

Atrial Natriüretik Peptidin (ANP) izole Kurbağa Kalbi Kontraktil Aktivitesi Üzerine Etkileri

Doç.Dr.Kıymet SALBAŞ, Uz.Dr.Kenan ÖMÜRLÜ, Prof.Dr.Ahmet SONEL,
Yard.Doç.Dr.Ümit ÖZYURDA*. Dr.HakanBOZK. AYA**

A.O.Tıp Fakültesi Kardiyoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, *Kardiyovasküler Cerrahi Bilim Dalı ve
**İç Hastalıkları Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Çalışmada sentetik insan ANP'sinin izole kurbağa kalbi spontan kontraktil aktivitesi üzerine etkileri 1×10^{-6} - 1×10^{-10} mg/ml konsantrasyon aralığında incelenmiş olup, ANP'nin doza bağımlı polifazik etkiler meydana getirdiği görülmüştür. Bu etkiler, incelenen konsantrasyonların hemen hemen hepsindeki ortak karakteristikleri: Önce zayıf ve kısa süreli bir negatif inotropik etki, sonra akut bir pozitif inotropik etki ve bunu izleyen rölatif olarak daha uzun süreli bir negatif inotropik etkidir. Yalnız 1×10^{-6} mg/ml de 3. fazı bir pozitif inotropik etki izlemiştir.

2 mM ouabain, ANP'nin pozitif inotropik etkisini deprese etmiştir. Bu bulgu ANP'nin pozitif inotropik etkisini Na-pompa inhibisyonu yoluyla yapmadığını göstermektedir.

10 μ M propranolol varlığında ANP'nin bütün etkileri ortadan kalkmıştır. Bu bulgu da ANP'nin gözlenen etkilerinde β_1 adrenerjik reseptör aracılığının rol oynadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Atrial natriüretik faktör (ANF), atrial natriüretik peptid (ANP), Atrial peptid hormonları

Kalb atriumu orijinli olup vücutta tuz ve su dengesinin ve kan basıncının düzenlenmesine katkıda bulunan bir grup peptid hormon, atrial natriüretik faktör (ANF) olarak bilinmektedir (1,2). Bu hormonun yerinin atrial miyokard hücrelerinde membrana bağlı granüller olduğu gösterilmiştir (2). ANF pek çok

Geliş Tarihi: 7.11.1988 Kabul Tarihi: 16.11.1988

Yazışma Adresi: Doç.Dr.Kıymet SALBAŞ
A.O.Tıp Fak. Kardiyoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Cebed-ANKARA

SUMMARY

EFFECT OF ATRIAL NATRIURETIC PEPTIDE (ANP) ON CONTRACTILE ACTIVITY OF ISOLATED FROG HEART

The effect of synthetic human ANP on spontaneous contractile activity of isolated frog heart was investigated in a concentration range of 1×10^{-6} - 1×10^{-10} mg/ml. ANP was observed to produce polyphasic actions in a dose-related manner. The common phases observed in most doses were: Initially a weak and short negative inotropic effect, secondly an acute positive inotropic effect and at last a relatively long lasting negative inotropic effect. Only at 1×10^{-6} mg/ml, the 3rd phase was followed by a positive inotropic effect.

2 mM ouabain depressed the positive inotropic action of ANP which suggested that, ANP is not exerting its positive inotropic action via Na-pump inhibition.

In the presence of 10 μ M propranolol, no effect of ANP was observed. This indicated that, β_1 -adrenergic receptor mediation is involved in the effects of ANP.

Key Words: Atrial natriuretic factor (ANP), atrial natriuretic peptides (ANP), atrial peptide hormones.

dokuda siklik guanilat monofosfat (cGMP) birikimine neden olmakta, ANP'nin faaliyetlerinde cGMP nin ikinci haberci olduğu ileri sürülmektedir (3,4). ANF düz kasta (vasküler ve nonvasküler) kontraksiyonu inhibe etmektedir (5,6). ANF'nin düz kastaki gevşetici etkisi guanilat siklaz aktivasyonu sonucu hücre içi cGMP seviyelerindeki artışla ortaya çıkmaktadır (7,8).

ANF'nin kalb üzerini doğrudan etkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. Sentetik ANF'nin kedi ve sıçan papiller kasında gevşetici etki yaptığı gösterilmiştir (9). VVangler ve ark. (10), Bergey ve ark. (11)

ve Maack ve ark. (12) nin yaptığı çalışmalarda ise ANF'nin kalb kontraktilitesi ve atım hızı üzerine doğrudan etkisi olmadığı ileri sürülmüştür. Gisbert ve ark. nin kurbağa izole ventrikül hücrelerinde yaptıkları çalışmada, nanomolar konsantrasyonlarda ANF'nin kalsiyum akımlarını inhibe ettiği gösterilmiş, ANF'nin bu yolla negatif inotropik etki meydana getirebileceği ileri sürülmüştür (13).

Kurbağa kalbi, memeli ANF'sine biyokimyasal ve immünolojik olarak benzerlikler gösteren peptid salgılamakta olup (14), kurbağa ANF'sinin memelilerde diürez ve natriüzeze yol açtığı gösterilmiştir (15). Bu nedenle kurbağa kalbi ANF etkilerinin incelenmesi için uygun bir preparattır (13).

ANF'nin plazma konsantrasyonu normal insanda 23-63pg/ml (16), köpekte 50-60 pg/ml (17) olduğu, kurbağa kalbindeki ANF seviyesinin ise 20-100 pg/ml civarında olduğu bildirilmiştir (13).

