

Penisilin Modeli Deneysel Epilepside Verapamilin Antikonvulsan Etkisi

Dr. Faruk BAĞIRICI, Dr. Fatih M. GÖKÇE, Dr. Cafer MARANGOZ

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

- ✓ Epilepsi, toplumun yaklaşık %1'ini etkileyen çok yaygın bir nörolojik hastalıktır. Kalsiyum iyonları hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde çok önemli role sahiptirler. Kalsiyum iyonlarının hücre içine girişinin epileptik nöronal olayların ilk adımını teşkil ettiğine inanılmaktadır. Sunulan çalışmada, intrakortikal penisilin uygulanması ile oluşturulan deneysel epilepsi modeline verapamilin etkisi araştırıldı. Anestezili sıçanlarda sol serebral korteks kraniotomi ile açığa çıkarıldı. Somatomotor kortekse 500 ünite penisilin G potasyum verilerek epileptik odak oluşturuldu. Aynı bölgeye verapamil (50 ve 100 µM) mikroenjeksiyonu elektrokortikogramda 5-6 dakika süreyle bir inhibisyona sebep oldu ($p < 0.001$). Bu çalışmanın sonuçları, verapamilin antikonvulsan bir ajan olabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Kalsiyum antagonisti, Verapamil, deneysel epilepsi, sıçan

- ✓ **The Anticonvulsant Effect of Verapamil on Experimental Model Epilepsy Induced by Penicillin**

Epilepsy is a common neurological disorder that affects approximately 1% of the population. Calcium ions have important role on the regulation of cellular functions. It is believed that calcium flux into the cell is the first step of epileptic neuronal events. In present study, the effect of verapamil on experimental model epilepsy induced by intracortical (i.c.) penicillin administration was investigated. The left cerebral cortex exposed by craniotomy in anaesthetized rats. The epileptic focus was produced by injection of penicillin G potassium (500 units) into the somatomotor cortex. Microinjection of verapamil (50, 100 µM) into the same area caused an inhibition for 5-6 minutes in electrocorticograms (ECoG). ($p < 0.001$). The results of this study suggest that verapamil may be an anticonvulsant agent.

Key words: Calcium antagonist, Verapamil, experimental epilepsy, rat

GİRİŞ

Epilepsi, çok yaygın bir nörolojik hastalık olup dünya nüfusunun yaklaşık %1'inde görülmektedir⁽¹⁾. Günümüzde uygulanan tedaviler semptomatik olup, kompleks parsiyel nöbetli hastaların yaklaşık yarısında nöbetler önlenememektedir⁽²⁾. Organizmadaki birçok hücrenin aktivasyonunda ve iskemi oluşumunda⁽³⁾ hücre içindeki serbest kalsiyum düzeyinin büyük önemi vardır⁽⁴⁾. Kalsiyum iyonlarının hücre içine girişi epileptik nöronal olayların ilk basamağını teşkil etmektedir⁽⁵⁻⁹⁾.

Kalsiyum kanal blokerleri, kalsiyumun hücre içine girişini engelleyen ajanlardır^(10,11).

Korteks yüzeyine lokal penisilin uygulanması elektroensefalogramda epileptiform potansiyeller görülmesine yol açar^(12,13). Kalsiyum kanal blokerlerinden verapamilin, hem kalsiyum kanallarını bloklayarak, hem de lipid tabakayı koruyarak çinkoya bağlı hücre ölümünü engellemiş olabileceği ileri sürülmüştür⁽¹⁴⁾.

Değişik deneysel epilepsi modelleri üzerinde, farklı birçok kalsiyum kanal blokeri

