

Kalsiyum Kanal Blokeri Verapamilin Spinal Reflekslere Etkisi

Dr. Niyazi TAŞÇI¹, Dr. Osman GENÇ²

1 Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı SAMSUN

2 Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı DENİZLİ

- ✓ Kalsiyum kanal blokerlerinden verapamilin omurilik reflekslerine olan etkilerini araştırdık. Verapamil, 10, 50, 100 µM lokal ve 5, 10, 20 mg/kg intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. Yetişkin kediler (n=10) 1,5 - 3 kg ağırlığında intramüsküler (i.m.) ketaminle (50 mg/kg, i.m.) anestezi edildi ve suni ventilasyon uygulandı. Hayvanlar servikal seviyeden spinalize edildi. Lumbosakral bölgeden laminektomi yapıldı. L₅ segmentin dorsal ve ventral kökleri izole edildi. Stimülasyon için L₅ segmentin dorsal köküne Ag-AgCl tel elektrot yerleştirildi. Refleks potansiyeller ipsilateral L₅ ventral kökten kaydedildi, bu kayıta da Ag-AgCl tel elektrot kullanıldı. Verapamilin sistemik ve lokal dozları refleks cevap amplitüdünü azalttı (p<0.05). 20 mg/kg'lık sistemik doz latenste anlamlı uzama oluşturdu (p<0.05). Bu sonuçlar bize omurilikte voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının olabileceğini ve refleks cevabın düzenlenmesinde voltaj kapılı kalsiyum kanallarının rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum kanal blokeri, verapamil, spinal refleks, kedi.

- ✓ Effects of calcium channel blocker verapamil on spinal reflexes were studied. Verapamil 5, 50, µM locally. 10,20 mg/kg was administrated intraperitoneally and 10, 50, 100 µM locally. Experiments on adult spinal cats (n=10) were conducted. Animals weighing 1,5-3 kg were anesthetized with ketamine (45 mg/kg intramuscular) and artificially ventilated. Animals were spinalized at C₁ level and a laminectomy was performed in the lumbosacral region. The ventral and dorsal roots of segment L₅ were isolated. A polyethylene cannula was introduced into the carotid artery to monitor blood pressure, which was kept above 100 mmHg. The dorsal root of segment L₅ placed on a silver-silver chloride wire electrode for electrical stimulation. The reflex potentials were recorded from the ipsilateral L₅ ventral root, mounted on a silver-silver chloride wire electrode. Both systemic and local application of verapamil inhibited reflexes (p<0.05). The latency of reflexes was considerably increased as a results of systemic 20 mg doses (p<0.05). These results show the possible presence of voltage-dependent calcium channels in the spinal cord and these channels may play an important role to regulate reflex responds.

Key words: Calcium channel blocker, verapamil, spinal reflex, cat.

Reflekslerin fizyolojik ve farmakolojik işleyiş mekanizmalarının anlaşılması için birçok deneysel çalışma yapılmıştır (1,2,3). Kalsiyum kanal blokerlerinin merkezi sinir sistemi ve diğer dokular üzerine etkileri yaygın olarak araştırılmıştır^(1,2,3). Kalsiyum kanal blokerleri temel olarak kalsiyumun hücre içine girişini bloke ede-

rek, bazıları kalsiyumun hücre içinde inaktif formda depolanmasını sağlayarak ve bazıları da kalsiyumun hücre dışına çıkışını artırarak etki ederler⁽⁷⁾.

Fenilalkilaminlerden verapamil ve benzer ajanlar L-tipi kanallarda dihidropiridin ve benzodizepinlerin bağlandıkları yerlere bağlanırlar⁽⁸⁾.

Kalsiyum kanal blokerlerinin spinal reflekslere etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanmadı. Bu nedenle sunulan çalışma verapamilin spinal reflekslere etkisini araştırmak amacıyla planlandı.