Sunulan çalışmada 1×10^{-12} - 1×10^{-10} mg/ml gibi geniş bir konsantrasyon spektrumunda ANP'nin izole kurbağa kalbi kontraktıl aktivitesi üzerine etkileri incelenmiştir. Pürifiye veya sentetik kurbağa ANF'si henüz elde edilememiş olduğundan, bu çalışmada biyokimyasal ve immünolojik benzerlikleri nedeniyle sentetik insan ANP'si kullanılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmada erişkin kurbağalardan (*Rana ridibunda*) izole edilmiş kalbler kullanılmış, spontan çalışan kalb, aortadan ventriküle uzanan kanül aracılığıyla Ringer solüsyonu ile beslenmiştir. Ringer solüsyonunun kompozisyonu (mM olarak): NaCl, 111; NaHCO₃, 4.8; NaH₂PO₄, 0.05; KCl 1.9; CaCl₂ 1.0; glucose 11 olup %95O₂-%5CO₂ karışımı ile gazlandığında pH: 7.35 dir. Spontan kontraksiyonlar Grass, model FT.O 3 kuvvet-uzanım transduseri aracılığıyla, Grass, model 79D polygraph tarafından kaydedilmiştir.

Kasılma ve gevşeme hızları (dT/dt ve -dT/dt) Grass, model 7P20 differentiator aracılığıyla, polygraph'ın 1.kanalında kontraksiyonlar kaydedilirken, simultan olarak 2.kanalda kaydedilmiştir.

Her bir preparat önce 60 dakika stabilizasyon işlemine tabi tutulmuş, bundan sonra kontraksiyon kuvveti (T), kasılma ve gevşeme hızları (dT/dt ve -dT/dt) için kontrol kayıtları elde edilmiştir.

0.5 mg sentetik insan ANP'sinden 0.1 M asetik asit içinde 1 mg/ml stok solüsyon hazırlanmış, 1×10^{-12} - 1×10^{-10} son dilüsyonların yapılacağı anlara kadar (tatbikden hemen önce) stok solüsyon buz içinde saklanmıştır. Ringer solüsyonuna kontrol kayıtlarının alındığı peryot içinde ANP solüsyonunun ihtiva ettiği kadar asetik asit ilave edilmiştir.

Solüsyonlar kalbe kanü aracılığıyla tatbik edilmiş, T, dT/dt ve -dT/dt deki değişimler, deney boyunca aralıksız süren polygraph kayıtlarından analiz edilmiştir. Her bir preparata 3 ayrı konsantrasyondaki ANP solüsyonu tatbik edilmiş, 2. ve 3. tatbikler T dT/dt ve -dT/dt kontrol değerlerine döndükten 20 dakika sonra yapılmıştır.

Bir grup deneyde de 1×10^{-12} mg/ml ANP, 10 pM propranolol ile başka bir grup deneyde ise 2 mM ouabain ile beraber uygulanmıştır.

Drogalar: ANP (human: synthetic, Sigma, St.Louis USA), ouabain (Sigma), Propranolol (Sigma).

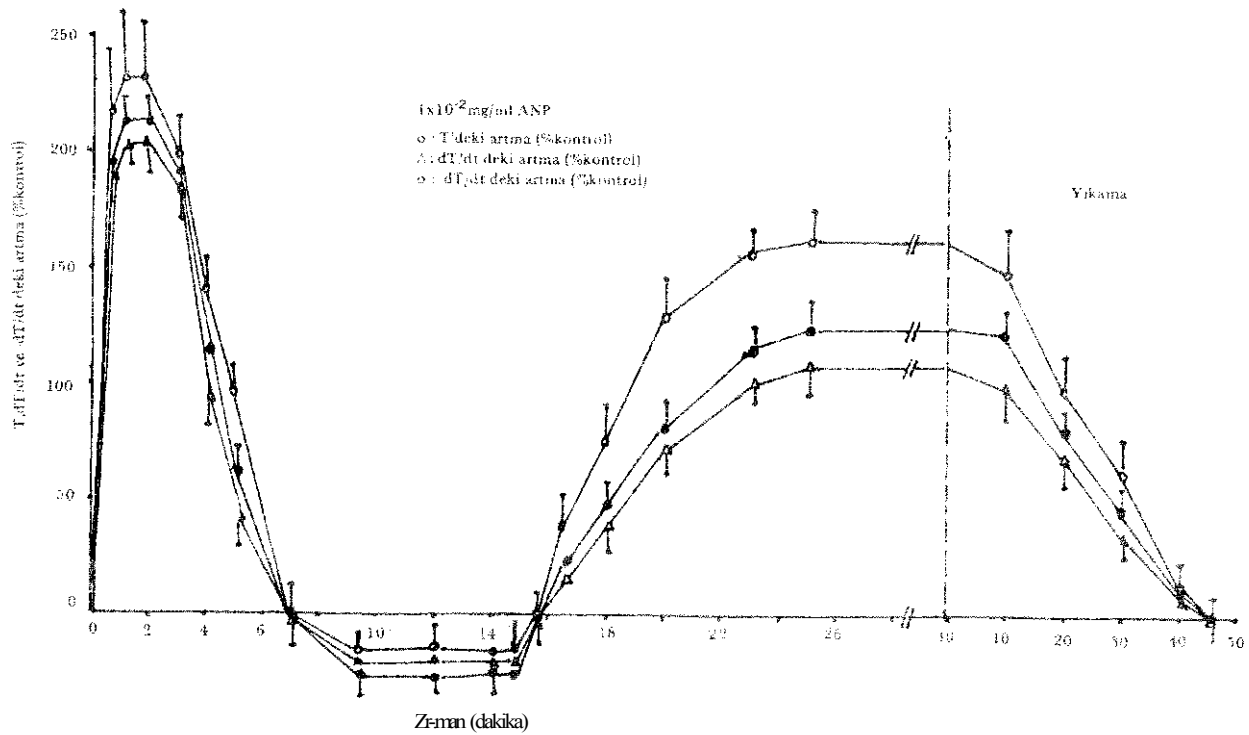
Sonuçlar ortalama- standart hata olarak sunulmuştur. Farkların istatistiksel anlamlılığı Student's t test ile analiz edilmiş ve p<0.05 anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Ringer solüsyonu ile beslenen izole kalblerden kontrol kontraksiyon kuvveti (T), kasılma ve gevşeme hızları (dT/dt ve -dT/dt) kaydedildikten sonra bir

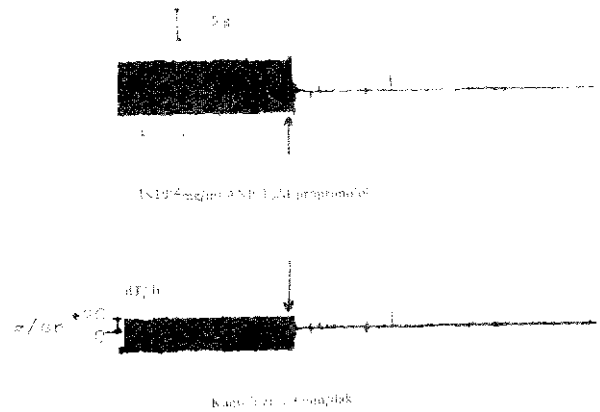


Şekil 1. 1×10^{-12} mg/ml ANP'nin izole kurbağa kalbi spontan kasılma kuvveti (T) (üstteki kayıt), kasılma ve gevşeme hızları (dT/dt ve -dT/dt) (alttaki kayıt) üzerine etkileri.

