



Gradu Amaierako Lana
Medikuntza Gradua

Barne kannabinoideen sistema eta TRPV1 hartzaileak: etorkizuneko erronkak Epilepsian

Egilea:

Janire Ibarguengoitia Seco

Zuzendaria:

Juan Luis Mendizabal Zubiaga

© 2017, Janire Ibarguengoitia Seco.

AURKIBIDEA

1. SARRERA	1
1.1. EPILEPSIA	1
1.2. KANNABISA ETA BARNE KANNABINOIDE SISTEMA (BKS)	4
1.3. TRP KALTZIO KANALAK ETA TRPV1 HARTZAILEA	13
1.4. CB ₁ ETA TRPV1 HARTZAILEEN ARTEKO HARREMANA	18
2. HELBURUAK	18
3. MATERIALAK ETA METODOAK	19
4. EMAITZAK	20
4.1. BARNE KANNABINOIDEEN ZEREGINAREN EBIDENTZIA	20
4.2. ESKAKIZUNEN ARABERAKO AKTIBAZIOA	22
4.3. ESTATUS EPILEPTIKO ERREFRAKTARIOARENTZAKO AUKERA	25
4.4. GIZA GARUN EPILEPTIKOAREN AZTERKETA	26
4.5. TRPV1 AKTIBAZIOAREN EFEKTUAK KITZIKAPEN SINAPTIKOAN	29
4.6. TRPV1 KANALAREN ADIERAZPENA LTME GAIXOETAN	31
4.7. TRPV1 ETA IRAUPEN LUZEKO DEPRESIO POSTSINAPTIKOA ...	32
4.8. α -ESPINASTEROLA ETA KONBULTSIO ATALASEAREN IGOERA	33
4.9. KPZren EFEKTUAK IN VITRO ETA IN VIVO	34
4.10. KPZ ETA KONPOSATU KANNABINOIDEEN ELKARREKINTZA	36
4.11. AA-5-HT BLOKEATZAILE BIKOITZAREN EFEKTUAK	38
5. EZTABAIDA	39

6. ONDORIOAK..... 44

7. BIBLIOGRAFIA..... 45

LABURDURAK

Δ^9 -THC: Δ^9 -tetrahidrokannabinola

AA-5-HT: N-arakidonoil serotonina

AEA: N-arakidonoil etanolamida edo Anandamida

AK: Azido Kainikoa

BDNF: Garuneko faktore neurotropikoa

BKS: Barne kannabinoide sistema

Ca⁺²: Kaltzio ioia

CB₁: I motako hartzaile kannabinoidea

CB₂: II motako hartzaile kannabinoidea

CBD: Kannabidiola

DGL: Diazil glizerol lipasa

EE: Estatus Epileptikoa

EEG: Elektroentzefalografia

FAAH: Gantz-azido amida hidrolasa

GABA: Azido γ -aminobutirikoa

IRTX: 5'iodo-resiniferatoxina

KO (Knock-out mouse): Genetikoki manipulaturiko sagua

KPZ: Kapsazepina

KZ: Kapsaizina

LTE: Lobulu Tenporalaren Epilepsia

LTME: Lobulu tenporal Mesialaren Epilepsia

mAChR: Azetilkolina hartzaile muskarinikoa

MGL: Monoglizerido lipasa

mGluR: Glutamato hartzaile metabotropikoa

NHF: Nerbio hazkuntza faktorea

NSZ: Nerbio Sistema Zentrala

PTZ: Pentilenetetrazola

RNAm: RNA mezularia

TRP (Transient receptor potential): Hartzaile iragankor potentzialak

TRPV: Hartzaile iragankor potentzial baniloideak

TRPV1: I motako hartzaile iragankor potentzial baniloidea

WT (wild type): Sagu basatiak

2-AG: 2-arakidonoil glizerola

4-AP: 4-aminopiridina

1. SARRERA

Epilepsia munduko populazioaren %2-3 baino gehiagok pairatzen duen asaldura neurologiko kronikoa da eta garuneko eremu ugaritako neuronetan emandako kitzikakortasunaren handipenak zeregin garrantzitsua betetzen du bere etiologian. Era berean, ezaguna da hipokanpoko neuronetan emandako kaltzio ioiaren metaketa ere laguntzaile handia dela bere garapenean [1]. Hala ere, inplikaturako mekanismo zelular eta molekularrak oraindik ez daude guztiz argi, epilepsiaren etiologiara ikerketa ugari bideratu izan badira ere.

Gaitzaren kontrola eta konbulsioen arriskua murrizteko droga ugari daude eskuragarri, baina epilepsia jatorri ugari dituen gaixotasun konplexua da eta konbulsioen egungo kontrol medikoa ez da guztiz eraginkorra gaixo guztietan; %30-40 bitartean erresistenteak zaizkio ohiko tratamenduari [2]. Horregatik, epilepsia tratatzeko droga berrien aurkikuntza oso desiragarria da.

Epilepsiari aurre egiteko helburu terapeutiko berritzaileak bilatzeko ikerketak martxan dira eta badirudi barne kannabinoide sistema (BKS) droga potentzialetarako eremu berria izan daitekeela. Uste honen arabera, paziente epileptikoen populazioaren zati batek, gaixo helduak bakarrik barne hartuz, kannabisa erabil dezake automedikaziorako. I motako hartzaile kannabinoideekin (CB₁) batera, I motako hartzaile iragankor potentzial baniloidea (TRPV1) ere helburu duten molekulak epilepsiaren maneian etorkizuneko ebaluazio klinikoetarako hautagai bezala agertzen hasi dira. Hori dela eta, lan honetan hipotesi horretan lan egin duten ikerketen berrikuspena egingo da, eginiko esperimentuak eta emaitzak deskribatuz eta aztertuz.

1.1. EPILEPSIA

Epilepsia hitzak jatorri grekoa dauka eta harrapatu edo jabe egitea esan nahi du, krisia pairatzen duen pertsona deabruak hartua edo, behintzat, kontrolez kanpo dagoela adierazteko balio zuena [3]. Gaitza, beraz, antzinatik da ezaguna eta etiologia ezberdinetako asaldura ugari barne hartzen ditu, sindrome genetikoek, infekzioek eta garunaren kalte traumatikoek eragindakoak bezala [4].

Epilepsia kanpo estimulurik gabe krisi epileptiko errepikariak agertzen dituen gaixotasun neurologiko kronikoa da, krisi epileptikoa garuneko neurona talde baten gehiegizko intentsitatea duen eta hipersinkronikoa den bat-bateko deskargaren ondorio klinikoa izanik [5]. Deskargek kontzientziaren ia berehalako galera, pertzepzioaren asaldurak, funtzio psikikoaren aldaketak, konbultsio-mugimenduak, sentsazioen alterazioak edota fenomeno hauen konbinaketa ezberdinak eragiten dituzte [6]; hortaz, gaixotasunaren adierazpen klinikoan aniztasuna nabaria da. Gaixo askok gabezi sensoriomotore, kognitibo, psikologiko, psikiatriko eta sozialak pairatzeaz gain, bizi kalitatearen galera nabaria eta heriotza goiztiarraren arriskua ere izaten dute [4].

Epilepsia asaldura neurologiko ohikoenetakoa da [7], hirugarren sarriena izanik iktusa eta dementzien atzetik [5]: Munduko Osasun Erakundearen (MOE) arabera, paziente epileptikoen zenbatekoa 50 milioikoa da mundu osoan zehar [8].

Gaixotasun hau adin guztietako pertsonen paira dezakete, baina krisiak ohikoagoak dira muturreko adinetan: herrialde garatuetan, adinaren araberako epilepsiaren intzidentzia bimodala da, tasak altuak izanik bizitzaren lehen hamarkadan (batez ere urte batetik beherakoetan) eta 60 urtetik aurrerakoetan. Garapen bidean dauden herrialdeetan banaketa hau ez da hain argia [3].

Fisiopatologiari dagokionez, oraindik ez da guztiz ezagutzen. Egia da azken bi hamarkadetan arreta genetikara zuzendu dela eta, epilepsia ezberdinen azpiko fisiopatologia zehazteko ahaleginetan, ikuspuntu berri eta harrigarriak ematen ari direla, baina gaitzari buruzko oraingo ezagutza lagin patologiko eta kirurgikoen azterketan oinarritzen da. Hala ere, azterketa histopatologikoetako asaldura morfologikoek ez dute azaltzen krisiak nola sortzen edota zabaltzen diren eta, horregatik, animalia eredu ezberdinak garatu dira giza epilepsia simulatu eta ikertzeko [3]; erabilienetakoak Lobulu Temporalaren Epilepsia (LTE) eta Estatus Epileptikoaren (EE) ereduak dira.

Epilepsiaren garapenerako osagai nagusia neuronon kitzikapena eta inhibizioaren arteko desoreka da. Izan ere, aktibitate neuronalaren oreka funtsezkoa da zirkuitu neuronalen funtzioa eta bideragarritasuna mantentzeko [9]: neuronek, neurotransmisore kitzikatzailak eta inhibitzaileak erabiliz, etengabe bidaltzen dute

informazioa elkarren artean eta aktibitate neuronal egokia bi horien arteko oreka estuan datza. Hori dela eta, inhibizioa eta kitzikapenaren arteko oreka asaldatzen bada, transmisio kitzikatzailaren intentsitateak atalase jakina gainditu eta konbultsio epileptikoak gerta daitezke [2].

Glutamatoa neurotransmisore kitzikatzaille nagusia da nerbio sistema zentralean [10] eta gehiegizko transmisio glutamatergikoa epilepsiaren bereizgarria da [11]. Gehiegizko aktibitate patologiko hau konbultsio epileptiformeak eragin ditzakeen gertakari patogeniko erabakitzaila da eta hipokanpoko zirkuitu glutamatergikoak horrerri emanak dira [9], hipokanpoa epileptogenesisian inplikaturik dagoelarik.

Epileptogenesisian (nerbio egitura bat hiperkitzikagarri bihurtzen da, krisi epileptikoak berez eragiteraino) zelula barneko, mintzeko eta zelula kanpoko mekanismo ezberdinek parte hartzen dute, zelulen portaera elektrikoa fluxu ionikoaren menpekoa (nagusiki Na^+ , Ca^{+2} , K^+ eta Cl^-) dela kontuan hartuz. Horrez gain, gliako zelulek ere ziurrenik funtzio garrantzitsua izango dute epilepsiaren garapenean, zelula kanpoko inguruaren modulazioarekin erlazionaturik [3].

LTE, adibidez, neurona-zirkuituen aldaketa bereizgarriekin lotzen da: hipokanpoko CA1 eta CA3 eskualdeetan eta hortz bihurgunean neurona galera zabala eta zuntz goroldiotsuen ernamuntzea gertatzen dira. Populazioaren %1-ak inguru pairatzen duen gaitz neurologiko arrunt honetan, berrantolaketa sinaptiko gogorra ere ematen da: zelula granularren zuntz goroldiotsuak hortz bihurgunearen barne geruza molekularra zabaltzen dira, bertan beste zelula granular batzuekin sinapsi kitzikatzailak sortuz eta, azkenean, zirkuitu kitzikatzaille errekurrentea eratuz. Aldaketa hauek lobulu tenporalean kitzikapen sinaptikoaren eta inhibizioaren arteko oreka galera dakarte, ondorioz konbultsio progresibo eta errekurrenteak agertuz. Gaixo gehienak farmakoerresistenteak bihurtzen dira eta kirurgia beharrezkoa izaten da konbultsioak kontrolatzeko [12].

EE denbora nahikoa irauten duen edo maiztasun nahikoaz errepikatzen den krisia da, krisien artean kontzientzia berreskuratzeko aukerarik gabe [3]. Berehalako tratamendu bizia behar duen asaldura neurologiko larria da eta morbiditate eta heriotza tasa altuekin loturik dago. Maiztasun handienaz identifikatutako forma

tonikokloniko orokortua da eta kalte neuronal esanguratsua eragiten du, bereziki sistema linbikoan [13].

Diagnostikoari dagokionez, ebaluazioa modu sistematiko eta zehaztuan egin behar da aurkezpen klinikoarekin parekatzeko. Horretarako tresnak historia klinikoa eta azterketa fisikoa, elektroentzefalografia (EEG), magnetoentzefalografia eta neuroirudia dira, besteak beste. EEGk epilepsiaren diagnostikorako oinarrizko tresna izaten jarraitzen du eta neuroirudiak gero eta garrantzi handiagoa dauka diagnostikoan eta tratamenduan, batez ere tratatu ezin diren krisiak dituzten eta kirurgiarako hautagaiak diren pazienteetan. Aukerako modalitatea erresonantzia da, sentikorragoa baita nerbio sistema zentralaren egiturazko akatsak detektatzeko [3].

Tratamenduari dagokionez, azken hamarkadan epilepsiarako aukera terapeutikoak izugarri ugartu dira. Hala ere, pazienteen zenbateko esanguratsu batean, farmako antiepileptikoek ez dute eraginik krisietan.

Kasu berezietan, farmako desberdinak erabili izan dira krisien tratamendurako (kortikoideak, esaterako), dieta zetogenoa beste aukera bat izanik, antzinatek ezagutzen baita baraualdiak krisiengan duen efektu onuragarria. Baina epilepsia pairatzen duten pazienteen %20-40 inguruk ez du arintzerik lortuko epe luzera, nahiz eta diagnostikoa zuzena eta aukeratutako farmakoa ere egokia izan, farmakoen konbinazio ezberdinak saiatuta ere. Epilepsia errefraktario hauetan, tratamendu medikoari erantzunik erakusten ez duten pazienteetako batzuk kirurgiarako hautagaiak izaten dira, neuroirudi bidezko azterketa eta EEG bidez erauzi daitekeen lesio epileptogenikoa identifikatzen bada. Neurokirurgia gehien behar izaten duten krisiak lobulu tenporal medialean sortzen diren krisi partzial konplexuak izaten dira, bereziki erabilgarria izanik esklerosi mesial tenporalean [3].

1.2. KANNABISA ETA BARNE KANNABINOIDE SISTEMA (BKS)

Cannabis sativaren osagaiek ibilbide luzea dute gaixotasun neurologiko ugariaren tratamenduan, epilepsia barne. Hain zuzen ere, herri mailan marihuana bezala ezagututako landare hau, sendabelarrik zaharrenetarikoa da: milaka urtetan zehar erabili izan da antzinako kultura askotan helburu terapeutiko ugariarekin eta botere

antiepileptikoa historikoki onartua izan da [8], marihuana eta beste konposatu batzuk antzintatik erabili izan direlarik konbultsioen tratamenduan [13].

1960ko hamarkadan, mendebaldeko herrialdeetan atsegin hartzeko erabilera eta neurrigabekeria hedatzen hastearekin batera, kannabisaren efektu psikoaktibo eta terapeutikoei buruzko azalpen zientifikoa ere agertzen hasi zen. Horrela, azken 50 urteetan bere eratorriak diren osagai kimiko nagusiak isolatu eta sintetizatu dira, kannabinoide interesgarrienak bi izanik: Δ^9 -tetrahidrokannabinola (Δ^9 -THC), 1964. urtean kannabisaren osagai bioaktibo eta psikoaktiboena bezala identifikatua, eta marihuanaren osagai nagusia den kannabidiola (CBD), egitura kannabinoide ez psikoaktiboa [4]. Konposatu hauen identifikazio kimikoak fitokannabinoideak deritzen produktu natural kimiko hauen efektu farmakologiko zabalak deskribatzeko esperimentu medikoetarako hipotesi aukera agerrarazi zuen [8] eta 1990ean Δ^9 -THCren barne hartzaileak klonatu ziren, kannabinoideen ekintza farmakologiko nagusirako barne sistema aurkituz, hain zuzen ere, BKS [4].

Baina kannabisaren edo bere osagaien erabilera medikoa eta atsegin hartzeko kontsumoa legez kontrakoak izan dira duela gutxira arte edo oraindik debekatuta mantentzen dira herrialde gehienetan. Hori dela eta, zenbait epilepsia forma espezifikoren tratamenduan kannabis prestakin ezberdinen eraginkortasuna eta segurtasuna frogatzeko saio kliniko egokiak (itsu bikoitzak, ausazkoak eta plazebo bidezko kontrolarekin) ez dira baimenduta egon. Gainera, lege-gatazkak eta gatazka etikoak direla eta, ikerketa epidemiologikoak ere ia ezinezkoak izan dira [8]. Ondorioz, kannabisaren erabilera eta epilepsiaren arteko harremana aztertzen duten inkestak, anekdota klinikoak edota kasu bakanen ikerketa batzuk baino ez daude eskuragarri, atzera begirako ikerketekin batera [4, 14]. Beraz, gizakietan hartzaile kannabinoideen agonistek dituzten efektuetako gehienek ezagutza marihuana kontsumitzen zuten pertsonen behaketa klinikotik eta anekdota kasuetatik datoz [15].

