

VERAPAMIL ve DİLTIAZEM'İN SIÇAN AORTA ve GASTRO-ÖZOFAGAL SFİNKTER KASILMALARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Ekrem ÇİÇEK *, Dr. Necdet DOĞAN**,
K. Esra NURULLAHOĞLU ***, Dr. Z. Erdoğan ÖZKAL ****

ÖZET

İzole sıçan aortunda Ca^{2+} 'suz ortamda serotonin (5-HT)'e bağlı kasılma cevapları, ekstraselüler ortama ilave edilen Ca^{2+} ile doza bağımlı olarak artırılmıştır. Eksternal Ca^{2+} 'a bağlı bu kasılma, ortama ilave edilen verapamil veya diltiazem ile anlamlı olarak inhibe edilmiştir. Aynı şekilde izole sıçan gastro-özofagal sfinkterinde Ca^{2+} 'suz ortamda asetilkolin (ACh) ile oluşturulan kasılma, kümülatif konsantrasyonda uygulanan Ca^{2+} ile artırılmış, ortama ilave edilen her iki kalsiyum antagonisti ile de anlamlı olarak inhibe edilmiştir.

Bulgular bu dokularda verapamil ve diltiazem'in ekstraselüler Ca^{2+} girişini inhibe ettiğini ortaya koymaktadır.

SUMMARY

Effects of Verapamil and Diltiazem on Contractions of Aorta and Gastro-Oesophageal Sphincter in Rats

The contraction responses induced with serotonin (5-HT) in a medium without Ca^{2+} showed a dose-dependent increase by adding Ca^{2+} into the extracellular medium. This contraction due to external Ca^{2+} used has significantly been inhibited by verapamil and diltiazem added into the extracellular medium. Similarly, in an isolated gastro-oesophageal sphincter, in a medium containing no Ca^{2+} the contraction induced with acetylcholine (ACh) has also been increased with Ca^{2+} used at a cumulative concentration and significantly inhibited by either calcium antagonists.

Findings indicate that verapamil and diltiazem have inhibited the entry of extracellular Ca^{2+} into the tissues.

GİRİŞ

Düz kas kasılmalarında intra-ve/veya ekstraselüler Ca^{2+} kullanıldığı bilinmektedir (1,2). 5-HT'nin çeşitli damar yataklarında güçlü bir kasıcı etkiye sahip olduğu (3) ve bu kasılmada intra ve ekstraselüler Ca^{2+} kullanıldığı gösterilmiştir (4, 5, 6). Aynı şekilde ACh'in de çeşitli gastro-intestinal kanal preparatlarında oluşturduğu kasılmalarda her iki Ca^{2+} kaynağının kullanıldığı belirtilmiştir (7).

Ca^{2+} iyonu düz kas hücrelerinde depolarizasyondan sorumlu ana katyondur. Damar düz

* S.Ü.T.F. Farmakoloji ABD Öğretim Üyesi, Yrd. Doç. Dr.

** S.Ü.T.F. Farmakoloji ABD Öğretim Üyesi, Prof. Dr.

*** S.Ü.T.F. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans öğrencisi

**** S.Ü.T.F. Fizyoloji ABD Öğretim Üyesi, Doç. Dr.

kasında eksitasyon-kontraksiyon kenedinin meydana gelebilmesi için stoplazmik Ca^{2+} düzeyinin artması gerekir. Bu artış, intraselüler depolardan ve/veya ekstraselüler ortamdan Ca^{2+} kanalları aracılığıyla hücreye giren Ca^{2+} ile sağlanır (4).

Ca^{2+} iyonunun ekstraselüler ortamdan hücre içine girişini düzenleyen farklı iki kanal bulunmaktadır. Bunlar, potansiyele ve reseptöre bağımlı kanallardır (8). Kalsiyum antagonistlerinin esas işlevi söz konusu bu kanalları bloke ederek Ca^{2+} 'un hücre içine girişini engellemeleridir (9).

Bu çalışmada, verapamil ve diltiazem'in sıçan izole aorta ve gastro-özofagal sfinkter kasılmaları üzerine olan inhibitör etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYEL VE METOD

Çalışmalarda her iki seksten albino sıçanlar (200-250 g) kullanıldı. Hayvanlar başlarına vurulup, karotis arterleri kesilerek öldürüldü. Karın açılarak torasik aorta ve mide ile birlikte özofagusun 1-1.5 cm'lik bölümü çıkarıldı. Çalışmanın bir bölümünde kullanılan aorta, 15-20 mm boyunda 3-4 mm eninde spiral şeritler haline getirildi. Diğer bölümünde ise, gastro-özofagal sfinkter bölgesinden yaklaşık 15-20 mm boyunda şeritler hazırlandı. Preparatlar 25 ml Krebs-Henseleit solüsyonu içeren, 37°C'da ısıtılan ve %95 O_2 +%5 CO_2 ile sürekli olarak gazlandırılan organ banyosuna asıldılar. 1 g gerilim uygulanarak 90 dakika süreyle dinlenmeye bırakıldılar. İlaçlara verilen cevaplar izotonik bir levye aracılığıyla 10 kez büyütülerek isli kağıda kaydedildi.