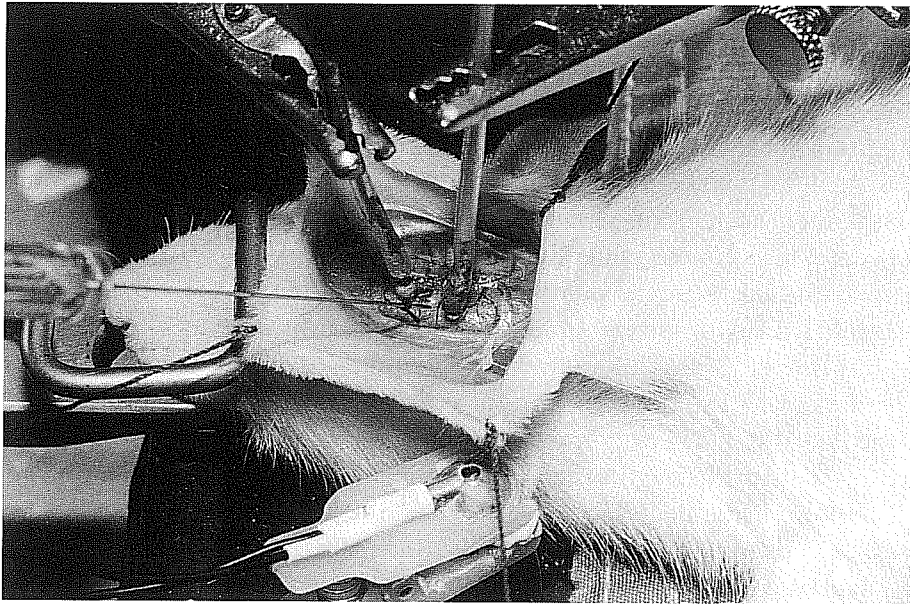
maddenin etkilerinin araştırılmış olduğunu görüyoruz^(15,16). Ancak, şimdiye kadar elde edilen sonuçlar arasında önemli ölçüde çelişkiler bulunmaktadır. Bir dihidropiridin kalsiyum kanal blokleri olan nifedipinin pentilenetrazol, N-Metil D-Aspartat ve kalsiyum agonisti Bay K 8644⁽¹⁷⁾ ile oluşturulan nöbetleri önlediği fakat, pikrotoksin konvulsiyonlarını bloklamadığı⁽¹⁸⁾ bildirilmiştir. Ayrıca, sıçan elektrokortikogramında penisilin modeli deneysel epilepsiye verapamilin etkisini bildiren literatüre rastlanamamıştır. Sunulan çalışmada, epilepsinin mekanizmasının aydınlatılması ve bu önemli nörolojik hastalığın tedavisine katkı sağlanması düşüncesiyle, verapamilin penisilin modeli deneysel epilepsi üzerindeki etkisinin, elektrofizyolojik yöntemle araştırılması amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyler, ağırlıkları 150-200 gram arasında değişen, 30 adet erişkin erkek albino Wistar sıçanlarda yapıldı. Üretan (1.25

gr/kg, i.p.) genel anestezisi altında, sol serebral korteks üzerindeki kemik, tur motoruyla inceltilerek kaldırıldı. Kafa derisine 4 ayrı köşeden sütür bağlanarak sıvı vazelin havuzu (37 °C) oluşturuldu. Sağ femoral artere polietilen kanül takılarak kan basıncı 100 mmHg'nin üstünde tutuldu. Hayvan stereotaksik alete (Harvard Instruments) yerleştirildi (Şekil 1). Vücut sıcaklığı bir homeotermik battaniye (Harvard Homeothermic Blanket) ile 36.5-37 °C arasında sabit tutuldu.

Daha sonra, somatomotor korteks üzerine iki adet Ag-AgCl top elektrod, kulağa referans elektrod yerleştirildi (Şekil 1). Beyin aktivitesi bir poligrafla (Grass, 79 F) kaydedildi. Bazal aktivite kaydını takiben (Şekil 2A), 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



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

düzeğe eriştikten sonra, serum fizyolojik verilerle kontrol kayıtları alındı (Şekil 2).

Kalsiyum kanal blokeri Verapamil hydrochloride 50 ve 100 µM dozlarında çalışıldı. Her bir doz en az 10 kez denendi. Verapamilin spike sayısına ve spike yüksekliğine olan etkisi her bir doz için ayrı ayrı hesaplandı. Veriler, ortalama±SH olarak tesbit edildi. Verapamilin epileptiform aktiviteye etkisi Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi, dozlar arasında farklılık olup olmadığı ise Mann Whitney U testi ile analiz edildi. Verapamil HCl Knoll, Üretan Sigma firmalarından temin edildi. Her iki madde de hemen deney öncesinde, renkli şişelerde taze hazırlanarak kullanıldı.

BULGULAR

Kristalize penisilin (500 ünite, i.c.) verildikten 4 ± 2 dakika sonra bilateral spikeler ortaya çıkmaya başladı (Şekil 2B). On beşinci dakikada, ortalama spike sayısı 13 ± 0.9/dk, ortalama spike yüksekliği de 845 ± 101 µV oldu. Otuzuncu dakikada, epileptiform aktivite maksimum düzeğe erişerek ortalama spike sayısı 29±1.6/dk ve ortalama spike yüksekliği 1150±113 µV'a ulaştı (Şekil 2C). Penisilin verilmesinden yaklaşık 180 dakika sonra ise epileptiform aktivite kaybolmaya başladı (Şekil 2D).