Kasu bakanen ikerketek muga nabariak dituzte (aldakortasun handia baitago sindrome epileptiko eta erabilitako kannabis dosia eta konposizioari dagokionez), baina informazio baliagarria eman dute kannabisak konbultsioen kontrolean dituen onura handiei buruz, baita kannabisa edo kannabimimetikoak epilepsian erabiltzearen aholkuari buruz ere. Adibidez, 1949an, Davis eta Ramsey-ek kannabis

substantzia aktibo bezala THC homologoak eman zizkieten epilepsia tratagaitza zuten 5 umeri: bik oso ondo erantzun zuten bitartean, beste hirurek ez zuten hobekuntzarik aurkeztu, are gehiago, batek txarrera ere egin zuen [4, 8]. Baina, agian, marihuana medikoaren indar antiepileptikoaren adibiderik harrigarrietako bat ezaguna egin den Coloradoko Charlotte Figi neskatilaren kasua da, Dravet sindromea pairatzen duena, hots, boltai menpeko Na^+ kanalen azpiunitatea kodifikatzen duen SCN1A genearen mutazioak eragindako epilepsia larria, normalean tratagaitza. 5 urte zituenerako, ohiko antiepileptiko guztiekin eta dieta zetogenikoarekin ere saiatu arren, izandako porrotaren ostean bere gurasoek bere konbultsioak kontrola ditzakete kannabis mota espezifiko batetatik egindako CBD eduki altua eta THC eduki baxua duen kannabis olioaren bidez. Lehen, astean 300 *grand mal* konbultsio pairatzen zituen; orain, aldiz, hilean bi edo hiru baino ez eta maiztasun hori azken hiru urteetan mantentzea lortu dute [8, 16].

Baina marihuana medikoari oso ondo erantzuten dioten gaixoak badaude ere (itxurazko eragin desiragaitzik gabe), kannabisari ondo erantzuten ez dion pazienteen zenbateko esanguratsua dago, baita marihuana medikoak pazienteen baldintzak oker ditzakeenak ere. Hau da, kannabisa eta purifikatutako kannabinoideetan oinarritutako botikak agian onuragarriak izan daitezke zenbait pazientetan, baina beste populazio zabalago batean eraginkorrak izan ez eta, gainera, kasu batzuetan, konbultsio epileptikoak ere larriagotu ditzakete. Kannabinoideek aktibitate biak (konbultsio eragilea eta konbultsio aurkakoa) gauzatu ditzaketela ikusi da, alegia [2]. Badirudi erantzuteko era ezberdin honen atzetik aldakortasun kimikoa, biologikoa eta patologikoa daudela [8].

Neurozientzia ikerketen xedea garun funtzioaren mekanismo intrintseko neurobiologikoei buruzko ezagutza lortzea da eta prozesu horiek dira, hain zuzen ere, kannabis prestakinek giza epilepsian dituzten efektuen konplexutasunaren oinarria. Hori ulertzeko, beraz, barne kannabinoide sistemara jo behar dugu. Izan ere, kannabinoideen konbultsio aurkako efektua CB_1 hartzaile kannabinoidearen aktibazioaren bidezkoa da, ugaztunen garunean mintzean zeharreko G proteina bikoitz erako hartzailerik ugariena eta marihuanaren ekintza eremu primarioa dena, barne kannabinoide sistemaren osagai garrantzitsua izanik [7, 11]. Horrela,

kannabisaren efektu psikotropiko, kognitibo eta portaerako gehienak Δ^9 -THCk garuneko CB₁ hartzaileetan dituen efektuen ondorioz gertatzen dira [4], hau da, kannabinoideek Nerbio Sistema Zentralean (NSZ) dituzten efektu gehien arduradunak CB₁ hartzaileak dira [14].

BKS hartzaile kannabinoideek, bere barne estekatzaileek (endokannabinoideak edo barne kannabinoideak) eta ehunetako endokannabinoide mailak erregulatzen dituzten garraiatzaile eta entzima metabolikoek osatzen dute [13, 14, 17, 18] eta garuneko neuromodulazio sistema garrantzitsua da [9, 19].

Bere osagaiei dagokienez, bi hartzaile metabotropiko eta azido arakidonikoaren gantz-azido eratorriak diren bi barne estekatzaile nagusi ezagutzen dira [14, 20]. Lehenengo hartzaile kannabinoidea, edo CB₁ hartzailea, nerbio sisteman adierazten da nagusiki; bigarren hartzaile kannabinoidea (CB₂ hartzailea), ordea, zelula immuneetan adierazten da, batez ere. Bi hartzaile hauen barne estekatzaile gisa bi molekula lipidiko daude, hain zuzen ere, N-arakidonoil etanolamida edo anandamida (AEA) eta 2-arakidonoil glizerola (2-AG). Barne kannabinoide biak mintz postsinaptikoko aitzindari fosfolipidikoetatik sintetizatu eta askatzen dira zelula barneko kaltzio mailaren handipenak eragindako mintz postsinaptikoaren despolarizazioaren aurreko eskakizunei erantzunez; aktibitate menpeko eran, alegia [11, 13]. Izan ere, AEA eikosanoidea D-fosfolipasaren bidez sintetizatzen da, despolarizazio eta kaltzio-menpeko eran, eta 2-AG diazil glizerola lipasaren (DGL) bidez [4]. Behin askatuta, beraien ekintza-iraupena mugatua izaten da, birxurgapena eta degradazio entzimatiakoaren ondorioz [20]. Bestalde, gantz-azido amida hidrolasak (FAAH) eta monoglizerido lipasak (MGL) hidrolizatzen dituzte AEA eta 2-AG, hurrenez hurren [2]. Horrela, bai hartzaileak bai barne kannabinoide mailak erregulatzen dituzten entzima metabolikoak asaldura neurologikoentzako ituterapeutiko interesgarriak dira.

Seinalizazio molekula lipidikoek, beraien metabolismoan inplikaturako entzima ezberdinek eta hartzaile kannabinoideek osatzen duten sistema honek garunean betetzen duen lan fisiologiko nagusia atzeranzko komunikazio sinaptikoaren bitartekaritza da [21]. Hortaz, neurofisiologia zelularrari dagokionez, BKS ugaztunen

NSZean ematen den atzeranzko seinalizazioaren adibidea da, atzeranzko seinalizazioa garunean erregulazio sinaptikoaren mekanismoa izanik [10].

Normalean, sinapsi kimiko batean, elementu presinaptikotik neurotransmisorea askatu eta hau gune sinaptikotik zabaltzen da, hartzaileei lotu eta hauek aktibatuz. Transmisio sinaptikoaren erregulazioan ematen den atzeranzko seinalizazioan, ordea, sinapsiak jasotzen dituen elementu postsinaptikotik mezulari kimikoa askatu eta hau atzerantza barreiatzen da gune sinaptikoan zehar, non sinapsiak sortzen dituen zelula presinaptikoaren hartzaileak aktibatzen dituen [10]. Barne kannabinoideak mota honetako mezulariak dira; izan ere, osotasunean gehien aztertu diren garuneko atzeranzko mezularien artean daude. Azken hamar urteetan, atzeranzko seinalizazioaren molekulen adibide nagusia bihurtu dira, alegia [22].

Bestalde, garuneko funtzionamendu normalak aktibitate neuronal handia eskatzen badu ere, gehiegizko aktibitate kitzikatzaila arriskutsua da, azkenean neuronen heriotza dakarten bide molekularrak pizten baititu, exzitotoxizitatea deritzon prozesuaren bidez [9]. Exzitotoxizitateak NSZeko gaixotasun neurologiko endekatzaila eta asaldura ugariren aurrera egitean parte hartzen duela uste da, baita epilepsia forma ugaritan ere: konbultsioetan gertatzen den gehiegizko aktibitate neuronalak ere bide exzitotoxikoak pizten ditu, epe luzera neuronen endekapenera eramanez [2]. Horregatik, garunak beharrezkoa du babesa arrisku honen aurrean eta badirudi BKSk jagole bezala diharduela, barne seinalizazio kannabinoideak garunean zeharreko neurotransmisio sinaptikoaren erregulatzailerik bezala duen zereginagatik.

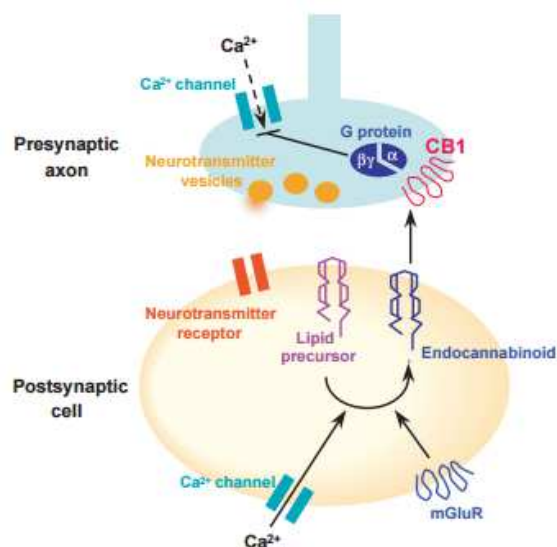
Hain zuzen ere, sistema neuronalek beraiek ere gehiegizko aktibitatearen arriskuaren aurreko babesa behar dutenez, pentsatzekoa da seinalizazio sistema babesleak existitzen direla, gehiegizko aktibitate anormalaren aurrean eskaeren arabera babesaz hornitzen dutenak. Mende honen hasierarako jada, neuronak deskarga-aktibitate anormalaren ondorioetatik babesteko seinalizazio sistemak proposatu izan dira eta, horien artean, BKS dago [19].

Nerbio sisteman CB_1 hartzaileak era zabalean banaturik daude eta, batez ere, bukaera presinaptiko GABAergiko kortikaletan eta hipokanpikoetan adierazten dira: kortex

eremuetan, CB₁ hartzaileak azido γ -aminobutirikoa (GABA) duten interneuronen azpipopulazio espezifikoean adierazten dira nagusiki, non GABA transmisioaren barne kannabinoide menpeko erregulazio fisiologikoa eta GABA askapenean kanpo kannabinoideen bidezko efektu farmakologikoak gauzaten dituzten [9]. Baina badirudi CB₁ hartzaileak hipokanpoaren neurona nagusietan [19] eta astrozitoetan [23] ere adierazten direla, nahiz eta kortex eta azpikortexeko axoi bukaera glutamatergikoetan CB₁ hartzaileen adierazpena txikiagoa izan [4]. Beraz, hipokanpoan CB₁ hartzaile presinaptikoak bukaerako axoi glutamatergiko eta GABAergikoetan kokatzen dira [21]. Horrela, CB₁ hartzaileak oso desberdinak diren bi azpipopulazio neuronaletan ageriz (neurona GABAergiko inhibitzaileetan eta neurona glutamatergiko kitzikatzailuetan), transmisio glutamatergikoa ez ezik, CB₁ aktibazioak funtzio GABAergikoa ere murrizten du hipokanpoan [11].

Izan ere, CB₁ hartzaile kannabinoideak neurotransmisoreen askapenaren erregulatzaile garrantzitsuak dira [8] eta CB₁ aktibazioak beti murrizten du neurotransmisoreen askapena [18]: barne kannabinoideak neurona postsinaptikotik askatzen dira eta CB₁ hartzaile presinaptikoak lotzen dituzte, zeintzuek bukaera axoi mota ezberdinetako neurotransmisoreen askapena indargabetzen duten. CB₁ hartzaileen aktibazioaren ondorioz neuronan kitzikagarritasuna murrizten da: CB₁ aktibatutakoan, neuronetan gertatzen diren efektu intrazelularrak adenilil ziklasaren inhibizioa (zelula barneko cAMP mailak jaitsiz), A motako K⁺ kanalen estimulazioa (K⁺ irteera handituz) eta boltai-menpeko Ca⁺² kanalen inhibizioa (Ca⁺² sarrera txikituz) dira. Beraz, besteak beste, K⁺ iragazkortasuna handitzen du [7] eta areagotze honek neurona kitzikapena ezabatu eta mintz potentziala egonkortzen ditu, deskarga epileptiformeen murrizketan lagungarria litzatekeena [11].

Horrela, eskakizunen araberako endokannabinoideen atzeranzko seinalizazioa mekanismo fisiologiko garrantzitsua litzateke gehiegizko aktibitate presinaptikoaren kontrolerako, neuronan kitzikakortasunaren oreka galtzen den egoeretan [21]. Izan ere, aurkitu berri den zelula arteko seinalizazio sistema honi esker, zelula postsinaptikoak jasotzen dituen aferentzia sinaptikoen indarra kontrola dezake [20]. Atzeraelkadura negatiboko seinalizazio bide honek funtzio erregulatzaile orokorra betetzen du zirkuitu neuronalen kitzikapen atalasea ezartzen, alegia [8].

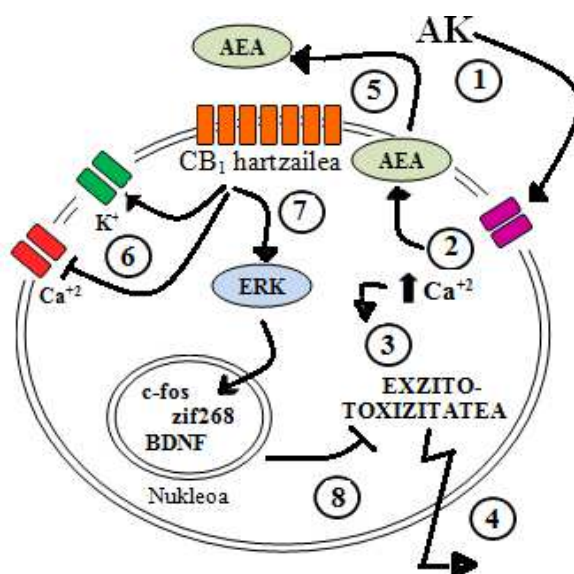


1. irudia. Endokannabinoideen atzeranzko seinalizazioa. Despolarizazio postsinaptikoak boltai menpeko Ca²⁺ kanalak irekitzen ditu eta Ca²⁺ postsinaptikoak aitzindari lipidikoetatik endokannabinoideak sintetizatzen dituzten entzimak aktibatzen ditu. Glutamato hartzaileen (mGluR) aktibazioak ere endokannabinoideen ekoizpena eragin dezake, C fosfolipasa aktibatuz eta diazilglicerola ekoiztuz, DGL bidez 2-AG emango duena. Endokannabinoideak zelula postsinaptikotik irten eta CB1 hartzaile kannabinoide presinaptikoak aktibatzen dituzte. G proteinaren aktibazioak Ca²⁺ sarrera presinaptikoa inhibitzen du. Horrela, neurotransmisoreen askapena murrizten da [24]. *Hurrengo artikulutik hartua: Wilson eta Nicoll, 2002.*

Azken hiru hamarkadetan, ikerketa ugari bideratu dira kanpo kannabinoideen erabilerara konbultsioen animalia ereduetan eta, giza-ikerketetan lortutako emaitzen antzera, kannabinoideek efektu biak (konbultsio eragilea eta konbultsio aurkakoa) eragin izan dituzte, erabilitako ereduaren arabera. Horrez gain, ikerketa ugari zuzendu dira sistema endokannabinoideak kitzikapen neuronalaren kontrolean eta konbultsioen atalasean duen zereginera *in vivo*. Horrela, ikerketa hauek ere lagungarriak izan dira, orotara BKSren ulermenean gertatu berriko aurrerapenek kannabinoideen aurkako bi efektu hauei buruzko ezagutza berria ahalbidetu baitute [2]. Horrenbestez, BKSren eginkizunari dagokionez, funtsezkoa izan da animalia ereduetatik lortutako ezagutza eta ereduaren artean LTE pilokarpina eredu (azetilkolinarekin hartzaile muskarinikoen agonistaren injekzio intraperitonealarekin EE eragiten da saguetan) eta konbultsio epileptiforme exzitotoxikoen azido kainikoaren eredu (azido kainikoa era sistematikoan administratzen da, bide

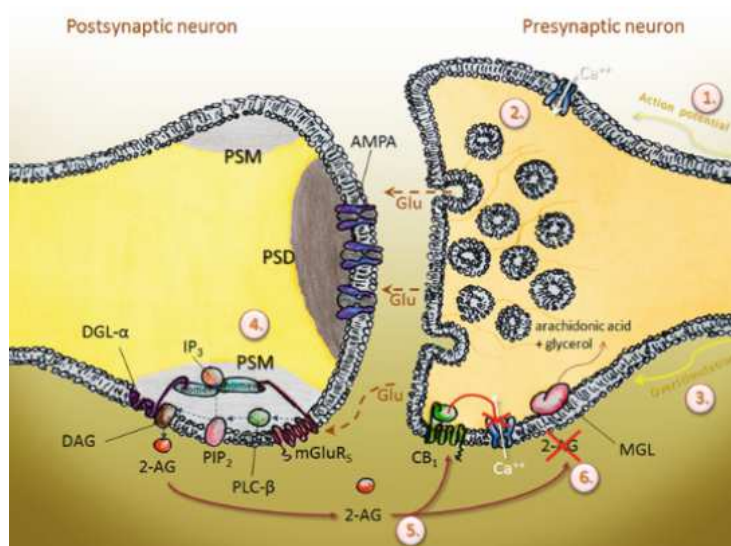
kitzikatzaileen aktibazio gogorra eta, ondorioz, konbultsio akutuak eragiteko) izan dira erabilienetakoak.

