'in Absans Epilepside Etkileşimi

OX-1 reseptörü ile CB1 reseptörlerinin her ikisi de GPRC süper-familyasına aittir ve özellikle hipokampus olmak üzere beyindeki dağılımları örtüşebilmektedir (Zhu et al., 2015). Elektron mikroskobu kullanılarak yapılan deneylerde CB1 ve OX-1 reseptörlerinin plazma zarının yakınında yerleştiği ve bir heterodimer oluşturduğu için birbirlerine yakın oldukları tespit edilmiştir (Hilair et al., 2003). OX-1 reseptörleri ile kanabinoid reseptörleri arasında bir ilişkinin var olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Turunen et al., 2012, Kim et al., 2021). Oreksin reseptör sinyalizasyonunun 2-araşidonil gliserol (2-AG) üretimini tetikleyebileceği ve bunun da CB1 reseptörlerini aktive ettiği rapor edilmiştir (Haj-Dahmane and Shen, 2005, Ho et al., 2011). Sunulan çalışmada her iki sistem arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için etkileşim grupları oluşturuldu.

8 µg OX-A+0,6 µg hemopressin grubunun kDDD, sDDD ve nDDD'yi azalttığı, OX-A'nın kendi etkisine benzer bir aktivite gösterdiği saptandı. Etkileşim grubunun antikonvulsan etkisi fazla olmasına rağmen istatistiksel açıdan anlamlılık gözlenmedi. Bulgularımız bu ilişkide OX-A'nın kanabinoid yolaklardaki etkisinin hemopressinden daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan bir çalışmada hemopressin (45 nmol) ve kanabinoid reseptör agonisti WIN55,212-2'nin (7,5 nmol), doza bağlı antinosisepsiyon etkisi sergilediği ve birlikte uygulandıklarında gözlenen etki, ayrı ayrı verildikleri durumda saptanan aktiviteye benzer bir tarzda gerçekleşmiştir (Pan et al., 2014). Hemopressinin bir CB1 reseptör agonisti gibi davrandığı gösterilmiştir (Al-Kaleel et al., 2023). OX-A'nın ve AM251'in etkin dozları birlikte uygulandığında kDDD, sDDD ve nDDD'nin azaldığı görüldü. Ayrıca deney gruplarının dışında AM251, OX-A'dan önce verildiğinde AM251'in 80.dakikaya kadar kendi prokonvulsan etkisi göstermediği ancak OX-A'nın antikonvulsan etkisini de ortadan kaldırdığı görüldü. 80.dakikadan sonra OX-A'nın kendi etkisini ortaya koyarak antikonvulsan aktiviteyi sürdürdüğü tespit edildi. Buradan yola çıkarak OX-A'nın kanabinoidlerjik yollara olan etkisinin yanı sıra başka bir mekanizma üzerinden de etkisini gösteriyor olabileceğini düşündürdü. Dorsal rafe çekirdeğinde OX reseptör sinyalizasyonu serotonerjik nöronlara glutamat salınımını inhibe eder (Haj-Dahmane and Shen, 2005). Oreksinler fosfolipazları, iyon

kanallarını ve protein kinazları düzenler ve çeşitli sinyal yollarının aktivasyonunu tetikler (Wang et al., 2018).

Yapılan bir çalışma OX-A'nın PTZ ile tutuşturulmuş epileptik sıçanların uzamsal öğrenme ve hafıza eksiklikleri üzerindeki iyileştirici etkilerinin, dentat girusta OX-1R aracılı ERK1/2 kaynaklı nörojenez yoluyla kolaylaştırıldığını göstermektedir (Zhao et al., 2014). Ho ve ark. (2011), OX-A'nın antinosiseptif etkisinin, AM251 ile birlikte uygulandığında belirgin şekilde azaldığını göstermiştir. 8 µg OX-A + 7,5 µg ACEA grubu bulgularına bakıldığında kDDD, sDDD ve nDDD'nin azaldığı, ancak her iki maddenin kendi antikonvulsan aktivitelerinin bir araya gelerek sinerjistik bir etkiye neden olmadığı saptandı.

OX1 reseptör sinyalizasyonunun fosfolipaz C (PLC) yolağı aracılığıyla diaçil gliseolü (DAG) oluşturduğu, DAG'ın da diaçil gliserol lipaz enzimi (DGL) ile 2-arasidonil gliserole (2-AG) hidroliz edildiği ve 2-AG'nin CB1 reseptörlerini stimüle ederek ERK aktivasyonunu uyardığı bildirilmiştir (Kukkonen and Leonard, 2014). Oreksin reseptörlerinin, PLC'nin olası aktivasyonuna ek olarak 2-AG salınımını uyarmak için özel bir eğilime sahip olup olmadığı net değildir. Oreksin reseptörleri reseptör ile çalıştırılan Ca^{2+} akımına aracılık eder ve bu da DGL'nin uyarılmasında veya bazı PLC türlerinin aktivitesinin artırılmasında önemli bir faktör olabilir (Kukkonen and Leonard, 2014). Endokannabinoidler (EC) postsinaptik olarak üretilir ve CB1 reseptörü aracılığıyla presinaptik terminaller üzerinde retrograd inhibitör etkilere aracılık eder (Kano et al., 2009). Dorsal rafe çekirdeğinde OX reseptör sinyalizasyonu serotonerjik nöronlara glutamat salınımını inhibe eder. Bu da oreksinin indüklediği 2-AG aracılığıyla düzenlenir ve daha sonra glutamat salınımını inhibe etmek için glutamaterjik terminallerdeki presinaptik CB1 reseptörü üzerinden harekete geçer (Haj-Dahmane and Shen, 2005). Oreksinin ventrolateral periaqueductal gri cevher üzerindeki analjezik etkileri de endokannabinoid üretimi ve salınımı ile gerçekleşir (Ho et al., 2011). OX-1R kaynaklı 2-AG biyosentezi ve beyindeki EC'ler için ana hedef CB1 reseptörlerinin aktivasyonu, OX-A'nın beyindeki çeşitli etkilerinin temelini oluşturur (Cristino et al., 2016; Morello et al., 2016). Bu da bize OX-A'nın kanabinoid sistem üzerinden de etki göstererek antiepileptik yanıt oluşturabileceğini düşündürür. Sıçan dorsal rafe çekirdeğinde, OX-B aracılı glutamat salınımının inhibisyonu, 2-AG salınımına ve presinaptik terminallerdeki CB1 reseptörleri üzerindeki etkiyle ilişkilendirilebileceği (Haj-

Dahmane and Shen, 2005), sıçan periaqueductal gri maddede OX-A kaynaklı analjezik etkinin, GABA salınımının 2-AG aracılı retrograd inhibisyonuna dayandığı (Ho vd, 2011) bildirilmektedir.

Akut kısıtlama stresi sırasında salınan endojen oreksinler, ventral tegmental alandaki dopaminerjik aktivitenin OX1R-PLC-DAGL-2-AG-CB1R aracılı disinhibisyonunu başlatıp, bunların kokain relapsına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Tung et al., 2016). Sıçanlarda yapılan çalışmada CB1 reseptör antagonisti AM251 veya OX-1 reseptör antagonisti SB-334867'nin VTA içi enjeksiyonunun, lateral hipotalamus stimülasyonunun neden olduğu koşullu yer tercihinde (CPP) aditif olmayan azalmalar ürettiği gösterilmiştir (Taslimi et al., 2011).

OX-1 reseptör agonisti olan 12 µg SB334867 + 0,6 µg hemopressin etkileşim grubu kDDD, sDDD ve nDDD'yi kontrol grubuna kıyasla istatistiksel anlamda azaltırken, aDDD üzerinde bir değişiklik meydana getirmedi. Bu etki SB334867'nin etkisine benzerlik gösterdiği için oreksinlerin kanabinoid sistem üzerine olan etkisinin hemopressinden daha fazla olabileceği fikrini doğrulattı. 12 µg SB334867 ve 0,50 µg AM251 grubunda kDDD, sDDD ve nDDD'nin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı görüldü ve AM251'in prokonvulsan etkisi SB334867 tarafından bloke edildi. Bu sonuç bize oreksinerjik sistemin kanabinoiderjik sistem üzerinde hakimiyeti olduğunu göstermektedir. Sıçanlarda lateal hipotalamusun kimyasal stimülasyonu ile indüklenen antinosisepsiyon çalışmasında ventrolateral periaqueductal gri madde içine verilen SB334867 ve AM251 doz bağımlı olarak karboholün sebep olduğu antinosisepsiyonu bloklamış ve ayrıca lateral hipotalamusun ağrıyı modülatör rolünün, periaqueductal gri maddedeki oreksinerjik ve kanabinoid sistemler arasındaki etkileşim yoluyla aracılık ettiği ileri sürülmüştür (Esmaili et al., 2016). 12 µg SB334867 ve 7,5 µg ACEA etkileşim grubunda kDDD, sDDD ve nDDD istatistiksel anlamda azaldı ve SB334867'nin etkisi görüldü. Sıçanların hipokampusünde OX-1 reseptör antagonisti SB334867'nin, morris su labirentinde uzamsal hafızanın edinilmesini ve sağlamlaştırılmasını azalttığı gösterilmiştir (Akbari et al., 2008). Etki hızı ve uzun yarı ömrü nedeniyle, seçici bir OX-1R antagonisti olan SB334867, endojen oreksinlerin fizyolojik ve davranışsal önemini incelemek için giderek artan bir şekilde kullanılmaktadır (Zhao et al., 2014).

Mikroglial aktivasyon ve polarizasyon düzenlenerek meydana gelen nöroprotektif etkide kanabinoid reseptörleri rol alır (Raich et al., 2022).

Kanabinoidler CB2R aracılığıyla nöroprotektif özelliğe sahip olabilir ve nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesini önleyebilir (Navarro et al., 2016, Pérez-Olives et al., 2021). Diğer yandan, CB2R'nin ekspresyonunun aktif durumdaki mikrogliada arttığı bildirilmiştir. OX-1R antagonisti SB334867'nin yalnızca OX-A'nın neden olduğu etkiyi bloke etmekle kalmayıp, aynı zamanda cAMP ve MAPK sinyal yollarında kannabinoid CB2R fonksiyonunu da güçlendirdiği gösterilmiştir (Raich et al., 2022).

Sunulan çalışmada OX reseptör agonisti Oreksin-A ile oreksin reseptör antagonisti SB334867'nin absans epilepsi üzerine etkisi incelendiğinde her ikisinin de nöbetleri azalttığı gözlemlendi. Kanabinoid CB1 reseptör antagonisti AM251'in çok düşük dozlarda (100 pg/kg) CB1 reseptör agonisti ACEA ile uygulandığında antikonvulsan etki gösterdiği (Gholizadeh et al., 2007), daha yüksek dozlarda ise prokonvulsan etkiye sahip olduğu (Kozan vd, 2009) yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. PTZ modeli epilepside düşük doz (0,25 ve 0,125 µg, i.s.v) AM251'in spike sayısı ve DDD'leri azalttığı yine yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Al-Kaleel et al.,2023). Oreksinlerin farklı etkilerinin var oluşu tıpkı CB1 reseptör antagonisti AM251'de olduğu gibi doza bağlı olarak farklı hücre içi yolları kullanmasından kaynaklanabilir. Kanabinoidler hücre içinde iyon kanalı ve protein kinaz gibi birden fazla yolak üzerinden etki eder. Oreksinin farklı dozlarının kanabinoid sistem üzerindeki etkisini hangi yollar üzerinden gerçekleştirdiği bilinmemektedir.

Tüm bu verilerden yola çıkarak oreksinin epilepside rolü olduğu, kanabinodlerin de epilepsi gibi birçok nörolojik sistemde görev aldığı ve her iki sistemin birbiriyle bağlantılı olabileceği anlaşılmaktadır. Ancak altta yatan mekanizmaları aydınlığa kavuşturmak için gen ekspresyonu ve protein düzeylerinin de incelendiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

1. Penisilin (500 IU, i.k) enjeksiyonunu takiben iki ila beş dakika içinde epileptik diken ve diken-dalga kompleksleri gözlemlendi.
2. Penisilin ejeksiyonundan otuz dakika. sonra 2 µg OX-A i.s.v olarak uygulandı, spike frekansında ve amplitüdünde istatistiki açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
3. Penisilin ejeksiyonundan 30 dk. sonra 4 µg OX-A i.s.v olarak uygulandı, spike frekansında ve amplitüdünde istatistiki açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
4. Penisilin ejeksiyonundan 30 dk. sonra 8 µg OX-A i.s.v olarak uygulandı, kontrol grubuna göre kıyaslandığında 20. dakikadan itibaren spike frekansını istatistiki olarak azaltırken ($p<0,05$), amplitüdünde istatistiki açıdan bir fark oluşturmadı.
5. Penisilin ejeksiyonundan 30 dk. sonra 16 µg OX-A i.s.v olarak uygulandı, spike frekansında ve amplitüdünde istatistiki açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
6. Penisilin ejeksiyonundan 30 dk. sonra 1,5 µg SB-334867 i.s.v olarak uygulandı, spike frekansında ve amplitüdünde istatistiki açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
7. Penisilin ejeksiyonundan 30 dk. sonra 3 µg SB-334867 i.s.v olarak uygulandı, spike frekansında ve amplitüdünde istatistiki açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
8. Penisilin ejeksiyonundan 30 dk. sonra 6 µg SB-334867 i.s.v olarak uygulandı, spike frekansında ve amplitüdünde istatistiki açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
9. Penisilin ejeksiyonundan 30 dk. sonra 12 µg SB-334867 i.s.v olarak uygulandı, spike frekansında ve amplitüdünde istatistiki açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
10. WAG/Rij sıçanlarda kontrol grubu için çözücü olarak kullanılan DMSO i.s.v. yolla ECoG kaydının başlamasından 3 saat sonra uygulandı.
11. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 4 µg Oreksin-A i.s.v. yolla uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 100.dakikadan itibaren azalttı, DDD amplitüdü üzerinde bir etki oluşturmadı.

12. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 8 µg Oreksin-A i.s.v. yolla uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, DDD amplitüdü üzerinde bir etki oluşturmadı.
13. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 16 µg Oreksin-A i.s.v. yolla uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadı. 8 ve 16 µg Oreksin-A kendi aralarında kıyaslandığında istatistik açıdan anlamlı bir farklılık olmadığından etkin doz 8 µg Oreksin-A kabul edildi.
14. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 6 µg SB-334867 i.s.v. yolla uygulandı, istatistik açıdan anlamlı bir fark oluşturmadı.
15. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 12 µg SB-334867 i.s.v. yolla uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadı.
16. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 0,6 µg Hemopressin i.s.v. yolla uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadı.
17. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında CB1 reseptör agonisti 7,5 µg ACEA i.s.v. yolla uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadı.
18. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında CB1 reseptör antagonisti 0,50 µg AM251 i.s.v. yolla uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren artırdı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadı.
19. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 8 µg OX-A+ 0,6 µg Hemopressin 10'ar dk arayla i.s.v. olarak uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadı.
20. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin 10'ar dk arayla i.s.v. olarak uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda

görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadi.

21. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 12 µg SB-334867 + 0,6 µg Hemopressin 10'ar dk arayla i.s.v. olarak uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadi.
22. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 8 µg OX-A+ 0,50 µg AM-251 10'ar dk arayla i.s.v. olarak uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadi.
23. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 12 µg SB-334867 + 0,50 µg AM-251 10'ar dk arayla i.s.v. olarak uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadi.
24. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 8 µg OX-A+ 7,5 µg ACEA 10'ar dk arayla i.s.v. olarak uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadi.
25. WAG/Rij sıçanlarda 3 saat bazal kayıt sonrasında 12 µg SB-334867 + 7,5 µg ACEA 10'ar dk arayla i.s.v. olarak uygulandı, WAG/Rij sıçanlarda görülen epileptik nöbetlerin sayısını, süresini ve spike sayısını 20.dakikadan itibaren azalttı, amplitüd üzerinde bir etki oluşturmadi.

KAYNAKLAR

- A.M. Coenen, W.H. Drinkenburg, M. Inoue, E.L. van Luijtelaar, Genetic models of absence epilepsy, with emphasis on the WAG/Rij strain of rats, *Epilepsy Res.* 12 (1992) 75–86.
- Agar E. The role of cannabinoids and leptin in neurological diseases. *Acta Neurol Scand.* 2015 Dec;132(6):371-80. doi: 10.1111/ane.12411. Epub 2015 Apr 15. PMID: 25880465.
- Akbari E, Motamedi F, Naghdi N, Noorbakhshnia M. The effect of antagonization of orexin 1 receptors in CA1 and dentate gyrus regions on memory processing in passive avoidance task. *Behav Brain Res* 2008;187:172–7.
- Akbari N, Salmani ME, Goudarzvand M, Lashkar Boluki T, Goudarzi I, Abrari K. Unilateral Hypothalamus Inactivation Prevents PTZ Kindling Development through Hippocampal Orexin Receptor 1 Modulation. *Basic Clin Neurosci.* 2014 Winter;5(1):66-73. PMID: 25436086; PMCID: PMC4202604.
- Al-Kaleel A, Aygun H, Al-Gailani L, Kabak Y, Inal S, Ayyildiz M, Him A, Agar E. The electrophysiological and behavioral evaluation of the peptide hemopressin and cannabinoid CB1 receptor agonist and antagonist in pentylenetetrazol model of epilepsy in rats. *Pflugers Arch.* 2023 Apr 27. doi: 10.1007/s00424-023-02814-y. Epub ahead of print. PMID: 37100982.
- Allard JS, Tizabi Y, Shaffery JP, et al. Stereological Analysis of the Hypothalamic Hypocretin/Orexin Neurons in an Animal Model of Depression. *Neuropeptides* 2004;38:311-315.
- André V, Marescaux C, Nehlig A, Fritschy JM. Alterations of hippocampal GABAergic system contribute to development of spontaneous recurrent seizures in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Hippocampus.* 2001;11(4):452-68. doi: 10.1002/hipo.1060. PMID: 11530850.
- Annerbrink K, Westberg L, Olsson M, Andersch S, Sjödin I, Holm G, Allgulander C, Eriksson E. Panic disorder is associated with the Val308Ile polymorphism in the hypocretin receptor gene. *Psychiatr Genet.* 2011 Apr;21(2):85-9. doi: 10.1097/YPG.0b013e328341a3db. PMID: 21666548.
- Aou S, Li XL, Li AJ, Oomura Y, Shiraishi T, Sasaki K, Imamura T, Wayner MJ. Orexin-A (hypocretin-1) impairs Morris water maze performance and CA1-Schaffer collateral long-term potentiation in rats. *Neuroscience.* 2003;119(4):1221-8. doi: 10.1016/s0306-4522(02)00745-5. PMID: 12831875.
- Arslan G, Alici SK, Ayyildiz M, Agar E. The role of CB1-receptors in the proconvulsant effect of leptin on penicillin-induced epileptiform activity in rats. *CNS Neurosci Ther.* 2013 Apr;19(4):222-8. doi: 10.1111/cns.12075. PMID: 23521910; PMCID: PMC6493443.
- Avanzini, G., Vergnes, M., Spreafico, R., Marescaux, C. (1993). Calcium-dependent regulation of genetically determined spike and waves by the reticular thalamic nucleus of rats. *Epilepsia*, 34:1-7.
- Aygun H, Arslan G, Sen E, Ayyildiz M, Agar E. Hemopressin increases penicillin-induced epileptiform activity in rats. *Bratisl Lek Listy.* 2020;121(1):37-42. doi: 10.4149/BLL_2020_006. PMID: 31950838.
- Aygün H, Arslan G, Ayyildiz M, Agar E. The Effect of CB1 Cannabinoid Receptor Antagonist AM-251 on Spike Wave Discharges in WAG/Rij Rat. September 2015, *Acta Physiologica* 215:46-46.

- Bahremand A, Nasrabady SE, Shafaroodi H, Ghasemi M, Dehpour AR. Involvement of nitrenergic system in the anticonvulsant effect of the cannabinoid CB(1) agonist ACEA in the pentylenetetrazole-induced seizure in mice. *Epilepsy Res.* 2009 Apr;84(2-3):110-9. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2009.01.003. Epub 2009 Feb 14. PMID: 19223154.
- Başar E, Schürmann M, Başar-Eroglu C, Demiralp T. Selectively distributed gamma band system of the brain. *Int J Psychophysiol.* 2001 Jan;39(2-3):129-35. doi: 10.1016/s0167-8760(00)00136-7. PMID: 11163892.
- Baumann CR, Bassetti CL. Hypocretins (Orexins) and Sleep-Wake Disorders. *Lancet Neurology* 2005;4:673-82.
- Baumann CR, Bassetti CL. Hypocretins (Orexins): Clinical Impact of the Discovery of a Neurotransmitter. *Sleep Medicine Review* 2005;9:253-268;
- Bellinger LL, Bernardis LL. The Dorsomedial Hypothalamic Nucleus And Its Role in Ingestive Behavior and Body Weight Regulation: Lessons Learned From Lesioning Studies. *Physiology & Behavior* 2002; 76:431-442.
- Berhe DF, Gebre AK, Assefa BT. Orexins role in neurodegenerative diseases: From pathogenesis to treatment. *Pharmacol Biochem Behav.* 2020 Jul;194:172929. doi: 10.1016/j.pbb.2020.172929. Epub 2020 Apr 18. PMID: 32315694).
- Berhe DF, Gebre AK, Assefa BT. Orexins role in neurodegenerative diseases: From pathogenesis to treatment. *Pharmacol Biochem Behav.* 2020 Jul;194:172929. doi: 10.1016/j.pbb.2020.172929. Epub 2020 Apr 18. PMID: 32315694.
- Bernard C, Hirsch J, Ben-Ari Y. Récepteurs excitateurs glutamatergiques et épilepsie du lobe temporal [Glutamatergic excitatory receptors and temporal lobe epilepsy]. *Rev Neurol (Paris).* 1997;153 Suppl 1:S14-24. French. PMID: 9686243.
- Bertram EH. Neuronal circuits in epilepsy: do they matter? *Exp Neuro* 2013, 244:67-74.
- Blair RE, Deshpande LS, Sombati S, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ. Activation of the cannabinoid type-1 receptor mediates the anticonvulsant properties of cannabinoids in the hippocampal neuronal culture models of acquired epilepsy and status epilepticus. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006 Jun;317(3):1072-8. doi: 10.1124/jpet.105.100354. Epub 2006 Feb 9. PMID: 16469864.
- Blais PA, Côté J, Morin J, Larouche A, Gendron G, Fortier A, Regoli D, Neugebauer W, Gobeil F Jr. Hypotensive effects of hemopressin and bradykinin in rabbits, rats and mice. A comparative study. *Peptides.* 2005 Aug;26(8):1317-22. doi: 10.1016/j.peptides.2005.03.026. Epub 2005 Apr 26. PMID: 16042973.
- Bloom JM, Kaltenborn WT, Paoletti P. Respiratory effects of non-tobacco cigarettes. *British Medical Journal.*1987; 295: 1516-1518.
- Bonz A, Laser M, Küllmer S, Kniesch S, Babin-Ebell J, Popp V, Ertl G, Wagner JA. Cannabinoids acting on CB1 receptors decrease contractile performance in human atrial muscle. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003 Apr;41(4):657-64. doi: 10.1097/00005344-200304000-00020. PMID: 12658069.
- Bouwman, B.M., van Rijn, C.M. (2004). Effects of levetiracetam on spike and wave discharges in WAG/Rij rats. *Seizure.* 13:591-4.
- Brents LK, Gallus-Zawada A, Radominska-Pandya A, Vasiljevik T, Prisinzano TE, Fantegrossi WE, Moran JH, Prather PL. Monohydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-073 retain intermediate to high cannabinoid 1 receptor (CB1R) affinity and exhibit neutral antagonist to partial agonist activity. *Biochem Pharmacol.* 2012;83: 952-961.

- Brigo F, Trinka E, Lattanzi S, Bragazzi NL, Nardone R, Martini M. A brief history of typical absence seizures - Petit mal revisited. *Epilepsy Behav.* 2018;80:346-53.
- Bulenger S, Marullo S, Bouvier M. Emerging role of homo- and heterodimerization in G-protein-coupled receptor biosynthesis and maturation. *Trends Pharmacol Sci.* 2005 Mar;26(3):131-7. doi: 10.1016/j.tips.2005.01.004. PMID: 15749158.
- Burlet S, Tyler CJ, Leonard CS. Direct and indirect excitation of laterodorsal tegmental neurons by Hypocretin/Orexin peptides: implications for wakefulness and narcolepsy. *J Neurosci.* 2002 Apr 1;22(7):2862-72. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-07-02862.2002. PMID: 11923451; PMCID: PMC6758338.
- Cahn BR, Polich J. Meditation states and traits: EEG, ERP, and neuroimaging studies. *Psychol Bull.* 2006 Mar;132(2):180-211. doi: 10.1037/0033-2909.132.2.180. PMID: 16536641.
- Celli R, Luijcklaar GV. The Orexin System: A Potential Player in the Pathophysiology of Absence Epilepsy. *Curr Neuroparmacol.* 2022;20(7):1254-1260. doi: 10.2174/1570159X19666211215122833. PMID: 34911428; PMCID: PMC9881075.
- Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell.* 1999 Aug 20;98(4):437-51. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81973-x. PMID: 10481909.
- Chen XY, Chen L, Du YF. Orexin-A increases the firing activity of hippocampal CA1 neurons through orexin-1 receptors. *J Neurosci Res.* 2017 Jul;95(7):1415-1426. doi: 10.1002/jnr.23975. Epub 2016 Oct 31. PMID: 27796054.
- Chen Y, Lu J, Pan H, Zhang Y, Wu H, Xu K, et al. Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy. *Ann Neurol.* 2003;54(2):239-43.
- Chesher GB, Jackson DM. The effect of withdrawal from cannabis on pentylenetetrazol convulsive threshold in mice. *Psychopharmacologia.* 1974;40(2) :129-35.
- Chieffi S, Carotenuto M, Monda V, Valenzano A, Villano I, Precenzano F, Tafuri D, Salerno M, Filippi N, Nuccio F, Ruberto M, De Luca V, Cipolloni L, Cibelli G, Mollica MP, Iacono D, Nigro E, Monda M, Messina G, Messina A. Orexin System: The Key for a Healthy Life. *Front Physiol.* 2017 May 31;8:357. doi: 10.3389/fphys.2017.00357. PMID: 28620314; PMCID: PMC5450021.
- Cinar R, Cinar OG. Kannabinoid Tip 1 Reseptör (CB1) ve Terapötik Yaklaşımlara Genel Bakış-I. *MUSBED.* 2011;1(2): 149-154.
- Citraro R, Russo E, Ngomba RT, Nicoletti F, Scicchitano F, Whalley BJ, Calignano A, De Sarro G. CB1 agonists, locally applied to the cortico-thalamic circuit of rats with genetic absence epilepsy, reduce epileptic manifestations. *Epilepsy Res.* 2013 Sep;106(1-2):74-82. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2013.06.004. Epub 2013 Jul 13. PMID: 23860329.
- Citraro R, Russo E, Scicchitano F, van Rijn CM, Cosco D, Avagliano C, Russo R, D'Agostino G, Petrosino S, Guida F, Gatta L, van Luijcklaar G, Maione S, Di Marzo V, Calignano A, De Sarro G. Antiepileptic action of N-palmitoylethanolamine through CB1 and PPAR- α receptor activation in a genetic model of absence epilepsy. *Neuropharmacology.* 2013 Jun;69:115-26. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.11.017. Epub 2012 Dec 1. PMID: 23206503.
- Cluderay JE, Harrison DC, Hervieu GJ. Protein distribution of the orexin-2 receptor in the rat central nervous system. *Regul Pept.* 2002 Mar 15;104(1-3):131-44. doi: 10.1016/s0167-0115(01)00357-3. PMID: 11830288.

