

ELEKTRİKLE UYARILAN İZOLE KOBAY VE FARE SOL ATRİYUMU VE SIÇAN DİYAFRAMININ KASILMASI ÜZERİNE KALSİTONİN'İN ETKİLERİ*

Çiğdem AŞKIN, Aydın BARLAS,
Cihat KÜÇÜKHÜSEYİN

Background.- Although the regulatory role of calcitonin released from the parafollicular cells of thyroid gland and its essential role in the haemostasis of blood Ca^{2+} was well documented, its effects on the physiological functions of tissues except bones is not yet fully established. Therefore, the aim of this study was to explore, how calcitonin acts on the contractile activity of heart and striated muscle.

Design and Results.- Experiments were carried out on the isolated electrically driven left atria of guinea-pigs and mice and phrenic nerve-diaphragm preparations of rats. In the electrically driven guinea-pig left atria (1 Hz, 2 msec, 2x threshold voltage), contractility was depressed by ampule calcitonin (Miacalcic) in a dose-dependent manner at concentrations in range of 0.25-4 µg/ml. This effect of ampule calcitonin was weaker with respect to those produced by the solvent being in the same amount. Especially at 2 and 4 µg/ml of ampule calcitonin, the contractile response was biphasic, e.g. an initial short-lived positive inotropic effect was preceding the main negative inotropic one. Theophylline (0.5 mM), atropine (2 µg/ml) and methylene blue (2 µg/ml) antagonized ampule calcitonin nonsignificantly, whereas the effect of solvent remained unaltered. Verapamil (0.5 µg/ml), however, augmented the negative inotropic effect of both ampule calcitonin and the solvent. In the phrenic nerve-diaphragm preparation, although contractions induced by direct electrical stimulation (0.1 Hz, 5 msec, 2x threshold voltage) was

depressed by ampule calcitonin dose-dependently in a concentration range of 1-8 µg/ml, contractions induced by nerve stimulation (0.1 Hz, 1 msec, 2x threshold voltage) was augmented over a concentration of 4 µg/ml.

Conclusion.- Depending on these findings, it was concluded that calcitonin has a stimulatory effect on the contractile function of heart and striated muscle which is masked by the solvent and that cAMP, cGMP and Ca^{2+} channels all appeared to involve in the cardiac effects of the test agent.

Aşkın Ç, Barlas A, Küçükhüseyin C. Effects of calcitonin on the contractility of isolated electrically driven guinea-pig and mouse left atria and rat diaphragm. Cerrahpaşa J Med 2000; 31: 155-162.

Kalsitonin tiroid bezi parafolliküler hücrelerinde (C hücreleri) sentezlenen ve 32 aminoasitten oluşan polipeptid yapısında bir hormondur.¹⁻³ Sentezi 11. kromozomda yerleşen iki gen (alfa ve beta genleri) tarafından kontrol edilir. Hormonal etkinlik ilk 25 aminoasitten ileri gelmektedir. İlk kez Copp ve ark. (1961)⁴ yüksek Ca^{2+} konsantrasyonu içeren kan ile perfüze edildiği zaman, köpek tiroid ve paratiroid bezlerinden hipokalsemik bir faktörün salıverildiğini göstermişler ve buna kalsitonin adını vermişlerdir. Daha sonra Hirsch ve ark. (1964)⁵ kalsitoninin tiroid bezinde yapıldığını ortaya çıkarmışlardır.

Kalsitonin geni birçok hayvan türünde belirgin kardiyovasküler etkileri olan iki aktif peptid oluşturmaktadır: kalsitonin (CT) ve kalsitonin geni ile ilişkili peptid (CGRP). Kalsitoninin tersine, CGRP 37 aminoasitten oluşmaktadır ve merkezi sinir sisteminde daha yoğun olmak üzere periferik organları da içine alan geniş bir dağılım göstermektedir.⁶⁻¹¹ İnsanlarda güçlü koroner dilatatör etkisi olan CGRP'in kalbe giden sinir uçlarında P-maddesi ile birlikte bulunması, bu peptidin nörotransmitter ya da nöromodü-

* *Anahtar Kelimeler:* Kalsitonin, Miyokard, Çizgili kas, cAMP, cGMP; *Key Words:* Calcitonin, Myocard, Striated Muscle, cAMP, cGMP; *Alındığı Tarih:* 10 Mart 2000; Uzm. Dr. Çiğdem Aşkın: Bayer Türk Farma ve Sağlık Ürünleri Bölümü, Medikal Departman, İstanbul; Prof. Dr. Aydın Barlas, Prof. Dr. Cihat Küçükhüseyin: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı; *Yazışma Adresi (Address):* Dr. C. Küçükhüseyin, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 34303 Cerrahpaşa, İstanbul.
<http://www.ctf.istanbul.edu.tr/dergi/online/2000v31/s3/003a6.htm>

