

Kalsiyum Kanal Blokeri Nifedipinin Monosinaptik Reflekslere Etkisi

Dr. Osman GENÇ², Dr. Niyazi TAŞÇI¹, Araş. Gör. Şerif DEMİR¹,

Dr. Cafer MARANGOZ¹

1) Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

2) Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

- ✓ Kalsiyum kanal blokerlerinden nifedipinin omurilik reflekslerine olan etkilerini araştırdık. Nifedipin 10, 50, 100 µm lokal ve 5, 10, 20 mg/kg peritonel olarak verildi. Yetişkin kediler (n=10), 1,5 - 3 kg ağırlığında, ketamin (50 mg/kg, i.m.) ile anestezi edildi ve suni ventilasyon uygulandı. Hayvanlar servikal seviyeden spinalize edildi. Havuz oluşturuldu, dokular likit vazelinle örtüldü ve sıcaklık 38.5±0.5°C'de muhafaza edildi. Karotis artere tansiyon aleti takıldı ve tansiyonun 100 mmHg'nın üzerinde olması sağlandı. Uyarı için L₅ segmentin dorsal köküne gümüş-gümüş klorür tel elektrot yerleştirildi. Refleks potansiyeller ipsilateral L₅ ventral kökten kaydedildi, bu kayıta da gümüş-gümüş klorür tel elektrot kullanıldı. Nifedipinin hem sistemik hem de lokal dozları refleks cevabın amplitüdünü azalttı (p<0.05). Sistemik dozlar latenste uzama oluştururken (p<0.05), lokal dozlar latenste anlamlı değişiklik meydana getirmedi (p>0.05). Bu sonuçlar bize omirilikte voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının olabileceğini ve refleks cevabın düzenlenmesinde voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Monosinaptik refleks, Nifedipin, Kalsiyum kanal blokeri.

- ✓ The effects of calcium channel blocker, nifedipine on spinal monosynaptic reflexes were investigated in spinal cats. Nifedipine was administered-locally (10, 50, 100s µmol/l) and intraperitoneally (5; 10, 20 mg/kg). Adult cats (n=10), weighing 1,5-3 kg were anesthetized with ketamine (50 mg/kg, I.M.) and artificially ventilated. Animals were spinalized at C₁ level. A laminectomy was performed in the lumbosacral region. The ventral and dorsal roots of segment L₅ were isolated and a pouch of skin was formed at the site of the dissection, to allow the exposed tissues to be covered with liquid paraffin, which was kept at 38.5±0.5°C with a heating pad. A polyethylene cannula was introduced into the left carotid artery to monitor blood pressure, which was kept above 100 mmHg. The dorsal root of segment L₅ was placed on a silver-silver chloride wire electrode for stimulation through an isolatin unit. 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 nifedipine produced a dose-dependent decrease in the amplitude of the monosynaptic reflexes (p< 0.05). Moreover, the latency of the monosynaptic reflexes was increased after administration of the drug (p<0.005). These results show the presence of voltage-dependent calcium channels in the spinal cord and these channels may play an important role to regulate reflex respond.

Key words: Monosynaptic reflex, Nifedipine, Calcium channel blocker.

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^(4,5,6,7). 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⁽⁸⁾.

Dihidropiridinler grubundan nifedipin, L-tipi voltaj bağımlı iyon kanallarından kalsiyumun hücre içine girişini önleyerek etki eder⁽⁹⁾.

Literatürde spinal refleksler üzerine kalsiyum kanal blokerlerinin etkisiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle kalsiyum kanal blokerlerinden nifedipinin spinal reflekslere etkisini araştırmak amacıyla bu çalışma 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. Trakeotomi yapıldı. Denek solunum pompasına bağlandı. Solunumun normal devam edebilmesi için solunum kasları panküronyum bromür (0.08 mg/kg, i.m.) verilerek devre dışı bırakıldı. Karotis arter ve ven açığa çıkarıldı. Kan basıncını kontrol edebilmek için karotis arterine basınç transduseri ile bağlantılı kanül yerleştirildi. Karotis Vena jugularis ise acil müdahale için kanüle edildi. L₁-L₂ arasında laminektomi yapıldı ve hayvan servikal seviyeden spinalize edildi. Spinal bölgeye sıvı vazelin havuzu yapıldı ve ısıyı bir ısıtıcı ile 38.5°C'de tutuldu. L₅₋₇ ön ve arka kökler distalden kesilerek lif ayrımı yapıldı. Uyarıcı gümüş-gümüş klorür tel elektrot arka kök üzerine, kaydedici gümüş-gümüş klorür tel elektrot ise ön kök üzerine yerleştirildi ve osiloskoptan kayıtlar alındı. Nifedipinin 5, 10, 20 mg/kg sistemik ve 10, 20, 100 µM (2 mikrolitre) lokal dozları uygulandı.