MATERYAL VE METOD

Her iki cinsten (1,5–3 kg, n=10) yetişkin kediler kullanıldı. Hayvan ketamin (50 mg/kg, i.m.) ile anestezi edildi. Trakeatomi yapıldı. Denek solunum pompasına bağlandı. Hayvanın çift solunum yapmaması için solunum kasları pankuronyum bromür (0.08mg/kg, i.m.) verilerek devre dışı bırakıldı. Karotis arter ve jugular ven açığa çıkarıldı. Kan basıncını kontrol edebilmek için karotis artere tansiyon aletinin kanülü yerleştirildi. Jugular ven ise acil müdahale için kanüle edildi. L₁–S₂ arasında laminektomi yapıldı. Laminektomi ile açığa çıkarılan meduller bölge vücut ısısında nötral likit parafin ile kaplandı. Hayvan servikal seviyeden spinalize edildi. L₅₋₇ ön ve arka kökler distalden kesilerek lif ayırımı yapıldı. Uyarıcı gümüş–gümüş klorür (Ag–AgCl) tel elektrot arka kök üzerine, kaydedici Ag–AgCl tel elektrot ise ön kök üzerine yerleştirildi ve osiloskoptan kayıtlar alındı. Elektriksel olarak uyarılmak için uyarıcı elektrod stimulus izolatör ünitesine (Nihon Kohden izolatör SS102J), bu ünite de stimülatöre (Nihon Kohden elektronik stimülatör SEN–3201) bağlandı. 0.2 V'luk maksimal uyaran şiddeti ve 0.2 Hz frekans ile 0.2 msn uyaran süresi kullanıldı. Verapamilin 5, 10 20 mg/kg intraperitoneal (i.p.) olarak sistemik ve 10, 50, 100 µM lokal dozları uygulandı.

İstatistiksel hesaplamalar Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ve Kruskal Wallis Varyans Analizi ile yapıldı.

BULGULAR

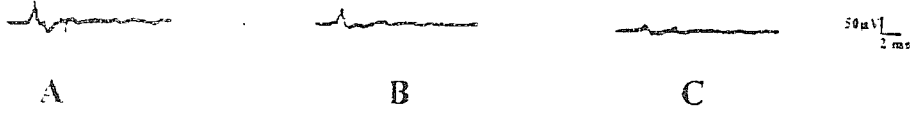
Verapamilin sistemik ve lokal etkileri ve istatistiksel bulguları aşağıdaki şekillerde görülmektedir. Şekil 1'de sistemik (i.p.) olarak verilen 5 mg/kg'lık dozun etkisi görülmektedir. Şekil 1A kontrol, B ve C sırasıyla 5 mg/kg verapamil verildikten sonra 60. ve 75. dakikalarda elde edilen kayıttır. Bu dakikalarda refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlı (p<0.05; Şekil 4) latensteki değişiklik ise anlamsızdır (p>0.05; Şekil 5).

Şekil 2'de sistemik olarak verilen verapamilin 10 mg/kg'lık dozunun etkisi görülmektedir. Şekil 2A kontrol B ve C sırasıyla 60. ve 120. dakikalarda elde edilen refleks potansiyel kaybıdır. Bu dakikalarda refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlı (p<0.05; Şekil 4), latensteki değişiklik anlamsızdır (p>0.05; Şekil 2 A,B,C; Şekil 5).

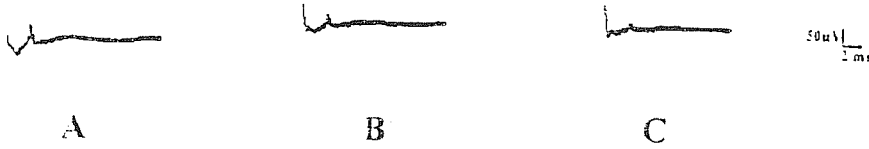
Şekil 3'te 20 mg/kg verapamilin (i.p.) refleks cevaba etkileri görülmektedir. Şekil 3A kontrol, B ve C sırasıyla 60. ve 105. dakikalarda elde edilen refleks kayıtlarını göstermektedir. Bu dakikalardaki refleks cevap amplitüdündeki azalma ve latenste meydana gelen uzama anlamlıdır (p<0.05; Şekil 3 A,B,C; Şekil 4 ve Şekil 5).

Farklı sistemik dozların (5, 10, 20 mg/kg) refleks cevaba olan etkileri Kruskal Wallis Varyans Analizi testi ile karşılaştırıldığında 15. dakikada elde edilen sonuçlar arasında anlamlı farklılık bulundu (p<0.05). Şöyle ki, 15. dakikada 20 mg/kg'lık doz ile elde edilen refleks amplitüdü en düşüktür. Refleks cevabın latensini en fazla etkileyen sistemik verapamil dozu da 20 mg/kg'dır (p<0.05).