- Coenen AML, Blezer EHM, van Luijtelaar ELJM. Effects of the GABA-uptake inhibitor tiagabine on electroencephalogram, spikewave discharges and behavior of rats. *Epilepsy Res* 1995;21:89–94.
- Coenen AML, van Luijtelaar ELJM. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav Genet* 2003;33:635–55.
- Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orban G, Errington AC, Lorincz ML, et al. Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nat Med*. 2009;15(12):1392-8.
- Cristino, L.; Bisogno, T.; Di Marzo, V. Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 2020, 16, 9–29.
- Cristino, L.; Luongo, L.; Imperatore, R.; Boccella, S.; Becker, T.; Morello, G.; Piscitelli, F.; Busetto, G.; Maione, S.; Di Marzo, V. Orexin-A and Endocannabinoid Activation of the Descending Antinociceptive Pathway Underlies Altered Pain Perception in Leptin Signaling Deficiency. *Neuropsychopharmacology* 2016, 41, 508–520.
- Crunelli, V. , Leresche N. (2002) Childhood absence epilepsy: genes, channels, neurons and networks. *Nat Rev Neurosci.* 3(5), 371-82.
- Curia G, Lucchi C, Vinet J, Gualtieri F, Marinelli C, Torsello A, Costantino L, Biagini G. Pathophysiogenesis of mesial temporal lobe epilepsy: is prevention of damage antiepileptogenic? *Curr Med Chem.* 2014;21(6):663-88. doi: 10.2174/0929867320666131119152201. PMID: 24251566; PMCID: PMC4101766.
- Çelik, Z. B. , Tiryaki, E. S. , Türkdönmez, E. , Çiçekli, M. N. , Altun, A. & Günaydın, C. (2023). Parallel changes in the promoter methylation of voltage-gated T-type calcium channel alpha 1 subunit G and histone deacetylase activity in the WAG/Rij model of absence epilepsy . *Journal of Health Sciences and Medicine* , 6 (1) , 92-98 . DOI: 10.32322/jhsm.1207399.
- Dale, C.S., Pagano Rde, L., Rioli, V., Hyslop, S., Giorgi, R., Ferro, E.S., 2005b. Antinociceptive action of hemopressin in experimental hyperalgesia. *Peptides* 26, 431–436.
- Dalrymple MB, Jaeger WC, Eidne KA, Pfleger KD. Temporal profiling of orexin receptor-arrestin-ubiquitin complexes reveals differences between receptor subtypes. *J Biol Chem.* 2011 May 13;286(19):16726-33. doi: 10.1074/jbc.M111.223537. Epub 2011 Mar 4. PMID: 21378163; PMCID: PMC3089514.
- D'Amore V, von Randow C, Nicoletti F, Ngomba RT, van Luijtelaar G. Anti-absence activity of mGlu1 and mGlu5 receptor enhancers and their interaction with a GABA reuptake inhibitor: Effect of local infusions in the somatosensory cortex and thalamus. *Epilepsia.* 2015;56(7):1141-51
- Danober, L., Deransart, C., Depaulis, A., Vergnes, M., Marescaux, C. (1998). Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Prog Neurobiol.* 55:27-57.
- de Araujo CB, Heimann AS, Remer RA, Russo LC, Colquhoun A, Forti FL, Ferro ES. Intracellular Peptides in Cell Biology and Pharmacology. *Biomolecules.* 2019 Apr 16;9(4):150. doi: 10.3390/biom9040150. PMID: 30995799; PMCID: PMC6523763.
- De Lecea L, Sutcliffe JG, Fabre V. Hypocretin/Orexins as Integrators of Physiological Information: Lessons from Mutant Animals. *Neuropeptides* 2002;36(2-3):85-95.
- de Lecea,L., Kilduff,T.S., Peyron,C., Gao, X., Foye, P.E., Danielson,P.E.,etal. (1998). The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuro excitatory activity. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 95, 322–327.

- Depaulis A, Charpier S. Pathophysiology of absence epilepsy: Insights from genetic models. *Neurosci Lett*. 2018 Feb 22;667:53-65. doi: 10.1016/j.neulet.2017.02.035. Epub 2017 Feb 16. PMID: 28216336.
- Depaulis, A., David, O. & Charpier, S. The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *J.Neurosci. Methods* 260, 159–174, 2016.
- Deshpande LS, Blair RE, Ziobro JM, Sombati S, Martin BR, DeLorenzo RJ. Endocannabinoids block status epilepticus in cultured hippocampal neurons. *Eur J Pharmacol*. 2007 Mar 8;558(1-3):52-59.
- Deshpande LS, Sombati S, Blair RE, Carter DS, Martin BR, DeLorenzo RJ. Cannabinoid CB1 receptor antagonists cause status epilepticus-like activity in the hippocampal neuronal culture model of acquired epilepsy. *Neurosci Lett*. 2007 Jan 3;411(1):11-6. doi: 10.1016/j.neulet.2006.09.046. Epub 2006 Nov 15. PMID: 17110038; PMCID: PMC1808496.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 1992 Dec 18;258(5090):1946-9. doi: 10.1126/science.1470919. PMID: 1470919.
- Dewey WL. Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol rev*. 1986;38: 151-178.
- Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 1994 Dec 15;372(6507):686-91. doi: 10.1038/372686a0. PMID: 7990962.
- Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Ba'tkai S, Ja'rai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, et al. (2001) Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* **410**:822–825.
- Dinh TP, Freund TF, Piomelli D. A role for monoglyceride lipase in 2-arachidonoylglycerol inactivation. *Chem Phys Lipids*. 2002 Dec 31;121(1-2):149-58. doi: 10.1016/s0009-3084(02)00150-0. PMID: 12505697.
- Dodd GT, Mancini G, Lutz B, Luckman SM. The peptide hemopressin acts through CB1 cannabinoid receptors to reduce food intake in rats and mice. *J Neurosci*. 2010 May 26;30(21):7369-76. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5455-09.2010. PMID: 20505104; PMCID: PMC6632410.
- Dodd GT, Worth AA, Hodgkinson DJ, Srivastava RK, Lutz B, Williams SR, Luckman SM. Central functional response to the novel peptide cannabinoid, hemopressin. *Neuropharmacology*. 2013 Aug;71:27-36. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.03.007. Epub 2013 Mar 28. PMID: 23542442.
- Doreulee N, Alania M, Vashalomidze G, Skhirtladze E, Kapanadze Ts. Orexinergic system and pathophysiology of epilepsy. *Georgian Med News*. 2010 Nov;(188):74-9. PMID: 21178208.
- Drinkenburg WH, van Luijtelaar EL, van Schaijk WJ, Coenen AM. Aberrant transients in the EEG of epileptic rats: a spectral analytical approach. *Physiol Behav*. 1993 Oct;54(4):779-83. doi: 10.1016/0031-9384(93)90092-t. PMID: 8248357.
- Duguay, D., Belanger-Nelson, E., Mongrain, V., Beben, A., Khatchadourian, A., and Cermakian, N. (2011). Dynein light chain Tctex-type 1 modulates orexin signaling through its interaction with orexin 1 receptor.
- Dun NJ, Le Dun S, Chen CT, et al. Orexins: A Role in Medullary Sympathetic Outflow. *Regulatory Peptides* 2000;96:65-70).

- Ebrahim IO, Howard RS, Kopelman MD, Sharief MK, Williams AJ. The hypocretin/orexin system. *J R Soc Med.* 2002 May;95(5):227-30. doi: 10.1258/jrsm.95.5.227. PMID: 11983761; PMCID: PMC1279673.
- Eddy CM, Rickards HE, Cavanna AE. The cognitive impact of antiepileptic drugs. *Ther Adv Neurol Disord.* 2011 Nov;4(6):385-407. doi: 10.1177/1756285611417920. PMID: 22164192; PMCID: PMC3229254.
- Ellis J, Padiani JD, Canals M, Milasta S, Milligan G. Orexin-1 receptor-cannabinoid CB1 receptor heterodimerization results in both ligand-dependent and -independent coordinated alterations of receptor localization and function. *J Biol Chem.* 2006 Dec 15;281(50):38812-24. doi: 10.1074/jbc.M602494200. Epub 2006 Oct 2. PMID: 17015451.
- Eriksson KS, Sergeeva O, Brown RE, Haas HL. Orexin/hypocretin excites the histaminergic neurons of the tuberomammillary nucleus. *J Neurosci.* 2001 Dec 1;21(23):9273-9. doi: 10.1523/JNEUROSCI.21-23-09273.2001. PMID: 11717361; PMCID: PMC6763926.
- Erken HA, Erken G, Genç O, Kortunay S, Sahiner M, Turgut G, Turgut S. Orexins cause epileptic activity. *Peptides.* 2012 Sep;37(1):161-4. doi: 10.1016/j.peptides.2012.06.012. Epub 2012 Jul 4. PMID: 22771311.
- Esmaili MH, Reisi Z, Ezzatpanah S, Haghparsat A. Functional interaction between orexin-1 and CB1 receptors in the periaqueductal gray matter during antinociception induced by chemical stimulation of the lateral hypothalamus in rats. *Eur J Pain.* 2016 Nov;20(10):1753-1762. doi: 10.1002/ejp.899. Epub 2016 Jun 15. PMID: 27301294.
- Espana RA, Plahn S, Berridge CW. Circadian- Dependent and Circadian-Independent Behavioral Actions of Hypocretin /Orexin. *Brain Research* 2002;943:224-236.
- España RA, Scammell TE. Sleep neurobiology from a clinical perspective. *Sleep.* 2011 Jul 1;34(7):845-58. doi: 10.5665/SLEEP.1112. PMID: 21731134; PMCID: PMC3119826.
- Everett K, Chioza B, Aicardi J, Aschauer H, Brouwer O, Callenbach P, et al. Linkage and mutational analysis of CLCN2 in childhood absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 2007;75(2-3):145-53.
- Feigenbaum JJ, Bergmann F, Richmond SA, Mechoulam R, Nadler V, Kloog Y, Sokolovsky M. Nonpsychotropic cannabinoid acts as a functional N-methyl-D-aspartate receptor blocker. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 Dec;86(23):9584-7. doi: 10.1073/pnas.86.23.9584. PMID: 2556719; PMCID: PMC298542.
- Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, Lai Y, Ma AL, Mitchell RL. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol.* 1995 Sep;48(3):443-50. PMID: 7565624.
- Fisher RS, Cross JH, D'Souza C, French JA, Haut SR, Higurashi N, et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. *Epilepsia.* 2017;58(4):531-42.
- Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez E, Scheffer IE, Zuberi SM. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia.* 2017 Apr;58(4):522-530.
- Flores, A., Maldonado, R., and Berrendero, F. "Cannabinoid-hypocretin cross-talk in the central nervous system: what we know so far", *Frontiers in Neuroscience.* 2013; 7, 256.
- Fukunaka Y, Shinkai T, Hwang R, Hori H, Utsunomiya K, Sakata S, Naoe Y, Shimizu K, Matsumoto C, Ohmori O, Nakamura J. The orexin 1 receptor (HCRTR1) gene as a

