

NİFEDİPİNİN SIÇANDA PENİSİLİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSSEL EPİLEPSİYE ETKİSİ¹

Faruk BAĞIRICI, Fatih M. GÖKÇE, Cafer MARANGOZ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Geliş Tarihi: 07.08.1999

The Effect Of Nifedipine On Experimental Epilepsy Induced By Penicillin In Rat

SUMMARY

Calcium ions have important roles on the regulation of cellular functions. It is thought that calcium flux into the cell is the first step of epileptic neuronal events. In the present study, the effect of nifedipine on experimental model epilepsy induced by intracortical (i.c.) penicillin administration was investigated. The left cerebral cortex was exposed by craniotomy in urethane-anaesthetized rats. The epileptic focus was produced by injection of penicillin G potassium (500 units) into the somatomotor cortex. Microinjection of nifedipine into the same area caused 25-55 % decrease in the average number and amplitude of spikes for 3-6 minutes ($p<0.01$). The 100 μ M dose of nifedipine was more effective than 50 μ M ($p<0.05$). The results of this study suggest that nifedipine may be an anticonvulsant agent inducing its effect by preventing calcium flux into the cell.

Key Words : Epileptiform Activity, Nifedipine, Rat.

ÖZET

Hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde kalsiyum iyonları çok önemli role sahiptirler. Kalsiyum iyonlarının hücre içine girişinin epileptik nöronal olayların ilk basamağını oluşturduğu düşünülmektedir. Sunulan çalışmada, intrakortikal penisilin uygulanması ile oluşturulan deneysel epilepsi modeline nifedipinin etkisi araştırıldı. Üretan ile anestezi edilen sıçanlarda sol serebral korteks kraniyotomi ile açığa çıkarıldı. Somatomotor kortekse 500 ünite penisilin G potasyum verilerek epileptik odak oluşturuldu. Aynı bölgeye nifedipin mikroenjeksiyonu, spike sayısında ve spike yüksekliğinde 3-6 dakika süreyle % 25-55 oranında azalmaya neden oldu ($p<0.01$). 100 μ M'lık doz 50 μ M'lık dozdan daha etkili idi ($p<0.05$). Bu çalışmanın sonuçları, nifedipinin hücre içine Ca^{++} girişini önleyerek etki eden, bir antikonvulsan ajan olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler : Epileptiform aktivite, Nifedipin, Sıçan

GİRİŞ

Epilepsi çok yaygın bir nörolojik hastalık olup, dünya nüfusunun yaklaşık % 1'inde görülmektedir. Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde 1990 yılı itibarıyla tüm yaş gruplarında 2 milyondan fazla hasta tesbit edilmiştir (1). Peni-

silin ile oluşturulan deneysel epilepsi modeli, insanda gözlenen nöbetlere kısmen benzemekte, penisilin öncelikle dendritleri etkilediği ve gama-amino bütirik asit (GABA) sistemiyle etkileştiği düşünülmektedir (2). Somatomotor

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Araştırma Fonu Tarafından T. 128 No'lu proje olarak desteklenen bu çalışma, 29 Eylül - 4 Ekim 1997 tarihleri arasında Adana'da düzenlenen Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 23. Ulusal Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

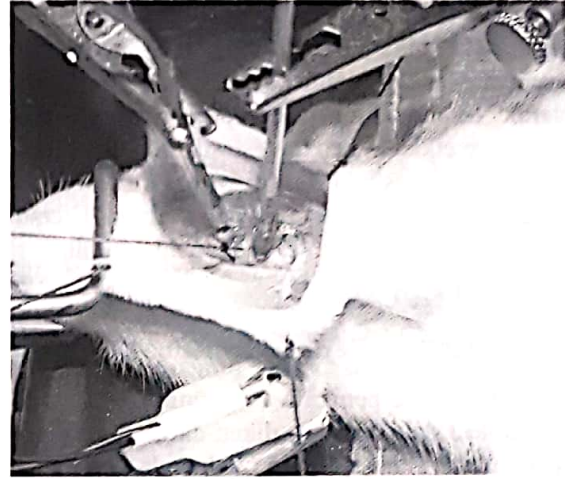
korteks yüzeyine lokal penisilin uygulanması elektrokortikogramda kısa süreli bir inhibisyonu takiben epileptiform potansiyeller (diken-dalga aktivitesi) görülmesine yol açmaktadır (3).

