

Sıçan Serebellumunda Kadmiyumun Neden Olduğu Purkinje Hücre Kaybına Nikardipinin Etkisi

Dr. Hayri GENÇ, Dr. Faruk BAĞIRICI, Arş.Gör. Şerif DEMİR,
Arş. Gör. Aygül GÜNEY

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, SAMSUN

- ✓ Sunulan çalışmada, intrakortikal yolla kadmiyum sülfat ve kalsiyum antagonisti nikardipin verilen sıçanlarda, serebellum Purkinje hücre yoğunluğundaki değişimler incelendi.

Hayvanlar üç gruba ayrıldı. Birinci gruba serum fizyolojik, ikinci gruba kadmiyum sülfat (0.0021 mg/kg) ve üçüncü gruba kadmiyum sülfat (0.0021 mg/kg) + nikardipin (1 mg/kg) verildi. Sıçanlar bir hafta süreyle gözlem altında yaşatıldı. Sadece üçüncü gruptaki sıçanlara, bu süre boyunca nikardipin (10 mg/kg/gün, i.p.) uygulandı. Bir hafta sonra tüm hayvanlar intrakardiyak yolla perfüzyona alındı. Serebellumdan elde edilen seri frontal kesitler Thionin boyama yöntemiyle boyandı. Purkinje hücreleri x400 büyütme ile ışık mikroskopunda sayıldı.

Purkinje hücre yoğunluğu kontrol grubunda, sağ yarımkürede 20.53 ± 0.69 /mm (ortalama±SH), sol yarımkürede 20.46 ± 0.47 /mm; kadmiyum grubunda sağ hemisferde 13.36 ± 0.58 /mm, sol hemisferde 13.23 ± 0.44 /mm; kadmiyum + nikardipin grubunda sağ hemisferde 16.36 ± 0.69 /mm, sol hemisferde 16.00 ± 0.84 /mm olarak bulundu. Çalışmanın sonuçları; kadmiyumun nörotoksik etkili olduğunu, nikardipinin ise nöronları kadmiyumun toksik etkisinden koruduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

Anahtar kelimeler: Serebellum, hücre ölümü, kadmiyum, nikardipin, sıçan

- ✓ **Effect of Nicardipine on Cadmium-Induced Purkinje Cell Loss in Rat Cerebellum**

In the present study, changes in Purkinje cell density of rat cerebellum after intracortical cadmium sulphate ($CdSO_4$) and nicardipine, a calcium antagonist administration have been investigated.

Animals were divided into three groups. First group received saline while the second group received $CdSO_4$ (0.0021 mg/kg) and the third group received $CdSO_4$ (0.0021 mg/kg) and nicardipine (1 mg/kg). Rats were then survived for seven days under physical observation. Only the third group received daily nicardipine injection (10 mg/kg/day, i.p.) during this period. After one week all animals were perfused intracardially. Serial sections obtained from cerebellum were stained by Thionin staining method. Purkinje cells were counted under 400x magnification of a light microscope.

Purkinje cell density is found to be 20.53 ± 0.69 /mm in right and 20.46 ± 0.47 /mm in left hemisphere of control group; 13.36 ± 0.58 /mm in right and 13.23 ± 0.44 /mm in left hemisphere of cadmium group; 16.36 ± 0.69 /mm in right and 16.00 ± 0.84 /mm in left hemisphere of cadmium + nicardipine group. These results suggest that cadmium has neurotoxic effects and nicardipine may protect neurons from cadmium-induced toxicity ($p < 0.05$).

