

KRONİK NİKOTİN TEDAVİSİNİN PENTİLENTETRAZOL İLE OLUŞTURULAN NÖBETLERDE KAN-BEYİN BARIYERİ PERMEABİLİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Gülay ÜZÜM*, A.Sarper DİLER**, Y.Ziya ZIYLAN*

ÖZET

Organizmadaki çok sayıdaki değişik etkileri olan nikotinin son yıllarda, özellikle Alzheimer, Parkinson gibi hastalıklarda ve kognitif fonksiyonlarda oldukça önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar yoğunluk kazanmış olup bu hastalıklarda tedavi amaçlı olarak kullanılmasına da başlanmıştır.

Biz de bu çalışmada kronik nikotin kullanımının, epileptik nöbetlere ve çoğunluk nöbetlerle birlikte gözlenen kan-beyin bariyeri geçirgenliğinde bozulma ve bunun neden olduğu beyin ödemi üzerine olan etkilerini araştırdık.

Deneylerimizde kronik nikotin tedavisi 3 hafta 0.8mg/kg/gün s.c olarak uygulandı. Nöbetler ise tek doz 80 mg/kg i.p pentilentetrazol ile oluşturuldu. Kan-beyin bariyerinin morfolojik belirteci olan Evans mavisi ile yapılan kalitatif ve kantitatif ölçümler ve ayrıca spesifik gravite ile beyin ödemi oluşumu araştırıldı. Elde edilen sonuçlar kronik nikotin tedavisinin nöbetlere duyarlılığı azalttığı, kan-beyin bariyeri geçirgenliğini koruduğu ve beyin ödemi oluşumunu engellediğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Nikotin, pentilentetrazol, epileptik nöbet, kan-beyin bariyeri

SUMMARY

Effect of treatment with chronic nicotine on blood-brain barrier permeability in PTZ-induced seizures. Recently, nicotine's positive effects on the course of different diseases such as Alzheimer and Parkinson, have been studied apart from its widely investigated deleterious effect. In this study, the protective effects of nicotine against seizures, brain edema and blood-brain barrier breakdown was investigated. Nicotine was administered subcutaneously for 3 weeks at a dose of 0.8 mg/kg/day to male wistar rats and seizures were induced by pentylentetrazole at a single dose of 80 mg/kg. Chronic nicotine administration was found to decrease the susceptibility to seizures. It also decreased the blood-brain barrier permeability as assessed both qualitatively with a visual indicator (Evans Blue dye) and quantitatively with specific gravity measurements.

Key Words: Nicotine, pentylentetrazol, epileptic seizure, blood-brain barrier.

GİRİŞ

Beyin kapillerleri bazı özellikleri ile periferik damarlardan farklıdır. Bu özellikler sürekli bazal membran, endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (tight-junction), hidrofilik non-elektrolitlere karşı düşük permeabilite, yüksek elektriksel direnç, mitokondri sayısının fazlalığı, transendotelial kanallarının olmayışı, vezikül sayısının çok az oluşu, astrosit ayaklarının bazal membranı sarması, lüminal yüzeyde istenmeyen maddelerin dışarı çıkışını sağlayan P glikoprote-

in (PGP) bulunması, lüminal ve ablüminal membranlarda farklı transport sistemleri olarak sayılabilir. Tüm bu özellikler kan-beyin bariyeri (KBB) olarak tanımlanmaktadır. Bu morfolojik KBB' ye ek olarak serebral endotel hücrelerinin sitoplazmalarında enzimatik bir bariyerin varlığı da bilinmektedir (7,16). KBB bu özellikleri dolayısıyla merkezi sinir sisteminde (MSS) nöral homeostazisi sağlamaktadır. Ancak periferik değişikliklerin beyintarafından saptanması gereken bazı bölgeler (area postrema, pineal bez, alt komis-

sural organ, subfornikal organ, median emians, arkahipofiz ve supraoptik lamina) de KBB bulunmamaktadır.

Oldukça hassas dinamik denge ile beyin homeostazisini sağlayan KBB epileptik nöbetler, iskemi, akut hipertansiyon, hiperkapni, tümörler, ağır metal zehirlenmeleri gibi çeşitli patolojik koşullar ve hastalıklarda geçici ya da kalıcı olarak bozulabilmektedir (16).

