

# Dana Koroner Arterinde 5-HT, Karbakol, KCl ve CaCl<sub>2</sub> İle Oluşan Kasılmalar Üzerine Membranın Na<sup>+</sup> İyonuna Geçirgenliğini Değiştiren Maddelerin Etkisi

*EFFECTS OF Na<sup>+</sup> TRANSPORT INHIBITORS ON 5-HT, CARBACHOL, KCl AND CaCl<sub>2</sub>-INDUCED CONTRACTIONS IN THE CALF CORONARY ARTERY*

Ayşe Saide ŞAHİN\*, Kısmet Esra ATALIK\*, Hasan Basri ULUSOY\*\*, Necdet DOĞAN\*\*\*

\* Yrd.Doç.Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,

\*\* Arş.Gör.Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,

\*\*\* Prof.Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, KONYA

## Özet

**Amaç:** S.Ü.Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında yapılan bu in vitro çalışmada dana koroner arter düz kasında Serotonin (5-HT, 10<sup>-9</sup>-3x10<sup>-4</sup> M), karbakol (10<sup>-9</sup>-3x10<sup>-4</sup> M), KCl (10<sup>-4</sup>-10<sup>-1</sup> M) ve CaCl<sub>2</sub> (10<sup>-4</sup>-10<sup>-2</sup> M, 100 mM KCl Ca<sup>++</sup>suz solüsyonda) ile elde edilen kasılma cevapları üzerine uvabain, K<sup>+</sup>suz solüsyon, 25 mM Na<sup>+</sup> solüsyonu ve amiloridin etkileri araştırılmıştır.

**Materyel ve Metod:** Dana koroner arter şeritleri, 37°C'de Krebs Henseleit solüsyonu içeren ve %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan 20 ml hacminde organ banyosu içine alındı. CaCl<sub>2</sub>, KCl, 5-HT veya karbakol ilavesiyle kontrol kümülatif konsantrasyon-cevap eğrileri saptandı. Kasıcı ajan olarak 5-HT ve karbakolun kullanıldığı dokularda ikinci konsantrasyon-cevap eğrileri ortama uvabain (10<sup>-5</sup> M) veya amilorid (10<sup>-5</sup> M) ilave edildikten ya da banyo içerisindeki besleyici solüsyon K<sup>+</sup>suz veya 25 mM Na<sup>+</sup> içeren solüsyonla değiştirildikten sonra tekrarlandı. İkinci doz cevap eğrileri KCl ile yapılan çalışmalarda uvabain (10<sup>-5</sup> M), amilorid (10<sup>-5</sup> M) veya 25 mM Na<sup>+</sup> içeren ortamlarda, CaCl<sub>2</sub> ile çalışılan dokularda ise, uvabain (10<sup>-5</sup> M) veya amilorid (10<sup>-5</sup> M) varlığında kaydedildi.

**Bulgular:** Uvabainle (10<sup>-5</sup> M) inkübe edilen dokularda bu ajanlara bağlı maksimum kasılma cevapları anlamlı olarak artmış, ayrıca karbakol, KCl ve CaCl<sub>2</sub>'ye karşı dokunun duyarlılığında artış olduğu saptanmıştır. K<sup>+</sup>suz solüsyonla inkübe edilen dokularda 5-HT ve karbakole ait pD<sub>2</sub> değerleri ve karbakole bağlı maksimum kasılma cevabı değişmemiş ancak 5-HT ile elde edilen maksimum kasılma cevabı anlamlı olarak artmıştır. Dokuların 25 mM Na<sup>+</sup> içeren solüsyonla inkübe edilmesi, 5-HT ve

## Summary

**Purpose:** In this in vitro study, the effects of ouabain, K<sup>+</sup>-free solution, low Na<sup>+</sup> (25 mM) solution and amiloride on the responses to Serotonin (5-HT, 10<sup>-9</sup>-3x10<sup>-4</sup> M), carbachol (10<sup>-9</sup>-3x10<sup>-4</sup> M), KCl (10<sup>-4</sup>-10<sup>-1</sup> M) and CaCl<sub>2</sub> (10<sup>-4</sup>-10<sup>-2</sup> M, in Ca<sup>++</sup>-free and 100 mM KCl solution) were studied in isolated calf coronary artery.

**Materials and methods:** Strips were mounted in 20 ml organ bahts containing Krebs-Henseleit solution at 37°C continuously gassed with 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>. Cumulative concentration-effect curves were obtained for 5-HT, carbachol, KCl or CaCl<sub>2</sub>. Second curves in test tissues were obtained in the presence of ouabain (10<sup>-5</sup>M) or amiloride (10<sup>-5</sup>M). Second curves for 5-HT and carbachol were also obtained in K<sup>+</sup> free solution or a low Na<sup>+</sup> solution. In addition, second curves for KCl were generated in a low Na<sup>+</sup>.