latör bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.^{1,8,10,12,13} CGRP'in vasküler tonus, koroner ve serebral kan akımının düzenlenmesinde fizyolojik bir role sahip olduğuna inanılmaktadır.¹⁴ Kalsitonin ve CGRP, in vitro ve in vivo koşullarda hipotansiyon, vazodilatasyon, pozitif inotropik ve kronotropik etkiler oluşturmaktadır.^{13,15-22} CGRP'de bu etkiler daha güçlüdür. Buna karşılık, kemik rezorpsiyonu, mide salgısı ve yiyecek alımının inhibisyonu, analjezik etki, plazminojen ve adenilat-siklaz aktivasyonu gibi non-kardiyovasküler etkilerin kalsitoninde daha güçlü olduğu görülmektedir. Bu endojen peptidlerin farmakodinamik etkilerine plazma membranında bulunan adenilat-siklaz enziminin uyarılması ve dolayısı ile cAMP seviyelerindeki artış aracılık etmektedir.^{7,23-25}

Kalsitonin'in Ca^{2+} homeostazı, kemik dokusu ile etkileşmesi ve hipokalsemik etki mekanizmaları iyi bilindiği halde,^{4,5} diğer dokularla etkileşmesi henüz açık değildir. Bu çalışmada miyokard, çizgili kas ve motor sinir uçlarında kalsitonine bağlı olası etkilerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Deneylerde her iki cinsten 250-400 g arasında Dankin-Hartley türü kobaylar, 200-250 g arasında Sprague-Dawley türü sıçanlar ve 20-25 g dolayında Albino Balb C türü fareler kullanılmıştır. Kobay ve fareler servikal bir darbe ile bilinçsizleştirildikten ve karotisler kesilerek kanatıldıktan sonra, kalb hızla göğüs boşluğundan çıkarılmış ve içinde %95 O_2 ve %5 CO_2 karışımı ile gazlandırılmış Tirod solüsyon bulunan bir beher içine alınmış ve spontan kasılmalarla atriyumların içindeki kanın boşalması için bir süre beklenilmiştir. Daha sonra atriyo-ventriküler bir kesi yapılarak atriyumlar ventriküllerden ayrılmış ve ardından inter-atriyel bir kesi ile sol atriyum izole edilmiştir. Atriyumun bir ucu oksijenatörün sabit çengeline, diğer ucu ise Grass model FT03 transdüserine bağlandıktan sonra dikey olarak bir çift platin elektrod arasında, içinde sürekli gazlandırılan Tirod solüsyonu

bulunan 10 ml'lik bir organ banyosuna yerleştirilmiştir. Banyo ısısı termostatl bir ısıtıcı (Braun-Melsung) ile deney süresince $30^\circ C$ 'da sabit tutulmuştur. Tirod solüsyonunun bileşimi (g/L): NaCl 8.0, KCl 0.2, $CaCl_2$ 0.2, $NaCl_2$ 0.1, NaH_2PO_4 0.05, $NaHCO_3$ 1.0, glukoz 1.0. Atriyumlar 0.5 g bazal gerilim altında Grass model S44 stimülatöründe üretilen 1 Hz, 2 msn ve 2x eşik voltaj düzeyinde bir stimulusla sürekli olarak uyarılmış ve kasılmalar Grass model 5 poligraf üzerine kaydedilmiştir. Frenik sinir-diyafram preparatı için, sıçanlar yukarıda tarif edildiği gibi bayıltılıp kanatıldıktan sonra, sol-ön göğüs kaburgaları kesilerek frenik sinir ve diyafragma ortaya çıkarılmıştır. Frenik sinirin 1.5-2 cm'lik bir segmenti izole edilerek ucuna 10-15 cm boyunda bir iplik bağlanmıştır. Sol diyafram kosta-diyafragmatik sınırda göğüs ve karın ön duvarından ayrılmıştır. Diyaframın kosta-diyafragmatik kenarı ve centrum tendinum arasında kalan üçgen şeklinde bir bölümü, frenik sinirin kasa girişi ortada olacak şekilde izole edilmiş ve centrum tendinum'a 30 cm boyunda bir iplik bağlanmıştır. Kosta-diyafragmatik kenar uyan elektroduna tespit edildikten sonra, preparat gazlandırıcı elektrod düzeniği ile birlikte %95 O_2 ve %5 CO_2 karışımı ile sürekli gazlandırılan Tirod solüsyonu ile doldurulmuş 30 ml'lik bir organ banyosuna yerleştirilmiş ve banyo sıcaklığı deney süresince $37^\circ C$ 'da sabit tutulmuştur. Centrum tendinuma bağlı iplik Grass model FT03 transdüserine bağlanırken, frenik sinir ucundaki iplik banyo içine daldırılan bir çift halka elektrod içinden geçirilerek, sinirin elektrodlar içine yerleştirilmesi için kullanılmıştır. Optimum kasılma için preparata 2 g'lık bazal bir gerim uygulanmıştır. Grass model S44 stimülatörü kullanılarak sinir 0.1 Hz, 0.1 msn ve 2x eşik voltajla indirekt olarak, kas ise 0.1 Hz, 5 msn ve 2x eşik voltajla direkt olarak uyarılmıştır. Kasılmalar bir Grass model 5 poligrafı üzerine kaydedilmiştir. Sürekli elektriksel uyarılarla oluşturulan kasılmalar kararlı bir seviyeye ulaşınca kadar, bütün preparatlar 30-45 dak dinlenmeye bırakılmıştır. Bu süre boyunca banyo sıvısı her 10 dakikada bir gazlandırılmış taze solüsyonla değiştirilmiştir.

