

T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ

AGMATİNİN ANTİKOLVULSAN ETKİSİNDE ADENOSİNERJİK  
SİSTEMİN ROLÜ

**Proje No:** TSA-09-843

Proje Türü  
N. Araştırma

**SONUÇ RAPORU**

**Proje Yürütücüsü:**  
Yard.Doç.Dr. Zafer Sezer  
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

Araştırmacının Adı Soyadı  
Birimi/Bölümü  
Yard.Doç.Dr. Zafer Sezer  
Prof.Dr.Aydın Erenmemişoğlu  
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

Aralık 2012

KAYSERİ



## İÇİNDEKİLER

<b>1. ÖZET.....</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>3. GİRİŞ VE AMAÇ.....</b>	<b>3</b>
<b>4. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>4</b>
4.1 AGMATİN .....	4
4.2. ADENOZİN .....	4
4.3. KAFEİN .....	5
<b>5. MATERYAL METOD .....</b>	<b>6</b>
5.1. DENEY HAYVANLARI VE METOD.....	6
5.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	7
<b>6. BULGULAR.....</b>	<b>8</b>
<b>7. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>10</b>
<b>8. KAYNAKLAR.....</b>	<b>12</b>

## 1.ÖZET

### AGMATİNİN ANTİKONVULSAN ETKİSİNDE ADENOZİNERJİK SİSTEMİN ROLÜ

Bu çalışma farelerde pentilentetrazol (PTZ) ile oluşturulan nöbetlerde adenosin reseptörleri ve agmatin ilişkisini araştırmak için tasarlanmıştır. Agmatin (40, 80 ve 100 mg/kg intraperitoneally, i.p.) PTZ injeksiyonundan 30 dakika önce uygulandı. Diğer taraftan kafein (50 ve 100 mg/kg i.p.) agmatin veya serum fizyolojik injeksiyonundan 5 dakika önce uygulandı. PTZ injeksiyonundan sonra ilk miyoklonik çekilme, jeneralize klonik nöbet ve tonik gerilme başlangıç süreleri saniye olarak 10 dakika boyunca kaydedildi. Agmatin tonik gerilme başlangıç zamanını geciktirdi ve bu etki adenosin reseptör antagonisti kafein ile kısmen azaltılmıştır. Agmatin (100 mg/kg) ve kafein (100 mg/kg) farelerde lokomotor aktivite üzerinde etkisi yoktu. Sonuçlarımız; farelerde PTZ'ye karşı agmatinin antikovulsan etkisinde adenozerjik sistemin rolü olabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Agmatin, pentilentetrazol (PTZ), kafein, fare

## **2.ABSTRACT**

### **THE ROLE OF THE ADENOSINERGIC SYSTEM IN THE ANTICONVULSANT EFFECT OF AGMATINE**

The present study was designed to investigate the adenosin receptors-agmatine relationships in the pentylenetetrazole (PTZ) induced seizures in mice. Agmatine (40, 80 and 100 mg/kg intraperitoneally,i.p.) was administered 30 min. before PTZ (80mg/kg, i.p.) injection. On the other hand caffeine (50 and 100 mg/kg, i.p.) was administered 5 min. before agmatine(100 mg/kg) or saline injection. After PTZ injection, times of onset of the first myoclonic jerk(FMJ), generalized clonic seizures (GCS), and tonic extension (TE) were recorded as seconds during 10 min. Agmatine delayed the onset time of TE and it was attenuated by caffeine, adenosine receptor antagonist. Agmatine (100 mg/kg) and caffeine (100mg/kg) had no affect on the locomotor activity in mice. Our results demonstrated the possible involvement of adenosinergic system in the anticonvulsant effects of agmatine against PTZ in mice.