Kalsiyum iyonlarının hücre içine girişi epileptik nöronal olayların ilk basamağını teşkil eder (4-8). Dihidropiridin gurubu bir ajan olan nifedipin L-tipi kanallara etkili bir kalsiyum kanal blokeridir (9). Birçok kalsiyum kanal blokeri maddenin çeşitli deneysel epilepsi modelleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Ancak, bazı kalsiyum antagonisti ajanların, farklı deneysel epilepsi modellerinde etkili olmadıklarını bildiren çalışmalar da vardır (10-12). Sunulan çalışmada, bu önemli nörolojik hastalığın tedavisine katkı sağlanması amacıyla, nifedipinin penisilin modeli deneysel epilepsiye etkisi, korteks altı yapıları etkilemeden, doğrudan korteks içine (i.c.) madde verilmesi yöntemiyle araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

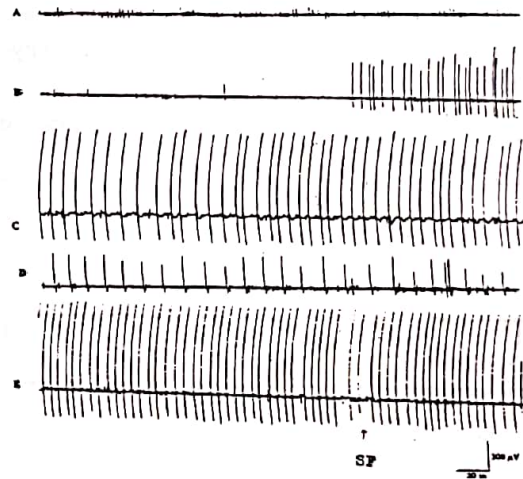
Deneyler, ağırlıkları 150-200 gram arasında değişen, 30 adet erişkin erkek albino Wistar sıçanlarda yapıldı. Hayvanlar ortalama oda sıcaklığı 20 °C olan ve güneş ışığı alan laboratuvar şartlarında muhafaza edildiler. Deney yapılacak olan sıçanlar 12 saat öncesinden operasyon için aç bırakıldı. Üretan (1.25 gr/kg, i.p.) genel anestezisi altında, sol serebral korteks üzerindeki kemik tur motoruyla inceltülerek kaldırıldı. Kafa derisine 4 ayrı köşeden sütür bağlanarak sıvı vazelin havuzu oluşturuldu. Sağ femoral artere polietilen kanül takılarak kan basıncı 100 mmHg'nin üstünde tutuldu. Hayvan stereotaksik alete (Harvard Instruments) yerleştirildi (Şekil 1).

Daha sonra, somatomotor korteks üzerine iki adet Ag-AgCl top elektrom, kulağa referans elektrom yerleştirildi. Beyin aktivitesi bir poligrafla (Grass, 79 F) kaydedildi (Şekil 1). Bazal aktivite kaydını takiben, epilepsi odağı oluşturmak amacıyla sol somatomotor kortekse, Bregma hattının 1.5-2 mm lateraline, 1 mm önüne ve 1.5-2 mm derinliğe Hamilton mikroenjektörü ile 500 ünite (2.5 µl hacim içinde) penisilin G potasyum verildi. On deneyde, epileptiform aktivite maksimum düzeye eriştikten sonra, nifedipini çözmek için kullanılan solüsyon (% 5 Dimetil Sülfoksit, % 5 etil alkol ve % 90 serum fizyolojik) verilerek iki saat süreyle kontrol kayıtları alındı (Şekil 2).



Şekil 1 : Kayıt işlemi yapılırken, hayvanın stereotaksik alete tesbit edilmiş haldeki görünümü.

Vücut sıcaklığı bir homeotermik battaniye (Harvard Homeothermic Blanket) ile 36.5-37 °C arasında sabit tutuldu.



Şekil 2. 500 ünite penisilin intrakortikal enjeksiyonundan sonra elektrokortikogramda (ECOG) kaydedilen epileptiform aktivite

A. Bazal aktivite B. Penisilin 1-5. dakikası

C. Penisilin 30-35. Dakikası D. Penisilin 180-185. dakikası E. Serum fizyolojinin (SF) etkisi

Nifedipin her deney için taze olarak ve 1-şiktan korunması için renkli şişelerde hazırlandı.