Deneylerde Sandoz (Şimdi Novartis) İlaç Firması'ndan temin edilen ampul kalsitonin (Miacalcic) kullanılmıştır (20 $\mu g/amp$, 0.1

ml=0.2 µg). Ampul kalsitonin'in eritildiği solvent (mg/ml): NaCl 7.5, asetik asit 2.0, Na-asetat trihidrat 2, distile su ile 1 ml'e tamamlanmıştır. Kalsitonin 0.25-16 µg/ml konsantrasyon aralığında logaritmik artan miktarlarda 2 dakika ara ile kümülatif olarak banyo ortamına ilave edilmiştir. 10 ml organ banyosu için kullanılan total miktar 2.5-160 µg ve bunların karşılığı olan solvent miktarı 0.0125-1.6 ml arasında değişmektedir.

Deneyler 4 ana grup altında toplanmıştır:

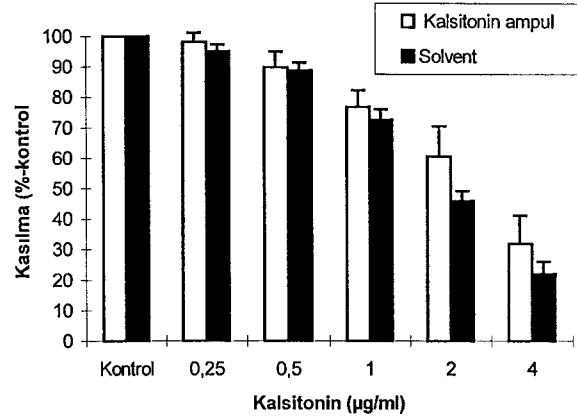
- 1) Ampul kalsitonin grubu (elektrikle uyarılan kobay, sıçan ve fare sol atriyumu),
- 2) Solvent grubu (elektrikle uyarılan kobay, sıçan ve fare sol atriyumu),
- 3) Kalsitonin etkisinde tür farkı (elektrikle uyarılan kobay, sıçan ve fare sol atriyumu),
- 4) Kalsitonin'in nöromüsküler kavşağa etkileri (sıçan frenik sinir-diyafra preparatı).

Kalsitonin ve solventinin kontraktilitede yaptığı değişikliklerin mekanizmasını ortaya çıkarabilmek için, elektrikle uyarılan sol atriyumlar 0.5 mM teofilin, 2 µg/ml atropin, 2 µg/ml metilen mavisi ve 0.5 µg/ml verapamil ile 3 dakika temasta bırakıldıktan sonra deneysel safhaya geçilmiştir. Kalsitonin ve solvent yanıtları, bunlardan önceki kontrol değerlerin yüzde ortalaması $\pm$ SH olarak ifade edilmiştir. İstatistik değerlendirmede Student t testinden yararlanılmış ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

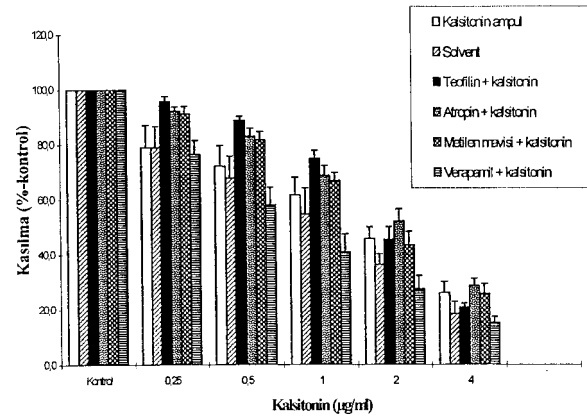
1. Elektrikle uyarılan kobay ve fare sol atriyumunun kasılması üzerine etki:

Elektrikle uyarılan kobay sol atriyumlarında, ampul kalsitonin 0.25-4 µg/ml doz aralığında 2 dak aralarla logaritmik artan miktarlarda kümülatif olarak uygulandığı zaman, kasılmalar doza-bağımlı olarak azalmıştır. Kalsitonin dozlarının karşılığı olan solvent miktarları (0.125-2ml) kasılmayı daha güçlü bir şekilde deprese etmiştir (Şekil 1). Ampul kalsitonin ve