Exzitotoxizitatea eta konbultsioen aurrean CB₁ hartzaile menpeko babes azaltzeko, azido kainikoak (AK) eragindako konbultsio epileptiformeen eredua erabili daiteke adibide gisa (2. irudia). Eredu honetan, hipokanpoa garuneko eremurik zaugarriena da AK-k eragindako efektuen aurrean [19].



2. irudia. Lutzek (2004) azaldutako CB₁ hartzaile menpeko babes azaltzeko eredua. Azido kainikoak eragindako konbultsio epileptiformeen ereduan, azido kainikoak AK hartzailak aktibatzen ditu (1), zelula barneko Ca²⁺ kontzentrazioa handituz (2), exzitotoxizitate gertakariak eragingo dituenak (3). Despolarizazio neuronal indartsuak elkarren artean konektatutako neuronak aktibatuko ditu eta konbultsioen hedapena gerta daiteke (4). Bide intrazelularrak ere piztuko dira, neuronon kaltea eta heriotza ere eraginez. Baina babes mekanismo bezala, Ca²⁺ igoerak eskakizunen araberako anandamida (AEA) sintesia bultzatzen du (5), aurreko garuneko neurona nagusietako CB₁ hartzaileak aktibatzen askatuko dena. CB₁ hartzaileen aktibazioak Ca²⁺ kanalen inhibizioa eta K⁺ kanalen aktibazioa eragiten du, kitzikakortasun neuronala murrizteko (6). CB₁ hartzaileak zelula kanpoko seinaleak erregulatutako kinasa bidea ere aktibatzen du (ERK) (7), c-fos eta zif268 transkripzio faktoreak kodifikatzen dituzten geneen berehalako transkripzioa eragiten duena, baita neurotropina eratorria den faktore neurotropikoarena (BDNF) ere. Produktu geniko hauek exzitotoxizitateak eragindako kaltea indargabetzeko gai dira (8). *Hurrengo artikulutik hartua eta eraldatua: Lutz, 2004.*

Beraz, badirudi barne kannabinoideen sintesia eskakizunen arabera izaten dela, neuronak estimulatzeko direnean: gehiegizko aktibitate neuronala gertatzen denean, endokannabinoideak beharren arabera ekoizten dira eta CB_1 hartzailak aktibatzen dituzte. Baina glutamato hartzailen metabotropikoen ($mGluR$) eta azetilkolina hartzailen muskarinikoen ($mAChR$) aktibazioak ere barne kannabinoideen sintesiaren handipena eragin dezake [4, 14], hau da, G proteinen aktibazioaren menpeko sintesi eta askapen bidea ere badago, kaltzioak eragindako mekanismotik aparteko eran [20]. Horrela, barne kannabinoide mobilizazioa prozesu postsinaptiko (Ca^{+2} menpeko eran) edo prozesu presinaptikoaren (G proteina menpeko eran) bidez gerta daiteke, baita bien konbinazioaren bidez ere [18], 3. irudian ikus daitezkeen bezala.



3. irudia. Endokannabinoideen sintesi bide ezberdinak. Barne kannabinoideak Ca^{+2} menpeko eran edo G proteinen aktibazioaren bidez ekoiz daitezke. *Hurrengo artikulutik hartua: Katona, 2015.*

Hipokanpoa, CB_1 hartzailen adierazpen handia duen gunea, epileptogenesia eta konbultsio-asalduretan inplikaturako garunaren eremu garrantzitsua da [11, 13] eta, bertan, AEA kontzentrazio altuak aurki daitezke. Horregatik, BKSsk NSZeko asalduretan babes-zeregina duela susmatzen da, bereziki neuronan hiperkitzikakortasunarekin eta neurotransmisore exzitotoxikoen askapenarekin erlazioatutako asalduretan.

Laburbilduz, CB₁ hartzaileen aktibazioaren bidez, BKSk eta barne kannabinoide seinalizazioak funtzio garrantzitsuak betetzen dituzte NSZean [4], besteak beste, neurotransmisoreen askapenaren atzeranzko inhibizioa [10], neurona kitzikapenaren kontrola [19] eta iraupen luzeko plastizitate sinaptikoaren forma ugari, iraupen luzeko indartze eta depresioa bezala [9].

Horrela, kanpo kannabinoideak (edo exogenoak) arreta berritua jasotzen ari dira marihuana medikoaren testuinguruan, konbultsio aurkako propietateak direla eta. Interes handia dago Δ^9 -THC edota kannabis landaretik eratorritako beste fitokannabinoide batzuek, barne kannabinoide seinalizazioan ekinez, eragile antiepileptiko bezala izan dezaketen boterean, alegia. Baina antiepileptiko bezala izan dezaketen indarra marihuana medikoak eskain ditzakeen erabilera terapeutiko guztietako bat baino ez da: kannabis landarearen ostoa errez, eragin antiemetikoak, muskulu erlaxatzaileak eta analgesiko indartsuak ere lor daitezke, besteak beste [14].

Hala ere, kannabinoideen iraupen luzeko erabileraren ardura klinikoa dago. Izan ere, kannabinoideak eta bere analogoak eragile terapeutikoak bihurtzen badira eta, bereziki, asaldura kronikoak tratatzeko erabilgarriak badira (epilepsia bezala), metaketa-toxizitatea gertatzeko arriskua kontuan hartu beharrekoa da [15], kannabinoideen albo-ondorio psikoaktiboak ere kontsideratuz, besteak beste. Honekin erlazonaturik, Δ^9 -THC edo CB₁ agonista sintetikoen iraupen luzeko tratamenduak CB₁ hartzaileen dosi menpeko eta eremu espezifiko den desentsibilizazioa, azpiadierazpena eta barneraketa eragiten dituela adierazi izan da, tolerantzia eta antzeko arazoak ekar ditzakeena [4]. CBDk, ordea, ez omen du intoxikaziorik edota tolerantziarik eragiten, izan ere, Δ^9 -THCk ez bezala, oso afinitate txikia du hartzaile kannabinoideekiko. Horrela, CBD erabiliz BKSren albo ondorioak ekiditen dira eta konbultsioak tratatzeko ondo toleratutako aukera terapeutiko itxaropentsua bihurtu ahalko litzateke [4].

1.3. TRP KALTZIO KANALAK ETA TRPV1 HARTZAILEA

Kaltzio ioia bigarren mezulari garrantzitsua da eta seinale transdukzio bide ugaritan parte hartzen du, neuronen kitzikapena barne. Neurona osasuntsuetan, Ca⁺² kanalek seinalizazio prozesu homeostatikoak erregulatu eta aktibatzen dituzte, ezaguna izanik

boltai menpeko Ca^{+2} kanal neuronaletan zehar emandako Ca^{+2} sarrerak aktibitate menpeko prozesu ezberdinak erregulatzen dituela, hala nola, neurotransmisoreen askapena, gene transkripzioa eta zitosoleko seinalizazio prozesuak. Baina kaltzioaren kontzentrazio zitosoikoak neuronan funtzio ugari kaltetu ditzake (hala nola, ekintza potentziala, transmisio sinaptikoa, plastizitatea eta zelula biziraupena) eta kaltzio kanalek zeregin handia dute horretan, zitosoleko Ca^{+2} kontzentrazioa erregulatzen baitute zelula guztietan, baita neuronetan ere. Nerbio sisteman, neuronak, sinapsiak eta zirkuituak oso sentikorak dira eta kaltzio kanalen aktibitatean gertaturiko aldaketa txikiek sinapsietan aldaketa garrantzitsuak sor ditzakete. Hortaz, akats genetikoak eta estres oxidatzailearekin batera, kaltzioa epilepsiaren etiologian zeregina duen ustezko faktorea da eta kaltzio kanal mota ezberdinek ere eginkizun garrantzitsuak dute [1].

Azken horiei dagokienez, boltai menpeko kaltzio kanalak eta kanal kimikoak ez ezik, hartzaille iragankor potentzialen (ingelesez *transient receptor potential*, TRP) kaltzio kanal familia ere badago, neurri batean konbulsio epileptikoen eta min periferikoaren ustezko arduradunak direnak.

TRP familia katioi sarrera eta zelula barneko seinalizazio prozesu ezberdinak erregulatzen dituzten kaltzio kanal mota ezberdinen talde zabala da: 28 TRP kanal daude ugaztunetan [25], egitura homologian oinarriturik zazpi azpifamilia edo taldetan sailkatzen direnak, aktibazio eta inhibizio mekanismoak oso ezberdinak izanik bakoitzean, baita adierazpena ere [1]. Baina kide guztiek oinarritzko egitura berbera dute, mintzean zeharreko sei domeinuz osatutakoa, bosgarren eta seigarren domeinuen artean kokatzen den poro hidrofoboarekin: TRP kanal gehienetan, kaltzioak mintz zelularra poro horietatik zeharkatzen du era ez selektiboan [1, 25]. Mintz plasmatikoa kokaturik, integratzaile polimodalak dira eta estimulu ezberdinen bidez aktiba daitezke [25, 26].

TRP kanalen azpifamilia bat talde baniloidea da (TRPV). Talde honetan, aztertuen I motako hartzaille iragankor potentzial baniloidea edo TRPV1 kaltzio kanala da, nozizepzioan duen lana dela eta: 1997an klonatua, TRPV1 kanala transmisio sensorialean eta nozizepzioan duen eginkizunagatik ezagutzen da gehienbat eta ondo deskribatua izan da min periferikoaren bidean. Kaltzioaren modulazioan parte

hartzen duen katioi-kanal hau gongoil dortsaletan aztertu zen lehen aldiz, kapsaizinen hartzaile bezala, baina orain NSZean banaketa zabala eta funtzio ezberdinak dituela onartu da [25].

TRPV1 hartzailea sustrai dortsaleko gongoilen neurona sensorial periferikoetan adierazten da nagusiki (bereziki $A\delta$ eta C zuntz nozizeptiboetan) eta, bertan, hiperalgesia termiko inflamatorioa eta min neuropatikoak bezalako baldintzetan inplikaturik dago [27]. Baina TRPV1 hartzaileen banaketa ez dago nerbio sistema periferikora mugatuta [27] eta karraskarien garuneko zenbait egituretan ere aurkitu dira, adierazpena zabala izanik. Beste kokapen batzuen artean, TRPV1 hipokanpoan eta hortz bihurgunean adierazten da [28, 29], epileptogenesian erabakigarriak diren zirkuitu kitzikatzaile errekorrenteak aktibatzeari emanak diren garuneko eremuetan, alegia [26, 30]. Maila azpizelularrean, TRPV1 adierazpena gorputz zelularretan eta sinapsietan, bai kitzikatzaileetan [28] baita inhibitzaileetan ere [29] aurkitu da, batez ere neuronen luzapen dendritiko postsinaptikoetan eta sinapsi-besikuletan ere [25].

TRPV1 kanala aurkitu eta gero, bere zeregina ezagutu zen prozesu zelular ezberdinetan, eta badirudi multi-detektagailu bezala jarduten duela estimulu fisiko eta kimiko mingarrien aurka [22]. Horrela, kapsaizinen (chilli piper gorri minen osagaia) hartzaile bezala aurkitu bazen ere, boltai-aldaketak, ingurune-tenperatura altuak ($\geq 42^\circ\text{C}$), protoiak (pH baxua), hantura produktuak, estres oxidatzailea eta lipooxigenasaren produktuen bidez ere aktiba daiteke [25, 26, 31]. Resiniferatoxina landare toxina ere TRPV1 kanalaren agonista potentea da kontzentrazio baxuetan; izan ere, agonista indartsuenetakoa da, kapsaizinak baino 3-4 aldiz potentzia handiagoa erakusten baitu. Bere forma iodatua (5'iodo-resiniferatoxina, IRTX), ordea, antagonista indartsua da, TRPV1 kanalaren bi blokeatzaile nagusietako bat izanik; bestea kapsazepina (KPZ) da, aurkitu zen lehena, eta ikerketa farmakologikoetan erabili izan da [1, 25].

Baina barne kannabinoideek ere aktiba dezakete TRPV1 kanala [31]: lehenago aipatu den anandamida CB_1 hartzailearen barne agonista da, baina bere kontzentrazio altuarekin TRPV1 kanalak ere aktibatzen dira. Anandamidaren dosi baxu eta altuek portaera erduetan eragindako efektuak CB_1 eta TRPV1 hartzaileen aktibazioarekin korrelazioan daude, hurrenez hurren. Δ^9 -THC kanpo kannabinoideak ere, hartzaile

kannabinoideak lotzeaz gain, TRP kanalak aktibatu edo desentsibiliza ditzake aldi baterako, TRPV1 kanala bezala [4].

Garuneko TRPV1 hartzaileen estekatzaile bidezko aktibazioaren sentikortasuna zelula barneko gertakari eta seinalizazio bide ezberdinen bidez modula daiteke. Fosforilazioa, adibidez, garrantzitsua da kanalaren modulaziorako (kanala barne konpartimentuetatik mintzera translokatzeko, esaterako), kanpo estimuluei edo inguruneko aldaketei erantzun azkarra ahalbidetuz. Izan ere, mintz-plasmatikoan ez ezik, TRPV1 erretikulu endoplasmaticoan ere aurki daiteke eta bertan kaltzioa zelula barneko gordailuetatik mugiarazten du [25].

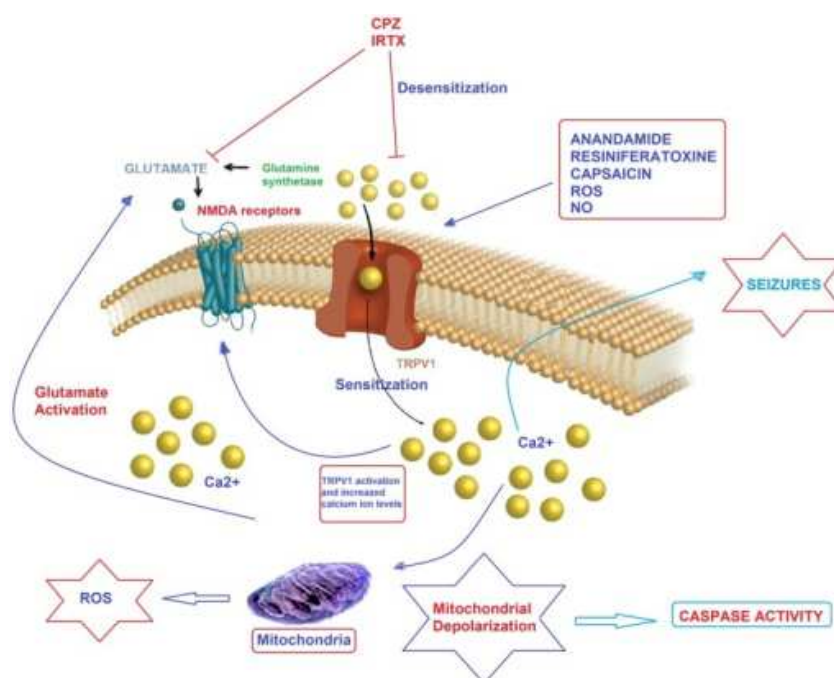
Horrela, seinalizazio bide ugari integratuz, TRPV1 kanalak zelula barneko Ca^{+2} mailak modula ditzake zelularen erantzuna pizteko estresa eta kaltearen aurrean [25]. Izan ere, ioi kanal ez selektiboa izan arren (iragazkorra da katioi ugarirentzako, hala nola, Ca^{+2} , Na^{+} eta Mg^{+2}), kaltzioarekiko zaletasuna 10 aldiz handiagoa da [25]. Kaltzio iragazkortasun handia duen kanal ez selektiboa da, alegia.

Horrez gain, TRPV1 kanala glia eta neuronen funtzioan ere inplikaturik dago eta, horien aktibitatearen modulazioaren bidez, NSZren bitartekaritza lanetan gakoa bezala agertzen ari da, bere garrantzia handituz doalarik [25].

Beraz, badirudi TRPV1 hartzaileek nerbio sisteman zehar funtzio ugarian parte hartzen dutela: mina eta hantura, glia-funtzioa, funtzio neuronala, plastizitate sinaptikoa eta endekapen neuronala (Ca^{+2} menpeko apoptosia eragin baitezake) [25]. Horrez gain, TRPV1 hartzaileak menpekotasun portaera (drogazaletasuna), antsietatea, gogo aldararen asaldurak (depresioa), adimena eta emozioen neurobiologian ere inplikaturik egon daitezke [27].

Ikerketa esperimentalek epileptogenesisian ere TRPV1 hartzailearen parte hartzea erakutsi dute eta gero eta ikerlan gehiagok adierazten dute bere inplikazioa epilepsiaren etiopatogenesisian [27]. Izan ere, kontutan izanik glutamato jariaketa areagotua dagoela hipokanpo epileptogenikoan, TRPV1 kanala inplikaturik egon daiteke, bere kaltzio iragazkortasun handia dela eta (hipokanpoa oso sentikorra baita inguruneko estimuluetara, kaltzio sarrera barne hartuz).