Key words: Cerebellum, cell death, cadmium, nicardipine, rat

GİRİŞ

Nörotoksisite ve epilepsi gibi nörolojik hastalıklar ile kobalt, demir, alüminyum ve nikel gibi metaller arasında yakın ilişki olduğu bilinmektedir⁽¹⁾. Deney hayvanlarında, demirin^(2,3), kobaltın⁽⁴⁻⁷⁾ ve çinkonun⁽⁸⁻¹²⁾ nörotoksisiteye ve epileptiform aktiviteye neden oldukları daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Sigara dumanında ve kirli havada bulunan ağır metal yapısındaki kadmiyumun (Cd) da nörotoksik olup olmadığı merak konusu olmuştur. Günde 6 mg/kg kadmiyuma maruz bırakılan farelerin beyininde ve diğer organlarında kadmiyum birikimi olduğu ve nörotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir⁽¹³⁾. Yetişkin farelerin beyin zarı içine 0.4 mg/kg kadmiyum verildiğinde, hipokampus hariç tüm beyin bölgelerinde nöron hasarı saptanmıştır⁽¹⁴⁾. Somatomotor kortekse intrakortikal (i.c.) yolla 0.0021 mg/kg kadmiyum sülfat enjekte edildiğinde serebellumda önemli miktarda Purkinje hücre kaybına neden olduğu tespit edilmiştir⁽¹⁵⁾.

Nöron ölümünden suçlanan maddelerden birisi kalsiyum iyonudur. Organizmadaki birçok hücrenin aktivasyonunda ve iskemi oluşumunda hücre içindeki serbest kalsiyum düzeyinin büyük önemi vardır⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Kalsiyum iyonlarının hücre içine girişi epileptik nöronal olayların da ilk basamağını teşkil etmek-tedir⁽¹⁹⁻²²⁾.

Sunulan çalışmanın amacı, kadmiyumun serebellumdaki Purkinje hücreleri üzerine olan etkisini araştırmak ve eğer nörotoksik etkisi varsa bir dihidropiridin gurubu kalsiyum kanal blokeri olan nikardipinin bu etkiyi nasıl değiştirdiğini tesbit etmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada ağırlıkları 150 ile 260 gram arasında değişen 30 adet erişkin erkek albino Wistar sıçanlar kullanıldı. Hayvanlar kontrol, kadmiyum ve kadmiyum + nikardipin olmak

üzere üç gruba ayrıldı. Bütün gruplar aynı laboratuvar şartlarında beslendi. Operasyon ortamındaki şartların semisteril olması sağlandı. Operasyona başlamadan bir gece önce hayvanlar aç bırakıldı. Genel anestetik olarak ketamin hidroklorür (100 mg/kg, i.p.) kullanıldı. Anesteziye giren hayvan stereotaksik alete (David Kopf) bağlandı. Kafa derisi tıraş edildi. Temizlenen bölgedeki deri bisturi ile rostra-kaudal istikamette 3-3,5 cm. kesildi. Kesilen bölge penslerle kenarlara doğru açıldı ve Bregma açığı çıkarıldı. Bregmanın 1.5 mm sol lateralinde, diş hekimliğinde kullanılan tur motoruyla (BM 9 tipi) 1.5-2 mm çapında delik açıldı. Kanama olmamasına özen gösterildi. Kafatası kemiğini delme işlemine dura belirgin hale gelinceye kadar devam edildi. Hayvanın vücut ağırlığı dikkate alınarak 1 µlt'de 0.0021 mg/kg bulunacak şekilde hazırlanan (10.5 mg 3CdSO₄.8H₂O'dan alınarak distile suyla 50 ml'ye tamamlandı) kadmiyum sülfat mikroenjektörle (Hamilton) korteksin 1 mm derinliğine yavaşça verildi. Mikroenjektör bir süre enjeksiyon bölgesi üzerinde tutuldu ve ilacın geri kaçması engellendi. Kontrol grubu hayvanlarda da aynı işlemler yapıldı. Fakat kadmiyum sülfat yerine aynı miktarda serum fizyolojik verildi. Kadmiyum + nikardipin grubuna ise, kadmiyum sülfatın verildiği bölgenin yanına (1 mg/kg, i.c.) nikardipin enjekte edildi.

