

İZOLE KURBAĞA GASTROKİNEMİUS KASI ÜZERİNE ÇİNKONUN ETKİSİ

Nurcan DURSUN*, Asuman GÖLGELİ**, Cem SÜER***, Çiğdem ÖZESMİ****, Sami AYDOĞAN****

Anahtar Terimler:Çinko, Çizgili Kas, Sarsı Karakterleri, Kurbağa, İn Vitro.
Key Words:Zinc, Skeletal Muscle, Twitch Characteristics, Frog, In Vitro

ÖZET

İzole kurbağa gastrokinemius kası üzerine çinkonun etkisi, kalsiyum (Ca^{+2}) içeren veya içermeyen kurbağa Ringer solusyonu ile perfüze edilen ve direkt veya indirekt olarak uyarılan preparatlarda çalışılmıştır. 15 kurbağadan elde edilen N.ischiadicus-gastrokinemius kas preparatları kullanılmıştır. Supramaksimal elektriksel uyarma ile oluşturulan isometrik transdüser yardımı ile ölçülmüş, sarsı gerimi(Pt), kasılma zamanı(CT) ve total kasılma zamanı(TCT) poligrafik sistem ve bilgisayar yardımı ile analiz edilmiştir. Çinko konsantrasyona bağımlı bir şekilde Pt'yi artırırken, CT ve TCT'yi değiştirmemiştir. Sonuç olarak çinkonun bir hücre içi mekanizma veya mekanizmalarla çizgili kaslara etkili olabileceği kanısındayız.

SUMMARY

The Effect of Zinc on The Isolated Frog Gastrocnemius Muscle

The effect of zinc was studied on isolated frog gastrocnemius muscle which was stimulated directly or indirectly and perfused with frog Ringer containing calcium(Ca^{2+}) or depleted of Ca^{2+} . N.ischiadicus-gastrocnemius muscles were obtained from 15 frogs. Isometric force generated in response to supramaximal electrical stimulation was measured with a transducer and peak tension(Pt), contraction time(CT) and total contraction time(TCT) were analyzed by a polygraphic system and a computer. Zinc increased Pt in a concentration dependent manner, but no change was observed in CT and total contraction time. We suggested that zinc might affect the striated muscle by intracellular mechanism(s).

GİRİŞ

Çinkonun(Zn) çeşitli kas gruplarının kontraktıl cevabı üzerine etkisi sınırlı da olsa çalışılmış ve farklı sonuçlar bildirilmiştir. Kobay ileumu ve uterusunda

*Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD.Yrd.Doç.Dr.

**Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD.Öğr.Üyesi

***Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD.Doç.Dr.

****Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD.Prof.Dr.

çinko, kontraktıl cevabı düşük dozda potansiyelize ederek bir dual etki oluştururken(1-3); sıçan aortu, kobay tenia çekumu ile trekeası ve ileumunda kalsiyum bağımlı cevabı deprese etmiştir(4,5). Kalp kasında ise düz kasdakine benzer sonuçlar alınmıştır(6,7). Çinko, maymun kalbinde irreversible negatif inotropiye neden olmuş, aksiyon potansiyeli(AP) süresini uzatıp, genliğini ve kalp kası kalsiyum içeriğini azaltmıştır(6). İskelet kasında ise sarsı geriminde potansiyalizasyon, mekanik eşikte artış, AP süresinde uzama saptanmıştır(8-10).

Çinkonun özel bir çizgili kas olan diyafragma üzerine etkisi bölümümüzde çalışılmıştır(11). Bu çalışma çinko sarsı süresini kısaltıp, pozitif inotropik etkiye neden olmuştur. Bu bulgular, çinkonun, muhtemelen gevşeme ile ilgili hücre içi bir mekanizmayı etkilediğini düşündürmektedir.