- susceptibility gene contributing to polydipsia-hyponatremia in schizophrenia. *Neuromolecular Med.* 2007;9(4):292-7. doi: 10.1007/s12017-007-8001-2. Epub 2007 Aug 1. PMID: 17999203.
- Galiègue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carrière D, Carayon P, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem* 1995;232:54–61.
- Garzon P, Lemelle L, Auvin S. Épilepsie absence de l'enfant : actualités diagnostiques et thérapeutiques [Childhood absence epilepsy: An update]. *Arch Pediatr.* 2016 Nov;23(11):1176-1183. French. doi: 10.1016/j.arcped.2016.08.005. Epub 2016 Sep 24. PMID: 27683026.
- Gastaut H, Roger J, Tassinari CA. Editorial: l'épilepsie [Editorial: epilepsy]. *Afr J Med Sci.* 1970 Apr;1(2):115-23. French. PMID: 5000528.
- Gastaut H. Certain Basic Concepts Concerning The Treatment Of The Epilepsies. *Br J Clin Pract.* 1964 Aug;18:463-8. Pmid: 14206257.
- Gaston TE, Friedman D. Pharmacology of cannabinoids in the treatment of epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2017 May;70(Pt B):313-318. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.11.016. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28087250.
- Gaston TE, Friedman D. Pharmacology of cannabinoids in the treatment of epilepsy. *Epilepsy Behav.* 2017 May;70(Pt B):313-318. doi: 10.1016/j.yebeh.2016.11.016. Epub 2017 Jan 10. PMID: 28087250.
- Gauguier D, van Luijtelaaar G, Bihoreau MT, Wilder SP, Godfrey RF, Vossen J, et al. Chromosomal mapping of genetic loci controlling absence epilepsy phenotypes in the WAG/Rij rat. *Epilepsia.* 2004;45(8):908-15.
- Geerling JC, Mettenleiter TC, Loewy AD. Orexin Neurons Project to Diverse Sympathetic Outflow Systems. *Neuroscience* 2003;122:541-550.
- Gelman JS, Dasgupta S, Berezniuk I, Fricker LD. Analysis of peptides secreted from cultured mouse brain tissue. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Nov;1834(11):2408-17. doi: 10.1016/j.bbapap.2013.01.043. Epub 2013 Feb 10. PMID: 23402728; PMCID: PMC3681907.
- Gloor P. Generalized Cortico-Reticular Epilepsies Some Considerations on the Pathophysiology of Generalized Bilaterally Synchronous Spike and Wave Discharge. *Epilepsia* 1968, 9(3):249-63.
- Gomes I, Grushko JS, Golebiewska U, Hoogendoorn S, Gupta A, Heimann AS, Ferro ES, Scarlata S, Fricker LD, Devi LA. Novel endogenous peptide agonists of cannabinoid receptors. *FASEB J.* 2009 Sep;23(9):3020-9. doi: 10.1096/fj.09-132142. Epub 2009 Apr 20. PMID: 19380512; PMCID: PMC2735371.
- Gonsiorek W, Lunn C, Fan X, Narula S, Lundell D, Hipkin RW. Endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: antagonism by anandamide. *Mol Pharmacol.* 2000 May;57(5):1045-50. PMID: 10779390.
- Goparaju SK, Ueda N, Yamaguchi H, Yamamoto S. Anandamide amidohydrolase reacting with 2-arachidonoylglycerol, another cannabinoid receptor ligand. *FEBS Lett.* 1998 Jan 23;422(1):69-73. doi: 10.1016/s0014-5793(97)01603-7. PMID: 9475172.
- Goudarzi E, Elahdadi Salmani M, Lashkarbolouki T, Goudarzi I. Hippocampal orexin receptors inactivation reduces PTZ induced seizures of male rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2015 Mar;130:77-83. doi: 10.1016/j.pbb.2015.01.006. Epub 2015 Jan 17. PMID: 25600753

- Grady SC, Nishino S, Czeisler CA, et al. Diurnal Variation in CSF Orexin-A in Healthy Male Subjects. *Sleep* 2006;29(3):295-297.
- Guilhoto LM. Absence epilepsy: Continuum of clinical presentation and epigenetics? *Seizure*. 2017 Jan;44:53-57.
- Guindon J, Beaulieu P. Antihyperalgesic effects of local injections of anandamide, ibuprofen, rofecoxib and their combinations in a model of neuropathic pain. *Neuropharmacol.* 2006;50(7): 814-823.
- Guindon J, De Lean A, Beaulieu P. Local interactions between anandamide, an endocannabinoid, and ibuprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in acute and inflammatory pain. *Pain*. 2006;121(1-2): 85-93.
- Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boschia F, Freund TF. Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci.* 2004;20(2): 441- 458.
- Guzmán M. Cannabinoids: potential anticancer agents. *Nat Rev Cancer.* 2003 Oct;3(10):745-55. doi: 10.1038/nrc1188. PMID: 14570037.
- Gültekin H, Şahin S, Budak N. Feeding Behaviour: Pharmacological Target Molecules. *E.U. Journal of Health Sciences* 2004;131(1):77-8.
- Gültekin H, Şahin S. Oreksinler (Hipokretinler): Obezite Tedavisinde Yeni Hedef Moleküller. *Genel Tıp Dergisi* 2005;15(2):85-89.
- Haagen-Smit AJ, Wawra CZ, Koepfli JB, Alles GA, Feigen GA, Prater AN. A Physiologically Active Principle From Cannabis Sativa (Marihuana). *Science.* 1940 Jun 21;91(2373):602-3. doi: 10.1126/science.91.2373.602. PMID: 17814625.
- Haas LF. Hans Berger (1873–1941), Richard Caton (1842–1926), and electroencephalography. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* 2003;74(1):9-.
- Haj-Dahmane S, Shen RY. The wake-promoting peptide orexin-B inhibits glutamatergic transmission to dorsal raphe nucleus serotonergic neurons through retrograde endocannabinoid signaling. *J Neurosci.* 2005 Jan 26;25(4):896-905. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3258-04.2005. PMID: 15673670; PMCID: PMC6725638.
- Hájos N, Katona I, Naiem SS, MacKie K, Ledent C, Mody I, Freund TF. Cannabinoids inhibit hippocampal GABAergic transmission and network oscillations. *Eur J Neurosci.* 2000 Sep;12(9):3239-49. doi: 10.1046/j.1460-9568.2000.00217.x. PMID: 10998107.
- Håkansson M, de Lecea L, Sutcliffe JG, Yanagisawa M, and Meister B (1999) Leptin receptor- and STAT3-immunoreactivities in hypocretin/orexin neurones of the lateral hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 11:653–663.
- Hama A, Sagen J. Activation of spinal and supraspinal cannabinoid-1 receptors leads to antinociception in a rat model of neuropathic spinal cord injury pain. *Brain Res.* 2011 Sep 15;1412:44-54. doi: 10.1016/j.brainres.2011.07.031. Epub 2011 Jul 26. PMID: 21813113; PMCID: PMC3159760.
- Haug K, Warnstedt M, Alekov AK, Sander T, Ramirez A, Poser B, et al. Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies. *Nat Genet.* 2003;33(4):527-32.
- Heimann AS, Gomes I, Dale CS, Pagano RL, Gupta A, de Souza LL, Luchessi AD, Castro LM, Giorgi R, Rioli V, Ferro ES, Devi LA. Hemopressin is an inverse agonist of CB1 cannabinoid receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Dec 18;104(51):20588-93.

- doi: 10.1073/pnas.0706980105. Epub 2007 Dec 12. PMID: 18077343; PMCID: PMC2154475.
- Heinonen MV, Purhonen AK, Mäkelä KA, Herzig KH. Functions of orexins in peripheral tissues. *Acta Physiol (Oxf)*. 2008 Apr;192(4):471-85. doi: 10.1111/j.1748-1716.2008.01836.x. Epub 2008 Feb 22. PMID: 18294339.
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Mar;87(5):1932-6. doi: 10.1073/pnas.87.5.1932. PMID: 2308954; PMCID: PMC53598.
- Hilairt S, Bouaboula M, Carrière D, Le Fur G, Casellas P. Hypersensitization of the Orexin 1 receptor by the CB1 receptor: evidence for cross-talk blocked by the specific CB1 antagonist, SR141716. *J Biol Chem*. 2003 Jun 27;278(26):23731-7. doi: 10.1074/jbc.M212369200. Epub 2003 Apr 10. PMID: 12690115.
- Ho YC, Lee HJ, Tung LW, Liao YY, Fu SY, Teng SF, Liao HT, Mackie K, Chiou LC. Activation of orexin 1 receptors in the periaqueductal gray of male rats leads to antinociception via retrograde endocannabinoid (2-arachidonoylglycerol)-induced disinhibition. *J Neurosci*. 2011 Oct 12;31(41):14600-10. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2671-11.2011. PMID: 21994376; PMCID: PMC3265563.
- Ho YC, Lee HJ, Tung LW, Liao YY, Fu SY, Teng SF, Liao HT, Mackie K, Chiou LC (2011) Activation of orexin 1 receptors in the periaqueductal gray of male rats leads to antinociception via retrograde endocannabinoid (2-arachidonoylglycerol)-induced disinhibition. *J Neurosci* 31(41):14600–14610.
- Hofer, S.C.; Ralvenius, W.T.; Gachet, M.S.; Fritschy, J.M.; Zeilhofer, H.U.; Gertsch, J. Localization and production of peptide endocannabinoids in the rodent CNS and adrenal medulla. *Neuropharmacology* **2015**, 98, 78–89.
- Hohmann AG, Herkenham M. Regulation of cannabinoid and mu opioid receptors in rat lumbar spinal cord following neonatal capsaicin treatment. *Neurosci Lett*. 1998 Aug 7;252(1):13-6. doi: 10.1016/s0304-3940(98)00534-5. PMID: 9756347.
- Hohmann AG, Tsou K, Walker JM. Cannabinoid modulation of wide dynamic range neurons in the lumbar dorsal horn of the rat by spinally administered WIN55,212-2. *Neurosci Lett*. 1998 Dec 4;257(3):119-22. doi: 10.1016/s0304-3940(98)00802-7. PMID: 9870334.
- Hollister LE. Cannabis: finally a therapeutic agent? *Drug Alcohol Depend*. 1983 Apr;11(2):135-45. doi: 10.1016/0376-8716(83)90075-3. PMID: 6305618.
- Holmqvist T, Johansson L, Ostman M, Ammoun S, Akerman KE, Kukkonen JP. OX1 orexin receptors couple to adenylyl cyclase regulation via multiple mechanisms. *J Biol Chem*. 2005 Feb 25;280(8):6570-9. doi: 10.1074/jbc.M407397200. Epub 2004 Dec 16. PMID: 15611118.
- Hosford DA, Clark S, Cao Z, Wilson WA Jr, Lin FH, Morrisett RA, Huin A. The role of GABAB receptor activation in absence seizures of lethargic (lh/lh) mice. *Science*. 1992 Jul 17;257(5068):398-401. doi: 10.1126/science.1321503. PMID: 1321503.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 161–202.
- Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:345-58. doi: 10.1016/j.neuropharm.2004.07.030. PMID: 15464149.

- Huffman JW, Padgett LW. Recent developments in the medicinal chemistry of cannabinomimetic indoles, pyrroles and indenenes. *Curr Med Chem*. 2005; 12: 1395-1411.
- Hungs M, Mignot E. Hypocretin/Orexin, Sleep and Narcolepsy. *Bioessays* 2001;23:397-408.
- Innocenzo Rainero, Luca Ostacoli, Elisa Rubino, Salvatore Gallone, Luigi Rocco Picci, Pierpaola Fenoglio, Elisa Negro, Carlo Rosso, Paola De Martino, Mario De Marchi, Pier Maria Furlan, Lorenzo Pinessi, Association between Major Mood Disorders and the hypocretin receptor 1 gene, *Journal of Affective Disorders*, Volume 130, Issue 3, 2011, Pages 487-491, ISSN 0165-0327.
- Ivanov A, Aston-Jones G. Hypocretin/orexin depolarizes and decreases potassium conductance in locus coeruleus neurons. *Neuroreport*. 2000 Jun 5;11(8):1755-8. doi: 10.1097/00001756-200006050-00031. PMID: 10852238.
- Jaeger LB, Farr SA, Banks WA, Morley JE. Effects of orexin-A on memory processing. *Peptides*. 2002 Sep;23(9):1683-8. doi: 10.1016/s0196-9781(02)00110-9. PMID: 12217429. Alger, 2004.
- Jääntti MH, Mandrika I, Kukkonen JP. Human orexin/hypocretin receptors form constitutive homo- and heteromeric complexes with each other and with human CB1 cannabinoid receptors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Mar 7;445(2):486-90. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.02.026. Epub 2014 Feb 13. PMID: 24530395.
- Jääntti, M. H., Putula, J., Turunen, P. M., Näsman, J., Reijonen, S., and Kukkonen, J. P. (2013). Autocrine endocannabinoid signaling potentiates orexin receptor signaling upon CB1 cannabinoid-OX1 orexin receptor coexpression. *Mol. Pharmacol.* 83, 621–632. doi: 10.1124/mol.112.080523.
- Jarre G, Altwegg-Boussac T, Williams MS, Studer F, Chipaux M, David O, Charpier S, Depaulis A, Mahon S, Guillemain I. Building Up Absence Seizures in the Somatosensory Cortex: From Network to Cellular Epileptogenic Processes. *Cereb Cortex*. 2017 Sep 1;27(9):4607-4623. doi: 10.1093/cercor/bhx174. PMID: 28922856.
- Jarre, G., Guillemain, I., Deransart, C. & Depaulis, A. Genetic models of seizure and epilepsy in rats and mice. in *Models of seizure and epilepsy* (eds. Pitkänen, A., Buckmaster, P., Galanopoulou, A. & Moshe, S. 2016.
- Jessica J. Falco-Walter, Ingrid E. Scheffer, Robert S. Fisher, The new definition and classification of seizures and epilepsy, *Epilepsy Research*, Volume 139, 2018, Pages 73-79, ISSN 0920-1211.
- John J, Wu MF, Kodama T, Siegel JM. Intravenously administered hypocretin-1 alters brain amino acid release: an in vivo microdialysis study in rats. *J Physiol*. 2003 Apr 15;548(Pt 2):557-62. doi: 10.1113/jphysiol.2002.038729. Epub 2003 Mar 7. PMID: 12626669; PMCID: PMC2342868.
- Kalra SP, Dube MG, Pu S, et al. Interacting Appetite-Regulating Pathways in the Hypothalamic Regulation of Body Weight. *Endocrine Reviews* 1999;20(1):68-100.
- Kang JQ, Macdonald RL. Molecular Pathogenic Basis for GABRG2 Mutations Associated With a Spectrum of Epilepsy Syndromes, From Generalized Absence Epilepsy to Dravet Syndrome. *JAMA Neurol*. 2016 Aug 01;73(8):1009-16.
- Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev*. 2009 Jan;89(1):309-80. doi: 10.1152/physrev.00019.2008. PMID: 19126760.
- Karler R, Murphy V, Calder LD, Turkkanis SA. Pentylenetetrazol kindling in mice. *Neuropharmacology*. 1989 Aug;28(8):775-780.