TRPV1 hartzaillearen aktibazioak Na^+ eta Ca^{+2} ioien iragazkortasuna eta sarreraren gehipena eragiten du eta, ondorioz, neuronen despolarizazioa [26]. TRPV1 aktibazioak glutamato kitzikatzaillearen askapena handitzen duela ere azaldu izan da, zeregin garrantzitsua duena epilepsiaren etiologian, konbultsioen hasiera eta hedapenaren arduraduna baita. Beste neurotransmisore batzuen askapenean ere eragina izan dezake, dopamina eta GABAren bezala [1]. Hortaz, badirudi TRPV1 hartzailleek neuronan kitzikapenaren erregulazioan parte hartzen dutela [27] eta, aktibitate glutamatergikoa errazten dutenez, TRPV1 kanalak epileptogenesisian inplikaturik egon daitezke [31].



4. irudia. Hipokanpoko neuronetan TRPV1 hartzaillearen aktibazioaren bide molekular posibleak epilepsian. TRPV1 kanalaren bidezko Ca^{+2} metaketak konbultsio epileptikoen etiologian parte hartzen du. *Hurrengo artikulutik hartua: Naziroglu, 2015.*

Azken finean, TRPV1 kanalaren aktibazioaren bidez sinapsi glutamatergikoetan estimulazio postsinaptikoaren iraupena luzatu eta hipokanpoko bideen kitzikapena eragiten dela kontuan hartuz, TRPV1 hartzaillearen inaktibazioak agian helburu terapeutiko berria eskain dezake epilepsiaren tratamenduan: TRPV1 kanalen antagonistak droga babesle indartsuak kontsideratu ahalko liriteke [1].

1.4. CB₁ ETA TRPV1 HARTZAILEEN ARTEKO HARREMANA

Immunomarkatzaile bidezko zenbait azterketek CB₁ hartzailen eta TRPV1 hartzailen aldi bereko adierazpena erakutsi dute arratoi helduen neurona jakinetan; bereziki interesgarria dena, anandamida CB₁ hartzaille kannabinoide inhibitzaileen eta TRPV1 hartzaille estimulatzaileen agonista baita [15]. Horrela, sistema kannabinoidea eta baniloidearen arteko elkarrekintza farmakologikoa mina eta antsietatea bezalako zenbait baldintzetan ikertu izan da [32].

CB₁ eta TRPV1 hartzailleak batera kokatzen dira garuneko zenbait egituretako zeluletan, hala nola, garun kortexa, hipokanpoa eta amigdalari [31], konbulsioetan inplikaturako garuneko eremuetan, alegia. Anandamida bi hartzaille hauen barne estekatzailea da [30], baina beraien aktibazioak kontrako efektuak eragiten ditu neuronan kitzikapenean: TRPV1 hartzailleek hipokanpoko neuronan kitzikapen patologikoan lagundu dezaketean bitartean, CB₁ hartzailleek ustezko funtzio babeslea dute [31, 32].

2. HELBURUAK

Azken hamarkadan, ikerketa berriek BKSk kitzikapen neuronalaren kontrolean duen zeregina aurkitu dute, kannabinoideetan oinarritutako terapeutikarentzako itzaropena handituz. Hain zuzen ere, animalia ereduetan eta ikerketa kliniko batzuetan, ikusi da kannabinoideekin egindako tratamendua lagungarria izan daitekeela nerbio sistemako gaixotasunak eta asaldurak arintzeko: epilepsia tratatzeko potentziala oraindik eztabaidagarria bada ere, agerian geratu da kannabinoide sintetikoaren bidezko CB₁ hartzailen aktibazio farmakologikoaren garrantzia terapeutikoa anizkuna dela. Halaber, apurka-apurka TRPV1 kanalarik buruzko ezagutza handituz doa eta hipokanpoan bere inhibizioa konbulsio epileptikoak prebenitzeko helburu berritzailea izan daitekeela iradokitzen duten ikerketak daude, hots, TRPV1 hartzailleak ere helburu terapeutiko berria izan daitezkeela epilepsiaren tratamenduan. Bi hartzaille hauek nolabaiteko funtzioa jokatu dezaketela susmatzen da, alegia.

Horregatik, epilepsia gaixotasun bezala aztertu eta bere oinarrian sakondu ostean, konbulsio aurkako eragile terapeutiko boteretsuak izan daitezkeen CB₁ eta TRPV1

hartaileen inguruko ikerketa ezberdin ugariaren emaitzak bildu eta aztertu nahi izan dira, azalpenezko berrikusketa bibliografikoa eginez.

Helburu nagusia CB₁ hartaile kannabinoideak eta TRPV1 hartaile baniloideak epilepsiaren fisiopatogenian inplikatuta dauden eta, hortik abiatuz, etorkizunerako aukera terapeutikoak izan daitezkeen ebidentziarik dagoen aztertzea izan da.

3. MATERIALAK ETA METODOAK

Lan hau egiteko, lehenik eta behin, lanaren helburua zehaztu eta, aukera ezberdinen artean, azalpenezko berrikusketa bibliografikoa egitea aukeratu da.

Gaiari buruz azken bi hamarkadetan argitaraturiko informazioa bildu da, izan ere, aurkikuntza berria da eta oraindik ez da askorik publikatu. Horrela, gorantz ari den gaia izanik, ikerkuntzan egin berri izan diren azken aurrerapenei buruzko argitalpenak bereziki erabilgarriak izan dira. Egun oraindik abian diren emaitzak ere barne bildu dira, Euskal Herriko Unibertsitateko Neurozientziako departamentuan CB₁ eta TRPV1 hartaileak aztertzen dituen ikerketa martxan dutela aprobetxatuz.

Informazioa lortzeko baliabide ezberdinak erabili dira, hala nola, datu baseak eta liburuak.

Dokumentazio iturrien artean, honako hiru liburu hauek erabili dira:

- Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, editors. Neurología clínica. Vol 2. 5th ed. Barcelona: Elsevier; 2010.
- Ropper AH, Samuels MA. Adams y Victor Principios de Neurología. 9th ed. México: McGraw-Hill interamericana; 2009.
- Zarranz JJ. Neurología. 5th ed. Madrid: Elsevier; 2013.

Datu baseen artean, PubMed eta Science Direct erabili dira artikulua bilaketarako. Epilepsia eta BKSren eta TRPV1 hartaileen arteko harremana bilatzeko, ingelesezko hitz-gako ezberdinak erabili dira, MeSH tesaurioan daudela egiaztatuz. Honako hauek izan dira: epilepsy, epileptic seizures, endocannabinoid system, endocannabinoid signaling, synapse, CB₁ receptor, endocannabinoids, cannabis,

anandamide, therapeutics, TRPV1 receptor, TRPV1 channels, TRP channel, VR1, transient receptor potential vanilloid type I eta vanilloid.

Horrez gain, eragile ohikoak ere erabili dira bilaketarako, hala nola: AND, OR edota NOT. Iragazkien artean, “Free Full text” aukera erabili da, artikulua osoa eskuragarri izan eta beronen irakurketa eta lanketa ahalbidetzeko.

Aurkitutako artikulua asko izan dira, baina ez dira guztiak erabili. Hasierako hautaketa egiteko laburpenak irakurri dira eta, eskaintako informazioa baloratu, artikulua jaso edo alde batera utzi dira. Horien baliagarritasuna ziurtatzeko, alde batetik, artikulua jatorria ikusi da (autoreak, argitaratutako aldizkaria, editoriala eta abar) eta, bestetik, artikulua idazteko erabilitako bibliografia ere kontutan hartu da. Azkenik, aukeratutako baliabideen irakurketa kritikoa egin da.

Informazio-iturri ezberdinetatik lortutako datu guztiak antolatu eta lanaren egituraketa burutu da. Azkenean, epilepsia gaixotasun bezala oso sakon aztertu bada ere, gaixotasuna ulertu eta ezagutzeko beharrezko oinarriko informazioa baino ez da gehitu lanean, garrantzia, batez ere, itu terapeutiko eraberritzaileei emanaz.

4. EMAITZAK

4.1. BARNE KANNABINOIDEEN ZEREGINAREN EBIDENTZIA

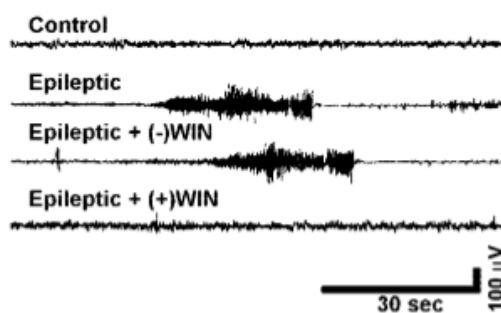
Barne kannabinoideen zeregin fisiologikoaren ebidentzia ematen duen ikerlanetako bat Wallace eta bere kideena da (2002). Ikertzaile hauek, konbultsioen larritasunean eta atalasean barne kannabinoideen efektua ebaluatzeko, anandamida (AEA) gehieneko elektroshock konbultsio erudian ebaluatu zuten.

AEAREN efektu fisiologikoak aztertzeko bere ekintza-iraupena luzatu zuten fenilmetilsulfonil fluoruroa erabiliz (FAAH entzimaren inhibitzailea) eta, biak batera erabilia, AEAREN eraginkortasuna oso era esanguratsuan handitu zela (%12.5etik %100era) egiazatu zuten. AEAREN konbultsio aurkako efektua CB₁ hartzailearen aktibazioaren bidezkoa den determinatzeko, aurretik CB₁ antagonista (SR141716A) erabili zuten. Honek, ED84 dosian, guztiz blokeatu zuen AEAREN aktibitatea, bere konbultsio aurkako propietatea CB₁ hartzailearen bidezkoa zela erakutsiz.

Horrez gain, O-1812 ere ebaluatu zuten, metabolikoki egonkorra den AEAREN analogoa. Hau ere oso antikonbultsibo indartsu bezala zehaztu zen eredu honetan eta, are gehiago, aldeztatik SR141716A antagonista espezifikoarekin tratatuz gero, guztiz indargabetu zen bere efektu antikonbultsiboa, AEAREkin gertatu bezala. Beraz, bi osagai hauen konbultsio aurkako CB₁ hartzailen bidezko mekanismoa agerian utzi zuten.

Gainera, konbultsioen aktibitatea modulatzeko duen barne tonoko kannabinoidea dagoela egiaztatu zuten. Izan ere, SR141716A antagonistaren bidez, konbultsio-atalase maximoaren jaitziera lortu zuten, garunaren kitzikakortasuna modulatzeko duen kannabinoideen barne tonokoaren existentziaren ebidentzia ahalbidetuz.

Urte bat beranduago, ikertzaile talde honek (Wallace eta kideak, 2003) lobulu tenporalaren pilokarpina eredu erabili zuten kannabinoideen konbultsio aurkako boterea eta konbultsio-aktibitatearen modulazioan BKSren eginkizuna frogatzeko *in vivo*, iraupen luzeko epilepsia eredu batean. Horrela, Δ^9 -THC eta horren agonista den WIN55,212 ebaluatu zituzten konbultsio aurkako eraginkortasunean, konbultsio epileptiko espontaneoak guztiz ezabatu zituztela aurkituz (5. irudia). SR141716A erabiliz, ordea, konbultsioen iraupena eta maiztasuna era esanguratsuan handitu ziren eta animalia batzuetan iraupena EE emateraino ere luzatu zen.



5. irudia. CB₁ hartzailen modulazioak aktibitate epileptiformean duen eragina. Behean, animalia epileptikoan WIN55,212 administratuz konbultsio aktibitatea guztiz desagertzen dela ikus daiteke. Wallace *et al.*, 2003.

Horrez gain, konbultsioen aktibitatea eta barne kannabinoideen sintesiaren artean harremanik dagoen aztertzeke, pilokarpina injekzioak eragindako iraupen laburreko konbultsioan zehar hipokanpoan CB₁ hartzailearen 2-AG barne estekatzailearen mailak neurtu zituzten, era esanguratsuan areagotu zirela behatuz. Horrela, kanpotik administratutako kannabinoideen konbultsio aurkako ekintza ez ezik, barne kannabinoide tonok konbultsioen iraupena eta maiztasuna CB₁ hartzaileen aktibazioaren bidez modulatzeko duen ebidentzia lortu zuten. Eta, hau guztia gutxi ez balitz legez, CB₁ hartzailearen adierazpenean aldaketarik gertatzen den eta banaketa anatomikoa zein den egiaztatzeke, Western Blot eta immunohistokimika azterketak burutu eta hipokanpo epileptiko kronikoaren CA eskualdeetan zehar CB₁ hartzailearen proteina adierazpena modu esanguratsuan areagoturik zegoela aurkitu zuten. Hortaz, epilepsia hipokanpoan CB₁ hartzaileen adierazpena areagotzen duela esan daiteke.

4.2. ESKAKIZUNEN ARABERAKO AKTIBAZIOA

Marsicanok eta bere taldeak (2003) neuronen kitzikapena eta konbultsio epileptiformeen kontrolean eskakizunen arabera BKSren aktibazioa ematen dela frogatu zuten. Izan ere, garunean gehiegizko neurona aktibitatearen kontrolean BKSren zeregina aztertzeke, aurreko garuneko neurona nagusietan CB₁ hartzailearen adierazpenik gabeko baldintzapeko sagu mutanteak (alboko interneurona inhibitzaile normalekin) eta sagu kontrolak konparatu zituzten AK-k eragindako konbultsio epileptiforme exzitotoxikoen eremuan. Aurkikuntza garrantzitsuenen artean, CB₁ hartzailearik gabeko saguetan (CB₁-KO saguetan) AKren peritoneo barruko injekzioak kontrol-saguetan (ingelesez *Wild type* edo WT) baino konbultsio larriagoak eragin zituela behatu zuten (AK exzitotoxinak gehiegizko konbultsioak eragin zituela *in vivo*, alegia). Horregatik, ikertzaileen arabera, eredu honetan CB₁ hartzaileen erauzketa genetikoak konbultsioen atalasea jaisten duela esan daiteke.

Bestalde, kontuan izanik CB₁ hartzaileen aktibazioak AK-k eragindako exzitotoxizitatearen aurkako barne babesa eskaintzen duela eta, hortaz, AKren administrazioak CB₁ hartzaileentzako barne kannabinoideen ekoizpenaren igoera azkarra eragin beharko lukeela, WT-saguen hipokanpoan barne kannabinoideen mailak neurtu zituzten AKrekin tratatu osteko momentu ezberdinetan. Aztertutako

edozein momentutan, 2-AG mailak aldatu gabe mantendu ziren bitartean, AEA kontzentrazioa nabarmen igo zela ikusi zuten. Beraz, hipokanpoko AEA mailak azkar igo ziren AK administratu ostean eta honek eragindako exzitotoxizitatearen aurka babesten duela frogatu zuten.

Horrez gain, AEA maila altuak eta CB₁ hartzaileen aktibazioaren arteko harremana egiaztatzeko, CB₁ aktibazioaren behar akutua frogatu zuten. Horretarako, WT-saguetan CB₁ hartzailearen antagonista espezifikoa (SR141716A) erabili zuten AK injektatu aurretik. Antagonistarekin tratatutako saguek konbulsio gogorragoak pairatu zituzten, baina aldeztu aurretik barne kannabinoideen xurgapenaren inhibitzaile selektiboa eta indartsua (UCM707) administratuz gero, era esanguratsuan babesten ziren. Hortaz, aurkikuntza honek AKren exzitotoxizitatearen aurkako babes akutuan BKSren parte hartze espezifikoa iradokitzen du.

Bestalde, CB₁ hartzaileak hipokanpoaren neurona nagusietan ere adierazten diren aztertzeko, saguen lerro berezia sortu zuten, non CB₁ hartzaileen adierazpena bakarrik neurona inhibitzaileetan mantentzen den (CB₁-GLU-KO saguak). AK-k konbulsio gogorragoak eragin zituen sagu hauetan (baita beraien biziraupena murriztu ere), baina baldintzapeko sagu hauek CB₁-KO saguekin konparatuz, ez zen ezberdintasunik behatu konbulsioen garapenean. Aldeztu aurreko UCM707 tratamendua ez zen eraginkorra izan sagu hauetan (AEA xurgapenaren inhibitzailearekin babesaren handipena behatu zuten sagu basatietan, baina ez sagu mutanteetan) eta SR141716A bidezko CB₁ hartzaileen blokeoak ere ez zuen efekturik eragin konbulsioetan. Beraz, lortu zituzten emaitza hauekin, badirudi drogen efektua neurona glutamatergikoetako CB₁ hartzaileen bidezkoa dela, eta BKS neurona glutamatergiko nagusietan dauden CB₁ hartzaileen bidez gauzatzen duela bere ekintza neurobabeslea.