Keywords: Agmatine, pentylenetetrazole (PTZ), caffeine, mice

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

Epilepsi, dünya üzerinde 50 milyondan fazla insanı etkileyen ve mekanizması tam olarak anlaşılamamış nörolojik bir hastalıktır. Endojen biyolojik bir amin olan agmatinin santral sinir sistemi üzerinde çeşitli farmakolojik aktiviteleri gösterilmiştir; bunlar arasında çeşitli hayvan deneyleri ile gösterilmiş antinosiseptif, antidepresan, anksiyolitik benzeri, opioid ve alkol yoksunluk sendromlarını hafifletici ve antikonvulsan etkileri sayılabilir(1,2,3,4). Agmatinin belirgin antikonvulsan etkisini ortaya koyan çalışmalar yapılmış olmasına rağmen etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Sıçanlarda termal hiperaljezi modelinde agmatinin adenozin ile kombinasyonu durumunda, bu drogların tek başlarına uygulanmalarına kıyasla antinosiseptif etkiyi potansiyalize ettikleri bildirilmiştir(5). Diğer taraftan adenozin, adenozin A1 ve bazı adenozin A2A reseptör agonistlerinin antikonvulsan etkiye sahip oldukları daha önceden de bildirilmiştir(6)

Sonuç olarak bu çalışmadaki amacımız agmatinin faredeki antikonvulsan etkisinde adenozin reseptörlerinin rolünün olup olmadığını araştırmaktır. Dolayısıyla epilepsi tedavisinde daha spesifik, etkin veya daha az yan etkili yeni drogların geliştirilmesine yardımcı olunacaktır.

## 4.GENEL BİLGİLER

### 4.1 Agmatin

Agmatin (4-[aminobutyl]guanidine), mitokondrial bir enzim olan arginin dekarboksilaz ile L-arginininden sentezlenmektedir. Agmatinin santral sinir sisteminde fizyolojik rolü tam olarak anlaşılamamışsa da çeşitli biyolojik olaylarda rol aldığı gösterilmiştir. Başlıca; antidepresan (7,8), anksiyolitik, nöroprotektif ve antikonvulsif etkileri vardır(1,2,3,4). Agmatin, morfine tolerans gelişimini, morfin ve alkol yoksunluk sendromlarının oluşumunu engellemiştir(9). Uzun zamandır Amerikada vücut geliştirme sporu ile uğraşanlar tarafından yüksek dozda gıda takviyesi olarak alınmaktadır. Son yıllarda ilaç olarak klinik faz çalışmaları da devam etmekte olup henüz önemli bir yan etkisi de görülmemiştir(10).

Agmatinin çeşitli reseptör etkileşimlerinde gösterilmiştir; NMDA reseptörlerini bloke ettiği, NO sentaz enziminin 3 izoformunu da inhibe ettiği (11), santral sinir sisteminde alfa 2-adrenoseptörlerine ve imidazolin reseptörlerine bağlandığı (8) çeşitli yayınlarda bildirilmiştir. Ancak agmatinin antikonvulsan etkisinde adenozerjik sistemin rolüne dair literatür bilgisine rastlanılmamıştır.

### 4.2. Adenozin

Adenozin nöron ve glia hücreleri dahil birçok hücreden salınır. Adenozin, hücreler üzerindeki etkilerini G proteine bağlı reseptörler olan A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, A<sub>2B</sub> ve A<sub>3</sub> ile gerçekleştirir. Adenozin ve GABA ile etkileşerek glutamata bağlı nöronal uyarılmayı azaltmaktadır (12).

Adenozin santral sinir sistemindeki nöronları deprese eder ve beyin ventrikülleri içine enjekte edildiğinde sedatif ve antikonvulsan etki yapar. Bu maddenin SSS'deki nöronlarda etkilediği A<sub>1</sub> reseptörlerin kafein ve teofilin tarafından kompetitif bir şekilde antagonize edildiği gösterilmiştir. Bu reseptörler beyinde özellikle eksitatör sinir uçlarında bulunmuştur (13). Adenozin konvülziyonları önleyen endojen bir ajan olmasına karşın adenozin agonistlerinin antikonvülzan olarak kullanımını yan etkileri sınırlamaktadır (12).

