

Sıçanlarda Penisilin G ile Oluşturulan Epileptik Nöbetler Üzerine Nimodipin'in Etkisi (*)

Ö. Faruk TURAN (**), Mustafa BAKAR (**), İbrahim BORA (**), Suat ÇELİK (***), Mehmet ZARİFOĞLU (**), Sadık SADIKOĞLU (**), Erhan OĞUL (**)

ÖZET

Bu çalışmada sıçanlarda Penisilin G ile oluşturulmuş epilepsi nöbetleri üzerine farklı dozlarda (0.5, 1, 2 mg/kg) Nimodipin'in etkisi araştırıldı. Nimodipin'in artan dozlarının tek uygulamasından sonra, plaseboya oranla epilepsi nöbetlerinin anlamlı olarak azaldığı görüldü.

Anahtar kelimeler: penisilin G, deneysel epilepsi, nimodipine

SUMMARY

Effects of Nimodipine on Penicillin-induced Epileptic Seizures in Rats

In this study, we investigated the effect of different doses of nimodipine on Penicillin G induced epileptic seizures in rats. Single doses of nimodipine administered for prophylaxis was observed to reduce seizure activity statistically significant than plasebo.

Key words: penicillin G, experimental epilepsy, nimodipine

GİRİŞ

Kalsiyum miktarındaki değişiklikler epilepsi aktivitesi gelişmesinde ve nöronal hipereksitabilitede önemli rol oynamaktadır (1,2,3). Deneysel epilepsi modellerinde dihidropiridinlerin kalsiyum kanallarını module ederek, nöbet oluşumunda kolaylaştırıcı etkileri gösterilmiştir (4). Dihidropiridin agonisti BAY K 8644 köpeklerde nöbet benzeri davranışlar ortaya çıkarmaktadır (5).

Bir dihidropiridin yapısında Ca²⁺ antagonisti olan nimodipin (NMD)'in bikukulün, pentilentetrazol, elektrokortikal şok, iskemi ve sefazolin ile oluşturulan nöbetler üzerinde antikonvülsan özelliği gösterilmiştir (1,4,6,7,8).

Bir önceki çalışmamızda seftriaksonla oluşturulan fokal epilepsi nöbetler üzerine NMD'nin etkisiz olduğunu gösterdik (9). Bu çalışmada penisilin G ile oluşturulan nöbetler üzerine farklı dozlarda NMD'nin etkisini araştırmayı amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 235 gr 6-8 haftalık Sprague-Dawley tipi sıçanlar kullanıldı. EEG çekimi için Pentotal anestezi altında sagittal suturun her iki yayına gelecek şekilde 4 adet 0.5 mm'lik "burrhole" açıldı ve sabit dural elektrotlar akrilik ile tespit edildi. 1 gün sonra ta-mamen aktif olan sıçanlara 8 kanallı Nihon Kohden marka EEG cihazı ile nimodipinin yarılanma ömrü dikkate alınarak monopolar bağlantılar kullanılarak 3 saatlik EEG kaydı yapıldı. Nöbetler ve süreleri kaydedildi. 1. grup (n:10): 1 milyon ü/kg penisilin G intraperitoneal (i.p.) verildikten sonra nöbetler izlendi. 2. grup (n:10): plasebo verildikten 30 dakika sonra aynı dozda penisilin G verildi. 3. grup (n:10) NMD 0.5 mg/kg i.p. verildikten 30 dakika sonra aynı dozda penisilin G i.p. verildi. 4. grup (n:10): NMD 1 mg/kg, 5. grup (n:10): NMD 2 mg/kg verildikten 30 dakika sonra aynı dozda penisilin G i.p. verildi.

Sıçanlarda başın bir yana deviasyonu, tonik gerilme, arama, katatoni, kuyruğun tonik kasılması, miyoklonik kasılmalar, baş sallama, yuvarlanma şeklinde nöbetler izlendi. Nöbet sayısı ve süresi kaydedildi. İstatistik hesapları Mann-Whitney U testi ve Varians analizi yöntemleri ile yapıldı.

BULGULAR

1. grupta nöbet geçiren 8 sıçanda ortalama 52 nöbet izlendi ve nöbet süresi ortalama 12.9 sn idi. 2. grupta 10 sıçanda 56 nöbet ve süre 9.7 sn iken 3. grupta 4 sıçanda 6 nöbet, süre 5 sn. 4. grupta 1 sıçanda 4

(*) Bu çalışma XXX. Ulusal Nöroloji Kongresi'nde (9-14 Ekim 1994, Adana) poster olarak sunulmuştur.

(**) Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı

(***) Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroşirürji Anabilim Dalı

Tablo I.