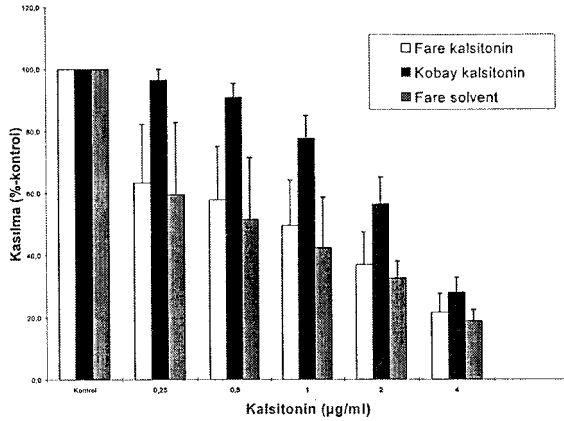


Şekil 1. Elektrikle uyarılan kobay sol atriyumlarında, kalsitonin ampul (Miacalcic, 0.2-4 µg/ml), ve kalsitonin ampul konsantrasyonlarının karşılığı solventin (0.125-2 ml) kasılma üzerine olan etkileri. Kalsitonin, logaritmik artan konsantrasyonlarda, 2 dakika ara ile, kümülatif olarak uygulanmıştır. Her bir histogram 5 deneyin ortalaması $\pm$ SH'ı temsil etmektedir. Ölçümler, kalsitonin veya solvent ortama eklendikten 2 dakika sonra alınmıştır.

solventin kontraktıl etkileri arasındaki fark 1, 2 ve 4 µg/ml konsantrasyonlarda istatistiksel bakımdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Özellikle, 2 ve 4 µg/ml ampul kalsitonin uygulamasından hemen sonra, inisiyel kısa ömürlü (+) inotropik bir etki görülmüştür (Şekil 2). Şekil 3'te, miyokardda fosfodiesteraz enzimini inhibe ederek cAMP seviyesini artıran teofilin (0.5

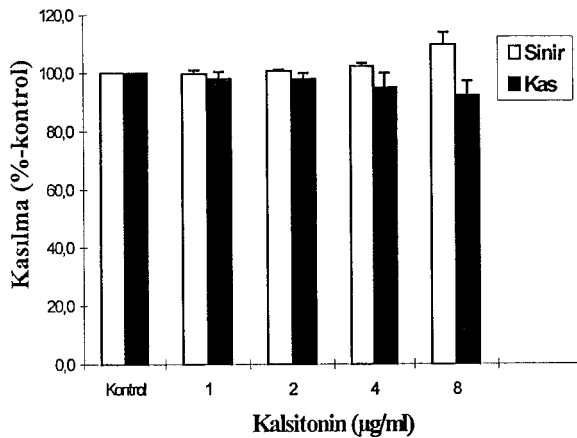


Şekil 2. Elektrikle uyarılan kobay sol atriyumlarında, kalsitonin ampulün (Miacalcic, 0.25-4 µg/ml) kontraktilitede yaptığı değişme üzerine, teofilin (0.5 mM), atropin (2 µg/ml), metilen mavisi (2 µg/ml) ve verapamil (0.5 µg/ml)'in etkileri. Kalsitonin, bu ilaçlarla 3 dakika ön temastan sonra banyo ortamına ilave edilmiştir. Her bir histogram, 6 deneyin ortalaması $\pm$ SH'ı temsil etmektedir. Ölçümler; kalsitonin veya solvent ortama eklendikten 2 dakika sonra alınmıştır.

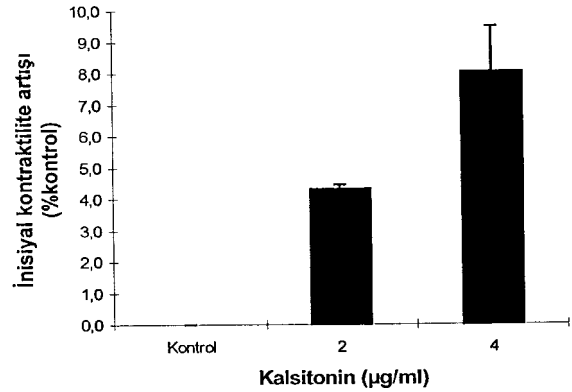


Şekil 3. Elektrikle uyarılan kobay ve fare sol atriyumlarında, ampul kalsitonin (Miocalcic, 0.25-4 µg/ml)'in oluşturduğu kontraktıl yanıtların karşılaştırılması. Her bir histogram, 6 deneyin ortalaması ± SH'ı temsil etmektedir. Ölçümler, kalsitonin veya solvent ortama eklendikten 2 dakika sonra alınmıştır.

