

Flunarizinin omurilik reflekslerine etkisi

Osman Genç¹, Şerif Demir², Niyazi Taşçı², Cafer Marangoz²

¹Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Denizli

²Ondokuzmayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Samsun

Amaç: Spinal kedilerde kalsiyum kanal blokeri flunarizinin monosinaptik reflekslere etkisini araştırmak amaçlandı. **Yöntem:** Flunarizin 10, 50, 100 µM lokal ve 5, 10, 20 mg/kg intraperitoneal olarak verildi. 1.5-3 kg ağırlığında yetişkin 10 kedi ketamin (50 mg/kg, IM) ile anestezi edildi ve suni ventilasyon uygulandı. Hayvanlar servikal (C1) seviyeden spinalize edildi. Lumbosakral bölgede laminektomi yapıldı. L5 segmentin dorsal ve ventral kökleri izole edildi. Havuz oluşturuldu, dokular likit vazelinle örtüldü ve 38.5±0.5°C'de muhafaza edildi. Karotis artere polietilen kanül yerleştirilerek kan basıncı gözlendi ve 100 mmHg'nin üzerinde olması sağlandı. Stimülasyon için L5 segmentin dorsal köküne gümüş-gümüş klorür tel elektrod yerleştirildi. Refleks potansiyeller ipsilateral L5 ventral kökten kaydedildi, bu kayıta da gümüş-gümüş klorür tel elektrod kullanıldı. **Bulgular:** Flunarizinin sistemik ve lokal dozları refleks cevap amplitüdünü anlamlı şekilde azalttı. Bununla birlikte, ilaç uygulamasından sonra monosinaptik reflekslerin latensi uzadı. **Sonuç:** Omurilikteki voltaja bağımlı kalsiyum kanalları refleks cevabın düzenlenmesinde önemli bir role sahip olabilir.

Anahtar kelimeler: Flunarizin, kalsiyum kanal blokeri, spinal refleks, spinal kedi

The effects of flunarizine on spinal reflexes in the cats

Objective: Effects of calcium channel blocker flunarizine on spinal monosynaptic reflexes were aimed to investigate in spinal cats. **Methods:** Flunarizine was administered locally into the spinal cord (10, 50, 100 µM) and intraperitoneally (5, 10, 20 mg/kg). Adult cats (n=10) weighing 1.5-3 kg were anesthetized with ketamine (50 mg/kg, IM) and artificially ventilated. Animals were spinalized at C1 level. A laminectomy was performed in the lumbosacral region. The ventral and dorsal roots of segment L5 were isolated and a pouch of skin was formed at the site of the dissection to allow the exposed tissues to be covered with liquid paraffin. The temperature was kept at 38.5±0.5°C with a heating pad. A polyethylene cannula was introduced into the left carotid artery to monitor blood pressure which was kept above 100 mmHg. The dorsal root of segment L5 was placed on a silver-silver chloride wire electrode for stimulation through an isolation unit. Reflex potentials were recorded from ipsilateral L5 ventral root, mounted on a silver-silver chloride wire electrode. **Results:** The systemic and local doses of cinnarizine derivative flunarizine significantly decreased the amplitude of reflex response. Moreover, the latency of the monosynaptic reflexes increased after administration of the drug. **Conclusion:** Voltage-dependent calcium channels in the spinal cord may play an important role in regulation the reflex response.

Key words: Flunarizine, calcium channel blocker, spinal reflex, spinal cat

Genel Tıp Derg 1998;8(1):17-20.

Organizmadaki bir çok hücrenin aktivasyonunda hücre içindeki serbest kalsiyum düzeyinin büyük önemi vardır. Kalsiyum iyonu organizmada enzimatik reaksiyonların düzenlenmesinde, uyarılabilir hücrelerin aktivasyonunda ve kas kasılmasının kontrolünde çok önemli rol oynar (1,2).

Kalsiyum kanal blokerleri temel olarak kalsiyumun hücre içine girişini bloke eder. Bazıları kalsiyumun hücre içinde inaktif formda depolanmasını artırırken

bazıları da kalsiyumun hücre dışına çıkışını artırarak etki eder (3,4).