Gainera, CB₁ aktibazio bidezko exzitotoxizitatearen murrizketa transmisio glutamatergikoaren inhibizioari esker lortzen den frogatzeko, CA1 neurona piramidalen kitzikapen glutamatergikoa neurtu zuten (berezko korrante postsinaptiko kitzikatzaileak bezala) hipokanpoko *in vitro* lagin prestakinetan. Sagu mutanteetan (CB₁-KO eta CB₁-GLU-KO saguetan) AK administratu eta gero, kitzikapen gogorra eman zela behatu zuten, berezko korrante postsinaptiko kitzikatzaileen

maiztasunaren igoerarekin batera. Horri esker, eskaeren arabeko BKSren aktibazioak hipokanpoko CA1 neurona piramidaletan AK-k eragindako kitzikapena murrizten duela frogatu zuten.

Gertakari intrazelularrei buruz ere gehiago aztertu nahian, AK eta gatz-sueroa injektatu ostean, CB₁ hartzailearen bidezko ERK aktibazioa (Western Blot bidez), berehalako gene goiztiarren adierazpena (c-fos eta zif268 transkripzio mailak) eta BDNFren RNA mezulariaren (RNAm) mailak neurtu zituzten (azken bi hauek *in situ* hibridazioaren bidez). Emaitzetan, AKrekin tratatutako sagu mutanteen eta gatz-suerorarekin tratatutako saguen artean ez zuten ezberdintasunik behatu fosforilazioaren mailan eta AKrekin tratatutako sagu mutanteen hipokanpoan ez zuten c-fos eta zif268ren adierazpenaren handipenik behatu, BDNF maila baxuagoak behatuz CA3 eremuan. Hortaz, CB₁ hartzaileen zeregina egiaztatu zuten adierazpenaren oinarritzko kontrolean.

Azkenik, BKSk AKren iraupen luzeko efektuen aurreko babesean duen parte hartzea frogatu nahi izan zuten. Saguen hipokanpoan kalte neuronala ebaluatuz, AKrekin tratatutako sagu mutanteen hipokanpoko CA1 eta CA3 eremuetan kalte neuronalaren maila handiagoak eta, immunomarkatzaileak erabiliz, gliosiaren maila handiagoak ere aurkitu zituzten eremu horietan.

Beraz, emaitzak batera harturik, exzitotoxizitatea gertatu bitartean, aurreko garuneko neurona nagusietan, CB₁ hartzailearen barne aktibazioak neuronon biziraupena sustatzen duela erakutsi zuten: zelula horietan CB₁ hartzailearen aktibazioak zeregin babesle garrantzitsua du eta interneurona GABAergikoetako CB₁ hartzaileek betetzen duten funtzioa baztergarria da. Marsicanok eta bere kideek azaldutakoaren arabera, badirudi zelula motarekiko espezifitatea eta erregulazio dinamikoa sistema fisiologiko babesle eraginkor honen funtsezko ezaugarriak direla.

Zelula motarekiko espezifitate horrekin lotuta, Monory eta kideen (2006) ikerlana dago. Izan ere, BKSk neurona kalte eredu ugarian beteriko funtzio neurobabesle zentrala ikusirik, eta sistema hau asaldura ugariaren tratamendurako aukera terapeutiko bezala agertzen hasi zela kontuan hartuz, ikertzaile hauei funtsezkoa iruditu zitzairen CB₁ hartzaileen barne aktibazioaren bidez zein neurona azpimota

kontrolatzen diren zehaztea. Horretarako, neurona azpipopulazio ezberdinetan CB₁ hartzaillearen baldintzapeko gabezia zuten saguak (CB₁ ezabapen genetikoa diseinatu zuten aurreko garuneko neurona GABAergikoetan eta hipokanpoko neurona glutamatergikoetan) eta azido kainikoaren konbultsio eredua erabili zituzten, neurona azpipopulazio ezberdinen eginzkizunak zehazteko sistema endokannabinoidearen babesean, alegia.

Horrela, saguetan konbultsio epileptiforme akutuen aurkako babesa eskaintzeko barne kannabinoideak zuzenean hipokanpoko neurona glutamatergikoetara zuzentzen direla erakutsi zuten: CB₁ hartzaillearen ezabapen espezifikuari esker, argi geratu zen CB₁ hartzaillea hipokanpoko neurona glutamatergikoetan beharrezkoa eta nahikoa dela barne babesa eskaintzeko eta interneurona GABAergikoetako CB₁ hartzailen adierazpen handiak ez duela AKren aurreko neurobabesean parte hartzen. Horrela, Marsicanok eta bere taldekideek (2003) lortutako aurkikuntzei indarra emanaz, hipokanpoko neurona glutamatergikoak CB₁ hartzaille menpeko AK exzitotoxizitatearen aurkako babeserako itu nagusia direla azpimarratzen dute, nahiz eta neurona hauetan CB₁ adierazpena baxuagoa izan.

4.3. ESTATUS EPILEPTIKO ERREFRAKTARIOARENTZAKO AUKERA

EE pairatzen duten gaixoen %20ak bi antiepileptiko edo gehiagorekin tratatu arren erantzunik agertzen ez dutela kontuan hartuz, Deshpande eta kideek (2007) bi barne kannabinoide nagusien efektuak aztertu nahi izan zituzten Mg⁺² urritasunak eragindako EEren hipokanpoko neuronon hazkuntza eremuan. Eredua hau fenitoina eta fenobarbitalari erresistentea zen.

Metanandamida (AEAren analogo egonkorra) eta 2-AG barne kannabinoideek EEa inhibitu zuten dosi menpeko eran eta efektu hauek CB₁ hartzaillearen aktibazioaren bidezkoak zirela frogatu zuten, efektuok AM251 (CB₁ antagonista) erabiliz blokeatu baitzituzten. Gainera, EEren kontrolean barne kannabinoideen eta beste farmako antiepileptiko batzuen (fenobarbitala eta fenitoina) eraginkortasuna alderatu zuten eta metanandamida eta 2-AG ohiko antiepileptikoak baino askoz erangikorragoak izan ziren eredu honetan.

Emaitza horiekin, bi barne kannabinoide nagusiak eredu honetan EE errefraktarioaren inhibitzaile eraginkorrak direla frogatu zuten. Horrenbestez, ohiko antiepileptikoak ez eraginkorrak izanik, Deshpande eta bere kideen arabera, BKS_k EE errefraktarioa tratatzeko lorpen terapeutiko berrietarako aukera agerrarazten du.

4.4. GIZA GARUN EPILEPTIKOAREN AZTERKETA

Ludányi eta kideek (2009) gaixo epileptikoetan barne kannabinoide seinalizazioaren kaltea ematen den frogatu nahi izan zuten. Horretarako, kontrola (asaldura neurologikorik gabeko pazienteen hil osteko laginak) eta hipokanpo ehun epileptikoa (LTE trataezina pairatzen zuten gaixoetatik kirurgikoki erauzitakoa) alderatu zituzten, egun arte BKSren osagai bezala identifikatutako gene gehienaren RNAm mailak aztertuz, hain zuzen ere, CB₁ hartzaileak, CRIP proteina eta barne kannabinoideen entzima metabolikoak.

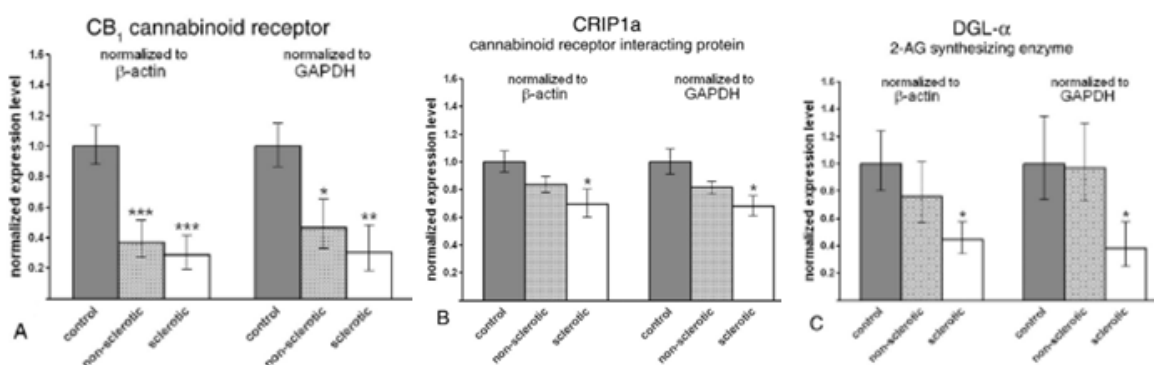
Gaixo epileptikoetan CB₁ hartzaileak inplikatzeko dituen seinalizazio endogenoaren kaltearen hipotesia frogatzeko, CB₁ hartzaileen RNAm mailak denbora errealeko PCR bidez neurtu eta alderatu zituzten lagin gaixoetan eta osasuntsuetan. Kontrol taldearen adierazpen mailarekin alderatuta, PCR neurketa kuantitatiboek hipokanpo epileptikoan (esklerotikoan eta ez esklerotikoetan, hots, talde bietan) CB₁ hartzailearen RNAm adierazpena biziki murrizturik zegoela erakutsi zuten, erabilitako erreferentzia gene bien kasuan (β -aktina eta GAPDH).

Giza hipokanpo epileptikoan CRIP proteinaren adierazpen maila ere aztertu zuten, CB₁ hartzailearekin lotu eta bukaera axoietan bere aktibitatea erregulatzen duen proteina dena, primate eta gizakien garunetan bi aldaera deskribatu direlarik (1a eta 1b). Hipokanpo epileptiko esklerotikoan CRIP1a proteinaren RNAm maila era esanguratsuan murrizturik zegoela ikusi zuten, baita hipokanpo ez esklerotikoan ere. CRIP1b isoformaren (primateetan bakarrik agertzen dena) lotura aldaeraren adierazpen genetikoa, aldiz, aldaketarik gabe mantendu zen.

Hipokanpo epileptikoan 2-AGren makinaria metabolikoa asaldatuta dagoen zehazteko, bere hiru entzima metabolikoen (DGL- α , DGL- β eta MGL) geneen adierazpen maila determinatu zuten PCR bidezko neurketak eginez. Hipokanpo esklerotikoan, DGL- α ren RNAm mailak izugarri murrizturik zeuden, DGL- β mailak

aldaketarik gabe mantendu ziren bitartean. MGLren adierazpen genetikoaren maila ere estatistikoki antzekoa izan zen hiru talde esperimentaletan. Horregatik, emaitzak ikusita, hipokanpo epileptiko esklerotikoan sinapsi glutamatergikoetan 2-AGren biosintesia kalteturik egon daitekeela azaltzen dute, DGL- α ren RNAm mailaren murrizpen gogorra dela eta (lagin ez esklerotikoetan ez baitzuten halako murrizketa aldaketa esanguratsurik aurkitu). Bestalde, AEAREN entzima metabolikoak ere aztertu zituzten (NAPE-PLD, biosintesiaren arduratzen dena eta FAAH, entzima degradatzailea), baina ez zuten hauen adierazpenaren asaldurarik aurkitu.

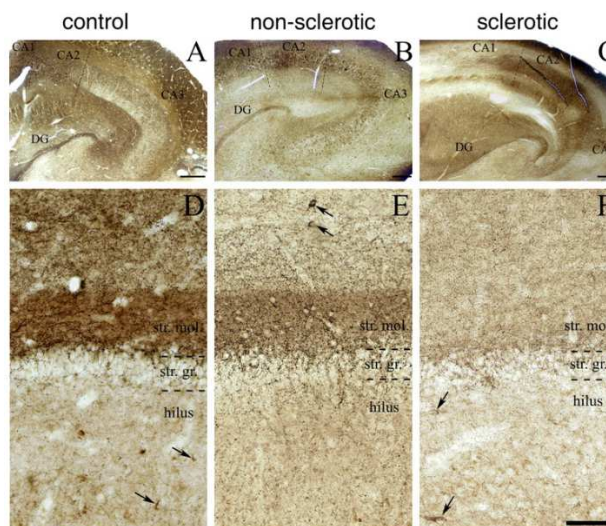
Beraz, CRIP1a eta DGL- α ren adierazpen mailaren murrizketa esanguratsuekin batera, behatutako aldaketarik handiena CB₁ hartzailearen azpiadierazpen bizia izan zen, hipokanpo epileptikoaren bi taldeetan, 6. irudian ikus daitekeen bezala.



6. irudia. CB₁ hartzaile kannabinoidea (A), CRIP1a (B) eta DGL α -ren (C) adierazpen grafikoak. Hiru osagaien murrizketa esanguratsua beha daiteke hipokanpo epileptikoan. *Ludányi et al., 2009.*

Emaitza hauek proteina mailara zabaltzeko eta are garrantzitsuagoa, eskualde, geruza edo hipokanpokoko zelula motaren arabera aldatzen ziren miatzeko, CB₁ hartzaileen antigorputz berritzaileak erabili zituzten, CB₁ hartzailearen axoiak sentikortasun handiarekin ikusarazteko. Kontrolarekin alderatuz, lagin gaixoetan CB₁ immunoerreaktibitatearen dentsitatea askoz ahulagoa zen hipokanpo osoan zehar, ezberdintasunik handiena hortz bihurgunean ikusirik: murrizketa oso argia zen kanpo geruza molekularrean, barneko geruza molekularrean azpiadierazpen izugarriarekin batera. Beraz, CB₁ hartzailearen immunoerreaktibitatea murrizturik dago giza

hipokanpo epileptikoan, batez ere, hortz bihurgunearen barneko geruza molekularrean, 7. irudian ikus daitekeen bezala.



7. irudia. CB₁ hartzaile kannabinoidearen immunomarkaketa. Hipokanpo epileptikoan (esklerotikoan zein ez esklerotikoan) CB₁ adierazpena murriztuta dago, bereziki hortz bihurgunearen barne geruza molekularrean. *Ludányi et al., 2009.*

CB₁ transkripzioaren murrizketa zelula glutamatergikoetan ala inhibitzaileetan gertatzen den aztertzeko (biek adierazten baitituzte CB₁ hartzaileak), hortz bihurgunearen barne geruza molekularra aukeratu zuten, zelula goroldiotsuen biribilgune axoien bukaera gune nagusia dena. Azterketa mikroskopikoak hipokanpo epileptikoan CB₁ hartzaile presinaptikoak dituzten bukaera axoi glutamatergikoen dentsitatea biziki murrizturik zegoela adierazi zuen eta zelula goroldiotsuen galerak bakarrik, batez ere banako ez esklerotikoetan, ez zuen aurkikuntza hau azaltzen (izan ere, glutamatergikoak diren zelula goroldiotsuak bereziki sentikorak direnez kalte neuronalari, zelula hauen galerak geruza honetako CB₁ murrizpenean eraginik izan zuen ala ez aztertu zuten GluR2/3 aurkako immunmarkatzailea erabiliz, hau da glutamatoaren 2. eta 3. AMPA motako hartzaileak agerian uztekoa, ezezko emaitza jasoz). Bestalde, azterketa kuantitatiboak ez zuen aldaketarik aurkitu bukaera inhibitzaileen zenbatekoan: CB₁ hartzaileak zituzten bukaera axoi GABAergikoak bere horretan mantentzen ziren. Hau behaketa interesgarria da, izan ere, Ludányik eta

kideek azaltzen duten bezala, GABA korronteak despolarizazioan duen ekarpena erabakitzailea da berezko aktibitate epileptikoari begira eta, gainera, bukaera glutamatergikoen murrizketak efektu prokonbultsiboa eragiten du.

Beraz, emaitza hauekin seinale-bide babeslea asaldatuta dagoela iradokitzen dute eta balazta honen galerak konbultsioen aldeko efektua duela. Izan ere, ikertzaileen hitzetan, CB₁ hartzailen azpiadierazpenak, batez ere bukaera axoi glutamatergikoetan, LTE tratagaitza duten pazienteen hipokanpoan babeslea den barne kannabinoide seinalizazioa murriztuta dagoela esan nahi du eta, paziente epileptikoetan gertatzen den zirkuitu sinaptiko etengailu honen gabeziak kitzikakortasunaren igoera eta kalte neuronala ekarriko duela, halabeharrez.

4.5. TRPV1 AKTIBAZIOAREN EFEKTUAK KITZIKAPEN SINAPTIKOAN

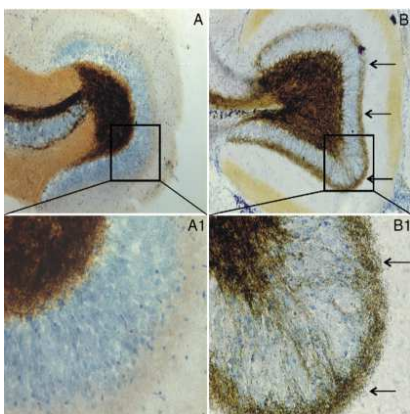
Lobulu Tenporalaren Epilepsiaren (LTE) garapenarekin erlazionaturik, hortz bihurtunean zelula granularren artean eratutako zirkuitu kitzikatzaile errekorrente berrietan TRPV1 kanalen aktibazio efektua eta adierazpena behatzeko, Bhaskaran eta Smithek (2010) metodo elektrofisiologikoak erabili zituzten *in vitro*, peritoneo barneko pilokarpina injekzioarekin tratatutako saguekin.