- Karteris E, Machado RJ, Chen J, Zervou S, Hillhouse EW, Randeva HS. Food deprivation differentially modulates orexin receptor expression and signaling in rat hypothalamus and adrenal cortex. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005 Jun;288(6):E1089-100. doi: 10.1152/ajpendo.00351.2004. Epub 2005 Jan 25. PMID: 15687100.
- Karteris E, Randeva HS, Grammatopoulos DK, Jaffe RB, Hillhouse EW. Expression and coupling characteristics of the CRH and orexin type 2 receptors in human fetal adrenals. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Sep;86(9):4512-9. doi: 10.1210/jcem.86.9.7849. PMID: 11549701.
- Kim HJJ, Zagzoog A, Smolyakova AM, Ezeaka UC, Benko MJ, Holt T, Laprairie RB. *In vivo* Evidence for Brain Region-Specific Molecular Interactions Between Cannabinoid and Orexin Receptors. *Front Neurosci*. 2021 Dec 21;15:790546. doi: 10.3389/fnins.2021.790546. PMID: 34992518; PMCID: PMC8724524.
- Kodama T, Kimura M. Arousal effects of orexin-A correlate with GLU release from the locus coeruleus in rats. *Peptides*. 2002 Sep;23(9):1673-81. doi: 10.1016/s0196-9781(02)00109-2. PMID: 12217428.
- Korczynski W, Ceregrzyn M, Matyjek R, Kato I, Kuwahara A, Wolinski J, Zabielski R. Central and local (enteric) action of orexins. *J Physiol Pharmacol*. 2006 Nov;57 Suppl 6:17-42. PMID: 17228085.
- Kordi Jaz E, Moghimi A, Fereidoni M, Asadi S, Shamsizadeh A, Roohbakhsh A. SB-334867, an orexin receptor 1 antagonist, decreased seizure and anxiety in pentylenetetrazol-kindled rats. *Fundam Clin Pharmacol*. 2017 Apr;31(2):201-207. doi: 10.1111/fcp.12249. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27739093.
- Kortunay S, Erken HA, Erken G, Genç O, Sahiner M, Turgut S, Turgut G. Orexins increase penicillin-induced epileptic activity. *Peptides*. 2012 Apr;34(2):419-22. doi: 10.1016/j.peptides.2012.02.013. Epub 2012 Feb 27. PMID: 22394654.
- Kukkonen JP, Leonard CS. Orexin/hypocretin receptor signalling cascades. *Br J Pharmacol*. 2014 Jan;171(2):314-31. doi: 10.1111/bph.12324. PMID: 23902572; PMCID: PMC3904254.
- Kukkonen, J.P., Holmqvist, T., Ammoun, S., and Akerman, K.E. "Functions of the orexinergic/hypocretinergic system", *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002; 283, C1567-1591.
- Kukkonen, J.P. (2013). Physiology of the orexinergic/hypocretinergic system: a revisit in 2012. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 304, C2–C32. doi:10.1152/ajp-cell.00227.2012.
- Kyrou I, Valsamakis G, Tsigos C. The endocannabinoid system as a target for the treatment of visceral obesity and metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 2006 Nov;1083:270-305. doi: 10.1196/annals.1367.024. PMID: 17148745.
- Lang W, Qin C, Lin S, Khanolkar AD, Goutopoulos A, Fan P, Abouzid K, Meng Z, Biegel D, Makriyannis A. Substrate specificity and stereoselectivity of rat brain microsomal anandamide amidohydrolase. *J Med Chem*. 1999 Mar 11;42(5):896-902. doi: 10.1021/jm980461j. PMID: 10072686.
- Lawrence, A.J., & Lecea, L.D. (2017). Behavioral Neuroscience of Orexin/Hypocretin. Current topics in behavioral neurosciences.
- Lazarini-Lopes W, Campos-Rodriguez C, Palmer D, N’Gouemo P, Garcia-Cairasco N, Forcelli PA. Absence epilepsy in male and female WAG/Rij rats: a longitudinal EEG analysis of seizure expression. *Epilepsy Res* 2021; 176: 106693.

- Le Boisselier R, Alexandre J, Lelong-Boulouard V, Debruyne D. Focus on cannabinoids and synthetic cannabinoids. *Clin Pharmacol Ther.* 2017 Feb;101(2):220-229. doi: 10.1002/cpt.563. Epub 2016 Dec 20. PMID: 27861784.
- Leonard, C.S., and Kukkonen, J.P. (2014). Orexin/hypocretin receptor signalling: a functional perspective. *Br. J. Pharmacol.* 171, 294–313. doi: 10.1111/bph.12296.
- Li J, Daughters RS, Bullis C, Bengiamin R, Stucky MW, Brennan J, Simone DA. The cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 mesylate blocks the development of hyperalgesia produced by capsaicin in rats. *Pain.* 1999;81(1-2): 25-33.
- Li XH, Lin ML, Wang ZL, Wang P, Tang HH, Lin YY, Li N, Fang Q, Wang R. Central administrations of hemopressin and related peptides inhibit gastrointestinal motility in mice. *Neurogastroenterol Motil.* 2016 Jun;28(6):891-9. doi: 10.1111/nmo.12789. Epub 2016 Mar 14. PMID: 26991932.
- Liang Y, Fotiadis D, Filipek S, Saperstein DA, Palczewski K, Engel A. Organization of the G protein-coupled receptors rhodopsin and opsin in native membranes. *J Biol Chem.* 2003 Jun 13;278(24):21655-21662. doi: 10.1074/jbc.M302536200. Epub 2003 Mar 27.
- Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L, Laezza C, Portella G, Bifulco M, Di Marzo V. Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006 Sep;318(3):1375-87. doi: 10.1124/jpet.106.105247. Epub 2006 May 25. PMID: 16728591.
- Lin L, Faraco J, Li R, Kadotani H, Rogers W, Lin X, Qiu X, de Jong PJ, Nishino S, Mignot E. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell.* 1999 Aug 6;98(3):365-76. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81965-0. PMID: 10458611.
- Lippton H, Lin B, Gumusel B, Witriol N, Wasserman A, Knight M. Hemopressin, a hemoglobin fragment, dilates the rat systemic vascular bed through release of nitric oxide. *Peptides.* 2006 Sep;27(9):2284-8. doi: 10.1016/j.peptides.2006.04.010. Epub 2006 May 19. PMID: 16713023.
- Liu RJ, van den Pol AN, Aghajanian GK. Hypocretins (orexins) regulate serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus by excitatory direct and inhibitory indirect actions. *J Neurosci.* 2002 Nov 1;22(21):9453-64. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-21-09453.2002. PMID: 12417670; PMCID: PMC6758063.
- Lo'pez M, Seoane L, García MC, Lago F, Casanueva FF, Sen' arís R, and Die'guez C (2000) Leptin regulation of prepro-orexin and orexin receptor mRNA levels in the hypothalamus. *Biochem Biophys Res Commun* **269**:41–45.
- Loewe S. The rate of disappearance of a marihuana-active substance from the circulating blood. *J Pharmacol Exp Ther.* 1946 Mar;86:294-6. PMID: 21020053.
- Luijtelaa GV, Zobeiri M, Lüttjohann A, Depaulis A. Experimental Treatment Options in Absence Epilepsy. *Curr Pharm Des.* 2017;23(37):5577-5592. doi: 10.2174/1381612823666171017170226. PMID: 29046145.
- Lund PE, Shariatmadari R, Uustare A, Detheux M, Parmentier M, Kukkonen JP, Akerman KE. The orexin OX1 receptor activates a novel Ca²⁺ influx pathway necessary for coupling to phospholipase C. *J Biol Chem.* 2000 Oct 6;275(40):30806-12. doi: 10.1074/jbc.M002603200. PMID: 10880509.
- Luszczki JJ, Czuczwar P, Cioczek-Czuczwar A, Czuczwar SJ. Arachidonyl-2-chloroethylamide, a highly selective cannabinoid CB1 receptor agonist enhances the anticonvulsant action of valproate in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. *Eur J Pharmacol.* 2006;547: 65-74.

- Luttjohann A, Zhang S, de Peijper R, van Luijtelaar G. Electrical stimulation of the epileptic focus in absence epileptic WAG/Rij rats: assessment of local and network excitability. *Neuroscience*. 2011;188:125-34.
- Ma L, Jia J, Niu W et al. Mitochondrial CB1 receptor is involved in ACEA-induced protective effects on neurons and mitochondrial functions. *Scie Rep* 2015; 5: 1–13.
- Maccarrone M, van der Stelt M, Rossi A, Veldink GA, Vliegthart JF, Agrò AF. Anandamide hydrolysis by human cells in culture and brain. *J Biol Chem*. 1998 Nov 27;273(48):32332-9. doi: 10.1074/jbc.273.48.32332. PMID: 9822713.
- Magga J, Bart G, Oker-Blom C, Kukkonen JP, Akerman KE, Näsman J. Agonist potency differentiates G protein activation and Ca²⁺ signalling by the orexin receptor type 1. *Biochem Pharmacol*. 2006 Mar 14;71(6):827-36. doi: 10.1016/j.bcp.2005.12.021. Epub 2006 Jan 20. PMID: 16430869.
- Maldonado R, Valverde O, Berrendero F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci*. 2006 Apr;29(4):225-32. doi: 10.1016/j.tins.2006.01.008. Epub 2006 Feb 17. PMID: 16483675.
- Marcus JN, Aschkenasi CJ, Lee CE, Chemelli RM, Saper CB, Yanagisawa M, Elmquist JK. Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J Comp Neurol*. 2001 Jun 18;435(1):6-25. doi: 10.1002/cne.1190. PMID: 11370008.
- Marescaux C, Vergnes M, Depaulis A. Genetic absence epilepsy in rats from Strasbourg--a review. *J Neural Transm Suppl*. 1992;35:37-69. doi: 10.1007/978-3-7091-9206-1_4. PMID: 1512594.
- Martin G, Fabre V, Siggins GR, de Lecea L. Interaction of the hypocretins with neurotransmitters in the nucleus accumbens. *Regul Pept*. 2002 Mar 15;104(1-3):111-7. doi: 10.1016/s0167-0115(01)00354-8. PMID: 11830285.
- Matricardi S, Verrotti A, Chiarelli F, Cerminara C, Curatolo P. Current advances in childhood absence epilepsy. *Pediatr Neurol*. 2014 Mar;50(3):205-12
- McCormick DA, Bal T. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci*. 1997;20:185-215. doi: 10.1146/annurev.neuro.20.1.185. PMID: 9056712.
- McCoy JG, Strecker RE. The cognitive cost of sleep lost. *Neurobiol Learn Mem*. 2011 Nov;96(4):564-82. doi: 10.1016/j.nlm.2011.07.004. Epub 2011 Aug 22. PMID: 21875679; PMCID: PMC3614362.
- McNamara JO, Huang YZ, Leonard AS. Molecular signaling mechanisms underlying epileptogenesis. *Sci STKE*. 2006 Oct 10;2006(356):re12. doi: 10.1126/stke.3562006re12. PMID: 17033045.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*. 1995 Jun 29;50(1):83-90. doi: 10.1016/0006-2952(95)00109-d. PMID: 7605349.
- Meerabux J, Iwayama Y, Sakurai T, Ohba H, Toyota T, Yamada K, Nagata R, Irukayama-Tomobe Y, Shimizu H, Yoshitsugu K, Ohta K, Yoshikawa T. Association of an orexin 1 receptor 408Val variant with polydipsia-hyponatremia in schizophrenic subjects. *Biol Psychiatry*. 2005 Sep 1;58(5):401-7. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.04.015. PMID: 15978554.
- Meeren H, van Luijtelaar G, Lopes da Silva F, Coenen A. Evolving Concepts on the Pathophysiology of Absence Seizures: The Cortical Focus Theory. *Arch Neurol*. 2005;62(3):371–376. doi:10.1001/archneur.62.3.371