Difluorine piperazin derivativesi kalsiyum kanal blokeri flunarizin, T-tipi kalsiyum kanallarını ve bazı durumlarda da L-tipi kalsiyum kanallarını bloke eder (5). Ayrıca flunarizin sodyum kanallarının bloke olmasına neden olur (6).

Monosinaptik ve polisaptik reflekslerin fizyolojik ve farmakolojik temellerini açıklamak için bir çok deneysel çalışma yapılmıştır (7-10). Flunarizinin antiepileptik etkileri yaygın olarak araştırılmıştır (11-15). Ancak,

Yazışma adresi: Yrd.Doç.Dr.Osman Genç, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kınıklı, 20200-Denizli

Genel Tıp Derg 1998;8(1)

Flunarizinin omurilik reflekslerine etkisi-Genç ve ark

flunarizinin spinal reflekslere etkisi ile ilgili bir araştırma yoktur.

Bu çalışma flunarizinin spinal reflekslere etkisini araştırmak amacıyla planlandı.

Yöntem

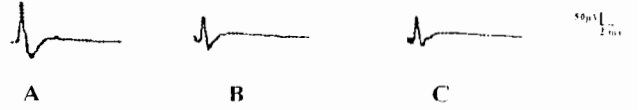
Bu çalışmada 10 yetişkin kedi (1.5-3 kg) kullanıldı. Hayvan ketamin hidroklorür (50 mg/kg, İM) ile anestezi edildi. Trakeotomi yapıldı ve hayvan solunum pompasına bağlandı. Sol karotis arter ve eksternal juguler ven açığa çıkarıldı. Kan basıncını kontrol edebilmek için karotis artere tansiyon aletinin kanülü yerleştirildi. Juguler ven ise acil müdahale için kanüle edildi. L₁-S₂ arasında laminektomi yapıldı. Laminektomi ile açığa çıkan bölge vücut ısısında nötral likit parafin ile kaplandı. Hayvan servikal seviyeden spinalize edildi. L₅₋₇ ön ve arka kökler distalden kesilerek lif ayrımı yapıldı. Uyarıcı gümüş-gümüş klorür tel elektrot arka kök üzerine, kaydedici gümüş-gümüş klorür tel elektrot ise ön kök üzerine yerleştirildi ve osiloskoptan kayıt alındı. Elektriksel olarak uyarmak için uyarıcı elektrot, stimulus izolatör ünitesine (Nihon Kohden izolatör SS102J), bu ünite de stimülatöre (Nihon Kohden elektronik stimülatör SEN-3201) bağlandı. 0.2 V'luk maksimal uyarın şiddeti ve 0.2 Hz frekans ile 0.2 ms uyarın süresi kullanıldı. Flunarizinin 5, 10, 20 mg/kg intraperitoneal (i.p.) ve 10, 50, 100 µM lokal dozları uygulandı. İstatistik hesaplamaları Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ve Kruskal Wallis Varyans Analizi ile yapıldı.

Bulgular

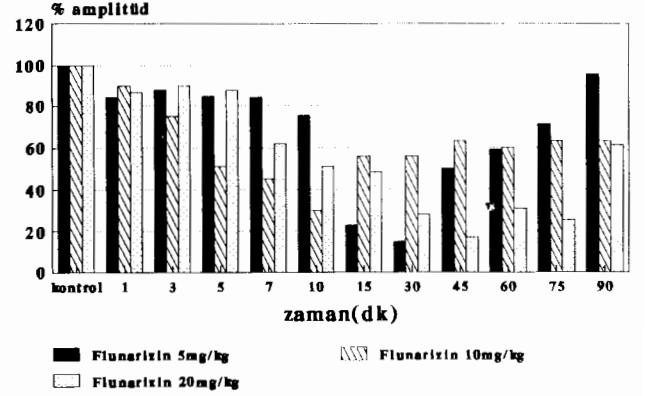
Şekil 1'de intraperitoneal (i.p.) olarak verilen flunarizinin 5 mg/kg'lık dozunun etkisi görülmektedir. Şekil 1A kontrol; B ve C ilaç verildikten sırasıyla 15 ve 60 dakika sonra elde edilen kayıtlardır. Bu dakikalarda refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlı (P<0.05, Şekil 1A-B-C, Şekil 2), latensteki değişiklik ise anlamsızdı (P>0.05).