Sunulan çalışmada, yapısal olarak diyafragmaya benzeyen fakat kullandığı kalsiyum kaynağı farklı olan kurbağa gastrokinemius kasında çinkonun kas sarsısı üzerine etkisi olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 15 adet Rana cameroni türü kurbağa kullanılmıştır. Spinal kurbağadan N.ischiadicus-gastrokinemius preparatı hazırlanmış, preparat kurbağa ringer çözeltisi içeren izole organ banyosuna yerleştirilmiştir. Achille tendonundan kuvvet transdüserine bağlanarak 1 gramlık gerim altında 15 dk bekletilmiştir. Deney süresince banyo hava ile gazlandırılmış ve ortam ısısı 20°C'de sabit tutulmuştur. Kayıtlar poligrafik sistemle alınmış, analog çıktısı eş zamanlı olarak bir IBM uyumlu bilgisayara aktarılıp saklanmıştır.

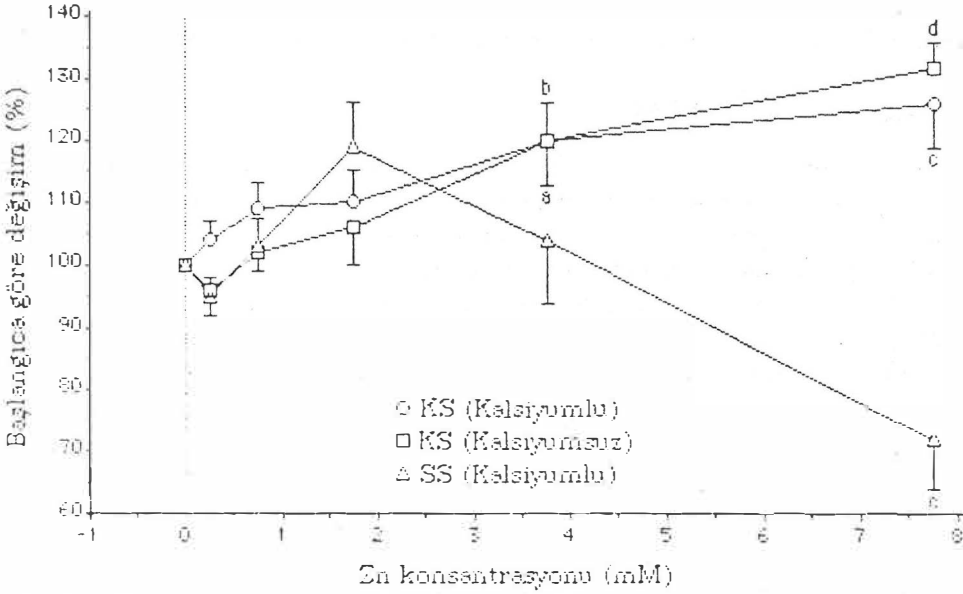
Sinir-kas preparatları supramaksimal voltajlı kare dalgalarla frenik sinir diyafragma elektrodu vasıtasıyla uyarılmıştır. İndirekt stimülasyon deneylerinde 0.2 msn süreli; direkt stimülasyon deneylerinde(1.5×10^{-6} gr/ml detübokürarin varlığında) 2 msn süreli pulslar kullanılmıştır. Preparat maksimum kas gerimini veren optimum kas boyuna(L_0) ulaşana kadar gerilmiş, bu gerim altında 15 dk bekletilmiştir. Daha sonra elektriksel uyarın 90 sn aralarla uygulanmıştır. İzole gastrokinemius sarsı karakterlerine çinkonun etkisi(banyo kons; 0.25, 0.5, 0.75, 1.75, 3.75, 7.75 mM olacak şekilde), elektriksel stimülasyon:

1. Kalsiyumlu ortamda sinire uygulanarak(SS, kalsiyumlu),
2. Kalsiyumlu ortamda kasa uygulanarak(KS, kalsiyumlu),
3. Kalsiyumsuz ortamda kasa uygulanarak(KS, kalsiyumsuz) çalışılmıştır.

İzometrik sarsı karakterlerinden Pt, TCT, CT değerleri çinko ilavesinden önceki başlangıç değerleri ile karşılaştırılmıştır(her grup için n=5). Bu bulgular istatistiksel açıdan iki eş arasındaki farkın önemliliği ve iki ortalama arasındaki önem kontrol testleriyle(Student t testi) değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çinkonun gastrokinemius kasının sarsı gerimi üzerine etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. Çinko, Ca^{+2} ve Ca^{+2} 'suz ortamda kas stimülasyonu deneylerinde sarsı gerimini 3.75 ve 7.75 mM konsantrasyonlarda anlamlı derecede artırmıştır. Sinir stimülasyonu deneylerinde ise 7.75 mM konsantrasyonda başlangıca göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.02$). Bu grupta Zn'nun kullanılan diğer konsantrasyonlarının sarsı gerilimlerine anlamlı bir etkisi saptanmamıştır.