Epileptik nöbetler sırasında artmış noronal aktivite nöronal hasara neden olmaktadır. Bu koşullarda ortaya çıkan nöronal hasarlanmanın patofizyolojisinde KBB geçirgenliğindeki değişimlerin de önemli rol oynadığı gösterilmiştir (1,16).

Nikotin MSS' de spesifik nikotik asetilkolin reseptörleri (nAChR) aracılığı ile nöroregülatör sistemleri doğrudan ve dolaylı yollardan etkileyerek fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal fonksiyonları değiştirebilmektedir. Yüksek dozda akut olarak uygulanan nikotin hipertansiyon ve epileptik aktivite ortaya çıkmasına, bunun sonucunda ise KBB geçirgenliğinde artışa neden olmaktadır (6,15). Ancak son zamanlarda yapılan bir çok çalışma da nikotinin KBB geçirgenliği üzerine koruyucu yönde de etkili olabildiği gösterilmiştir. Ayrıca Alzhemier, Parkinson gibi özellikle öğrenme, hafıza gibi beynin entellektüel fonksiyonlarının kötüleştiği ve nöronal hasarların ortaya çıktığı MSS hastalıklarında da terapötik etkileri saptanmıştır (5,8).

Ancak epileptik nöbetler üzerine ve özellikle nöbetlerin neden olduğu KBB permeabilitesine karşı koruyuculuğu henüz tartışmalıdır. Biz daha önce kronik nikotinin, akut nikotin ile oluşturulan nöbetlere ve KBB permeabilitesini koruyucu yönde bir etki gösterdiğini saptamıştık (15).

Bu çalışmada ise nikotinin bu etkisi yanında, KBB geçirgenliği artışının daima ortaya çıktığı bir durum olan epileptik nöbetler üzerine

olası bir koruyucu etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Nöbetlerin oluşturulmasında insandaki epileptik nöbetleri en iyi taklit edebilen Pentilentetrazol (PTZ) konvulzan ajan olarak kullanıldı.

MATERYAL ve METOD

Deneylerde ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen erişkin Wistar tipi erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar rastgele üç ana gruba ayrıldı.

1- Kontrol grubu: Sadece serum fizyolojik verilen grup.

2- PTZ grubu: Tek doz 80 mg/kg i.p PTZ uygulanan grup.

3- Kronik nikotin +PTZ grubu: Bu hayvanlarda nikotin ((-) Nicotine, SİGMA) 3 hafta süreyle 0.8 mg/kg/gün s.c. olarak uygulandı. Bu sürenin sonunda ise konvulzif doz olan 80 mg/kg i.p PTZ injeksiyonu yapıldı.

Bütün gruplardaki hayvanlara eter anestezisi altında bir femoral arter ve vene içleri heparin ile doldurulmuş polietilen kateterler taktıldı. Femoral venden %2 lik 2ml/kg Evans mavisi injekte edildi. Femoral arterden ise tüm gruplardaki sıçanların deney süresince kan basıncı kaydedildi (poligraf sistem, NİHON KOHDEN).

KBB permeabilite değişimlerinin makroskopik incelenmesi

KBB permeabilite değişimlerini incelemek için serum albumine bağlanan ve dolayısıyla intakt KBB ' ni geçemeyen Evans mavisi injeksiyonu yapıldı. Evans mavisi serum fizyolojik ya da PTZ injeksiyonlarından 5 dak. önce uygulandı. Damarlardaki boyanın temizlenmesi için 30 dak. sonra sol ventrikülden %0.9 luk NaCl ile 20 dak. perfüze edilerek beyinlerin yıkanması sağlandı. Hayvanlar dekapite edilip beyinler çıkarıldıktan sonra %10 formole konuldu. Daha sonra be-

yinden enine kesitler alınarak Evans mavisinin damar dışına çıkıp çıkmadığı makroskopik olarak incelenip boyanma derecesine göre 0,0.5, +1, +2, +3 olarak derecelendirildi.