Sıçan somatomotor korteksine verapamil (50 ve 100 µM) enjekte edilmesi epileptiform aktiviteyi 5 ± 1 dakikalık süreyle baskıladı (p<0.001). Bu inhibisyon sonrasında spikeler tekrar ortaya çıktı. Ancak, 3-4 dakika süreyle ortalama spike frekansı 12±1.4/dk düzeylerinde devam etti (p<0.01). Daha sonra epileptiform aktivite, verapamil uygulanmadan önceki frekans ve amplitüd değerlerine geri döndü (Şekil 3). Verapamilin 50 ve 100 µM'lık dozları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0.05).

Kontrol grubu sıçanlarda, aynı bölgeye

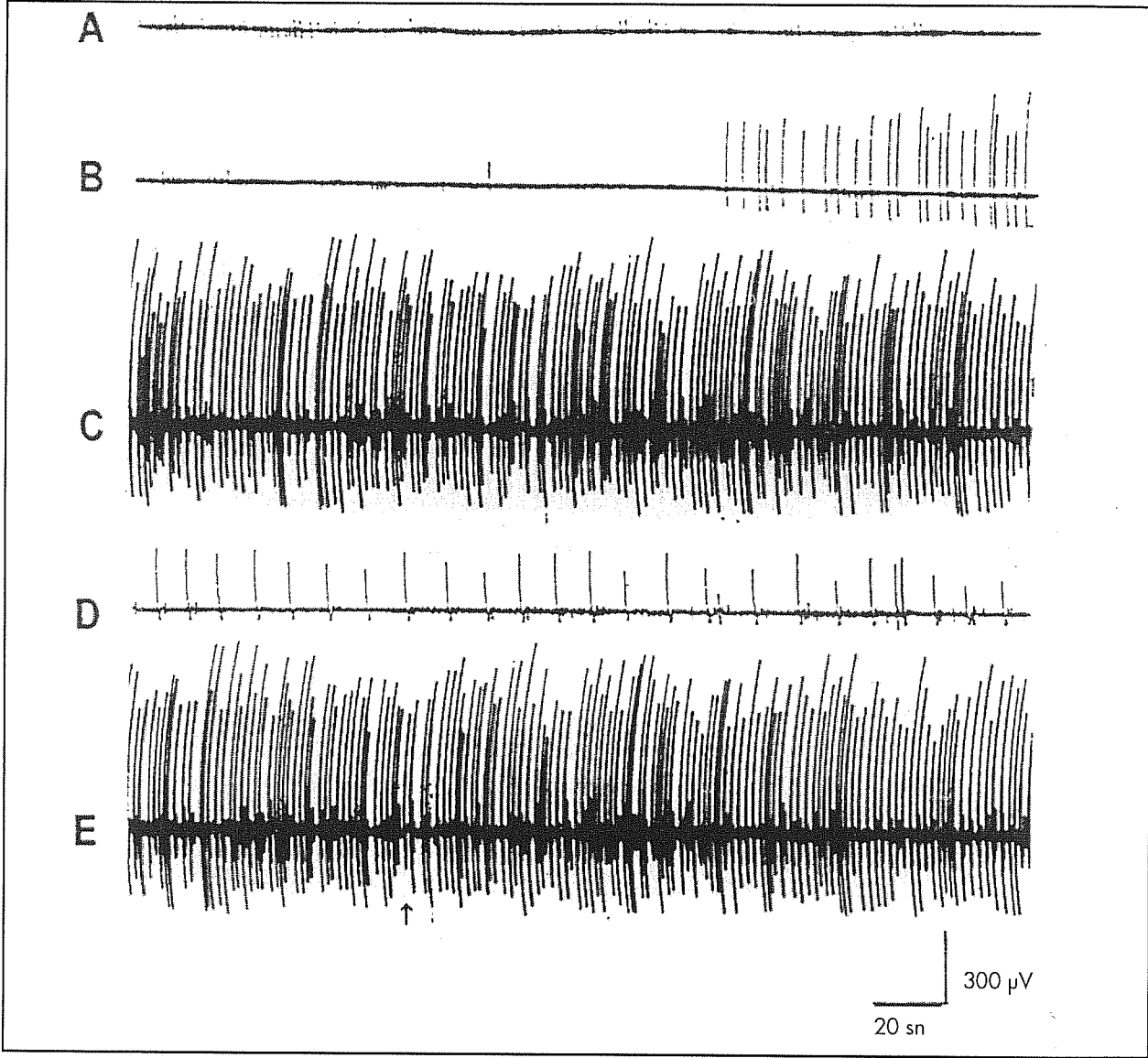
intrakortikal mikroenjeksiyonla serum fizyolojik (%09 NaCl) verilmesi epileptiform aktivitede herhangi bir değişikliğe neden olmadı (p>0.05, Şekil 2E).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kalsiyum kanal blokerlerinden flunarizin⁽¹⁹⁾, nifedipin⁽²⁰⁾ ve nikardipin⁽²¹⁾ kan-beyin bariyerini kolayca geçerken, verapamil kan-beyin bariyerini geçememektedir⁽²²⁾. Bu özelliği nedeni ile bazı araştırmacılar verapamili intratekal⁽²³⁾ ve epikortikal⁽²⁴⁾ olarak uygulamışlardır. Verapamilin sistemik uygulanması kalpteki kalsiyum iyon kanallarını bloklayarak hücre içine kalsiyum girişini azaltır. Bunun sonucunda kalbin dakikadaki atım volümü azalır ve geçici olarak beyin kan akımında azalma olur⁽²⁵⁾. Ayrıca, sistemik uygulama korteks altı yapılarıdaki nöronlarda da inhibisyona sebep olabilir. Bu yapılar da korteks aktivitesini etkileyebilir. Tüm bu dış etkiler düşünülünce, elde edilen sonuçların sadece korteks nöronlarının verapamile olan cevabı olduğu söylenemez. Dolayısıyla direkt kortekse madde uygulama metodu ile çalışmakla metabolizmanın, plazma proteinlerine bağlanmanın, maddenin penetrasyonunun ve korteks altı yapıların etkileri en aza indirilmektedir⁽²⁶⁾.