- Meeren HK, Pijn JP, Van Luijtelaar EL, Coenen AM, Lopes da Silva FH. Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci.* 2002;22(4):1480-95.
- Meeren, H., van Luijtelaar, G., Lopes da Silva, F. & Coenen, A. Evolving concepts on the pathophysiology of absence seizures: the cortical focus theory. *Arch. Neurol.* 62, 371–6 (2005)
- Meeren, H.K., Pijn, J.P. van Luijtelaar, E.L., Coenen, A.M., Lopes da Silva, F.H. (2002). Cortical focus drives widespread corticothalamic networks during spontaneous absence seizures in rats. *J Neurosci*, 22, 1480–95.
- Mieda M, Yanagisawa M. Sleep, Feeding, and Neuropeptides: Roles of Orexins and Orexin Receptors. *Current Opinion in Neurobiology* 2002;12:339-345.
- Milasta S, Evans NA, Ormiston L, Wilson S, Lefkowitz RJ, Milligan G. The sustainability of interactions between the orexin-1 receptor and beta-arrestin-2 is defined by a single C-terminal cluster of hydroxy amino acids and modulates the kinetics of ERK MAPK regulation. *Biochem J.* 2005 May 1;387(Pt 3):573-84. doi: 10.1042/BJ20041745. PMID: 15683363; PMCID: PMC1134986.
- Milasta, S., Evans, N. A., Ormiston, L., Wilson, S., Lefkowitz, R. J., and Milligan, G. (2005). The sustainability of interactions between the orexin-1 receptor and beta-arrestin-2 is defined by a single C-terminal cluster of hydroxy amino acids and modulates the kinetics of ERK MAPK regulation. *Biochem. J.* 387, 573–584. doi: 10.1042/BJ20041745.
- Milligan G. G protein-coupled receptor hetero-dimerization: contribution to pharmacology and function. *Br J Pharmacol.* 2009 Sep;158(1):5-14. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00169.x. Epub 2009 Mar 20. PMID: 19309353; PMCID: PMC2795239.
- Misonou H. Homeostatic regulation of neuronal excitability by K(+) channels in normal and diseased brains. *Neuroscientist.* 2010 Feb;16(1):51-64. doi: 10.1177/1073858409341085. PMID: 20236949.
- Mitsuma T, Hirooka Y, Kayama M, et al. Radioimmunoassay for Orexin A. *Life Sciences* 2000;66(10): 897-904
- Mobarakeh JI, Takahashi K, Sakurada S, Nishino S, Watanabe H, Kato M, Yanai K. Enhanced antinociception by intracerebroventricularly and intrathecally-administered orexin A and B (hypocretin-1 and -2) in mice. *Peptides.* 2005 May;26(5):767-77. doi: 10.1016/j.peptides.2005.01.001. PMID: 15808907.
- Mondal MS, Nakazato M, Matsukura S. Orexins (hypocretins): novel hypothalamic peptides with divergent functions. *Biochem Cell Biol.* 2000;78(3):299-305. PMID: 10949081.
- Morales A, Bonnet C, Bourgoin N, Touvier T, Nadam J, Laglaine A, Navarro F, Moulin C, Georges B, Pequignot JM, Bezin L. Unexpected expression of orexin-B in basal conditions and increased levels in the adult rat hippocampus during pilocarpine-induced epileptogenesis. *Brain Res.* 2006 Sep 13;1109(1):164-75. doi: 10.1016/j.brainres.2006.06.075. Epub 2006 Aug 10. PMID: 16904080.
- Morello, G.; Imperatore, R.; Palomba, L.; Finelli, C.; Labruna, G.; Pasanisi, F.; Sacchetti, L.; Buono, L.; Piscitelli, F.; Orlando, P.; et al. Orexin-A represses satiety-inducing POMC neurons and contributes to obesity via stimulation of endocannabinoid signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2016, 113, 4759–4764.
- Motamedi G, Meador K. Epilepsy and cognition. *Epilepsy Behav.* 2003 Oct;4 Suppl 2:S25-38. doi: 10.1016/j.yebeh.2003.07.004. PMID: 14527481.
- Nakabayashi M, Suzuki T, Takahashi K, et al. Orexin-A Expression in Human Peripheral Tissues. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2003;250:43-50.

- Nakamachi T, Endo S, Ohtaki H, et al. Orexin-1 Receptor Expression after Glob ice. *Regulatory Peptides* 2005;126:49-54; Petersen A, Gil J, Maat-Schieman MLC, et al. Orexin Loss in Huntington's disease. *Human Molecular Genetics* 2005;14(1):39-47.
- Navarro, G.; Morales, P.; Cueto, C.R.; Fernández-Ruiz, J.; Jagerovic, N.; Franco, R. Targeting Cannabinoid CB2 Receptors in the Central Nervous System. *Medicinal Chemistry Approaches with Focus on Neurodegenerative Disorders*. *Front. Neurosci.* 2016,10, 406.
- Nersesyan H, Hyder F, Rothman DL, Blumenfeld H. Dynamic fMRI and EEG recordings during spike-wave seizures and generalized tonic-clonic seizures in WAG/Rij rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004;24(6):589-99;
- Ng MC. Orexin and Epilepsy: Potential Role of REM Sleep. *Sleep.* 2017 Mar 1;40(3). doi: 10.1093/sleep/zsw061. PMID: 28364414.
- Ni LY, Zhu MJ, Song Y, Liu XM, Tang JY. Pentylentetrazol-induced seizures are exacerbated by sleep deprivation through orexin receptor-mediated hippocampal cell proliferation. *Neurol Sci.* 2014 Feb;35(2):245-52. doi: 10.1007/s10072-013-1495-5. Epub 2013 Jul 13. PMID: 23852314.
- Niedermeyer E. Primary (idiopathic) generalized epilepsy and underlying mechanisms. *Clinical Electro* 1996, 27(1):1-21.
- Olsen RW, DeLorey TM, Gordey M, Kang MH. GABA receptor function and epilepsy. *Adv Neurol.* 1999;79:499-510. PMID: 10514838.
- Onat FY, van Luijtelaaar G, Nehlig A, Snead OC. The involvement of limbic structures in typical and atypical absence epilepsy. *Epilepsy Res.* 2013 Feb;103(2-3):111-23
- Ouedraogo R, Naslund E, Kirchgessner AL. Glucose Regulates the Release of Orexin-A from the Endocrine Pancreas. *Diabetes* 2003;52:111-117.
- Pacher P, Bátkai S, Kunos G, 2006, "The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy". *Pharmacological Reviews.* 58 (3). ss. 389-462.
- Pan JX, Wang ZL, Li N, Han ZL, Li XH, Tang HH, Wang P, Zheng T, Fang Q, Wang R. Analgesic tolerance and cross-tolerance to the cannabinoid receptors ligands hemopressin, VD-hemopressin(α) and WIN55,212-2 at the supraspinal level in mice. *Neurosci Lett.* 2014 Aug 22;578:187-91. doi: 10.1016/j.neulet.2014.06.058. Epub 2014 Jul 7. PMID: 25010019.
- Pearl PL. Epilepsy Syndromes in Childhood. *Continuum (Minneap Minn).* 2018 Feb;24(1, Child Neurology):186-209.
- Peeters BW, van Rijn CM, Vossen JM, Coenen AM. Effects of GABA-ergic agents on spontaneous non-convulsive epilepsy, EEG and behaviour, in the WAG/RIJ inbred strain of rats. *Life Sci.* 1989;45(13):1171-6. doi: 10.1016/0024-3205(89)90505-5. PMID: 2796603.
- Pérez-Olives, C.; Rivas-Santisteban, R.; Lillo, J.; Navarro, G.; Franco, R. Recent Advances in the Potential of Cannabinoids for Neuroprotection in Alzheimer's, Parkinson's, and Huntington's Diseases. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2021**, 1264, 81–92.
- Peyron C, Tighe DK, Pol AN, et al. Neurons Containing Hypocretin (Orexin) Project to Multiple Neuronal Systems. *The Journal of Neuroscience* 1998;18(23):9996-10015.
- Pfurtscheller G, Lopes da Silva FH. Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clin Neurophysiol.* 1999 Nov;110(11):1842-57. doi: 10.1016/s1388-2457(99)00141-8. PMID: 10576479.

- Piomelli D, Beltramo M, Giuffrida A, Stella N. Endogenous cannabinoid signaling. *Neurobiol Dis.* 1998 Dec;5(6 Pt B):462-73. doi: 10.1006/nbdi.1998.0221. PMID: 9974178.
- Piomelli D. The endocannabinoid system: a drug discovery perspective. *Curr Opin Investig Drugs.* 2005 Jul;6(7):672-9. PMID: 16044662.
- Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci.* 2003 Nov;4(11):873-84. doi: 10.1038/nrn1247. PMID: 14595399.
- Piomelli, D., Giuffrida, A., Calignano, A. & Rodríguez de Fonseca, F. The endocannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* 21, 218–224, 2000.
- Pitler TA, Alger BE. Differences between presynaptic and postsynaptic GABAB mechanisms in rat hippocampal pyramidal cells. *J Neurophysiol.* 1994 Nov;72(5):2317-27. doi: 10.1152/jn.1994.72.5.2317. PMID: 7884461.
- Polack P-O, Mahon S, Chavez M, Champier S. Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy. *Cerebral Cortex.* 2009;19(9):2078-91.
- Raïch I, Rebassa JB, Lillo J, Cordomi A, Rivas-Santisteban R, Lillo A, Reyes-Resina I, Franco R, Navarro G. Antagonization of OX₁ Receptor Potentiates CB₂ Receptor Function in Microglia from APP^{Sw/Ind} Mice Model. *Int J Mol Sci.* 2022 Oct 24;23(21):12801. doi: 10.3390/ijms232112801. PMID: 36361598; PMCID: PMC9656664.
- Rainero I, De Martino P, Pinessi L. Hypocretins and primary headaches: neurobiology and clinical implications. *Expert Rev Neurother.* 2008 Mar;8(3):409-16. doi: 10.1586/14737175.8.3.409. PMID: 18345971.
- Ramer R, Merkord J, Rohde H, Hinz B. Cannabidiol inhibits cancer cell invasion via upregulation of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1. *Biochem Pharmacol.* 2010 Apr 1;79(7):955-66. doi: 10.1016/j.bcp.2009.11.007. Epub 2009 Nov 13. PMID: 19914218.
- Randeva HS, Karteris E, Grammatopoulos D, Hillhouse EW. Expression of orexin-A and functional orexin type 2 receptors in the human adult adrenals: implications for adrenal function and energy homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct;86(10):4808-13. doi: 10.1210/jcem.86.10.7921. PMID: 11600545.
- Reckziegel P, Festuccia WT, Britto LRG, Jang KLL, Romão CM, Heimann JC, Fogaça MV, Rodrigues NS, Silva NR, Guimarães FS, Eichler RAS, Gupta A, Gomes I, Devi LA, Heimann AS, Ferro ES. A novel peptide that improves metabolic parameters without adverse central nervous system effects. *Sci Rep.* 2017 Nov 1;7(1):14781. doi: 10.1038/s41598-017-13690-9. PMID: 29093454; PMCID: PMC5665932.
- Rejdak K, Papuč E, Grieb P, Stelmasiak Z. Decreased cerebrospinal fluid hypocretin-1 (orexin A) in patients after repetitive generalized tonic-clonic seizures. *Epilepsia.* 2009 Jun;50(6):1641-4. doi: 10.1111/j.1528-1167.2008.01990.x. Epub 2009 Jan 21. PMID: 19175390.
- Rioli V, Gozzo FC, Heimann AS, Linardi A, Krieger JE, Shida CS, Almeida PC, Hyslop S, Eberlin MN, Ferro ES. Novel natural peptide substrates for endopeptidase 24.15, neurolysin, and angiotensin-converting enzyme. *J Biol Chem.* 2003 Mar 7;278(10):8547-55. doi: 10.1074/jbc.M212030200. Epub 2002 Dec 24. PMID: 12500972.
- Ripley B, Fujiki N, Okura M, et al. Hypocretin Levels in Sporadic and Familial Cases of Canine Narcolepsy. *Neurobiology of Disease* 2001;8:525-534.

- Ripley B, Overeem S, Fujiki N, Nevsimalova S, Uchino M, Yesavage J, Di Monte D, Dohi K, Melberg A, Lammers GJ, Nishida Y, Roelandse FW, Hungs M, Mignot E, Nishino S. CSF hypocretin/orexin levels in narcolepsy and other neurological conditions. *Neurology*. 2001 Dec 26;57(12):2253-8. doi: 10.1212/wnl.57.12.2253. PMID: 11756606.
- Ritter SL, Hall RA. Fine-tuning of GPCR activity by receptor-interacting proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009 Dec;10(12):819-30. doi: 10.1038/nrm2803. PMID: 19935667; PMCID: PMC2825052.
- 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 Jun 11;99(12):8384-8. doi: 10.1073/pnas.122149199. PMID: 12060781; PMCID: PMC123076.
- Robinson R, Taske N, Sander T, Heils A, Whitehouse W, Goutieres F, et al. Linkage analysis between childhood absence epilepsy and genes encoding GABAA and GABAB receptors, voltage-dependent calcium channels, and the ECA1 region on chromosome 8q. *Epilepsy Res*. 2002;48(3):169-79.
- Rodgers RJ, Ishii Y, Haltford JCG, et al. Orexins and Appetite Regulation. *Neuropeptides* 2002;36(5):303-325.
- Ross RA. Allosterism and cannabinoid CB1 receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 2007; 30:156-163.
- Roundtree HM, Simeone TA, Johnson C, Matthews SA, Samson KK, Simeone KA. Orexin Receptor Antagonism Improves Sleep and Reduces Seizures in Kcna1-null Mice. *Sleep*. 2016 Feb 1;39(2):357-68. doi: 10.5665/sleep.5444. PMID: 26446112; PMCID: PMC4712395.
- Russo E, Citraro R, Constanti A, Leo A, Luttjohann A, van Luijckelaar G, et al. Upholding WAG/Rij rats as a model of absence epileptogenesis: Hidden mechanisms and a new theory on seizure development. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016;71:388-408.
- Saario SM, Savinainen JR, Laitinen JT, Järvinen T, Niemi R. Monoglyceride lipase-like enzymatic activity is responsible for hydrolysis of 2-arachidonoylglycerol in rat cerebellar membranes. *Biochem Pharmacol*. 2004 Apr 1;67(7):1381-7. doi: 10.1016/j.bcp.2003.12.003. PMID: 15013854.
- Sabers, A., Møller, A., Scheel-Krüger, J., Mouritzen Dam, A. (1996). No loss in total neuron number in the thalamic reticular nucleus and neocortex in the genetic absence epilepsy rats from Strasbourg. *Epilepsy Res*. 26(1):45-8.
- Sakurai T, Nagata R, Yamanaka A, Kawamura H, Tsujino N, Muraki Y, Kageyama H, Kunita S, Takahashi S, Goto K, Koyama Y, Shioda S, Yanagisawa M. Input of orexin/hypocretin neurons revealed by a genetically encoded tracer in mice. *Neuron*. 2005; 46(2):297–308. [PubMed: 15848807.
- Sakurai T. The role of orexin in motivated behaviours. *Nat Rev Neurosci*. 2014 Nov;15(11):719-31. doi: 10.1038/nrn3837. Epub 2014 Oct 10. PMID: 25301357.
- Sakurai,T., Amemiya,A., Ishii,M., Matsuzaki,I., Chemelli,R.M., Tanaka,H.,et al. (1998). Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92, 573–585. doi:10.1016/S0092-8674(00)80949-6).
- Sampaio LS, Taveira Da Silva R, Lima D, Sampaio CL, Iannotti FA, Mazzarella E, Di Marzo V, Vieyra A, Reis RA, Einicker-Lamas M. The endocannabinoid system in renal cells: regulation of Na(+) transport by CB1 receptors through distinct cell signalling pathways. *Br J Pharmacol*. 2015 Oct;172(19):4615-25. doi: 10.1111/bph.13050. Epub 2015 Aug 19. PMID: 25537261; PMCID: PMC4594267.