İlaç verilmeden elde edilen kontrol kayıt ile sistemik (i.p.) olarak 10 mg/kg flunarizin verildikten sonra elde edilen kayıtlar karşılaştırıldığında refleks cevapların amplitüdündeki azalma anlamlı (P<0.05, Şekil 2), latenstin değişikliği ise anlamsızdı (P>0.05).

Şekil 3'de 20 mg/kg flunarizinin (i.p.) refleks cevaba etkisi görülmektedir. 30. ve 60. dakikalardaki refleks cevap amplitüdündeki azalma (P<0.05, Şekil 3A-B-C ve Şekil 2). 60. dakikadaki refleks cevabın latensteki uzama anlamlıdır (P<0.05).



Şekil 1. Sistemik uygulanan 5 mg/kg flunarizinin refleks cevaba etkisi. (A) Kontrol; (B) 15. dakikada elde edilen refleks kayıt (C) 60. dakikada kaydedilen refleks cevap



Şekil 2. Sistemik uygulanan flunarizinin artan dozlarının refleks cevap amplitüdüne etkileri



Şekil 3. 20 mg/kg i.p. flunarizinin refleks cevaba etkisi. (A) kontrol, (B) 30. dakikada, (C) 60. dakikadaki refleks kayıtlar

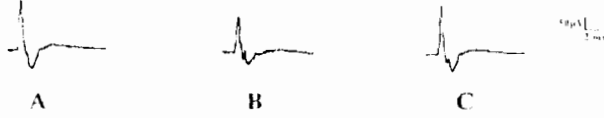
Farklı sistemik dozların (5, 10, 20 mg/kg) refleks cevaba etkileri karşılaştırıldığında 45. dakikada elde edilen refleks cevap amplitüdü arasında anlamlı farklılık bulundu (P<0.05). 45. dakikada 20 mg/kg'lık doz ile elde edilen refleks cevap amplitüdü en düşüktü. Refleks cevabın latensteki en fazla etkileyen sistemik flunarizin dozu da 20 mg/kg idi (P<0.05).

Şekil 4'te omuriliğe lokal olarak verilen 10 µM flunarizinin (2 µl) etkileri görülmektedir. 1. dakikada elde edilen refleks cevap amplitüdü azalması anlamlıydı (P<0.05). 15. dakikadaki refleks kayıt amplitüdü değişikliği ise anlamlı değildi (P>0.05, Şekil 4A-B-C ve Şekil 5).

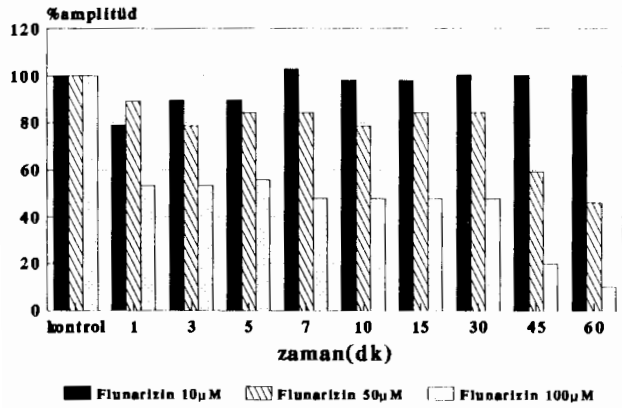
Lokal olarak uygulanan 50 µM'lık flunarizinle refleks kayıtlarda amplitüddeki azalma (P<0.05, Şekil 5), 60. dakikada latensteki uzama anlamlı bulundu (P<0.05).

Omuriliğe lokal olarak verilen 100 µM'lık flunarizinle refleks cevap amplitüdündeki azalma anlamlıdır (P<0.05; Şekil 5). 45. dakikada elde edilen kayıttaki latenste anlamlı uzama elde edilmiştir (P<0.05).