GABA_A reseptörünün aracılık ettiği inhibisyon beyindeki ana inhibitör nöronal oluşum olarak kabul edilir. Konvülsan aktivitenin temelinde bu inhibisyonun zayıflaması vardır. Böylece, azalan inhibisyon epileptik aktivitenin başlaması ve yayılması için önemli bir faktör olarak öne sürülür⁽²⁷⁾.

Epileptik aktivitenin oluşumuna katılan diğer bir mekanizma membrandan aşırı Ca⁺⁺ iyonunun nöron içine akışıdır⁽²⁸⁾. Hücre düzeyinde, eksitator nörotransmitterlerin salınımı, hücre içine Ca⁺⁺ iyonu girişine bağlıdır⁽²⁹⁾. Anormal aksiyon potansiyelleri olan paroksizmal depolarizasyon değişiklik-



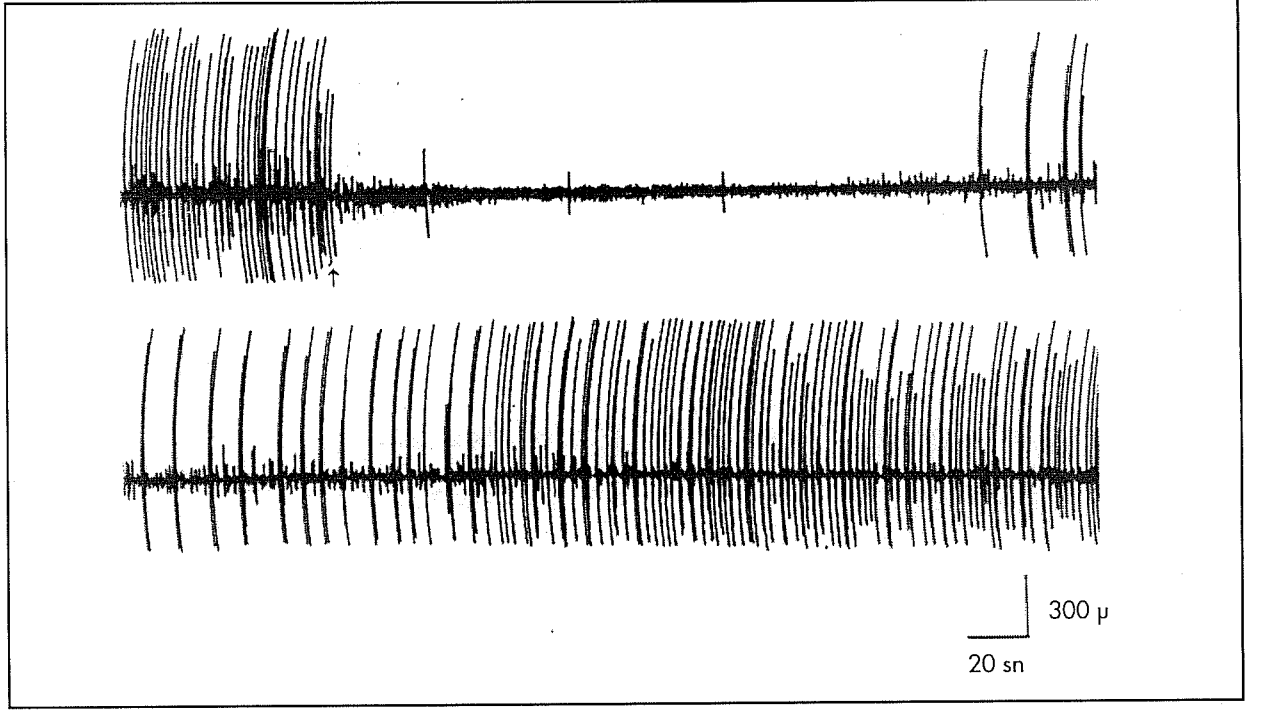
Şekil 2. 500 ünite penisilin intrakortikal enjeksiyonundan sonra elektrokortikogramda (ECOG) kaydedilen epileptiform aktivite:

- | | |
|-----------------------------------|--------------------------------|
| A. Bazal aktivite | B. Penisilin 1-5. Dakikası |
| C. Penisilin 30-35. Dakikası | D. Penisilin 180-185. dakikası |
| E. Serum fizyolojinin (SF) etkisi | |

leri, nöbet aktivitesini başlatır ve Ca^{++} agonistleri uygulanması ile nöbet aktivitesi daha da şiddetlenir⁽³⁰⁾.

Kortekse direk olarak penisilin uygulanması, bir inhibitör nörotransmitter olan

GABA'nın etkisini bloklar⁽³¹⁾. Bir kortikal bölgede, inhibisyon miktarının azalması, nöron gruplarının davranışı üzerinde çok önemli etkiye sahiptir ve konvulsan bir ilacın uygulanması, hücrede morfolojik değişiklik-



Şekil 3. Verapamilin (50 ve 100 µM, i.c.) epileptiform aktiviteye etkisi
(Ok işareti verapamilin verildiği anı gösteriyor).

lere sebep olmaksızın akut fokal epilepsi oluşturur⁽³¹⁾.

Sullivan ve Osorio intraperitoneal yolla penisilin G vererek ratlarda epileptik aktivite oluşturmuşlardır⁽³²⁾. Walden ve arkadaşları da korteks yüzeyine lokal penisilin uygulamışlar ve 4-5 dakika sonra elektrokortikogramda epileptiform potansiyeller görüldüğünü bildirmişlerdir⁽¹²⁾. Bu çalışmada da, intrakortikal penisilin uygulanmasından sonra 4±2 dakika içinde spike dalgalar ortaya çıkmıştır. Penisilinün önce dentritleri etkilediği ve sonra GABA sistemiyle etkileştiği düşünülmektedir⁽³³⁾.

Marangoz ve arkadaşları 500 ünite intrakortikal penisilin enjeksiyonunun bilateral spikelar ve spike-dalga kompleksleri ile karakterize epileptiform ECoG aktivitesi oluşturduğunu bildirmişlerdir. Penisilinün merkez sinir sisteminde GABA aracılı inhibisyonu

baskıladığı, korteksten glutamat salınımını artırdığı ve muhtemelen epileptiform aktiviteyi bu şekilde oluşturabileceği ileri sürülmüştür⁽¹³⁾.

Erişkin merkez sinir sisteminde en çok miktarda bulunan aminoasit glutamattır⁽³⁴⁾. Piramidal hücreler nörotransmitter olarak glutamatu kullanırlar ve eksitator nöronlardır⁽³¹⁾. Epilepsi esnasında, eksitasyon ve inhibisyonun normal dengesi eksitasyon yönünde değişir; böylece eksitator bir post-sinaptik potansiyel, dendritik aksiyon potansiyelleri börtünün başlamasına sebep olabilir. Özellikle Ca⁺⁺ spikeleri geniş ve uzayan depolarizasyona yol açar⁽³¹⁾. Nöbet esnasında GABA aracılı inhibisyondaki azalma, nöbetin oluşumu ve yayılımında kritik bir öneme sahiptir. Deneysel modelde, generalize nöbetler esnasında GABA, nöronal aktiviteyi antagonize etmek için gereklidir⁽³¹⁾.

Fokal epilepsinin; beyin korteksinde GABA aracılı inhibisyonun azalması ile birlikte, muhtemelen glutamat aracılı eksitasyonun ortak etkisi ile oluştuğuna inanılmaktadır⁽³¹⁾.