Kalsiyum kanal blokeri nifedipin 50 ve 100 µM dozlarında çalışıldı. Birkaç hayvanda penisilinle epileptiform aktivite oluşturulmadan önce nifedipinin beyin bazal aktivitesini etkilemediği test edilerek gözlemlendi. Nifedipinin her bir dozu en az 10 kez denendi. Nifedipinin spike

sayısına ve spike yüksekliğine olan etkisi her bir doz için ayrı hesaplandı. Veriler, ortalama \pm SD olarak tesbit edildi. Nifedipinin epileptiform aktiviteye etkisi Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, dozlar arasında farklılık olup olmadığı ise Mann Whitney U testi ile analiz edildi. Üretan ve nifedipin Sigma firmasından temin edildi.

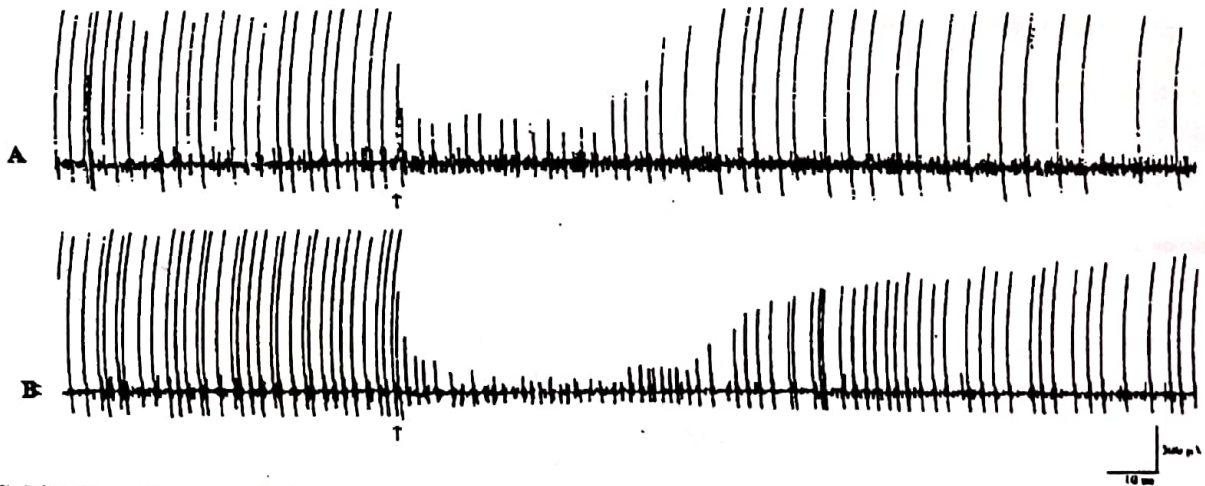
BULGULAR

Penisilinin Beyin Aktivitesine Etkisi

Kristalize penisilin (500 ünite, i.c.) verildikten 4 \pm 2 dakika sonra diken-dalga deşarjı ortaya çıkmaya başladı. 15. dakikada, ortalama spike sayısı 13 \pm 3.1/dk, ortalama spike yüksekliği de 845 \pm 318 μ V oldu. 30. dakikada epileptiform aktivite maksimum düzeye erişerek ortalama spike sayısı 23 \pm 2.2/dk'ya, ortalama spike yüksekliği 1270 \pm 160 μ V'a ulaştı. Yaklaşık 80-90 dakika bu düzeyde devam eden epileptiform aktivite 120. dakikadan itibaren azalmaya başladı. 150. dakika civarında spike sayısı 14 \pm 2.8/dk'ya, spike yüksekliği 833 \pm 285 μ V'a düştü. Penisilin verilmesinden yaklaşık 180 dakika sonra ise epileptiform aktivite kaybolmaya başladı (Şekil 2).

Tablo 1: 50 ve 100 μ M Nifedipinin Spike Sayısına Olan Etkisinin Kontrolün Yüzdesi Olarak İfadesi (Nif. Nifedipin).

Doz	Kont-rol	1.dk	2.dk	3.dk	4.dk	5.dk	6.dk	7.dk	8.dk	9.dk	10.dk
Nif 50	100	74.9	74.9	74.9	81.0	86.2	97.2	97.9	100	99.8	100
Nif100	100	47.5	37.0	40.6	70.3	90.0	90.0	92.2	100	99.8	100



Şekil3. Penisilin modeli deneysel epilepside (A) 50 μ M , (B) 100 μ M Nifedipinin epileptiform aktiviteye etkisi (Ok işareti nifedipinin verildiği anı gösteriyor).