- Samson WK, Gosnell B, Chang JK, et al. Cardiovascular Regulatory Actions of the Hypocretins in Brain. *Brain Research* 1999;831:248-253.
- Saper CB, Chou TC, Scammell TE. The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends Neurosci.* 2001 Dec;24(12):726-31. doi: 10.1016/s0166-2236(00)02002-6. PMID: 11718878.
- Sarkisova KY, Kulikov MA. Behavioral characteristics of WAG/Rij rats susceptible and non-susceptible to audiogenic seizures. *Behav Brain Res.* 2006 Jan 6;166(1):9-18. doi: 10.1016/j.bbr.2005.07.024. Epub 2005 Sep 23. PMID: 16183145.
- Sarkisova, K. & van Luijtelaar, G. The WAG/Rij strain: a genetic animal model of absence epilepsy with comorbidity of depression [corrected]. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 35, 854–76, 2011.
- Schlicker, E. & Kathmann, M. Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 22, 565–572, 2001.
- Schmid PC, Reddy PV, Natarajan V, Schmid HH. Metabolism of N-acylethanolamine phospholipids by a mammalian phosphodiesterase of the phospholipase D type. *J Biol Chem.* 1983 Aug 10;258(15):9302-6. PMID: 6308001.
- Schmid PC, Zuzarte-Augustin ML, Schmid HH. Properties of rat liver N- acylethanolamine amidohydrolase. *J Biol Chem.* 1985 Nov 15;260(26):14145-14149
- Schmidt D. Drug treatment of epilepsy: options and limitations. *Epilepsy Behav.* 2009 May;15(1):56-65. doi: 10.1016/j.yebeh.2009.02.030. Epub 2009 Feb 21. PMID: 19236951.
- Schneider JE. Energy Balance and Reproduction. *Physiology & Behavior* 2004;81:289-317.
- Schridde U, van Luijtelaar G. Corticosterone increases spike-wave discharges in a dose- and time-dependent manner in WAG/Rij rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004 Jun;78(2):369-75. doi: 10.1016/j.pbb.2004.04.012. PMID: 15219779.
- Schridde, U. & van Luijtelaar, G. The influence of strain and housing on two types of spike-wave discharges in rats. *Genes. Brain. Behav.* 3, 1–7 (2004).
- Schürks M, Limmroth V, Geissler I, Tessmann G, Savidou I, Engelbergs J, Kurth T, Diener HC, Roskopf D. Association between migraine and the G1246A polymorphism in the hypocretin receptor 2 gene. *Headache.* 2007 Sep;47(8):1195-9. doi: 10.1111/j.1526-4610.2007.00863.x. PMID: 17883525.
- Schwartz MD, Kilduff TS. The Neurobiology of Sleep and Wakefulness. *Psychiatr Clin North Am.* 2015 Dec;38(4):615-44. doi: 10.1016/j.psc.2015.07.002. Epub 2015 Aug 28. PMID: 26600100; PMCID: PMC4660253.
- Scicchitano F, van Rijn CM, van Luijtelaar G. Unilateral and Bilateral Cortical Resection: Effects on Spike-Wave Discharges in a Genetic Absence Epilepsy Model. *PLoS One.* 2015;10(8):e0133594.
- Scicchitano F, van Rijn CM, van Luijtelaar G. Unilateral and Bilateral Cortical Resection: Effects on Spike-Wave Discharges in a Genetic Absence Epilepsy Model. *PLoS One.* 2015;10(8):e0133594.
- Scrima M, Di Marino S, Grimaldi M et al. Binding of the hemopressin peptide to the cannabinoid CB1 receptor: structural insights. *Biochemistry* 2010; 49: 10449–10457.
- Seely KA, Lapoint J, Moran JH, Fattore L. Spice drugs are more than harmless herbal blends: a review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012;39(2):234-243.
- Selbach O, Doreulee N, Bohla C, Eriksson KS, Sergeeva OA, Poelchen W, Brown RE, Haas HL. Orexins/hypocretins cause sharp wave- and theta-related synaptic plasticity in the

- hippocampus via glutamatergic, gabaergic, noradrenergic, and cholinergic signaling. *Neuroscience*. 2004;127(2):519-28. doi: 10.1016/j.neuroscience.2004.05.012. PMID: 15262340.
- Shafaroodi H, Samini M, Moezi L, Homayoun H, Sadeghipour H, Tavakoli S, Hajrasouliha AR, Dehpour AR. The interaction of cannabinoids and opioids on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Neuropharmacology*. 2004 Sep;47(3):390-400. doi: 10.1016/j.neuropharm.2004.04.011. PMID: 15275828.
- Shirasaka T, Miyahara S, Kunitake T, Jin QH, Kato K, Takasaki M, Kannan H. Orexin depolarizes rat hypothalamic paraventricular nucleus neurons. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001 Oct;281(4):R1114-8. doi: 10.1152/ajpregu.2001.281.4.R1114. PMID: 11557617.
- Shiuchi T, Haque MS, Okamoto S, Inoue T, Kageyama H, Lee S, Toda C, Suzuki A, Bachman ES, Kim YB, Sakurai T, Yanagisawa M, Shioda S, Imoto K, Minokoshi Y. Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose utilization in skeletal muscle via sympathetic nervous system. *Cell Metab*. 2009 Dec;10(6):466-80. doi: 10.1016/j.cmet.2009.09.013. PMID: 19945404.
- Smart D, Jerman CJ. The Physiology and Pharmacology of the Orexins. *Pharmacology & Therapeutics* 2002;94:51-61.
- Smart D, Jerman JC, Brough SJ, Rushton SL, Murdock PR, Jewitt F, Elshourbagy NA, Ellis CE, Middlemiss DN, Brown F. Characterization of recombinant human orexin receptor pharmacology in a Chinese hamster ovary cell-line using FLIPR. *Br J Pharmacol*. 1999 Sep;128(1):1-3. doi: 10.1038/sj.bjp.0702780. PMID: 10498827; PMCID: PMC1571615.
- Stanley EM, Fadel JR. Aging-related alterations in orexin/hypocretin modulation of septo-hippocampal amino acid neurotransmission. *Neuroscience*. 2011 Nov 10;195:70-9. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.033. Epub 2011 Aug 22. PMID: 21884758; PMCID: PMC3189344.
- Steininger TL, Kilduff TS, Behan M, et al. Comparison of Hypocretin/Orexin and Melanin-Concentrating Hormone Neurons and Axonal Projections in the Embryonic and Postnatal Rat Brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 2004;27:165-181.
- Stempel AV, Stumpf A, Zhang HY, Ozdogan T, Pannasch U, Theis AK, et al. Cannabinoid type 2 receptors mediate a cell type-specific plasticity in the hippocampus. *Neuron* 2016;90:795–809.
- Steriade, M. *Neuronal substrates of sleep and epilepsy*; Cambridge University Press, 2003.
- Storozhuk MV, Ivanova SY, Piomelli D. Presence of depolarization-induced suppression of inhibition in a fraction of GABAergic synaptic connections in rat neocortical cultures. *Neurosci Behav Physiol*. 2006 Sep;36(7):709-13. doi: 10.1007/s11055-006-0077-x. PMID: 16841150.
- Storozhuk MV. [Retrograde signaling in the GABA- and glutamatergic synapses of the brain]. *Fiziol Zh*. 2006;52(3):103-9. Ukrainian. PMID: 16909764.
- Sugiura T, Kishimoto S, Oka S, Gokoh M. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res*. 2006 Sep;45(5):405-46. doi: 10.1016/j.plipres.2006.03.003. Epub 2006 Apr 19. PMID: 16678907.
- Sugiura T, Kodaka T, Kondo S, Tonegawa T, Nakane S, Kishimoto S, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol, a putative endogenous cannabinoid receptor ligand, induces rapid, transient elevation of intracellular free Ca²⁺ in neuroblastoma x glioma hybrid NG108-15 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Dec 4;229(1):58-64.

- Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995 Oct 4;215(1):89-97. doi: 10.1006/bbrc.1995.2437. PMID: 7575630.
- Şen E. 2019. Genetik Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Görülen Spontan Nöbet Aktivitesi Üzerine Pürinerjik P2x7 Reseptörünün Etkisi ve Bu Etkide Nmda Reseptörlerinin Rolü. Basılmamış Tıpta Uzmanlık Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı. Samsun.
- Taslimi, Z., Haghparsat, A., Hassanpour-Ezatti, M. & Safari, M. S. Chemical stimulation of the lateral hypothalamus induces conditioned place preference in rats: involvement of OX1 and CB1 receptors in the ventral tegmental area. *Behav. Brain Res.* 217, 41–46 (2011).
- Telegdy G, Adamik A. The action of orexin A on passive avoidance learning. Involvement of transmitters. *Regul Pept.* 2002 Mar 15;104(1-3):105-10. doi: 10.1016/s0167-0115(01)00341-x. PMID: 11830284.
- Temkin O. The Falling Sickness. A History of Epilepsy from the Greeks to the Beginnings of Modern Neurology, second ed Johns Hopkins Press, Baltimore 1971. p. 424-5.
- Thompson MD, Xhaard H, Sakurai T, Rainero I, Kukkonen JP. OX1 and OX2 orexin/hypocretin receptor pharmacogenetics. *Front Neurosci.* 2014 May 6;8:57. doi: 10.3389/fnins.2014.00057. PMID: 24834023; PMCID: PMC4018553.
- Thorpe AJ, Doane DF, Sweet DC, Beverly JL, Kotz CM. Orexin A in the rostralateral hypothalamic area induces feeding by modulating GABAergic transmission. *Brain Res.* 2006 Dec 13;1125(1):60-6. doi: 10.1016/j.brainres.2006.09.075. Epub 2006 Nov 7. PMID: 17092492; PMCID: PMC1779580.
- Tiryaki E.S. 2021. Genetik Olarak Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Görülen Diken Dalga Deşarjlarına Hcn Kanallarının Etkisi Ve Bu Etkide Gaba-A Ve T-Tipi Kalsiyum İyon Kanallarının Rolü. Basılmamış Tıpta Uzmanlık Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı. Samsun.
- Toennes SW, Geraths A, Pogoda W, Paulke A, Wunder C, Theunissen EL, Ramaekers JG. Pharmacokinetic properties of the synthetic cannabinoid JWH-018 and of its metabolites in serum after inhalation. *J Pharm Biomed Anal.* 2017;140:215-222.
- Toniolo EF, Maique ET, Ferreira WA Jr, Heimann AS, Ferro ES, Ramos-Ortolaza DL, Miller L, Devi LA, Dale CS. Hemopressin, an inverse agonist of cannabinoid receptors, inhibits neuropathic pain in rats. *Peptides.* 2014 Jun;56:125-31. doi: 10.1016/j.peptides.2014.03.016. Epub 2014 Apr 3. PMID: 24703998; PMCID: PMC4112957.
- Trivedi P, Yu H, MacNeil DJ, Van der Ploeg LH, Guan XM. Distribution of orexin receptor mRNA in the rat brain. *FEBS Lett.* 1998 Oct 30;438(1-2):71-5. doi: 10.1016/s0014-5793(98)01266-6. Erratum in: *FEBS Lett* 1999 Jan 8;442(1):122. PMID: 9821961.
- Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena M, Mackie K, Walker J. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 1998;83:393–411.
- Tsujino N, Sakurai T. Role of orexin in modulating arousal, feeding, and motivation. *Front Behav Neurosci.* 2013 Apr 18;7:28. doi: 10.3389/fnbeh.2013.00028. PMID: 23616752; PMCID: PMC3629303.
- Tung LW, Lu GL, Lee YH, Yu L, Lee HJ, Leishman E, Bradshaw H, Hwang LL, Hung MS, Mackie K, Zimmer A, Chiou LC. Orexins contribute to restraint stress-induced cocaine relapse by endocannabinoid-mediated disinhibition of dopaminergic neurons.