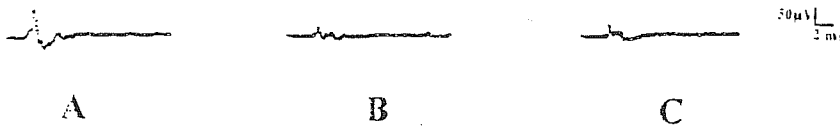
Omuriliğe lokal olarak verilen 10 µM verapamil (2 µl) 5. dakikada amplitüdde az bir düşme yaptı ve anlamlı bulunmadı (p>0.05). 50 µM'lık verapamil ise 15. daki-



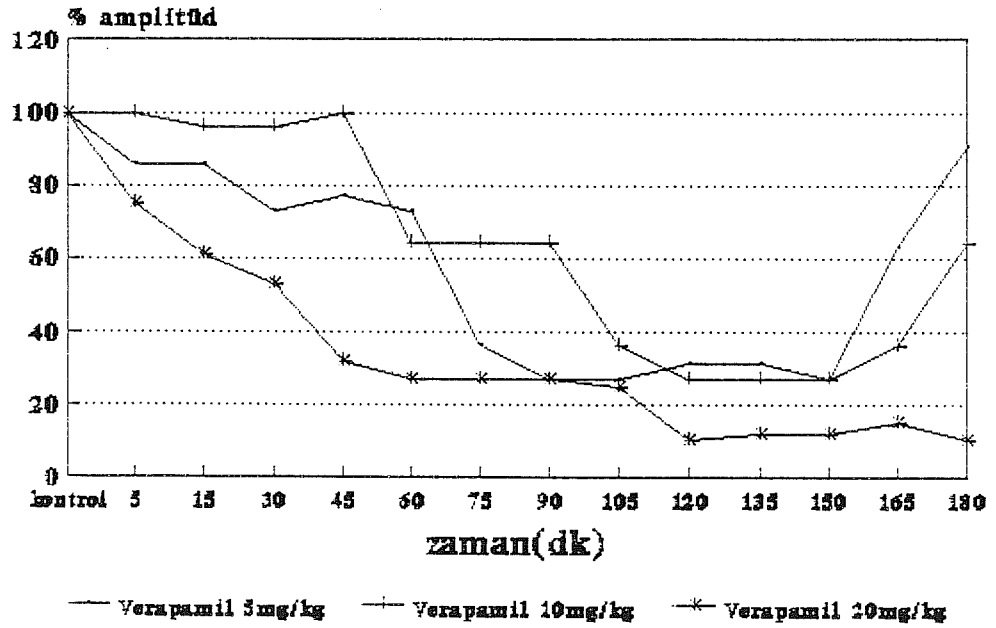
Şekil: 1. İntraperitoneal olarak uygulanan 5 mg/kg verapamilin refleks cevaba etkisi.
 A. Kontrol
 B. 5 mg/kg verapamil verildikten sonra 60. dakikada alınan refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlıdır ($p < 0.05$).
 C. 75. dakikadaki refleks cevabın amplitüdündeki azalma anlamlıdır ($p < 0.05$).



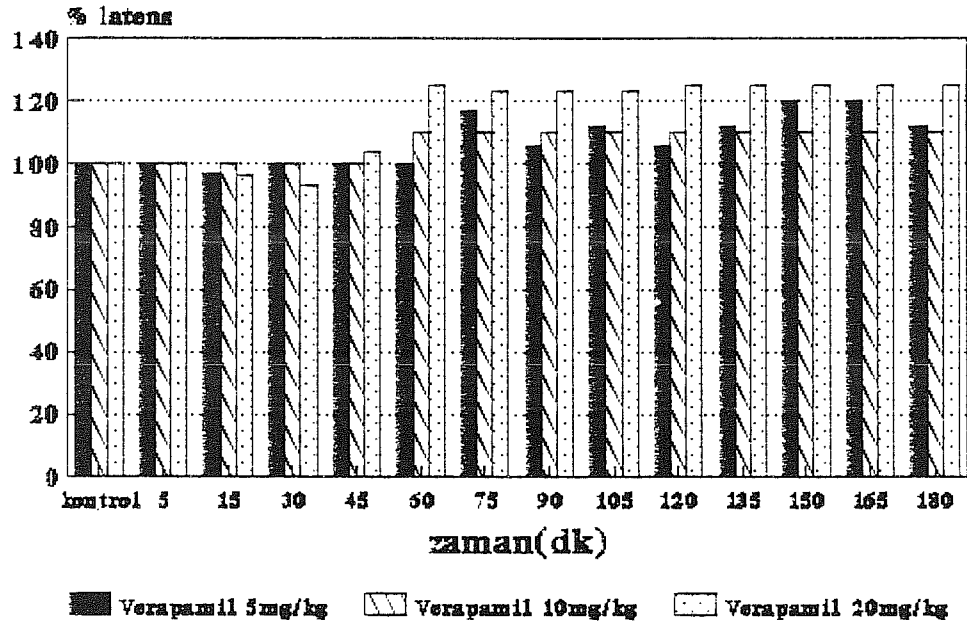
Şekil: 2. İntraperitoneal olarak uygulanan 10 mg/kg verapamilin refleks cevaba etkisi.
 A. Kontrol
 B. 60. dakikada alınan refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlıdır ($p < 0.05$).
 C. 120. dakikadaki alınan refleks cevabın amplitüdü azaldı ($p < 0.05$).