**Results:** The maximal effects of spasmogens tested were significantly increased in the presence of ouabain. The sensitivity of the preparations were increased to the carbachol, KCl and CaCl<sub>2</sub> by ouabaine. In the presence of K<sup>+</sup>-free solution, the pD<sub>2</sub> values of 5-HT and carbachol did not change. The maximal effects of 5-HT were increased by K<sup>+</sup>-free solution. Low Na<sup>+</sup> solution did not alter the contractile responses to 5-HT and KCl, but depressed those to carbachol. Their pD<sub>2</sub> values were not significantly changed by low Na<sup>+</sup> solution. The pD<sub>2</sub> values and maximal effects of KCl and CaCl<sub>2</sub> were not changed by amiloride. In the presence of amiloride the maximal effects of 5-HT and carbachol were depressed and the sensitivity of preparations were decreased to these spasmogens. Responses to 5-HT and carbachol in Ca<sup>++</sup>-free (0.1 M EGTA) solution were increased by incubation with ouabain. Amiloride failed to depress the contractions produced by 5-HT and carbachol in Ca<sup>++</sup>-free (0.1 mM EGTA) solution.

**Geliş Tarihi:** 21.02.2000

**Yazışma Adresi:** Dr.Ayşe Saide ŞAHİN  
Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Farmakoloji AD 42080 KONYA

KCl ile alınan maksimum kasılma cevaplarını değiştirmemiş, karbakol ile alınan maksimum kasılma cevaplarında ise anlamlı azalma olduğu saptanmıştır. Bu solüsyonla inkübasyon kullanılan kasıcı ajanlara karşı dokunun duyarlılığını değiştirmemiştir. Amilorid (10<sup>-5</sup> M) ile inkübe edilen dokularda KCl ve CaCl<sub>2</sub> ile elde edilen maksimum kasılma cevapları ve pD<sub>2</sub> değerleri değişmemiştir. 5-HT ve karbakole ait maksimum kasılma cevapları ve bu ajanlara karşı dokuların duyarlılığında ise azalma olduğu saptanmıştır. EGTA (0.1 mM) içeren Ca<sup>++</sup>suz ortamda 5-HT ve karbakol kasılma cevapları oluşturmuş, dokuların uvabain ile inkübe edilmesi bu cevapları anlamlı olarak artırmış, amilorid ise etkilememiştir.

**Sonuç:** Bu bulgular dana koroner arter düz kasında, 5-HT, karbakol, KCl veya CaCl<sub>2</sub> ile elde edilen kasılma cevaplarında Na<sup>+</sup> iyonuna bağımlı olarak hücre içine giren Ca<sup>++</sup> iyonlarının rol oynadığını ve membranda Na<sup>+</sup> geçirgenliğini değiştiren ajanların bu kasılma cevaplarını etkileyebileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Koroner arter, Serotonin, Karbakol, Uvabain, Amilorid

T Klin Tıp Bilimleri 2000, 20:334-340

**Conclusion:** These results suggest that calf coronary artery possess Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup> exchange system and Na<sup>+</sup> channel inhibitors affect contractions of 5-HT, carbachol KCl or CaCl<sub>2</sub> in this tissues.

**Key Words:** Coronary artery, Serotonin, Carbachol, Ouabaine, Amiloride

T Klin J Med Sci 2000, 20:334-340

Düz kaslı yapılarda Ca<sup>++</sup> iyonunun depolarizasyondan sorumlu temel katyon olduğu ve bu yapılarda kasılma oluşturan ajanların intraselüler depolardan Ca<sup>++</sup> iyonu salıverilmesi ve/veya ekstraselüler ortamdan Ca<sup>++</sup> iyonu girişini arttırmak suretiyle hücre içinde bu iyonun konsantrasyonunu yükselttikleri bilinmektedir (1). Ekstraselüler ortamdan hücre içine Ca<sup>++</sup> iyonu girişi voltaja bağımlı veya reseptöre bağımlı kanallar aracılığı ile olmaktadır (2). Bu kanallara ilaveten, bazı vasküler düz kas hücrelerinde Na<sup>+</sup>-bağımlı Ca<sup>++</sup> giriş ve çıkışının olduğu gösterilmiş ve membranda Na<sup>+</sup> geçirgenliğini değiştiren maddelerin bu düz kaslı yapıların tonusunu ve kasıcı ajanlara verdikleri cevabı etkilediği de öne sürülmüştür (3, 4). Nitekim kobay aortasında yapılan bir çalışmada banyo ortamına uvabain ilavesi veya dokunun K<sup>+</sup>suz solüsyonla muamele edilmesi kasılma cevapları oluşturmuş (5), diğer bir çalışmada da Na<sup>+</sup>suz ortamda alınan köpek koroner arter şeritlerinde kasılma cevapları meydana gelmiştir (6). Ancak, Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup> değişim sisteminin vasküler düz kasların tonusunun düzenlenmesindeki rolü çalışılan türe, vasküler yapı ve deneysel koşullara bağlı olarak değişmektedir (7). Rat aorta ve mezenterik arterinde yapılan bir çalışmada ortamdaki Na<sup>+</sup> iyonu düzeyinin azaltılması düz kas tonusunu değiştirmemiş, ancak

yüksek K<sup>+</sup>, serotonin (5-HT) ve arginin vazopressinle oluşan kasılma cevaplarını potansiyalize etmiştir (8).