Uzun süreli kafein almış veya adenozin A<sub>2A</sub> reseptörlerinden yoksun (A<sub>2A</sub> knockout) farelerde PTZ ile oluşturulan konvülziyonlar azalmıştır (14).

Farelerde PTZ ile konvulsiyon oluşturulan deneysel metotta, adenosin uygulanması sonrası nöbet eşiği yükselmiştir (15).

Adenozinin bilinen nöroprotektif etkisinin yanında nöronal hasar ve ölüme katkıda bulunduğunu gösteren yayınlarda vardır. Bu farklı etkilerinden farklı reseptör alt tipleri sorumlu olabilir (16)

### **4.3. Kafein**

Kafein metilksantin türevi alkaloiddir. Kafein, coffea(C) arabica, C.liberica, C. canephora bitkilerinin kavrulmuş ve öğütülmüş tohumundan ibaret olan kahvede (%1-2 oranında), ayrıca cola (% 2,5) ve çay içinde de (%1- 5) bulunur. Metilksantinlerin stimülan etkisi santral sinir sistemindeki adenezinerjik nöromodülatör sistemin sinir uçlarından salıverilen veya diğer tür sinirlerin uçlarından bir nöromodülatör olarak sızan adenezini antagonize etmelerine bağlıdır (12).

Kafein santral sinir sisteminde lokomotor aktivite üzerine etkileri doza bağlı olarak farklılık gösterir. Düşük dozlarda lokomotor aktivite üzerinde stimülan etki gösterirken yüksek dozlarda depresan aktivite göstermektedirler.



## 5. MATERYAL - METOD

### 5.1. DENEY HAYVANLARI VE METOD

Deneyleyler, psikofarmakolojik araştırmalar yapmaya uygun, 12 saat aydınlık-karanlık periyodunun sağlandığı, sıcaklığı ve nemi belirli sınırlar içinde sabit tutulan Erciyes Üniversitesi deneysel araştırma merkezinde (DEKAM) barınan yetişkin Balb-C erkek fareler (25-35g) üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Hayvanlar rasgele bir şekilde her grupta 8 hayvan olacak şekilde gruplara ayrılmıştır. Agmatin ve kafeinin belirli dozlarının lokomotor aktiviteye etkileri açık alan testi ile Ethovision videotracking sistemi (Noldus Ethovision, Commat Ltd.,Ankara) kullanılarak 30 dk. boyunca değerlendirildi.

Jeneralize tonik-klonik nöbet oluşturmak için intraperitoneal (i.p.) yoldan uyguladığımız pentilentetrazol (PTZ) (80 mg/kg) kullanıldı. PTZ sonrası hayvanlar ¼st¼ açık 80x80x40 cm plexiglas kutulara alınarak ilk miyoklonik ekilme (İM), yaygın klonik nöbet (YKN) ve tonik gerilme (TG) başlama s¼releri açısından gözlendi. S¼reler saniye olarak kayıt edildi. Nöbetlerin başlangıç zamanı en fazla 10 dakika ile sınırlandırıldı. Ancak hayvanların l¼p ölmediği 30 dakika boyunca gözlendi. Deneysel sonunda lmeyen hayvanlar servikal dislokasyonla ld¼r¼ld¼ (17,18).