Operasyon tamamlandıktan sonra açılan deri dikilerek kapatıldı. Yaranın üzeri antiseptik sıvı ile temizlendi ve hayvanlar dinlenmeye bırakıldı. Hayvanlar gözlem altına alınarak davranış değişiklikleri kaydedildi. Hayvan gruplarından, kontrol ve kadmiyum grubu yedi gün süreyle gözlem altında yaşatıldı, bu süre içinde hayvanlara herhangi bir işlem uygulanmadı. Kadmiyum + nikardipin grubu hayvanlara yedi gün süreyle intraperitoneal olarak nikardipin (10 mg/kg

i.p.) verildi. Her üç grubun hayvanları da yedinci günün sonunda yine ketamin anestezisi altında perfüzyona alındı. Perfüzyon sırasında pH'si 7.2'ye ayarlanmış %10'luk formaldehit ile fizyolojik su kullanıldı. Cerrahi olarak açığa çıkarılan kalbin sol ventrikülüne fizyolojik su kanülü takıldı ve yine bu kanüle bağlanmış bir enjektörle sulandırılmış (1/6) heparin (2 ml) verildi. Bu sırada sağ atrium ince bir makas yardımıyla kesilerek kanın dışarıya akması sağlandı. Diğer taraftan takılan kanül yardımıyla fizyolojik su verilmeye başlandı. Fizyolojik su verilmesi işlemine kan akışı berraklaşınca kadar devam edildi. Kan tamamen berrak hale gelince fizyolojik su musluğu kapatılarak formaldehit musluğu açıldı. Sadece beynin perfüzyonunu sağlamak amacıyla abdominal arterler pens yardımıyla kleplendi. Perfüzyon işleminin bitip bitmediğini anlamak için hayvanın yüz kaslarındaki sertleşmeler belli aralıklarla pensle kontrol edildi. Sertleşme olduğundan emin olununca formaldehit musluğu kapatıldı. Perfüzyon işlemi yaklaşık 1-1.5 saat kadar sürdü.

Perfüzyon tamamlandıktan sonra hayvanın kafası bisturi ile kesilerek vücudundan ayrıldı. Kafatasındaki deri ve kas kısmı pens ile koparılarak uzaklaştırıldı. Kemik makası (Guj) ile kafatası kemikleri büyük bir dikkatle kırılarak beyin itina ile çıkarıldı. Çıkarılan beyinler %10'luk formaldehit içine alındı. Hayvan beyinleri altı gün sonra formaldehit içinden alındı. Beyin ve beyincikler keskin bir bisturi ile birbirinden ayrıldı ve dosya numaraları ile birlikte gazlı bezlere sarıldı. Bu şekilde ayrı ayrı bezlere sarılan beyin ve beyincikler bir beher içerisine konarak 24 saat musluktan akan suyun altında bırakıldı. Daha sonra rutin histolojik doku metodu takip edildi. Dokular %60, %70, %80, %90, %96'lık etil alkolde ikişer defa birer saat tutuldu. Absolü alkolde

(%99'luk etil alkol) üçer defa birer saat bekletildi. Sonra, ksilolde üç defa 30'ar dakika tutuldu. Etüv dışında bir gece yumuşak parafin içinde bekletildi. Sabahleyin %50'si sert parafin, %50'si de yumuşak parafinden oluşan karışımın içinde iki saat süreyle bekletildikten sonra, 65 °C ısıya ayarlı etüve alınarak sert parafin içinde üç saat bekletildi. Daha sonra beyin ve beyincikler etiketlenerek parafin bloklara yerleştirildi. Parafin bloklar soğukta tutularak kesit almaya elverişli hale getirildi. Parafin bloklar çarklı mikrotoma (Erma Inc. marka) yerleştirilerek 75-100 mikronda bir olmak üzere altı mikron kalınlığında frontal kesitler alındı. Alınan kesitler benmari (sıcak su banyosu) içine atıldı. 50-55 °C sıcaklıkta dokunun açılması sağlandı. Havuzdan alınan dokular albümin mayer sürülmüş ve dosya numaraları kodlanmış lamlara alındı. Etüvde 60(C'de 12 saat bekletilen kesitler boyama işlemine tabi tutuldu.

Thionin boyama serisinden geçirilen preparatlar entelland ile kapatılarak kurumaya terk edildi. Stereotaksik atlas⁽²³⁾ yardımıyla kesit seviyeleri tesbit edildi. Serebellumun Crus I, Crus II ve Lobulus Simpleks bölgelerinde oküleri 10, objektifi 40 büyütme "Nicon" marka ışık mikroskopuyla toplam x400 büyütmeyle mikroskop alanı kaydırılarak Purkinje hücreleri sayıldı. Mikroskop görüntü alanı çapının 445 mikron olduğu ölçüldü. Serebellumda Crus I, Crus II ve Lobulus Simpleks bölgelerinin -8.2, -8.4, -9.0, -9.2, -9.4, -9.6 kesit seviyelerinde sayım yapıldı. Kontrol grubu, kadmiyum grubu, kadmiyum + nikardipin grubundan elde edilen sonuçlar "Student-t" testi ile değerlendirildi. Kadmiyum ve nikardipin Sigma firmasından temin edildi ve serum fizyolojik içinde çözüldü. Nikardipin, her defasında renkli şişelerde taze hazırlanarak kullanıldı.