Dana koroner arterinde yapılan bu in vitro çalışmada hücre membranında Na<sup>+</sup> iyonu geçirgenliğini değiştiren ajanların CaCl<sub>2</sub>, KCl, 5-HT ve karbakol ile alınan kasılma cevapları üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

### Materyel ve Metod

Bu çalışmada Konya Et ve Balık Kurumundan alınan dana kalpleri kullanıldı. Kalpler soğuk Krebs-Henseleit solüsyonu içerisinde laboratuvara getirildi ve sol koroner arterin interventriküler dalı izole edildi. Bağ dokusundan temizlenen arterler spiral kesi ile 2-3 mm genişliğinde ve 10-15 mm boyunda şeritler haline getirildi. Şeritlerin endotel tabakası küçük ve yumuşak bir fırça ile hafifçe sürtülerek mekanik yolla tahrip edildi. Bu şekilde hazırlanan dokularda kasıcı ajanların uygulanmasından sonra asetilkolin gevşeme oluşturmadı. Dokular, 37°C'de Krebs Henseleit solüsyonu içeren ve %95O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli olarak gazlandırılan 20 ml hacminde organ banyosu içine alındı ve 1g istirahat gerilimi uygulanarak 60 dakika süre ile dinlendirildi. Bu süre içinde dokular her

15 dakikada bir besleyici solüsyon ile yıkandı. Alınan cevaplar bir transduser (FT-03) aracılığı ile izometrik olarak poligrafa (Grass) kaydedildi. Deneylerde kullanılan Krebs Henseleit solüsyonunun içeriği (mM) olarak şöyledir: NaCl 119; KCl 4.7; MgSO<sub>4</sub> 1.5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2; CaCl<sub>2</sub> 2.5; NaHCO<sub>3</sub> 25; glukoz 11.

DeneySEL Prosedür: Dinlenme periyodunun bitiminde CaCl<sub>2</sub> (10<sup>-4</sup>-10<sup>-2</sup> M), KCl (10<sup>-4</sup>-10<sup>-1</sup> M), 5-HT (10<sup>-9</sup>- 3x10<sup>-4</sup> M) veya karbakol (10<sup>-9</sup>- 3x10<sup>-4</sup> M) ilavesiyle kontrol kümülatif konsantrasyon-cevap eğrileri saptandı. Dokular yıkanarak dinlendirildi. Kasıcı ajan olarak 5-HT ve karbakolun kullanıldığı dokularda ikinci konsantrasyon-cevap eğrileri ortama uvabain (10<sup>-5</sup> M) veya amilorid (10<sup>-5</sup> M) ilave edildikten ya da banyo içerisindeki besleyici solüsyon K<sup>+</sup>suz veya 25 mM Na<sup>+</sup> içeren solüsyonla değiştirildikten sonra tekrarlandı. İkinci konsantrasyon-cevap eğrileri KCl ile yapılan çalışmalarda uvabain (10<sup>-5</sup> M), amilorid (10<sup>-5</sup> M) veya 25 mM Na<sup>+</sup> içeren ortamlarda, CaCl<sub>2</sub> ile çalışılan dokularda ise, uvabain (10<sup>-5</sup> M) veya amilorid (10<sup>-5</sup> M) varlığında kaydedildi. CaCl<sub>2</sub> ile yapılan çalışmalarda besleyici solüsyon olarak 100 mM KCl içeren Ca<sup>++</sup>suz solüsyon kullanıldı. Bu solüsyon, Krebs Henseleit solüsyonundan CaCl<sub>2</sub> çıkarılarak ve NaCl yerine ekimolar miktarda KCl ilave edilerek hazırlandı. K<sup>+</sup>suz solüsyon hazırlamak için Krebs Henseleit solüsyonundan KCl çıkarıldı ve KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> yerine NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ilave edildi. 25 mM Na<sup>+</sup> solüsyonu ise NaCl yerine ekimolar miktarda tris (hidroksimetil) aminometan (Tris)-HCl ilavesiyle hazırlandı.

Çalışmanın diğer bir bölümünde 5-HT veya karbakolle kontrol kümülatif konsantrasyon-cevap eğrileri alındıktan sonra banyo ortamı 0.1 mM konsantrasyonda EGTA (etilen glikol bis (β aminoeter) N-N'-tetraasetik asid) içeren Ca<sup>++</sup>suz Krebs Henseleit solüsyonu ile değiştirildi ve doku 50 dakika süreyle bu solüsyonla inkübe edildi. Çalışmanın bu bölümünde, kontrol amacıyla kullanılan dokularda sadece 5-HT veya karbakole verilen cevaplar tekrarlandığı halde, deneme grubunda bu iki kasıcı ajana bağlı cevaplar ortamda amilorid (10<sup>-5</sup> M) veya uvabain (10<sup>-5</sup>M) varlığında yazdırıldı. Dokular amilorid veya uvabain ile 30 dakika süreyle, K<sup>+</sup>suz veya 25 mM Na<sup>+</sup> içeren solüsyonlarda ise 45 dakika süreyle inkübe edildi. Kontrolu

takiben her preparatta membran Na<sup>+</sup> iyonu geçirgenliğini etkileyen ajanlardan sadece biri denendi.