Aşırı Ca^{++} iyonunun nöron içine girişi epilepsi oluşumunda çok önemli bir etkidir⁽³³⁾. 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 ki, bu da daha çok Ca^{++} iyonunun postsinaptik eksitator aminoasit kanallarından ve postsinaptik voltaja bağımlı kanallardan içeri akışına sebep olur⁽³⁵⁾. 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 sonucunda aşırı Ca^{++} iyonunun hücre içine girmesine sebep olur⁽³⁴⁾. Bu çok miktardaki Ca^{++} iyonunun içeri girişinin, nöbet esnasında oluşan nöron deşarjını başlatan tetik olduğu düşünülmektedir⁽³⁵⁾. Nöbet esnasında ekstrasellüler Ca^{++} 'un azaldığı⁽³⁶⁾ ve intrasellüler Ca^{++} 'un arttığı⁽³⁶⁾ gösterilmiştir. Epileptogenezde Ca^{++} 'un hücre içine girişi bu kadar önemli olunca, tedavide Ca^{++} kanal blokerlerinin faydalı olabileceği akla gelmektedir⁽³⁷⁾.

Kısaca özetlenen tüm yukarıdaki çalışmalara dayanarak biz de korteks içine 500 ünite kristalize penisilini Hamilton mikroenjektörü ile uyguladık. Böylece GABA inhibisyonunun azalması ve eksitator aminoasitlerin salınımının artması sonucu NMDA reseptörlerinin aktivasyonu sağlandı. Bunun sonucunda korteksteki nöronların içine aşırı miktarda Ca^{++} iyonunun girmesiyle, epileptiform aktivitenin oluşumunda tetik olduğu düşünülen⁽³⁵⁾ mekanizma harekete geçirilmiş oldu ve ECoG aktivitesi poligrafla kaydedildi.

Verapamilin erişkin ratlarda tutuşma modelini kısmen önlediği⁽³⁸⁾; nifedipinin kalsiyum kanallarını dış taraftan, verapamilin ise iç taraftan blokladığı bildirilmiştir⁽³⁹⁾.

Daha önce yapılan çalışmalarda; kobay hipokampus ve neokorteks dilimlerinde pikrotoksin ile oluşturulan epileptik alan potansiyellerini verapamilin dönüşümlü olarak blokladığı⁽²⁷⁾; sıçan hipokampus dilimlerinde verapamilin epileptiform deşarjları baskıladığı⁽⁴⁰⁾; yeni doğan sıçanların neokortikal doku kültürlerindeki nöronlarda pentilenetetrazol ile paroksizmal depolarizasyon oluşturulduğunda, papaverin derivativesi verapamil ve piperazin derivativesi flunarizinin bu depolarizasyonu ortadan kaldırdığı⁽⁴¹⁾; kobaylarda hipokampal dilimlerdeki CA3 nöronlarında kafein ile oluşturulan nöbetleri verapamil ve flunarizinin blokladığı⁽⁴²⁾; neokortikal nöronlarda spontan olarak meydana gelen bürst deşarjlarını suprese ettiği⁽⁴³⁾; hipokampal dilimlerdeki CA3 nöronlarında bikukullin ile oluşturulan paroksizmal depolarizasyon değişikliklerini verapamilin baskıladığı⁽⁴³⁾; hipokampus ve neokortikal nöronlarda bikukullin ile oluşturulan epileptik aktiviteyi verapamil ve flunarizinin ortadan kaldırdığı⁽⁴⁴⁾ bildirilmiştir. Ayrıca, kalsiyum kanal blokeri verapamilin elektroşok modeli^(45,39) quinolinik asit modeli⁽³⁸⁾ ve pentilenetetrazol modeli⁽³⁹⁾ gibi birçok deneysel modelde nöbetleri inhibe ettiği bildirilmiştir. Sunulan çalışma ile verapamilin penisilin ile oluşturulan deneysel modelde de epileptiform aktiviteyi inhibe ettiği gösterilmiştir.

Verapamil ve benzeri ajanlar L-tipi kanallarda dihidropiridin ve benzodiazepinlerin bağlandıkları yerlere bağlanırlar⁽⁴⁶⁾. L-tipi kanalın alfa-1 altbirimi dihidropiridinler, verapamil gibi fenilalkilaminler ve diltiazem gibi benzotiazepinler için bağlanma yerleri taşıır⁽⁴⁷⁾. Daha önceki çalışmalardan ve

bu çalışmanın sonuçlarından hareketle verapamilin, voltaja bağımlı iyon kanallarından hücre içine kalsiyum girişini bloklayarak epileptiform aktivitenin oluşmasını önlediği söylenebilir.