Grup No	Sıçan Sayısı		Nöbet geçiren sıçan sayısı	Nöbet sayısı	Ortalama nöbet süresi (saniye)
1.	10	Yalnız Penisilin G	8	52	12.9
2.	10	Plasebo + Pen. G	10	56	9.7
3.	10	0.5 mgr/kg NMD + Pen. G	4	6	5
4.	10	1 mgr/kg NMD + Pen. G	1	4	5
5.	10	2 mgr/kg NMD + Pen. G	-	-	-

Nöbet sayısı tedavi grubunda plaseboya göre anlamlı $p < 0.001$
 1. ve 2. gruplar arasında ist. anlamlı fark yok $p < 0.05$
 Tedavi gruplarının kendi aralarında ist. anlamlı fark yok $p < 0.05$

nöbet, ortalama süre 5 sn., 5. grupta ise hiçbir nöbet izlenmedi. Ancak 5. gruptaki tüm sıçanlarda geçici paraparezi izlendi. En sık nöbet şekli tonik gerilme, ikinci sıklıkta katatoni ve diğer nöbet şekilleri izlendi. 3., 4., 5. gruplarda 2. gruba (plasebo) göre istatistiksel olarak nöbet sayısında anlamlı fark görüldü ($p < 0.001$). 1. ve 2. grup arasında bir fark görülmeydi ($p < 0.05$). Yine tedavi grupları arasında bir fark görülmeydi ($p < 0.05$). Sonuçlar Tablo I'de özetlenmiştir. Nöbet süreleri ile ilgili istatistiksel hesaplama yapılmadı.

TARTIŞMA

Sefalosporin ve penisilin grubu ilaçların intraventricüler topik ve sistemik etkilerinin epilepsi benzeri nöbet ve davranışlara yol açtığı bilinmektedir (8,9,10,11,12). Penisilin, GABA ile ilgili inhibisyonu bloke ederek epileptik aktiviteye yol açtığı sanılmaktadır (13,14). GABA antagonistleri (penisilin gibi) ile inhibitör mekanizma uzaklaştırılırsa N-Metil-D-Aspartat (NMDA) reseptörlerinin serbest kalması sonucu epilepsi deşarjları oluşabilir (15). Bu olay sadece hücresel düzeyde değil, tüm beyin etkilendiğinde oluşur (12). Eksitasyon ve inhibisyon mekanizmalarındaki hassas dengenin bozulması epilepsi aktivitesinin oluşumuna ve yayılmasına yol açar (16,17). Nöronal hipereksitabilitede, kalsiyumun rolü yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bunlar:

1. Deneysel olarak hipokampal nöronlarda, spontan bürstlerde, kalsiyumun ilişkisi gösterilmiştir (2).
2. Nöbet anında ekstraselüler kalsiyum miktarı azalmaktadır (18).
3. Eksitator aminoasitlerle oluşturulan nöbetlerde, NMDA-bağımlı kalsiyum kanalları aracılığıyla piramidal CA3 ve CA1 nöronlarına Ca^{2+} girişi olmaktadır.

4. Ayrıca NMDA reseptör antagonistleri etkili anti-konvülfif ilaçlardır (19,20).

Nöronal kalsiyum kanalları genelde iki majör sistem tarafından ayarlanır. 1. Voltaja bağımlı (veya potansiyel) kanallar (VBK). Bu kanallar kimyasal ve elektriksel stimuluslu membran potansiyel değişikliklerine hassastır. 2. Reseptöre bağımlı kanallar (RBK). Bunlar ise kimyasal stimulusa hassastır. VBK ise kendi aralarında T, N ve L sub tiplerine ayrılırlar. N kanalları presinaptik uçlarda yerleşiktir ve muhtemelen nörotransmitter salınımı ile ilgilidir. T kanalları, tekrarlayıcı nöronal bürstlerle ilgilidir. L kanalları ise hücre dentrit ve somalarında lokalize olup yavaş inaktive olurlar (26). Bu farklı 3 kanaldan sadece L tipi, dihidropiridin agonisti ve antagonistleri tarafından modüle edilirler (23,24). Bu nedenle dihidropiridinlerin antikonvülfif etkileri L kanallarından kalsiyum girişini bloke ederek olabilir (4).

Eksitator aminoasitlerden glutamat için 3 tip ionotropik reseptör bildirilmiştir. Bunlar NMDA, kainat (KA) ve eski adıyla "quisqualate" veya yeni adıyla α -amino-3 hidroksi-5-metilisoksalat (AMPA) reseptörleridir (25). Bunlardan NMDA reseptörleri en fazla hipokampusta bulunur (26). Eğer glutamat KA veya AMPA tipi reseptörleri aktive ederse Na^+ kanalları açılarak membran depolarize olur. Glutamerjik sinapslarda stimulus ya da aşırım frekansı düşükse, iletim postsinaptik AMPA reseptörleri üzerinden gerçekleşir.