Flunarizinin farklı lokal dozlarının (10, 50, 100 μM) refleks cevabın amplitüdüne olan etkileri karşılaştırıldığında 3. dakikadan itibaren elde edilen sonuçlar arasında anlamlı farklılık bulundu ($P<0.05$). 100 μM 'lık doz ile elde edilen refleks cevap amplitüdü en düşüktür. Flunarizinin lokal dozları ile elde edilen latens değerleri karşılaştırıldığında 15. ve 45. dakikalarda elde edilen refleks cevap latenslerinde farklılık bulundu ($P<0.05$). Bu dakikalarda 100 μM 'lık flunarizin dozu ile elde edilen refleks cevap latensinde uzama belirlendi.



Şekil 4. Lokal olarak verilen 10 μM flunarizin refleks cevaba etkisi. (A) kontrol, (B) 1. dakikada elde edilen refleks cevap (C) 15. dakikadaki refleks cevap



Şekil 5. Lokal uygulanan flunarizin refleks cevap amplitüdüne etkileri (Amplitüd değerleri kontrolün yüzdesi olarak ifade edilmiştir)

Tartışma ve sonuç

Sistemik flunarizinin 5, 10, 20 mg/kg'lık dozlarından sadece 20 mg/kg'lık doz refleks cevap latensinde anlamlı uzama oluşturmuştur. Lokal 50 ve 100 μM 'lık flunarizin dozları ise refleks cevap amplitüdünde azalmaya ve refleks cevap latensinde uzamaya sebep olmuştur.

Flunarizin hayvan modeli deneysel epilepside antiepileptik etki oluşturmuştur (16,17). Başka bir çalışmada spontan olarak beliren veya bikukullin ile meydana getirilen paroksizmal depolarizasyon değişikliklerinin verapamil ve flunarizin ile bloke edildiği gösterilmiştir (13,14). Paroksizmal deşarjların hipokampus nöronlarında, verapamil ve flunarizin ile baskılandığı saptanmıştır (12,14,18).

Flunarizin deneysel epilepsi modeli çalışmalarından elde edilen sonuçlar bizim spinal reflekslerle elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içindedir. Bu maddenin spinal refleksler üzerindeki etkisinin deneysel epilepsi modelleri üzerindeki etkisine benzerlik göstermesi beklenir. Flunarizin spinal refleksler üzerine etkisi daha önce araştırılmamıştır.

Flunarizin 0.1-1 μM dozu kültür ortamında repetitif olarak uyarılmış santral sinir sistemi nöronlarında antikonvulsan etki göstermiş, bu etki esas olarak sodyum kanallarının bloke olmasına dayandırılmıştır (6). Flunarizin bazı dokularda T-tipi kalsiyum kanalları gibi L-tipi kalsiyum kanallarını da bloke eder (5). T-tipi kanalların nöronlarda konsantrite olduğu tespit edilmiştir (19-22).

Flunarizin, dihidropiridin grubu kalsiyum kanal blokleri nitrendipinin beyin membranlarında bağlandığı yerlere yüksek afinite ile bağlanır. Flunarizin kalsiyum kanal bloke edici etkisi bu şekildedir (23,24).

Diğer çalışmalardan ve bu çalışmada elde edilen bulgulardan hareketle flunarizin esas olarak sodyum kanallarını bloke ederek refleks cevap amplitüdünü azalttığı ve refleks cevap oluşmasını geciktirdiği, voltaja bağımlı kalsiyum kanallarından T-tipi, hatta L-tipi üzerinden etki ederek kalsiyum kanallarını bloke edip refleks cevap amplitüdünü azalttığı ve refleks cevap oluşmasını geciktirdiği söylenebilir.