İstatistiki hesaplamalar Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ve Kruskal Wallis varyans analiziyle yapıldı.

BULGULAR

Nifedipinin sistemik ve lokal etkileri ve istatistiksel bulguları aşağıdaki şekillerde görülmektedir. Şekil 1'de sistemik (i.p.) olarak verilen nifedipinin 5 mg/kg'lık dozunun etkisi görülmektedir. Şekil 1A kontrol B ve C 5mg/kg nifedipin (i.p.) verildikten sonra sırayla 60 ve 90. dakikada elde edilen kayıttır. Bu dakikalarda refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlı (p<0.05, Şekil 4) latenteki değişiklik ise anlamsızdır (p>0.05, Şekil 1 A,B,C; Şekil 5).

Şekil 2'de sistemik (i.p.) olarak verilen nifedipinin 10mg/kg'lık dozunun etkisi görülmektedir. Şekil 2A kontrol; B ve C sırasıyla 15.ve 90. dakikalarda elde edilen refleks potansiyel kayıttır. Bu dakikalarda refleks potansiyel amplitüdündeki azalma anlamlı (p<0.05, Şekil 2 A,B,C; Şekil 4), latenteki değişiklik anlamsızdır (p>0.05; Şekil 5).

Şekil 3'de 20 mg/kg nifedipinin (i.p.) refleks cevaba olan etkileri görülmektedir. Şekil 3A kontrol B ve C sırasıyla 15. ve 60. dakikalarda elde edilen refleks kayıttır. Bu dakikalardaki refleks cevap amplitüdündeki azalma ve latenteste meydana gelen uzama anlamlıdır (p<0.05, Şekil 3 A,B,C; Şekil 4; 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). Şöyleki, 15. dakikada 20 mg/kg'lık

doz ile elde edilen refleks cevap amplitüdü en düşüktür. Refleks cevabın latensini en fazla etkileyen sistemik nifedipin dozu da 20 mg/kg'dır ($p < 0.05$).

Şekil 6'da omuriliğe lokal verilen 100 μM nifedipinin refleks cevaba olan etkileri görülmektedir. Şekil 6A kontrol; B ve C sırasıyla 45. ve 60. dakikadaki refleks cevap kayıtlarıdır. Bu dakikalardaki refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlı ($p < 0.005$ Şekil 6 A,B,C), latensteki değişiklik ise anlamsızdır ($p > 0.05$; Şekil 7).

10 μM lokal nifedipin rekleklere ve latensini etkilemedi. 50 μM lokal nifedipin ise reflekslerle 15. dak., hissedilir azalma yaptı. Bu azalma 190 dakika devam etti ($p < 0.05$). Latensi etkilemedi ($p > 0.05$; Şekil 7).

Nifedipinin farklı lokal dozlarını (10, 50, 100 μM) refleks cevabın amplitüdüne olan etkileri Kruskal Wallis testi ile karşılaştırıldığında 30. dakikada elde edilen sonuçlar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p < 0.05$). Şöyleki, 30. dakikada 100 μM 'lık doz ile elde edilen refleks amplitüdü en düşüktür. Nifedipinin 50 ve 100 μM 'lık lokal dozları latensi hafif uzattı fakat latensteki bu değişiklik istatistik olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sistemik olarak uyguladığımız nifedipinin 5, 10, 20 mg/kg'lık dozlara 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). Kullandığımız sistemik dozlardan 20 mg/kg'lık doz latenste anlamlı azalma meydana getirdi ($p < 0.05$; Şekil 3 A,B,C; Şekil 5).