İstatistik: Kasıcı ajanlarla alınan kontrol kümülatif konsantrasyon-cevap eğrisinde maksimum kasılma cevapları 100 kabul edildi. Membranda Na<sup>+</sup> iyonu geçirgenliğini etkileyen maddelerin varlığında ve yokluğunda bu ajanlara ait pD<sub>2</sub> (-log EC50) ve maksimum kasılma (E<sub>max</sub>) değerleri bu cevabın yüzdesi olarak hesaplandı. Veriler ortalama ± standart hata (SH) şeklinde belirtildi. İki ortalama arasındaki farkın istatistiksel analizi için Student'in t testi kullanıldı. p<0.05 olması durumunda ortalamalar arasındaki fark anlamlı kabul edildi.

İlaçlar: KCl (Sigma), CaCl<sub>2</sub> (Sigma), karbakol (Sigma), 5-HT kreatinin sülfat (Sigma), amilorid (Sigma), uvabain (Sigma). Amiloridin stok solüsyonu DMSO/etanol karışımında, diğer ilaçlar distile suda eritildi ve ön denemelerde belirtilen solvent karışımının etkisiz olduğu saptandı.

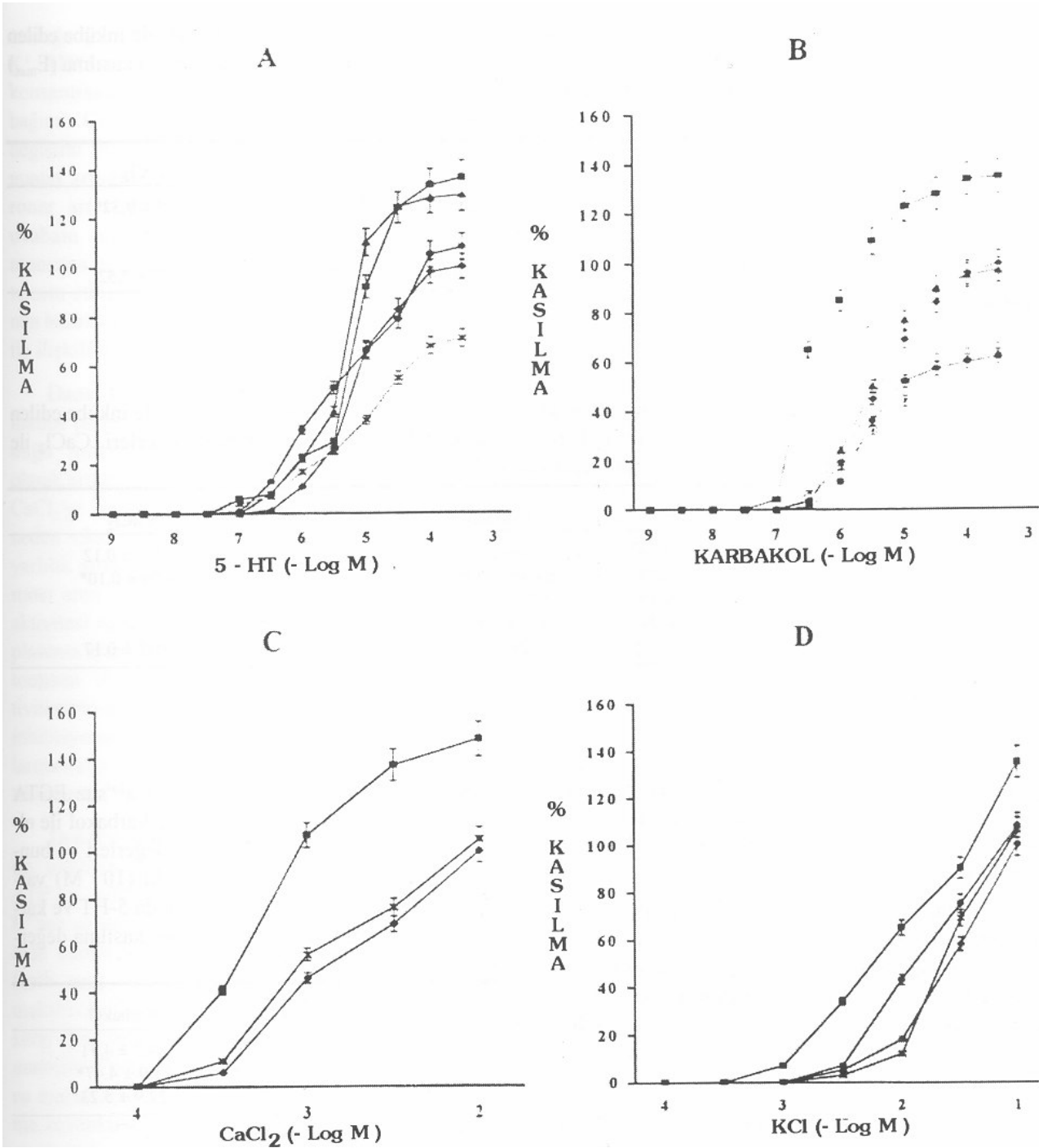
### Bulgular

5-HT, karbakol, KCl ve CaCl<sub>2</sub> dana koroner arter düz kasında tekrarlanabilir nitelikte kasılma cevapları oluşturmuş ve zamana bağlı değişme görülmemiştir.