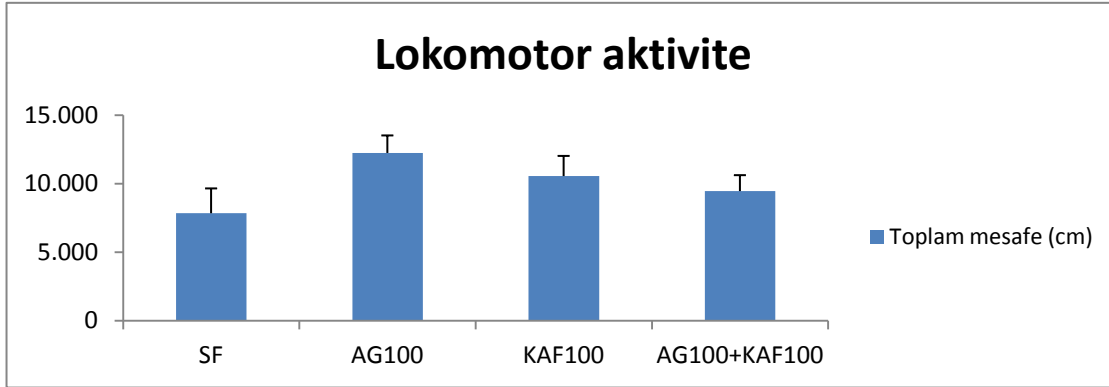
İlaçlarda PTZ, kafein ve agmatin, Sigma Chemical (USA) şirketinden alınmıştır. İlaçların hepsi deneyleylerden önce taze olarak 0.9% salinde z¼lm¼řt¼r. T¼m ilaçlar i.p. yoldan 10 ml/kg olacak şekilde uygulanmıştır. PTZ den 30 dakika önce agmatin, 35 dakika önce de kafein i.p. yoldan verildi. Kontrol grubuna ise aynı s¼relerde serum fizyolojik (SF) verildi.

## **5.2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Veriler IBM SPSS Statistics 20 ve SigmaStat 3.5 istatistik paket programlarında değerlendirildi. Sayısal değişkenlerin normalliğinin incelenmesinde Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren değişkenlerin grup karşılaştırmalarında tek yönlü varyans analizi, normal dağılım göstermeyen grupların karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak parametrik olmayan Student-Newman-Keuls testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin karşılaştırmalarında kıkare testinin exact yöntemi kullanıldı.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

## 6. BULGULAR

Agmatin 100mg/kg dozunda lokomotor aktiviteyi etkilemedi. Kafein 100mg/kg tek başına veya agmatin 100mg/kg ile birlikte uygulandığında da kontrol grubuna ve tek başına agmatin uygulanan gruba göre lokomotor aktiviteyi etkilemediği görüldü.(Şekil 1.)



Şekil 1. Serum fizyolojik (SF), Agmatin 100mg/kg (AG100), kafein 100mg/kg (KAF100) ve Kafein100mg/kg+ Agmatin 100mg/kg uygulamasının farelerde lokomotor aktivite üzerine 30 dakika süresince etkisi(gruplar n=8) Vertical çubuklar Standart Hatayı gösterir.

Farelerde, PTZ ile oluşturulan nöbetlerde agmatin 40mg/kg, 80mg/kg ve 100mg/kg dozunda İMÇ ve YKN açısından diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.(Tablo 1 ve 2). Agmatin her üç dozda İMÇ ve YKN başlangıç süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yok iken TG görülme süresini istatistiksel olarak uzatmıştır (Tablo 3). Ayrıca ölüm sıklığını da doza bağlı olarak düşürmüştür (Tablo 4). Kafein 100 mg/kg i.p. dozunda tek başına nöbetleri etkilememiştir. Ancak kafein 100 mg/kg ve 50 mg/kg her iki dozda da agmatinin 100mg/kg nöbete karşı koruyucu etkisini azaltmıştır.