mM, antimuskarinik atropin (2 µg/ml), guanilat siklazı inhibe ederek nitrik oksit (NO)'in etkilerini antagonize eden metilen mavisi (2 µg/ml) ve Ca²⁺ kanal blokörü verapamil (0.5 µg/ml) ile 3 dakika ön tedaviden sonra, ampul kalsitonin'e verilen kontraktıl yanıtlardaki değişiklikler gösterilmiştir. Verapamil, ampul kalsitonin ve solventin (-) inotropik etkilerini güçlendirirken (0.25-1 µg/ml'de p<0.05) teofilin, atropin ve metilen mavisi ampul kalsitonin'in etkilerini değişen derecelerde önlemiştir. Şekil 4'te ampul kalsitonin'in sıçan, fare ve kobay sol atriyum-

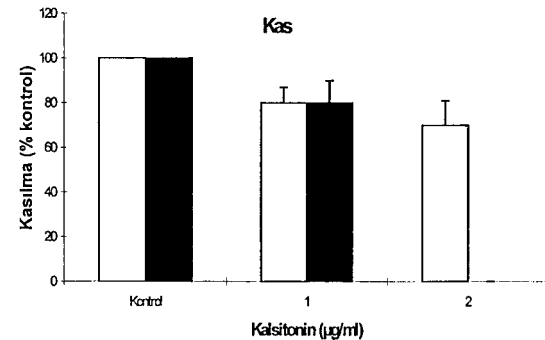
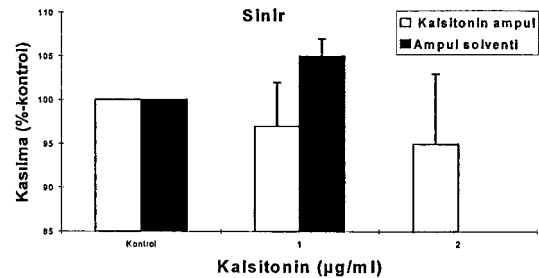


Şekil 5. Sıçan frenik sinir-diyafraam preparatında, direkt (kas) ve indirekt (sinir) elektriksel uyarı ile oluşturulan kasılmalar üzerine kalsitonin ampulün (Miocalcic, 1-8 µg/ml)'in etkileri. Her bir histogram, 3 deneyin ortalaması ± SH'ı temsil etmektedir. Ölçümler, kalsitonin ortama eklendikten 2 dakika sonra alınmıştır.



Şekil 4. Elektrikle uyarılan kobay sol atriyumlarında, 2 ve 4 µg/ml kalsitonin ampul (Miocalcic) uygulamasından hemen sonra gelişen (+) inotropik etki. Bu etkiyi, daha sonra hızla gelişen negatif inotropik bir etki izlemektedir (Bak. Şekil 1 ve 2). Herbir histogram 6 deneyin ortalaması ± SH'ı temsil etmektedir. Ölçümler, kalsitonin ortama eklendikten 2 dakika sonra alınmıştır.

larındaki kontraktıl etkilerinin bir karşılaştırması yapılmıştır. 0.25-1 µg/ml doz aralığında fare atriyumlarının ampul kalsitonin'in (-) inotropik etkisine daha duyarlı olduğu görülmektedir (p<0.05).



Şekil 6. Sıçan frenik sinir-diyafraam preparatında, kalsitonin ampul ve kalsitonin ampul konsantrasyonlarının karşılığı solventinin, direkt ve indirekt yolla oluşturulan kasılmalar üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. Her bir histogram, 3 deneyin ortalaması ± SH'ı temsil etmektedir. Kalsitonin ampul solventi, 2 µg/ml konsantrasyonda denenmemiştir. Ölçümler, kalsitonin veya solvent ortama eklendikten 2 dakika sonra alınmıştır.

2. Elektrikle uyarılan sıçan frenik sinir-diyafram preparatındaki kasılmaya etki:

Diyafram kasının direkt elektriksel uyarıya bağlı kasılması, ampul kalsitonin'in 1-8 µg/ml konsantrasyon aralığında doza-bağımlı olarak deprese olurken, sinirsel uyarıya bağlı indirekt kasılmalar 4 µg/ml ve üzerindeki konsantrasyonlarda artma göstermiştir (Şekil 5). Direkt ve indirekt yolla oluşturulan kasılmalar arasındaki fark 8 µg/ml'de istatistiksel bakımdan anlamlıdır ($p < 0.05$). Şekil 6'da, ampul kalsitonin ve solventinin 1 ve 2 µg/ml konsantrasyonlarda sinir ve kas uyarısı ile oluşturulan kasılmalar üzerine etkileri gösterilmiştir. 1 µg/ml düzeyinde ampul kalsitonin indi-rekt uyarıya bağlı kasılmayı azaltırken, solvent artırmıştır. Oysa, direkt uyarıya bağlı kasılmalar her iki uygulamada da deprese olmaktadır.