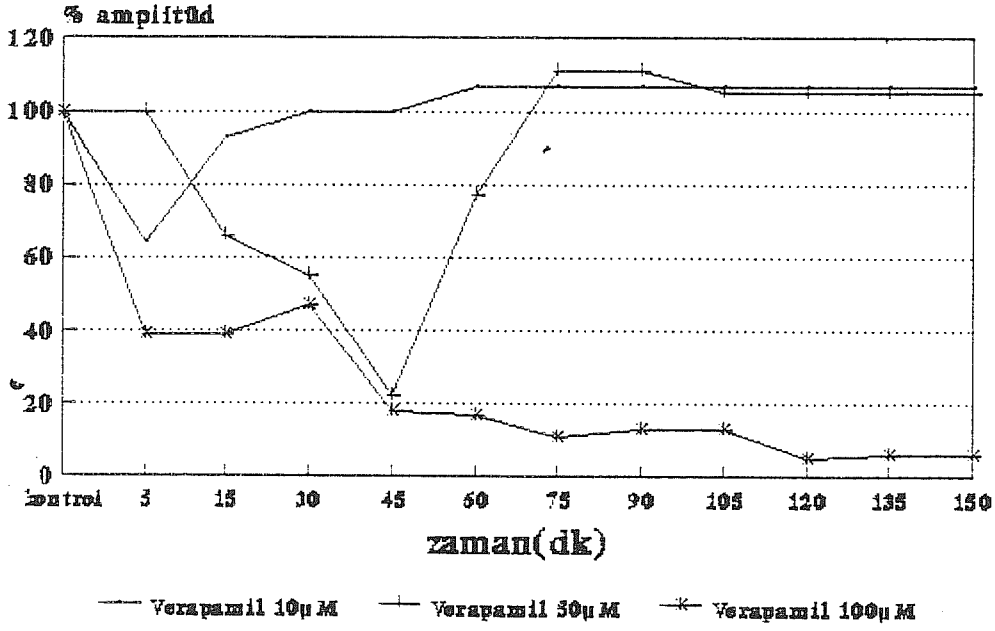
Şekil: 3. 20 mg/kg i.p. verapamilin refleks cevaba etkisi.
 A. Kontrol
 B. Verapamil sistemik olarak 20 mg/kg verildikten sonra 60. dakikada elde edilen refleks cevabın amplitüdündeki düşme anlamlıdır ($p < 0.05$).
 C. 105. dakikadaki elde edilen refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlıdır ($p < 0.05$).



