

SEREBRAL İSKEMİ MODELİNDE GINKGO BILOBA'NIN ETKİLERİ Bir Elektron Mikroskop Çalışması

Şükrü TORUN, Gazi ÖZDEMİR, Kevser EROL, İpek CINGİ, Ülkü ÖNER, Türkan ERBENÇİ

Osmangazi Üniversitesi Tıp fakültesi
Nöroloji, Farmakoloji, Patoloji Anabilim Dalları, Eskişehir ve
Marmara Üniversitesi Elektron Mikroskop Ünitesi, İstanbul

ÖZET

Geçici ön-beyin iskemisi sıçan modelinde, Ginkgo biloba'nın tek başına ve nikardipin ile birlikte kullanımında ultrastrüktürel değişiklikler üzerine olan etkilerini elektron mikroskop ile değerlendirdik. İskemi öncesi ve sonrası dönemleri kapsayarak Ginkgo biloba'yı nikardipin ile birlikte alan hayvanlarda nöral elemanlar hemen tamamen normaldi. Aktif ilaç verilmeyen kontrol gruplarında ve Ginkgo biloba'yı sadece iskemide tek veya nikardipin ile birlikte alan gruplarda ise çeşitli derecelerde ultrastrüktürel değişiklikler vardı. Ginkgo biloba'nın nikardipinle birlikte iskemik beyin hasarına karşı, özellikle iskemide sonrası dönemde etkili olduğu ve bu etkinin iskemide öncesi uygulama ile desteklenebileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Ginkgo biloba, Serebral iskemide, Sıçan, Nikardipin, Elektron mikroskop

THE EFFECT OF GINKGO BILOBA IN A RAT MODEL OF CEREBRAL ISCHEMIA An Electron Microscopic Study

We evaluated the effect of Ginkgo biloba extract alone and in combination with nicardipine on ultrastructural changes in a rat model of transient forebrain ischemia by using electron microscope. The appearance of neural elements was fairly normal in the animals which received Ginkgo biloba in combination with nicardipine in both pre- and post-ischemic periods. Non-treated control groups and the groups which Ginkgo biloba was given alone or combined with nicardipine only in pre-ischemic period showed various degrees of ultrastructural ischemic changes. It can be suggested that Ginkgo biloba is effective against ischemic cerebral damage, particularly in post-ischemic period, and this effect might be supported by pre-ischemic co-administration of nicardipine.

Key Words: Ginkgo biloba, Cerebral ischemia, Rat, Nicardipine, Electron microscope

GİRİŞ

İskeminin neden olduğu geriye-dönüşsüz nöronal hasarın mekanizmaları henüz bütün yönleri ile tam olarak anlaşılamamıştır. İskemi'ye maruz kalmasına rağmen yaşamakta olan beyin bölgelerinin işlevselliğini korumak için çeşitli tedavi stratejileri öne sürülmektedir. Bu stratejiler içinde en etkili görünenler, serebral kan akımını arttırmak [1], eksitator nörotransmitter salınımına neden olan olayları inhibe etmek [2,3] ve enerji-bağımlı membran pompalarının iflası sonucunda bozulan hücresel homeostazı sağlamaktır [4]. İskemi ve onu izleyen fizyolojik, biyokimyasal ve histolojik olaylar arasındaki etkileşimin karmaşıklığı nedeni ile basit ya da tek ilaçlı tedavi yaklaşımlarının iskemik nöron ölümünü önlemede yeterli olamayacağı açıktır. Bu durumda; yararlı olduğu düşünülen bazı ilaçların birlikte uygulanması iyi bir seçenek gibi görünmektedir.

Ginkgo biloba ağacının yapraklarından hazırlanan Ginkgo biloba ekstresi (EGb 761), farklı birçok aktif kimyasal bileşik içerir [5]. Son yıllarda, ekstrenin ve içindeki maddelerden bazılarının deney hayvanlarında post-iskemik nöronal hasarı [6] ve serebral ödemi [7,8] azalttığı gösterilmiştir.