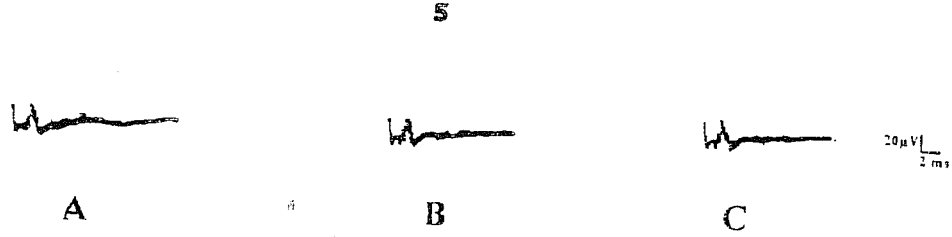
Nifedipinin 10, 50, 100 μM 'lık lokal doz-

ları refleks cevap amplitüdünde anlamlı azalma meydana getirdi ($p < 0.05$; Şekil 6 A,B,C; Şekil 7). Lokal dozlardan 50 ve 100 μM 'lık dozlar latenste hafif uzama meydana getirmişse de bu değişiklik istatistik açıdan anlamlı değildir ($p > 0.05$).

Nifedipinin etkisinin voltaj bağımlı iyon kanallarından L-tipi kanallar üzerinden olduğu gösterilmiştir⁽¹⁰⁾. Kalsiyum kanal blokerleri hücre içine kalsiyum akışını engellediğinden iskeminin önlenmesinde önemlidir⁽¹¹⁾. Periferik sinir travmatik lezyonlarında nifedipin rejenerasyonu hızlandırmıştır⁽¹²⁾. Voltaj bağımlı kalsiyum kanal blokeri nifedipin NMDA agonisti verilmesiyle oluşturulmuş nekrotikal nöronal hasarı hafifletmiştir⁽¹³⁾. Kedilerde lumbal omurilikte çarpma ile oluşturulan yaralanmadan sonra nifedipin posttravmatik omurilik kan akımını anlamlı bir şekilde korumuştur⁽¹⁴⁾. Nifedipin; ratlarda kainik asitle oluşturulan nöbetlerin yayılmasını ve uzun süre devam etmesini önlemiştir⁽¹⁵⁾.

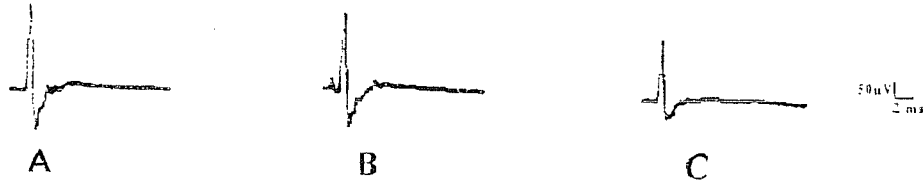
Daha önce nifedipinin beyin periferik sinir sistemi ve omuriliğe olan etkilerini konu alan çalışmalardan elde edilen sonuçlar bizim spinal reflekslerle elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içindedir^(12,13,14,15). Bu yapılar bir bütünlük oluşturduğundan bir maddenin bu yapılar üzerindeki etkisinin spinal refleks üzerindeki etkisi ile paralellik göstermesi beklenebilir.

Dihidropiridin grubu nifedipin, voltaj bağımlı iyon kanallarından L-tipi kanalın alfa 1 altbirimi üzerinden hücre içine kalsiyum girişini bloklayarak refleks cevabın oluşmasını geciktirdiği ve refleks cevap amplitüdünü azalttığı söylenebilir.



Şekil-1: İntraperitoneal olarak uygulanan 5 mg/kg nifedipinin refleks cevaba etkisi.

- A: Kontrol
B: 5 mg/kg nifedipinin 60. dakikasında elde edilen kayıta refleks cevap amplitüdünün azaldığı görülmektedir ($p<0.05$).
C: 5mg/kg nifedipinin 90. dakikada refleks cevap amplitüdünü azalttığı görülmektedir.