TARTIŞMA

Kalsitonin ve CGRP'in kardiyovasküler sistem üzerinde vazodilatasyon, (+) inotropik ve kronotropik etkiler^{13,15-22} gibi önemli etkileri vardır. Bu farmakodinamik etkilere hedef hücrelerde cAMP düzeylerinin modülasyonu aracılık etmektedir.^{7,23-25} İnsan ve sıçan soleus kasında ise, bu ajanların elektrojenik Na^+/K^+ -ATPaz (Na^+ -pompa)'ı uyardığı ve hiperpolarizasyon oluşturduğu gösterilmiştir.²⁶ Kalsitonin'in kemik dışı dokulardaki olası etkileri henüz açık değildir. İn vitro, kalp ve çizgili kas dokularında solvent-kontrollü ampul kalsitonin ile yapılan bu çalışmada, konuya ışık tutacak sonuçlar elde edilmiştir: 1) miyokardın ilaca verdiği kontraktıl yanıtlar kobay, sıçan ve fare arasında farklılıklar göstermektedir (tür farkı, Şekil 4), 2) ampuldeki kalsitonin'in miyokard kasılmasını artırıcı etkisi solventi tarafından maskelenmektedir (Şekil 1, 2 ve 3) ve bu görüş literatür bilgileri ile uyumluluk göstermektedir.

dir,^{13,15-22} 3) ampul kalsitonin'in miyokard kasılması üzerine olan depresan etkisi hücre-içi cAMP ve cGMP seviyeleri ve plazmalemmal Ca^{2+} -kanal aktivitesinin modülasyonuna duyarlıdır (Şekil 3), 4) çizgili kasta ampul kalsitonin hem direkt ve hem de indirekt sinirsel kontraktıl yanıtları deprese ederken, solvent direkt kasılmalarda azalma ve indirekt kasılmalarda, 1 µg/ml'e uyan miktarlardan sonra artma yapmıştır (Şekil 5 ve 6).

Ca^{2+} uyarılabilir dokuların kasılmasında kritik bir role sahiptir.^{27,28} Kontraktıl aktivite kalpte hücre-dışı Ca^{2+} 'a mutlak bir bağımlılık gösterirken,²⁷ çizgili kasta bunun tersi geçerlidir. Miyokard hücrelerinin depolarizasyonu Ca^{2+} 'un elektrokimyasal gradiyent boyunca hücre içine akmasına ve sarkoplazmik retikülümdeki Ca^{2+} havuzundan 'aktivatör kalsiyum'un sitoplazmaya salıverilmesine neden olmaktadır. En sonunda artan sitoplazmik Ca^{2+} miyofibriler ATPaz'ı aktive ederek kasılmayı başlatmaktadır. Bu olaylar zincirinde hücrel Ca^{2+} hareketine sarkolemma ve sarkoplazmik retikülümde bulunan Ca^{2+} -kanalları aracılık etmektedir. Kanal aktivitesi ve iyonik kondüktansın düzenlenmesinde cAMP modülatör bir rol oynamaktadır.²⁹ Gerek cAMP ve gerekse cGMP kavşak-sonrası periferik sempatik ve parasempatik etkilerde 'ikinci ulak' olarak görev yapmaktadır. Öte yandan, CGRP ve kalsitonin'in hormonal etkilerine de cAMP'in aracılık ettiğine ilişkin birçok inandırıcı deneysel bulgular elde edilmiştir.^{7,23-25} Gennari ve ark. (1988)³⁰ bu ajanların cAMP yanında plazma cGMP seviyelerini de yükselttiğini göstermişlerdir. Çalışmada cAMP, cGMP ve sitoplazmik Ca^{2+} seviyelerini modüle eden koşulların, kalsitonin'in hedef hücrelerdeki etkilerini de modüle edebileceği varsayılmıştır. Gerçekten de, bir Ca^{2+} -kanal blokörü olan verapamilin ampul kalsitonin'in yaptığı (-) inotropik etkiyi güçlendirmesi, Ca^{2+} 'un kalsitonin'in kardiyak etkilerindeki rolüne işaret etmektedir. Aynı

deney grubunda, hücre-içi cAMP seviyelerini yükselten teofilin, cAMP/cGMP seviyelerini modüle eden ve fosfoinositol yoluyla etkileşen muskarinik reseptör antagonisti atropin ve guanilat-siklaz/cGMP sistemini deprese eden metilen mavisi ise, ampul kalsitonin'in kontraktilete üzerine olan bu depresör etkisini değişen derecelerde antagonize etmiştir. Bu sonuçlar, ampul kalsitonin'in kontraktilete etkisinde cAMP ve belki de cGMP'in önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Fisher ve ark.(1983)³¹ CGRP'in sempatik sinir uçlarından noradrenalin salıverilmesini artırdığını göstermişlerdir. Kalsitonin de kısmen bu yolla indirekt olarak miyokard kasılmasını artırabilir ve bu, yukarıdaki görüşü destekler niteliktedir.