Dokuların 10<sup>-5</sup> M uvabainle inkübe edilmesi bu ajanlara bağlı maksimum kasılma cevaplarını kontrol değerlere göre anlamlı olarak arttırmıştır (Şekil 1, Tablo 1). Uvabain varlığında 5-HT için hesaplanan pD<sub>2</sub> değerleri kontrol değerlerden farksız bulunmuş, karbakol, KCl ve CaCl<sub>2</sub> için bulunan pD<sub>2</sub> değerleri ise kontrol değerlere göre anlamlı olarak artmıştır (Tablo 2).

K<sup>+</sup>suz solüsyonla inkübe edilen dokularda 5-HT ile elde edilen maksimum kasılma cevapları kontrol değerlere göre anlamlı artış göstermiş, karbakole ait maksimum kasılma cevaplarında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 1, Tablo 1). Dokuların K<sup>+</sup>suz solüsyonla inkübe edilmesi bu iki ajana ait pD<sub>2</sub> değerlerini değiştirmemiştir (Tablo 2).

25 mM Na<sup>+</sup> içeren solüsyon ile inkübe edilen dokularda 5-HT ve KCl ile alınan maksimum kasılma cevapları değişmemiş ancak karbakol ile bulunan maksimum kasılma cevapları kontrol değerlere oranla anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 1, Tablo 1). Bu ajanlara ait pD<sub>2</sub> değerlerinde ise kontrol değerlere göre anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 2).



**Şekil 1.** Dana koroner arter düz kasında 5-HT (A), karbakol (B), CaCl<sub>2</sub> (C) ve KCl (D) ile elde edilen kontrol (◆) kasılma cevapları üzerine uvabain (■), K<sup>+</sup>suz solüsyon (s), 25 mM Na<sup>+</sup> solüsyonu (●) ve amiloridin (\*) etkileri. CaCl<sub>2</sub> ile çalışılırken 100 mM KCl içeren Ca<sup>2+</sup>suz solüsyon kullanıldı.

Amilorid (10<sup>-5</sup>M) ile inkübe edilen dokularda KCl ve CaCl<sub>2</sub> ile elde edilen maksimum kasılma cevapları ve pD<sub>2</sub> değerleri değişmemiştir. 5-HT ve karbakole ait maksimum kasılma cevapları ve pD<sub>2</sub>

değerleri ise kontrol değerlere göre anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 1, Tablo 1,2).

EGTA (0.1 mM) içeren Ca<sup>++</sup>suz ortamda, kümülatif tarzda uygulanan 5-HT veya karbakol

**Tablo 1.** Uvabain (10<sup>-5</sup> M), K<sup>+</sup>suz solüsyon, 25 mM Na<sup>+</sup> solüsyonu veya amilorid (10<sup>-5</sup> M) ile inkübe edilen dana koroner arter striplerinde 5-HT, karbakol, KCl veya CaCl<sub>2</sub> ile elde edilen % maksimum kasılma (E<sub>max</sub>) değerleri. CaCl<sub>2</sub> ile çalışılırken 100 mM KCl içeren Ca<sup>2+</sup>suz solüsyon kullanıldı. Kasıcı ajanlarla alınan kontrol maksimum kasılma değerleri 100 kabul edildi.

	5-HT	Karbakol	KCl	CaCl <sub>2</sub>
Uvabain	136.9 ± 6.57*	134.9 ± 7.63*	135.8 ± 5.33*	147.5 ± 9.32*
K <sup>+</sup> suz solüsyon	129.3 ± 5.72*	97.5 ± 8.92	-	-
25 mM Na <sup>+</sup> solüsyonu	108.4 ± 9.33	61.5 ± 8.35*	98.7 ± 10.51	-
Amilorid	71.2 ± 4.05*	63.7 ± 5.39*	105.5 ± 9.21	101.7 ± 7.52

\* p<0.05 (kontrol değerlere göre)

n: 10

**Tablo 2.** Uvabain (10<sup>-5</sup> M), K<sup>+</sup>suz solüsyon, 25 mM Na<sup>+</sup> solüsyonu veya amilorid (10<sup>-5</sup> M) ile inkübe edilen dana koroner arter striplerinde 5-HT, karbakol, KCl veya CaCl<sub>2</sub> ile elde edilen pD<sub>2</sub> değerleri. CaCl<sub>2</sub> ile çalışılırken 100 mM KCl içeren Ca<sup>2+</sup>suz solüsyon kullanıldı.