Kapsaizinak (KZ), TRPV1 hartzailaren agonista selektiboak, TRPV1 aktibazioaren bidez ekintza potentzial menpekoa ez den glutamatoaren askapena handitu zuen EEtik bizirik irten ziren saguen hortz bihurtunean. Hain zuzen ere, ez zuen aldaketa neurgarririk eragin kontrol taldeko zelula granularren sinapsian, baina berezko korronte postsinaptiko kitzikatzaileen maiztasuna era esanguratsuan handitu zuen LTE eredu saguetan. KZren efektu hau aurretik TRPV1 antagonista selektiboa (kapsazepina, KPZ) erabiliz prebenitu zuten, ekintza TRPV1 bidezkoa zela egiaztatuz (izan ere, KPZ bakarrik erabilia ez zuten efekturik behatu, bere efektu nagusia TRPV1 hartzailak antagonizatzea dela adieraziz).

Bestalde, GABA_A hartzailak bikukulinarekin blokeatuta, AEAK sinapsi glutamatergikoetan CB₁ eta TRPV1 aktibatuz bideratutako efektuak isolatu zituzten AM251 eta KPZ antagonistak erabiliz. AEAREN kanpo-aplikazioak AM251 (CB₁ antagonista) aurrean ere glutamato askapena handitu zuen (aktibitate sinaptikoa gehituz), TRPV1 kanalak KPZrekin blokeatzean murriztu zelarik. Honek

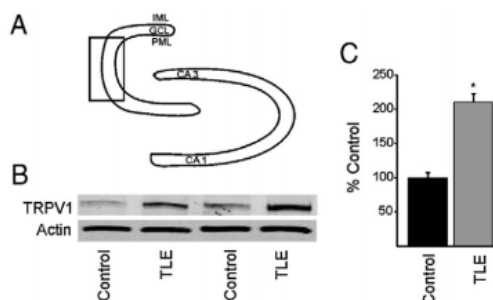
berrantolatutako zirkuituetan CB_1 eta TRPV1 hartzaille funtzionalen agerpena iradokitzen du, baita AEA hartzaille biak aktibatzen gai dela ere.

Horrez gain, sagu eredu honetan, hartz bihurtzearen barne geruza molekularra zabaldu zuten goroldiotsuak behatu zituzten, zelula granularren arteko sinapsi kitzikatzailerik funtzional berrien existentzia iradokiz. Eta efektuak, hain zuzen ere, aldaketa hauek erakusten zituzten saguetan behatu zituzten. Horregatik, zabaldu berriko bukaera axoietan TRPV1 hartzailleak adierazten direla arrazoitzen dute.



8. irudia. Hartz bihurtzearen zilarrezko tindaketa: zuntz goroldiotsuen zabaltearen barne geruza molekularra pilokarpinarekin tratatutako saguetan. B irudian Estatus Epileptikotik bizirik irtendako saguen hartz bihurtzearen barne geruza molekularra ikus daiteke, zeinetara zuntz goroldiotsuak zabaltearen diren, A irudiarekin (sagu normala) konparatuz. A1 eta B1 irudiak handipenarekin daude (Bhaskaran eta Smith, 2010).

Bestalde, Western Blot bidezko azterketak pilokarpinarekin tratatuak izandako eta EETik bizirik ateratako saguen hartz bihurtzearen kontrolarekin baino TRPV1 kanalaren proteina-banda dentsuagoa erakutsi zuen.



9. irudia. Hartz bihurtzearen TRPV1 hartzaillearen adierazpenaren Western Blot bidezko azterketa. A irudian hartz bihurtzearen diagrama ageri da, laukian erazutako aldea adieraziz. B irudian TRPV1 hartzaillearen adierazpena ikus daiteke, tratatu gabeko bi saguetan eta pilokarpinarekin tratatu eta Estatus Epileptikotik bizirik ateratako beste bi saguetan. C irudian sagu epileptikoetan TRPV1 hartzaillearen adierazpenaren areagotze esanguratsua ikus daiteke grafikoan (Bhaskaran eta Smith, 2010).

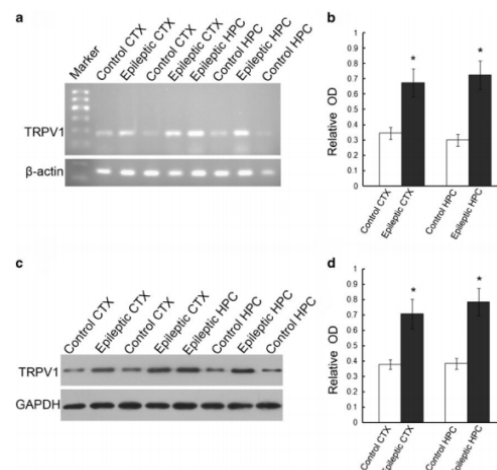
Laburbilduz, ikerlan honekin LTE bezalako baldintzetarako BKS_n oinarritutako terapia farmakologikoaren diseinuarekin erlasionaturik egon daitezkeen albo-ondorio indartsuei buruz ohartarazten dute. Izan ere, barne kannabinoide estekatzailleek neurotransmisoreen askapena murrizteko CB₁ hartzailleak lotu ditzaketen bitartean, gerta daiteke beste batzuek (AEAk esaterako) kitzikakortasun sinaptikoa handitzea, hortz bihurgunearen bukaera glutamatergikoetan adierazi berriko TRPV1 hartzailen gain eraginez.

4.6. TRPV1 KANALAREN ADIERAZPENA LTME GAIXOETAN

TRPV1 hartzailleak Lobulu Tenporal Mesialaren Epilepsiaren (LTME) patogenesisian duen parte hartzea argitzeko helburuarekin, Sun eta kideek (2012) TRPV1 kanalaren adierazpena eta banaketa zelularra aztertu zituzten, bere faktore sentikortzailea den nerbio hazkuntza faktorearekin (NHF) batera. Horretarako, LTME erresistentea pairatzen zuten 26 pazientetarik kirurgikoki erauzitako garun ehunaren laginak konparatu zituzten histologikoki normalak ziren aurreko neokortex tenporala edota hipokanpoaren 12 laginekin (kontrol taldea). Aldagai klinikoei dagokienez, ez zuten ezberdintasun esanguratsurik aurkitu LTME eta kontrol taldearen banakoen artean, adina, sexua edo jatorri geografikoari dagokionez.

RT-PCR bidez, TRPV1 hartzailaren RNAm mailak zehaztu zituzten kortex tenporalean eta hipokanpoan. Bestalde, LTME taldean TRPV1 adierazpen gehitua egiaztatzeko, Western-Blot analisia ere erabili zuten, TRPV1 immunoerreaktitate mailak alderatzeko. 10. irudian ikus daitezkeen bezala, TRPV1 hartzailen RNAm eta proteina maila gehituak aurkitu zituzten LTME taldean.

10. irudia. TRPV1 RNAm eta proteina adierazpena kortex tenporalean eta hipokanpoan, kontrol taldean eta LTME gaixoetan. A eta B irudietan RNAm adierazpena ikus daiteke, bandetan eta RT-PCR-ren azterketa dentsitometrikoan, hurrenez hurren. C eta D irudietan proteina adierazpena, immunoblot eta Western Blotaren azterketa dentsitometrikoan, hurrenez hurren. Sun et al., 2012.



LTME gaixoen eta kontrolaren kortex tenporalean eta hipokanpoan TRPV1 immunoerreaktibilitatearen patroia aztertzeke immunohistokimika erabili zuten eta LTME taldean orbanak askoz nabariagoa izan zen. Etiketatze bikoitzeko immunofluoreszentzia ere erabili zuten, LTME gaixoetan TRPV1 kanalak zituzten neuronak ikusteko; batetik, neurona, astrozito eta mikroglia aurkako antigorputzak erabili zituzten eta, bestetik, glutamato eta GABA aurkako antigorputzak, neurona glutamatergiko eta GABAergikoak bereizteko. Immunohistokimika datuek, TRPV1 hartzaileak, batez ere, neuronen gorputz zelularretan eta dendritetan banatuta daudela ezagutzera eman zuten eta immunofluoreszentziak TRPV1 kanalak neuronetan eta astrozitoetan (zitoplasman eta luzapenetan) kokatzen direla erakutsi zuen, ez ordea glian kokatzen direnik. Gainera, TRPV1 kanala neurona bietan (glutamatergikoetan eta GABAergikoetan) banaturik dagoela adierazi zuten, ehunetarako glutamato eta GABA askapenean zeregin posiblea iradokiz.

Horrez gain, TRPV1 kanalen faktore sentikortzailea den NHFren adierazpena aztertzeke immunohistokimika erabili zuten, LTME gaixoen laginetan adierazpena kontrolean baino indartsuagoa zela erakutsiz.

Laburbilduz, LTME gaixoen kortex tenporalean eta hipokanpoan TRPV1en adierazpen areagotuari buruzko informazioa eman zuten eta konbultsioen piztean TRPV1 hartzaileen zeregin indartsuak iradoki zituzten zelula mota ezberdinetan (neurona glutamatergiko eta GABAergikoetan banaketa espezifikoa gain, astrozitoetako adierazpena ere frogatu zutelako). Hala ere, giza laginetan oinarritzen denez, ikerlan hau ikerketa deskribatzailea besterik ez da.

4.7. TRPV1 ETA IRAUPEN LUZEKO DEPRESIO POSTSINAPTIKOA

TRPV1 kanalak transmisio sinaptikoa nola erregulatzen duen jakin nahian, Chavezek eta bere taldeak (2010) TRPV1 hartzailearen eginkizuna aztertu zuten hortz bihurguneko zelula granularren sinapsi kitzikatzaileetan. Ezustean, TRPV1 kanalen kanpo aktibazioak, neurotransmisore askapenarekiko aparteko eran, transmisio sinaptikoa murrizten duela aurkitu zuten. Are gehiago, barne anandamida bidezko TRPV1 aktibazioak transmisio sinaptiko kitzikatzailean iraupen luzeke depresio postsinaptikoa eragiten duela ere ikusi zuten.

Hain zuzen ere, sagu eta arratoien hortz bihurgunean TRPV1 kanalak transmisio sinaptikoa ezabatzen duela erakutsi zuten. Zelula granularren korrante kitzikatzailen ezabatze hau kaltzio-kaltzineurina eta klatrina menpeko AMPA hartzaileen barneratzearen ondorioz gertatzen omen da. Azaltzen dutenaren arabera, TRPV1 hartzaileek, askapen presinaptikoa modulatzeari gain, transmisio sinaptikoa ere murriztu dezakete AMPA hartzaileen endozitosia eraginez. Gainera, AEA iraupen luzeko depresio postsinaptikoaren eragile bezala agertzen da, CB₁ hartzailearekin erlaziorik ez duen aparteko eran, garunean barne kannabinoide seinalizazioaren modu berria azpimarratuz. TRPV1 kanalak eragindako iraupen luzeko depresioa pizteko mGluR5 (glutamatoaren 5 motako hartzaile metabotropikoaren) aktibazioa ere beharrezkoa dela adierazten dute .

Aurkikuntza hauekin TRPV1 kanalek NSZean transmisioa eta plastizitatea erregulatzen duten ideia indartzen dute, TRPV1 bidezko erregulazio era berria erakutsiz sinapsi zentraletan, ordura arte ezezaguna zena. Azken finean, TRPV1 kanalak funtzio sinaptikoaren erregulazioan dituen mekanismo ezberdinei buruzko aurkikuntza izan zen, baita garunean barne kannabinoide seinalizazioaren ez-ohiko erarena ere.

4.8. α -ESPINASTEROLA ETA KONBULTSIO-ATALASEAREN IGOERA

Ikerketa ugari animalia ereduetan TRPV1 hartzaileak konbultsioen aktibitatearen modulatzailak izan zitezkeela frogatu ostean, Socatak eta kideek (2015) konbultsioen atalasearen kontrolean TRPV1 antagonismoaren eginkizunari buruzko datu gehiago eskaini nahi izan zituzten. Horretarako, konbultsio atalasean α -espinasterolaren efektua ikertzea izan zuten helburu eta konbultsio akutuen hiru eredu erabili zituzten, hain zuzen ere, zain barneko pentilenetetrazola (PTZ) konbultsio testa, gehienezko elektroshock konbultsio atalase testa eta saguetan 6Hzko estimulazioak eragindako konbultsio psikomotoreen ereduak, guztira 227 sagu erabiliz.

α -espinasterola, lehen aldiz espinaka eta alpapatik isolatutako fitosterola, TRPV1 antagonista selektiboa bezala azaltzen den landare eratorria da. Konposatu honek beste zenbait propietate ere baditu (nozizepzio aurkakoa, hantura aurkakoa, tumore

aurkakoa, ultzera aurkakoa eta zelula babeslea), baina interesgarriena administrazio sistemikoaren osteko garun barneratze ona duela eta hipertermia bezalako albo efekturik gabekoa dela da. Izan ere, ezaugarri hauei esker, α -espinasterola tresna erabilgarria da TRPV1 hartzaileen eginkizuna aztertzeko konbultsioen neurobiologian eta horregatik aukeratu zuten ikerketarako, muga hematoentzefalikoa zeharkatzeko gaitasunagatik ez ezik, bere toxizitate txikiagatik ere bai. Azken hori frogatzeko, indar neuromuskularrean, koordinazio motorean eta gorputz-tenperaturan izan ditzakeen efektuak ere ebaluatu zituzten.

Emaitzek α -espinasterolaren efektu antikonbultsibo esanguratsua erakutsi zuten, izan ere, konbultsio atalasea igo zuen erabilitako konbultsio test guztietan. Gainera, ez zuen koordinazio motorearen ezta indar muskularraren eragozpen esanguratsurik eragin (tximinia-proba eta euste indarraren probetan ebaluatuak, hurrenez hurren), ezta saguen gorputz tenperaturaren aldaketa esanguratsurik ere. Hortaz, eraginkorra izateaz gain, ez zuen eragin desiragaitz akaturik sortu.

Laburbilduz, TRPV1 antagonista den α -espinasterolak saguetan konbultsio aurkako efektu akutua zuela frogatu zuten, TRPV1 antagonisten konbultsioen ezabatzeari buruzko tesia indartuz. Horregatik, emaitzetan oinarriturik eta kontuan harturik α -espinasterolak garunerako iragazkortasun ona erakusten duela, konposatu honen inguruko ikerketa gehiago proposatzen dituzte bere ekintza antikonbultsiboaren mekanismoa eta praktika klinikoan bere erabilera ebaluatzeko.

4.9. KPZren EFEKTUAK IN VITRO ETA IN VIVO

Gonzalez-Reyes eta kideek (2013) TRPV1 kanalen eginkizuna ebaluatu zuten aktibitate epileptiformearen modulazioan, baita KPZren konbultsio aurkako propietateak ere, *in vitro* eta *in vivo* ereduak erabilia (aktibitatea epileptiformea lortzeko 4-aminopiridina, 4-AP, konbultsio eragilea erabili zuten). Gainera, TRPV1 kanalaren antagonista eraginkor hau sistemikoki administratu zuten, drogak muga hematoentzefalikoan zehar eraginik izan dezakeen ebaluatzeko.

In vitro azterketetan, KZk eta KZPk aktibitate epileptiformea modula zezaketen, KZk maiztasuna eta iraupena areagotuz eta KPZk iraupena eta zabaltasuna murriztuz. Horrez gain, hipokanpoan TRPV1 agonismoa eta antagonismoaren

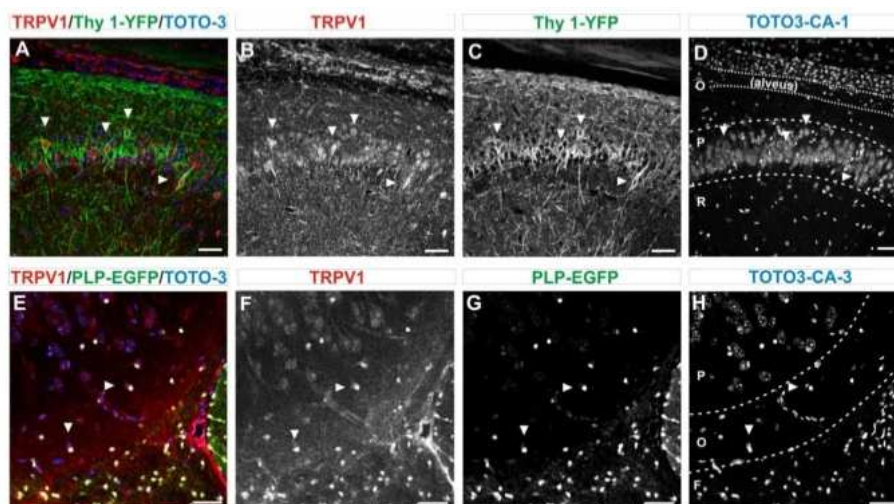
bidezko efektuetan transmisio sinaptikoa inplikatur dagoen zehazteko, potentzial ebokatuen zabaltasuna neurtu zuten: KZren eragina handiagoa izan zen erantzun ortodromikoan, agonistak transmisio sinaptikoan nolabaiteko efektua izan dezakeela iradokiz, baina KPZ antagonistaren erantzun antidromiko eta ortodromikoen gaineko efektuak ez ziren esanguratsuki ezberdinak izan. Hortaz, ikertzaileek azaltzen duten bezala, posible da TRPV1 kanalaren aktibazioak transmisio sinaptikoan eragina izatea, kanal hauen blokeoa transmisio sinaptikoarekiko aparteko eran gertatzen den bitartean.