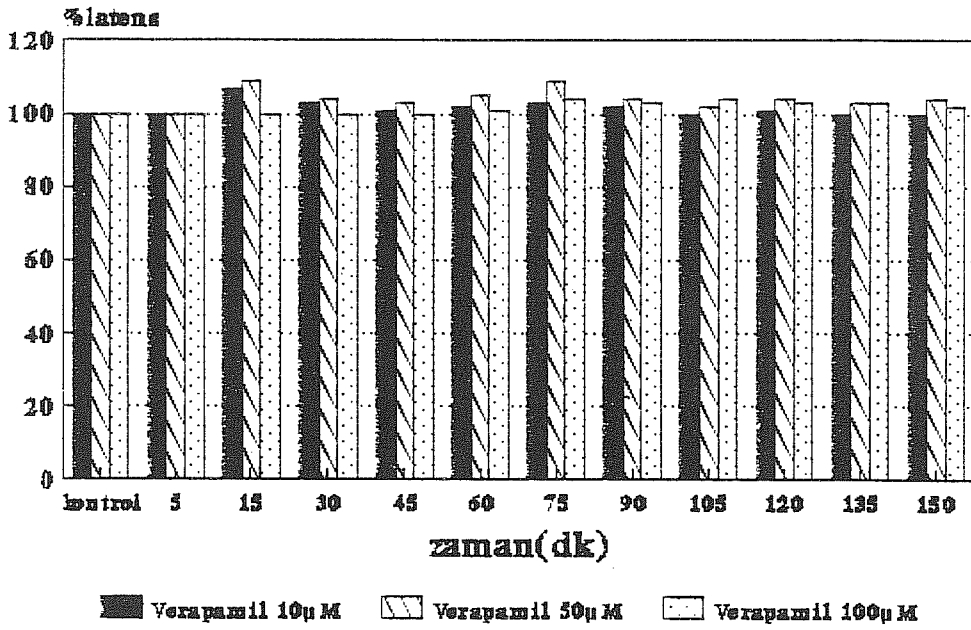
Şekil:4. Sistemik olarak uygulanan verapamilin refleks cevap amplitüdüne olan etkileri görülmektedir. İlaç verildikten sonra elde edilen değerler kontrolün yüzdesi olarak ifade edilmiştir.



Şekil:5. Sistemik olarak verilen verapamilin refleks cevap latensine olan etkileri görülmektedir. İlaç verildikten sonra elde edilen latens değerleri kontrolün yüzdesi olarak ifade edilmiştir.



Şekil:6. Lokal olarak uygulanan verapamilin refleks cevap amplitüdüne olan etkileri. Amplitüd değerleri kontrolün yüzdesi olarak ifade edilmiştir.



Şekil:7. Lokal olarak uygulanan verapamilin (10, 50, 100 µM) refleks cevabın latensine etkisi. Latens değerleri kontrolün yüzdesi olarak ifade edilmiştir.

kada refleksi inhibe etti. 75. dakikada etkisi kayboldu. Ayrıca bu doz latensi etkilemedi. 100 μ M'lık lokal dozun ise 15. ve 45. dakikasında meydana gelen refleks amplitüdündeki değişiklik anlamlıydı ($p<0.05$; Şekil 6), latensteki değişiklik ise anlamsızdı ($p>0.05$; Şekil 7).

Verapamilin farklı lokal dozlarının (10, 50, 100 μ M) refleks potansiyelin genliğine (ampitüd) olan etkileri Kruskal Wallis Varyans analizi ile karşılaştırıldığında 5. , 15. ve ilerleyen dakikalarda elde edilen cevaplarda (10 μ M hariç) anlamlı farklılık bulundu. ($p<0.05$). Söz konusu zaman içinde 100 μ M'lık doz ile elde edilen refleks potansiyelinin genliği en düşüktür (Şekil 6). Verapamilin lokal dozlarıyla elde edilen latens değerleri aynı test ile karşılaştırıldığında dozlar arasında anlamlı fark olmadığı ve latensteki değişikliğin anlamsız olduğu görülmüştür ($p>0.05$; Şekil 7).

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Fenilalkilaminlerden verapamilin kullanılan sistemik dozları (5, 10, 20 mg/kg) refleks cevap amplitüdünde anlamlı azalma meydana getirdi ($p<0.05$; Şekil 1 A,B,C; Şekil 2 A,B,C; Şekil 3 A,B,C; Şekil 4). Sistemik dozlardan 20 mg/kg'lık doz latenste anlamlı uzama meydana getirmiştir ($p<0.05$; Şekil 5).

Verapamilin kullanılan lokal dozlardan (10, 50, 100 μ M) 10 μ M'lık dozun refleks cevap amplitüdünde oluşturduğu değişiklik anlamlı değildir ($p>0.05$). 50 ve 100 μ M'lık dozlar refleks cevap amplitüdünde anlamlı azalma meydana getirdi ($p<0.05$; Şekil 6). Lokal dozlar refleks cevap latensinde anlamlı değişiklik meydana getirmedi (Şekil 7).