BULGULAR

Tüm hayvanlar yedi gün süreyle gözlemlendi. Operasyona alınan hayvanlardan ölen olmadı. Kontrol grubu sıçanlarda operasyon sonrasında davranış değişikliği olmadı. Deney grubu hayvanlarda ise, kadmiyum verilisinden sonra saldırganlık, besin almada zorlanma, yiyeceğe karşı isteksizlik, bilinçsiz davranışlar, ense kısmında tüy dökülmesi gözlemlendi. Kadmiyum + nikardipin grubunda bu belirtiler daha azdı. Yedinci günün sonunda tüm hayvanlar perfüzyona alındı.

Kontrol Grubu

Kontrol grubu sıçanlarda sağ serebellum Crus I bölgesinde milimetreye düşen hücre sayısı 21.50 ± 0.65 /mm, Crus II bölgesinde 20.30 ± 0.42 /mm ve Lobulus Simpleks bölgesinde 19.80 ± 1.00 /mm (ortalama \pm SH) olarak bulundu. Sol serebellumda Crus I'de hücre yoğunluğu 20.70 ± 0.78 /mm, Crus II'de 22.20 ± 1.20 /mm ve Lobulus Simplekste 18.50 ± 0.34 /mm (ortalama \pm SH) olarak sayıldı (Tablo I).

Kadmiyum Grubu

Kadmiyum grubunda yapılan sayım sonuçlarına göre, sağ serebellumun Crus I

bölgesinde milimetreye düşen hücre yoğunluğu 14.80 ± 0.83 /mm, Crus II'de 13.10 ± 0.38 /mm ve L. Simplekste 12.20 ± 0.55 /mm (ortalama \pm SH) olarak sayıldı. Sol serebellumda ise sayım yapılan Crus I bölgesinde milimetreye düşen hücre sayısı 13.30 ± 0.37 /mm olarak tesbit edildi. Diğer bölgelerdeki Purkinje hücre yoğunluğu ise Crus II'de 13.50 ± 0.37 /mm, L. Simplekste 12.90 ± 0.60 /mm (ortalama \pm SH) idi (Tablo II).

Kadmiyum + Nikardipin Grubu

Bu grupta da deneye alınan 10 hayvanın sağ ve sol serebellumlarındaki Crus I, Crus II ve Lobulus Simpleks bölgelerinde sayım yapıldı. Sağ serebellumda milimetreye düşen hücre sayısı Crus I bölgesinde 17.20 ± 0.33 /mm, Crus II'de 16.70 ± 1.10 /mm ve L. Simplekste 15.20 ± 0.65 /mm (ortalama \pm SH) olarak bulundu. Kadmiyum + nikardipin grubunun sol serebellumu da alan kaydırma tekniğiyle sayıldı ve Crus I bölgesinin hücre yoğunluğu 17.50 ± 0.98 /mm olarak tesbit edildi. Crus II'de 15.60 ± 0.76 /mm ve L. Simplekste 14.90 ± 0.78 /mm (ortalama \pm SH) hücre sayıldı (Tablo III).

Üç grup hayvanda da Crus I, Crus II ve

Tablo I. Kontrol Grubunda Sağ ve Sol Serebellumda Purkinje Hücre Yoğunluğu.

Sayım yapılan bölgeler	Sağ (n=10)*	Sol (n=10)*	t	p	Güven aralığı
Crus I	21.50 ± 0.65	20.70 ± 0.78	0.79	>0.05	-1.33,2.93
Crus II	20.30 ± 0.42	22.20 ± 1.20	-1.48	>0.05	-4.72,0.90
L.Simpleks	19.80 ± 1.00	18.50 ± 0.34	1.21	>0.05	-1.00,3.56

*Hücre yoğunluğu /mm \pm SH, n= Hayvan sayısı

Tablo II. Kadmiyum Grubunda Sağ ve Sol Serebellumda Purkinje Hücre Yoğunluğu.