In vivo azterketetan, KPZren administrazio sistemikoak ez zuen aldaketarik eragin oinarriko EEGn. Ondoren, garun barneko KZ infusioak eragindako efektu kitzikatzaileak murrizteko KPZ sistemikoaren gaitasuna ebaluatu zuten, KZk *in vivo* berezko aktibitatea eragin dezakeen ebaluatzeke eta TRPV1 antagonistaren propietateak ebaluatzeke KPZ administrazio sistemikoaren ostean. KZk aktibitatea eragin zuen eta KPZ bidez itzuli zen, beraz, TRPV1 kanalaren estekatzaileen elkarrekintza farmakologikoa frogatu zuten hipokanpoko neuronon aktibitate basalean *in vivo*. Gainera, periferikoki injektatu ostean, KPZ modulatzaile eraginkorra izan zela frogatuz, drogak garunean konbultsio aurkako kontzentrazioak lortzeko muga hematoentzefalikoa zeharkatzen duela erakutsi zuten. Grabazio elektrofisiologikoko teknikak eta garun barneko dialisia erabiliz *in vivo*, KPZ sistemikoak 4-APk eragindako EE aktibitatea ezabatu dezakeela ere behatu zuten.

Laburbilduz, KPZk 4-APk eragindako aktibitate epileptiformea ezabatu zuen *in vitro* eta aribideko konbultsio elektrografikoak era esanguratsuan murrizteko gai izan zen *in vivo*. KZk, aldiz, aktibitate epileptiformea areagotu zuen *in vitro* eta gehiegizko aktibitate kitzikatzailea piztu zuen *in vivo*, TRPV1 antagonistaren (KPZ) bidez bertan behera utzi zena. Emaitzek, beraz, TRPV1 kanalen aktibazioak kitzikakortasunaren areagotzea eragiten duela adierazten dute, TRPV1 kanalen inhibizioak konbultsio elektrografikoak era eginkorren ezaba ditzakeen bitartean.

Azkenik, sagu transgenikoak erabilia, azterketa histologikoak TRPV1 kanala hipokanpoko neurona eta glian adierazten dela egiaztatu zuen. 11. irudian ikus daitekeen bezala, PLP-EGFP markatzailea TRPV1 aurkako antigorputzekin erabiliz,

TRPV1 kanalak hipokanpoko albeuseko axoi-oligodendrozoetan era zabalean adierazten direla aurkitu zuten.



11. irudia. TRPV1 kanalen adierazpena neuronetan eta oligodendrozoetan. A argazkian, sagu transgenikoetan Thy-1-YFP markatzaile neuronala (berdez) eta TRPV1 kanalen (gorriz) aldi bereko adierazpena ikus daiteke, hipokanpoko CA1 zelula piramidalen geruzan immunomarkatzaile bidezko azterketan. CA1 hipokanpoko azpi-eremuak D argazkian ageri dira, TOTO3 markatzaile nuklearrak zelulen banaketa patroia erakusten duelarik. B argazkian TRPV1 aurkako antigorputzak erabili dira markatzaile bezala geruza piramidalean. C argazkian Thy1-YFP markatzaileako positiboak diren neuronak ikus daitezke geruza piramidalean. E irudian TRPV1 kanalak (gorriz) eta ODZ markatzailearen (berdez) aldi bereko adierazpena ikus daiteke hipokanpoko fornixean eta CA3 eremuan. *Gonzalez-Reyes et al. 2014.*

4.10. KPZ ETA KONPOSATU KANNABINOIDEEN ELKARREKINTZA

Naderi eta kideek (2014) TRPV1 kanala kannabinoideek pentilenetetrazolak (PTZ) eragindako konbultsio klonikoen atalasean dituzten efektuen modulazioan inplikaturatuta egon daitekeen hipotesia frogatzeko, saguetan KPZ (TRPV1 antagonista), ACEA (CB₁ agonista) eta VDM11 (AEA birxurgapenaren inhibitzailea) erabili zituzten, bakarrik eta elkarrekin konbinaturik. Horrela, bi sistemen arteko elkarrekintza erakutsi zuten PTZ bidezko konbultsio akutuen saguen eremuan.

KPZ eta ACEA administratuz konbultsioen aurkako babesa lortu zen bitartean (bi kasuetan, konbultsioen atalasearen igoera esanguratsua behatu zen kontrol saguekin

konparatuz), VDM11 administratuz ez zen eragin babeslerik agertu. Baina konbultsio aurkako efektua desagertu egin zen konposatu hauen aldi bereko administrazioarekin, hots, ACEA eta KPZ batera administratuz, ez zen aldaketa esanguratsurik behatu kontrolarekin alderatuz. Are gehiago, KPZren konbultsio aurkako ekintza KPZ bera VDM11rekin batera administratu ostean desagertu egiten zen. Hortaz, kapsazepina ACEA zein VDM11rekin konbinatuz gero, ACEA zein KPZren konbultsio aurkako efektua ezabatzen zen.

VDM11 bidez, AEA mailak handitzen dira, bere efektuak ere areagotuz hartzaile bietan (CB_1 eta TRPV1). Hala ere, ikerlan honetan, sinapsietan barne kannabinoidearen mailen handipenak ez zuen eragin ez konbultsioen atalasearen igoera ez jaitsiera, VDM11k efektu babeslerik ez duela iradokiz (erabilitako dosietan behintzat). Hortaz, barne kannabinoidearen efektuak handituz, ez zen babesik lortu PTZk eragindako konbultsioen aurka.

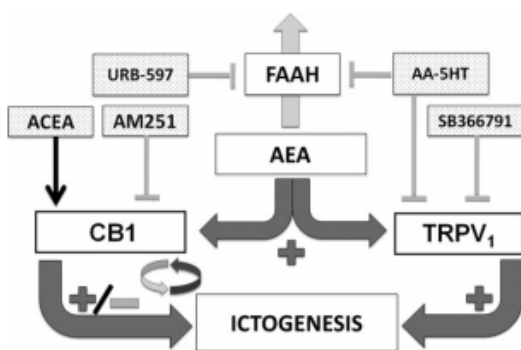
Hala ere, CB_1 hartzailearen agonista eta TRPV1 hartzailearen antagonista exogenoen efektu babeslea frogatu zituzten. Gainera, kannabinoideen eta KPZ aldi bereko administrazioak konposatu hauen efektu babeslea eten zuen, beraz, bi sistemen arteko elkarrekintza iradoki daiteke.

CB_1 eta TRPV1 elkarrekintzarekin lotuta, EHUko ikerlari-talde baten lana bereziki interesgarria da. Izan ere, genetikoki erauzitako TRPV1 hartzailearik gabeko saguek (TRPV1-KO saguak) hipokanpo barruko AK administrazioaren ostean pairatzen dituzten krisialdiak eta konbultsioak, WT-saguek pairatzen dituztenekin alderatuta, arinagoak eta laburragoak direla behatu dute. Aldi berean, TRPV1-KO saguek, berez, erakusten duten CB_1 hartzailearen adierazpena WT-saguena baino handiagoa da garun hemisferio bietan, bai KA ziztatu aurretik baita ostean ere.

Talde honen lana eta esperimenduak oso berriak direnez, oraindik ez daude argitaraturik eta pertsonalki komunikatuta daude. Hala ere, orain arte lorturiko emaitzen arabera, kontu handiz hartuta, hartzaile bien arteko elkarrekintza hausnar daiteke epilepsian, terapia konbinatuari atea irekiz.

4.11. AA-5-HT BLOKEATZAILE BIKOITZAREN EFEKTUAK

FAAH entzima inhibituz, AEAREN hidrolisiaren blokeo selektiboa eta, ondorioz, konbultsio aurkako efektuak lortzen dira, CB₁ hartzaileak bitartekariak izanik. Hala ere, jada azaldu bezala, AEAK TRPV₁ kanalak ere aktibatzen ditu, neuronan modulazioan aurkako efektua eraginez. Horrenbestez, Vilela eta kideek (2014) FAAH entzima eta TRPV₁ kanalaren blokeo bikoitza itu farmakologiko berrien garapenerako estrategia interesgarria izan zitekeela pentsatu zuten eta, hipotesi horri jarraituz, FAAH eta TRPV₁ blokeatzaile bikoitza den N-arakidonoil-serotonina (AA-5-HT) saguetan frogatu nahi izan zuten, PTZk eragindako konbultsioak inhibitzen eraginkorra den ala ez egiaztatzeko. Horrez gain, CB₁ aktibazioak eta TRPV₁ blokeoak AA-5-HTren efektuan ekarpenik zuten ere ebaluatu zuten. Proposatutako elkarrekintza hauek 12. irudian ageri dira.



12. irudia. Vilela eta kideek (2014) proposatutako ekintza konbultsioaren modulazioaren eredu hipotetikoa. BKS eta baniloidearen osagaien (AEA, FAAH entzima eta CB₁ eta TRPV₁ hartzaileak) eta drogen (ACEA, CB₁ agonista; AM251, CB₁ antagonista; SB366791, TRPV₁ antagonista; URB597, FAAH inhibitzailea; AA-5-HT, FAAH/TRPV₁ blokeatzaile bikoitza) arteko elkarrekintzak irudikatzen dira.

FAAH/TRPV₁ blokeatzailea erabiliz, PTZk saguetan piztutako konbultsioen hasiera atzeratzea eta iraupena murriztea lortu zuten, konposatu honen konbultsio aurkako efektuak frogatuz. Efektu hauek CB₁ antagonista erabiliz (AM251) itzuli ziren, baina TRPV₁ kanalaren antagonista selektiboak (SB-366791) ez zituen AA-5-HTren efektuak antzeratu. Hortaz, blokeatzaile bikoitzak konbultsioak arindu zituen saguetan, CB₁ antagonismoaren bidez inhibititu zitekeena, bere efektua nagusiki CB₁ hartzaile bidezkoa dela iradokiz; izan ere, TRPV₁ antagonista erabiliz ez zen antzeko efekturik behatu. Hau ikusita, epilepsia eta erlazioatutako sindromeen aurkako drogen garapenerako AA-5-HT ere estrategia berria izan daitekeela iradokitzen dute.

5. EZTABAIDA

Cannabis sativa landaretik isolatutako fitokannabinoideen eragina ehundaka urtetatik onartua izan da eta, orain, kannabis medikoak itxaropen handia ekarri du epilepsiaren tratamendurako egungo antiepileptikoen alternatiba edo terapia osagarri bezala. Hala ere, egungo mugak direla eta, Hofmann eta Frazierrek (2013) ondo adierazten duten bezala, gizakietan marihuana errea edo kannabinoide oralak eragile antiepileptiko bezala erabiltzearen alde egiten duten datu zientifikoak oso mugatuak dira. Gainera, epilepsiaren literaturan diren kasu-ikerketak mugatuak soilik ikusita, zaila da ondorio argirik ateratzea eta, momentuz, ezin baieztatu daiteke ziurtasunez kannabis bidezko automedikazioaren hipotesia bideragarria denik.

Hala ere, animalia eredu ugari frogatu dute kannabinoideen eraginkortasuna konbultsioen prebentzioan eta epilepsiaren hilkortasunaren murrizketan, aztertu berri ditugun emaitza guztiekin egiaztatu daitekeen bezala. Horrela, BKS terapia antiepileptiko berrien garapenerako helburu potentziala den ebidentziarik onena ez dator gizakietan egindako behaketa mugatuetatik, azken hamarkadetako ikerketa esperimentaletatik baizik. Izan ere, azken urteetan izugarritzko aurrerapena egin da seinalizazio sistema honen fisiologia sinaptiko eta zelularren ezagutzan. Horrela, konbultsioen animalia eredu ezberdinetan oraintsu egin diren ikerketek giza-azterketetan lortutako emaitza eztabaidagarriak hobeto ulertzen lagundu dute, eta hartzaile kannabinoideen aktibazioaren mekanismoa ulertzeak antzinatik ezagutzen den kannabinoideen konbultsio aurkako propietatearen oinarria azaltzen ere lagundu du.

Hortaz, oro har, barne kannabinoide seinalizazioari buruz ezagutzen dena arestian aztertu ditugun ikerketei zor zaie, besteak beste.

Horrela, esaterako, Wallace eta bere kideek (2002) AEA kannabinoide endogenoa eta bere O-1812 analagoa iraupen laburreko konbultsioen eredian aztertuz, kannabinoide konposatuek konbultsioak CB₁ menpeko eran blokeatzen dituztela eta CB₁ antagonistek (SR141716A erabiliz) barne kannabinoideen konbultsio aurkako efektu hau blokeatu eta konbultsio atalasea jaisten dutela (garunaren zurgarritasuna handituz) frogatu zutela ikusi dugu, CB₁ hartzaile kannabinoidea konbultsioen

modulaziorako gune endogeno bezala inplikatur. Ondoren, 2003an, BKSren eginkizuna frogatu zuten konbultsioen aktibitatearen modulazioan, sistemaren eginbidea adieraziz kitzikapen neuronalaren erregulazioan, eta, behatutako proteina adierazpen areagotua dela eta (hipokanpo epileptikoan era konpentsagarrian gerta daitekeena, konbultsio aktibitatea murrizten saiatzeko), epilepsian CB₁ hartzailen plastizitatea gertatzen dela ere iradokiz. Datu hauekin, CB₁ hartzaila eta BKS epilepsiarekin kontrolerako tratamenduaren helburu potentziala direla erakutsi zuten, alegia.

Hortaz, XX. mende hasierarako, bai Wallace eta kideek (2003), baita Lutzek (2004) erakutsi bezala, BKS konbultsioak bukatzeko barne mekanismo garrantzitsu bezala agertu zen.

2003an, Marsicanok eta bere kideek ere ekarpen handia egin zuten, BKS skeskaeraren araberako babes eskaintzen duela frogatuz eta AK-k induzitutako exzitotoxizitate akutuen aurreko ekintza neurobabeslea neurona glutamatergiko nagusietan dauden CB₁ hartzailen bidez gauzatzen dela egiaztatuz (CB₁ hartzailak dituzten neurona GABAergikoek ez dituzte neuronak AKren efektu exzitotoxikoetatik babesten). Gainera, babes hau neurona piramidalen kitzikapen neuronala murriztuz bakarrik ez ezik, ur-jauzi intrazelularrak piztuz ere gertatzen dela erakutsi zuten, bi mekanismoek batera jardun dezaketela adieraziz; batak babes azkarra emanik eta besteak iraupen luzeko aldaketa zelular moldagarrietan lagundu dezakeela azalduz, exzitotoxizitateak neurona zirkuituetan eragiten dituen kalteei erantzunez. Azken finean, BKS sk, NSZeko neuronetan, exzitotoxizitate akutuen aurkako eskakizunen araberako babes eskaintzen duela erakutsi eta, horrenbestez, sistema hau exzitotoxizitate gertakariak dituzten gaixotasun endekatzailen tratamendurako helburu terapeutiko garrantzitsua bihurtu daitekeen ideien alde egin zuten.

Ildo horretik jarraituz, Deshpandek eta bere kideek (2007) BKS modulatu duten eragile terapeutiko berriak estatus epileptikoaren tratamendurako aukera farmakologiko berri bat izan daitezkeela ere proposatu zuten, batez ere, kontutan izanik EEren tratamenduan oztopo nagusietako bat farmakoen eraginkortasun galera eta farmakoerresistentziaren garapena direla. Izan ere, ikusi dugun moduan, beraien ikerlanarekin metanandamida eta 2-AG barne kannabinoideek CB₁ hartzailaren

aktibazioaren bidez EE errefraktarioa era eraginkorrean blokeatzen duten ebidentzia sendoa lortu zuten.

Ludányi eta kideek (2009), ordurako BKSren eginkizuna ezagutuz, mezulari sistema kimiko honen zaugarritasuna ikertu zuten LTE gaixoetan, garun zirkuitu epileptikoetan gertatzen diren aldaketak deskribatu nahian. Horrela, asaldua neurologiko honen gaixoetan, ohiko tratamendu farmakologikoaren eraginkortasun ezak terapeutikoki erabilgarriak izan daitezkeen seinalizazio bide eraberritzaileak erabiltzea beharrezkoa egiten duela jakinik, eta berriki aurkitutako BKS etorkizun handiko bidea izan daitekeela kontuan hartuz, pausu bat aurrera eman zuten CB₁ hartzaileetan eta erlazionatutako elementu molekularretan emandako aldaketak aztertuz.

