

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİGOKSİN İLE MONENSİN'İN HÜCRESEL
MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

118791

Veteriner Hekim Ramazan ÜSTÜN
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

118791

DANIŞMAN

Doç. Dr. İsmail MERAL

**TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

VAN – 2002

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİGOKSİN İLE MONENSİN'İN HÜCRESEL
MEKANİZMASININ ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Ramazan ÜSTÜN
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. İsmail MERAL

VAN – 2002

* Bu araştırma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2000. VF. 041 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DİGOKSİN İLE MONENSİN'İN HÜCRESEL MEKANİZMASININ
ARAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Ramazan ÜSTÜN

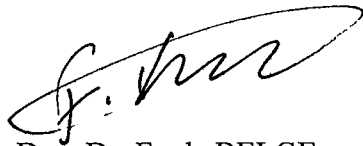
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ



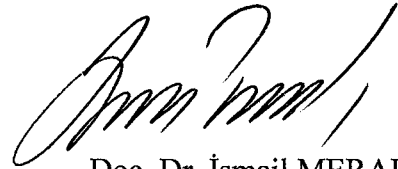
Doç. Dr. Mukaddes ÖZCAN

Jüri Başkanı



Doç. Dr. Ferda BELGE

Üye



Doç. Dr. İsmail MERAL

Üye

TEZ KABUL TARİHİ

22.10.2002

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmanın her aşamasında beni yönlendiren, ilgi ve desteğini esirgemeyen Danışman Hocam Doç. Dr. İsmail MERAL'e, çalışmam boyunca bana sağladığı kolaylıklardan dolayı Anabilim Dalı Başkanım Doç. Dr. Ferda BELGE'ye, laboratuvar tekniği, izole organ çalışma metodu ve manipülasyonu konusundaki yardımları için Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Rüştü ONUR'a, yine izole organ çalışmalarından faydalandığım İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalına, çalışmamda laboratuvar imkanlarını kullandıran Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Nöroscience Araştırma Birimi'ne, laboratuvar çalışması süresince yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Hanefi ÖZBEK'e ve çalışma boyunca bana anlayışla daima destek olan eşime engin teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu araştırmayı maddi olarak destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Araştırma Fonu Başkanlığı'na da teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
Teşekkür	III
İçindekiler.....	IV
Simgeler ve Kısaltmalar	VIII
Şekiller.....	X
Tablolar.....	XI
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kalp Kasının Özellikleri.....	4
2.2. Kalp Kasının Fizyolojik Anatomisi.....	6
2.3. Kalp Kasının Kontraksiyon Mekanizması.....	7
2.4. İyon Kanalları	7
2.4.1. Sodyum kanallarının yapısı, aktivasyonu ve inaktivasyonu.....	7
2.4.2. Kalsiyum'un salınım ve kontrol mekanizması	9
2.5. Kalp Yetmezliği.....	13
2.5.1. Kalp yetmezliğinin epidemiyolojisi	13
2.5.2. Kalp yetmezliğinin etkileri	14
2.5.3. Kalp yetmezliğinin hücrel mekanizması	14
2.5.4. Kalp yetmezliğinde vücudun adaptasyon yeteneği	17
2.5.5. Kalp yetmezliğinin tedavisi	18
2.6. Pozitif İnotropik Etkili Ajanlar.....	19
2.6.1. Kalp glikozitleri ve digoksin	19
2.6.1.1. Digoksin'in toksik etkisi.....	22
2.6.2. İyonoforlar	22
2.7. Monensin	23

2.7.1. Monensin'in kimyasal yapısı.....	24
2.7.2. Biyolojik membranlardan iyon geçişine etkisi	25
2.7.3. Monensin'in hücresel etki mekanizması	26
2.7.4. Monensin'in genel etkileri.....	28
2.7.5. Metabolizması	29
2.7.6. Toksik etkileri.....	29
2.8. Kalsiyum Kanal Blokörleri.....	31
2.8.1. Hücresel etki mekanizmaları	31
2.8.2. Genel etkileri	32
2.8.3. Tedavide kullanımları.....	32
2.8.4. Toksisite	33
3. MATERYAL VE METOT	34
3.1. Materyal.....	34
3.1.1. Deney hayvanı materyali	34
3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler	34
3.1.3. Kimyasallar.....	35
3.1.4. İlaçlar	35
3.2. Metot.....	36
3.2.1. Grupların oluşturulması.....	36
3.2.2. Transdüserin kalibrasyonu.....	36
3.2.3. Papillar kasların hazırlanması ve asılması.....	36
3.2.4. İlaçların stok solüsyonlarının hazırlanması	37
3.2.4.1. Digoksin'in stok solüsyonunun hazırlanması.....	37
3.2.4.2. Monensin'in stok solüsyonunun hazırlanması	37
3.2.4.3. Tapsigargin'in stok solüsyonunun hazırlanması	37
3.2.4.5. Kafein'in stok solüsyonunun hazırlanması	38

3.2.4.6. Fenilefrin'in stok solüsyonunun hazırlanması.....	38
3.2.4.7. Potasyum klorid'in stok solüsyonunun hazırlanması	38
3.2.5. Normal Krebs solüsyonunda digoksin'in kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkisinin araştırılması	38
3.2.6. Normal Krebs solüsyonunda monensin'in kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkisinin araştırılması	38
3.2.7. Normal Krebs solüsyonunda kontrol çalışması	39
3.2.8. Monensin ve digoksin'in Na^+ 'suz Krebs solüsyonunda kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkilerinin araştırılması.....	39
3.2.9. Monensin ve digoksin'in Ca^{+2} 'suz Krebs solüsyonunda kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkilerinin araştırılması.....	39
3.2.10. Monensin ve digoksin'in Tapsigargin ile SR'u Ca^{+2} yönünden boşaltılmış papillar kasların kontraksiyon gücü üzerine etkilerinin araştırılması.....	40
3.2.11. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR	41
4.1. Digoksin'in Kobay Papillar Kaslarının Kasılma Gücü Üzerine Etkisi	41
4.2. Monensin'in Kobay Papillar Kaslarının Kasılma Gücü Üzerine Etkisi	42
4.3. Normal Krebs Solüsyonunda Kontrol Çalışması	43
4.4. Digoksin'in Ca^{+2} İçermeyen Krebs Solüsyonunda Papillar Kasların Kontraksiyon Gücü Üzerine Etkisi.....	44
4.5. Monensin'in Ca^{+2} İçermeyen Krebs Solüsyonda Papillar Kasların Kontraksiyon Gücü Üzerine Etkisi.....	45
4.6. Kalsiyum İçermeyen Krebs Solüsyonunda Kontrol Çalışması	46
4.7. Monensin'in Tapsigargin ile SR Ca^{+2} 'u Boşaltılmış Papillar Kaslar Üzerindeki Etkisi.....	47
4.8. Digoksin'in Tapsigargin ile SR'u Boşaltılmış Papillar Kaslar Üzerindeki etkisi .	48
4.9. Tapsigargin ile Hücrelerinin SR'u Boşaltılmış Papillar Kaslar Üzerinde Kontrol Çalışması	49

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	51
ÖZET	56
SUMMARY	57
KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	64



SİMGELER VE KISALTMALAR

ANP	: Atrial Natriüretik Peptit
ATP	: Adenozin Trifosfat
A-V	: Atrio-Ventriküler düğüm
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
DAG	: Diasil Gliserol
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
ED-50	: Terapötik doz 50
IP3	: İnozitol-1,4,5-trifosfat
KBZ	: Kontraksiyon Başlangıç Zamanı
KMAO	: Kontraksiyonun Maksimum Artış Oranı
L tipi	: Uzun etkili sarkolemmal Ca^{+2} kanalı
LD-50	: Letal doz 50
μm	: Mikro metre
mM	: Mili Mol
mV	: Mili Volt
P1	: Kontraksiyonun 1. komponenti
P2	: Kontraksiyonun 2. komponenti
PIP2	: Fosfatidil İnozitol-4,5-bifosfat
PKA	: Protein Kinaz A
PLC	: Fosfolipaz C
PSUZ	: Pik Seviyeye Ulaşma Zamanı
S.R.	: Sarkoplazmik Retikulum
S-A	: Sino-Atrial düğüm
TnC	: Troponin C

TTX : Tetratoksin
U.Y.A : Uçucu Yağ Asitleri
WHO : Dünya Sağlık Örgütü



ŞEKİLLER

Şekil 1. Kalp kası Na^+ kanalının yapısı ve altüniteleri.	8
Şekil 2. Sodyum kanal kapısının Hodgkin-Huxley modeli.	9
Şekil 4. Kalp yetmezliği oluşumunun hücresel mekanizması.	15
Şekil 5. Kalp glikozitlerinin kimyasal yapıları.	19
Şekil 6. Monensin'in kimyasal yapısı.	25
Şekil 7. Monensin'in hücresel mekanizmasının şematik olarak ifadesi.	26
Şekil 8. Normal Krebs solüsyonunda 3 $\mu\text{mol/L}$ digoksin'in kobay papillar kaslar üzerine olan etkisi.	41
Şekil 9. Normal Krebs solüsyonunda 10 $\mu\text{mol/L}$ monensin'in kobay papillar kaslar üzerine olan etkisi.	42
Şekil 10. Normal Krebs solüsyonunda kontrol çalışması.	43
Şekil 11. Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda digoksin'in papillar kaslar üzerine olan etkisi.	44
Şekil 12. Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda monensin'in papillar kaslar üzerine olan etkisi.	45
Şekil 13. Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda kontrol çalışması.	46
Şekil 14. Normal Krebs solüsyonunda Tapsigargin+Monensin'in etkisi.	47
Şekil 15. Normal Krebs solüsyonunda Tapsigargin+Digoksin+Fenilefrin uygulaması ile kontrol çalışması.	48
Şekil 16. Normal Krebs solüsyonunda Tapsigargin+Etanol+Fenilefrin uygulaması ile kontrol çalışması.	49

TABLÖLAR

Tablo 1. Kontrol ve deneme gruplarında papillar kasların kontraksiyon başlangıç zamanı (dk) ve kontraksiyondaki maksimum artışları (%).	50
---	----



1. GİRİŞ

Dünya 21. yüzyıla bilim ve teknolojiye baş döndürücü gelişmeler, üretimde olağanüstü artış ile girerken, insanlığın hizmetine yaşamını kolaylaştıran, konforunu artıran imkanlar sunmaya devam ediyor. Bu gelişmeler küreselleşen dünyada insanların yaşam tarzını değiştirmekte (1), kardiyovasküler hastalıklarda risk faktörleri olarak görülen kalori düzeyi yüksek (fast food kültürü) gıda tüketen, sigara içen, alkol alan ve daha az fiziksel aktiviteye sahip bireyler oluşmasına zemin hazırlamaktadır (2, 3, 4). Başta ülkemiz ve gelişmiş ülkelerde olmak üzere şu anda en sık rastlanan ölüm sebebi kardiyovasküler sistem hastalıklarıdır (2, 5). Bu ölümcül afetin ülkemizde diğer gelişmiş ülkelere oranla çok daha riskli ve yaygın durumda olduğu yapılan araştırmalardan anlaşılmıştır (5, 6). Ülkemizde iki milyon kalp hastası bulunmaktadır. Her yıl bu rakama yüz seksen bin kişi daha eklenmekte ve bu hastalıktan dolayı meydana gelen ölüm olayları yüz yetmiş bini bulmaktadır. Bu sayı yapılan istatistiklerde yetişkinler arasındaki ölüm olaylarının % 53'ünün kardiyovasküler kaynaklı olduğunu göstermektedir (6, 7). Konuya kalp yetersizliği yönünden bakıldığında, yüksek mortalitesi nedeniyle sadece içinde bulunduğumuz yıllar itibarıyla değil 21. yüzyılın ilk çeyreğinde de en önemli sağlık problemi olacağı gözükmemektedir (5, 6). Ülkemizde yaklaşık bir milyon kişide çeşitli derecelerde kalp yetersizliği olduğu tahmin edilmekte ve her yıl yaklaşık 50 bin kişinin de hayatını kaybettiği belirtilmektedir. Meydana gelen ölümlerin % 45-50'sini ani ölümler oluşturmaktadır (5). Kadınlarda ölüm oranı ise Avrupa'da en yüksek düzeydedir (5, 7). Bu ölümlerin pek çoğu hayatın en verimli çağında oluşmaktadır.

Gelişmiş ülkelere Amerika'da 65 yaşın üzerindeki hastaların hastaneye yatış sebeplerinin en yaygın olanı kalp yetmezliğidir. Kalp yetmezliği bulunan hastaların bir yıl içindeki ölüm oranı Amerika'da % 34, İngiltere'de %39, İskandinav ülkelerinde ciddi vakalarda % 52 gibi korkunç seviyelere çıkmıştır (2). Her yıl tüm Avrupa'da dört milyon kişi bu hastalıktan ölmektedir. Bunların sekiz yüz bini altmış beş yaşına ulaşmadan ölmektedir (8).

Diğer taraftan az gelişmiş ülkelere ise hızla artan nüfusa paralel olarak istihdam sahası ve üretimin artmaması beraberinde kalp yetmezliği için predispoze faktörlerden bir diğeri olan son derece sağlıklı yaşam koşulları ile yetersiz beslenmeyi getirmiştir

(9). Bilimsel araştırmaları değerlendiren çalışmalarda 2020 yılına gelindiğinde kardiyovasküler hastalıkların özellikle gelişmekte olan ülkelerde, başlıca ölüm sebebi olmaya devam edeceği sanılmaktadır (5, 6, 10).

Bütün bu sebeplerden dolayı Dünya Sağlık rgt (WHO) 1999 yılında kalp damar hastalıklarını tüm dünyada bir numaralı halk düşmanı ilan etmiştir (11). İki bin yılı raporunda da özellikle gelişmekte olan ülkelerde kardiyovasküler hastalıkların byklğindeki artışa dikkat çekilmiş, yüzyılın global gelişmesi için en büyük tehlike olarak nitelendirmiştir. İki bin yılı raporu uluslararası sağlık ajandasının n sırasına kalp sağlığını almış, Dünya Kalp rgt ve diğer kalp organizasyonlarıyla işbirliği yaparak kalp sağlığının korunması yönünde tedbirler alma, kalp hastalıkları ile mücadele etme kararı almıştır (10).

Kalp sağlığının korunması konusunda Ulusal Kalp Sağlığı Platformu tarafından konunun geniş bir şekilde Tıp Fakültelerinde işlenmesi, medya aracılığıyla ilgili uzmanlarca ele alınan konunun toplum kesimlerine iletilmesi, hkmet ile yasal düzenlemelerin, Sağlık Bakanlığınca da kampanya ve etkinliklerin tertiplenme faaliyetleri yürütülmektedir (12). Uluslararası planda ise Dünya Kalp rgt Dünya Kalp Günü düzenlenmekte, bu günün amacı olarak okullarda ve düzenlenen toplantı ve etkinliklerde fiziksel aktiviteyi artırma, sağlıklı beslenme, kilo kontrolü, sigaradan ve alkolden uzak bir yaşam sürdürme üzerinde durulmaktadır (12, 13, 14).

Kalp glikozitleri ve özellikle de digoksin ani ölümlerin en önemli sebebi olarak belirtilen aritmi (5) ve kalp yetmezliğinin tedavisinde 200 yıldan beri kullanılmasına rağmen, kalp kasında oluşturduğu pozitif inotropik etki mekanizması hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır (15, 16). Kobay veya rat papillar kasları üzerinde yapılan çalışmalarda digoksin'in pozitif inotropik etki oluşturmasına rağmen zamanla bu etkisini kaybettiği ve kaslarda toksikasyon oluşturduğu saptanmıştır (17, 18). Tüm bu bulgular bilim adamlarını nasıl etki gösterirse göstersin toplam mortaliteyi azaltan her ajan kalp yetersizliği olan hastalarda hiç ihmal edilmeden kullanılmalıdır yaklaşımıyla digoksin'in alternatifi olabilecek ani ölümleri ve mortaliteyi azaltan, daha az toksik, daha hızlı, daha güçlü ve daha uzun etkili yeni bir ilacın araştırılmasına yönlendirmiştir (1, 5). Daha önce monensin'in inotropik etkisini araştırmaya yönelik yapılan çalışmalarda, monensin'in kobay papillar kaslarında aynen digoksinde olduğu gibi

pozitif inotropik etki oluşturduğu ve bu etkisini digoksenden farklı olarak zamanla kaybetmediği ortaya konmuştur (19, 20). Bu bulgular monensin ile digoksin'in hücresel etki mekanizmasının farklı olabileceği ve bu ilaçların etki mekanizmalarının tam anlaşılması ile kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılabilecek daha az toksik ve daha etkili yeni maddelerin bulunabileceği dūřuncesini doğurmuştur (19, 20, 21).

Bu tez çalışmasında, daha önceki çalışmalar göz önünde tutularak monensin ile digoksin'in kobay papillar kaslarında oluşturduğu pozitif inotropik etkilerin hücresel mekanizma yönünden karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak ilaçların kobay papillar kasları üzerinde oluşturduğu etkiler 2 saat boyunca ve elektriksel uyarım kullanılmadan kaydedilmiştir. Kaslardaki kasılmaların 2 saat boyunca kaydedilmesi ile bu ilaçların zamanla kaslar üzerinde oluşturduğu etki hakkında daha detaylı bilgi alınacağı dūřünülmüřtür. Ayrıca kaslar elektriksel olarak uyarılmayarak, ilaçların voltaj bağımlı iyon kanalları üzerinde yapmış olduğu etkiler hakkında daha güvenilir bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kalp Kasının Özellikleri

Kalp üç tip kasdan meydana gelmiştir. Bunlar; özelleşmiş uyarıcı iletici kas lifleri, atrium kası ve ventrikül kasıdır. Özelleşmiş uyarı ve ileti sistemi lifleri çok az miktarda uyarılabilir fibril içerdiklerinden belli belirsiz kasılırlar ve değişik hızlarda ileti göstererek kalbe bir uyarı sistemi sağlarlar (22, 23).

Kalbin özelleşmiş uyarı ve ileti sistemi; normal ritmik uyarıları doğuran sinüs düğümü (sino atriyal düğüm veya S-A düğümü), uyarıları sinüs düğümünden atriyoventriküler düğüme ileten düğümler arası yollar, atriyumlardan gelen uyarıların ventriküllere geçişini geciktiren atriyoventriküler düğüm (A-V düğümü), uyarıları atriyumlardan ventriküllere ileten A-V demet (his demeti) ve kalp uyarılarını ventriküllerin bütün bölgelerine ileten sol ve sağ pürkinje liflerinden oluşur (24).

Kalbin tamamının atım hızını normalde sinüs düğümü denetler. Sinüs lifleri doğrudan atrium liflerine bağlanırlar. Sinüs düğümü liflerinin doğasında var olan Na^+ sızdırma özelliği, liflerde öz uyarılmaya neden olur. Aksiyon potansiyelleri bu yolla atriyumun kas kitlesinin tamamına ve oradan da A-V düğüme yayılırlar. Atrium kasında ileti hızı yaklaşık 0.3 m/saniyedir. Ön, orta ve arka düğümler arası yollarda ise demetlerin atrium kası ile karışmış birkaç özelleşmiş ileti lifi içermelerinden dolayı daha hızlıdır (25, 26).

İleti sistemi, kalp uyarısının atriyumlardan ventriküllere doğru çok hızlı hareket edemeyeceği şekilde düzenlenmiştir. Kalp uyarısının atriyumlardan ventriküllere geçişini geciktiren oluşumlar başlıca A-V düğüm ve onun bağlantılı ileti lifleridir. Bu sistem düzenli olarak çalıştığında atriumlar, ventriküllerden yaklaşık 1/6 saniye önce kasılırlar. Bu zaman farkı sayesinde ventriküllerin kanı akciğerlere ve çevre dolaşıma pompalamadan önce daha fazla dolması sağlanmış olur (22, 24, 25).