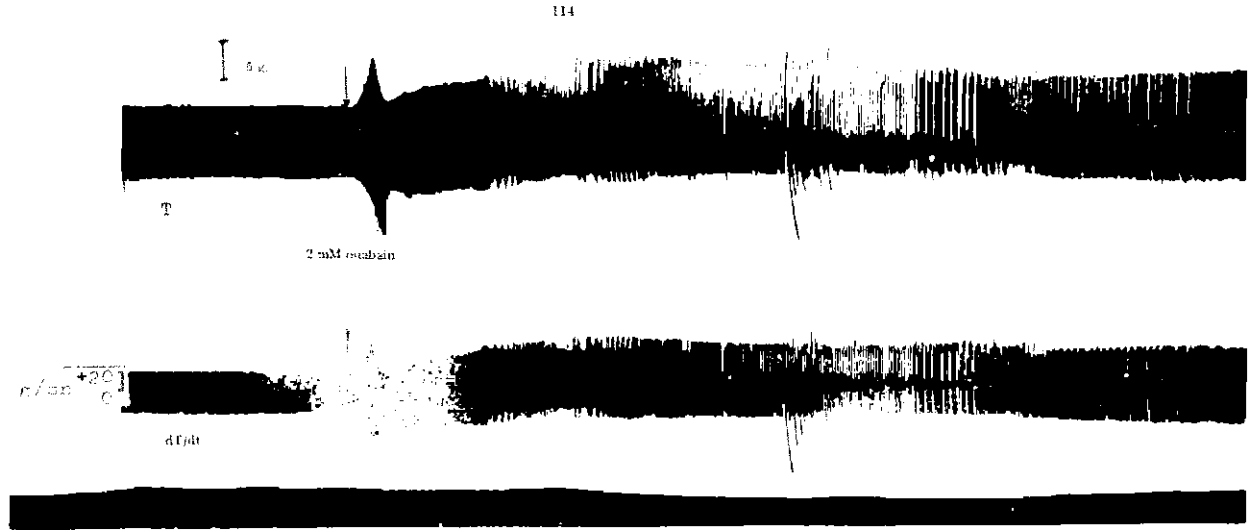


Şekil 2. 1×10^{-2} mg/ml ANP'nin izole kurbağa kalbi spontan kontraktil aktivitesi üzerine zamana bağlı etkileri (Her bir nokta 8 deney ortalaması-standart hata).

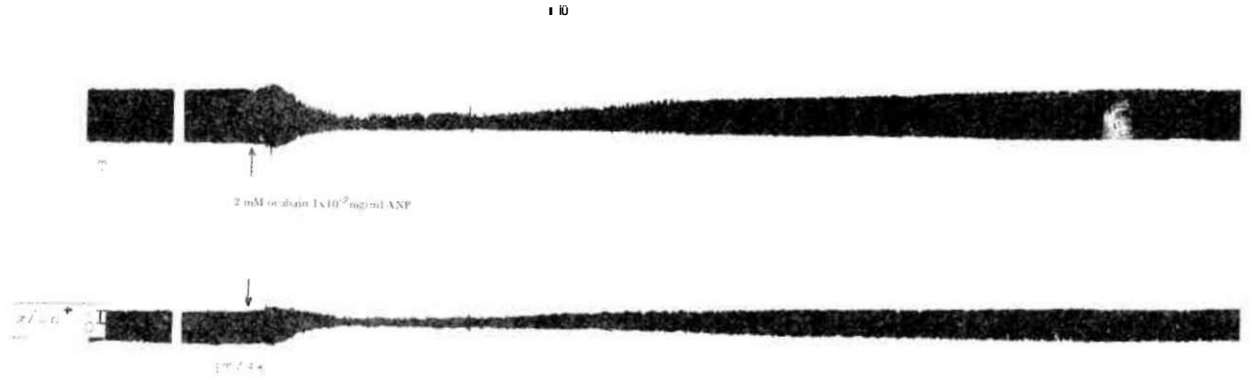
grup preparara (N:8) önce 1×10^{-2} mg/ml ANP kanül aracılığıyla bir kerede tatbik edilmiştir. ANP tatbikini izleyen ilk birkaç saniye içinde ortaya çıkan ve ancak bir kaç saniye süren zayıf bir negatif inotropik etki gözlenmiş, bunu çok hızlı bir şekilde gelişen ve maksimum değerine ulaşan akut ve çok güçlü bir pozitif inotropik etki izlemiştir (Şekil 1). T nin değeri $1 \times 1 \text{ CL}^2$ mg/ml ANP tatbikinden 1.2+0.44 dakika sonra kontrol değerinin $\%230 \pm 26.6$ sı kadar artmıştır. T deki artmaya paralel olarak dT/dt ve -dT/dt de kontrol değerlerinin $\%204 \pm 16.8$ i ve $\%212 \pm 18.6$ sı kadar artmalar gözlenmiştir. T bu maksimum değere 0.7 ± 0.4 dak. dT/dt 0.56 ± 0.07 dak., -dT/dt ise 1.0 ± 0.25 dak. sahip olmuştur. ANP tatbikini izleyen yaklaşık 2 dakika sonra T nin değeri azalmaya başlamış, bu azalma 7.5+1.4 dakika sürmüştür. Bu sürenin sonundaki kontraksiyon kuvveti, kontrol değerinden $\%15 \pm 2.7$ daha düşüktür. T nin değeri 5.4-1.3 dakika bu değerde kaldıktan sonra (yani negatif inotropik etki 5.4+1.3 dakika sürmüştür) tekrar artmaya başlamış, 10-16 dak. sonra kontrol değerinin $\%162 \pm 16$ sına ulaşmıştır. Kontraktil aktivite uzun süre bu durumunu korumuş, etki yıkama ile 40-50 dakikada tamamen ortadan kalkmıştır. Kasılma ve gevşeme hızlarındaki değişimler de T deki değişimlere benzemektedir. Şekil 2 de 1×10^{-2} mg/ml ANP'nin izole kurbağa kalbinde T, dT/dt ve -dT/dt üzerine zamana bağlı etkileri özetlenmiştir.