Aurkitutako ebidentzia guzti hauei esker, beraz, badakigu *in vivo* animalia ereduetan bukaera axoi glutamatergikoetan kokapen presinaptikoa duten CB₁ hartzaileen aktibazioak, bere barne-estekatzzaileen bidez (AEA edo 2-AG) edo agonista selektiboen bidez, efektu neurobablesle garrantzitsua duela eta konbulsio epileptikoak prebenitzen dituela (neurona hiperkitzikapenerakin erlazionatutako sintomak murriztuz kaltzio menpeko glutamato askapenaren murrizketaren bidez). CB₁ hartzaileen erauzketa genetikoak edo antagonista espezifikoek bidezko blokeo farmakologiko akutuak, ordea, konbulsio atalasea jaisten duela ere ikusi dugu, epileptogenesis erraztu eta heriotza zelular neuronal handituz, besteak beste.

Beraz, lortutako ebidentzietan oinarrituz, CB₁ hartzailea kannabinoideen efektu neurobablesle eta antikonbulsibo orokorren arduradun edo bitaterkari nagusia den hartzaile kannabinoide neuronal delako esan dezakegu eta, zalantzarik gabe, BKSren efektu hauek inplikazio terapeutiko garrantzitsuak dituztela. Hala ere, argi dago Δ⁹-THC bezalako kanpo kannabinoide naturalek eta sintetikoek ere pizten dituzten mekanismo hauek ebaluatzeko ikerketa gehiago behar direla, giza-erabilerara zabaldu aurretik.

Bestalde, TRPV1 kanalaren inguruan egindako ikerketa berriek bere funtzioak eta banaketa hasieran pentsatutakoa baino askoz zabalagoak direla erakutsi dute. Gainera, nerbio sistema zentralako gaixotasun ugariaren prozesu fisiopatologikoetan

inplikatuta dagoela ere egiaztatu da eta ikerlan esperimentalek TRPV1 hartzaileak epilepsiaren epileptogenesian ere inplikatuta daudela erakutsi dute.

Bhaskaran eta Smithek (2010), adibidez, LTE ereduari TRPV1 aktibazioaren efektuak behatzeko helburuarekin, pilokarpinak eragindako estatus epileptikoaren ostean, saguen hortz bihurgunean TRPV1 proteina maila areagotuak egiaztatu zituzten eta anandamida bezalako kannabinoide agonista indartsuek, TRPV1 aktibatuz, LTE induzitutako saguetan sinaptikoki berrantolatutako zirkuitu kitzikatzaileen aktibitatea aregotu dezakeela ere frogatu zuten. Gainera, AK-k eragindako TRPV1 aktibazioak hortz bihurgunearen zelula granularretan glutamato askapena handitzen duela ere frogatu zuten, baita efektu hori KPZk TRPV1 antagonista selektiboa erabiliz prebeni daitekeela ere. Hau da, beraien emaitzekin, ekintza gunearen arabera barne kannabinoideek CB₁ aktibazioaren bidez aktibitate sinaptikoa ezabatu ala TRPV1 hartzaileetan duten ekintzaren bidez kitzikapen sinaptikoa handitu dezaketela ohartarazi zuten.

Era berean, Sun eta kideek (2012) LTME gaixoen kortex tenporalean eta hipokanpoan TRPV1 hartzaileen adierazpen areagotua behatu zuten, neurona glutamatergiko eta GABAergikoetan banaketa patroi espezifikoak ere aurkituz. Horrela, ikusi den bezala, TRPV1 hartzailea giza LTME patogenesisian eta epileptogenesian inplikatuta egon daitekeela adierazi zuten, TRPV1 hartzailearen adierazpen gehituak eta bere aktibazioak, heriotza neuronala eraginez, LTMEren prozesu patologikoan zeregin garrantzitsua dutela ondorioztatu.

Bestalde, Chavez eta bere kideek (2010) barne kannabinoideek, ohiko zelula arteko atzeranzko seinalizazioaz gain, era intrazelularrean ere jardun dezaketela erakutsi zuten. Izan ere, CB₁ hartzaileen bidez neuronan kitzikakortasun intrintsekoa murrizteaz gain, TRPV1 hartzaileetan eraginez, AMPA motako hartzaileek bideraturiko transmisio sinaptikoa selektiboki ezaba dezaketela behatu zuten. Horrez gain, TRPV1 funtzionalen ebidentzia ere ematen zuten zelula granularretan, beste aurkikuntza batzuen artean.

Gonzalez-Reyes eta bere kideek (2013) ere hainbat ekarpen egin zituzten. Izan ere, oinarriko aktibitate neuronalean kapsaizina TRPV1 agonistaren konbultsio-aktibitate eragilea frogatzeaz gain, kapsaizinak erantzun antidromiko eta

ortodromikoen zabaltasuna ere handitzen duela behatu zuten, Bhaskaran eta Smithek behatutakoarekin bat etorri (kapsaizina ekintza potentzial menpeko eta ez menpeko gertakariak handitzen dituela). TRPV1 kanalak hipokanpoan era zabalean adierazten direla ere erakutsi zuten, bide neuronal epileptogenikoen modulazioan duten eginkizun funtzionala ere adieraziz, elementu neuronal eta glialak inplikatuz. Era interesgarrian, *in vitro* KPZ erabiliz saguetan aktibitate epileptiformea ezabatu zitekeela ikusi zuten, TRPV1 hartzaileen inaktibazioak epilepsiaren tratamenduan helburu terapeutiko berria eskain dezakeen ebidentzia gehiago eskainiz. Hortaz, orotara, lortu zituzten emaitzek droga antiepileptikoen garapena sustatzen dute, konbulsioen hedapena prebenitu eta kitzikakortasun orokorra murriztu dezaketena TRPV1 kanaletan eraginez.

Ordura arteko aurkikuntzak kontuan hartuz (Bhaskaran eta Smith, 2010; Sun et al., 2012; Gonzalez-Reyes et al., 2013), Socatak eta bere kideek (2015) α -espinasterola landare esteroidearen eraginak aztertu nahi izan zituztela ere ikusi dugu eta TRPV1 hartzaileak blokeatuz lorpen terapeutiko interesgarriak egiaztatu zituztela. Baina horretaz aparte, α -espinasterola landare eratorria da eta sendabide naturalak beti dira deigarriak, biologikoki aktiboak diren konposatuen urte askotarako iturri oparo bezala agertzen baitira ikertzaileentzako. Gainera, herritar medikuntzan erabilitako zenbait belarrek ere konbulsio aurkako aktibitatea dutela ikusi da, lan honetan aztertu diren kannabinoideak (*Cannabis sativa* landarearen eratorriak) horren adibide argia izanik. Beraz, ikertzaile hauek lortutako emaitzei esker, α -espinasterola konbulsio asalduren tratamendu berrien garapenerako helburu farmakologiko berriztat har daiteke.

Hortaz, aztertu diren ikerketa esperimentalen emaitzetan oinarriturik, badirudi TRPV1 kanala ere droga antiepileptiko berrien garapenarentzako helburu potentzial eraberritzailea izan daitekeela. Izan ere, TRPV1 kanalen inhibizioaren bidezko kaltzio metaketaren murrizketak epilepsiak hipokanpoko neuronetan piztutako kaltzio sarreraren aurkako eginkizun neurobabeslea lortu dezakeela azaltzen dute, TRPV1 kanalaren inhibitzaileak droga antiepileptiko berri bezala ikertzeko beharra dagoelarik. Gainera, gorantz ari den aurkikuntza izanik, ziur etorkizuneko ikerkuntzek TRPV1 kanalaren eginkizun gehiago ezagutzera emango dituztela.

Bestalde, AEAK bi sistemen gaineko efektua duela gogoratu, bi sistemak (kannabinoidea eta baniloidea) aztertzen dituzten ikerlanak ere aurkitu ditugu, Vilela eta bere kideena (2014) bezala, AA-5-HT (FAAH/TRPV1 blokeatzaile bikoitza) frogatu zutena. Erlazio honi esker, anandamidaren efektu biak uler ditzakegu, hots, konbulsio eragilea (dosi baxuagoetan) eta konbulsio aurkakoa (dosi altuagoetan) dela, TRPV1 eta CB₁ hartzaileak aktibatuz, hurrenez hurren.

Horregatik, barne kannabinoideek eta sintetikoek indar terapeutiko aldakorra dute, neurri batean kannabinoide estekatzaileek hartzaile mota ezberdinak lotu ditzaketelako. Izan ere, CB₁ hartzaileak lotzeaz gain, zenbait barne kannabinoide agonistek (agonista endokannabinoide eta endobaniloidea den AEAK bezala) TRPV1 ere aktibatzen dute, eginkizun bikoitza inplikatur hartzaile biak dituzten garun eremuetarako. Horregatik, beharrezkoa da barne kannabinoideen ekintza bikoitz hori ongi ulertzea BKSan oinarritutako terapia eraginkorrek diseinatu ahal izateko eta, horretarako, ikerketa gehiago beharrezkoak dira.

6. ONDORIOAK

Epilepsiaren ikerketa esperimentaletan ikusi bezala, kannabinoideek eta barne kannabinoideek garunean funtzio babeslea betetzen dute baldintza kitzikatzaileen aurrean, eta konbulsioetan zehar aktibatutako zirkuituen modulazioan ere parte hartzen dute. Beraz, egon badaude ebidentziak kannabinoideak epilepsia errefraktarioaren kontrolean erabil daitezkeela azpimarratzeko, baina hauen administrazioaren dosi menpeko eta iraupen luzeko efektuak sakonago ikertu behar dira. Izan ere, kannabinoideen albo efektu psikoaktiboen ondorioz, momentuz, tratamendua bideragarria ez bada ere, BKSren mekanismoei buruzko ezagutza zabalagoa funtsezkoa izango da etorkizunean portaera toxizitaterik eragiten ez duten konposatu eraberritzaileen garapenerako.

Horrela, marihuana medikoaren erabileraren inguruan dauden iritzi eta ikuspuntu ezberdinei irtenbidea emateko, beharrezkoa litzateke legeak aldatzea eta kalitate handiko saio klinikoak egitea, baita TRPV1 hartzailearengan efektuak dituzten botikekin ere. Izan ere, etorkizunean epilepsiaren tratamenduan erabili daitezkeen ala ez ziurtasun handiagoz jakiteko, iraupen luzeko efektuetatik lortu daitezkeen onura

eragin desiragaitzekin alderatu beharko litzateke. Hain zuzen ere, BKSren aktibitatea aldatzen duten drogak lehenik saio klinikoetan frogatu beharko lirateke eraginkortasuna, segurtasuna eta dosiak ezartzeko, baita epilepsia forma espezifikotarako indikazio egokiak ezartzeko ere.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Naziroglu M. TRPV1 Channel: A Potential Drug Target for Treating Epilepsy. *Curr Neuropharmacol*. 2015; 13 (2): 239-47.
2. Lutz B. On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochem Pharmacol*. 2004 Nov 1; 68 (9): 1691-8.
3. Trescher WH, Lesser RP. Epilepsias. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Jankovic J, editors. *Neurología clínica*. 5th ed. Barcelona: Elsevier; 2010. p. 1921-1958.
4. Rosenberg EC, Tsien RW, Whalley BJ, Devinsky O. Cannabinoids and epilepsy. *Neurotherapeutics*. 2015 Oct; 12 (4): 747-68.
5. Forcadas I, Garamendi I, Garcia A, Valle ME, Acera MA, Prats JM, Marinas A, Zarranz JJ. Epilepsias. In: Zarranz JJ. *Neurologia*. 5th ed. Madrid: Elsevier; 2013. p. 327-374.
6. Ropper AH, Samuels MA. Epilepsia y otros trastornos convulsivos. In: Roper AH, Samuels MA. *Adams y Victor Principios de Neurología*. 9th ed. México: McGraw Hill interamericana; 2009. p. 304-338.
7. 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 Oct 11; 452 (3): 295-301.
8. Katona I. Cannabis and Endocannabinoid Signaling in Epilepsy. *Handb Exp Pharmacol*. 2015; 231: 285-316.
9. Monory K, Massa F, Egertová M, Eder M, Blaudzun H, Westenbroek R, et al. The endocannabinoid system controls key epileptogenic circuits in the hippocampus. *Neuron*. 2006 Aug 17; 51 (4): 455-66.
10. Alger BE. Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. *Prog Neurobiol*. 2002 Nov; 68 (4): 247-86.

11. 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): 129-37.
12. Sun FJ, Guo W, Zheng DH, Zhang CQ, Li S, Liu SY, et al. Increased expression of TRPV1 in the cortex and hippocampus from patients with mesial temporal lobe epilepsy. *J Mol Neurosci*. 2013 Jan; 49 (1): 182-93.
13. 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): 52-9.
14. Hofmann ME, Frazier CJ. Marijuana, endocannabinoids, and epilepsy: potential and challenges for improved therapeutic intervention. *Exp Neurol*. 2013 Jun; 244: 43-50.
15. Grant I, Cahn BR. Cannabis and endocannabinoid modulators: Therapeutic promises and challenges. *Clin Neurosci Res*. 2005; 5 (2-4): 185-199.
16. Maa E, Figi P. The case for medical marijuana in epilepsy. *Epilepsia*. 2014 Jun; 55 (6): 783-6.
17. Pertwee RG. Targeting the endocannabinoid system with cannabinoid receptor agonists: pharmacological strategies and therapeutic possibilities. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2012 Dec 5; 367 (1607): 3353-63.
18. Alger BE. Seizing an opportunity for the endocannabinoid system. *Epilepsy Curr*. 2014 Sep; 14 (5): 272-6.
19. Marsicano G, Goodenough S, Monory K, Hermann H, Eder M, Cannich A, et al. CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science*. 2003 Oct 3; 302 (5642): 84-8.
20. Alger BE. Endocannabinoids and their implications for epilepsy. *Epilepsy Curr*. 2004 Sep-Oct; 4 (5): 169-73.
21. Ludányi A, Eróss L, Czirják S, Vajda J, Halász P, Watanabe M, et al. Downregulation of the CB1 cannabinoid receptor and related molecular elements of the endocannabinoid system in epileptic human hippocampus. *J Neurosci*. 2008 Mar 19; 28 (12): 2976-90.

22. Chávez AE, Chiu CQ, Castillo PE. TRPV1 activation by endogenous anandamide triggers postsynaptic LTD in dentate gyrus. *Nat Neurosci.* 2010 Dec; 13 (12): 1511-8.
23. Han J, Kesner P, Metna-Laurent M, Duan T, Xu L, Georges F, et al. Acute cannabinoids impair working memory through astroglial CB1 receptor modulation of hippocampal LTD. *Cell.* 2012 Mar 2; 148 (5): 1039-50.
24. Wilson RI, Nicoll RA. Endocannabinoid signaling in the brain. *Science.* 2002 Apr 26; 296 (5568): 678-82.
25. Ho KW, Ward NJ, Calkins DJ. TRPV1: a stress response protein in the central nervous system. *Am J Neurodegener Dis.* 2012; 1 (1): 1-14.
26. Gonzalez-Reyes LE, Ladas TP, Chiang CC, Durand DM. TRPV1 antagonist capsazepine suppresses 4-AP-induced epileptiform activity in vitro and electrographic seizures in vivo. *Exp Neurol.* 2013 Dec; 250: 321-32.
27. Socala K, Nieoczym D, Pieróg M, Wláz P. α -Spinasterol, a TRPV1 receptor antagonist, elevates the seizure threshold in three acute seizure test in mice. *J Neural Transm.* 2015 Sep; 122 (9): 1239-47.
28. Puente N, Reguero L, Elezgarai I, Canduela MJ, Mendizabal-Zubiaga J, Ramos-Uriarte A, et al. The transient receptor potential vanilloid-1 is localized at excitatory synapses in the mouse dentate gyrus. *Brain Struct Funct.* 2015 Mar; 220 (2): 1187-94.
29. Canduela MJ, Mendizabal-Zubiaga J, Puente N, Reguero L, Elezgarai I, Ramos-Uriarte A, et al. Visualization by high resolution immunoelectron microscopy of the transient receptor potential vanilloid-1 at inhibitory synapses of the mouse dentate gyrus. *PLoS One.* 2015 Mar 16; 10 (3): e0119401.
30. Bhaskaran MD, Smith BN. Effects of TRPV1 activation on synaptic excitation in the dentate gyrus of a mouse model of temporal lobe epilepsy. *Exp Neurol.* 2010 Jun; 223 (2): 529-36.
31. Vilela LR, Medeiros DC, P. de Oliveira AC, Moraes MF, Moreira FA. Anticonvulsant effects of N-arachidonoyl-serotonin, a dual fatty acid amide hydrolase enzyme and transient receptor potential vanilloid type-1 (TRPV1) channel blocker, on experimental seizures: the roles of cannabinoid CB1

- receptors and TRPV1 channels. *Basic Clinl Pharmacol Toxicol.* 2014 Oct; 115 (4): 330-4.
32. Naderi N, Shafieirad E, Lakpoor D, Rahimi A, Mousavi Z. Interaction between Cannabinoid Compounds and Capsazepine in Protection against Acute Pentylentetrazole-induced Seizure in Mice. *Iran J Pharm Res.* 2015; 14: 115-120.