Gruplar	Ortalama	Standart hata
SF	53.9	4.5
AG40	51.1	4.9
AG80	63.0	7.2
AG100	58.6	3.3
KAF100	55.0	3.2
KAF100+AG100	50.9	3.4
KAF50+AG100	59.6	3.9

Tablo 1. Farelerde PTZ(80mg/kg) i.p. ile oluşturulan nöbetlerde İMÇ başlama süreleri.(n=8) Kafein(CAF), Agmatin(AG), Serum fizyolojik(SF)

Gruplar	Median	25%	75%
SF	62.0	53.5	78.0
AG40	79.0	56.5	81.5
AG80	78.0	48.5	100.0
AG100	62.5	53.5	69.0
KAF100	71.0	63.5	76.5
KAF100+AG100	60.0	52.5	66.5
KAF50+AG100	63.5	56.5	81.5

Tablo 2. Farelerde PTZ(80mg/kg) i.p. ile oluşturulan nöbetlerde YKN başlama süreleri.(n=8) Kafein(CAF), Agmatin(AG), Serum fizyolojik(SF)

Kafein(CAF),

Gruplar	Median	25%	75%
SF	116.5 <sup>a,b,c,e,f</sup>	106.0	130.0
AG40	134.0 <sup>c,d,g</sup>	119.0	176.0
AG80	158.5 <sup>c,d,g</sup>	137.5	407.5
AG100	600.0 <sup>a,b,d,e,f,g</sup>	501.0	600.0
KAF100	118.0 <sup>a,b,c,e,f</sup>	106.5	130.0
KAF100+AG100	145.5 <sup>c,d,g</sup>	135.5	156.5
KAF50+AG100	152.5 <sup>c,d,g</sup>	144.0	162.5

Tablo 3. Farelerde PTZ(80mg/kg) i.p. uygulaması sonrası nöbetlerde tonik gerilme başlama süresi. Herbir grupta n=8. Kafein(CAF), Agmatin(AG), Serum fizyolojik(SF)  $H = 31.412$ ,  $p < 0.001$ . İstatistiksel fark (a); AG40, (b);AG(80), (c);AG100, (d); KAF100, (e); KAF100+AG100, (f); KAF50+AG100, (g);SF gruplara göre kıyaslanmıştır.

Droglar	Ölüm Oranı
SF	8/8
Agmatin 40 mg/kg	8/8
Agmatin 80 mg/kg	7/8
Agmatin 100 mg/kg	4/8*
Kafein100 mg/kg	8/8
Kaf ein100 mg/kg + Agmatin 100 mg/kg	8/8
Kafein 50 mg/kg + Agmatin 100 mg/kg	8/8

Tablo 4. PTZ(80mg/kg) i.p. uygulaması sonrası 30 dakika içinde ölüm oranı. Herbir grupta n=8

## 7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada agmatinin antikonvülsan etkisinin, adenozin reseptör antagonisti kafein ile azaltıldığı görülmüştür. Agmatinin antikonvulsif etkisi daha önce de birçok çalışmada gösterilmesine rağmen etki mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Örneğin, Arıcıoğlu ve arkadaşlarının fareler üzerinde PTZ ve Maksimal elektroşok (MES) modeli ile yaptıkları bir çalışmada agmatinin antikonvulsif etkisini göstermişlerdir. Ancak bu çalışmada nöbet başlama süresini uzatırken nöbet şiddetini artırmış ve hayatta kalma oranını doza bağlı olarak azaltmıştır ( 11). Çalışmamızda agmatinin benzer dozları ve epilepsi modeli kullanılmasına rağmen farklı olarak agmatin, nöbet başlangıcını etkilememiş ancak şiddetini azaltmış ve hayatta kalma oranını artırmıştır. Sonucun farklı olması farklı hayvan türleri ve cinsinin kullanılmasına bağlı olabilir.

Başka bir çalışmada agmatin (1mg/kg) subefektif dozda morfinin antikonvülsan etkisini artırmıştır. Bu etkinin yohimbinle bloke edilmesinden dolayı agmatinin antikonvülsan etkisinden alfa 2-adrenoseptörlerin sorumlu olabileceği düşünülmüştür (2).