Sayım yapılan bölgeler	Sağ (n=10)*	Sol (n=10)*	t	p	Güven aralığı
Crus I	14.80 ± 0.83	13.30 ± 0.37	1.66	>0.05	-0.47,3.47
Crus II	13.10 ± 0.38	13.50 ± 0.37	-0.75	>0.05	-1.52,0.72
L.Simpleks	12.20 ± 0.55	12.90 ± 0.60	-0.85	>0.05	-2.42,1.02

*Hücre yoğunluğu /mm \pm SH, n= Hayvan sayısı

Tablo III. Kadmiyum+Nikardipin Grubunda Sağ ve Sol Serebellumda Purkinje Hücre Yoğunluğu.

Sayım yapılan bölgeler	Sağ (n=10)*	Sol (n=10)*	t	p	Güven aralığı
Crus I	17.20±0.33	17.50±0.98	-0.29	>0.05	-2.47,1.87
Crus II	16.70±1.10	15.60±0.76	0.80	>0.05	-1.80,3.98
L.Simpleks	15.20±0.65	14.90±0.78	0.30	>0.05	-1.83,2.43

*Hücre yoğunluğu /mm±SH, n= Hayvan sayısı

Lobulus Simpleks bölgelerinde Purkinje hücre sayıları yönüyle hemisferik farklılık olmadığı görüldü ($p>0.05$).

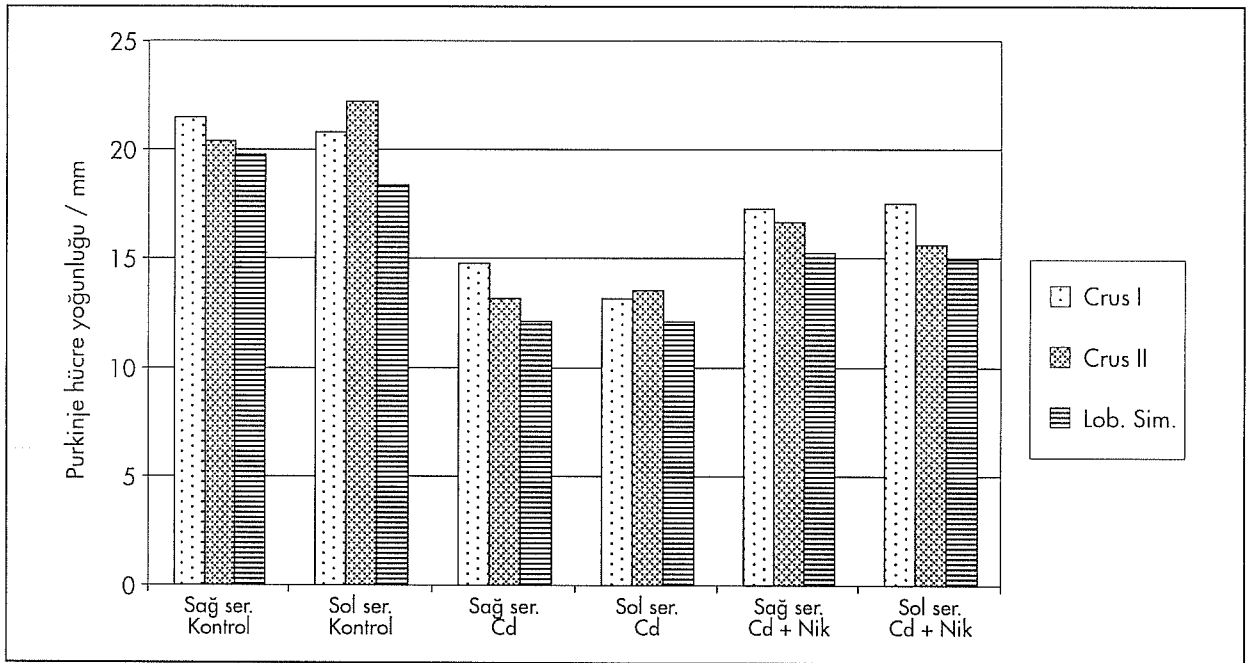
Kontrol ve kadmiyum grubu hayvanların, aynı hemisferlerdeki benzer bölgeler hücre sayıları bakımından karşılaştırıldı. Kadmiyum grubundaki Purkinje hücre yoğunlukları, kontrol grubuna göre %30-39 oranında azalmış olarak bulundu ($p<0.05$).