Evans mavisinin spektrofotometrik metodla ölçümü

Evans mavisi uygulanmış sıçanlar perfüze edildikten sonra beyinler süratle çıkarılıp 6 bölgeye ayrıldı. Herbir bölgeden alınan doku parçaları beş kat %50 trikloroasetik asit içerisinde homojenize edildikten sonra 28.000 g'de 20 dakika santrifüjlendi. Süpernatanın absorbansı tampon körüne karşı 615 nm'de okundu. Değerler Evans blue $\mu\text{g}/\text{gr}$ doku olarak standart eğriye göre hesaplandı ⁽¹³⁾.

Spesifik gravite (SG) ölçümü

Beyin su ve protein içeriğini gösteren dolayısıyla KBB permeabilite artışı sonucu oluşacak ödemi saptamak amacı ile 8 farklı beyin bölgesinde SG ölçümü yapıldı. Nelson ve Maxwell'e ⁽¹⁰⁾ uygun olarak farklı yoğunluklardaki bromobenzen ve kerozen karışımlarından bir gradyan kolon hazırlandı. Deney sonunda hayvanlar hemendekapite edilip, beyinler hızla çıkarılıp buz üzerinde bölgelere ayrılarak 1mm büyüklüğündeki parçalar

kolona atıldı. Parçaların ulaştıkları son nokta kaydedilip daha önceden belirlenmiş standart eğriden SG ölçümleri yapıldı.

EEG kayıtları

Konvülziyonlar hem davranışsal olarak gözlemlendiği gibi poligraf sistem ile EEG kaydedilerek de saptandı. EEG kaydı her hayvandan fronto-parietal bölgeden iğne elektrodlar vasıtasıyla alındı. EEG kaydı sırasında hayvanların hareketinden oluşacak paraziti önlemek amacı ile femoral venden pavulon injekte edildi. Solunum pompa ile sağlandı.

Bulgular Student-t testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Kan basıncı değişimleri

Tablo 1'de görüldüğü gibi kontrol grubunda ortalama kan basıncı $100 \pm 6 \text{ mmHg}$ olarak kaydedildi. PTZ enjeksiyonları, arteryel kan basıncında ortalama 70 mmHg bir yükselmeye yol açtı (ΔP) ve bu artış ise 9 dak. sürdü (Δt). Kronik nikotin uygulanan hayvanlarda ise başlangıç arteryel kan basıncı $128 \pm 7 \text{ mmHg}$ 'ya yükseldi, ki bu değer kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı bulun-

Tablo 1. Kontrol, PTZ ve kronik nikotin grubunda kan basıncı değerleri (Ort. \pm SE) ve KBB yıkım derecesi

Deney grubu (Deney sayısı)	Ortalama arteryel kan basıncı (mmHg)				KBB yıkım derecesi				
	Başlangıç	Maksimal	ΔP	Δt (dak.)	0	+0.5	+1	+2	+3
Kontrol (8)	95 \pm 4	-	-	-	8	-	-	-	-
PTZ (8)	100 \pm 6	170 \pm 8*	70	9 \pm 2	-	-	3	4	1
Kronik nikotin									
+ (8)	128 \pm 7	162 \pm 5	34**	3 \pm 1 **	5	3	-	-	-
PTZ									

* : PTZ grubu başlangıç değeri ile ilişkili ($p < 0.001$)

** : PTZ grubu ile ilişkili ($p < 0.001$)

0 : KBB'de yıkım yok, +0.5: Lokalize açık mavi boyananlar, +1: Lokalize mavi boyananlar

+2 : Yaygın orta şiddette boyananlar, +3: Yaygın koyu mavi boyananlar

du ($p<0.05$). Kronik nikotin uygulanan sıçanlarda PTZ enjeksiyonlar ΔP de ancak 30-40 mmHg yükselmeye neden oldu ve bu, ancak 3 dak. sürdü (Δt).

KBB permeabilite değişimleri

PTZ enjeksiyonu sonucu nöbet gözlenen hayvanların beyinlerinde KBB'nin yıkıldığını gösteren EB boyanması saptandı (Tablo 1). Hem bu morfolojik boyanma hem de spektral analiz sonuçlarına göre ise PTZ uygulanan grupta özellikle korteks, talamus ve hipokampusta olmak üzere tüm beyin bölgelerinde KBB yıkımı gözlemlendi ($p<0.01$). Kronik nikotin uygulanan hayvanlarda PTZ verildiğinde ise KBB permeabilite değişimlerinin, Evans mavisinin görsel incelenmesi ve spektral analiz sonuçlarına göre hemen hemen beyin tüm bölgelerinde akut nikotin uygulanan sıçanlara göre çok daha düşük düzeylerde kaldığı gözlemlendi.