Nifedipinin Spike Sayısına Etkisi

Nifedipinin 50 μ M'lık dozu sıçan somatomotor korteksine verilmeden önceki frekans ortalaması 24.7 \pm 2.0/dk idi. Verildikten sonra ilk 3 dakika 18.5 olarak devam eden dakikadaki ortalama spike sayısı 4. dakikadan itibaren 20, 21.3, 24 olarak eski değerine ulaştı (Şekil 3A).

Nifedipinin 100 μ M'lık dozu uygulanmadan önceki spike sayısı 21.9 \pm 0.8 /dk. iken, verildikten sonra 1. dakikada 10.4, 2. dakikada 8.1, 3. dakikada 8.9 oldu. Dördüncü dakikadan itibaren 15.4, 19.7, 20 şeklinde artarak 5-6 dakika içinde madde verilmeden önceki değerine erişti (Şekil 3B). Elli μ M'lık doz 3 dakika süreyle ($p < 0.05$), 100 μ M'lık doz ise ilk 4 dakika süreyle etkili bulundu ($P < 0.01$).

Nifedipinin spike sayısı üzerine olan etkisinin doza bağımlı olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. 100 μ M nifedipin dozu 50 μ M doza göre daha etkili idi ($P < 0.05$). Her 2 dozun sebep olduğu spike sayısındaki değişimin % ifadesi Tablo 1'de görülmektedir.

Nifedipinin Spike Yüksekliğine Etkisi

Nifedipinin 50 μM dozu kortekse enjekte edilmeden önceki spike yüksekliği 1266 ± 173 μV idi. Nifedipin verildikten sonra dakikalar içinde 605, 973, 1147, 1175, 1212, 1260 μV şeklinde yükselerek eski değerine erişti (Şekil 3A).

Nifedipinin 100 μM 'lık dozu uygulanmadan önceki ortalama amplitüd 1286 ± 149 μV idi. 1. dakikada 717 μV , 2. dakikada 559 μV , 3. dakikada 751 μV olan amplitüd ortalaması 4.

dakikadan itibaren 961, 1026, 1120, 1185, 1230 μV olarak yükseldi ve 6-7 dakika içinde eski değerine ulaştı (Şekil 3B).

Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 50 μM 'lık doz 3 dakika süreyle, 100 μM 'lık doz ise 6 dakika süreyle spike yüksekliğinde azalmaya sebep oldu ($p < 0.01$). 100 μM 'lık dozun daha etkili olduğu tesbit edildi ($p < 0.05$). Her 2 dozun sebep olduğu spike (diken) yüksekliğindeki değişimin % ifadesi Tablo 2'de görülmektedir.

Tablo 2: 50 ve 100 μM Nifedipinin Spike Yüksekliğine Olan Etkisinin Kontrolün Yüzdesi Olarak İfadesi (Nif. Nifedipin).

Doz	Kont rol	1.dk	2.dk	3.dk	4.dk	5.dk	6.dk	7.dk	8.dk	9.dk	10.dk
Nif 50	100	47.8	44.8	66.4	92.8	95.7	99.8	100	99.8	99.7	100
Nif 100	100	55.8	43.5	58.4	74.7	79.8	87.1	92.1	95.6	99.0	100

TARTIŞMA

GABA_A reseptörünün aracılık ettiği inhibisyon beyindeki ana inhibitör nöronal oluşum olarak kabul edilir. Konvülsan aktivitenin temelinde bu inhibisyonun zayıflaması vardır (13). Bu yolla ortaya çıkan epileptiform deşarjlar NMDA ve non-NMDA reseptörlerinin antagonistleri ile azaltılabilir (14, 15).

Epileptik aktivitenin oluşumuna katılan diğer bir mekanizma; membrandan aşırı Ca⁺⁺ iyonunun nöron içine akışıdır (16). Hücre düzeyinde, eksitator nörotransmitterlerin salınımı, hücre içine giren Ca⁺⁺ iyon miktarına bağlıdır (17).