Kadmiyum ve kadmiyum + nikardipin grupları mukayese edildiğinde ise; kadmiyum + nikardipin grubundaki hücre sayısı, kadmiyum grubuna göre %15-32 oranında fazla

olarak tesbit edildi. Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı olup, dihidropiridin grubu bir madde olan nikardipinin, kadmiyumun nörotoksik etkisini önleyen bir ajan olabileceğini göstermektedir ($p<0.05$). Şekil'de Purkinje hücre yoğunlukları karşılaştırmalı olarak görülmektedir.

TARTIŞMA

Çalışmada elde edilen sonuçlar, sıçanların beyin korteksine verilen 0.0021 mg/kg kadmiyum sülfatın serebellum Purkinje nöronlarının kaybına neden olduğunu göster-



Şekil. Kontrol, kadmiyum (Cd) ve kadmiyum + nikardipin (Cd+Nik) grubu sıçanlarda, sağ ve sol serebellum Crus I, Crus II, lobulus simpleks bölgelerindeki Purkinje hücre yoğunlukları.

mektedir. Kadmiyum verilen hayvanlarda gözlenen saldırganlık, besini tanıyamama, yön bulmada zorlanma gibi davranış değişiklikleri, tavşanlarda çinko ile yapılan çalışmada tarif edilen davranışlarla benzerlik göstermektedir^(24,25). Bu bulgular, her iki metal gurubu elementin muhtemelen benzer bir etki mekanizması ile konvulsif davranışlara neden olabileceğini düşündürmektedir.

Kadmiyumun, olfaktor bulbusta daha fazla olmak üzere beyin bütünü alanlarında glutasyon düzeylerinde azalmaya ve hücre içi kalsiyum miktarında önemli ölçüde artışa neden olduğu tesbit edilmiştir⁽²⁶⁾. Nöron ölümünde ve epileptik aktivitenin oluşumunda aşırı miktarda kalsiyum iyonunun hücre içine girişinin tetik rol oynadığı⁽¹⁹⁻²²⁾, ekstraselüler ortamdan kalsiyumun uzaklaştırılmasıyla hücre ölümünün azaldığı da bildirilmiştir^(27,28).

Hücre içine Ca^{++} iyonunun girmesi ek-sitatör bir transmitter olan glutamat salınımına yol açar. Glutamat daha çok Ca^{++} iyonunun postsinaptik ek-sitatör amino asit kanallarından ve postsinaptik voltaja bağımlı kanallardan içeri akışına neden olur⁽²⁹⁾. Glutamat, kimyasal kapılı iyon kanallarını (NMDA, Kainat, Quisqualat), özellikle NMDA'yı uyararak Na^+ ve Ca^{++} iyonlarının hücre içine girmesine, yine Na^+ iyonuna bağlı depolarizasyon oluşumuyla voltaja bağımlı Ca^{++} kanallarının açılması sonucunda aşırı Ca^{++} iyonunun hücre içine girmesine sebep olur⁽³⁰⁾. Hücre içinde biriken aşırı Ca^{++} iyonunun epileptik nöbetler esnasında oluşan nöron deşarjını başlatan tetik olduğu ve sonra da nöron ölümüne sebep olduğu düşünülmektedir⁽²⁹⁾. Nöbet esnasında ekstraselüler kalsiyumun azaldığı⁽³¹⁾ ve intraselüler kalsiyumun arttığı⁽²⁹⁾ gösterilmiştir.