Şekil 1: Çinkonun sarsı gerimi üzerine etkisi. Değerler Ortalama \pm Standart Hata olarak verilmiştir. Başlangıç değerlerine göre: ^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.04$; ^c $p < 0.02$; ^d $p < 0.002$.

Çinkonun gastrokinemius kasının kasılma süresi üzerine etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir. Tüm çinko konsantrasyonlarında elde edilen kasılma süreleri kontrolden anlamlı derecede farklı bulunmamıştır. Deneylerin eş konsantrasyonlarının karşılaştırılması da KS kalsiyumlu ve kalsiyumsuz deneylerin 7.75 mM konsantrasyonu hariç anlamlı değildir.

Tablo 1:Çinkonun izole kurbağa gastrokinemius kası kasılma süresi(msn) üzerine etkisi(KS:Kas Stimülasyonu, SS:Sinir Stimülasyonu. Değerler Ortalama±Standart Hata olarak verilmiştir.

GRUPLAR	KONSANTRASYONLAR(mM)					
	0	0.25	0.75	1.75	3.75	7.75
KS (kalsiyumlu)	72.9±2.8	67.9±3.1	65.1±4.2	68.8±3.8	65.9±6.1	69.6±4.5
KS (kalsiyumsuz)	82.1±5.6	66.2±5.0	68.9±4.4	65.1±3.6	72.3±3.5	90.9±1.6
SS (kalsiyumlu)	73.0±6.9	82.4±8.7	82.1±7.6	74.5±11.4	69.6±9.9	77.2±11.9

Zn ilave edilmeden önceki başlangıç değerleriyle gruplararası herbir konsantrasyon için istatistiksel karşılaştırma önemli bulunmamıştır.

Çinkonun gastrokinemius kasının total sarsı üzerine etkisi Tablo 2’de gösterilmiştir. Tüm çinko konsantrasyonlarında total sarsı süreleri sinir stimülasyonu deneyleri 7.75 mM konsantrasyonu hariç ($p<0.007$), kontrolden anlamlı derecede farklı bulunmamıştır. Deneylerin eş konsantrasyonlarının karşılaştırılması da, kalsiyumlu KS ile SS arasında 7.75 mM konsantrasyonu hariç, anlamlı değildir.

Tablo 2:Çinkonun izole kurbağa gastrokinemius kası total sarsı üzerine etkisi(Kısaltmalar ve birimler Tablo 1’deki gibidir).

GRUPLAR	KONSANTRASYONLAR					
	0	0.25	0.75	1.75	3.75	7.75
KS (kalsiyumlu)	230.6±18.2	219.9±15.8	224.2±18.3	245.4±25.7	236.4±25.1	223.8±23.1
KS (kalsiyumsuz)	228.8±10.2	210.7±17.3	230.5±22.1	230.3±20.9	246.6±21.9	275.1±31.1
SS (kalsiyumlu)	236.1±34.7	249.0±36.7	247.1±35.8	248.5±35.6	254.7±46.8	327.6±37.1

Zn ilave edilmeden önceki başlangıç değerleriyle gruplararası her bir konsantrasyon için istatistiksel karşılaştırma önemli bulunmamıştır.

TARTIŞMA

Bulgularımız, çinkonun gastrokinemius kası sarsı genliğini, direkt stimülasyon yöntemiyle yapılan deneylerde potansiyelize ettiğini göstermektedir. Bu bulgumuz, çizgili kaslarda çinkonun gerim artırıcı etkisini gösteren daha önceki çalışmalar ile uyumludur(8,9). Ortamdaki kalsiyum varlığı ve yokluğunda elde