Diğer taraftan, hücre içine patolojik kalsiyum iyonu (Ca²⁺) girişi, iskemiyi izleyen hücre ölümünde önemli bir faktör olarak düşünüldüğünden, serebral iskemide bağlantılı hastalıkların tedavisinde, dikkatler çeşitli kalsiyum antagonistlerinin potansiyel yararına çevrilmiştir [9-12].

Bu elektron mikroskopik çalışmanın amacı, sıçanda bir serebral iskemide modelinde EGb 761'in tek başına ya da Dihidropiridin grubundan bir kalsiyum antagonisti olan nikardipin ile kombine verildiğindeki etkilerini incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmada kullanılan ve ağırlıkları 190 - 250 gram arasında değişen 48 adet Swiss-albino sıçanlar, herbiri 8 hayvandan oluşan 6 gruba rastgele ayrıldı. Serebral iskemide (ön-beyin iskemide) modeli olarak, daha önceki birçok çalışmada [13,14] kullanılmış olan bir model seçildi. Bu modelde özetle, ketamin (30 mg/kg, I. M.) ve eter anestezisi altında, kommon karotid arterler iki taraflı olarak 15 dakika klemplenip bu süre boyunca kan basıncı 50 mm Hg civarında tutularak ön-beyin iskemide

oluşturulmaktadır. Karotid arterler deklampe edildikten sonra, hayvanlar, 7 gün (grup I, grup III ve kontrol I) veya 4 saat (group II, group IV and kontrol II) yaşatıldı. Konsantre toz halinde hazırlanmış olan EGb 761 ve nikardipine HCl suda çözülerek, sırası ile 25 mg/kg and 0.5 mg/kg günlük dozlarda periton içine verildi. Uygulamalar, aşağıdaki deney grubu tanımlamalarına göre yapıldı :

Grup I: EGb 761 iskemiden 2 gün önce başlandı (öncül tedavi periyodu =pretreatment period) ve 7 günlük post-iskemik yaşamsal periyodu boyunca sürdürüldü. Total olarak 9 doz verildi.

Grup II: Sadece öncül tedavi aldı. Reperfüzyonun 4. saatinde dekapite edildi. Total olarak 2 doz EGb 761 verildi.

Grup III: EGb 761 verilmesi grup I 'deki gibi, ancak her bir EGb 761 dozundan 2 saat sonra nikardipin de verildi.

Grup IV: EGb 761 verilmesi grup II 'deki gibi, ancak her bir EGb 761 dozundan 2 saat sonra nikardipin de verildi.

Kontrol grubu I (grup I ve III için kontroller): Aktif ilaç verilmedi, deney prosedürleri grup I ve III'teki ile aynı.

Kontrol grubu II (grup II ve IV için kontroller): Aktif ilaç verilmedi, deney prosedürleri grup II ve IV'teki ile aynı.

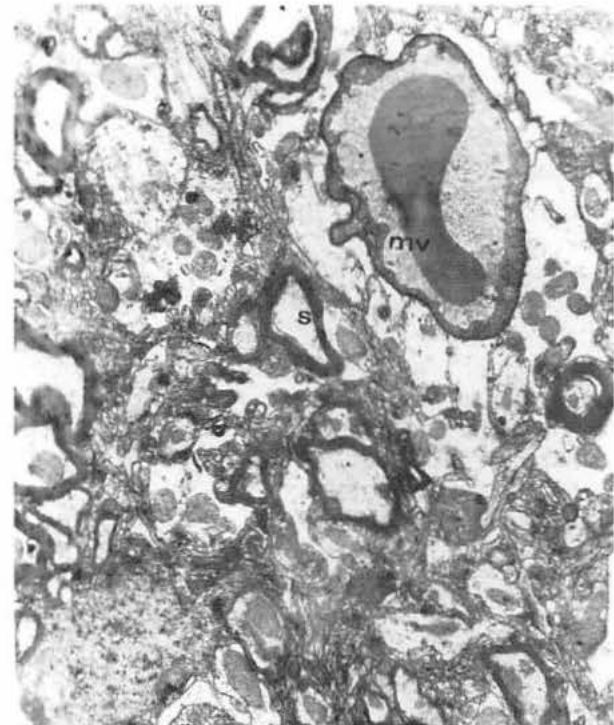
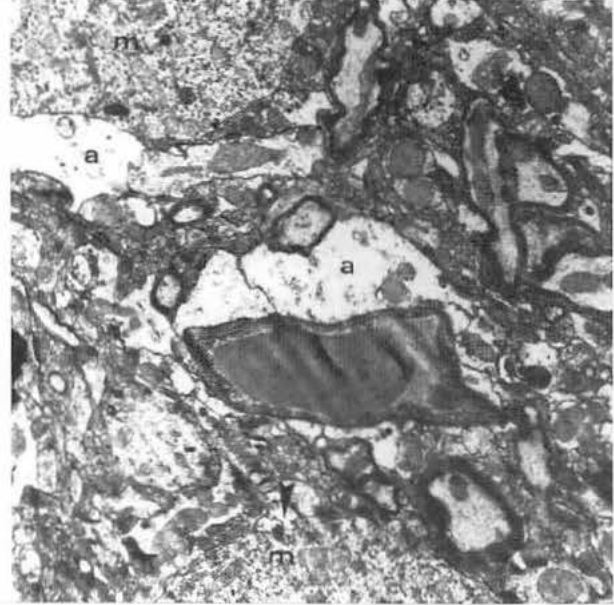
Sham-operasyon grubu: İlaç verilmeyen ve iskemi oluşturulmaksızın diğer işlemlerin aynen yapıldığı grup.