S-A düğüm ile A-V demetin ventriküllere geçiş bölümü arasındaki toplam gecikme 0.16 saniyedir (25). Bu yavaş iletimin iki sebebi vardır. Birincisi; bütün ileti liflerinin dinlenme zar potansiyeli diğer kalp kasının normal dinlenme membran potansiyeline göre çok daha az negatif olmasıdır. İkincisi ise; bu yol üzerinde ard arda dizilen kas hücreleri arasında az sayıda oluklu bağlantı (gap junction) bulunduğu için

uyarıcı iyonların bir hücreden diğerine iletilmesine karşı büyük bir direnç oluşmasıdır (24, 25).

Pürkinje lifleri A-V demet içinde, A-V düğümünden ventriküllere uzanırlar. Pürkinje sisteminin işlevsel özellikleri, A-V düğümdeki liflerin özelliklerinin tamamen tersidir. Bunlar çok büyük liflerdir. Hatta normal ventrikül kası liflerinden bile büyüktürler ve aksiyon potansiyelini 1.5- 4.0 m/saniye hızla iletirler. Bu hız, normal kalp kasındaki hızın yaklaşık 6 katı, bazı A-V bağlantı liflerindeki hızın ise 150 katıdır. Bu sayede kalp uyarısının hızlı bir şekilde ventrikül sistemine geçmesi mümkün olur (24, 25). Kalp uyarısının ventrikül septumundaki demet dallarına girdiği andan pürkinje liflerinin uçlarına ulaştığı ana kadar geçen toplam süre çok kısa ve ortalama olarak yalnızca 0.03 saniyedir. Kalp uyarısı pürkinje sistemine girer girmez, anında bütün ventrikül kasının endokardiyal yüzüne yayılır (24).

İlk demet dallarından son ventrikül kası liflerine kadar yayılması normal bir kalpte yaklaşık 0.06 saniyedir. Bu kısacık zaman dilimi her iki ventriküldeki kasların tüm bölümlerinin hemen hemen aynı anda kontraksiyona başlamalarını sağlar. Ventrikül boşluklarının etkin pompalama yapabilmeleri için bu şekilde senkronize kontraksiyon yapmaları gerekir (24, 25).

Kalp kasında aksiyon potansiyelinin oluşumunda üç tür membran iyon kanalı rol oynar. Bunlar; hızlı Na^+ kanalları, yavaş Ca^{+2} ve Na^+ kanalları ve K^+ kanallarıdır. (22, 23). Normal bir kalp kasında membran dinlenme potansiyeli -85 ila -95 mV'tur. Aksiyon potansiyeli ise $+105$ mV olarak gerçekleşir. Bu değer -85 mV'luk membran dinlenme potansiyel değerinin $+20$ mV'a yükselmesi sonucu elde edilir. Potansiyelin pozitif bölümüne aşma potansiyeli adı verilir. Aksiyon potansiyeli aktivasyonundan sonra atrium kasında yaklaşık 0.2 saniye, ventrikül kasında ise yaklaşık 0.3 saniye süreyle depolarize kalarak bir plato oluşturur. Platonun varlığı kalp kasındaki kontraksiyonun iskelet kasındakine oranla 3-15 kez daha uzun sürmesine neden olur. Platonun sonunda ani repolarizasyon olur (27, 28, 29). Bir aksiyon potansiyeli kalp kası membranı üzerinde ilerlerken aynı zamanda transvers (T) tubullerin membranı boyunca da ilerleyerek, kalp kası lifinin iç kesimlerine yayılır. T tubullerindeki aksiyon potansiyelleri longitudinal sarkoplazmik tubullerin membranlarını etkileyerek, Ca^{+2} iyonlarının hızla SR'den sarkoplazmaya serbestlenmesine neden olurlar (22, 23). Bu

Ca^{+2} iyonları, salınmalarını izleyen 1/1000 saniye içerisinde miyofibriller içerisinde yayılır; aktin ve miyozin filamanlarının birbirleri üzerinde kaymalarını sağlayan kimyasal tepkimeleri katalize ederek kas kasılmasına neden olurlar (30).

2.2. Kalp Kasının Fizyolojik Anatomisi

Kalp kası lifleri bölünen ve bir araya gelen kafes şeklinde bir görünüm oluşturan yapılardır (22). Her kas lifi birbirine paralel birkaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibril içerir. Her miyofibril de sarkomer adı verilen temel kontraksiyon ünitelerinden meydana gelir. Sarkomerlerde miyozin filamenti ile aktin filamenti bulunur. Bunlar kas kontraksiyonundan sorumlu büyük polimerize proteinlerdir (22, 23, 31). Sarkomerin iki primer kontraktıl proteini vardır (30). Bunlar aktin ve miyozin filamentleridir. Aktin ve miyozinler arasında biyokimyasal ve biyofizyolojik etkileşimler sonucu oluşan kontraksiyon kalp kasının kısılmasına neden olur (32).

Aktin filamenti; aktin, tropomiyozin ve troponin adı verilen üç protein komponentinden oluşmuş bir komplekstir. Aktin'in fizyolojik rolü miyozinle çapraz köprüler aracılığıyla dönüşümlü olarak spesifik bağlanma yeteneğinin olması, yani miyozinin her aktif aktine bağlanabilmesidir. Aktine ek olarak iki regülatör protein de (tropomiyozin ve troponin) ince aktin filamenti boyunca yer alır (30). Tropomiyozin molekülleri F-aktin iplikleri ile zayıf bir şekilde birleşmiş ve F-aktin sarmalının etrafında spiral olarak sarılmıştır. Dinlenme durumunda tropomiyozin moleküllerinin aktin ipliklerinin aktif bölgelerini kapattığı, dolayısıyla aktin ile miyozin arasında kontraksiyona neden olacak çekimi engellediği düşünülür. Her tropomiyozin molekülü yaklaşık yedi aktif bölgeyi kapatır (30). Tropomiyozin molekülünün bir ucuna tutunmuş troponin denen bir başka protein daha vardır. Troponin gerçekte her biri kas kontraksiyonunun kontrolünde özgün bir rol oynayan, zayıf bağlı üç protein alt biriminden oluşmuş bir komplekstir (30). Troponin I; tropomiyozin gibi aktin ve miyozin arasında etkileşmeyi regüle etme yeteneğindedir (30). Troponin T; troponin kompleksini tropomiyozine bağlama görevi yapar (30). Troponin C ise; kontraksiyonun başlaması için mevcut Ca^{+2} 'u bağlar ve troponin I'nın inhibitör etkisini ortadan kaldırır. Kalp kasında gelişen kontraksiyon gücü troponine bağlı Ca^{+2} tarafından belirlenir (30).

Miyozin filamentlerinin yan taraflarından çıkan küçük uzantılar bulunur. Bunlar çapraz köprülerdir. Çapraz köprülerle aktin filamentleri arasındaki etkileşme

kontraksiyona neden olur. Aktin filamentlerinin ucu flamentoz filamentlerden oluşmuş interkale disklere tutunur. Kalp kası lifleri birbirine seri bağlanmış çok sayıda ayrı hücreden meydana gelmiştir. Membranlardaki oluklu bağlantılar iyonların serbest difüzyonuna izin verirler. Dolayısıyla işlevsel açıdan iyonların kalp kası liflerinin uzun eksenini boyunca kolaylıkla hareket etmeleri sağlanır (22, 30, 31).

2.3. Kalp Kasının Kontraksiyon Mekanizması

İntrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda (33) her bir troponin C molekülü ortamdaki dört Ca^{+2} iyonuna kuvvetle bağlanarak troponin kompleksinde biçim değişikliği oluşturur ve tropomiyozin molekülünü uyguladığı kuvvetle iki aktin ipliği arasındaki oluğa çeker. Aktinin aktif bölgeleri açığa çıkar. Ortamda Mg^{+2} iyonları ile ATP varlığında miyozin başlarından her biri bir ATP bağlar. Miyozin başları ATP ile kompleks oluşturunca boyunla 90 derecelik açı yaparlar. Miyozin başları aktine bağlanır. Aktin ise miyozin başındaki ATPaz'ı aktive ederek ATP'yi ADP ve inorganik fosfata ayrıştırır. Sonuçta aktin-miyozin-ADP-Pi kompleksi oluşur. Pi bu kompleksten ayrıldığı zaman, miyozin başının boyunla yaptığı açı 90 dereceden 50 dereceye düşer. Böylece aktin ve miyozin filamentleri birbiri üzerinden kayar. Miyozin başından ADP'nin ayrılmasıyla, miyozin başları boyunla 45 derece açı yapmış durumdayken kaydırma işlemi sona erer. Buna kontraksiyon boyunca yürüme teorisi denir. Bu şekliyle aktin miyozin kompleksi, yeni bir ATP miyozin başına bağlanıncaya kadar değişmeden kalır. Buna da ATP'nin yumuşatıcı ve gevşetici etkisi denir (30, 34, 35).

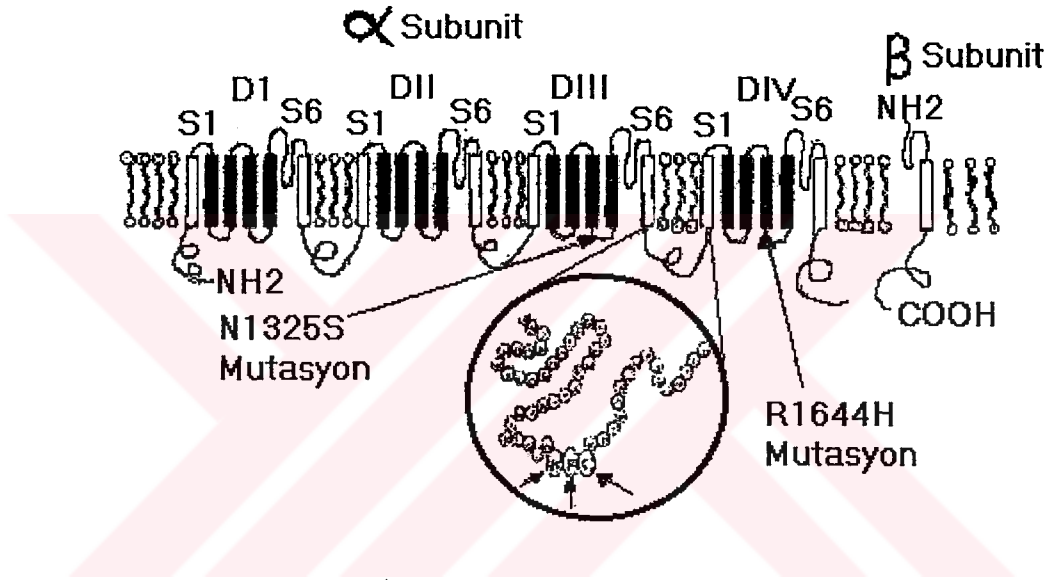
2.4. İyon Kanalları

2.4.1. Sodyum kanallarının yapısı, aktivasyonu ve inaktivasyonu

Sodyum kanalı kalp kası hücrelerinin çalışmasında ve his demeti-pürkinje sisteminde kalp uyarılarının iletiminde önemli rol oynayan bir integral membran proteini (Şekil 1). Kanal iki temel özelliğe sahiptir; iyon iletimi ve kanal fonksiyonu (22).

İyon iletimi hücre membranındaki porlardan Na^+ iyonunun seçici hareket mekanizmalarını tanımlar. Na^+ iyon kanalının seçiciliği diğer monovalant katyonlarından 10 kat daha büyüktür (22, 36).

Kapı fonksiyonu Na^+ kanal porunun açılıp kapanmasını tanımlar (36). Sodyum kanalları membran depolarizasyonu süresince geçici olarak açılır, inaktivasyon denilen süreçle de kapanır.

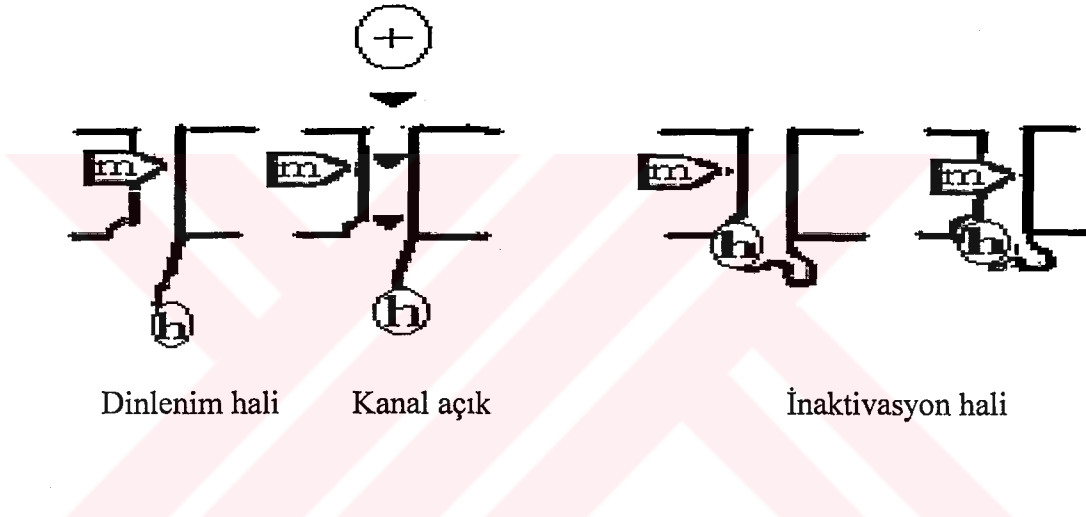


Şekil 1. Kalp kası Na^+ kanalının yapısı ve altüniteleri (36).

Atrium ve ventrikül miyokardiyal hücrelerinde ve his demetlerindeki hücrelerde ileti, membran geçirgenliğinin Na^+ iyonlarına geçici artışıyla sağlanır. İşte bu fonksiyon voltaj duyarlı Na^+ kanalları olan integral membran proteinlerinin bir ailesi ile sağlanır (36). İyon kanallarının seçici geçirgenliği önemlidir. Çünkü onlar sayesinde saniyede 10^6 dan daha fazla iyon bu kanaldan hücre içerisine girer. Kanalların durumu aktivasyon durumunda “m” kapıları ya da inaktivasyon durumunda “h” kapıları tarafından yönetilir. Hücrenin normal dinlenme potansiyelinde Na^+ kanalları “m” kapıları tarafından kapalı konumdadır, fakat inaktivasyon kapıları açık konumdadır (Şekil 2).

Membranın -70 , -50 mV civarında depolarizasyonu kapalı “m” kapılarının aniden açılarak hızla Na^+ iyonlarının hücre içine akmasına ve membranın Na^+ iyonlarına 500-5000 kat daha geçirgen hale gelmesine neden olur. Membranın Na^+

geçirgenliği arttıktan sonra, aktivasyon kapısını açan voltajın artması aynı şekilde saniyenin 1/10.000 gibi çok kısa bir zaman da Na^+ kanallarının “h” kapılarını ya da inaktivasyon kapılarını kapatır. Artık Na^+ iyonları membranın içine akamaz. İnaktivasyon kapıları membran potansiyeli dinlenme potansiyeli seviyesine dönünceye kadar bir daha açılmaz. Daha sonra “m” kapıları ya da aktivasyon kapıları kapanır. Bu döneme inaktivasyon dönemi veya repolarizasyon dönemi adı verilir. Dinlenme potansiyeline dönülünce inaktivasyon kapıları açılır ve döngü bu şekilde devam eder (22, 36). Boyutu ve hidrofobik doğası nedeniyle Na^+ kanalının 2. ve 3. yapıları henüz çözülememiştir (36).

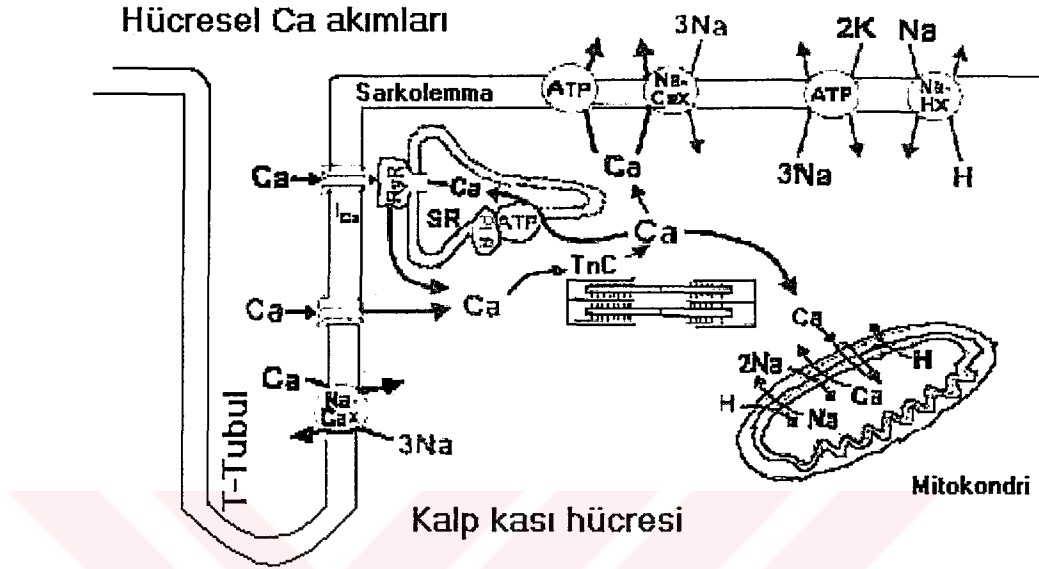


Şekil 2. Sodyum kanal kapısının Hodgkin-Huxley modeli (36).

2.4.2. Kalsiyum'un salınım ve kontrol mekanizması

İntrasellüler Ca^{+2} kalp kontraksiyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahiptir (37, 38, 39). Bir kalp kası hücresinde intrasellüler Ca^{+2} 'u sitozolden uzaklaştıran dört Ca^{+2} taşıyıcısı bulunmaktadır. Bunlar; sarkoplazmik retikulum (SR) Ca^{+2} -ATPaz pompası, sarkolemmal Na^+ - Ca^{+2} değişim pompası, sarkolemmal Ca^{+2} -ATPaz pompası ve mitokondriyel Ca^{+2} taşıyıcı pompasıdır (Şekil 3). Bu pompalardan SR Ca^{+2} -ATPaz pompası ve sarkolemmal Na^+ - Ca^{+2} değişim pompası en önemli olanlarıdır. SR Ca^{+2} -ATPaz pompası her ATP kullanımında iki Ca^{+2} iyonunu SR'a taşır. Sarkolemmal Na^+ - Ca^{+2} değişim pompası da her ATP kullanımında sadece bir Ca^{+2} molekülünü hücre dışına

taşıır. Bu yüzden sarkolemmal Ca^{+2} siklöstü, SR Ca^{+2} -ATPaz siklöstünden daha fazla enerji gerektirmektedir (38).



Şekil 3. Kontraksiyon oluşumu için Ca^{+2} gereksinimleri (38).