Şekil 3. 1×10^{-2} mg/ml ANP + 10^{-6} M propranolol'un izole kurbağa kalbi spontan kasılma kuvveti (üstteki kayıt) ve kasılma ve gevşeme hızları (alttaki kayıt) üzerine etkileri.



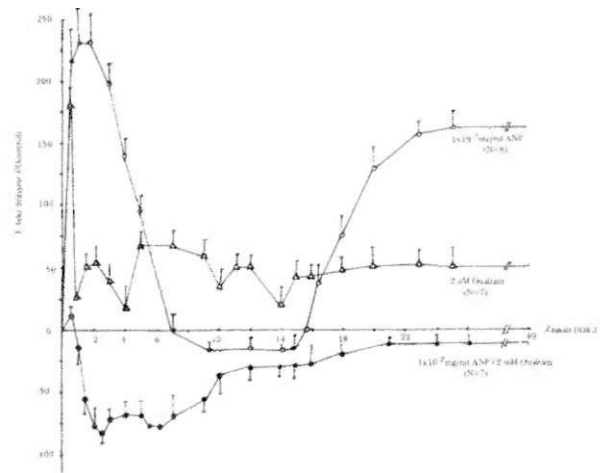
Şekil 4. 2 mM Ouabainin izole kurbağa kalbi spontan kasılma kuvveti (üstteki kayıt), kasılma ve gevşeme hızları (alttaki kayıt) üzerine etkileri.



Şekil 5. 1×10^{-7} mg/ml ANP+2 nM Ouabainin izole kurbağa kalbi spontan kasılma kuvveti (üstteki kayıt), kasılma ve gevşeme hızları (alttaki kayıt) üzerine etkileri.

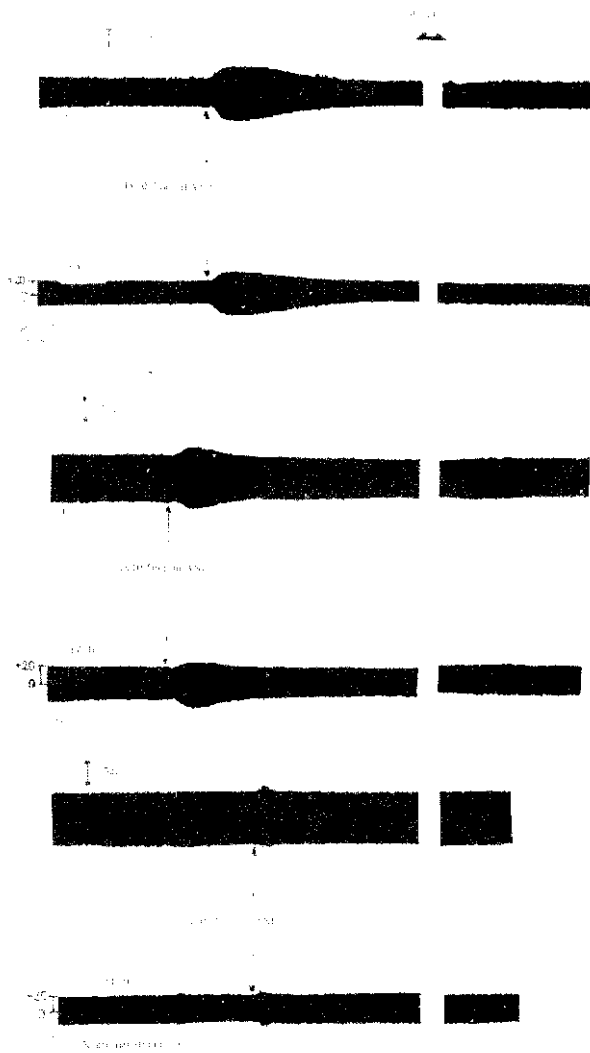
ANP'nin izole kurbağa kalbinde meydana getirdiği etkinin mekanizmasına açıklama getirmek amacıyla bir grup preparata (N:7) 1×10^{-7} mg/ml ANP, 10 mM propranolol ile beraber tatbik edilmiştir (Şekil 3). İlavayı izleyen birkaç saniye içinde kontraktil aktivitenin çok hızlı bir şekilde azaldığı ve 0.2*0.04 dak. sonunda tamamen ortadan kalktığı gözlenmiştir. Yine aynı amaca yönelik olarak bir grup preparata (N:7) önce 2 mM ouabain uygulanmış, T deki maksimum artmanın kontrol değerinin % 155±14 ü kadar olduğu ve maksimum etkinin 0.3-0.1 dak. ortaya çıktığı görülmüştür (Şekil 4). 2 mM ouabain 1×10^{-7} mg/ml ANP ile beraber uygulandığında maksimum etki 0.55*0.15 dak sonra ortaya çıkmış olup, kontrol değerinin % 113±2.9 u kadardır (Şekil 5).

2 mM ouabain varlığında pozitif inotropik etki maksimum etkinin ortaya çıkmasını izleyen saniyelerde hızla kaybolmaya başlamış, 2.1 • 0.6 dak. sonra T nin değeri kontrol değerinin %29±8 ine düşmüştür. Bu grup deneylerin sonuçları şekil 6 da özetlenmiştir.