Dekapitasyondan önce hayvanlar, transkardiyak %2 paraformaldehid ve fosfat buffer içinde %2.5 glutaraldehid perfüzyonu ile öldürüldüler. Dekapitasyon sonrasında, beyinler çıkarılarak striatum, paramedian korteks ve hippocampus'tan alınan ve fiksatif solüsyona yerleştirilen parçalar epon'a gömüldü. Epondaki dokular %1 osmium tetroksid ile postfikse edilerek ultra-ince kesitler yapıldı. Uranil asetat ve gümüş sitrat ile kontrastlanan kesitler, deney koşullarına kör bir elektron mikroskop ile incelendi.

SÖNÜÇLAR

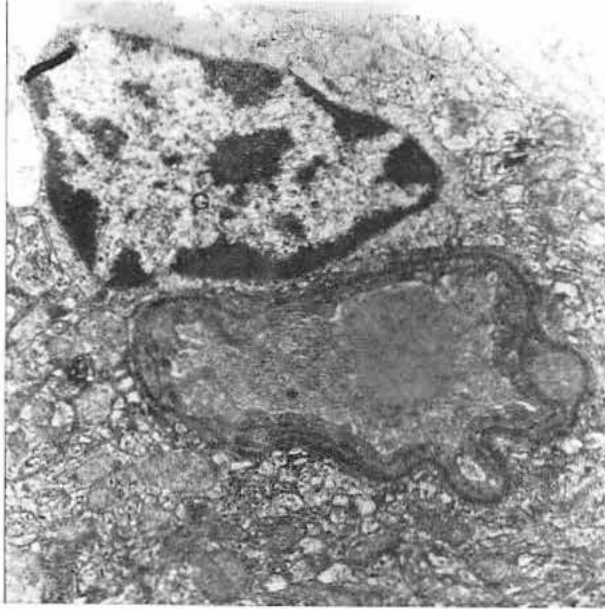
Kontrol gruplarında, özellikle de Kontrol I'deki hayvanlarda iskemik ve ödematöz dejenerasyona gidiş belirtileri olarak belirgin sitopatolojik değişiklikler saptandı. Bu değişiklikler, mitokondrilerde şişme ve yoğunluk azalması ile kendini gösteren bir pleomorfizm, perivasküler astrositik ayaklarda şişme, myelin kılıflarda kalınlaşma, perivasküler mesafede genişleme, endotelde mikrovilli formasyonu şeklinde , birçok elmanı kapsıyordu (Resim1.A). Aynı

zamanda, olizomların ayrılmış ribozomlar halinde dağılması nedeniyle sitoplazmik elektron p dansitesinin azaldığı ve plazma membranı ile çekirdek kabuğunda çeşitli kırılma noktaları bulunduğu görüldü (Resim1.B).