Sodyum- Ca^{+2} değişimi kalp kasında güçlü bir Ca^{+2} taşıma mekanizmasıdır. Ca^{+2} , un sitozolden hücre dışına çıkarıldığı temel mekanizmadır ve kalp gevşemesinin % 7-28'i Na^{+} - Ca^{+2} değişimi sebebiyle oluşur. Çoğunlukla lokalize olduğu yer transvers tubullerdir. Na^{+} - Ca^{+2} değişimi çift taraflı çalışan bir pompadır. Na^{+} - Ca^{+2} değişiminde iyonlarının akım yönü membranın her iki yanındaki Na^{+} ve Ca^{+2} iyon konsantrasyonlarına ve aynı zamanda aksiyon potansiyeline bağlıdır. Hücresin dinlenme halinde 3 Na^{+} iyonunu hücre içersine, 1 Ca^{+2} iyonunu hücre dışına pompalar. Na^{+} - Ca^{+2} değişim pompası membran potansiyelindeki değişimlere karşı da oldukça duyarlıdır. Depolarizasyon Na^{+} - Ca^{+2} değişimi yoluyla Ca^{+2} girişini artırır (40). Depolarizasyon sonucu hücre içersinde Na^{+} konsantrasyonu arttığı zaman bu pompa Na^{+} iyonunu hücre dışına, Ca^{+2} iyonunu ise hücre içine taşıyarak hücre içindeki Ca^{+2} konsantrasyonunu artırırken Na^{+} konsantrasyonunu azaltır. Hücre içindeki Na^{+} konsantrasyonu büyük oranda Na^{+} - K^{+} ATPaz tarafından kontrol edildiğinden, Na^{+} - K^{+} pompası Na^{+} - Ca^{+2} pompası için önemli bir regülatördür (41). Sodyum- Ca^{+2} değişimi

yoluyla Ca^{+2} giriş miktarı iki şekilde artırılabilir. Birincisi: intrasellüler Na^+ konsantrasyonu arttığı zaman (digitalis glikozitlerinin kullanılması halinde) ikincisi: SR Ca^{+2} salınımı inhibe edilirse artırılabilir. Sodyum- Ca^{+2} değişimi yoluyla Ca^{+2} girişinin SR Ca^{+2} salınımını başlattığını gösteren pek çok çalışma vardır (38, 40, 42).

Sodyum içermeyen solüsyonlarda da Na^+ - Ca^{+2} değişimi Na^+ iyonları dışarıya, Ca^{+2} iyonları içeriye şeklindedir. İntrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunun artması SR'dan artan Ca^{+2} salınımı ile sonuçlanır. Bunun sonucunda kontraksiyonun birinci fazında kuvvetli bir artış, yavaş Ca^{+2} kanalları yoluyla da ikinci fazda daha kuvvetli bir artış meydana gelir. Bu nedenle Na^+ içermeyen perfüzyonlarda 7-10 dakika sonra kontraksiyon gelişir (42). Sodyum kanalı yoluyla Na^+ girişi sitozolik Na^+ miktarını artırır. SR Ca^{+2} salınımını başlatmak için, Na^+ - Ca^{+2} değişimi yoluyla Ca^{+2} girişine neden olur (43, 44).

Sodyum- Ca^{+2} değişim pompasının aktivitesi başka bir çok mekanizma tarafından kontrol edilir. Asidoz bu pompayı inhibe ederken, alkaloz aktive eder. ATP'de meydana gelen azalma ise Na^+ - Ca^{+2} değişimini inhibe eder. Hem Ca^{+2} hem de Na^+ - Ca^{+2} değişimi ısıya duyarlıdır. Oda sıcaklığında Na^+ - Ca^{+2} değişimi önemli ölçüde azalır (41, 40). Sodyum- Ca^{+2} değişimi yoluyla giren Ca^{+2} miktarı L tipi kanalla girenden 1000 kat daha küçüktür (44).

Sarkolemmal Ca^{+2} -ATPaz pompası bir çok hücrenin plazma membranında bulunur. ATP nin hidrolizi sonucu açığa çıkan enerjiyi kullanarak Ca^{+2} iyonunu konsantrasyon yoğunluğunun çok olduğu hücre dışına pompalar (38). Sarkolemmal Ca^{+2} kanalları yoluyla giren Ca^{+2} , kontraksiyon aktivasyonunda ikinci haberci olarak işlev görür (44). Sarkolemmal Ca^{+2} kanallarından L tipi Ca^{+2} kanalı SR Ca^{+2} salınımı için en önemli kaynaktır (42). Bu kanaldan giren Ca^{+2} iyonlarının SR'den çok miktarda Ca^{+2} salınımına neden olduğu kalp kası uyarı-kontraksiyon ilişkisi üzerine çalışan araştırmacılar arasında en çok kabul edilen görüşdür (43). L tipi Ca^{+2} kanalları 1-4 dihidropiridin maddeleri için reseptör içerirler. Bu maddeler agonist veya antagonist olabilir. Bir antagonist madde olan nifedipin bu kanallara bağlanınca aktivitelerini bloke ederek Ca^{+2} iyonlarının bu kanallar yoluyla hücre içerisine girişini inhibe ederler (41).

Kobay ventrikül kasında Ca^{+2} salınımına yol açan diğer kaynak T tipi Ca^{+2} kanalıdır. Ca^{+2} iyonları şayet L tipi Ca^{+2} kanallarının bloke edilmesi veya Na^+ suz

ortamdan dolayı Na^+ - Ca^{+2} değişimi yoluyla hücre içine giremezse, o taktirde T tipi Ca^{+2} kanallarından doğrudan ya da tetratoksin (TTX) duyarlı Na^+ veya fosforile olan Na^+ kanalları yoluyla hücre içerisine girebilir (42, 43). T tipi Ca^{+2} kanalı ile kıyaslandığında L tipi Ca^{+2} kanalı daha pozitif membran potansiyelinde hem aktive hem de inaktive olur. Nifedipin tarafından bloke edilmeye daha duyarlıdır. T tipi Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} girişi daha az ve daha yavaştır. Bu yüzden SR Ca^{+2} salınımını başlatmada L tipi kanallar daha önemlidir. L tipi Ca^{+2} kanalların aktivasyonu ise protein fosforilasyonu tarafından düzenlenir (45).

Kalbin aksiyon potansiyeli sırasında L tipi Ca^{+2} kanalları -30 mV 'da aktive olurlar ve $+20 \text{ mV}$ 'da maksimuma ulaşırlar (43). Ca^{+2} bu kanallar yoluyla içeri girer. Aynı zamanda Na^+ - Ca^{+2} değişimi yoluyla da çok az miktarda Ca^{+2} hücre içerisine girer. Hücre içine L tipi Ca^{+2} kanalları ve Na^+ - Ca^{+2} değişimi ile giren Ca^{+2} , SR'deki Ca^{+2} salınımını sağlayan kanallardaki ryanodin reseptörlerine bağlanır. Ryanodin reseptörleri kendi moleküler çevresindeki Ca^{+2} tarafından aktive edilir (42). SR'den Ca^{+2} salınım aktivasyonu -60 mV 'da başlar. Aktivasyon sarkoplazmik retikulumdan fazla miktarda Ca^{2+} salınımına neden olur. Bu kanallar Ca^{+2} 'un mikromolar konsantrasyonuna maruz kalınca açılırlar (42, 46). Memeli kalbinde kontraksiyonu aktive eden Ca^{+2} 'un çoğu ryanodin reseptörleri yoluyla SR dan salınır (42). SR Ca^{+2} salınım hızı 25°C 'de 5 ms ve 35°C 'de $2-3 \text{ ms}$ 'dir. SR Ca^{+2} salınımı Ca^{+2} girişi üzerinde negatif feedback etkiye sahiptir (38). Ayrıca kafein de bu kanalları açarak Ca^{+2} salınımına neden olur ve intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunda artış oluşturur. Fonksiyonel olarak en önemli sitozolik Ca^{+2} tamponlarından birisi kalın filament troponin C (TnC) proteindir (33). Ca^{+2} SR'den salınınca TnC'ye bağlanır. Oluşan bir takım konformasyonel değişiklikler sonucu aktin ile miyozin kontraksiyon işlevini yürütür (41). Gevşeme ve diastolik dolum dönemlerinde ise TnC'den Ca^{+2} ayrılır, kontraksiyon işlemi sona erer. Ancak miyofilamentlerin Ca^{+2} 'a olan duyarlığı düşük pH, azalan sarkomer uzunluğu, Troponin I'nın fosforilasyonu gibi durumlarda protein kinaz A (PKA) tarafından azaltılabilir (38).

Kalp kası kontraksiyonu -60 mV civarında gelişmeye başlar ve 0 mV 'da maksimuma erişir. Fakat daha güçlü kontraksiyonlar $+50$, $+60 \text{ mV}$ 'da gerçekleşir (40). Bir kalp kası hücresinde diastolden başlamak üzere kontraksiyonun maksimal seviyede gerçekleşebilmesi için $150 \mu\text{mol/L}$ serbest Ca^{+2} 'a ihtiyaç vardır (38).

Tavşan, kobay, gelincik ve insanlarda ventriküler hücrelerdeki aktivatör Ca^{+2} 'un % 70'i SR Ca^{+2} -ATPaz pompası tarafından sitozolden SR'a taşınır. Geriye kalan % 28'i sarkolemmal Na^{+} - Ca^{+2} değişimi ile, % 1'i ise sarkolemmal Ca^{+2} -ATPaz pompası ve mitokondriyel Ca^{+2} taşıyıcı pompası tarafından uzaklaştırılır. Rat ventriküler miyozitinde ise daha fazla SR Ca^{+2} -ATPaz pompa molekülünün bulunması nedeniyle % 92'si SR Ca^{+2} -ATPaz pompası, %7'si sarkolemmal Na^{+} - Ca^{+2} değişimi, %1'i sarkolemmal Ca^{+2} -ATPaz pompası ve mitokondriyel Ca^{+2} taşıyıcı pompası ile hücre dışına taşınır (38).

Tavşan, kobay ve insanlarda aktivator Ca^{+2} 'un %28'i Na^{+} - Ca^{+2} değişimi tarafından sitozolden hücre dışına taşındığına göre, her bir kalp atımında aynı miktar Ca^{+2} 'un hücre içerisine girişi olmalı. Sarkolemmal Ca^{+2} kanalları (L ve T tipi) yoluyla % 23 ($\sim 10 \mu\text{mol/L}$), SR Ca^{+2} salınımı yoluyla da %77 ($\sim 37 \mu\text{mol/L}$) oranında sitozole Ca^{+2} girişi olur (38).

SR Ca^{+2} yüklenimi, artan Ca^{+2} girişi veya azalan Ca^{+2} çıkışı ile artırılır. Maximum SR Ca^{+2} kapasitesi fizyolojik şartlar altında $\sim 100 \mu\text{mol/L}$ dir. Bu miktar aktivasyon için ihtiyaç duyulan miktarın iki katıdır. Soğuk ($\sim 0^{\circ}\text{C}$) bir yandan Ca^{+2} pompalanmasını inhibe ederken diğer yandan hızla SR Ca^{+2} depolarını boşaltır (38).

Dinlenme anında hücre içindeki Ca^{+2} iyonunun % 75'i Na^{+} - Ca^{+2} değişimi, % 25 i ise sarkolemmal Ca^{+2} -ATPaz pompası ile dışarıya taşınır. Bu nedenle Ca^{+2} -ATPaz, Ca^{+2} iyonunun hücre dışına atılması için önemli olmasına rağmen Na^{+} - Ca^{+2} değişimi ile kıyaslandığında etkisi azdır (41).

2.5. Kalp Yetmezliği

2.5.1. Kalp yetmezliğinin epidemiyolojisi

Kalp yetmezliği; kalbin, vücudun gereksinimini karşılamaya yetecek miktarda kanı pompalama yetersizliğidir (47). Neden ise çoğunlukla azalmış koroner kan akımı sonucu myokart kontraktilitesinin (kontraksiyon yeteneğinin) azalmasıdır (22, 48). Kalp yetmezliği; koroner arter hastalığı, hipertansiyon, valvüler hastalık, aşırı miktarda alkol kullanımı ve viral enfeksiyon gibi pek çok hastalığın sebep olduğu hasarın sonucu olarak ortaya çıkar. Bütün bunlara ek olarak diabetes mellitus, yüksek kolesterol oranı,

sigara içme alışkanlığı kalp yetmezliğine neden olan diğer risk faktörleridir (2). Batı ülkelerinde kalp yetmezliğinin en yaygın sebebi (erkeklerde % 60, kadınlarda % 50) iskemik kalp hastalığı (koroner arter hastalığı) iken, gelişmekte olan ülkelerde valvüler ve beslenme yetersizliği, mineral (demir, selenyum, bakır) eksiklikleridir (2, 47). Koroner arter hastalığının bu kadar yaygın olmasının sebebi; daha fazla yağ alımı, daha az egzersiz, sigara içme alışkanlığının yüksek yaygınlığı ile karakterize yaşam tarzıdır (1, 2).

2.5.2. Kalp yetmezliğinin etkileri

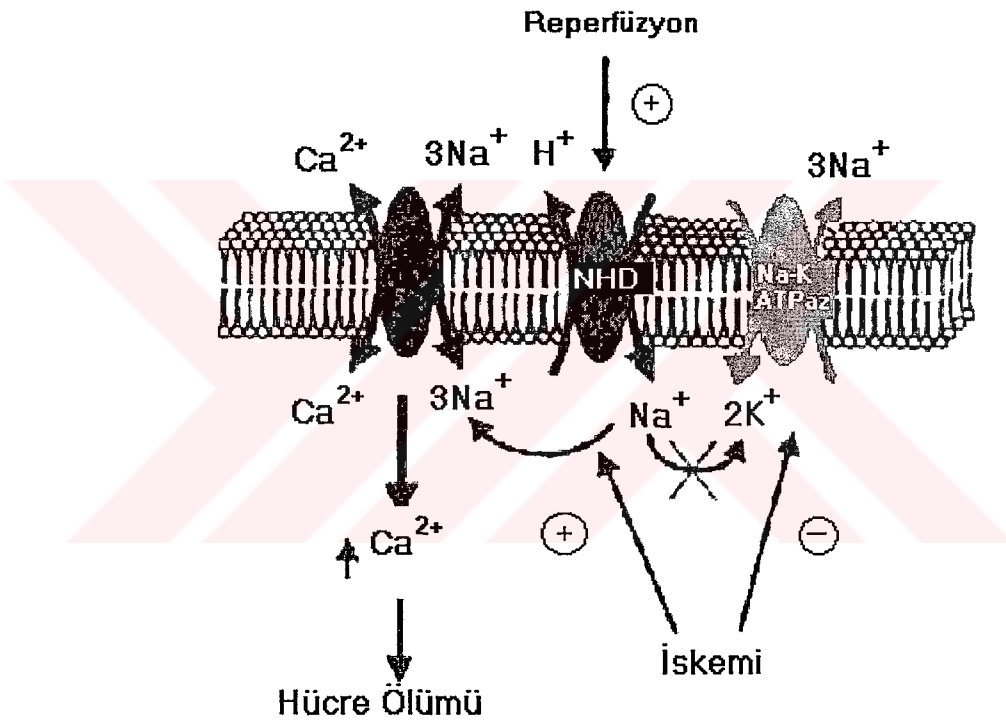
Kalp yetersizliği, kalp debisinde azalma ve sistemik venöz basıncın artmasından dolayı kalbin sağ veya sol atriumlarına açılan venlerde göllenme ile ortaya çıkar (22) ve öksürük, ödem ve sık nefes alıp verme ile kendisini belli eder (47). Zayıflayan kontraktilite vurum hacmini azaltır ve konjestif kalp yetmezliğine neden olur. Atrio-ventriküler kapaklar (mitral ve trikuspid kapaklar) fizyolojik şartlarda ventriküllerin güçlü kontraksiyonları sırasında kanın atriumlara geri kaçışını engeller. Ancak kapak fonksiyonunda yetersizlik olduğu zaman kanın geriye kaçışına engel olunamaz. Bu durum birbirini takip eden olaylar zincirini başlatır. Atriumlara bir sonraki akım miktarında azalma, buna bağlı olarak vurum hacminde azalma, sonuçta kalp debisinde normalin üçte ikisi, ilerleyen olgularda ise üçte bire kadar azalma görülür. Düşük kalp debisi böbrek fonksiyonu üzerine önemli bir etkiye sahiptir. Böbrek kan akımında azalma idrar çıkarılmasında azalmaya neden olur. Bazen idrarla çıkarılan su ve tuz miktarı vücuda alınandan daha az olur. Böylece sıvı retensiyonu ve kan volümünde artma başlar. Diğer taraftan geriye kaçış nedeniyle vena kavalarda konjesyon, akciğerlerde ve tüm vücutta ciddi bir ödem (ascites) oluşur (22, 47).

2.5.3. Kalp yetmezliğinin hücresel mekanizması

Kalp yetmezliğinin gelişmesine ve ilerlemesine yol açan faktörler henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak bu hastalığın anlaşılması ve tedavisi yolundaki büyük ilerlemeler, kalp kasının normal ve patolojik durumlardaki kontraksiyonlarını oluşturan temel mekanizmalar hakkındaki bilgilerin artmasıyla sağlanmıştır (Şekil 4). Bozulan Ca^{+2} homeostazisi yüzünden myozit hipertrofisi, miyozit disfonksiyonu, miyofilament

Ca^{+2} duyarlılığında azalma, myokardial fibröz, kardiyomyositin ilerleyici kaybı bilinen faktörlerden bazılarıdır (49).

Kalp yetmezliğinde en önemli biyokimyasal değişiklik aktinomyozin-ATP az aktivitesindeki azalmadır. Bu enzim kontraksiyon için gerekli olan ATP nin parçalanmasından sorumludur. Bu enzim aktivasyonunda azalma aktin-miyozin arasındaki etkileşmeyi azaltarak kontraktıl güç ve hızın azalmasına neden olur. Kalp yetmezliği görülen bir çok hayvan modelinde kalp kasının normal hızla kısalma yeteneğinin azaldığı belirlenmiştir (34).



Şekil 4. Kalp yetmezliği oluşumunun hücresel mekanizması (50).

Yine yetersiz kalpte, SR tarafından Ca^{+2} bağlama yeteneğinde azalma, SR Ca^{+2} depolarının azalmasına, sarkoplazma Ca^{+2} seviyesinde düşmeye, sonuç olarak kontraktılitenin azalmasına neden olur (34).

Kardiyomyopatili koyalarda kontraksiyon gücün azalmasına neden olan bir başka faktör ATP'yi cAMP'ye çeviren adenilsiklaz aktivitesinde azalmadır. Zira cAMP

hem Ca^{+2} kanallarının fosforilasyon aktivasyonunu uyarır ve hem de miyofilamentlerde Ca^{+2} artırarak kontraktilite artışına neden olur (34).

İskeminin başlamasıyla birlikte kalp kası hücrelerinde ATP kaynağı olan glikoliz olayının son ürünü olarak doku laktatı oluşur. Sitrik asit siklüsünün, iskemik depresyonu yüzünden laktat ileri metabolize olamaz. Sonuçta kalp kası hücrelerinde, kalp kası dokusunda, koroner venöz kanda artan oranda laktat bulunur. Bunun sonucunda asidoz şekillenir (34). Asidoz; kalp kası hücresinde depolarizasyon sonrası bozulan iyon dengesinin tekrar kurulmasını sağlayan Na^+ -K⁺ ATPaz pompasını ve kontraksiyon olayının normal başlama yolu olan intrasellüler Ca^{+2} seviyesini artıran Na^+ - Ca^{+2} değişimini inhibe eder (22, 41, 50).