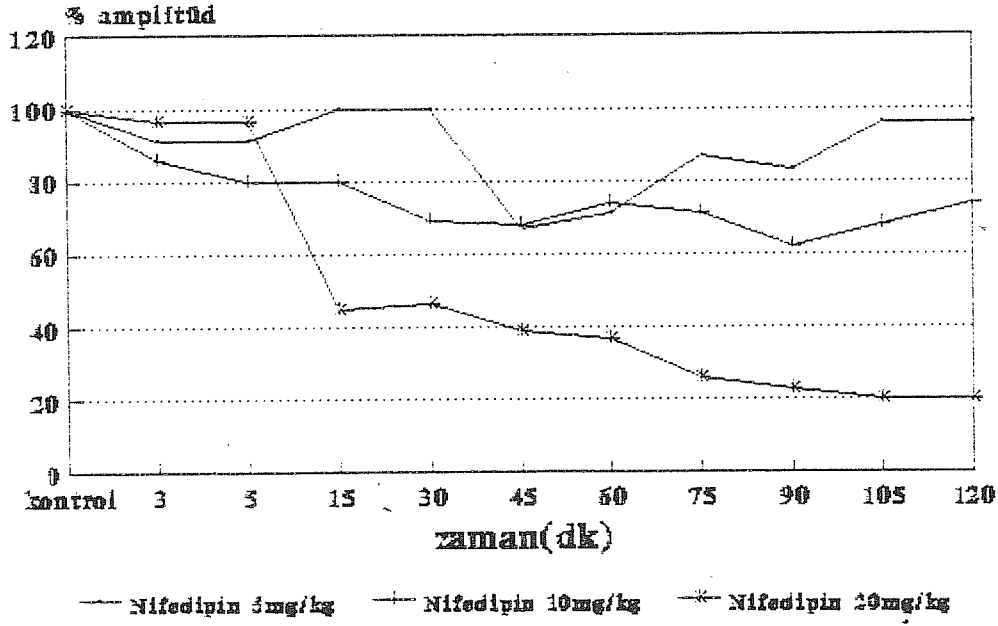
Şekil-2: İntraperitoneal olarak uygulanan 10 mg/kg nifedipinin refleks cevaba etkisi.

- A: Kontrol
B: 10 mg/kg nifedipinin verildikten sonra 15. dakikada refleks cevabın amplitüdü küçülmüştür.
C: 10 mg/kg nifedipinin verildikten sonra 90. dakikadaki kayıt. Refleks cevap potansiyelinin amplitüdünde belirgin bir azalma görülüyor.

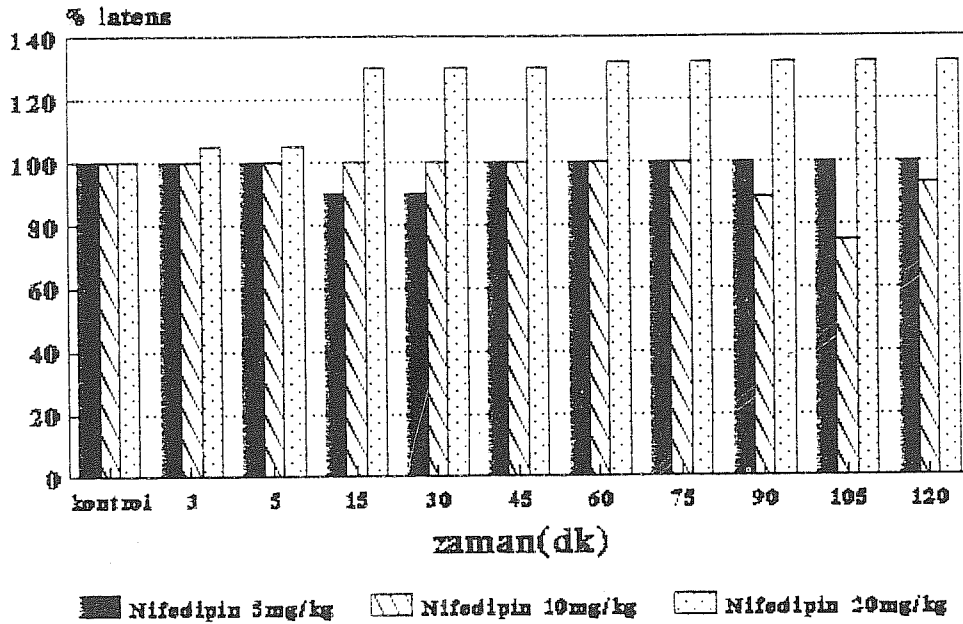


Şekil-3: 20 mg/kg i.p. nifedipinin refleks cevaba etkisi.