Şekil 6. 1×10^{-7} mg/ml ANP, 2 mM Ouabain ve 1×10^{-7} mg/ml ANP+2 mM Ouabainin izole kurbağa kalbi spontan kasılma kuvveti üzerine zamana bağımlı etkileri (Her bir nokta şeklinde belirtilen deney sayısı ortalaması±standart hata).

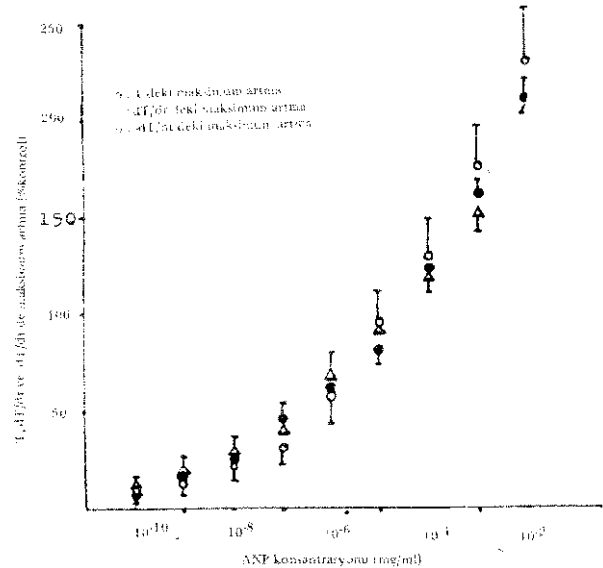
1×10^{-3} ve 1×10^{-4} mg/ml ANP etkilen, 1×10^{-2} mg/ml ANP etkilerine karakteristik bakımından çok benzemektedir. Bu konsantrasyonlarda da ANP tatbikini çok kısa süreli ve düşük şiddetli bir negatif inotropik etki, bunu kısa sürede maksimum değerine ulaşan ve ortaya çıkışına göre nisbeten daha yavaş kaybolan akut bir pozitif inotropik etki izlemiştir. Pozitif inotropik etki bu konsantrasyonlarda da yerini zayıf bir negatif inotropik etkiye bırakmıştır. 1×10^{-10} mg/ml ANP etkisinden farklı olarak, bu konsantrasyonlarda kontraksiyon kuvveti, kasılma ve gevşeme



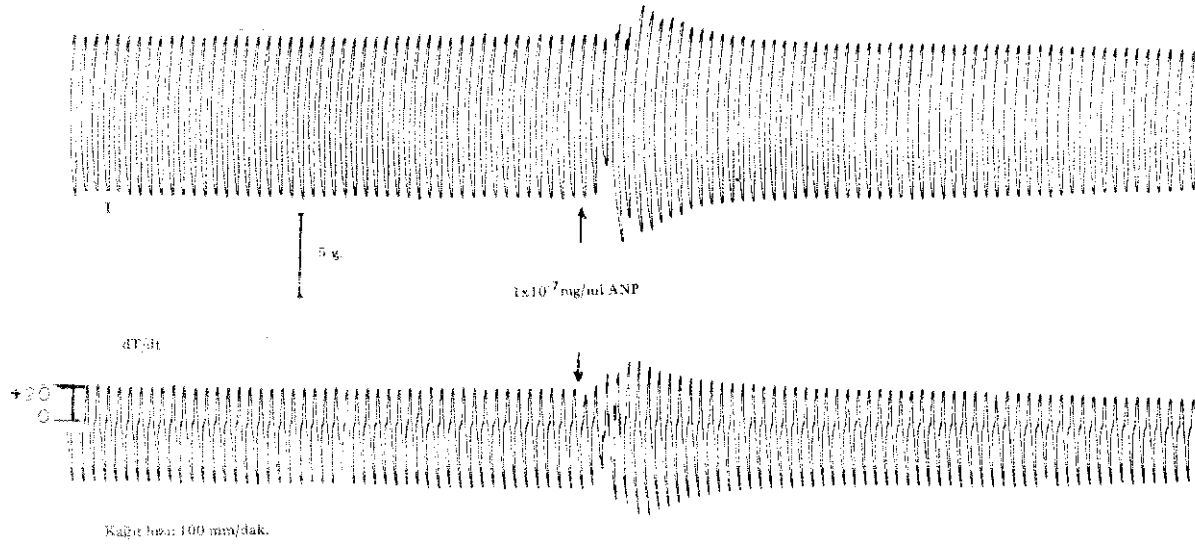
Şekil 7. 1×10^{-5} , 1×10^{-7} ve 1×10^{-10} mg/ml konsantrasyonlardaki ANP'nin izole kurbağa kalbi spontan kasılma kuvveti, kasılma ve gevşeme hızları üzerine etkileri.

hızları sırasıyla 6.8-1.5 ve 8.7 ± 1.8 dak. sonra kontrol değerlerine dönmüştür. Bu konsantrasyonlarda gözlenen maksimum pozitif inotropik etkinin şiddet ve süresi, kasılma ve gevşeme hızlarındaki artışın derecesi 1×10^{-2} mg/ml dekinden daha düşüktür (Şekil 8). ANP'nin daha düşük konsantrasyonlardaki etkilerini araştırmak amacıyla yapılan deneylerde 1×10^{-5} - 1×10^{-10} mg/ml konsantrasyon aralığında ANP solüsyonları kullanılmıştır. Şekil 7 de 1×10^{-5} , 1×10^{-7} ve 1×10^{-10} mg/ml ANP etkileri görülmektedir. Bu konsantrasyonlarda da pozitif inotropik etkinin şiddet ve süresi konsantrasyona bağımlı olarak düşmektedir. Kasılma ve gevşeme hızları üzerindeki etkiler için de aynı durum geçerlidir. 1×10^{-10} mg/ml konsantrasyonda, ANP tatbikini izleyen 0.3-0.1 dak. içinde oldukça zayıf ve kısa süreli bir pozitif inotropik etki gözlenmiştir. Bu etkinin şiddeti kontrol değerinin %12.3i-2.4 ü kadar olup, ortaya çıkması ve yok oluşu arasındaki toplam süre 0.35 ± 0.2 dak.dır. 1×10^{-5} mg/ml konsantrasyonundan itibaren ANP etkisinde gözlenen en önemli fark, pozitif inotropik etkiyi izleyen negatif inotropik etkinin çok uzun süre devam etmesi olup, preparatlar 65 ± 25 dak. yıkama ile kontrol T, dT/dt ve -dT/dt değerlerine dönebilmiştir. Şekil 8 de ANP'nin konsantrasyona bağımlı olarak izole kurbağa kalbi kontraktıl aktivitesi üzerine etkileri görülmektedir.