Ancak, verapamilin hangi tip Ca^{++} kanallarını bloklayarak antiepileptik etki gösterdiğini anlayabilmek için, spesifik kanal blokeri ajanlar kullanılarak tek hücrenin cevabını inceleme yönünde daha ileri bir çalışmaya ihtiyaç vardır.

Geliş tarihi : 02.09.1998

Yayına kabul tarihi : 09.03.1999

Yazışma adresi:

Dr. Faruk BAĞIRICI

Ondokuz Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Fizyoloji Anabilim Dalı

55139 Kurupelit, SAMSUN

KAYNAKLAR

1. Hauser WA, Hesdorffer DC. Epilepsy: Frequency, Causes and Consequences. New York, Demos, 1990.
2. Shin C, McNamara JO. Mechanism of epilepsy. Annu. Rev. Med 1994; 5: 379-389.
3. Flayn CJ, Farooqui AA, Horocks LA. Ischemia and Hipoxia. In: Basic Neurochemistry, Molecular, Cellular and Medical Aspects, (Eds.), Siegel, GJ, et al., Raven Press, New York, 1989; 783.
4. Greenberg DA. Calcium channels and calcium channel antagonists. Ann Neurol 1987; 21: 317-330.
5. Speckmann EJ, Schulze H, Walden J. Epilepsy and calcium. Urban and Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1986.
6. 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.
7. 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.
8. Lücke A, Speckmann EJ, Altrup U, Lehmenkühler A, Walden J. Decrease of free calcium concentration at the outer surface of identified snail neurons during paroxysmal depolarisation shifts. Neurosci Lett 1990; 12: 190-193.
9. Speckmann EJ, Walden J, Bingmann D. Contribution of calcium ions to epileptogenesis. Journal of Basic and Clinical Physiol. Send Pharmacol 1990;1: 95-105.
10. Katz AM. Basic cellular mechanisms of action of the calcium channel blockers. Am J Cardiol 1985; 2 B-9B.
11. Ferlinz J. Nifedipine in myocardial ischemia, systemic hypertension and other cardiovascular disorders. Ann Intern Med 1986; 105: 714-729.
12. Walden J, Straub H, Speckmann EJ. Epileptogenesis: Contributions of calcium ions and antiepileptic calcium antagonists. Acta Neurologica Scandinavica (Suppl.) 1992; 150; 41-46.
13. Marangoz C, Ayyıldız M, Ağar E. Evidence that sodium nitroprusside possesses anticonvulsant effects mediated through nitric oxide. Neuro Report 1994; 5: 2454-2456.
14. Demir Ş, Genç O, Bağırıcı F, Ayyıldız M, Korkmaz A, Taşçı N, Marangoz C. Sıçan hipokampusunda çinkonun sebep olduğu hücre ölümüne verapamilin etkisi. OMÜ Tıp Der 1996;13 (1): 19-26.
15. De Sarro GB, Meldrum BS and Nistico G. Anticonvulsant effects of some calcium entry blockers in DBA/2 mice. Br J Pharmac 1988; 93: 247-256.
16. Popoli P, Pezzola A, Scotti de CA. Effects of calcium antagonist nimodipine on pentylenetetrazol induced seizures in rats and rabbits. Arch Int Pharmacodyn Ther 1988; 292: 58-67.
17. Palmer GC, Stagnitto ML 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.
18. Tusell J, Barro, S, Serratosa J. Anticonvulsant activity of 8-HCH, calcium channel blockers and calmodulin antagonists in seizures induced by lindane and other convulsant drugs. Brain