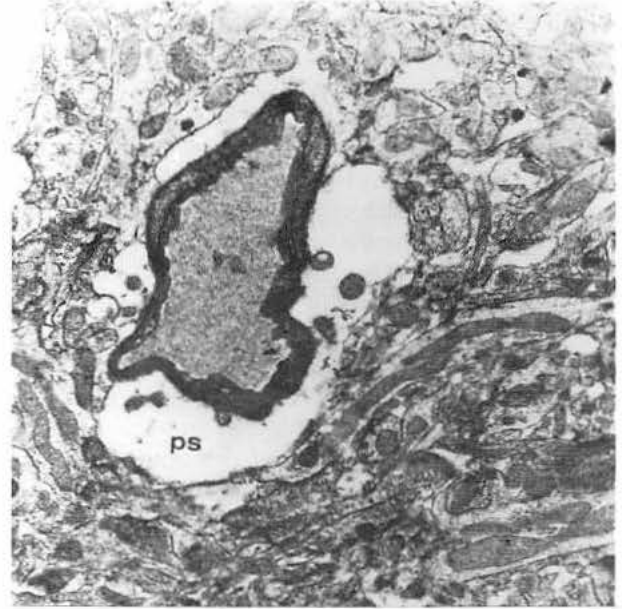
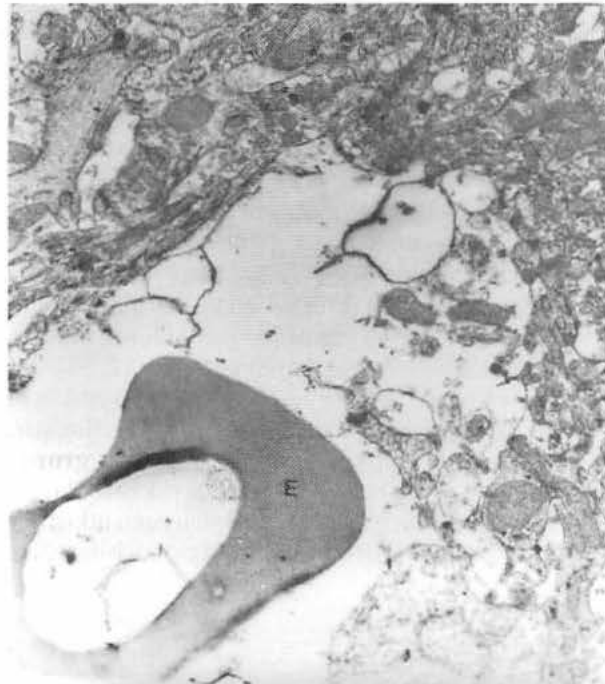
Resim 1. Aktif ilaç almamış kontrollerde, 15 dakikalık iskemiyeye bağlı ultrastrüktürel değişiklikler. A. Kalınlaşmış myelin kılıflar (s) ve mikrovilli formasyonu (mv) görülmektedir. x4000. B. Mitokondri pleomorfizmi (mv), şişmiş astrositik ayaklar (a), çekirdek ve sitoplazma membranlarında kırılma noktaları (oklar). x4000.

Grup I'de perivasküler bölgeler genellikle sağlamdı. Post-synaptik dendritlerdeki organel inklüzyonları dışında, nöronal yapı iyi korunmuştu. Perinöronal glial hücreler Petito [15] tarafından tanımlanmış olan 'post-iskemik reaktif ara tip glia görünümünde değildi. (Resim:2)



Resim 2 Normal görümlü bir perinöronal glial hücre (G), grup I. x8000.

II. ve IV. gruplarda, perivasküler boşlukta belirgin genişleme, astrositik ayaklarda şişme ve mitokondriyal pleomorfizm (Resim 3.A) ile damar dışına eritrosit çıkışı (Resim 3.B) gibi kontrol gruplarında da görülen, iske mi ve şiddetli serebral ödem ile uyumlu bulgular mevcuttu.



Resim 3. A. Perivasküler mesafede belirgin genişleme (ps), grup II. x6000 ve B. Kapiller dışına çıkmış eritrosit (E), grup IV. x6000.