Dinlenme süresinin bitiminde her iki doku 0.77 mM Na_2 EDTA içeren Ca^{2+} 'suz solüsyona alınarak, her 15 dakikada bir yıkanıp 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Aorta 10^{-4} M 5-HT, gastro-özofagal sfinkter ise, aynı konsantrasyonda uygulanan ACh ile kasıldılar. Ortama kümülatif konsantrasyonda Ca^{2+} (10^{-4} - 10^{-2} M) ilave edilerek oluşan cevaplar gözlemlendi. Bu işlemten sonra preparatlar yıkanıp tekrar Ca^{2+} 'suz ortama alındılar. Dokular aynı agonistlerle kasıldıktan sonra, antagonistlerden biri 10^{-4} M konsantrasyonda uygulanarak 15 dakika süreyle inkübe edildiler. Daha sonra kümülatif konsantrasyonda uygulanan Ca^{2+} ile elde edilen cevaplar izlenerek, antagonistlerin bu kasılmaları inhibe etme güçleri araştırıldı.

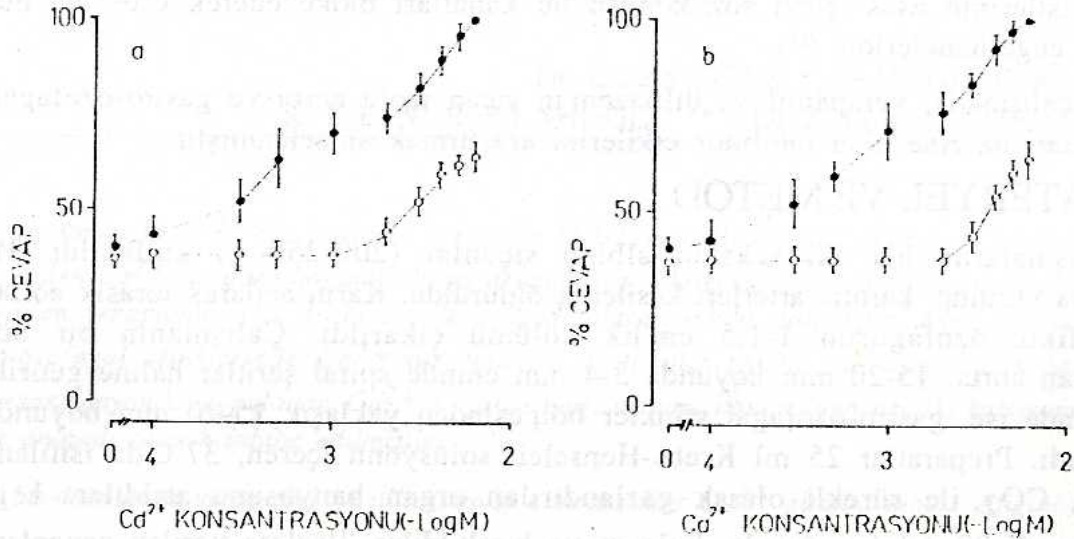
Antagonist uygulamadan önce, Ca^{2+} ilavesiyle agoniste verilen maksimum cevap 100 kabul edilerek, antagonist varlığında elde edilen kasılmalar bunun %'si olarak değerlendirildi. Değerler ortalama \pm standart hata şeklinde belirlenip, ortalamalar arasındaki farkın anlamlılık derecesi Student'in "t" testi ile belirlendi (10). P değerinin 0.05'den küçük olması halinde ortalamalar arasındaki fark anlamlı olarak kabul edildi. Deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonunun bileşimi mM olarak şöyledir: NaCl 118.0; KCl 4.70; $CaCl_2$ 1.60; $MgSO_4$ 1.20; $NaHCO_3$ 24.90; KH_2PO_4 1.20 ve glukoz 11.10. Kullanılan ilaçlar: Serotonin Kreatin sulfat (Merck), Asetilkolin HCl (Haver), Verapamil (Schering) ve Diltiazem (Siğma).