Dihidripiridin grubu bir kalsiyum kanal blokeri olan nikardipin L-tipi kanallara etkili

olup, kalsiyum kanallarını membranın dış yüzeyinden bloklayarak hücre içine Ca^{++} iyonu girişini engeller⁽³²⁾. Daha önce yapılan çalışmalarda, nikardipinin sıçanlarda⁽³³⁾ ve kedilerde⁽³⁴⁾ orta serebral arterin oklüzyonu ile oluşturulan iskemik beyin hasarını azalttığı, pentilenetetrazol^(35,36), NMDA, Bay K 8644⁽³⁷⁾, kainik asit⁽³⁸⁾ ve penisilin⁽³⁹⁾ ile oluşturulan deneysel epilepsi modellerinde, antikonsulsan etki gösterdiği bildirilmiştir.

Sunulan çalışmada da, nikardipinin hücre içine Ca^{++} girişini engelleyerek kadmiyumun nörotoksik etkisini azaltmış olabileceği akla yatkın görünmektedir.

Geliş tarihi : 16.03.1999

Yayına kabul tarihi : 20.04.1999

Yazışma adresi:

Dr. Faruk BAĞIRICI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Fizyoloji Anabilim Dalı

55139 Kurupelit, SAMSUN

KAYNAKLAR

1. Löscher W, Meldrum BS. Evaluation of anticonvulsant drugs in genetic animals models of epilepsy. Fed Proc. 1984; 43: 276-284.
2. Reid SA, Sypert GW. Chronic models of epilepsy. In: Schwartzkroin PA, Wheal H (Eds), Electrophysiology of Epilepsy. Academic Press, 1984; 137-151.
3. Wilmore LJ, Triggs WJ, Gray JD. The role of iron-induced hippocampal peroxidation in acute epileptogenesis. Brain Res. 1986; 382: 422-426.
4. Dow RS, Fernandez-Guardiola A, Manni E. The influence of the cerebellum on experimental epilepsy. Electroenceph Clin Neurophysiol, 1962; 14: 383-398.
5. Mutani R. Cobalt experimental amygdaloid epilepsy in the cat. Epilepsia, 1967; 8: 73-92.
6. Okada K, Ayala GF, Sung JH. Ultrastructure of penicillin-induced epileptogenic lesion of the cerebral cortex in cats. Neuropathol Exp Neurol, 1971; 30: 337-353.