Hemen bütün konsantrasyonlarda (1×10^{-5} - 1×10^{-10} mg/ml) ANP tatbikini izleyen ilk saniyeler de, şiddeti zayıf, süresi kısa bir inotropik etki gözlen-



Şekil 8. ANP'nin izole kurbağa kalbi spontan kontraksiyon kuvveti (T), kasılma ve gevşeme hızlarındaki (dT/dt, -dT/dt) konsantrasyona bağımlı maksimum artma miktarları (%kontrol), iller nokta 8 deney ortalaması*standart hata).



Şekil 9. 1×10^{-7} mg/ml ANP'nin izole kurbağa kalbi spontan kontraktıl aktivitesi üzerindeki etkilerinin yüksek kağıt hızı (100 mm/dak: daha önceki kayıtlardakinin 10 katı) ve yüksek kalem hassasiyetindeki kaydı. ANP tatbikini izleyen ilk saniyelerdeki kısa süreli negatif inotropik etki bu kayıttta çok açık olarak görülmektedir.

mistir. Bu etki kağıt hızının yüksek olduğu kayıtlarda oldukça belirgin olarak görülmektedir. Şekil 9, kayıt cihazındaki kağıdın hızı 100 mm/dak iken, bir preparattan kaydedilmiş 1×10^{-7} mg/ml ANP etkisini göstermektedir. Etkinin iyice görülebilmesi için kalem hassasiyeti daha önceki kayıtlardakinin 3 katına çıkarılmıştır. Bu kısa süreli (2.4-0.6 saniye) negatif inotropik etkinin bu konsantrasyonda gözlenen maksimum değeri, kontrol değerinin % 17.5±3.7 sidir. Diğer konsantrasyonlarda da bu kağıt hızında yapılan kayıtlar ANP'nin spontan kalb atım hızı üzerindeki etkilerini inceleme olanağı sağlamış olup, istatistiksel olarak anlamlı bir etki saptanamamıştır.

TARTIŞMA

Düz kasta ANF'nin rölaksan etkisi olduğu gösterilmiş olup bu etkiden guanilat siklaz aktivasyonu sonucu hücre içi cGMP konsantrasyonunun artması sorumlu tutulmaktadır. cGMP ikinci haberci olarak düz kas kontraktılitesini inhibe etmektedir (3-8). ANF'nin kalb kası üzerindeki etkisi hakkında çok az şey bilinmekte olup, bulgular da birbirine destekler nitelikte değildir (9-12). En çok çalışmalardan birinde, nanomolar konsantrasyonlardan ANP'nin kurbağa i/ole ventrikül hücrelerinde, kalsiyum kakımları üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu yolla negatif inotropik etki gösterebileceği iler sürülmüştür (13). Çalışmamızda ANP'nin izole kurbağa kalbinin spontan kontraktıl aktivitesi üzerinde polifazik etki gösterdiği gösterilmiştir. Polifazik etki 1×10^{-7} - 1×10^{-10} mg/ml konsantrasyon aralığında önce zayıf ve çok

kısa süreli bir negatif inotropik etki, sonra çok çabuk gelişip maksimuma ulaşan ve rölatif olarak daha yavaş kaybolan akut bir pozitif inotropik etki, bunu izleyen zayıf ve süresi, azalan konsantrasyon ile uzayan bir negatif inotropik etki ve tekrar uzun süreli bir pozitif inotropik etki olarak gözlenmiştir. 1×10^{-7} mg/ml de son fazdaki pozitif inotropik etki kontrol değerinin %162±16 sına kadar ulaşmış ve bu değeri uzun süre korumuştur. 1×10^{-8} ve 1×10^{-10} mg/ml de son fazdaki pozitif inotropik etki kontrol değerlerine ulaşmış ve bu değerleri korumuştur. 1×10^{-10} - 1×10^{-12} mg/ml konsantrasyon aralığında ise son fazdaki pozitif inotropik etki gözlenmemiş, akut pozitif inotropik etkiyi uzun süren ve yıkama ile kaybolan negatif inotropik etki izlemiştir. Bu sonuçlar son derece ilginç olup açıklaması da pek kolay görünmemektedir.

Kalb kasında kontraktıl aktivitenin düzenlenmesinde en önemli rolü kalsiyum iyonları (Ca^{2+}) oynamaktadır. Sarkolemmadan içeri Ca^{2+} girişini artıran mekanizmalar da pozitif inotropik etkiden sorumludur. Kalb sarkolemması ile ekstrasellüler sıvı arasındaki Ca^{2+} alışverişinden sorumlu mekanizmalardaki sistemlerden en önemlileri: Ca^{2+} kanalları ve $Na^{+}-Ca^{2+}$ değiş tokuşu. Çalışmalar 2 tip sarkolemmal Ca^{2+} kanalı olduğunu göstermiştir: Voltaja bağımlı Ca^{2+} kanalı ve reseptöre bağımlı Ca^{2+} kanalı. Voltaja bağımlı Ca^{2+} kanalları, membran depolarizasyonuna cevap olarak açılırlar, reseptörlerin opere ettiği Ca^{2+} kanalları bir agonist reseptöre bağlandığında açılırlar.