Pre- ve post-iskemik periyotlarda kombine olarak ECb 761 ve nikardipin alan III. grupta ise elektron mikroskopik görünüm hemen tamamen normaldi. Bu grupta, nöronal çekirdeklerin kromatin dağılımında ve çekirdek kılıfında dikkate değer herhangi bir değişiklik yoktu. Sitoplazmik organeller, mitokondriler de dahil olmak üzere, biçim ve büyüklük bakımından normal görünüme sahipti. Sinapslarda, astrositlerde veya mikrovasküler yapıda herhangi bir anormallik göze çarpmadı (Resim 4.).

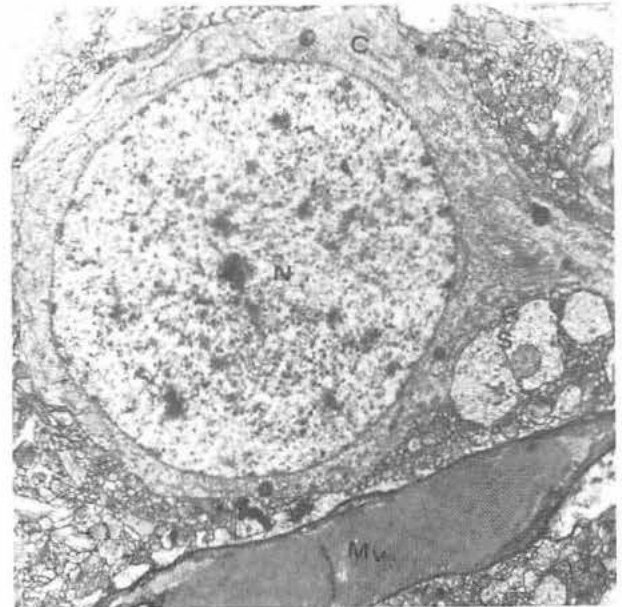


Figure 4. Grup III'te nöronal yapıların normal görünümü. Nöronal nükleus (N), sitoplazmik organeller (C), sinaptozomlar (S) ve mikrovasküler yapı (Mv). x4000.

TARTIŞMA

EGb 761'in çeşitli serebral iskemide [16] ve hipoksi [17] modellerinde yararlı etkide bulunduğu daha önce bildirilmişti. Birkaç yıl önce, Spinnewyn [18] EGb 761 ile öncül-tedavinin gecikmiş iskemik nöron ölümüne karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu gösterdi. Bilgilerimize göre, serebral iskemide üzerine EGb 761'in etkilerini elektron mikroskop ile dökümanete eden bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız, Deneysel önbeyin iskemisinde, EGb 761'in özellikle nikardipinle kombine olarak ve iskemide öncesi ve sonrası periyodları kapsayarak verildiğinde- ultrastrüktürel yapıları koruduğunu ve terapötik etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. EGb 761 çok yönlü bir etkiye sahiptir. İçeriğinde bulunan ginkgolidler, flavonoidler ve bilobalide çeşitli mekanizmalarla anti-iskemik rol oynayabilirler. Ginkgolidler (ginkgolide B) anti-platelet aktive edici faktör (anti-PAF) aktivitesi ile, flavonoidler serbest radikal giderici ve enzim-inhibisyonu aktivite ile, bilobalid ise anti-ödem aktivitesi ile bu role katkıda bulunurlar [5].

İskemik hücre ölümü, mitokondriyal hasarlanmayı izler. İskemide, oksidatif fosforilasyon azalır, ATP depoları tükenir ve enerjiye-bağlı tüm fonksiyonlar bozulur [19]. Hücrel enerji gereksinimini karşılayan mitokondri, iskemik ya da hipoksik etkilere çok duyarlı bir hücre elemanıdır. Bu nedenle, mitokondriyal değişiklikler iskemik hasarlanmanın ilk işaretleri sayılabilir. Bunun gibi, bir ilacın iskemik hasarlanmaya karşı koruyucu etkisi de mitokondriyal üzerinden belirlenebilir. Bu çalışma, iskemide oluşan mitokondri hasarına karşı EGb 761'in koruyuculuğunu göstererek bu düşünceyi desteklemiştir. Çeşitli çalışmalarda da ginkgolide B'nin mitokondri fonksiyonlarını düzelttiği [20] ve iskemide reperfüzyon'da mitokondriyal koruduğu [21] belirtilmektedir. Ginkgolide B ayrıca, mitokondri disfonksiyonunu tetikleyen PAF-indüklü eksitator nörotransmitter salınımını da inhibe etmektedir [22]. PAF 'in iskemik nöronal hasarlanmada önemli bir role sahip olduğu kabul edildiğinden [23], EGb 761'in iskemide oluşan mitokondri hasarına karşı koruyucu etkisini, kısmen anti-PAF özelliğine bağlayabiliriz. Prostoglandinlerin salınımı, makrofaj reaksiyonu, kalsiyum mobilizasyonu ve platelet agregasyonu gibi nöronal hasarı stimüle eden olaylarda da rol oynayan PAF'in etkinliğinde, endotelden derivate olan gevşetici faktörün aracılık ettiği düşünülmektedir [24]. Oberpichler ve ark. [25] pre-iskemik dönemde verilen ginkgolide B'nin, nöron ölümünü azaltıcı etkide bulunabildiğini

