

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen.		Farmasian laitos	
Tekijä — Författare			
Maria Hautala			
Työn nimi — Arbetets titel I KIRJALLINEN OSA Farmakologiset mahdollisuudet luurankoliuksen supistuksen ja kalsiumherkkyyden säätelyssä II KOKEELLINEN OSA Levosimendaanin-uuden kalsiumherkistäjän-vaikutus hitaan ja nopean luurankoliuksen kalsiumherkkyyteen skinned fiber-preparaatissa-fosforylaatioasteen merkitys			
Oppiaine — Läroämne			
Farmakologia			
Työn laji — Arbetets art		Aika — Datum	Sivumäärä — Sidoantal
Kokeellinen pro gradu		19.9.1996	86
Tiivistelmä — Referat			
<p>Luurankoliuksen supistuksen ja kalsiumherkkyyden säätelyyn vaikuttavat rakenteelliset, toiminnalliset ja ulkoiset tekijät. Supistusta säätelevien proteiinien rakenne voi muuttua ja vaikuttaa lihaksen toimintaan. Supistusta voidaan muokata rasittamalla lihasta tai käyttämällä farmakologisia aineita. Kalsium välittää lihassolun sähköisen aktivaation mekaaniseksi supistukseksi. Supistusvoiman ja kalsiumin pitoisuuden välinen suhde ei ole vakio, vaan siihen voidaan vaikuttaa mm. kalsiumherkistäjiksi kutsutuilla yhdisteillä. Kalsiumherkistystä on tutkittu lupaavana keinona hoitaa sydämen vajaatoimintaa, jossa sydänlihaksen kalsiumherkkyys on mahdollisesti alentunut. Työn tarkoituksena oli selvittää luurankoliuksen kalsiumherkkyyden farmakologisia säätelymahdollisuuksia ja verrata niitä sydänlihaksessa esiintyviin kalsiumherkkyyden säätelymekanismeihin sekä tarkastella erityisesti toiminnallisten ja rakenteellisten tekijöiden vaikutusta sekä luuranko- että sydänlihaksissa.</p> <p>Kokeellisessa osassa tutkittiin levosimendaanin, sydämessä kalsiumherkistäjänä toimivan yhdisteen, vaikutuksia luurankoliuksen kalsiumherkkyyteen. Hitaassa luurankoliuksessa ja sydänlihaksessa levosimendaanin kohdeproteiini, troponiini C (TnC), on identtinen. Mikäli levosimendaanin vaikutus olisi ollut samanlainen hitaassa luurankoliuksessa ja sydämessä, olisi vaikutus ollut todennäköisesti TnC-välitteinen. Vertailuna tutkittiin nopeaa luurankoliusta, jossa TnC on erilainen. Työssä käytettiin ns. skinned fiber-tekniikkaa, jossa marsun hitaasta (<i>m. soleus</i>) tai nopeasta (<i>m. psoas</i>) luurankoliuksesta revittiin varovasti noin 200 µm levyisiä ja 0,5 cm pituisia säikeitä. Lihassäikeiden solukalvo ja sarkoplasmaattinen kalvosto rei'itettiin lievän ultraäänen ja pinta-aktiivisen aineen avulla siten, että niiden supistusta voitiin säädellä ulkopuolelta lisätyn kalsiumin avulla.</p> <p>Hitaan ja nopean luurankoliuksen supistuksen riippuvuus kalsiumin pitoisuudesta määritettiin, minkä jälkeen tutkittiin levosimendaanin vaikutus eri kalsiumtasoilla. Supistusvoiman arvot laskettiin prosentteina maksimisupistuksesta, jolloin jokainen säie toimi omana kontrollinaan. Maksimisupistuksen aiheuttavan liuoksen pCa ($-\log[Ca^{2+}]$) oli 4,8. Relaksaatioliuoksen pCa oli 8,0. Hitaassa luurankoliuksessa koko kalsiumvoima-kuvaaja oli alueella 6,5-4,8, nopeassa alueella 6,3-4,8. Lisäksi tutkittiin levosimendaanin vaikutusta fosfataasi-aktivaattorin (OR-1366) ja proteiinikinaasi-inhibiittorin (staurosporiini) lisäyksen jälkeen.</p> <p>Hidas luurankolihas oli herkempi kalsiumille kuin nopea, mutta nopeassa luurankoliuksessa kalsiumin ja supistusvoiman välinen suhde oli jyrkempi. Levosimendaanilla ei ollut hitaassa luurankoliuksessa kalsiumherkistysvaikutusta kuten sydänlihaksessa, vaan vaikutus oli matalilla kalsiumtasoilla jopa kalsiumherkkyyttä heikentävä. Nopeassa luurankoliuksessa saatiin esille kalsiumherkistysvaikutus korkeilla kalsiumtasoilla. Kalsiumherkkyyden muutos korkeilla kalsiumtasoilla ja maksimisupistuskyvyn muutos kertoo poikkisiltävälitteisestä vaikutusmekanismista, jollaista levosimendaanilla ei oltu aikaisemmin havaittu. Matalilla kalsiumtasoilla näkyvä kalsiumherkistys kertoo vaikutuksesta suoraan supistuviin proteiineihin. Fosfataasiaktivaation jälkeen levosimendaani herkisti sekä hidasta että nopeaa luurankoliusta kalsiumille matalalla kalsiumtasolla. Staurosporiini ei vaikuttanut levosimendaanin vasteeseen, joten levosimendaanin vaikutus ei välity proteiinikinaaseja aktivoimalla.</p> <p>Luurankoliuksen kalsiumherkkyyteen vaikuttavat paitsi supistusta säätelevien proteiinien rakenne ja vuorovaikutus, myös niiden toiminnallinen tila. Fosforylaatioilmiöt muokkaavat proteiinien rakennetta, jolloin niiden vuorovaikutus voi muuttua ja vaikuttaa olennaisesti lihaksen supistukseen ja kalsiumherkkyyteen. Kun kalsiumherkkyyteen pyritään vaikuttamaan farmakologisesti, on otettava huomioon kohdeproteiinien rakenteen lisäksi myös niiden toiminnallinen tila.</p>			
Avainsanat — Nyckelord			
levosimendaani, kalsiumherkistys, lihassupistus, fosforylaatio, luurankolihas, troponiini C			
Säilytyspaikka — Förvaringsställe			
Farmasian laitos, farmakologinen ja toksikologinen osasto			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			