	5-HT	Karbakol	KCl	CaCl <sub>2</sub>
Kontrol	5.245 ± 0.19	5.398 ± 0.21	1.620 ± 0.17	2.921 ± 0.12
Uvabain	5.415 ± 0.23	6.639 ± 0.19*	2.268 ± 0.15*	3.456 ± 0.10*
K <sup>+</sup> suz solüsyon	5.448 ± 0.18	5.523 ± 0.25	-	-
25 mM Na <sup>+</sup> solüsyonu	5.523 ± 0.21	5.071 ± 0.26	1.887 ± 0.21	-
Amilorid	4.652 ± 0.14*	4.724 ± 0.15*	1.678 ± 0.18	3.071 ± 0.17

\* p<0.05 (kontrol değerlere göre)

n:10

kasılma cevapları oluşturmuştur. Dokuların amilorid ile inkübe edilmesi bu ajanlara bağlı maksimum kasılma cevaplarını etkilememiş, uvabain ise bu cevapları anlamlı olarak arttırmıştır (Tablo 3).

Uvabain veya Na<sup>+</sup>suz solüsyonla inkübasyon sırasında, koroner arter şeritlerinde geçici kasılma cevapları meydana gelmiş ancak doku inkübasyon süresi içinde bazal tonusa geri dönmüştür. K<sup>+</sup>suz solüsyon ve amilorid bazal tonusu etkilememiştir.

### Tartışma

Dana koroner arter düz kasında yapılan bu in vitro çalışmada, 5-HT, karbakol, KCl veya CaCl<sub>2</sub> ile elde edilen kasılma cevapları üzerine membrandan Na<sup>+</sup> iyonunun geçirgenliğini değiştiren ajanların etkileri araştırılmıştır.

Vasküler düz kaslarda KCl veya CaCl<sub>2</sub> ile oluşan kasılma cevaplarına voltaja bağımlı Ca<sup>++</sup> kanalları yoluyla hücre içine giren Ca<sup>++</sup> iyonlarının aracılık ettiği bilinmektedir (2). Çalışmada kullanılan diğer kasıcı ajanlardan 5-HT, 5HT<sub>2</sub>-tipi serotonin reseptörlerini (9), karbakol ise M<sub>3</sub>-tipi

**Tablo 3.** Dana koroner arterinde Ca<sup>2+</sup>suz EGTA (0.1 mM) içeren ortamda 5-HT ve karbakol ile elde edilen % maksimum kasılma değerleri ve bunların uvabain (10<sup>-5</sup> M) ve amilorid (10<sup>-5</sup> M) varlığında değişimi. Normal solüsyonda 5-HT ve karbakol ile alınan kontrol maksimum kasılma değerleri 100 kabul edildi.

	5-HT	Karbakol
Kontrol	32.3 ± 3.65	24.7 ± 4.31
Uvabain	49.5 ± 3.57*	41.9 ± 4.47*
Amilorid	33.9 ± 4.72	22.9 ± 5.23

\* p<0.05 (kontrol değerlere göre)

n: 10

muskarinik reseptörleri (10) aktive ederek vasküler düz kaslarda kasılma oluşturmakta ve bu kasılma cevaplarında hem ekstraselüler sıvıdan hücre içine giren hem de intraselüler depolardan salıverilen Ca<sup>++</sup> iyonları rol oynamaktadır (11,12).

Yapılan çalışmalarda, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATP'azı inhibe eden uvabainin vasküler düz kaslarda kasılma oluş-

turduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar vasküler  $Na^+$ - $K^+$  ATP'azın inhibe edilmesiyle intraselüler  $Na^+$  konsantrasyonunun arttığını ve sonuçta voltaja bağımlı  $Ca^{++}$  kanalları yoluyla ve/veya  $Na^+/Ca^{++}$  değişimi ile hücre içi serbest  $Ca^{++}$  konsantrasyonunun arttığını belirtmişlerdir (13, 14). Dana koroner arter düz kasında yapılan bu çalışmada uvabain normal solüsyonda dokuların bazal tonusunu arttırmış, ancak  $Ca^{++}$ 'suz ortamda bazal tonusu etkilememiştir. Bu bulgu uvabain ile gözlenen bazal tonus artışının ekstraselüler  $Ca^{++}$  iyonları ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Dana koroner arter şeritlerinin uvabain ile inkübe edilmesi kullanılan kasıcı ajanların oluşturduğu maksimum kasılma cevaplarını anlamlı olarak arttırmış ve bu işlem ayrıca karbakol, KCl ve  $CaCl_2$ 'ye karşı dokuların duyarlılığında da artışa neden olmuştur. Buna karşın 5-HT'ye karşı duyarlılık artışı görülmemiştir. Bu bulgular dana koroner arter düz kasında önemli bir  $Na^+$ - $K^+$  ATP'az aktivitesi olduğunu göstermektedir. Nitekim, insan plasenta arterlerinde yapılan bir çalışmada vasküler tonusun düzenlenmesinde  $Na^+$ - $K^+$  ATP'az aktivitesinin önemli rol oynadığı ve sodyum pompası inhibisyonunun 5-HT'nin fizyolojik konsantrasyonlarına karşı oluşan vasküler rezistansı arttırdığı gösterilmiştir (15).