- Nat Commun. 2016 Jul 22;7:12199. doi: 10.1038/ncomms12199. PMID: 27448020; PMCID: PMC4961842.
- Turunen PM, Jäntti MH, Kukkonen JP. OX1 orexin/hypocretin receptor signaling through arachidonic acid and endocannabinoid release. *Mol Pharmacol.* 2012 Aug;82(2):156-67. doi: 10.1124/mol.112.078063. Epub 2012 May 1. PMID: 22550093.
- Turunen, P. M., Jäntti, M. H., and Kukkonen, J. P. (2012). OX1 orexin/hypocretin receptor signaling via arachidonic acid and endocannabinoid release. *Mol. Pharmacol.* 82, 156–167. doi: 10.1124/mol.112.078063.
- Turunen, P.M.; Jäntti, M.H.; Kukkonen, J.P. OX1 orexin/hypocretin receptor signalling through arachidonic acid and endocannabinoid release. *Mol. Pharmacol.* 2012, 82, 156–167.
- Uchiyama N, Kikura-Hanajiri R, Ogata J, Goda Y. Chemical analysis of synthetic cannabinoids as designer drugs in herbal products. *Forensic Sci Int.* 2010;198: 31-38.
- Uramura K, Funahashi H, Muroya S, Shioda S, Takigawa M, Yada T. Orexin-a activates phospholipase C- and protein kinase C-mediated Ca²⁺ signaling in dopamine neurons of the ventral tegmental area. *Neuroreport.* 2001 Jul 3;12(9):1885-9. doi: 10.1097/00001756-200107030-00024. PMID: 11435917.
- van de Bovenkamp-Janssen, M.C., Akhmadeev, A., Kalimullina, L., Nagaeva, D.V., van Luijtelaa, E.L., Roubos, E.W. (2004). Synaptology of the rostral reticular thalamic nucleus of absence epileptic WAG/Rij rats. *Neurosci Res.* 48(1): 21-31.
- van den Pol AN, Gao XB, Obrietan K, Kilduff TS, Belousov AB. Presynaptic and postsynaptic actions and modulation of neuroendocrine neurons by a new hypothalamic peptide, hypocretin/orexin. *J Neurosci.* 1998 Oct 1;18(19):7962-71. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-19-07962.1998. PMID: 9742163; PMCID: PMC6793026.
- van Luijtelaa G, Sitnikova E. Global and focal aspects of absence epilepsy: the contribution of genetic models. *Neurosci Biobehav Rev.* 2006;30(7):983-1003.
- van Luijtelaa, E. L. & Coenen, A. M. Two types of electrocortical paroxysms in an inbred strain of rats. *Neurosci. Lett.* 70, 393–7, 1986.
- van Luijtelaa, G., Zobeiri, M., 2014. Progress and outlooks in a genetic absence epilepsy model (WAG/Rij). *Curr. Med. Chem.* 21, 704–721.
- van Rijn CM, Gaetani S, Santolini I, Badura A, Gabova A, Fu J, Watanabe M, Cuomo V, van Luijtelaa G, Nicoletti F, Ngomba RT. WAG/Rij rats show a reduced expression of CB₁ receptors in thalamic nuclei and respond to the CB₁ receptor agonist, R(+)-WIN55,212-2, with a reduced incidence of spike-wave discharges. *Epilepsia.* 2010 Aug;51(8):1511-21.
- Van Sickel MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, Stella N, Makriyannis A, Piomelli D, Davison JS, Marnett LJ, Di Marzo V, Pittman QJ, Patel KD, Sharkey KA. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB₂ receptors. *Science.* 2005 Oct 14;310(5746):329-32. doi: 10.1126/science.1115740. PMID: 16224028.
- Vandrey R, Dunn KE, Fry JA, Girling ER. A survey study to characterize use of Spice products (synthetic cannabinoids). *Drug Alcohol Depend.* 2012; 120: 238-241.
- Vergnes M, Marescaux C, Micheletti G, Depaulis A, Rumbach L, Warter JM. Enhancement of spike and wave discharges by GABA-mimetic drugs in rats with spontaneous petit-mal-like epilepsy. *Neurosci Lett.* 1984 Jan 27;44(1):91-4. doi: 10.1016/0304-3940(84)90226-x. PMID: 6425742.
- Vergnes M, Marescaux C, Micheletti G, Reis J, Depaulis A, Rumbach L, Warter JM. Spontaneous paroxysmal electroclinical patterns in rat: a model of generalized non-

- convulsive epilepsy. *Neurosci Lett.* 1982 Nov 16;33(1):97-101. doi: 10.1016/0304-3940(82)90136-7. PMID: 6818498
- Vergnes, M., Marescaux, C. (1992). Cortical and thalamic lesions in rats with genetic absence epilepsy. *J Neural Transm.* 35:71-83.
- Vergnes, M., Marescaux, C., Depaulis, A., Micheletti, G. & Warter, J. M. Ontogeny of spontaneous petit mal-like seizures in Wistar rats. *Brain Res.* 395, 85–7 (1986).
- Wallace MJ, Blair RE, Falenski KW, Martin BR, DeLorenzo RJ. The endogenous cannabinoid system regulates seizure frequency and duration in a model of temporal lobe epilepsy. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003 Oct;307(1):129-137.
- Wallace MJ, Martin BR, DeLorenzo RJ. Evidence for a physiological role of endocannabinoids in the modulation of seizure threshold and severity. *Eur J Pharmacol.* 2002;452:295–301.
- Wallace MJ, Wiley JL, Martin BR, DeLorenzo RJ. Assessment of the role of CB1 receptors in cannabinoid anticonvulsant effects. *Eur J Pharmacol.* 2001 Sep 28;428(1):51-7. doi: 10.1016/S0014-2999(01)01243-2. PMID: 11779037.
- Wang, Q.; Peng, Y.; Chen, S.; Gou, X.; Hu, B.; Du, J.; Lu, Y.; Xiong, L. Pretreatment with electroacupuncture induces rapid tolerance to focal cerebral ischemia through regulation of endocannabinoid system. *Stroke* 2009, 40, 2157–2164.
- Ward RJ, Padiani JD, Milligan G. Heteromultimerization of cannabinoid CB(1) receptor and orexin OX(1) receptor generates a unique complex in which both protomers are regulated by orexin A. *J Biol Chem.* 2011 Oct 28;286(43):37414-28. doi: 10.1074/jbc.M111.287649. Epub 2011 Sep 9. PMID: 21908614; PMCID: PMC3199489.
- Wilding JPH. Neuropeptides and Appetite Control. *Diabetic Medicine* 2002;19:619-627.
- Williams G, Bing C, Cai XJ, et al. The Hypothalamus and The Control of Energy Homeostasis Different Circuits, Different Purposes. *Physiology & Behavior* 2001;74:683-701;
- Williams G, Cai XJ, Elliott JC, Harrold JA. Anabolic neuropeptides. *Physiol Behav.* 2004 Apr;81(2):211-22. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.02.005. PMID: 15159168.
- Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Yanagisawa M. To eat or to sleep? Orexin in the regulation of feeding and wakefulness. *Annu Rev Neurosci.* 2001;24:429-58. doi: 10.1146/annurev.neuro.24.1.429. PMID: 11283317.
- Wilson, R. I. & Nicoll, R. A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signaling at hippocampal synapses. *Nature* 410, 588–592 (2001).
- Wyllie, E., 2015. *Wyllie's Treatment of Epilepsy: Principles and Practice*, sixth edition. Wolters Kluwer Health.
- Xapelli, S.; Agasse, F.; Grade, S.; Bernardino, L.; Ribeiro, F.F.; Schitine, C.S.; Heimann, A.S.; Ferro, E.S.; Sebastiao, A.M.; De Melo Reis, R.A.; et al. Modulation of subventricular zone oligodendrogenesis: A role for hemopressin? *Front. Cell. Neurosci.* 2014, 8, 59.
- Xu, T. R., Ward, R. J., Padiani, J. D., and Milligan, G. (2011). The orexin OX1 receptor exists predominantly as a homodimer in the basal state: potential regulation of receptor organization by both agonist and antagonist ligands. *Biochem. J.* 439,171–183. doi: 10.1042/BJ20110230.
- Yamada H, Okumura T, Motomura W, et al. Inhibition of Food Intake by Central Injection of Anti-Orexin Antibody in Fasted Rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2000;267:527-531.

- Yokobori E, Kojima K, Azuma M, Kang KS, Maejima S, Uchiyama M, Matsuda K. Stimulatory effect of intracerebroventricular administration of orexin A on food intake in the zebrafish, *Danio rerio*. *Peptides*. 2011 Jul;32(7):1357-62. doi: 10.1016/j.peptides.2011.05.010. Epub 2011 May 14. PMID: 21616109.
- Yoshida K, McCormack S, Espana RA, Crocker A, Scammell TE. Afferents to the orexin neurons of the rat brain. *J Comp Neurol*. 2006; 494(5):845–861.
- Yoshida T, Hashimoto K, Zimmer A, Maejima T, Araishi K, Kano M. The cannabinoid CB1 receptor mediates retrograde signals for depolarization-induced suppression of inhibition in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci*. 2002 Mar 1;22(5):1690-7. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-05-01690.2002. PMID: 11880498; PMCID: PMC6758890.
- Zhao X, Zhang Rx, Tang S, Ren Yy, Yang Wx, Liu Xm, Tang Jy. Orexin-A-induced ERK1/2 activation reverses impaired spatial learning and memory in pentylenetetrazol-kindled rats via OX1R-mediated hippocampal neurogenesis. *Peptides*. 2014 Apr;54:140-7. doi: 10.1016/j.peptides.2013.11.019. Epub 2013 Dec 7. PMID: 24321199.
- Zheng TW, O'Brien TJ, Morris MJ, Reid CA, Jovanovska V, O'Brien P, et al. Rhythmic neuronal activity in S2 somatosensory and insular cortices contribute to the initiation of absence-related spike-and-wave discharges. *Epilepsia*. 2012;53(11):1948-58.
- Zhou X, Chen Z, Xiao L, Zhong Y, Liu Y, Wu J, Tao H. Intracellular calcium homeostasis and its dysregulation underlying epileptic seizures. *Seizure*. 2022 Dec;103:126-136. doi: 10.1016/j.seizure.2022.11.007. Epub 2022 Nov 11. PMID: 36403388.
- Zhu F, Wang XQ, Chen YN, Yang N, Lang SY, Zuo PP, Zhang JT, Li RS. Changes and overlapping distribution in the expression of CB1/OX1-GPCRs in rat hippocampus by kainic acid-induced status epilepticus. *Brain Res*. 2015 Feb 9;1597:14-27. doi: 10.1016/j.brainres.2014.11.002. Epub 2014 Nov 20. PMID: 25446454.

EKLER

Ek 1: Etik Kurul İzni



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604.01.03-E.25938
Konu : HADYЕК İzin Onayı Hk.

16/11/2018

PROF.DR. ERDAL AĞAR
Proje yürütücüsü

Laboratuvar Hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Prof.Dr.Erdal AĞAR 'ın 2018/44 Kabul nolu "Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçanlarda Oreksinerjik ve Kanabinoid CB1 Reseptör Etkileşimi" başlıklı projesi 09.11.2018 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYЕК 'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.
Gereğini bilgilerinize arz/rica ederim.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Feriат KOLBAKIR
HADYЕК

Ek: FORM18 ETİK Kurul KARAR YAZISI 2018_44

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>

Kep Adresi: omu@hs01.kep.tr

Ali ÖZTÜRK
ali.ozturk@omu.edu.tr
Dahili Tel:2782

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebys.sorgu.omu.edu.tr> adresinden 07E-RK02-0M5B kodu ile yapılabilir.

ÖZ GEÇMİŞ

Fatma Banu AYÇIK, Samsun Cumhuriyet Lisesi’ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümünden 03.06.2012 tarihinde mezun oldu. 2012 yılında OMÜ LEE Fizyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi, 29.01.2016 tarihinde bitirdi, 01.02.2016 ABD doktora programına başladı. Mezuniyetinden bu yana Araştırma Görevlisi olarak görev yapan Fatma Banu AYÇIK, orta derecede İngilizce bilmektedir (YDS:65).

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-4529-6795

Yayınlar:

1. Fatma Banu Şen, Durmuş Uçar, Mustafa Ayyıldız, Erdal Ağar. Pensilinle Oluşturulan DeneySEL Epileptiform Aktivite Üzerine Apelinin Gösterdiği Prokonvulsan Etkide Kanabinoid CB1 Reseptör Antagonisti Am-251 'İN Rolü. 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi (9-13 Eylül 2015)
2. Seval Keloğlu, Burak Yazgan, Fatma Banu Şen, Süleyman Emre Kocacan, Mustafa Ayyıldız, Erdal Ağar. Effect of Nesfatin-1 on Oxidative Stress Parameters in Experimental Epilepsy Model. Acta Physiologica, 2019
3. Fatma Banu Şen, Durmuş Uçar, Mustafa Ayyıldız, Erdal Ağar. Pensilinle Oluşturulan DeneySEL Epileptiform Aktivite Üzerine Apelin-13'ün Gösterdiği Prokonvulsan Etkide Kanabinoid CB1 Reseptörünün Rolü (5-8 Eylül 2016).
4. Seval Müsürlüoğlu, Fatma Banu Şen and Erdal Ağar. The Role of CRH2 Receptor Antagonist Astressin 2B in the Anticonvulsant Effect of Nesfatin-1 on Epileptiform Activity. Acta Physiologica, 2019
5. Fatma Banu AYÇIK, Mustafa AYYILDIZ, Erdal AĞAR .Genetik Absans Epilepsili WAG/Rij Sıçanlarda Oreksin Reseptör Antagonisti SB334867'nin Etkisi. 46. Ulusal Fizyoloji Kongresi (8-10 Ekim 2021).
6. Fatma Banu Ayçık, Büşra Okuyucu, Mustafa Ayyıldız, Erdal Ağar. Genetik Absans Epilepsili Wag/Rij Sıçanlarda Oreksin Reseptör Agonisti Oreksin-A'nın Etkisi. 47. Ulusal Fizyoloji Kongresi (1-4 Kasım 2022).

Kazanılan Ödüller, Teşvikler ve Burslar

1. 41. Ulusal Fizyoloji Kongresi (9-13 Eylül 2015) Poster Sunum 2.lik Ödülü