ANP'nin deneylerimizde gözlenen pozitif inotropik etkisinin mekanizmasında $Na^{+}-Ca^{2+}$ değiş tokuşu-

nun rolünün araştırılması amacıyla bir grup preparatta Na pompası ouabain ile inhibe edilmiştir. Na pompasının inhibe edilmesi, hücre içi Na^+ konsantrasyonunun artmasına yol açmaktadır. Bilindiği gibi hücre zarından içeri girişte Na^+ ve Ca^{2+} birbiriyle yarış halindedir ve hücre içi Na^+ konsantrasyonunun artması membrandan içeri Ca^{2+} girişini artırmaktadır. Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonundaki küçük bir artış bile, hücre içi Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} salınımını büyük ölçüde artırmaktadır (18). Şekil 1 de 1×10^{-7} mg/ml ANP'nin, şekil 4 de 2 mM ouabainin ve şekil 5 de 2 mM ouabain + 1×10^{-7} mg/ml ANP nin spontan kontraktıl aktivite üzerindeki etkileri görülmektedir. 1×10^{-7} mg/ml ANP'nin T, dT/dt ve -dT/dt de meydana getirdiği artmalar kontrol değerinin $\%230 \pm 26.6$, $\%204 \pm 16.8$ ve $\%212 \pm 18.6$ sı kadardır. 2 mM ouabainin aynı parametreler üzerindeki etkileri ise $\%155 \pm 14$, $\%157 \pm 8.6$ ve $\%137.5 \pm 12$ dir. İki ajan beraber uygulandığında gözlenen etkiler kontrol değerinin sırasıyla $\%28 \pm 5.4$, $\%20 \pm 3.5$ ve $\%20 \pm 3.7$ dir. Görüldüğü gibi ikisi de ayrı ayrı güçlü inotropik etkiler meydana getiren iki ajan beraber kullanıldığında ortaya çıkan pozitif inotropik etki çok zayıf olmaktadır. Başka bir deyişle 1×10^{-7} mg/ml ANP ile 2 mM ouabain karşılıklı olarak birbirlerinin etki mekanizmalarını inhibe etmektedirler. Ouabain etkisini esas olarak Na pompası inhibisyonu ile Na^+ - Ca^{2+} değiş tokuşunu artırarak yapmaktadır. Deney sonuçlarımıza bakarak şu söylenebilir görünmektedir: ANP pozitif inotropik etkisini Na^+ - Ca^{2+} değiş tokuşunu artırarak yapmamakta, hatta bu mekanizmayı inhibe etmektedir.

Gözlenen pozitif inotropik etkinin β -adrenerjik reseptörler aracılığıyla olup olmadığını anlamak için bir grup preparat 1×10^{-7} mg/ml ANP + 10 MM propranolol etkisine tabi tutulmuştur. Bilindiği gibi propranolol bir β -adrenerjik reseptör blokörüdür ve deneylerde kullanılan dozu, β -adrenerjik reseptörleri tamamen bloke etmeye yeterlidir (19). β -adrenerjik reseptörler aracılığıyla pozitif inotropik etki mekanizması kısaca şöyle özetlenebilir: Agonist ajan β -adrenerjik reseptörlere bağlanmakta, bu membrandaki adenilat siklaz enziminin aktivasyonuna yol açmakta, bunun sonucu da hücre içi cAMP seviyesi artmaktadır. Hücre içi cAMP seviyesinin artması da sarkolemmadan içeri Ca^{2+} girişini artırmaktadır.

1×10^{-7} mg/ml ANP + 10 μ M propranolol tatbikini izleyen ilk saniyeler içinde kontraktıl aktivite çok hızlı bir şekilde deprese olmaya başlamış ve 0.2+0.1 dakika sonunda tamamen yok olmuştur. ANP'nin polifazik etkilerinin β -adrenerjik reseptörlerin bloke edilmesiyle ortadan kalkmış olması, ANP etkisinde β -adrenerjik reseptör aracılığının rol oynadığını göstermektedir. ANF'nin sıçan kalbi hücrelerinde adenilat siklazı inhibe ettiği gösterilmiştir (20). Bu bulgu ise ANF etki-

sinde, ama negatif inotropik etkisinde β -adrenerjik reseptörlerin rol aldığını göstermektedir.

Çalışmada ANP'nin izole kurbağa kalbi kontraktıl aktivitesi üzerine etkileri oldukça geniş bir konsantrasyon aralığında (1×10^{-12} - 1×10^{-10} mg/ml) incelenmiştir. Çalışmada kullanılan en düşük konsantrasyon, kurbağa kalbinde tesbit edilen ANF seviyesine eşittir (*). Gözlenen etkiler şiddet ve bazı karakteristik özellikler bakımından doza bağımlıdır. Bütün konsantrasyonlarda önce çok kısa süreli ve düşük şiddette bir negatif inotropik etki, sonra şiddet vye süresi konsantrasyona bağımlı olarak azalan bir akut pozitif inotropik etki gözlenmiş, bunu şiddeti doza bağımlı olarak uzayan bir negatif inotropik etki izlemiştir. Düşük konsantrasyonlarda, akut pozitif inotropik etkinin şiddet ve süresi çok azalmıştır, örneğin 1×10^{-10} mg/ml de T deki maksimum artma kontrol değerinin $\%17.5 \pm 2.5$ i kadardır. Etkinin ortaya çıkışı ve kayboluşu 0.4+0.01 dak. sürmekte, bundan sonra T kontrol değerinin $\%7 \pm 1.6$ sı kadar azalmakta ve bu değerini uzun süre korumaktadır. Düşük konsantrasyonlarda akut pozitif inotropik etkinin çok zayıf ve çok kısa süreli olması, ve bunu izleyen çok düşük şiddetteki negatif inotropik etkinin uzun süre devam ediyor olması, daha düşük konsantrasyonlarda akut pozitif inotropik etkinin tamamen ortadan kalkarak yerini negatif inotropik etkiye bırakabileceği veya bu zayıf negatif inotropik etkinin bile gözlenemeyeceği olasılığını düşündürmektedir. Bu düşüncemiz Gisbert ve ark. bulgularıyla da desteklenmektedir (13).