Kortekse direk olarak penisilin uygulanması, bir inhibitör nörotransmitter olan GABA'nın etkisini bloklar (18). Bir kortikal bölgede, inhibisyon miktarının azalması, nöron gruplarının davranışı üzerinde çok önemli etkiye sahiptir ve konvülsan bir ilacın uygulanması, hücrede morfolojik değişikliklere sebep olmaksızın akut fokal epilepsi oluşturur (18). Sullivan ve Osorio i.p. yolla penisilin G vererek ratlarda epileptik aktivite oluşturmuşlardır (19). Waiden ve arkadaşları da korteks yüzeyine lokal penisilin uygulamışlar ve 4-5 dakika sonra elektrokortikogramda epileptiform potansiyeller görüldüğünü bildirmişlerdir (3). Bu çalışmada

da, intrakortikal penisilin uygulanmasından sonra 4±2 dakika içinde diken-dalgalar ortaya çıkmıştır. Penisilin önce dentritleri etkilediği ve sonra GABA sistemiyle etkileştiği düşünülmektedir (2).

Marangoz ve arkadaşları (20) 500 ünite intrakortikal penisilin enjeksiyonunun bilateral spikeler ve diken-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform ECoG aktivitesi oluşturduğunu bildirmişlerdir. Penisilin merkez sinir sisteminde GABA aracılı inhibisyonu baskıladı, korteksten glutamat salınımını artırdığı ve muhtemelen epileptiform aktiviteyi bu şekilde oluşturabileceği ileri sürülmüştür (20).

Aşırı Ca⁺⁺ iyonunun nöron içine girişi epilepsi oluşumunda çok önemli bir etkindir (21). Bir nöronun depolarizasyonu presinaptik voltaja bağımlı Ca⁺⁺ kanallarından Ca⁺⁺ iyonunun içeri girmesine neden olur ve hücre içinde artan Ca⁺⁺, eksitator nörotransmitterlerin, özellikle glutamatın salınımına yol açar (21). Glutamat, kimyasal kapılı iyon kanallarını (NMDA, Kainat, Quisqualat), özellikle NMDA'yı uyararak Na⁺ ve Ca⁺⁺ iyonlarının hücre içine girmesine; Na⁺ iyonuna bağlı depolarizasyon oluşumuyla voltaja bağımlı Ca⁺⁺ kanallarının açılması sonu-

cunda aşırı Ca^{++} iyonunun hücre içine girmesine sebep olur (22). Bu çok miktardaki Ca^{++} iyonunun içeri girişinin, nöbet esnasında oluşan nöron deşarjını başlatan tetik olduğu düşünülmektedir (23). Nöbet esnasında ekstrasellüler Ca^{++} 'un azaldığı (24) ve intrasellüler Ca^{++} 'un arttığı (23) gösterilmiştir. Epileptogenezde Ca^{++} 'un hücre içine girişi bu kadar önemli olunca, tedavide Ca^{++} kanal blokerlerinin faydalı olabileceği akla gelmektedir (25).

Daha önceki çalışmalarda nifedipinin; sıçanlarda kainik asit ile oluşturulan nöbetlerin süresini kısalttığı (26), intraperitoneal yolla verildiğinde pentilenetetrazol (PTZ) nöbetlerini inhibe ettiği (27), dihidropiridin kalsiyum agonisti Bay K 8644, NMDA ve PTZ ile oluşturulan nöbetleri önlediği (24), yine PTZ ile oluşturulan nöbet eşliğini yükselttiği, oluşmuş nöbetlere karşı antikonvulsan etkili olduğu ve etosüksimidin antikonvulsan etkisini artırdığı (24), farelerde kainatın intraserebroventriküler uygulanması ile oluşturulan nöbetlerin süresini kısalttığı (26), 2.5 mg/kg intraperitoneal dozda verildiğinde maksimal elektroşok ile oluşturulan konvulsiyonların eşliğini yükselttiği, difenilhidantoin ve karbamazepin ile birlikte verildiğinde onların etkilerini belirgin şekilde artırdığı (25), beyin omurilik hasarını takiben antiiskemik etki gösterdiği (29), NMDA agonisti ile oluşturulan neokortikal nöronal hasarı hafiflettiği bildirilmiştir (30). Bunların yanında 20