Ödem oluşumu (SG sonuçları)

Kronik nikotin +PTZ grubunda SG değerleri PTZ grubuna göre arttığı, yani kontrol değerlere yaklaşmış olduğu (özellikle korteks, talamus, hipokampus, ortabeyin) dolayısıyla serebral ödemin $p<0.05$ anlamlılık düzeyinde azaldığı saptandı (Tablo 2).

Nöbet oluşumu

Hem davranışsal hem de EEG kayıtlarında gözlenen spike şeklindeki çok yüksek voltajlı potansiyellerle saptanan nöbetlerin ortaya çıkışları (Şekil 2), akut PTZ uygulanan grupta ilk dakikada tonik klonik nöbetler olarak gözlemlendi, bu hayvanlarda 3. dakikada maksimuma ulaşan nöbetlerin intervallerle devam edip 10-15 dak. sonra azaldığı saptandı. Buna karşın 3 hafta süre ile nikotin uygulanan hayvanlarda PTZ enjeksiyonu ilk nöbetin görülme süresini (latans) 10 dakikaya kadar uzattığı gibi, şiddet ve sürelerini de azalttı.

TARTIŞMA

Nikotin KBB'ni koroid pleksusdan pasif difüzyon ve aktif transportla geçer. Daha sonra beyinde özellikle korteks, hipokampus, talamus ve bazal ganglionlar başta olmak üzere orta beyin, pons nigrostriatal ve mezolimbik dopaminerjik nöronlarda bulunan nAChR'leri aracılığı ile nörotransmitter salınımına neden olarak fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları modüle eder (8). nAChR'leri pentamerik yapıda ligand kapılı katyon (Ca^{++} ve Na^+) kanallarıdır. nAChR'leri α ($\alpha_2 - \alpha_9$) ve β ($\beta_2 - \beta_4$) alt ünite-

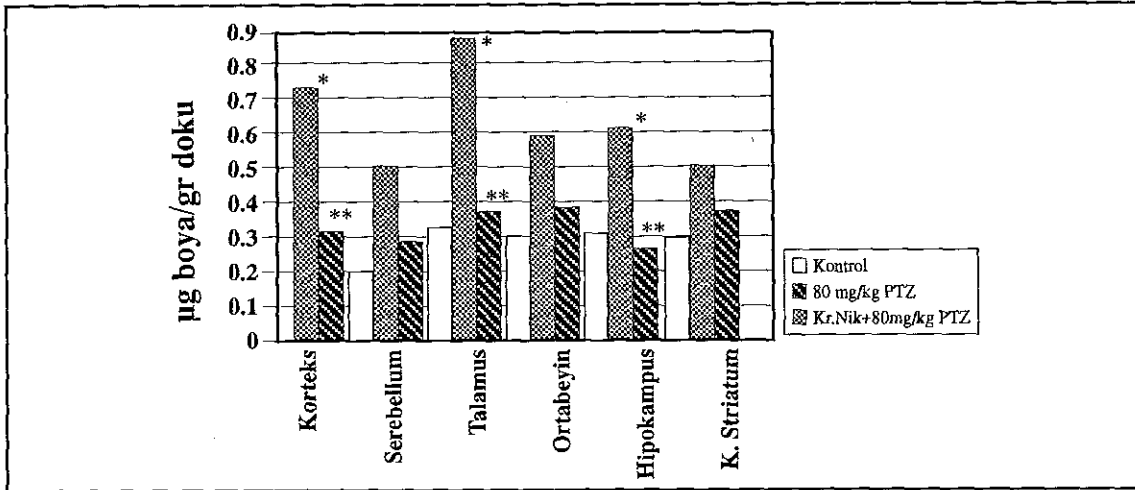
Tablo 2. Kontrol, PTZ, kronik nikotin grubunda spesifik gravite değerleri