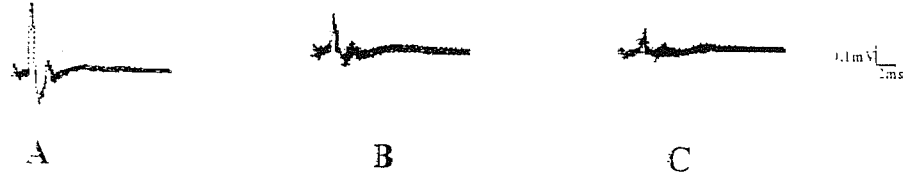
- A: Kontrol
B: 20 mg/kg nifedipinin verildikten sonra 15. dakikada elde edilen refleks cevap.
C: 60. dakikada elde edilen refleks cevap görülmektedir. Burada amplitüd düşmüş ($p<0.05$) latens ise uzamıştır ($p<0.05$).



Şekil-4: Sistemik olarak uygulanan nifedipinin refleks cevap amplitüdüne olan etkileri görülmektedir. İlaç verildikten sonra elde edilen değerler kontrolün yüzdesi olarak ifade edilmiştir. Doz arttıkça refleks cevap amplitüdü düşmektedir.

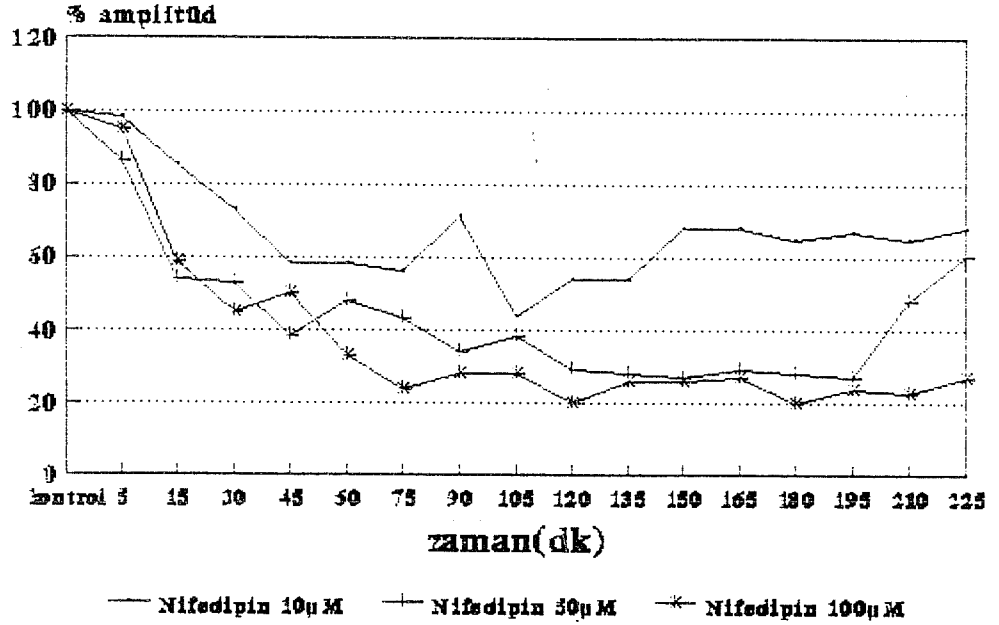


Şekil-5: Sistemik olarak verilen nifedipinin refleks cevap latensine olan etkileri görülmektedir. İlaç verildikten sonra elde edilen latens değerleri kontrolün yüzdesi olarak ifade edilmiştir.



Şekil-6: Lokal olarak uygulanan 100 µM nifedipinin refleks cevaba etkisi.