göstermişler ve bu etkiyi PAF-antagonizmine bağlamışlardır. Serebral iskemide serbest radikal oluşumunun neden olduğu oksidatif reaksiyonlar, gecikmiş nöron ölümü ile sonuçlandığı görüşü geniş olarak kabul edilmektedir [26]. EGb 761'in flavonoid komponentinin hem enzimatik hem de non-enzimatik sistemlerde oksijen-serbest radikal giderici özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir [5, 27]. Biz, bu özelliğin de EGb 761'in özellikle postiskemik dönemdeki- nöroprotektif etkisini açıklamada belli bir yeri olduğunu düşündük. Bilindiği gibi ödem, serebral iskemide majör komplikasyonlarından birisidir. Ödemde ortaya çıkış mekanizmaları hemodinamik, iyonik ve metabolik olabilir. Sitotoksik ödem, miyelin kılıflarda ve aksonlarda sodyum ve su içeriklerinin artmasına bağlı olarak gelişen histopatolojik değişikliklerle [28] ve perivasküler glial şişme ile [29] karakterizedir. Aktif ilaç verilmeyen kontrol grubu I'de, yaygın miyelinik değişiklikler ve şişmiş astrositik ayaklar bulunmasına karşılık, bu yapıların grup III'te korunmuş olması, EGb 761 ve nikardipin kombinasyonunun ödem gelişimini önlemiş olabileceğini düşündürmektedir. I. ve II. gruplarda ise -iskemide öncesi iki gün ilaç verilmesine rağmen- I. ve II. kontrol gruplarındakine benzer düzeyde belirgin ödem oluşmuştur. Bu nedenle, II. gruptaki anti-ödem etki ilaçların post-iskemik dönemdeki aktivitelerine bağlanabilir. Burada zamanın etkisi de gözden uzak tutulmamalıdır. Ancak III. grubun, iskemide sonrasında ödematöz değişikliklerin giderek artması gerektiği 7 günlük yaşama süresi sonunda değerlendirildiği düşünülürse ilaç etkisi ön plana çıkmaktadır.

Normal koşullarda, ekstrasellüler Ca²⁺ konsantrasyonu intrasellüler konsantrasyondan 10.000 kat daha fazladır. Kalsiyumun -iskemide bağli olarak hızlanan- hücre içine girişini durdurarak bu çok yüksek ekstrasellüler konsantrasyonu koruyup sürdürebilmek için ATP rezervlerine gereksinim vardır. Kalsiyumun hücre içine girişi sürdükçe, ATP metabolizması iflas etmekte ve enerji-bağlantılı intrasellüler metabolik aktiviteler bozulmaktadır [30]. Nikardipin gibi kalsiyum antagonistleri, iskemide öncesi ve sonrası dönemlerde voltaj-bağlantılı kanallar üzerinden hücre içine kalsiyumun girişini bloke ederek nöron koruyucu bir etkide bulunmaktadırlar [12, 31]. Bu özelliğine dayanarak III. grupta yer alan hayvanlara EGb 761 yanında nikardipin de verilmiştir. Gerçekten de en iyi korunmuş beyinler bu grupta bulunan hayvanlara aittir. Bu sonucu dikkate alarak, EGb 761'in iskemide karşı hücre koruyucu etkisinin kalsiyum antagonistlerince desteklenebileceğini

düşünebiliriz. Ca²⁺ antagonistlerinin, iskemiden sonra verilmeleri halinde hücre ölümünü engelleyemediğini gösteren çok sayıdaki çalışmanın [32,33] varlığı, bu destekleyici etkinin pre-iskemik dönem için söz konusu olabileceğini akla getirmektedir.