Beyin bölgeleri (Deney sayısı)	Kontrol grubu (8)	PTZ grubu (8)	Kronik nikotin+PTZ grubu (8)
Hipokampus	1.0433	1.0398*	1.0428*
Orta beyin	1.0425	1.0396*	1.0417
Hipotalamus	1.0434	1.0391	1.0399
Talamus	1.0446	1.0407*	1.0439**
Kaudat nukleus	1.0439	1.0395	1.0425
Serebellum	1.0461	1.0417	1.0445
Ak madde	1.0433	1.0399	1.0425
Korteks	1.0445	1.0411	1.0439**

* : Kontrol grubu ile ilişki ($p<0.05$)

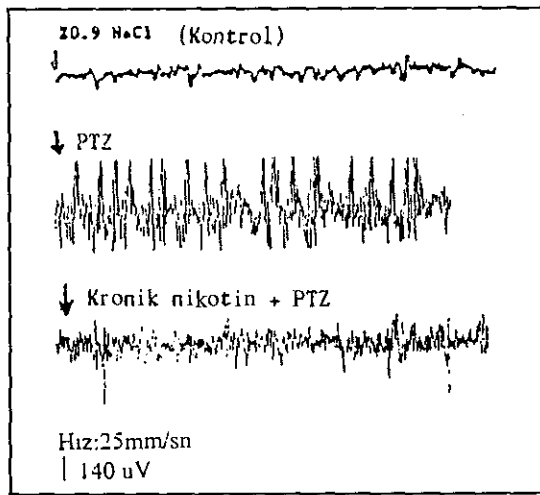
** : PTZ grubu ile ilişki ($p<0.05$)

Şekil 1. PTZ nöbetlerinde beyin dokusundaki evans mavisinin spektrofometrik ölçüm sonuçları ve kronik nikotinin etkileri



* Kontrol grubu ile ilişki ($p < 0.01$) ** PTZ grubu ile ilişki ($p < 0.01$)

Şekil 2. 80 mg/kg PTZ uygulanması ile oluşan nöbetlerde izlenen EEG traseri ve kronik nikotinin etkisi



lerinin farklı kombinasyonları şeklinde beyinde yaygın olarak bulunurlar ve farklı fonksiyonel profil sergilerler.

Subkonvulziv dozlarda kronik nikotin uygulaması, nAChR'lerinde allosterik değişim sonucu reversibl olarak inaktivasyon ya da desensitizasyona neden olduğu gösterilmiştir (5). Desensitize reseptörün agoniste ilgisi artmaktadır. nAChR'lerin agoniste uzun süreli maruz kalması diğer tüm reseptörlerde olduğu gibi downregülasyona değil, upregülasyona yani reseptör sayısında artışa neden olur (5). Nikotinin ya da nikotinik agonistle-

rin olumlu etkileri genellikle nAChR'lerin bu özellikleri ile açıklanmaktadır (4,5).

Nikotinin terapötik amaçlı kullanımı ile ilgili çalışmalar genellikle öğrenme, hafıza gibi beyin yüksek fonksiyonları ve bu fonksiyonların bozulduğu hastalıklar (Alzheimer, Parkinson gibi) ile ilgilidir. Alzheimer ve Parkinsonda fonksiyon bozukluğu olan beyin bölgelerinde nAChR'ü sayılarının azalmış olduğu, nöronal kayıp ve nörotransmitter (ACh ve dopamin) salınımının azalmış olduğu saptanmış bu nedenle de nikotin tedavisi Parkinsonda 1960'lar, Alzheimer'de 1980'lerden beri uygulanmaktadır (4).

nAChR'lerin farklı altünitelerine özgü agonistlerin saptanıp terapötik amaçlı kullanımı konusunda araştırmalara karşın, beyin normal fonksiyonlarını sürdürebilmesi için gerekli nöronal homeostazisi etkileyen epileptik aktivite ve ona eşlik eden KBB permeabilite artışına karşı nikotinin olası koruyucu etkisi araştırılmamıştır.

Şimdiye kadar nöbet oluşumu ve nöbete hassasiyette katekolaminerjik, serotonerjik ve GABA erjik sistemler üzerinde durulmuş, ancak nöbet aktivitesindeki kolinerjik özellikle de nikotinik sistemin önemine değinilmemiştir.