mg/kg nifedipin intraperitoneal yolla verildiğinde pikrotoksin konvulsiyonlarını bloklamadığı da kaydedilmiştir (12). Tanabe ve arkadaşları nifedipinin antiepileptik etkisinin voltaja bağımlı iyon kanallarından L-tipi kanallar üzerinden olduğunu bildirmişlerdir (31-33). Sayer ve arkadaşları nifedipin ve nimodipinin mikromolar konsantrasyonlarda kanallardan iyon akımını % 40-50 oranında blokladığını bildirmişlerdir (34). Sunulan çalışmada da; nifedipinin intrakortikal penisilinle oluşturulan epileptiform aktiviteye yaklaşık % 50 oranında etkili olduğu bulunmuştur. Etkinin kısa süreli olması maddenin uygulanış metodundan kaynaklanmaktadır. Çünkü, in vitro hipokampal ve kortikal preparatlarda maddelerin süperfüzyonu ile tüm doku sürekli olarak yıkanmakta ve ortam uygulanan madde ile doldurulmaktadır. In vivo intraserebroventriküler çalışmalarda ise, çalışılan maddeler infüzyon metodu ile beyin omurilik sıvısına devamlı olarak pompalanmaktadır. Oysa bu çalışmada, madde mikromolar konsantrasyonlarda, intrakortikal yolla ortama bir defada verilmektedir. Çok kanlanan bir doku olan beyindeki lokal kan akımı ile çevre dokuya difüzyonu yoluyla madde dilüe olmakta ve ortamdaki konsantrasyonu birkaç dakika içinde düşmektedir.

Sunulan çalışma, nifedipinin epilepsi tedavisinde faydalı bir ajan olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Hauser WA, Hesdorffer DC. Epilepsy : Frequency, causes and consequences. New York, Demos, 1990.
2. Harris GL, Harris AB, Wick C. Penicillin effects on cortex synaptic vesicle uptake of horseradish peroxidase. Brain Res 1979;161: 361-366.
3. Walden J, Straub H, Speckmann EJ. Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. Acta Neurologica Scandinavica (Suppl.) 1992;150: 41-46.
4. Speckmann E.J., Schulze H, Walden J. Epilepsy and calcium. Urban and Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1986.
5. Caspers H, Speckmann EJ, Lehmenkühler A. D.C. potentials of the cerebral cortex. Seizure activity and changes in gas pressure. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol 1987; 107:127-178.
6. Heinemann U. Changes in the neuronal micro environment and epileptiform activity. In: Wieser, H.G., Speckmann, E.J., Engel, J., (Eds.), The epileptic focus. John Libbey, London, Paris, 1987; 27-44.
7. Lücke A, Speckmann EJ, Altrup U, et al. Decrease of free calcium concentration at the outer surface of identified snail neurons during paroxysmal depolarisation shifts. Neurosci. Lett 1990; 12: 190-193.