Kalsiyum kanal blokerlerinden bir kısmı hücre içine kalsiyum akışını engellediğinden farmakolojik olarak iskeminin

önlenmesinde önemlidir⁽⁹⁾. Kalsiyum kanal blokerleri, beyin ve spinal kord hasarlarını takiben verilmesi, antiiskemik etki göstermiştir^(4,5,10). Bazı araştırmacılar⁽⁵⁾, kalsiyum kanal blokerlerinin (flunarizin, verapamil, cinnarizin, nisoldipin, nimodipin) hayvan modeli deneysel epilepsilerde antiepileptik etki gösterdiklerini tesbit etmişlerdir. Straub ve arkadaşları^(11,12), çalışmalarında spontan olarak beliren veya bikukullin ile meydana getirilen paroksizmal depolarizasyon değişikliklerinin verapamil ve flunarizin ile bloklandığını göstermişlerdir.

Verapamilin deneysel epilepsi modeli çalışmalarında ve spinal kordda yapılan hasar ile ilgili çalışmalarında elde edilen sonuçlarla, bizim spinal reflekslerden elde ettiğimiz sonuçlar uyum içindedir. Yukarıda verilen literatürlerin tamamında verapamilin spinal refleks üzerine etkisini göstermese de bu yapılar sinir sistemi ile bir bütünlük oluşturduğundan, verapamilin bu yapılar üzerindeki etkisi ile spinal refleksler üzerindeki etkisinin benzer olmasını bekledik.

Verapamil ve benzer ajanlar L-tipi kanallarda dihidropiridin ve benzodiazepinlerin bağlandıkları yerlere bağlanırlar⁽⁸⁾. Verapamilin voltaja bağımlı iyon kanallarından L-tipi kanalın alfa-1 alt birimi vasıtasıyla hücre içine kalsiyum girişini bloklayarak refleks cevap amplitüdünü azalttığını düşünebiliriz.

Geliş Tarihi: 05.03.1996

Yayına Kabul Tarihi: 17.06.1996

KAYNAKLAR

1. Kawaasaki K, Takisue H. and Matsushita A, Modulation of spinal reflex activities in acute spinal rats with α -ad-

- renergic agonists and antagonists. *Jap. J. Pharmac.* 1978; 28:165-168.
2. Ona H, Fukuda, H. and Kudo Y. Mechanisms of depressant action of baclofen on the spinal reflex in the rat. *Neuropharmacology.* 1979; 18:647-653.
 3. Taşçı N, Boşnak M, Genç O. Effects of methylxanthines and purinergic substance on spinal reflex in the cat. *İst. Üniv. İst. Tıp Fak. 12. Kurultayı (Özel Kitabı, s. 185) 1993.*
 4. De Sarro GB, Meldrum BS and Nistico G. Anticonvulsant effects of some calcium entry blockers in DBA/2 mice. *Br. J. Pharma.* 1988; 93:247-256.
 5. Popoli P, Pezzola A. and Scotti de Carolis A. Effects of calcium antagonists nimodipine on penthylenetetrazol induced seizures in rats and rabbits. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1988; 292:58-67.
 6. Demir Ş. Beyinde çinkonun sebep olduğu hücre ölümüne verapamilin etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 1994.*
 7. Katz AM, Basic cellular mechanisms of action of the calcium channel blockers. *Am. J. Cardiol.* 1985; 55:2-9.
 8. Ferry DR, Glossmann, H. Evidence for multiple receptor sites within the putative calcium channel. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 1984; 321:80-83.
 9. Weiner DA, Calcium Channel Blockers, *Med. Clin. North America.* 1988; 72:83-115.
 10. Vander Zee CEEM, Schuurman T, Geritsen R, Traber J, Gispen WH. Beneficial effect of nimodipine on peripheral nerve function in aged rats. *Neurobiology of Aging.* 1990; 11:451-456.
 11. Straub H, Baker RE, Bingman, D, Speckman EJ, Spontaneously appearing burst discharges in hippocampal and neocortical neurons (in vitro) suppression by the calcium antagonist verapamil and flunarisine. *Pflügers.* 1991; 418:14.
 12. Straub H, Danz C, Speckmann EJ. Depressive effects of organic calcium antagonists on bicuculline induced epileptic activity in hippocampal and neocortical neurons in: E.C. Speckmann and M.J. Gutnick (eds.) *Epilepsy and inhibition.* Urban and Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore. 1992; 255-270.