7. Butler AB, Willmore LJ, Fuller PM, et al. Focal alteration of dendrites and astrocytes in rat cerebral cortex during initiation of cobalt induced epileptiform activity. *Exp Neurol*, 1976; 51: 216-218.
8. Donaldson J, Pierre T, Minnich J, et al. Seizures in rats associated with divalent cation inhibition of Na⁺-K⁺ ATP'ase *Can J Biochem*, 1971; 49: 1212-1224.
9. Barbeau A, Donaldson J. Zinc, taurine and epilepsy, *Arch Neurol*, 1974; 30: 52-58.
10. Chung SH, Johnson MS. Divalent transition metal ions (Cu, Zn) in the brains of epileptogenic and normal mice, *Brain Res*, 1983; 280: 323-334.
11. Pei Y, Zhao D, Haung J, et al. Zinc-induced seizures. A new experimental model of epilepsy, *Epilepsia*, 1983; 24:169-176.
12. Parlak Ö, Arı Z, Marangoz C. Epilepside serum çinko ve bakır değerleri, *Doğa Bilim Dergisi, Seri C*, 1986; 10: 203-206.
13. Vig PJ, Ravi K, Nart R. Interaction of metals with brain calmodulin purified from normal and cadmium exposed rats. *Drug and chemical Toxicology* 1991; 14: 207-218.
14. Shukla GS, Hussain T, Chandra SV. Possible role of regional superoxicity. *Life Sciences* 1987; 41: 2215-2221.
15. Tan F, Bağrıncı F, Demir Ş, ve ark. Kadmiyumun sıçan serebellumu Purkinje hücre yoğunluğuna etkisi. *OMÜ Tıp Der (Baskıda)*.
16. Katz AM. Basic cellular mechanisms of action of the calcium channel blockers. *Am J Cardiol*, 1985; 55: 2B - 9B.
17. Ferlinz J. Nifedipine in myocardial ischemia, systemic hypertension and other cardiovascular disorders. *Ann Intern Med*, 1986; 105: 714-729.
18. Flayn CJ, Farooqui AA, Horocks LA. Ischemia and hipoxia. In: *Basic Neurochemistry, Molecular Cellular and Medical Aspects*, eds. G. J. Siegel et all (Raven Press, New York), 1989; 783.
19. Caspers H, Speckmann EJ, Lehmenkühler ADC. Potentials of the cerebral cortex. Seizure activity and changes in gas pressure. *Rev Physiol Biachem Pharmacol*, 1987; 107: 127-178.
20. Heinemann U. Changes in the neuronal micro environment and epileptiform activity. In: Wieser HG, Speckmann EJ, Engel J, (Eds), *The Epileptic focus*. John Libbey, London, Paris; 1987; 27-44.
21. 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, Left*, 1990; 12: 190-193.
22. Speckman EJ, Walden J, Bingmann D. Contribution of calcium ions to epileptogenesis. *Journal of Basic and Clinical Physiol Send Pharmacol*, 1990; 1: 95-105.
23. Pellegrino LJ, Cushman AJ. *A Stereotaxic Atlas of The Rat Brain*, Allan Institute McGill University, Montreal, 1981.
24. Pei Y, Koyama I. Features of seizures and behavioural changes induced by intrahippocampal injections of zinc sulphate in the rabbits. A new experimental model of epilepsy. *Epilepsia*, 1986; 27: 183-188.
25. Marangoz C, Genç H. Tavşanda intrakortikal çinko sülfattan sonra Purkinje hücreleri sayısında azalma. *T Kl Tıp Bil Araş Der*, 1990; 8: 67-74.
26. Kumar R, Agarwal AK, Seth PK. Oxidative stress-mediated neurotoxicity of cadmium. *Toxicology letters*, 1996; 89: 65-69.
27. Schanne FAX, Kane A B, Young EE, et al. Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway, *Science*, 1979; 206: 700-702.
28. Hansen AK, Zeuthen T. Extracellular ion concentrations during spreading depression and ischemia in the rat brain cortex. *Acta Physiol Scand*, 1981; 113: 437-445.
29. 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, 1990.
30. Kandel ER, Schwartz JH. Directly Gated Transmission at Central Synapses. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (Eds). *Principles of Neural Science*. Third Ed., New York, Amsterdam, Elsevier

- Science Publishing, 1991: 153-172.
31. Heinemann U, Lux HD and Gutnick MJ. Extracellular free calcium and potassium during paroxysmal activity in the cerebral cortex of the cat. *Expl Brain Res*, 1977; 27: 237-243.
 32. De Sarro GB, Meldrum BS, Nistico G. Anticonvulsant effects of some calcium entry blockers in DBA/2 mice. *Br J Pharmac*, 1988; 93: 247-256.
 33. Shiino A, Matsuda M, Handa J, et al. Calcium antagonist and acute brain ischemia: Effects of nilvadipine and nicardipine on middle cerebral artery occlusion in rats. *Nippon, Geka, Hokan*, 1991; 60: 38-44.
 34. Kucharczyk J, Chew W, Derugin N, et al. Nicardipine reduces ischemic brain injury, magnetic resonance imaging/spectroscopy study in cats. *Stroke*, 1989; 20: 268-274.
 35. Moron MA, Yaksh T. The anticonvulsant effect of systemically administered calcium channel antagonists, Eastern Student Research Forum- American Medical Association Education and Research Foundation-Miami, F. L. 1988; 1-5.
 36. Moron MA, Stewans C, W Yaksh T. L., 1990. The antiseizure activity of dihydropyridine calcium channel antagonists in the conscious rat. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics* 1990; 252: 1150-1155.
 37. Palmer GC, Stagnitto ML, Ray, R.K. 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: 372-380.
 38. Cramer CL, Stagnitto M I, Knowles, M. A., Palmer, G.C., 1994. Kainic acid and 4-aminopyridine seizure models in mice: Evaluation of efficacy of anti-epileptic agents and calcium antagonists. *Life Sciences* 1994; 54: 271-275.
 39. Bağırıcı F, Gökçe FM, Marangoz C. Sıçanlarda penisilinle oluşturulan deneysel epilepsiye nikardipinin etkisi. *Çukurova Üniv Tıp Der* 1999; 24: 83-88.