BULGULAR

Ca^{2+} 'suz ortamda, 5-HT ve ACh tekrarlanabilir nitelikte kasılmalara neden olmuşlardır. Ortamda agonist varlığında kümülatif konsantrasyonda ilave edilen Ca^{2+} 'a bağlı maksimum kasılma, aortik şeritlerde kontrole göre; verapamil'li ortamda 64.27 ± 4.28 (Şekil 1 a), ve diltiazem varlığında ise, 64.21 ± 5.71 (Şekil 1 b) oranında olmuştur. Bu oran, gastro-özofagal sfinkterinde verapamil varlığında 78.81 ± 5.94 (Şekil 2 a), ve

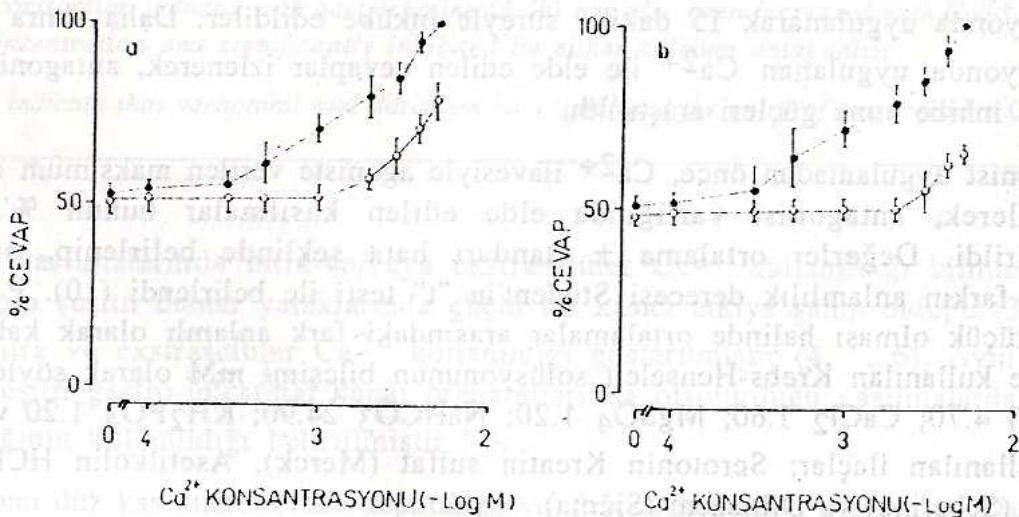
diltiazem ile de 67.05 ± 3.36 (Şekil 2b) olarak bulunmuştur.

Kullanılan agonistler her iki dokuda da Ca^{2+} 'a bağlı cevap artışını anlamlı olarak inhibe etmiştir ($P < 0.05$). Antagonistlerin her iki dokudaki inhibitör etki güçleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($P > 0.05$).



ŞEKİL-1

Ca^{2+} 'suz ortamda 5-HT cevaplarının Ca^{2+} ilavesiyle geri dönübilirliğine verapamil (a), diltiazem (b)'in etkisi. ●----● : Antagonist yok iken maksimum Ca^{2+} cevabı O----O : Antagonist varlığında maksimum Ca^{2+} cevabı



ŞEKİL-2

Ca^{2+} 'suz ortamda ACh cevaplarının Ca^{2+} ilavesiyle geri dönübilirliğine verapamil (a), diltiazem (b)'in etkisi. ●----● : Antagonist yok iken maksimum Ca^{2+} cevabı O----O : Antagonist varlığında maksimum Ca^{2+} cevabı

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sıçan izole aorta ve gastro-özofagal sfinkterinde yapılan bu çalışmada, verapamil ve diltiazem'in Ca^{2+} girişi üzerine olan inhibitör etkileri araştırılmıştır.

Düz kasta agonistlere bağlı kasılmalarda intra-ve/veya ekstraselüler Ca^{2+} kullanıldığı birçok araştırmalarla ortaya konmuştur. Ca^{2+} antagonistleri membraner Ca^{2+} uptake'ni selektif olarak bloke ederler (11). Ancak, bu blokajın gücü antagoniste göre değişmektedir. Tavşan aortasında yapılan bir çalışmada Ca^{2+} girişi üzerine verapamil'in inhibitör etkisi diltiazem'e göre daha güçlü bulunmuştur (12). Morales-Olivas ve arkadaşları (13), yaptıkları bir in-vitro çalışmada sıçan gastro-özofagal sfinkterinde Ca^{2+} 'lu ortamda ACh ile kasılmış preparatın, diltiazem ile inhibisyonunun verapamil'e göre daha güçlü olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada da alfa-adrenerjik reseptör agonisti olan TL99'un sıçan kuyruk arterinde oluşturduğu kasılmanın diltiazem'e duyarlı olduğu, 5-HT ile oluşturulan kasılmanın ise diltiazem'e direnç gösterdiği görülmüş ve kalsiyum antagonistleri ile alınan cevapların kullanılan agoniste göre değişebileceği vurgulanmıştır (14).