- Research, 1993 62, 99-204.
19. Bebin M, Bleck T P. New Anticonvulsant Drugs Focus on Flunarizine, Fosphenytoin, Midazolam and Stiripental. *Drugs* 1994; 48 (23): 153-171.
 20. Larkin JG, Thompson GG, Scobie G, et al. Dihydropyridine calcium antagonists in mice: blood and brain pharmacokinetics and efficacy against pentylenetetrazol seizures. *Epilepsia* 1992; 33(4): 760-769.
 21. Meyer FB, Anderson RE, Sundt TM Jr. Anticonvulsant effects of dihydropyridine Ca²⁺ antagonists in electrocortical shock seizures. *Epilepsia* 1990; 31(1): 68-74.
 22. Köhling R, Lehmenkühler A, Nicholson C, et al. Superfusion of verapamil on the cerebral cortex does not suppress epileptic discharges due to restricted diffusion. *Brain Research* 1993; 626: 149-155.
 23. Besser O, Kramer G. No evidence for efficacy of intrathecal verapamil in the treatment of tonic-clonic status epilepticus. *J Epilepsy* 1992; 5: 61-63.
 24. Köhling R, Speckmann EJ, Lehmenkühler A, et al. Superfusion of the brain cortex with verapamil during partial and generalised epileptic activity. *Pflüger's Arch* 1990; 415: 1-91.
 25. Robertson RM, Robertson D. Drugs used for the treatment of myocardial ischemia. In: Hardman JG, Limbird LE, Pory B, Raymond WR, Goodman A, Gilman R (Eds.), *Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of Therapeutics*. Ninth Edition, New York, 1996; 32: 759-779.
 26. Moron MA, Stewens CW, Yaksh TL. The antiseizure activity of dihydropyridine calcium channel antagonists in the conscious rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 252: 1150-1155.
 27. 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.
 28. Speckmann EJ, Walden J. Antiepileptics effects of organic calcium channel blockers in animal experiments. In Schwartzkroin PA, (Ed.), *Epilepsy: Models, Mechanisms, and Concepts*, Cambridge University Press 1993; 462-486.
 29. 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.
 30. Walden J, Pockberger E, Speckmann EJ, et al. Paroxysmal neuronal depolarisation in the rat motor cortex in vivo: intracellular injection of the calcium agonist BAY K 8644. *Exp Brain Res* 1986; 64: 607-609.
 31. Martin HJ. The collective electrical behaviour of cortical neurons: the electroencephalogram and the mechanism of epilepsy. In: Kandel ER, Schwartz JH, and Jessell TM, (Eds.), *Principles of Neural Science*. Third Ed., New York, Amsterdam, Elsevier Science Publishing 1991; 770-791.
 32. Sullivan HC, Osorio I. Aggravation of penicillin-induced epilepsy in rats with locus ceruleus lesions. *Epilepsia* 1991; 32 (5): 591-596.
 33. Harris GL, Harris AB, Wick C. Penicillin effects on cortex synaptic vesicle uptake of horseradish peroxidase. *Brain Res* 1979; 161: 361-366.
 34. 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.
 35. 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.
 36. 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.
 37. 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.
 38. Vezzani A, Wu H Q, Stasi M.A, et al. Effect of various calcium channel blockers on three different models of limbic seizures in rats.

- Neuropharmacology 1988; 27: 451-458.
39. Wong W, Rahwan RH. Examination of the potential antiepileptic activity of calcium antagonists with different sites action Gen Pharmacol 1989; 20: 309-312.
40. Aicardi G, Schwartzkroin PA. Suppression of epileptiform burst discharges in CA3 neurons of rat hippocampal slices by the organic calcium channel blockers verapamil. Exp Brain Res 1990; 81: 288-296.
41. Bingmann D, Speckmann EJ, Baker RE, et al. Differential antiepileptic effects of the organic calcium antagonists verapamil and flunarizine in neurons of organotypic neocortical explants from new-born rats. Exp Brain Res 1988; 72: 439-442.
42. Moraidis I, Bingmann D, Lehmenkühler A, et al. Caffeine induced epileptic discharges in CA3 neurons of hippocampal slices of the guinea pig. Neurosci Lett 1991; 129: 51-54.
43. Straub H, Speckmann EJ, Bingmann D, et al. Paroxysmal depolarisation shifts induced by bicuculline in CA3 neurons of hippocampal slices: Suppression by the organic calcium antagonist verapamil. Neurosci Lett 1990; 111: 99-101.
44. Straub H, Danz C, Speckmann EJ. Depressive effects of organic calcium antagonists on bicuculline induced epileptic activity in hippocampal and neocortical neurons. In: Speckmann EC and Gutnick MJ (Eds.), Epilepsy and inhibition. Urban and Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1992; 255-270.
45. Meyer FB, Tally PW, Anderson RE, et al. Inhibition of electrically induced seizures by a dihydropyridine calcium channel blocker. Brain Res 1986; 384: 180-183.
46. Ferry DR, Glossmann H. Evidence for multiple receptor sites within the putative calcium channel. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1982; 321: 80-83.
47. Koch WJ, Hui A, Shull GE, et al. Characterisation of cDNA clones encoding two putative isoforms of the α_1 subunit of the DHP-sensitive voltage dependent calcium channel isolated from rat brain and rat aorta. F.E.B.S. Lett 1989; 250: 386-388.