Sodyum- H^+ değişimi iskemi süresince intrasellüler asidoza karşı kalbin adaptasyonunu sağlayan temel mekanizmadır. Reperfüzyondan sonra asidozdan iyileşmeyi sağlar. İskemi süresince Na^+ çıkışını sınırlandıran, dolayısıyla intrasellüler Na^+ konsantrasyonunu yükselten Na^+ -K⁺ ATPaz pompası inhibe edilir. İntrasellüler pH düzenlenmesi dört membran proteinine bağlıdır. Sodyum- H^+ değişimi ve Na^+ - HCO_3^- değişimi asidoz sonrası aktive edilirler. İntrasellüler alkaloz tarafından uyarılan Cl^- - HCO_3^- ve Cl^- - OH^- değişimleri ise asit girişini sağlayan proteinlerdir. İskemik myocardiumda Na^+ - H^+ değişiminin aktivasyonu için gerekli faktörler şunlardan oluşur; intrasellüler asidoz, Na^+ -K⁺ ATP az inhibisyonu, hormonal, parakrin ve otokrin faktörler kardiyotoksik iskemik metabolitlerdir (hidrojen peroksit, lisofosfotidilkolin, endotelin-1 (50).

Endotelin-1 iskemi süresince artan sistolik, diastolik anormalliklere neden olarak myocardium üzerine zararlı etkileri olan, hem de kuvvetli pozitif inotropik etkisi olan Na^+ - H^+ değişiminin güçlü bir aktivatörüdür (50). Hidrojen peroksit, lisofosfotidilkolin, endotelin-1 gibi kardiyotoksik iskemik metabolitler fosfoinozitol (PI) hidrolizine yol açar. Oluşan fosfoinozitol 4,5-bifosfat (PIP_2) hücre membranının iç yüzünde bulunan ve aktifleşen fosfolipaz C (PLC) tarafından ikinci haberci diasil gliserol (DAG) ve inozitol -1,4,5, trifosfat'a (IP_3) parçalanır. DAG hücre membranında kalır ve protein kinaz C'yi aktifleştirerek fosforilasyona neden olur. Oluşan fosforilasyon da Na^+ - H^+ değişimini aktifleştirir. IP_3 ise SR Ca^{+2} depolarını ve kalmoduline bağlı Ca^{+2} 'ları boşaltır. Artan intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonu Na^+ - H^+ değişimi aktivasyonunu başlatır (33, 50, 51).

Aktive olan $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ değişimi hücre dışına H^+ iyonunu  kartarak bir yandan hücre pH'sını artırır ve asidozu düzeltir. Diğer taraftan hücre içerisine Na^+ girişine neden olarak Na^+ miktarının artmasına ve $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ değişiminin tersine çevrilmesine neden olur. $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ değişimi 3 Na^+ iyonunun dışarıya çıkışı, buna karşın 2 Ca^{+2} iyonunun içeriye girişi ile intrasellüler Ca^{+2} seviyesi artırılır (50).

2.5.4. Kalp yetmezliğinde vücudun adaptasyon yeteneği

Kalp debisi tehlikeli bir düzeye indiği zaman, vücut tutarlı bir şekilde kardiyak verimdeki bu azalmaya tepki gösterir. Arteriyel basıncın azalması, arterlerin duvarında serpinti tarzında yerleşmiş sinir sonlanmaları olan baroreseptör refleksini uyarır. Böylece parasempatik tonusta ani azalma, buna karşın sempatik sinir sisteminde aktivasyon olur. Bu değişiklik kalp frekansı ve kontraktilitesi ile arteriyol ve venlerin daralmasında ani artış ile sonuçlanır (22). Renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonuna iki yoldan sebep olunur.

Yükselen sempatik tonus böbreklerde β adrenoreseptör stimulasyonunu artırır. Azalan kan basıncı böbrek vasküler dokularında baroreseptör mekanizmasını uyarır ve böylece renin salgılanması başlar (22, 47, 52).

Renin; inaktif formda prorenin olarak böbreklerin jugstaglomer lar hücrelerince, az miktarda da damar endotelinde sentezlenir (22, 52). Renin küçük, protein yapısında bir enzim olup, arter basıncı çok düştüğünde böbreklerden serbestlenir. Dolaşıma giren renin bir plazma proteini olan anjiyotensinojen üzerine enzimatik olarak etki ederek anjiyotensin I'e dönüştürür. Anjiyotensin I pulmoner arterlerin endotelinde yüksek düzeyde bulunan çevirici enzim tarafından iki aminoasitini kaybederek 8 aminoasitli Anjiyotensin II formuna dönüşür. Bu dönüşüm kanın pulmoner arterlerden geçtiği birkaç saniye içinde gerçekleşir (22, 47).

Anjiyotensin II g   l  bir vazokonstriktör maddedir. Dolaşımda kaldığı süre içerisinde kan basıncını iki farklı yolla artırır.

1- Vazokonstriksiyon; Arterlerde daha g   l , venlerde ise daha az oranda olur. Arteriyollerin kontraksiyonu periferik direnci artırarak basıncı yükseltir. Venlerde meydana gelen orta dereceli kontraksiyon ise kalbe venöz dönüşü artırarak, kalbin yükselen basın a karşı pompalama gücünü artırır.

2- Adrenal korteksten aldosteron salınımına neden olur. Bu hormon da böbrek tubuluslarından su ve tuz geri Emilimini artırır. Böylece ekstraselüler sıvı yavaş yavaş artarak saatler ve günler içerisinde kan basıncını yükseltir (22, 47, 52).

Kısa dönemde bu kompenzator mekanizmalar faydalıdır ve sıvı volümünü ile kan basıncını düzeltmeye yardım eder. Ancak kronik durumlarda kardiyo-vaskuler sistemde uyum bozukluklarına neden olur. Aldosteron çok etkili bir kaliüretikdir hipokalemiye neden olarak ventriküler aritmilere zemin hazırlar (51). Bu yüzden Anjiotensini II'yi inhibe eden herhangi bir madde kalp yetmezliğinin tedavisinde en önemli rolü oynar. Örneğin anjiotensin çevirici enzim inhibitörleri tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (52). Sempatik sinir sisteminin aktivasyonu myokardial O_2 talebini artırır. Bu durum kalbi aritmilere predispoze kılarak myokardial hasara yol açabilir. Devamlı Na^+ ve su retensiyonu ise pulmoner ödemin gelişmesini hızlandırır. Kronik vazokonstriksiyon kalp üzerine ek yük getirdiği için kalp verimini azaltır (45).

2.5.5. Kalp yetmezliğinin tedavisi

Koroner kalp hastalığının konjestif kalp yetmezliğinin yaygın bir sebebi olduğu, pozitif inotropik etkili ilaçların kullanımı ile bu hastalığın tedavi edilebileceği bildirilmektedir (53). Hastalığın zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için de medikal tedavi uygulanır. Bu etkiler pulmoner konjesyon ve ödem, kardiak aritmiler, azalan kardiak verim ve aşırı vazokonstriksiyondur. Spesifik ilaçlara bu komplikasyonların her birini ortadan kaldırmak için ihtiyaç duyulabilir (47). Artan sempatik aktiviteyi azaltmak için β antagonistler ve sempatolitikler bazı hastalarda faydalıdır. Anjiotensin çevirici enzim inhibitörleri tedavide oldukça etkilidir (2).

Diyet: Na^+ kısıtlı diyet tavsiye edilir (47).

Diüretikler: Renal fonksiyonu artırma yoluyla dolaşımdaki kan volümünü azaltırlar. Pulmoner ödemli hastaların tedavisine asıl dayanak olan ilaçlardır (47, 51).

Vazodilatörler: Venöz kapasiteyi artırır ve kanı göğüs bölgesinden uzaklaştırarak kronik kalp yetmezliklerinde aşırı vazokonstriktör sonucu kalp üzerine binen yükü azaltarak yaşam süresinin uzamasını sağlarlar (47, 51).

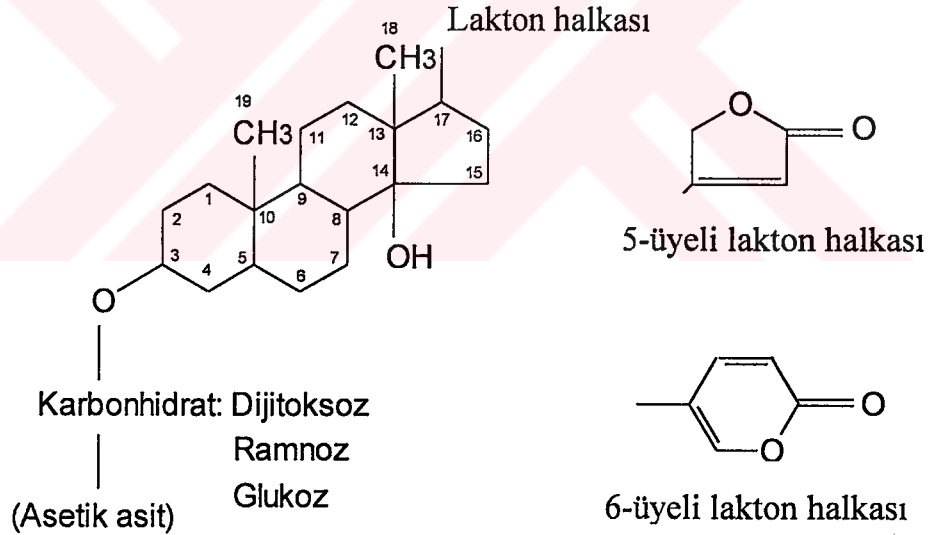
Kontraktilite, biyolojik maddelerin önceden ve sonradan verilmesiyle kalpte oluşan performanstır (54). Bu ajanlar cAMP konsantrasyon artışı (sentezinin

kamçılanması veya konsantrasyon azalmasının inhibisyonu ile), $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz pompasının inhibisyonu veya Ca^{+2} duyarlılığındaki artış ve Na^+ kanallarının aktivasyonunun uzamasına yol açarak kontraksiyon gücünü artıran etkiye sahiptirler. Fakat bu tür ilaçların güvenilirlik durumları henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Pozitif inotropik etkili ilaçlar ile tedavi edilen hastalarda ATP duyarlı Na^+/K^+ pompası inhibe edilir (2, 47).

2.6. Pozitif İnotropik Etkili Ajanlar

Kalbin kontraksiyon gücünü artıran ajanlara pozitif inotropik ajanlar adı verilir (53). Bu ajanlar kalp kontraktilesini artırır. Miyokardiyal fonksiyon (özellikle kontraktile) zayıflatıldığı zaman kullanılır (45).

2.6.1. Kalp glikozitleri ve digoksin



Şekil 5. Kalp glikozitlerinin kimyasal yapıları (55).

Kalp glikozitleri kalp kasının kontraksiyon gücünü doza bağlı olarak artıran ajanlardır (56). Digitalis glikozitler en sık kullanılan pozitif inotropik etkili ajanlardır ve bitkisel kökenlidirler (47, 57). Bu ajanların ilk kullanımı 12. yüzyılda ergüvani yüksük otu yapraklarının (*Digitalis purpurea*) epilepsi, baş ağrısı, nemfomani gibi çeşitli

hastalıklarda kullanılmasıyla başlamıştır. Ancak digitalislerden faydalanmanın sistematik tanımlamasını ve digitalislerin en büyük fonksiyonlarının kalp kası üzerine olduğunu 1785'te yazdığı bir makalede yayınlayan William Withering oldu (58, 59). Digitalislerin pozitif inotropik etkileri ise 1920 sonlarında belirlenmiştir (58). İki yüz yıldan daha uzun zamandan beri de kalp yetmezliğinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan ajanlardır (2, 58). Bütün bunlara rağmen yirminci yüzyıl boyunca da bu sınıf ilaçların hem etkinliği hem de güvenirliliği tartışma konusu olmaya devam etmiştir (58, 60).

Kalp kasının kontraksiyonu intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonundaki artışla başlatılır (59). Digitalis glikozitleri intrasellüler Ca^{+2} seviyesini yükselterek kalbin kontraksiyon gücünü artırır (38, 47, 59). Etkilerini hem nöral hem de direkt yolla gösterirler. Kalbin farklı bölümlerindeki hücreler digitalislere farklı duyarlılıklar gösterirler (58). Kalp glikozitlerinin kalp kası üzerindeki etkilerinin şekillenmesinde, hücre zarı iyon değişimi ve kontraktıl proteinler üzerindeki etkinliklerinin büyük payı vardır (18, 60). Bu mekanizmayı şu şekilde özetleyebiliriz. Kalp kası hücresinin depolarizasyonu sırasında zarın, Na^{+} yanında, Ca^{+2} 'a karşı da geçirgenliği artar. Ayrıca zarın depolarizasyon olayı, transversal tubuller aracılığıyla, sarkotubuler sisteminden Ca^{+2} 'un açığa çıkmasını artırır (60). Digitalisler uyarılabilir hücre membranındaki Na^{+} - K^{+} ATPaz pompasını düşük konsantrasyonlarda inhibe ederek depolarizasyon sırasında hücre içine giren Na^{+} 'un hücre dışına ve hücre dışına çıkan K^{+} 'un hücre içine aktif transportunu engellerler ve sonuçta miyokart ve diğer uyarılabilir hücrelerde Na^{+} yoğunluğunun artmasına potasyum yoğunluğunun ise azalmasına sebep olurlar (40, 60). İntasellüler sıvıda bu şekilde Na^{+} yoğunluğunun artması sarkolemmal membran yoluyla ters Na^{+} - Ca^{+2} değişimini aktive ederek intrasellüler Ca^{+2} yoğunluğunu artırır (2, 16, 58). Kalp glikozitleri diğer taraftan SR kanallarını aktive ederek intrasellüler Ca^{+2} seviyesini yükseltirler (48). Böylece ortamdaki Ca^{+2} uyarı kontraksiyon işlevini sağlar. Sonuç olarak kardiyak sistol süresince sarkomer uzunluğunu artırarak kalp kasının kontraksiyon gücünü artırır (2, 45, 48). Kontraksiyon anında, oksidasyon sırasında meydana gelen kalorik enerji mekanik enerjiye dönüşür. Enerji kaynağını diğer dokularda olduğu gibi, ATP ve kreatin fosfat oluşturur (61). Yetersiz kalp yüksek enerjili fosfatlara bağlı olan enerjiyi kullanamaz. Aktin ve miyozinden oluşan aktino-miyozin'in kontraksiyonu ise ATP tarafından sağlanır. Kalp glikozitleri ATP nin bu kontraktıl proteinler (aktino-miyozin) tarafından kullanımını artırarak aktin ve miyozin

arasında köprü oluşumunu kolaylaştırır ve aktino-miyozin liflerinin kontraksiyon gücü ve hızını artırır. Bu kalp kasının daha fazla glukoz kullanımını ve dolayısıyla glikolitik ve oksidatif etkinliğini artırır (59, 62). Bunun sonucu olarak kalp kası hücrelerine karbonhidrat aktarımı kolaylaştırır ve tüketim oranı artar (62).

Kalp glikozitleri kontraksiyon (depolarizasyon) sonrası SR Ca^{+2} yüklenimini artırır (59). ATP duyarlı K^{+} kanallarının aktivasyonu digoksinin pozitif inotropik etkisini artıran bir diğer faktördür (17, 40, 63). Çok sayıda kalp glikozit'i olmasına rağmen digoksin kalp yetmezliğinin tedavisinde en yaygın kullanılan digitalis glikozitidir (17, 47, 58). SR Ca^{+2} salıcı kanalının aktivasyonu digoksinin pozitif inotropik etkisini uzatır (48). Digoksin nörohormonal etkiye sahiptir. Kalp kontraktilesinde ılımlı bir artışa sebep olan intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunu artırır (38, 47). Tedavi dozunda kullanıldığında "pacemaker" uyarı oluşum otomasyonunu yavaşlatır, maksimum diastol potansiyelini artırır. Sistol süresini kısaltıp diyastol süresini uzatarak diyastol esnasında ventriküllerin daha fazla dolmasını sağlar ve kalp yetmezliklerinde kalbin atım hacmini ve debisini artırır. Sistolden sonra ventrikül içerisinde kalan sistol sonu kan miktarını ve diyastol sonu kan basıncını azaltır. Bunun sonucu olarak venöz dönüşümdeki kan miktarını ve kapillerlerdeki hidrostatik basıncı azalttıklarından ödemi ortadan kaldırır. Digoksin etkisi çabuk fakat kısa sürelidir (17).

Ciddi kalp yetmezliği bulunan hastalarda bir kalp glikoziti periferel kan akımını, kardiyak indeksi ve azalan kalp frekansını artırır (2). Kronik kalp yetmezliğinde digitalisler plazma aldosteron miktarında azalmayla birlikte aynı zamanda plazma renin aktivitesini de azaltır. Bu kısmen artan kardiyak verim, böbrekler üzerine direkt etkileri, sempatik sistemin inhibisyonu, ve/veya atrial natriüretikpeptit (ANP) salgılanması sebebiyle olabilir (2, 58). ANP vazokonstriksiyona neden olan anjiyotensin II antagonistidir ve konjestif kalp yetmezliği hastalarının prognozu için önemli bir markıdır (2, 52). Ekstrasellüler Na^{+} da artma olduğunda atriumların sekresyon granüllerinden salgılanarak dolaşıma geçerler. Burada renin ve aldosteron salınımına engel olarak etkilerini gösterirler. Böylece vazokonstriksiyon ve Na^{+} retensiyonunu azaltırlar. Kalp yetmezliği durumlarında ANP seviyesi yüksektir (52).

2.6.1.1. Digoksin'in toksik etkisi

Digitalisler tedavi dozunda pozitif inotropik etkiye sahip olmalarına karşın yüksek dozlarda aritmojenik etkiye sahiptirler (58). Anormal pacemaker aktivitesinden dolayı ventriküler aritmilere sebep olur (59). Bu yüzden çok dar terapötik indeks (0,5-1,5 ng/ml) aralığında kullanılırlar (48, 58). İskemik durum digoksin'in kalbe olan toksitesini artıran predispoze faktördür (48). Elektrolit dengesizliği özellikle de hipokalemi digitalislerin toksitesini artıran bir diğer faktördür (47). Digitalis toksitesi aşırı derecede intrasellüler Ca^{+2} artışına yol açan büyük miktarda $Na^{+}-K^{+}$ pompa inhibisyonu sonucu oluşur (2). Digitalis yüksek dozlarda geciken kalp bloğunun değişen derecelerine neden olan atrioventriküler düğümü etkileyebilir. Ciddi konjestif kalp yetmezliği bulunan hastalarda mortalite riski üzerine digoksinin etkisi diğer digoksin uygulanmayan hastalara göre daha kuvvetlidir (64). Digoksin'in toksisite riskini en aza indirecek, diğer taraftan en etkin yükleme dozuna karar verebilmek güçtür. Kalp glikozitleri tedavisinden en çok faydalanan hastalar bu ilaçların toksik etkilerinin görünmesinde en büyük riski taşıyanlardır (58). Yüksek dozdaki toksisitesi kalpte ventriküler fibrilasyona sebep olarak ölüme yol açabilir (17). İşte bütün bu sebeplerden dolayı kalp glikozitlerinin etkisi ve güvenirliliğine yönelik tartışmalar hala devam etmekte ve bilim adamlarını aktivitesi daha güçlü, etki süresi daha uzun, toksitesi son derece düşük alternatif pozitif inotropik etkili ajanlar araştırmaya yönlendirmektedir (58, 64).

2.6.2. İyonoforlar

Pressman ve ark. (65) 1964 yılında mitokondri ve diğer membran sistemlerinde alkali iyon geçirgenliğine neden olan antibiyotiklerin bir sınıfını rapor etmişlerdir. Bu antibiyotikler membran lipit fazında çözünebilir bir bileşik olarak lipit bariyerleri arasında iyonları taşımak için iyonofor (iyon taşıyıcıları) olarak fonksiyon yapan bileşiklerdir (21, 65, 66).

Belirli katyonlar ile yağda çözünebilir kompleksler oluşturan ve biyolojik membranlar arasında onların taşınımını kolaylaştıran bileşiklere iyonoforlar denir. İyonoforlar afinite özellikleri ve katyonlar için bağlanma seçicilikleri yönünden birbirlerinden ayrılırlar (67).