Ampul kalsitonin çizgili bir kas olan diyaframda direkt uyarıya bağlı kasılmaları deprese ederken, muhtemelen motor sinir uçundan asetilkolin salıverilmesini uyarak, indirekt kasılmaları yüksek dozlarda güçlendirmiştir. Burada antikolinesteraz bir etki olasılığı yoktur. Çünkü Nakhia (1980)³¹ gastrointestinal kanal ve pankreasta kalsitonin'in böyle bir etkisinin olmadığını göstermiştir. Benzer etkilerin solvent tarafından da oluşturulması, ampul kalsitonin'in bu etkilerine daha çok solventin aracılık ettiğine işaret etmektedir. Motor sinir ucundan nörotransmitter salıverimi için ileri sürülen etkileşme, gerek kalsitonin ve gerekse solventinin kalpteki sempatik ve parasempatik sinir uçları ile etkileşebileceğini de akla getirmektedir. Çizgili kas nöromüsküler aşırımına olan bu etkileri mevcut bilgilerle açıklamak güçtür ve dolayısı ile daha ileri çalışmalara gerek vardır.

Ampul kalsitonin kurbağa ventrikül şeritlerinde spontan kasılmayı arttırırken,²⁵ sıçanlarda elektriksel kasılmaları deprese ettiği²⁶ gösterilmiştir. Bu çalışmada da, ampul kalsitonin kobay, sıçan ve fare sol atriyum kasılmalarını doza-bağımlı olarak deprese ettiği ve bu bakımdan farelerin

(0.25-1.0 µg/ml konsantrasyon aralığında, $p<0.05$) daha duyarlı olduğu görülmektedir. Bu bulgular, kalsitonin'in etkilerinde tür farkının önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç: Çalışmada elde edilen verilere dayanarak, kalsitonin solventinin direkt bir etki ile kasılmayı deprese ettiği, böylece kalsitonin'in kasılmayı artırıcı asıl etkisinin maskelendiği ve kalsitonin etkisinde adenilat-siklaz/cAMP sistemi, guanilat-siklaz/cGMP sistemi ve Ca^{2+} - kanallarının bir role sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Tiroid bezi parafoliküler hücrelerinden salgılanan ve kan Ca^{2+} homeostazında önemli rol oynayan kalsitonin'in kalb ve çizgili kas kasılması üzerine etkileri araştırılmıştır. Elektrikle uyarılan kobay sol atriyumlarında (1 Hz, 2 msn, 2x eşik voltaj) ampul kalsitonin (Miacalcie) 0.25-4 µg/ml konsantrasyon aralığında kasılmayı doza-bağımlı bir şekilde deprese etmiştir. Ampul kalsitonin'in bu etkisi, eşit hacimde solventin oluşturduğu etkiden daha zayıftır. Özellikle, 2 ve 4 µg/ml konsantrasyonlarda etki bifazikleşmektedir, yani asıl negatif inotropik etkiye kısa ömürlü pozitif inotropik bir etki öncülük etmektedir. Teofilin (0.5mM), atropin (2 µg/ml) ve metilen mavisi (2 µg/ml) solventin etkisini değiştirmediği halde, ampul kalsitonin'i anlamsız da olsa antagonize etmiştir. Verapamil (0.5 µg/ml) ise, hem solvent ve hem de ampul kalsitonin'in negatif inotropik etkisini arttırmıştır. Frenik sinir-diyafram preparatında ampul kalsitonin 1-8 µg/ml konsantrasyon aralığında direkt elektriksel uyarıya bağlı kasılmayı (0.1 Hz, 5 msn, 2x eşik voltaj) doza-bağımlı olarak deprese ederken, sinirsel uyarıya bağlı kasılmada (0.1 Hz, 1 msn, 2x eşik voltaj) 4 µg/ml'den sonra artma yapmıştır. Bu bulgulara dayanarak, kalsitonin'in kasılmayı artırıcı bir etkisi