8. Speckmann EJ, Walden J, Bingmann D. Contribution of calcium ions to epileptogenesis. *Journal of Basic and Clinical Physiol. Send Pharmacol* 1990; 1: 95-105.
9. Dunlop K, Luebke JL, Turner TJ. Exocytotic Ca²⁺ channels in mammalian central neurons. *Trends Neurosci* 1995; 18: 89-98.
10. Popoli P., Pezzola A. and Scotti, de C.A., 1988. Effects of calcium antagonist nimodipine on pentylenetetrazol induced seizures in rats and rabbits. *Arch. Int. Pharmacodyn., Ther.*, 292, 58-67.
11. De Sarro, G.B., Meldrum B.S. and Nistico G., 1988. Anticonvulsant effects of some calcium entry blockers in DBA/2 mice. *Br. J. Pharmac.*, 93, 247-256.
12. Tusell JM, Vendrell M, Serratose J, et al. Lindane-induced convulsions in NMRI and OF1 mice: antagonism with (+)-MK-801 and voltage-dependent calcium channel blockers. *Brain Res* 1992; 593: 209-214.
13. Straub H, Köhling R, Speckmann EJ. Picrotoxin-induced epileptic activity in hippocampal and neocortical slices (guinea pig): suppression by organic calcium channel blockers. *Brain Research* 1994; 658: 119-126.
14. Lee WL, Hablitz JJ. Involvement of non-NMDA receptors in picrotoxin-induced epileptiform activity in the hippocampus. *Neurosci. Lett* 1989; 107: 129-134.
15. Lee WL, Hablitz JJ. Initiation of epileptiform activity by excitatory amino acid receptors in the disinhibited rat neocortex. *J Neurophysiol* 1991; 65: 87-95.
16. Speckmann EJ, Walden J. Antiepileptic effects of organic calcium channel blockers in animal experiments. In Schwartzkroin, P.A., (Ed.), *Epilepsy: Models, Mechanisms, and Concepts*, Cambridge University Press 1993; 462-486.
17. De Lorenzo RJ. Antagonistic action of diphenylhydantoin and calcium on the level of phosphorylation of particular rat and human brain proteins. *Brain Research* 1977; 134: 125-138.
18. Martin HJ. The collective electrical behaviour of cortical neurons: the electroencephalogram and the mechanism of epilepsy. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., and Jessell, T.M., (Eds.), *Principles of Neural Science*. Third Ed., New York, Amsterdam, Elsevier Science Publishing 1991; 77-791.
19. Sullivan HC, Osorio L. Aggravation of penicillin-induced epilepsy in rats with locus ceruleus lesions. *Epilepsia* 1991; 32(5): 591-596.
20. Marangoz C, Ayyıldız M, Açar E. Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. *NeuroReport* 1994; 5: 2454-2456.
21. Uemastu D, Araki N, Greenberg JH, et al. Alterations in cytosolic free calcium in the cat cortex during bicuculline-induced epilepsy. *Brain Res Bull* 1990; 24: 285.
22. Kandel ER, Schwartz J. Directly Gated Transmission at Central Synapses. In Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., (Eds.), *Principles of Neural Science*. Third Ed., New York, Amsterdam, Elsevier Science Publishing 1991; 153-172.
23. Heinemann U, Lux HD, Gutnick MJ. Extracellular free calcium and potassium during paroxysmal activity in the cerebral cortex of the cat. *Expl. Brain Res* 1977; 27: 237-243.
24. Rodger C, Pleuvry BJ. Protective effect of flunarizine and nifedipine alone and in combination with anticonvulsant drugs against PTZ-induced seizures in mice. *Neuropharmacology* 1993; 32: 257-263.
25. Braun DE, Freed WJ. Effect of nifedipine and anticonvulsants on kainic acid-induced seizures in mice. *Brain Research* 1990; 533: 157-160.
26. Larkin JG, Thompson GG, Scobie G, Forrest G, Drennan JE, Brodie, M.J. Dihydropyridine calcium antagonists in mice: blood and brain pharmacokinetics and efficacy against pentylenetetrazol seizures. *Epilepsia* 1992; 33(4): 760-769.
27. Palmer GC, Stagnitto ML, Ray RK, et al. Anticonvulsant properties of calcium channel blockers in mice: N-Methyl - D-, L-Aspartate and Bay K 8644-induced convulsions are potently blocked by the dihydropyridines. *Epilepsia* 1993; 34 (2): 372-380.
28. Czuczwar SJ, Chodkowska A, Kleinrok Z, et al. Effects of calcium channel inhibitors upon the

- efficacy of common antiepileptic durg. *European J Pharmacol* 1990; 176: 75-83.
29. Van der Zee C, Schurman T, Gerritsen R, et al. Beneficial effect of nimodipine on peripheral nerve function in aged rats. *Neurobiology of Aging* 1990; 11: 451-456.
 30. Weiss JH, Hartley DM, Koh J, et al. The calcium channel blocker Nifedipine attenuates slow excitatory amino acid neurotoxicity. *Science* 1990; 247: 1474-1477.
 31. Tanabe T, Beam KG, Powell JA, et al. Restoration of excitation-contraction coupling and slow calcium current in dysgenic muscle by dihydropyridine receptor complementary DNA. *Nature* 1988; 336, 134.
 32. Tanabe T, Beam KG, Adams BA, et al. Regions of the skeletal muscle dihydropyridine receptor critical for excitation - contraction coupling. *Nature* 1990; 346: 567-572.
 33. Tanabe T, Mikami A, Numa S, et al. Cardiac type excitation - contraction coupling in dysgenic skeletal muscle injected with cardiac dihydropyridine receptor cDNA. *Nature* 1990; 344: 451-453.
 34. Sayer RJ, Brown AM, Schwindt PC, et al. Calcium currents in acutely isolated human neocortical neurons. *Journal of Neurophysiology* 1993; 69: 1596-1606