- A: Kontrol
 B: 100 µM nifedipinin lokal olarak uygulanmasından 45 dakika sonra elde edilen refleks cevabın amplitüdünde belirgin düşme görülmektedir ($p<0.05$). Latenste ise çok az bir uzama oldu ($p>0.05$).
 C: Aynı dozun 60. dakikasında refleks cevap daha da küçüldü ($p<0.05$). Latensteki uzama anlamsız idi ($p>0.05$).



Şekil-7: Lokal olarak uygulanan nifedipinin refleks cevap amplitüdüne olan etkileri. 10 µM, 50 µM ve 100 µM'lık dozlar uygulandı, amplitüd değerleri kontrolün yüzdesi olarak ifade edildi.

Geliş Tarihi: 29.01.1996**Yayına Kabul Tarihi:** 12.04.1996**KAYNAKLAR**

1. Kawasaki, K., Takesue H., and Matsushita A., Modulation of spinal reflex activities in acute spinal rats with alfa-adrenergic agonists and antagonists. *Jap. J. Pharmac.* 28, 165-168, 1978.
2. Tanabe, M., Tonohiro, T., Kaneko, T., Iwata, N., Sakai, J. and Nagano M., Pharmacological study on R-4-chloro-2 (2 hydroxy-3-morpholinopropyl)-5-phenyl-4 isoxasolin-3-one-hydrochloride (RS - 722), a new centrally acting muscle relaxant. *Jap. J. Pharmac.* 1991; 55:279 p.
3. Taşçı, N., Boşnak, M., Genç, O., Effects of Methylxanthines and purinergic substances on spinal reflex in the cat., *İst. Üniv. Tıp Fak. 12. Kurultayı*, 12-16 Ekim 1993, Özet Kitabı s. 185.
4. De Sarro, G.B., Nistico, G., Meldrum, B.S., Anticonvulsant properties of flunarizine on reflex and generalized models of epilepsy. *Neuropharmacology*, 1986; 25:695-701.
5. Küçük, M., Ratlarda "crush injury" yi takiben sinir rejenerasyonu üzerine nimodipin, nikardipin ve nifedipinin etkilerinin elektrofizyolojik yöntem ile değerlendirilmesi. *Uzmanlık Tezi*, 1993.
6. Mooron, M.A., and Yaksh, T.L., The anticonvulsant effect of systemically administered calcium channel antagonists. *Eastern Student Research Forum. American Medical Association Education and Research Foundation. Miami, FL*, 1988.
7. Shirino, A., Matsuda, M., Handa, J., Marikawa, S., Calcium antagonist and acute brain ischemia: effects of nilvadipine and nicardipine on middle cerebral artery occlusion in rats. *Nippon. Geka Hokan*. 1991; 60, 38-44.
8. Katz, A.M., Basic cellular mechanism of action of the calcium channel blockers. *Ame. J. Cardiol*, 1985; 55, 2B-9B.
9. Tanabe, T., Beam, K.G., Powell, J.A., Numa, S., Restoration of excitation contraction coupling and slow calcium current in dysgenic muscle by dihydropyridine receptor complementary DNA. *Natura*, 1988; 336, 134.
10. Tanabe, T., Beam, K.G., Adams, B.A., et al, Regions of the skeletal muscle dihydropyridine receptor critical for excitation-contraction coupling. *Nature*, 1990; 346, 567-572.
11. Weiner, D.A., Calcium channel blockers, *Med. Clin. North America*. 1988; 72, 83-115.
12. Küçük, M., Tunalı, G., Taşçı, N., Marangoz C., Ratlarda periferik sinir zedelenmesinde nifedipinin etkisi. *XI. Gevher Nesibe Tıp Günleri*, 19-22 Nisan., *Kongre Özetleri Kitabı*, 59, Kayseri 1993.
13. Weiss, J.H., Heartley, D.M., Koh, J., Choi, D.W., The calcium channel blocker nifedipine attenuates slow excitatory amino acid neurotoxicity. *Science*, 1990; 247, 1474-1477.
14. Hall, E.D., and Wolf, D.L., A pharmacological analysis of the physiological mechanism of posttraumatic spinal cord ischemia. *J. Neurosurg*, 1986; 64, 954-961.
15. Braun, D.E., Freed, W.J., Effects of nifedipine and anticonvulsants on kainic acid-induced seizures in mice. *Brain Research*, 1990; 533, 157-160.