NMDA tipi glutamat reseptörleri Na^+ ve Ca^{2+} kanal proteini ile kenetlenmiştir ve bu reseptörlerin glutamat tarafından aktive olması ile bu katyonların postsinaptik nöronal membrandaki hücre içine kondüktansı artarak hücre depolarize olmaktadır (20). NMDA reseptörleri stimulus frekansı arttığında glutamat tarafından aktive olurlar. Kalsiyum kanal blokerlerinin bu reseptörleri etkilediğine dair kesin kanıt yoktur. Ancak, yakın çalışmalarda dihidropiridinlerin NMDA reseptörleri

törlerini etkilediğini gösterir veriler bildirilmiştir (27). Nimodipin'in diken-dalga aktivitesini azalttığı ve Ca^{2+} in hücre içine girişinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (28).

Kainik asitle oluşturulan limbik nöbetlerde 1.0 mg/kg i.p. NMD'nin ilk nöbet ve status epileptikus görülme latensini kontrol grubuna göre anlamlı olarak uzattığı, ancak nöbeti önlemediği görülmüştür. NMD'in kainik aside bağlı membran depolarizasyonuna sekonder olarak voltaja bağlı L kanallarından Ca^{2+} girişini bloke ederek eksitabiliteyi azalttığı düşünülmektedir (25).

NMD'in, değişik hayvan modellerinde etkili anti-konvülzan olduğu bilinmektedir (1,4,6,7,8). Tavşanlarda % 2'lik sefazolinle oluşturulmuş fokal epilepside 0.1 mg/kg dozda NMD'nin etkili olduğu, daha düşük dozlarda ve % 4 konsantrasyonda sefazolinin ise etkisiz olduğu bildirilmiştir (18). Bir önceki çalışmamızda tavşanlarda % 3'lük seftriaksonla oluşturulmuş fokal epilepside 0.1 mg/kg NMD'nin etkisiz olduğu gösterilmiştir (9).

Bu çalışmada penisilin G ile oluşturulan jeneralize epilepside i.p. olarak 0.5, 1 ve 2 mg/kg artan dozlarda NMD'nin kontrol grubuna göre anlamlı olarak nöbet sayısını azalttığı görüldü. Gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. 2 mg/kg dozda tüm sıçanlarda geçici paraparezi gelişti. Bu tablo, doza bağlı vazodilatasyon ve medullar iskemi ile açıklanabilir.

Falco ve ark. organik beyin hasarlı 21 hastaya bazal antiepileptik tedavi yanında 30 mgr NMD'ni günde üç defa vererek 14 hastada (% 67) nöbet sıklığında azalma ve bunlardan 8 hastada ise % 40 daha fazla nöbette azalma saptamışlardır (30). Ancak Larkin ve ark. refrakter epilepsili 21 hastaya çift kör, plasebo-kontrollü ilave tedavi olarak NMD'yı 12 hafta süreyle vererek tedavi sonunda anlamlı bir iyileşme olmadığını bildirmişlerdir (31).

Sonuç olarak; Nimodipinin, klinik etkinliği konusunda yeterli çalışma yoktur. Deneysel çalışmalarda iyi sonuç alınsa da bu konu yeni deneysel ve klinik çalışmalara ihtiyaç göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Meyer FB, Anderson RE, Sundt Jr TM, Shاربrough FW: Selective central nervous system calcium channel blockers. A new