Kalsiyum antagonistlerinin inhibitör güçleri, dokulara göre de farklılık göstermektedir. Koyun izole koroner arterinde ve portal veninde yapılan bir çalışmada kullanılan antagonistlerle elde edilen inhibisyonlarının farklı olduğu görülmüştür (15).

Yaptığımız bu çalışmada kullanılan antagonistler her iki dokuda Ca^{2+} girişini anlamlı olarak inhibe etmiştir. Ancak inhibitör güçleri arasında anlamlı bir fark meydana gelmemiştir. Bu çalışmada da görüldüğü gibi yapılan diğer çalışmalarda, kalsiyum antagonistleriyle alınan cevapların dokuya ve kullanılan ajana göre değişebileceği ortaya konmuştur (16).

KAYNAKLAR

1. Devine, C.E. Sarcoplasmic reticulum and excitation contraction coupling in mammalian smooth muscles. *J.Cell. Biol.* 52: 690-698, 1981.
2. Coburn, R.F: The airway smooth muscle cell. *Fed. Proc.* 36: 2692-2700, 1977.
3. Van Nouten, J.M. and Vanhoutte, P.M: Selectivity of calcium antagonism and serotonin antagonism with respect to venous and arterial tissues. *Angiology* 32: 476-478, 1981.
4. Brading, A.F. and Sneeddon, P: Evidence for multiple sources of calcium for activation of the contractile mechanism of guinea-pig taenia coli on stimulation with carbachol. *Brit. J. Pharmacol.* 70: 229-240, 1980.
5. Vanhoutte, P.M: Heterogeneity of postjunctional vascular adrenoceptors and handling of calcium. *J.Cardiovasc. Pharmacol.* 4: S 91-S 96, 1982.
6. Hurtwitz, L. and Suria, S: The links between agonist action and response in smooth muscle. *Annu. Rev. Pharmacol.* 11:303-326. 1971.
7. Bülbring, E. and Kuriyawa, H: Effects of changes in ionic environment on the action of acetylcholine and adrenaline on the smooth muscle cells of guinea-pig taenia coli. *J. Physiol.* 166:59-74, 1963.
8. Breemen, C.V., Aoronson, P., Loutzenheiser, R: Sodium-calcium interaction in mammalian smooth muscle. *Pharmac. Rev.* 30: 167-208, 1979.
9. Raddino, R., Poli, E., Ferrari, R. and Visioli, O: Effects of calcium entry blockers not connected with calcium channels inhibition. *Gen. Pharmac.* 18: 431-436, 1987.

10. Goldstein, A: Biostatistics and introductory text. The Mc. Millan Co. New York, 1971.
11. Maggi, C.A., Manzini, S., Meli, A: Contribution cellular and extracellular Ca^{2+} during 5-Hydroxytryptamine-induced contractions of rabbit ear artery. Eur. J. Pharmacology, 94:251-260, 1983.
12. Flaim, S.E., Ratz, P.H., Swigart, C., Gleason, M.M: Bebridil hydrochloride alters potential-dependent and receptor-operated calcium channels in vascular smooth muscle of rabbit aorta. J. Pharmacol. Exp. Ther. 234:63-71, 1985.
13. Morales-Olivas, F.J., Esplugues, J.V., Rubio, E., Esplugues, J: Effect of verapamil and diltiazem on isolated gastro-oesophageal sphincter of the rat. J. Pharm. Pharmacol. 37:208-209, 1985.
14. Kalkman, H.O., Timmermans, P.B.M.W.M., Van Zwieten, P.A: The vasopressor response to serotonin (5-HT) in rats; its dependency upon extracellular calcium. Arch. int. Pharmacodyn. 268: 232-241, 1984.
15. Hicks, P.E., Tierney, C. and Langer, S.Z: Preferential antagonism by diltiazem of α_2 -adrenoceptor mediated vasoconstrictor responses in perfused tail arteries of spontaneous hypertensive rats. Arch Pharmacol. 328-395, 1985.
16. Karaki, H., Nakagawa, N: Comparative effects of verapamil and sodium nitroprusside on contraction and ^{45}Ca uptake in the smooth muscle of rabbit aorta, rat aorta, and guinea-pig taenia coli. Br. J. Pharmac. 81: 393-400, 1984.