Kaynaklar

- Weiner DA. Calcium channel blockers. Med Clin Nort Amer 1988;72:83-115.
- Mikkelsen EO. Calcium channel blockers (calcium antagonists): Background, effects and use. Ugeskr Laeger 1995;157:3750-4.
- Katz AM. Basic cellular mechanisms of action the calcium channel blockers. Am J Cardiol 1985;55:2B-9B.
- Ferlinz J. Nifedipine in myocardial ischemia, systemic hypertension and other cardiovascular disorders. Ann Intern Med 1986;105:714-29.
- Tytgat J, Vereecke J, Carmeliet E. Differential effects of verapamil and flunarizine on cardiac L-type and T-type Ca channels. Arch Pharmacol 1988;337:690-2.
- McLean MJ. In vitro electrophysiological evidence predicting anticonvulsant efficacy of memantine and flunarizine. Pol J Pharmacol Pharm 1987;39:513-25.
- Kawasaki K, Takesue H, Matsushita A. Modulation of spinal reflex activities in acute spinal rats with alfa adrenergic agonists and antagonists. Jap J Pharmac 1978;28:165-8.
- Nagano N, Ono H, Fukuda H. Functional significance of subtypes of 5-HT receptors in the rat spinal reflex pathway. Gen Pharmac 1988;19:789-93.
- Genç O, Taşçı N, Marangoz C. The effects of calcium channel blocker nifedipine on spinal reflexes in the cats. First European

- Congress of Pharmacology, Pharmacological Research, Abstract Book, 1995. p.226.
10. Fujii S, Kameyama K, Hosono M, Hayashi Y, Kitamura K. Effect of cilnidipine, a novel dihydro pyridine Ca⁺⁺-channel antagonist, on N-type Ca⁺⁺ channel in rat dorsal root ganglion neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:1187-91.
 11. Binnie CD. Flunarizine in epilepsy. *Ann N Y Acad Sci* 1988;522:710-1.
 12. Aicardi G, Schwartzkroin PA. Suppression of epileptiform burst discharges in CA3 neurons of rat hippocampal slices by the organic calcium channel blockers verapamil. *Exp Brain Res* 1990;81:288-96.
 13. Straub H, Baker RE, Bingman D, Speckmann EJ. Spontaneously appearing burst discharges in hippocampal and neocortical neurons (in vitro) suppression by the calcium antagonist verapamil and flunarizine. *Pflügers Arch* 1991;Suppl 1:418.
 14. Straub H, Danz C, Speckmann EJ. Depressive effects of organic calcium antagonists on bicuculline induced epileptic activity in hippocampal and neocortical neurons. In: Speckmann EJ, Gutnick MJ, editors. *Epilepsy and inhibition*. München: Wien; 1992. p.255-70.
 15. Gan'shina TS, Mirzoiian NR. The effect of calcium channel blockers on activity in the sympathetic nerves, on the vasomotor reflex and cerebral circulation. *Exp Clin Pharmacol* 1996;59:12-7.
 16. De Sarro GB, Meldrum BS, Nistico G. Anticonvulsant effects of some calcium entry blockers in DBA/2 mice. *Br J Pharmacol* 1988;93:247-56.
 17. Popoli P, Pezzola A, Scotti de Carolis A. Effects of calcium antagonist nimodipine on pentylenetetrazol induced seizures in rats and rabbits. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1988;292:58-67.
 18. Moraidis I, Bingmann D, Lehmenkühler A, Speckmann EJ. Caffeine induced epileptic discharges in CA3 neurons of hippocampal slices of the guinea pig. *Neurosci Lett* 1991;129:51-4.
 19. Carbone E, Lux HD. A low voltage activated, fully inactivating calcium channel in vertebrate sensory neurons. *Nature* 1984;310:501-2.
 20. Carbone E, Lux HD. Kinetics and selectivity of a low voltage activated calcium current in chick and rat sensory neurons. *J Physiol* 1987a;386:547-70.
 21. Carbone E, Lux HD. Single low voltage activated calcium channels in chick and rat sensory neurons. *J Physiol* 1987b;386:571-601.
 22. Nowycky MC, Fox AP, Tsien RW. Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity. *Nature* 1985;316:339-43.
 23. Leysen JM, Gommeren W. In vitro binding profile of drugs used in migraine. In: Amery WK, Van Nueten JM, editors. *The pharmacological basis of migraine therapy*. London: A Wauquier Pitman; 1984. p. 255-67.
 24. Gould RJ, Murphy KMM, Snyder SH. Tissue heterogeneity of calcium channel antagonist binding sites labeled by (3H) nitrendipine. *Mol Pharmacol* 1984;25:235-41.