Başlangıçta da belirtildiği gibi ANF'nin düz kas üzerindeki rölaksan etkisinden guanilat siklaz stimülasyonu sorumlu tutulmaktadır (7,8). Kardiyak guanilat siklazın da ANF tarafından aktive edildiği, izole tavşan miyositlerinde gösterilmiştir (13). Bu bulgu ANP'nin negatif inotropik etki mekanizmasına çok önemli ölçüde katkıda bulunabilecektir. İlginçtir ki yine bu bulgu ANP'nin pozitif inotropik etki mekanizmasına dalgatki da bulunabilecek niteliktedir. Kardiyak hücrelerde de cGMP ce inhibe edilen siklik nükleotid fosfodiesteraz bulunmaktadır (21). ANF kardiyak adenilat siklazı aktive ederek cGMP yapımını stimüle etmekte, hücre içinde artan cGMP siklik nükleotid fosfodiesterazı inhibe ederek, hücre içine Ca^{2+} girişinin artmasına yol açmakta böylece kontraktıl aktivitenin artmasına katkıda bulunmaktadır. Gisbert ve ark. da çalışmalarında bazı deneylerde, ANF'nin Ca^{2+} içeri akımları üzerinde stimüle edici etkisi olduğunu gözlemişlerdir (13). ANF'nin damar düz kasında da kontraktıliteyi artırıcı etkileri gözlenmiştir: Marin-Grez ve ark. sıçan postglomerüler arteriollerinde (22).

(*): $1 \text{ pg/ml} = 1 \times 10^{-12} \text{ mg/ml}$ dir yani $1 \times 10^{-10} \text{ mg/ml} = 100 \text{ pg/ml}$

VVangler ve ark. kobay koroner arterinde (10), ANF'nin vazokonstriksiyona sebep olduğunu göstermişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmada, ANP'nin izole kurbağa kalbinin spontan kontraktıl aktivitesini doza bağımlı olarak etkilediği görülmüştür. 1×10^{-10} mg/ml de (kurbağa kalbinde saptanan bir ANF seviyesi) pozitif inotropik etkinin çok kısa süreli ve çok düşük şiddetli (yüksek konsantrasyonlardaki etki şiddetine göre) olduğu gözlenmiş olup bu durum daha düşük konsantrasyonlarda hiçbir etkinin gözlenemiyebileceği olasılığını düşündürmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda çarpıcı biçimde gözlenen polifazik etkinin mekanizması (veya mekanizmaları) nın açıklanabilmesi, daha pek çok araştırma gerektirmektedir.

KAYNAKLAR

1. De Bold AJ, Bornestein HB, Veres AT, Sonnenberg H: A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rat. *Life Sci* 28:89-94, 1981.
2. De Bold AJ: Atrial natriuretic factor: A hormone produced by the heart. *Science* 230:767-770, 1985.
3. Ballermann BJ, Brenner BM: Role of atrial peptides in body fluid homeostasis. *Circ Res* 58: 619-630, 1986.
4. Verbürg K, Freeman RH: Plasma atrial natriuretic factor is natriuretic decreased during chronic sodium retention in dogs with low output heart failure. *Kidney Intern* 31:291-296, 1987.
5. Garcia R, Thibault G, Cantin M, Genest J: Effect of a purified atrial natriuretic factor on rat and rabbit vascular strips and vascular beds. *Am J Physiol* 247:R34-R39, 1984.
6. Currie MG, Geller DM, Boylan JC, YuSheng W, Holmberg SW et al: Bioactive cardiac substances: Potent vasorelaxant activity in mammalian atria. *Science* 221:71-73, 1983.
7. Vakitanı K, Oshima T, Loewy AD, Holmberg SW, Cole BR et al: Comparative vascular pharmacology of the atriopeptins. *Circ Res* 56: 621-627, 1985.
8. Ballerman B: Brenner B: Biologically active atrial peptides. *J Clin Invest* 76: 2041-2048, 1985.
9. Meishery KD, Taylor JC, Saneii H: Synthetic atrial peptide inhibits intracellular calcium release in smooth muscle. *Am J Physiol* 250:C171-174, 1986.
10. Wangler RD, Breuhaus BA, Otero HO, Hastings DA, Holzman MD et al: Coronary vasoconstrictor effects of atriopeptin II. *Science* 230:558-561, 1985.
11. Bergey JL, Kotler D: Effects of atriopeptins I,II and III on atrial contractility, sinus nodal rate (guinea pig) and agonist induced tension in rabbit aortic strips. *Eur J Pharmacol* 110:277-281, 1985
12. Maack T, Kleinert HD: Renal and cardiovascular effects of atrial natriuretic factor. *Biochem Pharmacol* 35:2057-2064, 1986.
13. Gisbert MP, Fischmeister R: Atrial natriuretic factor regulates the calcium current in frog isolated cardiac cells. *Circ Res* 62:660-667, 1988.
14. Netchitailo P, Feuilloley M, Pelletier G, Cantin M, De Lean A et al: Localization and characterization of atrial natriuretic factor (ANF)-like peptide in the frog atrium. *Peptides* 7:573-579,1986
15. De Bold AJ, Salerno TA: Natriuretic activity of extracts from hearts of different species and from various rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol* 61:127-130, 1983.
16. Ömürlü K: Aktif atrial peptidler. *Türkiye Klinikleri* 8:209-214, 1988.
17. Edwards BS, Zimmerman RS, Schwab TR, Heublein DM, Bunet Jr JC: Atrial stretch not pressure, is the pirincipal determinant controlling the acute release of atrial natriuretic factor. *Circ Res* 62:191-195, 1988.
18. Fabiato A, Fabiato F: Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned cells from adult human, dog, cat, rat and frog hearts and from fetal and new born rat ventricles. *Ann NY Acad Sci* 307:491-522, 1978.
19. Sperelakis N: The slow action potential and properties of slow channels in Physiology and Pathophysiology of the Heart, Boston Martinus Nijhoff1984:167
20. Anand-Srivastava MB, Cantin M: Atrial natriuretic factor receptors are negatively coupled to adenylate cyclase in cultured atrial and ventricular cardiocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 138:427-436, 1985.
21. Harrison SA, Reifsyder DH, Gallis B, Cadd GG, Beavo JA: Isolation and characterization of bovine cardiac muscle cGMP-inhibited phosphodiesterase: A receptor for new cardiotoxic drugs. *Mol Pharmacol* 29: 506-514,1986.
22. Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M: Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 324:473-476, 1986.