- class of anticonvulsant agents. Mayo Clin Proc 1986; 61:239-247
2. Wong RKS, Prince DA: Participation of calcium spikes during intrinsic burst firing in hippocampal neurons. Brain Res 1978; 159:385-390
3. Wadman WJ, Heinemann U, Konerth A, Neuhau S: Hippocampal slices of kindled rats reveal calcium involvement in epileptogenesis. Exp Brain Res 1985; 57:400-407
4. Meyer FB, Anderson RE, Sundt Jr TM: Anticonvulsant effects of dihydropyridine Ca^{2+} antagonists in electrocortical shock seizures. Epilepsia 1990, 31(1):68-74
5. Shelton RC, Grebb JA, Freed WJ: Induction of seizures in mice by intracerebroventricular administration of the calcium channel agonist BAY K 8644. Brain Res 1987; 402:399-402
6. Meyer FB, Anderson RE, Sundt Jr TM, Yaksh TL, Shاربrough FW: Suppression of pentylene-tetrazole seizures by oral administration of a dihydropyridine Ca^{2+} antagonist. Epilepsia 1987; 28(4):409-414
7. Meyer FB, Anderson RE, Sundt TM Jr, et al: Intracellular brain PH, indicator tissue perfusion, electroencephalography and histology in severe and moderate focal cortical ischemia in the rabbit. J Cereb Blood Flow Metab 1986; 6:71-78
8. Morocutti C, Pierelli F, Sanarelli L, Stefano E, Peppe A, Mattioli GL: Antiepileptic effects of a calcium antagonist (Nimodipine) on cefazolin-induced epileptogenic foci in rabbits. Epilepsia 1986; 27(5):498-503
9. Turan F, Sadıkoğlu S, Dalgıç A, Bora İ, Zarifoğlu M, Balkın N: Antiepileptic effects of a dihydropyridine Ca^{2+} antagonist (Nimodipine) on ceftriaxone-induced epileptogenic focus in rabbits. Third meeting of the European Neurological Society. Lausanne Switzerland, Journal of Neurology 1992; 239(2):70
10. Kamei C, Sunami A, Takasa K: Epileptogenic activity of cephalosporins in rats and their structure-activity relationship. Epilepsia 1983; 24:431-439
11. Fariello RG: Parenteral penicillin in rats: An experimental model of multifocal epilepsy. Epilepsia 1976; 11:217-222
12. Loeb C, Patrone A, Besio G, Balestrino M, Mainardi P: The excitatory amino acid antagonist amino-phosphono-valeric acid (APV) provides protection against penicillin-induced epileptic activity in the rat. Epilepsy Res 1990; 6:249-251
13. Aitken PG: Kainic acid and penicillin: differential effects on excitatory and inhibitory interactions in the CA1 region of the hippocampal slice. Brain Res 1985; 325:261-269
14. McDonald RL, Barker J: Pentylene-tetrazol and penicillin cause selective antagonist-mediated post-synaptic inhibition in cultured mammalian neurons. Nature 1973; 267:720-721
15. Dingledine R: NMDA receptors: What do they do? Trends Neuro Sci 1986; 8:47-49
16. Dichter MA, Ayala GF: Cellular mechanisms of epilepsy: a status report. Science 1987; 237:157-163
17. Traul RD, Wong RKS: Penicillin-induced epileptiform activity in the hippocampal slice: a model of synchronization of CA3 pyramidal cell bursting. Neuroscience 1981; 6:233-230
18. Heinemann U, Louvel J: Changes in (Ca^{2+}) and (K^{+}) a during repetitive electrical stimulation and during pentylene-tetrazol induced seizures activity in the sensorimotor cortex of cats. Pflügers Arch 1983; 398:310-317
19. Griffiths T, Evans MC, Meldrum BS: Intracellular sites of calcium accumulation in the rat hippocampus during status epilepticus. Neurosci lett 1982; 30:329-334
20. Zanotto L, Heinemann U: Aspartate and glutamate induced reductions in extracellular free calcium and sodium concentration in area CA1 of "in vitro" hippocampal slices of rats. Neurosci lett 1983; 35:79-84
21. Greenberg DA, Cooper EC, Carpenter CC: Phenytoin interacts with calcium channels in brain membrane. Ann Neurol 1986; 16:616-617
22. Pincus JH, Hsiao K: Phenytoin inhibits both synaptosomal Ca^{2+} uptake and efflux. Exp Neurol 1981; 74:293-298
23. Miller RJ: Multiple calcium channels and neuronal function. Science 1987; 235:46-52
24. Nowycky MC, Fox PA, Tsien RW: Long-opening mode of gating of neuronal calcium channels and its promotion by the dihydropyridine calcium agonist BAY K 8644 Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82:2178-2182
25. Foster AC, Fagg GE: Acidic amino acid findings sites in mammalian neuronal membranes: Their characteristics and relationship to synaptic receptors. Brain Res Rev 1984; 7:103-164
26. Monaghan DT, Holet VR, Toy DW, Cotman CW: Anatomical distributions of four pharmacologically distinct 3H-

L-glutamate binding sites. Nature 1983; 176-179

27. **Palmer GC, Stagnitto MC, Bay RK, Knowles MA, Harvey R, Barske GE:** 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. **Lu YM, Zhang ST, Zhao FQ, Li F:** Effects of nimodipine on l-glutamate-induced seizures and Ca²⁺ influx in hippocampus in freely moving rats. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao* 1991; 12(4):297-300

29. **Paczynski RP, Meyer FB, Anderson RE:** Effects of dihydropyridine Ca²⁺ channel antagonist nimodipine on kainic acid induced limbic seizures. *Epilepsy Res* 1990; 6:33-38

30. **Falco LA, Bartiromo U, Majella L, Diberonimo G, Mundo P:** Calcium antagonist nimodipine in intractable epilepsy. *Epilepsi Ca* 1992; 33(2):343-345

31. **Larkin JG, McKee PJ, Blacklaw j, Thamson GG, Morgon IC, Bradie MJ:** Nimodipine in refractory epilepsy: a placebo-controlled, add-on study. *Epilepsy Res* 1991; 9(1):71-77