İyonoforların kullanılma amaçları şunlardır.

a) Kanatlı ve ruminantlarda koksidiyoz enfeksiyonlarının tedavisinde (54, 66, 68).

b) Ruminantlarda enerji metabolizmasının etkinlik derecesini artırmak amacıyla (66, 68, 69). Hayvanlar için iyonoforlu beslemenin faydalı etkileri iyon taşınımını ustalıkla yönlendirmeleri sayesindedir (54).

c) Laktik aside bağlı kronik asidoz, timpani gibi bazı beslenme bozukluklarını tedavi amacıyla (66, 68).

İyonoforlar hücrenin plazma membranındaki lipit tabakasından kolayca geçebildikleri için bazı iyonların plazma membranından taşınmasını sağlarlar. İntrasellüler Na^+ miktarını ve Na^+/K^+ aktivitesini yükselterek P, Ca^{+2} , Zn ve Se emilimini artırır (68). İyonoforların vücuttaki bazı biyolojik fonksiyonların araştırılması ve hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılması çok eskilere dayanmasına rağmen, ekonomik önemleri 1967 yılında monensinin keşfedilmesi ile artmıştır. Monensin'in tavuk koksidiyoz enfeksiyonunun tedavisinde etkili olduğu ortaya konmuş ve daha sonra da kanatlı koksidiyoz enfeksiyonunun tedavisinde geniş olarak kullanılmaya başlanmıştır (66, 70). Bu tarihten sonra iyonoforların ruminantlarda, özellikle de sığırlarda besin dönüşümünü geliştirebildiği keşfedilmiştir. Bugün bilinen yüzden fazla iyonofor rapor edilmekte, bunlardan üçü; monensin, laccalosisid, salinomycin lisanslı ve yaygın olarak ticari amaçlı kullanımdadırlar. Monensin lisanslı olanların içerisinde en yaygın kullanımda olanıdır (66).

2.7. Monensin

Sığır ve kanatlılarda koksidiyoz enfeksiyonlarına karşı etkili olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (68). Polieter karboksilik iyonofor ailesinin bir üyesidir. Biyolojik membranlarda tercih edilen Na^+ iyon taşıyıcısı olarak bilinir (68, 71, 72). Bugüne kadar pek çok monensin türü tanımlanmıştır. Monensin A ve spesifik olarak monensin A'nın Na^+ tuzu (bundan sonra basit olarak monensin olarak tanımlanacak) *Streptomyces cinnamonensis*'den elde edilmiştir. Saf monensin organik çözücülerde çözülebilen beyaz bir tozdur (66, 68, 69, 72). Sütten kesilmiş ve rumeni gelişmiş

buzaağı, dana, sığır ve kuzularda gelişmeyi artırmak amacıyla “Rumensin” ticari ismiyle satılmaktadır (68, 69).

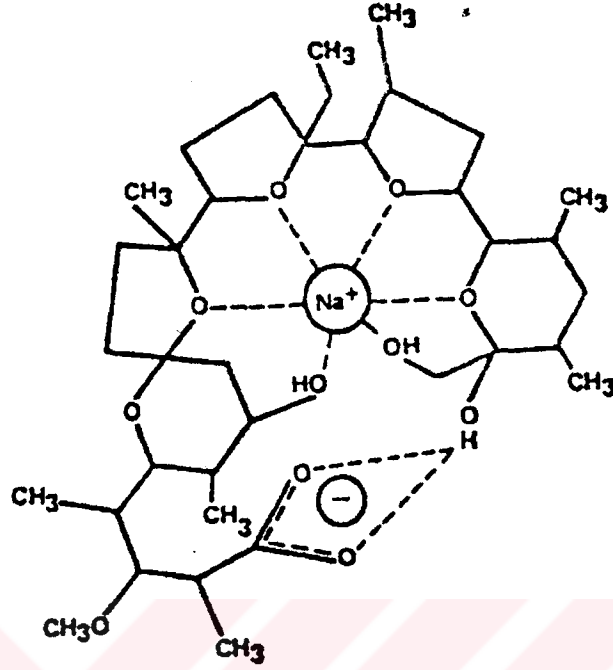
Son yıllarda hücre biyolojisi ile biyokimyasının değişik sahalarında monovalan iyonoforlarının kullanımında özellikle Na^+ iyonoforu olan monensinden büyük çapta faydalanılmaktadır (66, 73). Monensin, Na^+ ’a karşı seçiciliği olan bir antibiyotik olup, antiprotozoer ve antibakteriyel özelliği yanında verim etkinliği veya kazanç artış oranı amacıyla ruminant diyetlerinde yaygın olarak kullanılan iyonofordur (66, 67, 68). Potasyum ile kıyaslandığında Na^+ ile on kat daha kuvvetli bağlanma özelliğine sahiptir. Fakat divalent iyonları bağlamaz. İzole edilen hücrelerde iyonoforlar intrasellüler Na^+ yoğunluğunu artırır (54, 65).

Gastrointestinal bölgede Na^+ akışı ve Na^+ - K^+ ATPaz pompa aktivitesindeki artış emilim miktarını etkileyebilir. Çünkü çoğu besin maddelerinin taşınımı Na^+ transportu ve Na^+ - K^+ ATP az pompasından sağlanan enerji ile sağlanır (67). Monensin başlıca Na^+ - H^+ değişimini başlatır (65). Monensinin avantajları arasında minimum seviyede yan etkileri ve reversibl aksiyon oluşturma sayılabilir (65, 68).

Monensin hem kümes hayvanlarında ve hem de ruminantlarda et veriminin artışında kıymetli ve etkilidir. Kümes hayvanlarında bu verimlilik artışı koksidiyoz kontrolü ile elde edilir (65, 74). Ruminantlardaki artış çeşitli faktörlerin sonucu olarak görölmektedir (65). Bunlardan birincisi koksidiyoz kontrolü, ikincisi rumen mikroflorasının değiştirilmesi, üçüncüsü de rumendeki rasyon proteininin yükseltilmesi ile gerçekleştirilir (65, 68, 74). Monensin kedilerde *Toksoplazma gandi*’nin intestinal gelişim döneminde oldukça etkilidir (72).

2.7.1. Monensin’in kimyasal yapısı

Monensin karboksil ve hidroksil gruplar arasında stabilleşen, siklik form yoluyla iyon bileşimi yeteneğinde olan bir açık zincir moleküldür (Şekil 6). Diğer karboksilik iyonoforlar gibi bağlanma yerleri sayesinde metal iyonlar bağlar. Monensin’in kimyasal yapısında oksijen ve alkil grupları vardır. Oksijen grupları yapının orta kısmında bulunur ve uygun bir iyonu (Na^+) bağlamakla görevlidirler. Alkil grupları ise yapının dış kısmına yayılmıştır ve monensinin biyolojik membranlardan kolayca geçmesini sağlar (65, 70).

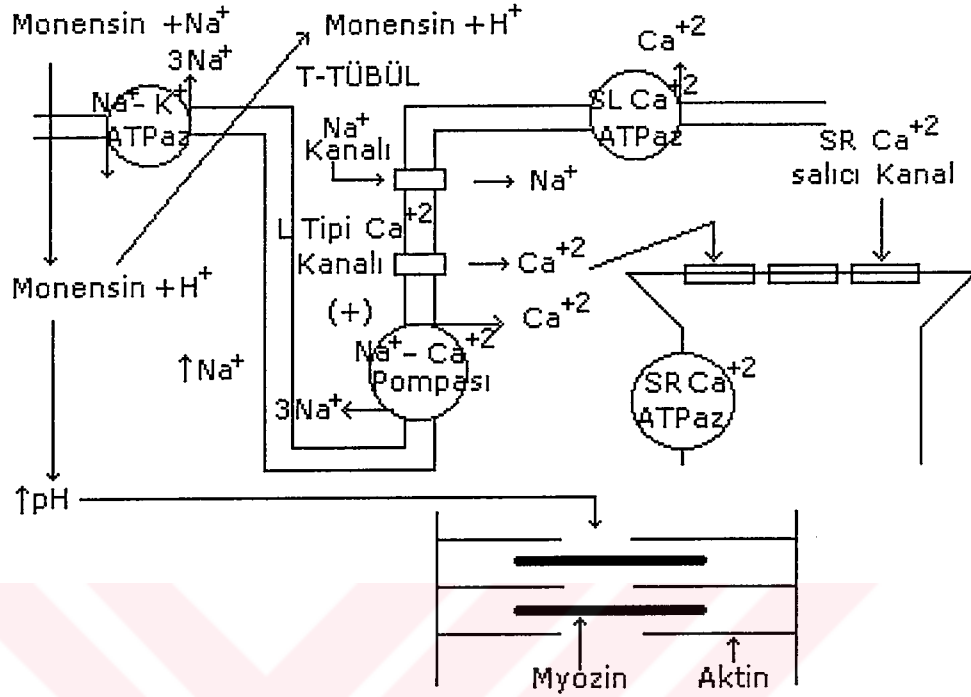


Şekil 6. Monensin'in kimyasal yapısı (70).

Şekillenen boşluk içerisinde tam merkezde yük transfer bağlanım yeri, iyon bağlamaktan sorumludur. İyonofor-iyon kompleksinin dış yüzü büyük oranda nonpolar solventlerdeki bileşimler için yüksek çözünürlüğü bildirilen nonpolar hidrokarbonlardır. Biyolojik sistemlerde bu bileşikler membranların lipit fazında serbestçe çözünür ve membranın bir yüzünden diğerine difüze olur (65).

2.7.2. Biyolojik membranlardan iyon geçişine etkisi

Monensin'in Na^+ a karşı olan eğilimi diğer iyonlara karşı olan eğiliminden oldukça fazladır (54, 65). Monensin hücre dışarısında Na^+ bağlar ve monensin-iyon kompleksi formunda hücre membranından kolayca geçerek hücre içerisinde Na^+ u serbest bırakır. Böylece hücre içerisinde Na^+ konsantrasyonunda bir artış oluşturur (33, 65). Hücre içerisinde ise monensin H^+ iyonu bağlayarak onu hücre dışarısına taşır ve hücre içerisindeki pH' nın artmasına neden olur (Şekil 7). Böylece monensin tarafından oluşturulan net etki Na^+ un H^+ ile değiştirilmesinden, bunu takibinde Na^+ - Ca^{+2} değişimine bağlı olarak hücre içerisindeki Ca^{+2} konsantrasyonunda artış meydana getirmekten ibarettir (70).



Şekil 7. Monensin'in hücresel mekanizmasının şematik olarak ifadesi (70).

Monensin'in membranlardan geçişi o membranın fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır (65). Membranın akıcılığı, kalınlığı, çapı, yükü ve fosfolipitlerin polar baş gruplarının yerleşimi, kolesterol kapsamı ve protein kapsamı gibi faktörlerin hepsi iyonoforların eriyebilirliklerini ve etkinliklerini etkiler. Sonuç olarak monensinin fizyo-farmakolojik etkileri membran kompozisyonuna ve içerdiği farklı komponentlerin işlevsel özelliklerine bağlıdır (54, 68).

2.7.3. Monensin'in hücresel etki mekanizması

Monensin'in etkileri hem hayvan ve hem de bitki hücrelerinde oldukça hızlıdır. Örneğin golgi aparatındaki değişiklikler 2-5 dakika sonra gözlemlenir (65). Kalp dokusunda monensin'in pozitif inotropik etkisinin olduğu bilinmektedir (33, 72). Bu etkinin Na^+ 'un hücre içerisine taşınmasından dolayı olduğu sanılmaktadır. Sodyum

direkt olarak kas hareketinin sebebi değildir. Daha ziyade Na^+ iyonunun sarkoplazmaya girişi ile sonuçlanan iyonik dengesizlik, diğer bir hücre cevabını başlatarak indirekt yoldan kas hareketini başlatmış olur (65). Bilindiği gibi kalp kasında kontraksiyon oluşumu hücre içerisindeki Ca^{+2} konsantrasyonunda meydana gelen artışa bağlıdır. Monensin ise doğrudan hücre içerisinde Ca^{+2} konsantrasyonunda bir artış meydana getirmez. Ancak hücre içerisindeki Na^+ konsantrasyonunda bir artış oluşturduğundan, hücre içerisindeki Ca^{+2} konsantrasyonu da Na^+ - Ca^{+2} değişimine bağlı olarak artırır. Bu pompa, Na^+ iyonunu hücre dışına, Ca^{+2} iyonunu ise hücre içerisine pompalar. Hücre içerisindeki Ca^{+2} konsantrasyonundaki bu artış sadece pozitif inotropik etki oluşturmakla kalmaz, ayrıca K^+ iyonunun hücre içerisine girişinde de bir artış sağlayarak aksiyon potansiyelinin süresinde kısalma oluşturur (33). Potasyum iyonunun geçirgenliğinde meydana gelen bu artışın Ca^{+2} tarafından aktive olan K^+ kanallarının açılması ve K^+ 'un bu kanallardan hücre içerisine girmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır (70). Artan intrasellüler Na^+ iyonu da Na^+ - Ca^{+2} değişimi yoluyla intrasellüler Ca^{+2} yoğunluğunu artırır. İntrasellüler Ca^{+2} yoğunluğundaki artış, aksiyon potansiyelinin kısalmasına yol açan membran K^+ geçirgenliğini artırır. Bu durum aksiyon potansiyelinin, sonuçta sistol süresinin kısaltmasına neden olur (65, 75, 76). Monensin tarafından Ca^{+2} salınımı, monensin ile taşınan sitoplazmik Na^+ 'daki artışın sonucu olarak ortaya çıkar dedik. Fakat yüksek konsantrasyonlardaki monensin'in, Na^+ dan bağımsız tarzda direkt olarak SR'dan Ca^{+2} salınımını başlattığı tesbit edilmiştir (65).

Sodyum- Ca^{+2} değişimi monensin'in hücre sel cevabına aracılık eden ana faktör olmasına karşın, hücre sel cevabı değiştiren diğer faktör pH değişimidir (54). Klasik olarak asidoz Na^+ - Ca^{+2} değişimini inhibe ederek kontraksiyonu azaltır. Oysa alkaloz Na^+ - Ca^{+2} değişimini ve SR Ca^{+2} salınımını uyarak kontraksiyonları artırır (54).

Monensin'in etki mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi için bir çok çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan birisi 1989 yılında Hugtenburg ve ark. tarafından yapılmış ve bu çalışmada rat ve kobaydan elde edilen papillar kaslar kullanılarak değişik Ca^{+2} antagonistlerinin etkileri araştırılmıştır (20). Çalışma sonucunda monensin'in rat papillar kaslarında pozitif inotropik etki oluşturmamasına rağmen kobay kaslarında bu etkiyi oluşturduğu bulunmuştur. Bu sonuç, monensin'in etki mekanizmasının türler arasında farklılık gösterebileceğini ortaya koymuştur. Yine bu

çalışmada Ca^{+2} antagonistleri ile yapılan denemeler sonucunda intrasellüler Ca^{+2} artışının yine Ca^{+2} tarafından uyarılan SR Ca^{+2} salıcı kanallardan salınan Ca^{+2} 'a bağlı olduğu sonucuna varılmıştır. Ozaki ve arkadaşları 1984 yılında kobay aortası üzerinde monensinin etki mekanizmasını araştırmışlar. Bu çalışmada monensin tarafından oluşturulan kontraksiyonların α adrenoreseptör antagonistleri olan phentolamine (10^{-5} M) veya prazosin (10^{-6} M) tarafından önemli ölçüde azaltıldığı ortaya konmuştur. Bu sonuçlar ışığında monensinin oluşturduğu kontraksiyonların sinir uçlarından salınan norepinefrine bağlı olabileceği sonucuna varılmıştır (77). Monensin kobay papillar kaslarında SR dan Ca^{+2} salınım oranını artırdığı, oluşan kontraksiyon hızını zamanla kaybetmediği görülmüştür. β adrenerjik reseptör blokajı izometrik kontraksiyon üzerine monensinin etkisini etkilemez (33, 72).

2.7.4. Monensin'in genel etkileri

Monensin bir taraftan rasyonlardaki aminoasitlerin ve proteinlerin rumende parçalanmasını azaltarak amonyak üretiminin azalmasını sağlarken, diğer taraftan düşük proteinli rasyonlardaki azotun sindirebilirliğini artırmakta ve dışkıda endojen azot miktarını azaltmaktadır. Dışkıdaki azot (N) ve amonyak (NH_3) miktarının azalması protein miktarının yükselmesinin belirtisidir (66, 68). Böylece sindirim için mevcut protein miktarında ve ince bağırsak alımında artış meydana getirilir (65).

Monensin ayrıca metan üretimini azaltarak yem enerjisinin bir bölümünün gaz halinde dışarı atılmasına engel olur. Normalde sindirilebilir enerjinin % 10 kadarı bu şekilde israf olmaktadır (66).

Aminoasitlerin çoğunluğu Na^{+} taşıma sistemi ile taşınmakta ve taşıma için enerji $Na^{+}-K^{+}$ ATPaz'dan sağlanmaktadır. Monensin hücrede $Na^{+}-K^{+}$ ATPaz aktivitesini yükseltir (68). Bu iyonoforlar uygun dozlarda kullanıldıklarında ruminantlarda günlük canlı ağırlık artışını ve yemden yararlanmayı artırır (68).

Ruminantlarda mikrobiyal fermentasyon sonucu karbonhidratlardan uçucu yağ asitleri (U.Y.A.) oluşmaktadır (70). Sığırlarda monensin rumen mikroflora popülasyonunu değiştirir (65). Monensin rumende rumen fermentasyonunu takiben U.Y.A. üzerine etki ederek propionik asit % 10-15 oranında ve daha az olarak ta izovalerik asit miktarını artırıp, asetik asit, bütirik asit, laktik asit ve valerik asit

miktarını azaltmaktadır. Dokularda propionik asit, asetik asitten daha iyi kullanılmaktadır. Bu yüzden gelişmeyi artırıcı bir yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (70, 78). Monensin glukozun vücutta dönüşümünü artırmakta, glukoneogeneziste aminoasitlerin kullanımını azaltmaktadır (66, 68).

Tavukçulukta ve hindi yetiştiriciliğinde antikoksidial profilaksi için monensin en çok kullanılan polietir antibiyotiklerdendir (72, 79). Yine memeli koksidiyoz tedavisinde de monensin uzun zamandır kullanılan antiparaziterdir (72, 80). Monensin parazitin gelişmesi yönünde önem taşıyan Na^+ ve K^+ ile bileşikler oluşturarak koksidiyostat ve koksidiyosit etki yapar. Monensin hücre membranından iyon taşınımını sağlayarak koksidiyoz etkenlerinin direnç kazanmaları için gerekli ortamın şekillenmesini engeller (68).

Monensin yüksek dozlarda kardiyak verimi artırır, kan basıncını yükseltir ve uzun süren pozitif inotropik etki üretir. İyonoforların koroner cevabı adrenajik antagonistler tarafından bloke edilemez (33, 72). İyonoforların pozitif inotropik etkisi hücre içersine giren Na^+ iyonu tarafından devam ettirilir. Monensin myocardial O_2 tüketimini artırır. Monensin bunun dışında hematokrit ve hemoglobin değerlerinde de bir artış meydana getirir (72).

2.7.5. Metabolizması

Monensin hayvanlarda oral yolla kullanılmaktadır. Ruminantlarda ve tek midelilerde bir saatte absorbe olarak karaciğerde hızlı bir şekilde metabolize olur. Dokularda birikmemekte, safra ve dışkı ile atılmaktadır. Monensin metabolitlerinin ancak % 1'den daha azı idrar ile atılmaktadır (68).