Bir diğer farelerle yapılan çalışmada da agmatinin antikonvulsif etkisi luzindole (selektif  $ML_{1/2}$  reseptör antagonisti) ile azaltılırken prazosin (selektif  $ML_3$  reseptör antagonisti) ile etkilenmemiştir. Agmatinin bu etkisinden melatonin  $ML_{1/2}$  reseptörleri sorumlu olabileceği söylenmiştir (19) Bunun yanısıra agmatinin antikonvulsif etkisinden L-arginin/nitrik oxide yolunun sorumlu olabileceğini söyleyen araştırmacılar da vardır (20).

Adenozinerjik sistemin gerek PTZ, gerekse diğer metodlarla oluşturulan epileptik nöbetlerdeki önemi çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur. (6,12,15). Ancak agmatinin antikonvulsif etkisinde adenozin reseptörlerinin olası bir rolüne daha önce bakılmadığı için nonspesifik adenozin reseptör antagonisti kafein ile bu reseptörler üzerine etkisini inceledik.

Bir çalışmada kafein 92.4 mg/kg dozunda farelerde PTZ ile oluşturulan nöbetlerin eşliğini düşürdüğü gösterilmiş. Kafein 46,2 ve 69,3 mg/kg dozunda ise nöbet eşliği düşmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış. Kafeinin (69,3 ve 92,4 mg/kg) antiepileptik ilaçlardan etosüksimidin farelerde PTZ ile oluşturulan klonik nöbetlere karşı koruyucu etkisini zayıflattığı gösterilmiştir. Oysa aynı deney modelinde klonazepam, fenobarbital ve valproatın antiepileptik etkisini değiştirmemiştir. Beyinde bu ilaçların düzeylerinin de kafeinle değişmediği gösterilmiştir (21). Kafein bizim çalışmamızda olduğu gibi bu çalışmada da farelerin motor performanslarını etkilememiştir. Ancak, kafein bizim çalışmamızda 100mg/kg dozunda PTZ nöbetlerini etkilememesine karşılık Luscczki ve ark. çalışmasında kafein 92.4 mg/kg dozunda nöbet eşliğini düşürmüştür. Bu sonuç deney modelinin veya doz farklılığına bağlı olabilir

Agmatinin antikonvülzif etkisinin kafein tarafından zayıflatılmasında adenozin reseptör blokajı dışında agmatinin beyindeki düzeyinde etkilenmiş olabileceği düşünülebilir. Ancak daha önce Nikolic ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada kafeinin agmatinin sentezinde kullanılan arginin yıkımını azalttığı gösterilmiştir (22). Buna dayanarak biz de akut olarak uyguladığımız kafeinin agmatin düzeyine etkisini beklememekteyiz.

Sonuç olarak farelerde PTZ ile oluşturulmuş nöbetlerde agmatinin antikovulsan etkisinden kısmende olsa adenozinergik sistemin rolü olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi BAP birimi tarafından desteklenmiştir.

## 8. KAYNAKLAR

- 1- Su RS, Wei XL, Zheng JQ, Liu Y, Lu XQ, Li J. Anticonvulsive effect of agmatine in mice. *Pharm. Biochem. Behav.* 2004;77:345–349
- 2- Riazi K, Honar H, Homayouna H. et al The synergistic anticonvulsant effect of agmatine and morphine: Possible role of alpha 2-adrenoceptors *Epilepsy Research* 65 (2005) 33–40
- 3- Feng Y, LeBlanc MH, Regunathan S. Agmatine reduces extracellular glutamate during PTZ induced seizures in rat brain: A potential mechanism for the anticonvulsive effects. *Neurosci Lett.* 2005;390:129-133
- 4- Reis JD, Soundararajan R. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol. Sci.* 2000;21:187-193
- 5- Kekesi G, Joo G, Csullog E, Szabo MP, Benede G, Horvath G. Dose-independent antinociceptive interaction of endogenous ligands at the spinal level. *Brain Res.* 2004;1029:93-102
- 6- Pagonopoulou O, Efthimiadou A, Asimakopoulos B, Nikolettos NK. Modulatory role of adenosine and its receptors in epilepsy: Possible therapeutic approaches *Neurosci. Res.* 2006;56:14–20
- 7- Andre´a Dias Elpo Zomkowskia, Angelo Oscar Rosaa, Jaime Lina, Adair R.S. Santosb, Joaõ Batista Calixtoc et. al Evidence for serotonin receptor subtypes involvement in

agmatine antidepressant-like effect in the mouse forced swimming test  
Brain Research 2004;1023:253–263