Çalışmamız tamamen bir elektron mikroskop çalışması olduğundan, kaçınılmaz olarak karşılaştırmaktan çok tanımlamaya dayanmakta ve dolayısı ile belli ölçülerde subjektivite taşımaktadır. Buna rağmen, EGb 761'in özellikle post-iskemik dönemde ultrastrüktürel elemanların korunmasında etkili olduğu ve iskemi-öncesi nikardipin uygulamasının bu etkiyi desteklediği söylenebilir.

İskemiye bağlı nöronal hasardan birçok faktör sorumlu tutulduğu için, bir kısmı teorik olmak üzere bir dizi tedavi edici ve koruyucu yaklaşım olanağından söz edilebilir. Bu olanakların birleştirilmesi anlamına gelen çeşitli kombinasyon uygulamalarının yakın gelecekte yoğun deneysel ve klinik araştırmalara konu olacağına inanıyoruz.

KAYNAKLAR

- Grotta JC. Can raising cerebral blood flow improve outcome after acute cerebral infarction? *Stroke* 1987; 18:264-267.
- Gotti B, Benavides J, MacKenzie ET, Scatton B. The pharmacotherapy of focal cortical ischemia in the mouse. *Brain Res* 1990; 522:290-307.
- Scheinberg P. The biological basis for the treatment of acute stroke. *Neurology* 1991; 41:1867-1873.
- Raichle ME. The pathophysiology of brain ischemia. *Ann Neurol* 13:2-10, 1983.
- DeFeudis FV. Ginkgo biloba extract (EGb 761): Pharmacological Activities and Clinical Applications. Elsevier, Paris, 1991.
- Oberpichler H, Sauer D, Rossberg C, Mennel HD, Kriegstein J. PAF-Antagonist ginkgolide B reduces postischemic neuronal damage in rat brain hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990; 10:133-135.
- Brailowsky S, Montiel T, Hernandez-Echeagaray E, Flores-Hernandez J, Hernandez-Pineda R. Effect of a Ginkgo biloba extract on two models of cortical hemiplegia in rats. *Restor Neurol Neurosci* 1991; 3:267-274.
- Stein DG, Hoffman SW. Chronic administration of Ginkgo biloba extract (EGb 761) can enhance recovery from traumatic brain injury; in Christen Y, Costentin J, Lacour M (eds): *Effect of Ginkgo biloba Extract (EGb 761) on the Central Nervous System*, Elsevier, Paris, 1992, pp 95-103.
- Alps BJ, Hass WK. The potential beneficial effect of nicardipine in a rat model of transient forebrain ischemia. *Neurology* 1987; 37:809-814.
- Marinov M, Wassman H, Natschev S. Effect of Nimodipine in the treatment of experimental focal cerebral ischemia. *Neurol Res* 1991; 13:77-83.
- Rosenbaum D, Zabraniški J, Frey J, Yatsu F, Marler J, Spetzler R, Grotta J. Early treatment of ischemic stroke with a calcium antagonist. *Stroke* 1991; 22:437-441.
- G Özdemir, Ş Torun, K Erol, Ü Öner, I Cingi. Deneysel serebral iskemide Nikardipin'in etkileri. *Anadolu Tıp Dergisi* 1993; 15 (1): 19-25.
- Smith M-L, Bendek G, Dahlgren N, Rosen I, Wieloch T, Siesjö BK. Models for studying long-term recovery following brain ischemia in the rat: a 2-vessel occlusion model. *Acta Neurol Scand* 1984; 69:385-401.
- Inamura K, Olsson Y, Siesjö BK. Substantia nigra damage induced by ischemia in hyperglycemic rats. A light and electron microscopic study. *Acta Neuropathol (Berl)* 1987; 75:131-139, 1
- Petito CK. Transformation of postischemic perineural glial cells I. Electron microscopic studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 6:616-624, 1986.
- Etienne A, Chapelat M, Braquet M, Clostre F, Drieu K, DeFeudis FU, Braquet P. In vivo studies of free radical scavenging activity; relation to cerebral ischemia; in Bes A, Braquet P, Paoletti R, Siesjö BK (eds): *Cerebral Ischemia*, Elsevier, Amsterdam, 1984, pp 379-384.