2.7.6. Toksik etkileri

Monensin'in LD-50 dozunun terapötik doz olan ED-50'ye oranına bakıldığında kullanım dozu ile toksik dozu arasındaki mesafenin geniş olduğunu ve ilacın toksik olmadığı görülür (68). Atlar, diğer tek tırnaklılar ile koyunlar düşük dozda monensin zehirlenmelerine oldukça duyarlıdırlar (68). Tavuk, sığır, keçi, köpek ve domuzlarda rasyonda aşırı dozda monensin bulunması halinde ciddi monensin toksikasyonları

görülmektedir. Ortalama letal doz (LD₅₀) kg vücut ağırlığına; atlar da 2-4 mg (70), sığırlarda 50-80 mg, tavuklarda 200 mg'dır (65).

Monensin hücre fonksiyonunun bozulmasında da direkt rol oynar (65). Uygun şartlar altında aşırı monensin Na⁺ ve Ca⁺² akümülyasyonunu bloke edebilir (65). Memelilerde monensin toksikasyonlarının fiziksel etkileri yaygın olarak; anoreksi, diare, depresyon, uyuşukluk, terleme, siyanoz, rumen atonisi, ataksi, aritmi, taşikardi, kalp çarpıntısı, egzersizi takiben koma ile birlikte ani ölümlerdir (81). Arka bacaklarda görülen sertleşme, kalp vurum sayısındaki artış ve elektrokardiografik bozukluklar da monensin zehirlenmesindeki önemli bulgulardır. Serumda Na⁺ ve K⁺ artışı, elektrokardiogramda P dalgasında pikleşme, myokardiyal dejenerasyona bağlı olarak QRS kompleksinin deforme olduğu bildirilmektedir (65, 68, 81). Otopsi ve histopatolojik bulgularda ise rumenitis, kataral gastroenteritis, safra kesesi mukozasında ödem ve hiperemi, böbrek ve karaciğerde dejenerasyon, nefrozis, glomerulonefritis, ganglion hücrelerinde dejenerasyon, organlarda hemosiderozis, hyalin myocardial dejenerasyonu, myokardial hemoraji ile pulmoner ödem, konjesyon, vakuolizasyon ve iskelet kalp hasarı gözlenmektedir (65, 68, 81). Kalp kası hücresinde gelişen hasarın mikroskopik görüntüsünde kontraksiyon bantlarında nekroz gözlenir (81).

Monensin'in değişik bir etkisi 1983 yılında Van Vleet ve Ferrans (82) tarafından ortaya konulmuştur. Bu araştırmaya göre monensin'in toksik dozunda diafram, vastus lateralis, semitendinosus, triceps ve interkostal kaslarda şiddetli, longissimus lomburum kasında orta derecede, dilde hafif derecede nekrozlar oluşturulmuştur. Tip-1 fibriller içeren kaslarda nekrozun daha şiddetli olduğu görülmüştür. Monensin tarafından oluşturulan miyotoksisitenin biyokimyasal patogenezezinin Ca⁺²'un aşırı bir şekilde hücre içerisinde artmasına bağlı olduğu sanılmaktadır (70).

Kümes hayvanlarında monensin toksikasyonlarının dış belirtileri uyuşukluk, aşırı susuzluk, iştahsızlık, depresyon ve paralizdir (74). At, sığır, domuz ve kümes hayvanlarında en tutarlı mikroskopik gözlemler kalp kası hücrelerinde dejenerasyon ve vakuolizasyondur. Fazla Ca⁺² yüklenimi hücre ölümünün potansiyel sebebi olabilir. İskemide hücresel dizfonksiyon görülebilir. Hücre eğer ciddi olarak zarar görmemişse etkiler geçicidir (65).

TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

2.8. Kalsiyum Kanal Blokörleri

Bu gruba giren ilaçlar etkili koroner vazodilatasyonunu oluşturdıklarından dolayı iskemik kalp hastalıklarının tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (83). Ca^{+2} kanal blokerleri damar duvarındaki düz kas hücrelerine Ca^{+2} girişini inhibe ederek, koroner kan akımını artırır (83). Bunlar kimyasal yapılarına göre 5 gruba ayrılırlar.

1-Fenil Alkalamin türevleri (verapamil, gallopamil).

2-Dihidropiridin türevleri (nifedipin, nikardipin, nitrendipin, nimodipin, vb.).

3-Benzodiazepin türevleri (diltiazem).

4-Piperazin türevleri (sinarizin, flunarizin ve lidoflazin).

5-Diarilaminopropilamin (bebridil).

İlk 3 gruptaki ilaçlar özellikle vasküler düz kaslarda ve myokart hücre membranında depolarizasyon olayında, voltaja bağlı Ca^{+2} kanallarından ekstraselüler Ca^{+2} 'un hücre içerisine girişini engelleyen selektif ilaçlardır. Diğer selektif olmayan Ca^{+2} kanal blokörleri hücre membranında voltaja bağımlı Ca^{+2} kanallarının yanı sıra, Na^{+} kanallarını da bloke ederler (57).

2.8.1. Hücresel etki mekanizmaları

Kalsiyum hücre içerisine esas olarak membrandaki voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarından girer. Voltaj bağımlı Ca^{+2} kanalları hücre depolarize olunca açılırlar. Bu kanallar;

1- Yüksek voltajla aktive edilenler (L tipi),

2- Düşük voltajla aktive edilenler (T tipi),

3- Orta derecede voltajla aktive edilenler (N tipi) olmak üzere 3 tiptir.

L tipi Ca^{+2} kanalları, kalp ve düz kaslarda yaygın olmak üzere, çizgili kaslarda bulunurlar ve çeşitli ilaçlara ait reseptörleri içerirler. Kalsiyum kanal blokörleri, L tipi kanallardaki bu reseptörlere bağlanarak Ca^{+2} kanallarının açılmasını ve membrandan hücre içine Ca^{+2} girişini büyük ölçüde engellerler. Bunun sonucunda kasta gevşeme meydana gelir. Ortamda Ca^{+2} iyon konsantrasyonu artarsa veya semptomimetikler gibi hücreye Ca^{+2} girişini artıran ilaçlar verilirse, Ca^{+2} kanal blokörlerinin etkisi tersine

çevrilir. T tipi Ca^{+2} kanalları uyarılabilen hücrelerde bulunurlar ve Ca^{+2} kanal blokörlerine duyarlı değildir. Hücre membranındaki bir diğer Ca^{+2} kanalı da reseptöre bağlı Ca^{+2} kanallarıdır. Bunlar Ca^{+2} ile birlikte Na^{+} 'u da geçirirler. Ca^{+2} kanal blokörleri bu tip kanalları fazla bloke edemezler (57).

Nifedipin: Dihidropiridin grubu Ca^{+2} kanal blokörlerinin prototipidir. Damarlardaki vazodilatör etkisi verapamilden zayıftır. Bu yüzden bütün hipertansiyon şekillerinde, pulmoner hipertansiyonda kullanılır. Verapamilden daha güçlü koroner dilatördür. Nifedipinin antiepileptik etki potansiyeli de mevcuttur (57). Miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon yaralanmasına karşı kalbi koruyucudur. Nifedipin kardiyak nitrik oksit üretimini artırma yoluyla koroner kan akımını artırır (83). Düşük konsantrasyonlarda bifazik kontraksiyonların ikinci komponentini inhibe eder. Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlarda, kontraksiyonların birinci komponentini azaltır (45).

Tapsigargin: SR Ca^{+2} ATPaz seçici inhibitörüdür (84). SR Ca^{+2} ATPaz pompası ile sarkoplazmadan SR'a Ca^{+2} geri alımını engeller (38).

2.8.2. Genel etkileri

Koroner damarları genişleterek iskemik miyokardın kan akımını artırır. Periferik arteriyolları genişleterek kan basıncını düşürürler. Arteriyoller venüllere göre bu ilaçlara daha duyarlıdır. Nifedipin kan basıncını diğerlerine göre daha fazla düşürür ve refleks taşikardi oluşturur. Kan basıncının düşmesi ile sol ventrikülün önündeki yük (after-load) azaltılır. Sonuçta myokardın O_2 tüketimi azaltılmış olur. Myokardın kontraksiyon gücünü ve atım sayısını azaltarak kalbin O_2 kullanımını azaltır. Negatif inotropik etki, kalp yetmezliğinde sorun oluşturabilir. Kalsiyum kanal blokörleri, kalpte iskemik bölge çevresindeki kollateral koroner arterleri açarak kan akımını artırır (57).

2.8.3. Tedavide kullanımları

Kalsiyum kanal blokörlerinin kalp ve damar sistemi ile ilgili yerleşmiş indikasyonları (antianjial, antihipertansif ve antiaritmik) dışında hipertrofik kardiomiyopati, Raynould sendromu, ateroskleroz, serebrovasküler hastalıklar ve migren tedavisinde kullanılır (57).

2.8.4. Toksisite

Ciddi kardiyak depresyon, kardiyak arrest, bradikardi, A-V blok ve konjestif kalp yetmezliği meydana gelebilir. Vazodilatasyona bağlı flushing, hipotansiyon, sersemlik, başağrısı, bulantı, konstipasyon, periferik ödem, pulmoner ödem ve hırıltılı solunum diğer yan etkileridir. Glukoza toleransı azaltırlar. İlacın birden kesilmesi ağır iskemik nöbetlere veya myokart infarktüsüne sebep olabileceğinden, dozu giderek azaltarak kesmek gerekir (57).



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deney hayvanı materyali

Bu çalışmada Sağlık Bakanlığı Hıfzısıhha Enstitüsü'ne bağlı serum çiftliğinden temin edilen 3 aylık, 400-600 g ağırlığında 60 adet sağlıklı kobay (guinea pig) kullanıldı. Kobaylar deney hayvanı ünitesindeki 60x90x45 ebatlarında 5 adet ızgaralı, metal köşebentli, tel örgülü kafeslerde barındırıldı. Biyolojik ritimlerinin düzenli olması için 22 °C sabit ısıda 12 saat ışık, 12 saat karanlık bir ortamda hijyenik şartlarda barındırıldı. Kobaylar standart pelet rat yemiyle ad libitum beslenildi. Su ihtiyacını karşılamak için her bir kafese her gün için 1,5 kg yeşil sebze (lahana, marul) kondu.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

May TDA 97, Polygraph systems, Commat, Ankara, Türkiye

May FDT10-A isometric transducer, Commat, Ankara, Türkiye

May WBC 3044 V3 su banyosu ve sirkülatörü, Commat, Ankara, Türkiye

BEL Engineering MARK hassas terazi, AL 1001, İtalya

Orion pH metre 420A, Boston, ABD

PURE RO Distile su cihazı, Almanya

VELP Engineering ARE ısıtmalı manyetik karıştırıcı, İtalya

Balık

Bosch Derin dondurucu

Bosch buz dolabı

Genex Beta Otomatik pipet

Ausculop bistüri

Makas

Penset

Katarakt makasları

İpek iplik

Küvet

3.1.3. Kimyasallar

Kalsiyum klorid (CaCl_2), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Glukoz, Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Magnezyum klorit 6 sulu ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), Merck KGaA, Darmstadt, Almanya

Potasyum klorid (KCl), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Sodyum bikarbonat (NaHCO_3), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Heparin, Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Sodyum Klorit (NaCl), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Choline Chloride ($\text{C}_5\text{H}_{14}\text{NOCl}$), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Hepes ($\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Dimetil sülfoksit (DMSO), Merck KGaA, Darmstadt, Almanya

Dipotasyum hidrojen fosfat (K_2PH_4), Merck KGaA, Darmstadt, Almanya

Sodyum hidroksit (NaOH), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Potasyum hidroksit (KOH), Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

3.1.4. İlaçlar

Digoksin, Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Monensin, Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Nifedipin, Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Tapsigargin, Sigma Chemical CO. St.Louis, ABD

Fenilefrin, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya

Kafein, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya

3.2. Metot

3.2.1. Grupların oluşturulması

Bu çalışma kontrol grubu ile monensin ve digoksin uygulanan 2 deneme grubundan oluşmuştur. Oluşturulan deneme grupları 4 farklı deneyde (Normal, Na⁺'suz ve Ca⁺²'suz Krebs solüsyonunda ve ayrıca Tapsigargin uygulamasından sonra) test edildi. Üç çalışma grubu olmasına karşın çalışılabilecek sadece 2 izole organ banyosu olduğundan, 3 deneme grubu aynı anda test edilemedi. Hayvanlar arasındaki farklılıktan doğabilecek sonuçları ortadan kaldırmak için çalışmada "Incomplete Blok Dizayını" kullanıldı. Günde 1 kobay kullanıldı ve herbir kobaydan 2 adet papillar kas elde edildi. Elde edilen bu kaslar deney gruplarına rastgele dağıtıldı. Herbir deneyde 15 adet kobay ve 30 adet papillar kas olmak üzere toplam 60 adet kobay ve 120 adet papillar kas kullanıldı.

3.2.2. Transdüserin kalibrasyonu

Kontraksiyon gücünün ölçümünde kullanılacak transdüserler her bir deneyin başlangıcında 1000 mg ağırlık kullanılarak kalibre edildi (54).

3.2.3. Papillar kasların hazırlanması ve asılması

Papillar kasların izolasyonu için kobaylar heparinize edildikten (2000 IU, IP) otuz dakika sonra başları servikal dislokasyon ile kesildi. Göğüs sol taraftan torakotomi ile açıldı. Kobayların kalpleri hızlı bir şekilde çıkarıldıktan sonra içi soğuk (+4 °C) Krebs solüsyonu ile dolu bir beher içerisine konuldu. Krebs solüsyonunun içeriği şu bileşimde olacak şekilde hazırlandı [mmol/L]: NaCl₂: 125, KCl: 4.1, MgCl₂: 1.4, NaH₂PO₄: 2.5, NaHCO₃: 23.5, CaCl₂: 2.2, glukoz: 10.9. Solüsyonun pH'sı NaOH ile 7.50- 7.60 civarına getirildi. Perikardiyum uzaklaştırılıp, aorta ve a. pulmonalis kesildikten sonra kalpler aynı solüsyonu içeren ikinci bir beher içerisine konuldu ve kanı yıkandı. Daha sonra içerisinde Krebs solüsyonu bulunan ve sürekli % 100 O₂ ile perfüze edilen cam bir kap içerisine aktarıldı. Her bir kalbin sol ventrikülünden iki

papillar kas zedelenmemesi için dikkatli bir şekilde izole edildi. Papillar kasların çapı yaklaşık 0,5-1.0 mm, uzunluğu 4-5 mm civarındaydı. Kaslar daha sonra 100 µm çapında ipek iplik ile bağlandı . Papillar kasların bir sonu içerisinde 2. 2 mmol /L CaCl₂ içeren Krebs solüsyonu bulunan izole organ banyosunda L biçiminde ucu bükülmüş cam çengellere asıldı. Papillar kasın mitral kapağı tutan kordo tendinia ucu ise kontraksiyon gücünü ölçen transdüserle hassas bir şekilde bağlandı. Kasların deneme başlangıç gerilimi her çalışmada 700 mg olacak şekilde ayarlandı ve izole organ banyosunda % 95 O₂ ve % 5 CO₂ karışımı ile 37 °C de sürekli perfüze edildi. Gelişen gerilim izometrik olarak “force transdüser” ile mg olarak ölçüldü ve kaydedildi.

3.2.4. İlaçların stok solüsyonlarının hazırlanması

3.2.4.1. Digoksin'in stok solüsyonunun hazırlanması

Digoksin'in (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO) % 70'lik etil alkol ile 1.5 mmol/L'lik stok solüsyonu hazırlandı ve +4 °C de buzdolabında saklandı (41). Hazırlanan bu stok solüsyonundan rezervuara ilave edilmesiyle digoksin'in organ banyosundaki yoğunluğunun 3 µmol/L olması sağlandı. Etil alkolün banyo solüsyonundaki yoğunluğu % 0,1'i geçmedi.

3.2.4.2. Monensin'in stok solüsyonunun hazırlanması

Monensin'in (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO) % 70'lik etil alkol ile 3.5 mmol/l'lik stok solüsyonu hazırlandı ve +4 °C'de buzdolabında saklandı (41). Bu stok solüsyonundan alınan monensinin rezervuara ilave edilmesiyle organ banyosundaki yoğunluğun 10 µmol/L olması sağlandı. Etil alkolün banyo solüsyonundaki yoğunluğu % 0,1'i geçmedi.

3.2.4.3. Tapsigargin'in stok solüsyonunun hazırlanması

Tapsigargin'in (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO) DMSO içerisinde 1 mmol/L'lik stok solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan stok solüsyonu oda sıcaklığında (22-23 °C) saklandı ve güneş ışığından korundu. Tapsigargin'in organ banyosundaki en son yoğunluğunun 200 nmol/L olması sağlandı (84). DMSO yoğunluğu ise % 0,1'i geçmedi.

3.2.4.5. Kafein'in stok solusyonunun hazırlanması

Kafein'in (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO) metil alkol içerisinde 5 mmol/l'lik stok solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan stok solüsyonu +4°C'de saklandı. Kafeinin organ banyosundaki en son yoğunluğunun 20 µmol/L olması sağlandı (59).

3.2.4.6. Fenilefrin'in stok solüsyonunun hazırlanması

Fenilefrin'in (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO) distile su içerisinde 10 mmol/L'lik stok solüsyonu hazırlandı ve +4 °C'de saklandı. Fenilefrinin organ banyosunda en son yoğunluğunun 70 µmol/ l olması sağlandı (85).

3.2.4.7. Potasyum klorid'in stok solüsyonunun hazırlanması

Potasyum klorid'in (Sigma Chemical CO., St. Louis, MO) distile su içerisinde 40 mmol/l lik stok solüsyonu hazırlandı. Bu stok solüsyonundan otomatik pipetle alınan potasyum klorid'in organ banyosunda en son yoğunluğunun 1 mmol/L olması sağlandı (86).

3.2.5. Normal Krebs solüsyonunda digoksin'in kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkisinin araştırılması

İzole edilen papillar kaslar izole organ banyosuna bağlandıktan 35 dakika (adaptasyon periyodu) sonra digoksin'in stok solüsyonundan otomatik pipetle alınıp, içerisinde Krebs solüsyonu bulunan organ banyosunun rezervuarlarına 3 µmol/L ilave edildi. Kasların kontraksiyon güçlerinin transdüser verileri 2 saat süre ile mg olarak kaydedildi. Her deneme sonunda kaslar aparattan ayrılıp atıldı. Banyo, sıcak distile su ile fırçalanarak temizlendi. Uygulama 10 kez tekrar edildi.

3.2.6. Normal Krebs solüsyonunda monensin'in kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkisinin araştırılması

İzole edilen papillar kaslar izole organ banyosuna bağlandıktan 35 dakikalık adaptasyon periyodundan sonra, monensin'in stok solüsyonundan otomatik pipetle alınıp içerisinde Krebs solüsyonu bulunan organ banyosunun rezervuarlarına 10 µmol/L ilave edildi. Kasların kontraksiyon güçlerinin transdüser verileri 2 saat süre ile mg

olarak kaydedildi. Her deneme sonunda kaslar aparattan ayrılıp atıldı. Banyo, sıcak distile su ile fırçalanarak temizlendi. Uygulama 10 kez tekrar edildi.