Buna rağmen az da olsa son zamanlarda yapılan çalışmalar, nikotin ile indüklenmiş nöbetlere duyarlılığın özellikle hipokampusta bulunan nAChR sayılarının fazla oluşu, nöbetlere direncin ise bu reseptörlerin kısa sürede desensitize olmaları ile ilgili olduğu rapor edilmiştir (9). Kronik nikotin kullanımının epileptik nöbetlere karşı koruyuculuğu genelde nikotinle indüklenmiş nöbetlerde araştırılmış olup kronik nikotinin, nikotinle indüklü nöbetlere duyarlılığı azalttığı saptanmıştır (6,15). Kainik asid ile indüklenmiş nöbetlerde de kronik nikotin koruyuculuğunun saptandığı bir çalışmada hem nöbete duyarlılığın azaldığı, hem de hipokampusta nöbet sonucu oluşan nöronal hasarın azaldığı elektronmikroskopik olarak saptanmıştır (2).

Kronik nikotin uyguladığımız sıçanlarda tek doz PTZ enjeksiyonu ile oluşturulan epileptik nöbetlerde KBB permeabilitesi ve nöbet oluşumu ile ilgili sonuçlarımız diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlarla uygunluk göstermektedir.

PTZ hem nöbet hem de akut hipertansiyon oluşturarak KBB permeabilite artışına neden olmaktadır (1,16). Akut hiperatnsiyonda ortaya çıkan KBB permeabilite bozukluklarında kan basıncının yükselme hızı, amplitüdü (ΔP) ve yüksek kan basıncının bu düzeyde kalış süresi (Δt) önemlidir. Kronik nikotin uygulanan hayvanlarda, nikotin başlangıç kan basınçları yükselterek PTZ uygulaması ile yükselen maksimal basınç AP yi KBB' ni yıkacak düzeye geritmesini önlemiş oldu. Ancak epileptik nöbetler ile akut hipertansiyonun beyinde KBB yıkımına neden oldukları bölgelerin tam olarak uyumsuzluğu bilinmektedir (16). Dolayısıyla epileptik nöbetlerde, kan basıncından başka faktörlerin de KBB permeabilite artışından sorumlu olacağı düşünülmelidir. Bunların başında PTZ' nin etkileştiği beyin bölgelerinde KBB'ni etkileyebilecek mikroçevre oluşumu, nörotransmitterlerin sahmını gibi faktörler kronik

nikotin kullanımı ile koruyucu yönde değişebilir.

Ayrıca KBB permeabilitesinin hormonal olarak da regüle edildiği rapor edilmiştir (17). Nikotin hipotalamo-hipofizer sistemden nAChR'leri aracılığı ile bir çok hormonun (argin vazopressin, prolaktin, ACTH, kortikotropin gibi) salınımına neden olmaktadır. Dolayısıyla ACTH aracılı bir koruma düşünülebilir. Nitekim ACTH'ın KBB permeabilite artışını azalttığına dair kanıtlar vardır (17).

Daha da önemlisi kronik nikotin kullanıldığında reseptör alt tipine ve desensitizasyon durumuna göre bazı hormonların salınım değişebilmektedir. Örneğin akut nikotin verilmesi prolaktin düzeylerini çok fazla yükseltirken kronik nikotin kullanımından sonra akut nikotin uygulanması prolaktin düzeylerinin bazal seviyede kalmasını sağladığı gözlenmiştir (3). Epileptik nöbetler snasında da prolaktin düzeylerinin anlamlı olarak yükseldiği saptanmış olup, nöbetlerin yayılması ve şiddetinden sorumlu olabileceği bildirilmiştir. Dolayısıyla kronik nikotin kullanımı prolaktin düzeylerini düşük tutarak nöbet şiddet ve sürelerinin azalmasını sağlayabilir. Bir diğer olası mekanizma nikotinin nAChR'leri aracılığı ile birçok nörotransmitterin(Ach, dopamin, adrenalin, serotonin gibi) sahmına neden olduğu, bunların yanında inhibitör nörotransmitter olan GABA salınımını da arttırdığı bildirilmektedir (4). Dolayısıyla GABA aracılığı ile de nöbet oluşumunu önlemiş ya da latansların uzamasına neden olmuş olabilir.