- Kriegstein J, Beck T, Siebert A. Influence of an extract of Ginkgo biloba on cerebral blood flow and metabolism. *Life Sci* 39:2327-2334, 1986.
- Spinnewyn B. Ginkgo biloba extract (EGb 761) protect against delayed neuronal death in gerbil; in Christen Y, Costentin J, Lacour M (eds): *Effects of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on the Central Nervous System*, Paris, Elsevier, 1992, pp 112-118.
- Karimian K. Mechanism of cell damage in brain ischemia: a hypothesis. *Life Sci* 1985; 37:71-73.
- Spinnewyn B, Blauet N, Clostre F, Bazan NG, Braquet P. Involvement of platelet-activating factor (PAF) in cerebral post-ischemic phase in gerbils. *Prostaglandins* 1987; 34:337-350.
- Panetta T, Marcheselli VL, Braquet P, Spinnewyn B, Bazan NG. Effects of a platelet-activating factor antagonist (BN 52031) on free fatty acids, diacylglycerols, polyphosphoinositides, and blood flow in the gerbil brain. Inhibition of ischemia-reperfusion induced cerebral injury. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 149:580-587.
- Clark GD, Happel LT, Zorumski CF, Bazan NG. Platelet-activating factor augments excitatory synaptic transmission in cultured rat hippocampal neurons. *Soc Neurosci (abstr)* 1991; 17:951.
- Feuerstein C, Yue TL, Lysko PG. Platelet-activating factor: a putative mediator in central nervous system injury? *Stroke* 1990; 21(suppl III): III 90 - III 94.
- Kamata K, Mori T, Shigenobu K, Kosuya Y. Endothelium-dependent vasodilator effects of platelet activating factor on rat resistance vessels. *Br J Pharmacol* 1989; 98:1360-1364.
- Oberpichler H, Sauer D, Rossberg C, Mennel HD, Kriegstein J. PAF antagonist ginkgolide B reduces postischemic neuronal damage in rat brain hippocampus. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990; 10:133-135.
- Kitagawa K, Matsumoto M, Oda T, Niinobe M, Hata R, Handa R, Fukunaga R, Isaka Y, Kimura K, Maeda H, Mikoshiba K, Kamada T. Free radical generation during brief period of cerebral ischemia may trigger delayed neuronal death. *Neuroscience* 1990; 35:551-558.
- Robak J, Gryglewski R. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 1988; 37:837-841.
- Sanesario G, Kreutzberg GW. Stimulation of astrocytes affects cytotoxic brain edema. *Acta Neuropathol* 1986; 72:3-14.
- Dietrich WD, Busto R, Yoshida S, Ginsberg MD. Histopathological and hemodynamic consequences of complete versus incomplete ischemia in the rat. *Cereb Blood Flow Metab* 1987; 7:300-308.
- Fieschi C, Piero VD, Lenzi CL, Pantano P, Giubilei F, Buttifinelli C, Carolei A. Pathophysiology of ischemic brain disease. *Stroke* 1990; 21 (suppl IV): IV 9 - IV 11.
- Alps BJ, Calder C, Hass WK, Wilson AF. Comparative protective effects of nicardipine, flunarizine, lidoflazine and nimodipine against ischemic injury in the hippocampus of the Mongolian gerbil. *Br J Pharmacol* 1988; 93:877-883.
- Vibulsreth S, Dietrich WD, Busto R, Ginsberg MD. Failure of nimodipine to prevent ischemic neuronal damage in rats. *Stroke* 1987; 18:210-216.
- Onodera H, Kogure K. Calcium antagonist, adenosine A1, and muscarinic bindings in rat hippocampus after transient ischemia. *Stroke* 1990; 21:771-776.