Dokuların  $K^+$ 'suz solüsyonla inkübe edilmesi de uvabaine benzer şekilde vasküler  $Na^+$ - $K^+$  ATP'azı inhibe etmektedir (16). Bu çalışmada  $K^+$ 'suz solüsyonla inkübasyon sonrasında 5-HT ile elde edilen maksimum kasılma cevaplarında anlamlı artış olduğu saptanmıştır. Karbakole bağlı maksimum kasılma cevaplarında ve bu iki ajana karşı dokuların duyarlılığında ise bir değişim olmamıştır. Dokuların uvabaine veya  $K^+$ 'suz solüsyona maruz bırakılmaları 5-HT ile elde edilen kasılma cevaplarını benzer şekilde etkilemiş ancak bu ajanların karbakole bağlı kasılma cevapları üzerine olan etkilerinin farklı olduğu görülmüştür. Benzer şekilde kobay trakea düz kasında yapılan bir çalışmada da dokuların uvabainle inkübe edilmesi asetilkoline ait doz-cevap eğrilerini etkilememiş, buna karşın  $K^+$ 'suz solüsyonla inkübe edilen dokuların asetilkoline duyarlılığının azaldığı ve maksimum kasılma cevabının deprese olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar besleyici solüsyondan  $K^+$  iyonlarının çıkarılmasıyla  $Na^+$ - $K^+$  ATP'azın inhibe

edildiğini ancak oluşan elektrofizyolojik etkilerin uvabainden sonra gözlenenlerle farklı olduğunu yayınlamışlardır (17).

Sunulan bu çalışmada dokuların 25mM  $Na^+$  iyonu içeren solüsyonla inkübe edilmesi bazal tonusu arttırmıştır. Ekstraselüler ortamda bulunan  $Na^+$  iyon konsantrasyonunun azalmasıyla vasküler düz kaslarda kasılma oluştuğu daha önce de gösterilmiş ve bu kasılma cevaplarına kısmen voltaja bağımlı kanallar, kısmen de  $Na^+/Ca^{++}$  değişimi yoluyla hücre içine giren  $Ca^{++}$  iyonlarının aracılık ettiği belirtilmiştir (6,14). Bu çalışmada dokuların 25mM  $Na^+$ 'lu solüsyonla inkübasyonu 5-HT ve KCl ile elde edilen maksimum kasılma cevaplarını etkilememiş ancak karbakole ait maksimum kasılma kontrol değerlere göre anlamlı olarak azalmıştır. Ayrıca dokuların kullanılan kasıcı ajanlara karşı duyarlılığında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Amiloridin hücre membranında  $Na^+$  giriş kanallarını (18),  $Na^+/H^+$  değişimini (19),  $Na^+/Ca^{++}$  değişimini (20) ve voltaja bağımlı  $Ca^{++}$  kanallarını (21) inhibe ettiği bilinmektedir. Amilorid ile inkübe edilen dokularda KCl ve  $CaCl_2$  ile alınan maksimum kasılma cevapları ve  $EC_{50}$  değerleri kontrol değerlerden farksız bulunmuştur. Bu bulgu dana koroner arterinde amiloridin uygulanan konsantrasyonda voltaja bağımlı  $Ca^{++}$  kanallarından bu iyonun hücre içine girişini etkilemediğini göstermektedir. 5-HT ve karbakol ile elde edilen kasılma cevapları ise amilorid varlığında anlamlı olarak azalmış ve ayrıca dana koroner arter şeritlerinin bu iki kasıcı ajana karşı duyarlılıklarında da azalma olduğu saptanmıştır. Amiloridin 5-HT ve karbakol ile elde edilen kasılma cevapları üzerine olan etkileri, bu dokuda belirtilen ajanlara bağlı kasılma cevaplarında  $Na^+$  a bağlı  $Ca^{2+}$  girişinin rol oynadığını göstermektedir.

Çeşitli vasküler düz kaslı yapılarda gerçekleştirilen çalışmalarda uvabainle elde edilen kasılma cevaplarının ekstraselüler  $Ca^{++}$  iyonlarına bağımlı olduğu gösterilmiştir (14, 22, 23). Bu çalışmada da uvabain EGTA içeren  $Ca^{++}$ 'suz ortamda bazal tonusu etkilememiş ancak 5-HT veya karbakol ile alınan kasılma cevaplarını anlamlı olarak arttırmıştır. Bu bulgu uvabainin dana koroner arter düz kasında 5-HT veya karbakolle etkilenen intraselüler depolardan  $Ca^{++}$  salıverilmesini arttırdığını göstermektedir. Nitekim, vasküler düz kas

hücrelerinde yapılan başka bir çalışmada da uvabainin intraselüler depolardan vazopressin ve serotoninine bağlı Ca<sup>++</sup> iyonu salıverilmesini artırdığı belirtilmiştir (24).

Bu sonuçlar dana koroner arter düz kasında, 5-HT, karbakol, KCl veya CaCl<sub>2</sub> ile elde edilen kasılma cevaplarında Na<sup>+</sup> iyonuna bağımlı olarak hücre içine giren Ca<sup>++</sup> iyonlarının rol oynadığını ve membranda Na<sup>+</sup> geçirgenliğini değiştiren ajanların bu kasılma cevaplarını etkileyebileceğini göstermektedir.