Sonuç olarak; kronik nikotin kullanımı, çalışmamızda direkt olarak gösterilmemiş olsa da nAChR'lerinde desensitizasyona neden olarak serebral damarların geçirgenliğini, nöbetlerin oluşum ve yayılmasını regüle eden nörotransmitter ve hormonların salınımını modüle ederek koruyuculuk sağlamış olabilir.

Ayrıca çalışmalardan elde edilen sonuçlar, nikotinik kolinerjik sistemlerin sadece nikotinle indüklenen nöbetlerde değil, genel olarak epileptik nöbet oluşumunda etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmanın sonuçları ışığında, epileptik nöbetlerde nikotinik kolinerjik sistemlerin agonist ve antagonistleri kullanılarak mekanizmayı anlamaya yönelik çalışmalarımız devam edecektir.

KAYNAKLAR

1. Ateş N, Üzüm G, Ziylan YZ: The cerebrovascular permeability and epilepsy: The role of blood pressure. *Neurosci Res Commun* 10:163-169 (1992).
2. Borlongan CV, Shytle RD, Ross SD, Shimizu T, Freeman TB, Cahilli DW, Sanberg PR: (-) Nicotine protects against systemic kainic acid-induced excitotoxic effects. *Exp. Neurol.* 136:201-265 (1995).
3. Bridget AH, Michael DL, Kneth JK: Effects of chronic administration of nicotine on prolactin release in rat: Inactivation of prolactin response by repeated injections of nicotine. *J Pharmacol Exp Ther.* 252:21-25 (1990).
4. Court JA, Perry EK: CNS Nicotinic receptors; possible therapeutic targets in neurodegenerative disorders. *Pharmacol Ther.* 2:216-233 (1994).
5. Dani JA, Heinemann S: Molecular and cellular aspects of nicotine abuse. *Neuron.* 16:905-908 (1996).
6. DeFiebre, C, Collins AC: Decreased sensitivity to nicotine induced seizures as a consequence of nicotine pretreatment with long-sleep and short-sleep mice. *Alcohol.* 5:55-61 (1988).
7. Diler AS, Üzüm G, Lefauconnier JM, Ziylan YZ: Biology and physiology of the blood-brain barrier. *Advances in behavioral biology*, 46 (Pierre-Olivier Cauraud, Daniel Scherman) Plenum Press, New York, 333-338 (1996).
8. Lewin ED: Nicotinic systems and cognitive function. *Psychopharmacol.* 108:417-431 (1992).
9. Lucinda LM, Michael JM, Allan CC: Relationship between nicotine-induced seizures and hippocampal nicotinic receptors *Life Sci* 37:75-83 (1985).
10. Nelson S, Manz M: Use of specific gravity in the measurement of cerebral edema. *J. Appl. Physiol.* 30:268-271 (1971).
11. Nitsch C, Kiatzo I: Regional patterns of blood-brain barrier breakdown during epileptiform seizures induced by various convulsive agents *J Neurol Sci* 59:305-322 (1983).
12. Petit CK, Schaefer JA, Plum F: Ultrastructural characteristics of the brain and blood-brain barrier in experimental seizures. *Brain Res* 127:251-277 (1977).
13. Rössner N, Tempel K: Quantitative bestimmung derpermeabilitätsänderungen an der bluthirnschranke für Evansblau (T1824). *Med Pharmacol. Exp* 14:169-182 (1966).
14. Summers KL, Glacebini E: Effects of local and repeated systemic administration of (-) nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine and serotonin in rat cortex. *Neurochem Res* 20:753-759 (1995).
15. Üzüm G, Çurgunlu S, Hacıoğlu M, Ercan S, Diler AS, Ziylan YZ: Protective effect of chronic administration of nicotine on neuronal and vascular functions in the brain. *Eur J Neurosci Supp* 6.93:358 (1993).
16. Ziylan YZ, Ateş N: Age-related changes in regional patterns of blood-brain barrier breakdown during epileptiform seizures induced by pentylentetrazol. *Neurosci. Lett* 96:179-184 (1989).
17. Ziylan YZ, Lefauconnier JM, Bernard G, Bourre JM: Hormonal influence on the permeability of the blood-brain barriers effects an analog of adrenocorticotrophic hormone, BI-24 corticotropin. *Neurosci Lett* 151:59-63 (1993).