8- Andrea D. E. Zomkowski, Luciana Hammes, Jaime Lin, Joao Batista Calixto, Adair Roberto S. Santos and Ana Lucia S. Rodrigues C.A. Agmatine produces antidepressant-like effects in two models of depression in mice. *Cognitive Neuroscience and Neuropsychology* Vol. 13 No.4 25, 2002

9-Soundar Regunathan, Agmatine: Biological Role and Therapeutic Potentials in Morphine Analgesia and Dependence *The AAPS Journal* 2006; 8 (3), 56

10-Molderings J.G., Haenisch B. Agmatine (decarboxylated l-arginine): Physiological role and therapeutic potential. *Pharmacology & Therapeutics* 2012;133:351–365

11-Aricioğlu F., Kan B., Yillar O., Korcegez E., Berkman K. Effect of Agmatine on Electrically and Chemically Induced Seizures in Mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003;1009: 141–146

12- Ribeiro J.A., Sebastião A.M., Mendonça A. Adenosine receptors in the nervous system: pathophysiological implications. *Progress in Neurobiology* 2003;68: 377–392

13- Kayaalp OS. Akılcıl tedavi yönünden tıbbi farmakoloji (13. baskı, II . cilt) Pelikan Kitapçılık, Ankara 2012 Yıl, ss. 903-906.

14-El Yacoubi M., Ledent C., Parmentier M., Costentin J., Vaugeois J.M., Evidence for the involvement of the adenosine A2A receptor in the lowered susceptibility to pentylentetrazol-induced seizures produced in mice by long-term treatment with caffeine. *Neuropharmacology* 55 (2008) 35–40

15- Akula K.K., Dhir A., Kulkarni S.K. Rofecoxib, a selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor increases pentylentetrazol seizure threshold in mice: Possible involvement of adenosinergic mechanism. *Epilepsy Research* (2008) 78, 60—70

16-Celik E., Uzbay I.T., Karakas S. Caffeine and amphetamine produce cross-sensitization to nicotine-induced locomotor activity in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2006;30:50 – 55

17- Kaputlu I, Uzbay T. L-NAME inhibits pentylentetrazole and strychnine-induced seizures in mice. *Brain Res* 1997;753:98–101.



- 18- Uzbay TI, Kayir H, Ceyhan M. Effects of tianeptine on onset time of pentylenetetrazole-induced seizures in mice: possible role of adenosine A1 receptors. *Neuropsychopharmacology* 2007;32:412–6.
- 19- Moezi L., Shafaroodi H., Hojati A., Dehpour A.R. The interaction of melatonin and agmatine on pentylenetetrazole-induced seizure threshold in mice. *Epilepsy & Behavior* 2011;22: 200–206
- 20- Bahremand A., Ziai P., Khodadad T.K., ett all. Agmatine enhances the anticonvulsant effect of lithium chloride on pentylenetetrazole-induced seizures in mice: *Epilepsy & Behavior* 2010;18:186–192
- 21- Luszczki J.J., Zuchora M., Sawicka M.K., Kozińska J., Czuczwar S.J. Acute exposure to caffeine decreases the anticonvulsant action of ethosuximide, but not that of clonazepam, phenobarbital and valproate against pentetrazole-induced seizures in mice. *Pharmacological reports*.2006;58:652-659.
- 22- Nikolic J., Bjelakovic G., Stojanovic I. Effect of caffeine on metabolism of L-arginine in the brain. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2003;244:125–128