3.2.7. Normal Krebs solüsyonunda kontrol çalışması

İzole edilen papillar kaslar izole organ banyosuna bağlandıktan 35 dakikalık adaptasyon periyodundan sonra, % 70'lik etanolden % 0.1 oranında ilave edildi. İki saat adaptasyon periyodunda tekrar beklendi. Daha sonra kasların canlılığını tespit amacıyla fenilefrin'in stok solüsyonundan otomatik pipetle alınarak içerisinde Krebs solüsyonu bulunan organ banyosunun rezervuarlarına 70 µmol/L ilave edildi. Kontraksiyonun oluşması için 2 saat beklendi. Her deneme sonunda kaslar aparattan ayrılıp atıldı. Banyo sıcak distile su ile fırçalanarak temizlendi. Uygulama 10 kez tekrar edildi.

3.2.8. Monensin ve digoksin'in Na⁺'suz Krebs solüsyonunda kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkilerinin araştırılması

Bu deneylerde normal Krebs solüsyonu yerine Na⁺ içermeyen Krebs solüsyonu hazırlandı. Solüsyonun ozmotik basıncını değiştirmemek için NaCl yerine aynı miktarda kolin klorid kullanıldı (45). Sodyum içermeyen Krebs solüsyonunun içeriği şu bileşimde oluşturuldu [mmol/L]: Kolin Klorid: 116, KCl: 4.1, MgCl₂: 1.4, K₂HPO₄: 2, Glukoz: 10.9, CaCl₂: 2.2, Hepes: 10. Solüsyonun pH'sı KOH ile 7.5-7.6 civarına ayarlandı (21). Normal Krebs solüsyonunda yapılan deneyler aynen Na⁺ içermeyen Krebs solüsyonunda tekrar edildi.

3.2.9. Monensin ve digoksin'in Ca⁺²'suz Krebs solüsyonunda kobay papillar kaslarının kontraksiyon gücü üzerine etkilerinin araştırılması

Bu bölümde normal Krebs solüsyonu yerine Ca⁺² içermeyen Krebs solüsyonu hazırlandı. Bu amaçla Krebs solüsyonuna Ca⁺² yerine 0.01 mmol/l EDTA ilave edildi. Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunun içeriği şu bileşimde oluşturuldu [mmol/L]: NaCl₂: 125, KCl:4,1, MgCl₂: 1,4, NaH₂PO₄: 2,5, Glukoz: 10,9, EDTA: 0,01, NaHCO₃: 23,5. Solüsyonun pH'sı NaOH ile 7,5-7,6 civarına ayarlandı (87). Normal Krebs solüsyonunda yapılan deneyler aynen Ca⁺² içermeyen Krebs solüsyonunda tekrar edildi. Ancak deneylerin sonunda kasların canlılığını tesbit etmek amacıyla fenilefrin yerine 30 µmol/L dozunda kafein ilavesi yapıldı.

3.2.10. Monensin ve digoksin'in Tapsigargin ile SR'u Ca^{+2} yönünden boşaltılmış papillar kasların kontraksiyon gücü üzerine etkilerinin araştırılması

Papillar kaslar izole organ banyosuna bağlandıktan 35 dakikalık adaptasyon periyodundan sonra Tapsigargin içerisinde normal Krebs solüsyonu bulunan izole organ banyosunun haznesine 200 nmol/L ilave edildi (84). İki saat beklendikten sonra normal Krebs solüsyonunda yapılan deneyler aynen tekrar edildi. Deneylerin sonunda kasların canlılığını tesbit etmek amacıyla fenilefrin'in stok solüsyonundan otomatik pipetle alınarak içerisinde Krebs solüsyonu bulunan organ banyosunun rezervuarlarına 70 μ mol/L ilave edildi.

3.2.11. İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edildi ve varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analiz edildi. Ortalamalar arasındaki farklar Tukey testi kullanılarak tespit edildi ve $P \leq 0.05$ istatistiksel farklılığı gösterildi (88, 89).

4. BULGULAR

4.1. Digoksin'in Kobay Papillar Kaslarının Kasılma Gücü Üzerine Etkisi

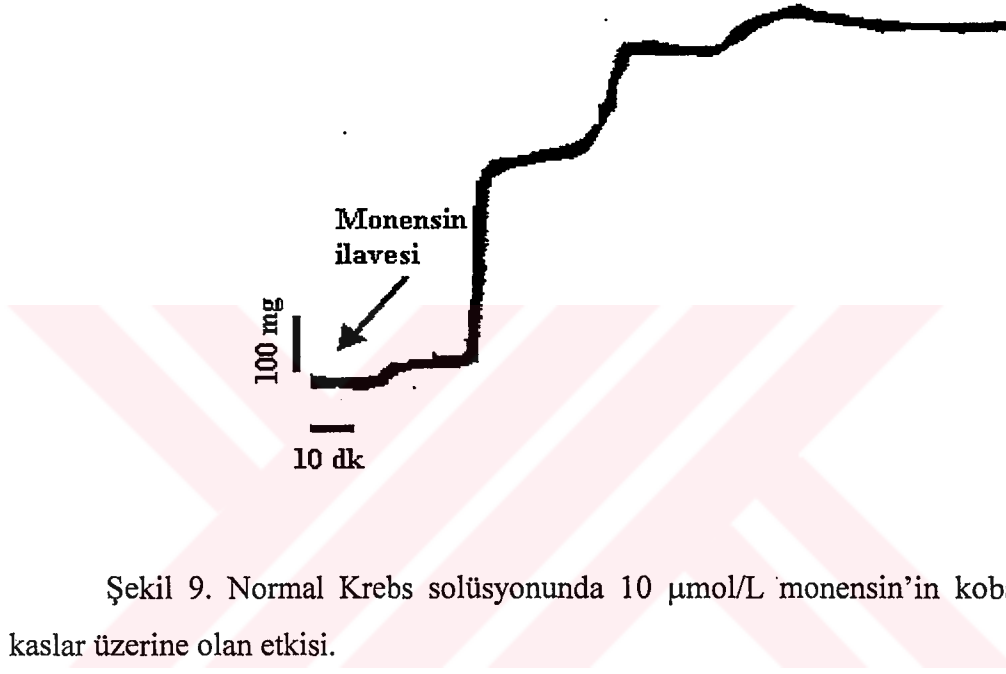
Digoksinin papillar kasların kasılma gücü üzerine olan etkisi Şekil 8 ve Tablo 1'de gösterildi. Digoksin uygulamasından sonra kontraksiyon başlangıç zamanı (KBZ) $58,6 \pm 14,5$ dakikada, pik seviyeye ulaşma zamanı (PSUZ) 70 dakikada, kontraksiyondaki maksimum artış (KMA) % $90,6 \pm 16,5$ oranında gerçekleşti. Pikten sonra kontraksiyon gücü hızla azalmaya başladı.



Şekil 8. Normal Krebs solüsyonunda 3 µmol/L digoksin'in kobay papillar kaslar üzerine olan etkisi.

4.2. Monensin'in Kobay Papillar Kaslarının Kasılma Gücü Üzerine Etkisi

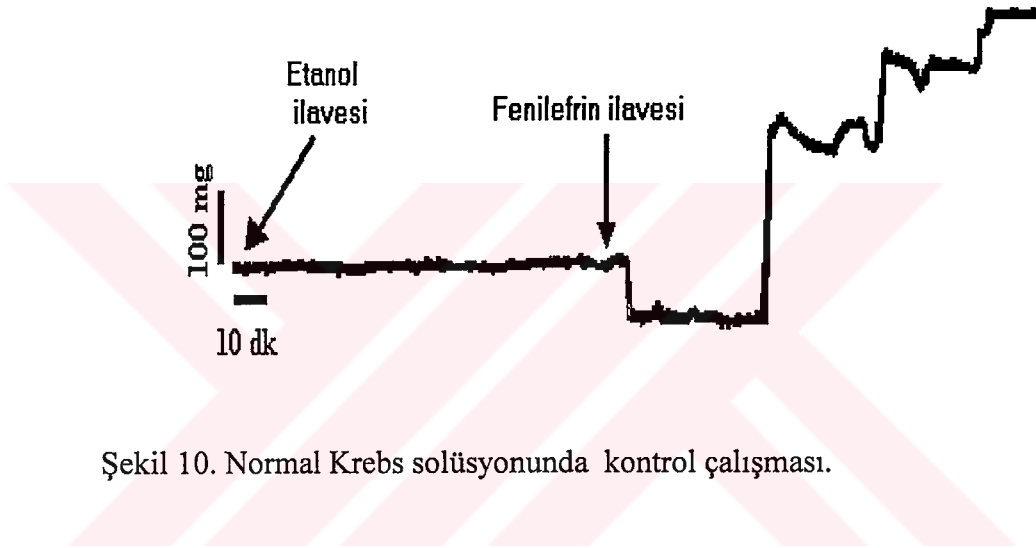
Monensin uygulamasından sonra KBZ $41,1 \pm 5,1$ dakikada, PSUZ 70 dakikada, KMA % $102 \pm 23,5$ oranında gerçekleşti. İki saat boyunca kontraksiyon aynı seviyede kaldı ve digoksinde olduğu gibi azalma görülmedi (Şekil 9, Tablo 1).



Şekil 9. Normal Krebs solüsyonunda $10 \mu\text{mol/L}$ monensin'in kobay papillar kaslar üzerine olan etkisi.

4.3. Normal Krebs Solüsyonunda Kontrol Çalışması

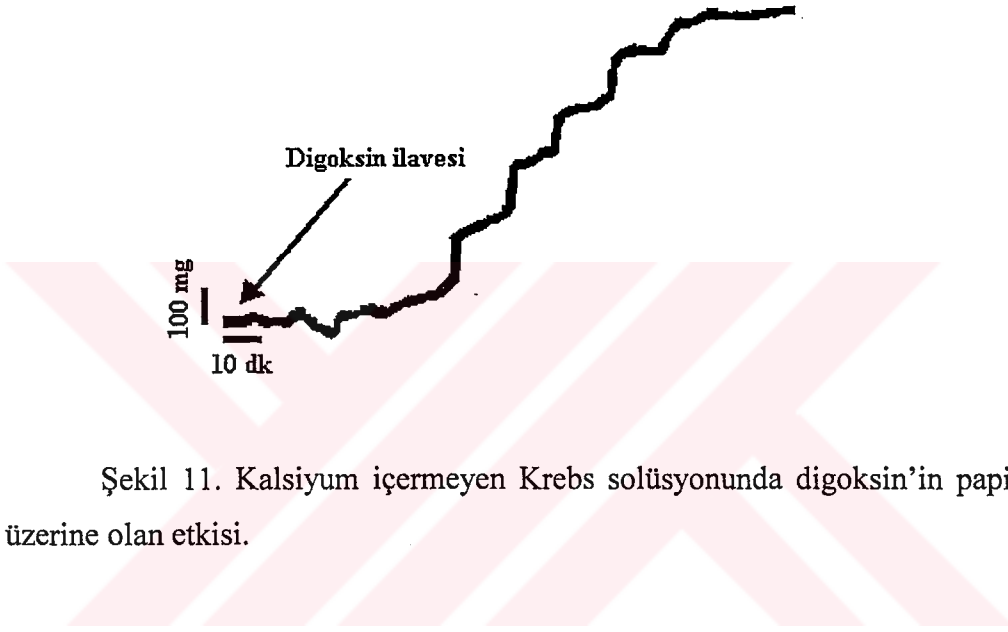
Papillar kaslarda etanol ilavesinden sonra 2 saat boyunca kontraksiyon oluşmadı. Buna karşın ortalama $\% 5,5 \pm 4,7$ oranında negatif inotropik etki oluştu. Deney sonunda kasların canlılıklarını tesbit etmek için verilen fenilefrin ise 40 dakika sonra papillar kaslarda kontraksiyon oluşturdu (Şekil 10, Tablo 1).



Şekil 10. Normal Krebs solüsyonunda kontrol çalışması.

4.4. Digoksin'in Ca^{+2} İçermeyen Krebs Solüsyonunda Papillar Kasların Kontraksiyon Gücü Üzerine Etkisi

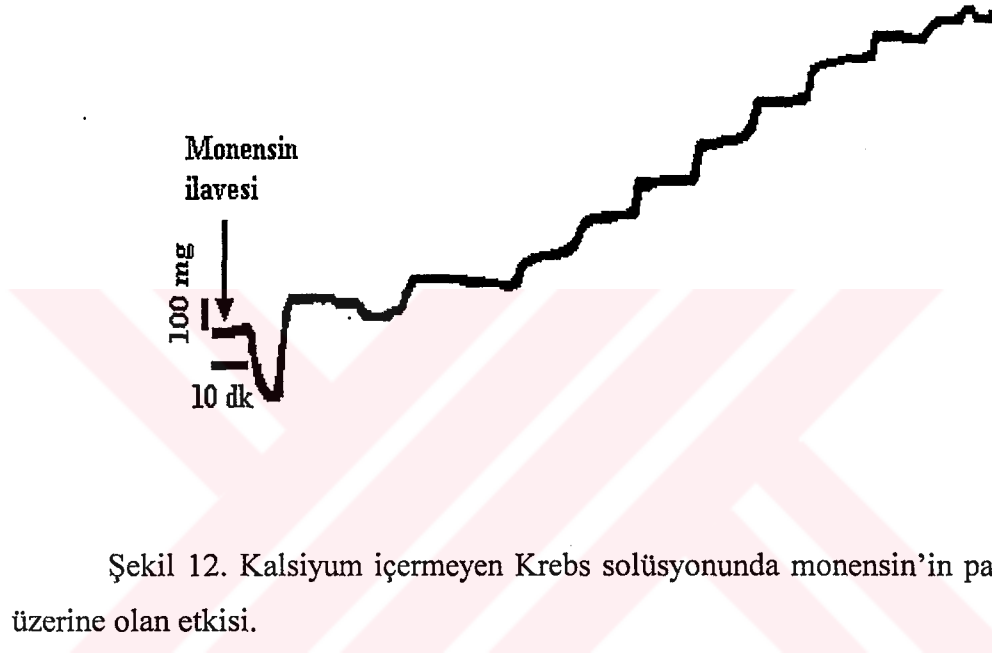
Digoksin uygulamasından sonra KBZ $14,5 \pm 3,8$ dakikada, PSUZ 60 dakikada, KMA % $66 \pm 4,8$ oranında gerçekleşti (Şekil 11, Tabo 1).



Şekil 11. Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda digoksin'in papillar kaslar üzerine olan etkisi.

4.5. Monensin'in Ca^{+2} İçermeyen Krebs Solüsyonda Papillar Kasların Kontraksiyon Gücü Üzerine Etkisi

Monensin uygulamasından sonra KBZ $10,6 \pm 1,8$ dakikada, PSUZ 45 dakikada, KMA % $122 \pm 24,6$ oranında gerçekleşti (Şekil 12, Tablo 1).



Şekil 12. Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda monensin'in papillar kaslar üzerine olan etkisi.

4.6. Kalsiyum İçermeyen Krebs Solüsyonunda Kontrol Çalışması

Papillar kaslarda % 70 lik etanol ilavesinden sonra, 2 saat boyunca kontraksiyon oluşmadı. Buna karşın ortalama % $8 \pm 5,3$ oranında negatif inotropik etki oluştu. Deney sonunda kasların canlılıklarını tesbit etmek için verilen kafein ise yaklaşık 45 dakika sonra kontraksiyonlar oluşturdu (Şekil 13, Tablo 1).

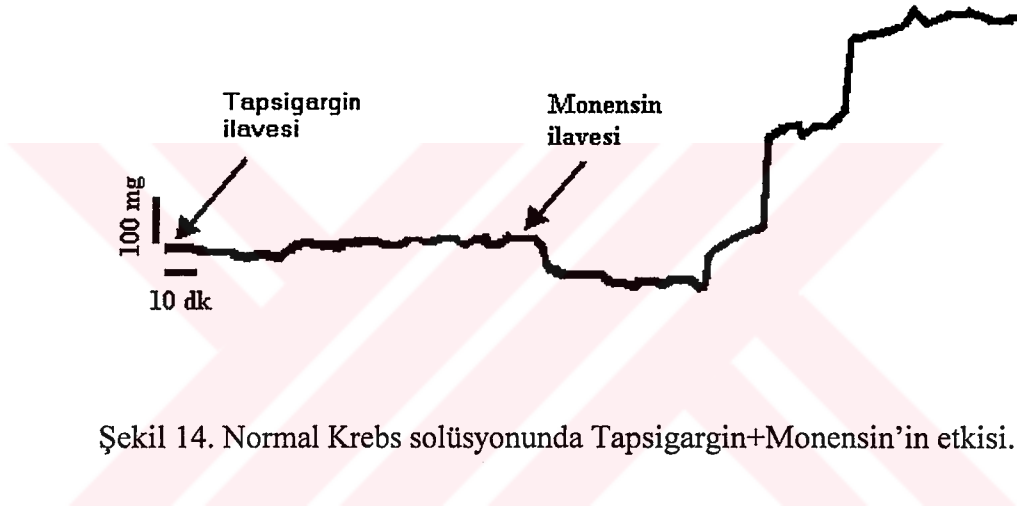
Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda kontrol, digoksin ve monensinin etkilerini karşılaştırdığımızda; hem digoksin hem de monensinin kontraksiyonun başlangıç zamanı ve kontraksiyonun maksimum artış oranı yönlerinden kontrole göre anlamlı fark bulundu. Digoksin ile monensinin etkilerini kendi aralarında karşılaştırdığımızda hem KBZ hem de K.M.A. yönünden anlamlı fark olduğu, monensinin digoksinden istatistiki olarak anlamlı derecede kasları erken kontraksiyona başlattığı, daha fazla kontraksiyon gücünde artış sağladığı, daha hızlı pik seviyeye ulaştırdığı görüldü.



Şekil 13. Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda kontrol çalışması.

4.7. Monensin'in Tapsigargin ile SR Ca^{+2} 'u Boşaltılmış Papillar Kaslar Üzerindeki Etkisi

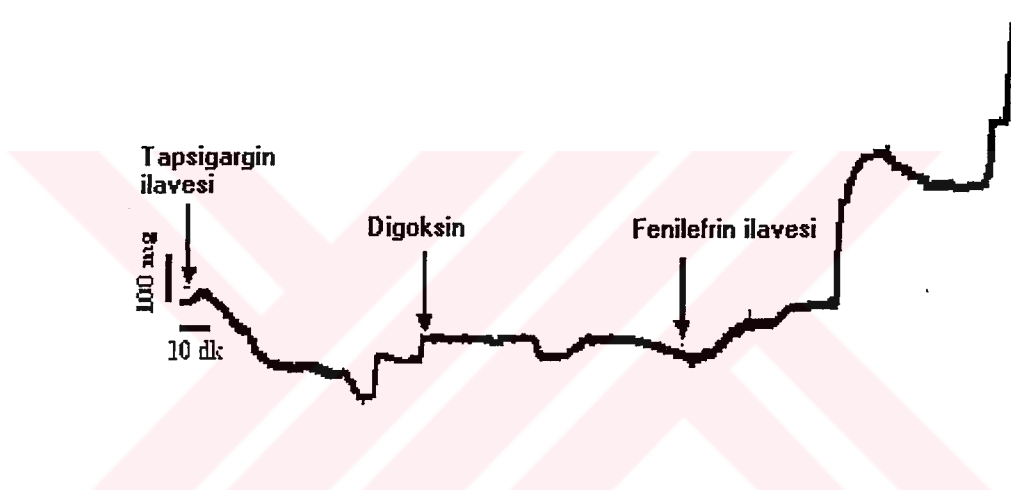
Tapsigargin uygulamasından sonra inotropik etkide değişiklik için iki saat beklendi. Burada da genel olarak negatif inotropik etki oluştu. Daha sonra monensin uygulandı ve uygulamada KBZ $49,7 \pm 3,5$ dakikada, PSUZ 90 dakikada, KMA % $121,7 \pm 20,2$ oranında gerçekleşti (Şekil 14, Tablo 1).