edilen sarsı gerimlerinin potansiyelizasyonun, birbirinden anlamlı bir farklılık göstermemesi, bu etkinin ekstrasellüler kalsiyuma bağlı olmadığını düşündürmektedir. Bu bulgu sıçan diyafragmasından elde ettiğimiz bulgu ile uyumludur(11). Ancak diyafragmadan farklı olarak kasılma ve total sarsı sürelerinde anlamlı bir değişme bulunmamıştır. Total sarsı ve kasılma sürelerinde bir değişiminin olmaması ise çinkonun, hücre içi depolardan kalsiyum salınma ve geri alınma mekanizmaları üzerine etkisinin olmadığını düşündürmektedir. Preparatın N.ischiadicus yolu ile uyarılmasında ise, kas yolu ile uyarılmasından farklı bir cevap oluşmuştur. Bu etki özellikle yüksek çinko konsantrasyonlarında ortaya çıkan sarsı gerimi azalması şeklindedir. Bu azalma, sinirde oluşan depolarizasyon dalgasının iletiminin baskılanmasına veya sinir-kas kavşağında ileti bozukluğuna bağlı olabilir. Çinkonun sinir-kas kavşağında blokaja neden olduğuna dair bir bulgu olmamasına karşın, geç K^+ akımını deprese ederek aksiyon potansiyelinin süresini uzattığı gösterilmiştir(12). AP süresinin uzaması salgılanan transmitter miktarını arttıracığından sarsı geriminin potansiyelize olması indirekt stimülasyon deneyleri içinde beklenirdi. Oysa kullanılan en yüksek dozlarda inhibisyon gözlenmiştir. Bu etki muhtemelen çinkonun yüksek dozlarda sinir-kas kavşağında yaptığı inhibisyona bağlıdır.

Sonuç olarak, çinkonun çizgili kas kasılma kinetiği üzerine hücre içi bir mekanizma ile etkili olabileceği kanısına varılmıştır. Muhtemelen bu mekanizma Ca^{+2} 'nin salgılanması ve gerilimini ile değil, aktin-miyozin etkileşimiyle ilgili bir mekanizmadır.

KAYNAKLAR

- 1- Hede SS, Dınız RS, Aghshıkar NV and Dhume VG: Dual action zinc on ileal smooth muscle. Zinc-calcium interaction. *Ind.J. Physiol Pharmacol.* 30:321-328, 1986.
- 2- Daniel EE, Massingham R and Nasmyth PA: The mechanism of contractile effects of ouabain and zinc on the rat uterus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 173:293-307, 1970.
- 3- Daniel EE, Fair S, Kidwas AM and Polacek I: Zinc and smooth muscle contractility. I. Study of the mechanisms of zinc-induced contractility changes in rat uteri *J Pharmacol. Exp. Ther.* 178:282-289, 1971.
- 4- Cho CH and Teh GW: The inhibitory action of zinc sulphate on the contractile activity of guinea-pig ileum. *43:294-296*, 1991.
- 5- Sarria B, Cortijo J, Marti-Cabrera M, et al: Antagonism of Ca^{+2} by zinc in guinea-pig isolated taena caeci and trachealis muscle. *Br. J. Pharmacol.* 97:19-26, 1989.
- 6- Cortijo J, Espluques JV, Sarria B, et al: Zinc as a calcium antagonist: A pharmacological approach in the strips of rat aorta. *IRCS Med Sci.* 13:292-293, 1985.
- 7- Nayler WG, and Anderson JE: Effect of zinc on cardiac muscle contraction. *Am. J. Physiol.* 209:17-21, 1965.
- 8- Sandow A, Taylor SR, and Preuer H: Role of the action potential in excitation-contraction coupling. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 24:1116-1123, 1965.
- 9- Taylor SR: Ertbrate striated muscle: Length-dependence of Calcium release during contraction. *Eur. J. Cardiol.* 4:31-38, 1976.

- 10- Taylo SR, Lopez JR, Girifiths, et al:Calcium in excitation-contraction coupling of frog skeletal muscle.Can.J.Physiol.Pharmacol.60:489-502, 1982.
- 11- Glgeli A, Dursun N, Ser C ve ark:İzole sıçan diyafragma kas kontraksiyonuna çinkonun etkisi. TSAD XXII.Ulusal Kongresi, zet Kitabı TP 92, 18-21 Eyll 1994.
- 12- Standfield PR:The effect of zinc on the gating of the delayed potassium conductance of frog sartorius muscle.J.Physiol(London) 251:711-735, 1975.