olduğu, bu etkinin solvent tarafından maskelendiği ve kalpte kalsitonin'in etkisinde cAMP, cGMP ve Ca^{2+} kanallarının bir rolü olabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Guttmann S. Chemistry and structure-activity relationship of natural and synthetic calcitonins. In H Calcitonin 1980, Proc Int Symp, Milan 1980. Ed. Pecile A. Excerpta Medica Int Congr Ser 1981; 540:11-24.
- Neher R, et al. Human calcitonin. Nature 1968; 2220: 984-986.
- Pears AGE. The cytochemistry of the thyroid cells and their relation to calcitonin. Proc R Soc Lond (Biol) 1966; 164: 1029-1030.
- Copp DH, Davidson AGP. Direct humoral control of parathyroid function in the dog. Proc Soc Exp Biol Med 1961; 107: 342-344.
- Hirsch PF, et al. Thyrocalcitonin: Hypocalcemic Hypophosphatemic principle of thyroid gland. Science 1964; 146: 412-413.
- Dawbrand D, Gregory J, Emson PC. Visualisation of calcitonin gene-related peptide receptors in the rat. Eur J Pharmacol 1985; 111: 407.
- Hirata Y, Tagaki Y, Takata S, et al. Calcitonin gene-related peptide receptor in cultured smooth muscle and endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun 1988; 151:1113-1121.
- Lundberg JM, Franco-Cereceda A, Hua X, et al. Coexistence of substance P and calcitonin gene-related peptide immunoreactivities in sensory nerves in relation to cardiovascular and bronchoconstrictor effects of capsaicin. Eur J Pharmacol 1987;108: 315.
- Marx SJ, et al. Calcitonin receptors of kidney and bone. Science 1972; 178:999-1001.
- Muiderry PK, Ghatei MA, Rodrigo J, et al. Calcitonin gene-related peptide in cardiovascular tissues of the rat. Neuroscience 1985; 14:947.
- Trenghi G, et al. Distribution and origin of calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the sensory innervation of the mammalian eye. J Comp Neuro 1985; 233: 506.
- Baily LE, Ong SD, Queen GM. Calcium movements during contraction in the heart. J Moll Cell Cardiol 1972; 4:121-138.
- Franco-Cereceda A. Calcitonin gene-related peptide and human epicardial coronary arteries: Presence, release and effects. Br J Pharmacol 1991; 102: 506-510.
- Girgis SI, Mac Donald DW, Stevenson JC, et al. Calcitonin gene-related peptide: Potent vasodilator and major product of calcitonin gene. Lancet 1985; 2:14-16
- Franco-Cereceda A. Calcitonin gene-related peptide and tachykinins in relation to local sensory control of cardiac contractility and coronary vascular tone. Acta Physiol Scan 1988; 133 (suppl 569): 1-63.
- Franco-Cereceda A, Bengtsson L, Lundberg JM. Inotropic effect of calcitonin gene-related peptide, vasointestinal peptide and somatostatin on the human right atrium in vitro. Eur J Pharmacol 1978; 134: 69-76.
- Franco-Cereceda A, Gannari C, Nami R, et al. Cardiovascular effects of calcitonin gene-related peptide I and II in man. Circ Res 1987; 60: 393-397.
- Franco-Cereceda A, Lundberg JM. Actions of calcitonin gene-related peptide and tachykinins in relation to the contractile effects of capsaicin in the guinea-pig and rat heart in vivo. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 1988; 337: 649-655.
- Franco-Cereceda A, Lundberg JM, Saria A, et al. Calcitonin gene-related peptide: Release by capsaicin and prolongation of action potential in guinea-pig heart. Acta Physiol Scan 1988; 132: 181-190.
- Gennari C, Fisher JA. Cardiovascular action of calcitonin gene-related peptide. In Humans Tissue Int 1985; 37: 581.
- Gennari C, Nami R, Agnusdei D, Fisher JA. Improved cardiac performance with human calcitonin gene-related peptide in patients with congestive heart failure. Cardiovasc Res 1990; 24: 239-241.
- McEwan J, Larkin S, Davies G, et al. Calcitonin gene-related peptide: potent dilator of human epicardial coronary arteries. Circulation 1986; 74: 1243-1247.
- Ishikawa T, Okamura N, Saito A, Goto K. Effects of calcitonin gene-related peptide and isoproterenol on the contractility and adenylate cyclase activity in the rat heart. J Moll Cell Cardiol 1987; 19: 723-727.
- Klein DC, Raisz LG. Role of adenosine 3', 5' monophosphate in the hormonal regulation of bone resorption: Studies with cultured fetal bone. Endocrinology 1971; 89: 818-826.
- Murad F, Brewer HBJR, Vaughan M. Effects of thyrocalcitonin on adenosine 3', 5' monophosphate formation by rat kidney and bone. Proc

- Natl Acad Sci USA 1970; 65: 446-453.
26. Andersen SL, Clausen T. Calcitonin gene-related peptide stimulates active Na⁺-K⁺ transport in rat soleus muscle. *Am J Physiol* 1993; 264: 419-429.
27. Lüllmann H, Peters T. Plasmalemmal calcium in cardiac excitation contraction coupling. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1977; 4: 49-57.
28. Ziegler A, Ziehm E. Alteration of cellular calcitonin kinetics. *Progr Pharmacol* 1978; 2: 21-28.
29. Smith TW, Braunwaldt E, Kelly RA. The management of heart failure. *Heart Disease*, 4th Ed (Braunwald E, ed) WB Saunders, Philadelphia 1993; 464-519.
30. Küçüküseyin C, Hatemi H, Karataş K, Altınöz S, Ögütman D. Kurbaga kalbinin kontraktilesi üzerine kalsitonin'in etkisi. *Endokrinolojide Yönelişler* 1993; 2: 7-8.
31. Küçüküseyin C, Hatemi H, Barlas A, Ataözden E. Supression of myocardial contractility by calcitonin in electrically driven left atria of rats. *Klinik Gelişim* 1994; 7: 3063-3068.
32. Nakhia AM. Effect of calcitonin on acetylcholinesterase activity in the gastrointestinal tract and pancreas. *J Neuro Transm* 1968; 47:313-317.