### KAYNAKLAR

1. Vanhoutte PM. Heterogeneity of postjunctional vascular  $\alpha$ -adrenoceptors and handling of calcium. *J Cardiovasc Pharmacol* 1982; 4: 91-6.
2. Bolton TB. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 1979; 59: 606-718.
3. Nielsen OB, Clausen T. Regulation of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump activity in contracting rat muscle. *J Physiol* 1997; 503.3: 571-81.
4. Rembold CM, Richard H, Chen XL. Na<sup>+</sup>-Ca<sup>++</sup> exchange, myoplasmic Ca<sup>++</sup> concentration and contraction of arterial smooth muscle. *Hypertension* 1992; 19: 308-13.
5. Iwamoto T, Harada K, Nakajima F, Sukamoto T. Effects of ouabain on muscle tension and intracellular Ca<sup>2+</sup> level in guinea-pig aorta. *Eur J Pharmacol* 1992; 224: 71-6.
6. Maseki T, Abe T, Tomita T. Pharmacological properties of contraction caused by sodium removal in muscle strips isolated from canine coronary artery. *Eur J Pharmacol* 1990; 190: 355-63.
7. Karaki H, Ozaki H, Hori M, Saite M, Amano K, Harada K, Miyamoto S, Nakazawa H, Sato K. Calcium movements, distribution and functions in smooth muscle. *Pharmacol Rev* 1997; 49: 157-230.
8. Bova S, Goldman WF, Yauan XJ, Blaustein MP. Influence of Na<sup>+</sup> gradient on Ca<sup>++</sup> transients and contraction in vascular smooth muscle. *Am J Physiol* 1990; 259: 409-23.
9. Clancy BM, Mayani S. 5-Hydroxytryptamine receptor in isolated rabbit aorta: Characterization with tryptamine analogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 233: 761-9.
10. Eglen RM, Whiting RL. Heterogeneity of vascular muscarinic receptors. *J Auton Pharmacol* 1990; 19: 233-45.
11. Doğan N, Çiçek E, Cenik AG, Şingirik E, Kılıç M, Özcan AS. 5-Hydroxytryptamine-induced contraction of human isolated umbilical artery and its dependence on cellular and extracellular Ca<sup>++</sup>. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1991; 312: 79-85.
12. Karabacak Hİ, Doğan N. İzole dana koroner arterinde muskarinik agonistlerle oluşan cevaplar ve bu cevapların kalsiyumla ilişkisi. *S Ü Tıp Fak Derg* 1996; 12: 397-404.
13. Iwamoto T, Harada K, Nakajima F, Sukamoto T. Effects of ouabain on muscle tension and intracellular Ca<sup>++</sup> level in guinea-pig aorta. *Eur J Pharmacol* 1992; 224:71-6.
14. Sato K, Aoki K. Early and late contraction induced by ouabain in human umbilical arteries. *Br J Pharmacol* 1991; 103: 1525-9.
15. Alfonso MS, Ferrer CF, Salaices M, Marin J. Functional role of sodium pump in human placental arteries. *Naunyn-Schmiedeberg's arch pharmacol* 1992; 345: 108-16.
16. Mulvany MJ. Changes in sodium pump activity and vascular contraction. *J Hypertens* 1985; 3: 429-36.
17. Cortijo J, Gonzalez M, Ortiz JL, Morcillo EJ. Effects of Na<sup>+</sup> transport inhibitors on guinea-pig tracheal responses to spasmogens. *Eur J Pharmacol* 1992; 221: 43-50.
18. Shimamura K, Zou L, Moriyama K, Yamamoto K, Sekiguchi F, Sunano S. Effects of amiloride on the neurally mediated contraction of rat mesenteric artery. *Eur J Pharmacol* 1997; 320: 37-42.
19. Benos DJ. Amiloride: a molecular probe of sodium transport in tissues and cells. *Am J Physiol* 1981; 242: 131-45.
20. Debetto P, Floriani M, Carpenedo F, Luciani S. Inhibition of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>++</sup> exchange in cardiac sarcolemmal vesicles by amiloride. *Life Sci* 1987; 40: 1523-30.
21. Kleyman TR, Cragoe EJ. Amiloride and its analogues as tools in the study of ion transport. *J Membr Biol* 1988; 105:1-21.
22. Marin J, Fernandez-Alfonso MS, Sanchez-Ferrer CF. Sodium pump activity and contractile effect of ouabain in human placental veins. *Eur J Pharmacol* 1991; 201: 75-82.
23. Shibata R, Morita S, Nagai K, Miyata S, Iwasaki T. Calcium dependence of ouabain-induced contraction in aortas from spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1990; 190: 147-57.
24. Borin ML, Tribe R M, Blaustein M P. Increased intracellular Na<sup>+</sup> augments mobilization of Ca<sup>2+</sup> from SR in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1994; 266: 311-7.