Şekil 14. Normal Krebs solüsyonunda Tapsigargin+Monensin'in etkisi.

4.8. Digoksin'in Tapsigargin ile SR'u Boşaltılmış Papillar Kaslar Üzerindeki etkisi

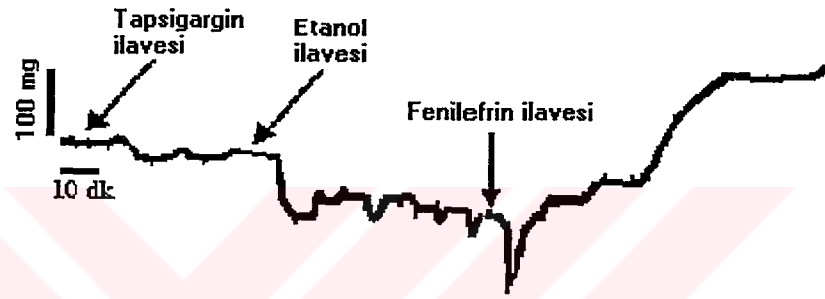
Tapsigargin uygulamasından sonra 2 saat süreyle kaslarda negatif inotropik etki oluştu. Daha sonra digoksin uygulandı 70 dakika süreyle thapsigarginin digoksinin pozitif inotropik etkisini önemli ölçüde engellediği gözlemlendi. Digoksin kaslarda sadece $13,3 \pm 2,8$ oranında kontraksiyon gücünde artış gerçekleştirdi. En son olarak kasların canlılığını tesbit etmek için fenilefrin uygulandı ve 45 dakika sonra da kontraksiyonlar gelişmeye başladı (Şekil 15, Tablo 1).



Şekil 15. Normal Krebs solüsyonunda Tapsigargin+Digoksin+Felinefrin uygulaması ile kontrol çalışması.

4.9. Tapsigargin ile Hücrelerinin SR'u Boşaltılmış Papillar Kaslar Üzerinde Kontrol Çalışması

Tapsigargin uygulamasından sonra kaslarda negatif inotropik etki oluştu. Tapsigargin ilavesinden 2 saat sonra, %70 lik etanol ilave edildi ve bu süre zarfında % 8 lik negatif inotropik etki gelişti. İki saat sonra da kasların canlılığını tesbit etmek için fenilefrin ilave edildi ve kontraksiyonlar oluştu (Şekil 16, Tablo 1).



Şekil 16. Normal Krebs solüsyonunda Tapsigargin+Etanol+Fenilefrin uygulaması ile kontrol çalışması.

Tablo 1. Kontrol ve deneme gruplarında papillar kasların kontraksiyon başlangıç zamanı (dk) ve kontraksiyondaki maksimum artışları (%).

Deney Tipi	Kontraksiyon Başlangıç Zamanı (dk)	Kontraksiyondaki Maksimum Artış (%)
<i>Deney 1 (Normal Krebs Solüsyonu)</i>		
Kontrol	----	-5,54,7
Digoksin	58,6±14,5	90,6±16,5*
Monensin	41,2±5,1	102,0±23,5*
<i>Deney 2 (Na⁺ İçermeyen Krebs Solüsyonu): Bu deneyden iyon dengesizliğine bağlı olarak gelişen erken kuvvetli kontraktürden dolayı sonuç alınamadı.</i>		
<i>Deney 3 (Ca⁺² İçermeyen Krebs Solüsyonu)</i>		
Kontrol	----	-8,0±5,3
Digoksin	14,5±3,8	66,0±4,8*
Monensin	10,6±1,8	122,0±24,6*°
<i>Deney 4 (Tapsigargin ile SR'un Boşaltılması)</i>		
Kontrol	----	-16,0±5,3
Digoksin	32,7±9,6	13,3±2,8*
Monensin	49,7±3,5	121,7±20,2*°

Değerler ortalama ± standart sapma olarak belirtilmiştir.

* Kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında $P \leq 0,05$ 'i ifade etmektedir.

° Deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında $P \leq 0,05$ 'i ifade etmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Genel anlamda kardiyovasküler hastalıklar, özelde ise kalp yetmezliği 21. yüzyılda insan sağlığını tehdit eden hastalıklar sıralamasında en ciddi sağlık sorunu olarak ilk sıraya yerleşmiştir (2, 5, 6). Günümüzde kalp yetmezliğinin klinik tedavisinde yaygın olarak kullanılan digoksin, toksitesi ve sınırlı pozitif inotropik etkisi sebebiyle tartışılmaya devam etmekte, bu yüzden de alternatif ilaç arayışları sürmektedir. (17, 18).

Biz bu çalışmada in vitro şartlarda izole organ sistemini kullanarak pozitif inotropik etki mekanizması henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamış (15, 16) olan digoksin ile bir Na^+ iyonoforu (68, 71, 72) olan ve pozitif inotropik etkiye sahip (19, 20) bir antibiyotik olan monensin'in kobay papillar kaslar üzerinde oluşturdıkları etkileri karşılaştırdık.

Literatürlerde digoksin ile yapılan çalışmalara baktığımızda; Scholz ve Schmitz (56) insan ventrikular kaslarında ve kobay papillar kaslarında digitoksin ve digoksin'in etkilerini çalışmışlardır. Digoksin'in insan ventrikül kaslarında etkisi $0.1 \mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda başlamış, $1 \mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda ise maksimal seviyeye ulaşmıştır. Yarı maksimal etki yoğunluğu $0.37 \mu\text{mol/L}$ olmuştur. Digoksin'in sağladığı kontraksiyon artışı % 250 oranında gerçekleşmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlar ise 15 dakika içerisinde toksisitenin bir işareti olarak kontraktür ve takiben düzensiz kontraksiyonlar geliştirmiştir. Bütün bu denemelerde digoksin'in pozitif inotropik etkisi bir saat içerisinde yavaş yavaş gelişmiş ve takriben 60 dakika sonra da pik seviyesine ulaşmıştır.

Aynı araştırmacılar benzer sonuçları kobay papillar kaslarında almıştır. Digoksin'in $1.5 \mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda sağladığı kontraksiyonun pik seviyeye ulaşma zamanı 60 dakika olarak gerçekleşmiştir. Pozitif inotropik etkinin başlangıcından itibaren 2 saat sonra ise etkide geri dönüşümlü olarak tersine dönüş başlamıştır (negatif inotropik etki) (56). Ebner ve ark. (63) kobay papillar kaslarında kardioaktif steroid ajanlarla yaptıkları çalışmada $1 \mu\text{mol/L}$ konsantrasyonda digoksin; kontraksiyon gücünü % 100 den daha fazla artırmış, 80 dakikada da pik seviyeye ulaştırmıştır.

Normal Krebs solüsyonunda digoksin ile kobay papillar kaslar üzerinde yaptığımız çalışmada; digoksin yukarıdaki çalışmalarla aynı doğrultuda ortalama 58,6

$\pm 14,5$ dakikada pozitif inotropik etki geliştirdi ve ortalama 70 dakika sonra pik seviyeye ulaştı. Ayrıca kontraksiyon gúcünde ortalama $\% 90,6 \pm 16,5$ oranında artış gerçekleştirdi.

Digoksin'in pozitif inotropik etkisinin řu şekilde olduğu ileri sűrılmektedir; digoksin tarafından $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz pompasının inhibisyonu yoğun intrasellüler Na^+ akümülyasyonuna yol açar. Bu durum $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ değişimini tersine çevirerek sistol sűrösince intrasellüler Ca^{+2} yoğunluğunu artırır. Artan Ca^{+2} yoğunluğu da SR Ca^{+2} depolarının boşalmasını sağlar. Böylece kalp kası kontraktilitesinde bir artış meydana gelir (84, 86).

Kobay papillar kaslarında kontraktilite üzerine monensin'in etkisi doza bağımlıdır. Monensin'in $10 \mu\text{mol/L}$ dozunda uygulaması kontraksiyon gúcünde $\% 153$ artış meydana getirmiştir (20). Kobay papillar kaslarında monensin ile ilk pozitif inotropik etki $0.3 \mu\text{mol/L}$ yoğunlukta gözlenmiştir (20). Meral (54) tarafından yapılan bir çalışmada $7 \mu\text{mol/L}$ lik monensin uygulaması kobay papillar kaslarında 2 saat sonra kontraksiyon gúcünü pik seviyeye çıkartmış ve zamanın geçmesiyle pozitif inotropik etki kaybolmamıştır.

Mubagwa ve ark. (19) ise $15 \mu\text{mol/L}$ konsantrasyontaki monensin'in kobay papillar kaslarının aktif kontraktıl gúcünü artırdığını bildirmişlerdir. Monensin'in etkisi yavaş bir şekilde gelişmiş, pik ve sabit değere 1-2 saatte ulaşılmıştır. Tek bir kobay hücresinde monensine bağlı olarak Na^+ daki artış $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz pompasınınkinden 3 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yine Gaide ve ark. (33) köpek venriküler kaslarından elde edilen ve çapı 1 mm den küçük izole kaslara $5 \mu\text{mol/L}$ monensin ilavesinin kontraksiyon gúcünü artırdığını tesbit etmişlerdir. Bu iyonofor ayrıca aksiyon potansiyel sűrösinin repolarizasyon döneminde $\% 50-80$ oranında kısaltmıştır.

Köpekler üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise 100 mg/kg dozda monensin'in intravenöz injeksiyonun belirgin kardiyo-vasküler etkiler oluşturduğu belirlenmiştir (72). Kalp veriminde belirgin bir artış monensin injeksiyonundan 2-10 dakika sonra başlamış, hemoglobin ve hematokrit miktarında, plazma kateşolamin seviyesinde bir artış meydana gelmiştir.

Normal Krebs solüsyonunda monensin ile kobay papillar kaslar üzerinde yaptđımız çalışmada; monensin yukarıdaki çalışmalara benzer olarak pozitif inotropik etki oluşturmuştur. Pozitif inotropik etkinin başlaması $41,2 \pm 5,1$ dakikada

gerçekleşmiş, kontraksiyon gücünde % $102,0 \pm 23,5$ artış gerçekleşmiş, pozitif inotropik etki 70 dakika sonra pik seviyeye ulaşmıştır.

Monensin'in pozitif inotropik etkisinin şu şekilde olduğu ileri sürülmektedir; monensin hücre dışında Na^+ u bağlar ve hücre içerisine taşıyarak hücre içerisinde Na^+ yoğunluğunda artış meydana getirir. Yüksek Na^+ yoğunluğunda $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ pompası aktifleşir. Aktifleşen $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ pompası ile hücre içerisinde aktivatör Ca^{+2} yoğunluğunun artması SR Ca^{+2} salınımını başlatarak pozitif inotropik etki meydana getirir (54).

Normal Krebs solüsyonunda hem digoksin ve hem de monensin'in kontraksiyon başlangıç zamanı ve kontraksiyon gücünde maksimum artış oranı yönünden kontrole göre anlamlı bir fark oluşturduğu görülmüştür. Digoksin ve monensin'in etkileri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise kontraksiyon başlangıç zamanı ve pik seviyeye ulaşma zamanı yönünden aralarında anlamlı bir fark olduğu, monensin'in pozitif inotropik etkisinin digoksine göre anlamlı derecede erken başladığı, daha önce pik seviyeye ulaştığı ancak kontraksiyon gücünde maksimum artış oranı yönünden aralarında ise istatistiki olarak bir fark olmadığı görülmüştür.

Literatürlerde Ca^{+2} içermeyen Krebs solüsyonunda digoksin ve monensin ile yapılan çalışmalara rastlanamamıştır. Bizim Ca^{+2} içermeyen Krebs solüsyonunda digoksin ile yaptığımız çalışmada digoksin'in kontraksiyon başlangıç zamanı $14,5 \pm 3,8$ dakikada gerçekleşmiş, ortalama 60 dakika sonra da pik seviyeye ulaşmıştır. Kontraksiyon gücünde ise ortalama % $66,0 \pm 4,8$ oranında artış gerçekleşmiştir. Kontraksiyon gücünün Ca^{+2} içermeyen Krebs solüsyonunda, Ca^{+2} içeren Krebs solüsyonundan daha az oluşu digoksinin ekstraselüler Ca^{+2} 'dan tam olarak bağımsız çalışmadığını ve pozitif inotropik etki oluşturmak için hem intrasellüler ve hem de ekstraselüler Ca^{+2} 'a ihtiyaç duyduğunu göstermiştir.

Yine Ca^{+2} içermeyen Krebs solüsyonunda monensin ile yaptığımız çalışmada ise monensin'in kontraksiyon başlangıç zamanı $10,6 \pm 1,8$ dakikada başlamış, ortalama 45 dakika sonrada pik seviyeye ulaşmıştır. Kontraksiyondaki maksimum artış ise % $122,0 \pm 24,6$ oranında gerçekleşmiştir. Bu sonuç monensin'in kontraksiyon oluşturmak için ekstraselüler Ca^{+2} 'a ihtiyaç duymadığını göstermiştir.

Kalsiyum içermeyen Krebs solüsyonunda hem digoksin hem de monensin, bu etkilerini dış ortamda Ca^{+2} bulunmadığı için sarkolemmal Ca^{+2} kanallarını kullanarak gerçekleştirmediğini düşünmekteyiz. Bazı araştırmacılar pozitif inotropik etkili bazı maddelerin etkilerini ya mitokondriden Ca^{+2} salınımı ile veya direkt olarak SR'a etki ederek gerçekleştirdiğini belirtmektedirler (38, 65). Yaptığımız çalışma bu düşünceyi destekler niteliktedir.

Digoksin'in tapsigargin ile hücrelerindeki SR Ca^{+2} kanalları bloke edilmiş kobay papillar kaslar üzerinde yaptığımız çalışmada tapsigargin'in digoksinin'in oluşturduğu pozitif inotropik etkiyi önemli ölçüde ortadan kaldırdığı görülmektedir. Bu sonuç digoksinin oluşturduğu pozitif inotropik etkinin önemli oranda SR kaynaklı olduğunu göstermektedir.

Kocic (84) kobay papillar kaslar üzerinde digoksin, rimalkalim ve tapsigargin ile yaptığı çalışmalarda kontraksiyon gücü, kontraksiyon artış oranı, kontraksiyon gücünün düşme oranı, kontraksiyonun pik yapma süresi değerlerini gözlemlemiştir. Kontrol grubu olarak digoksin'in 1, 3 ve 10 $\mu\text{mol/L}$ dozlarında oluşturduğu pozitif inotropik etkiler, 0.2, 0.5, 1 $\mu\text{mol/L}$ dozunda tapsigargin ilave edilmesiyle önemli ölçüde azaltılmış ve pik kontraksiyon gücüne ulaşma süresini artırmıştır.

Literatürlerde tapsigargin ile bloke edilmiş kalp kasında monensinle yapılmış çalışmaya rastlanamamıştır. Monensin'in tapsigargin ile hücrelerindeki SR Ca^{+2} kanalları bloke edilmiş kobay papillar kasları üzerinde yaptığımız çalışmada, tapsigargin'in monensin'in oluşturduğu pozitif inotropik etkiyi etkilemediği görülmektedir. Bu sonuç bize monensin'in SR Ca^{+2} konsantrasyonundan bağımsız olarak pozitif inotropik etki oluşturduğunu göstermektedir. Ancak bir önceki denememizde Ca^{+2} içermeyen Krebs solüsyonunda bulunan papillar kaslarda monensin'in pozitif inotropik etkisinin azalmaması bize monensin'in Ca^{+2} 'suz ortamda bulunan papillar kaslarda SR'dan, SR Ca^{+2} kanalları bloke edilmiş papillar kaslarda ise L-tipi Ca^{+2} kanalından hücre içerisine yeterli miktarda Ca^{+2} girişine neden olarak etkisini azaltmadığını göstermiştir.

Tapsigargin ile hücrelerindeki SR Ca^{+2} kanalları bloke edilmiş kobay papillar kasları üzerinde digoksin ve monensin'in hem KBZ hem de K.M.A. bakımından kontrole göre önemli fark ortaya koyduğu görüldü. Digoksin ve monensin'in etkilerini

kendi aralarında karşılaştırdığımızda ise hem KBZ hem de K.M.A. bakımından aralarında önemli fark görüldü. Burada da monensin'in hem daha erken kontraksiyonu başlattığı, hem de daha fazla kontraksiyon gücünde artış sağladığı gözlemlendi. Bu denemede digoksinin pozitif inotropik etkisini önemli ölçüde kaybettiği, ancak monensin'in bu etkisinde bir azalma olmadığı görülmektedir.

Bu sonuçlar ışığında digoksin'in pozitif inotropik etkisini göstermesinde ekstrasellüler Ca^{+2} 'dan çok SR Ca^{+2} depolarının önemli rol oynadığı, monensinin pozitif inotropik etkisinin oluşumunda ise L-tipi Ca^{+2} kanalı veya SR Ca^{+2} kanalından birinin yeterli olacağı düşünüldü. Yapılan tüm bu denemeler sonucunda kobay papillar kasları üzerinde genel olarak monensin'in digoksin'den daha hızlı pozitif inotropik etki başlattığı, daha çabuk pik seviyeye ulaştırdığı, daha fazla kontraksiyon artışı sağladığı ve etkisini daha uzun süreli koruduğu görüldü. Bu nedenle, monensin'in kalp yetmezliği tedavisinde uygulanabilirliği yönünde daha ileriki aşamalarda çalışılabileceği sonucuna varıldı. Ancak bu ilacın canlı hayvanlar üzerindeki etkileri, güvenilirliği, toksitesi, komplikasyonları yönünden üzerinde daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği düşünülmektedir.

ÖZET

Üstün, R. Digoksin ile Monensinin Hücresel Mekanizmasının Araştırılması, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van, 2002. Bu çalışma kobay papillar kasları kullanılarak monensin ve digoksin'in muhtemel etki mekanizmasını tespit etmek amacıyla düzenlendi. Çalışmada 60 kobaydan elde edilen toplam 120 adet papillar kas kullanıldı. Kontrol (%0.1 etanol), monensin (10 µmol/L) ve digoksin (3 µmol/L) grupları normal, Na⁺ içermeyen, Ca⁺² içermeyen ve tapsigargin ilave edilmiş Krebs solüsyonlarında karşılaştırıldı. Karşılaştırmalar sonucunda monensin ve digoksin'in her ikisinin de normal ve Ca⁺² içermeyen Krebs solüsyonunda pozitif inotropik etki meydana getirdiği gözlemlendi. Monensin Tapsigargin uygulanan papillar kaslarda pozitif inotropik etki meydana getirmesine karşın, digoksin bu tür kaslarda herhangi bir etki göstermedi. Na⁺ içermeyen Krebs solüsyonundaki papillar kaslardan ise iyon dengesizliğine bağlı olarak gelişen erken kuvvetli kontraktürden dolayı sonuç alınamadı. Bu bulgular ışığı altında monensin'in pozitif inotropik etkisinin hem ekstrasellüler ve hem de SR'den salınan Ca⁺²'a bağlı olarak oluştuğu, digoksin'in ise SR'den salınan Ca⁺²'a bağlı olarak oluştuğu sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Monensin, digoksin, kobay, papillar kas

SUMMARY

Üstün, R. Investigation of the Cellular Mechanisms of Actions of Digoxin and Monensin, University of Yüzüncü Yıl, Health Sciences Institute, PhD Thesis in Physiology, Van, 2002. This experiment was carried out to determine the possible mechanism of actions of monensin and digoxin by using guinea-pig papillary muscles. A total of 120 guinea-pig papillary muscles obtained from 60 animals were used. Three treatment groups; control (%0.1 ethanol) monensin (10 $\mu\text{mol/L}$) and digoxin (3 $\mu\text{mol/L}$) were compared in normal, Na^+ -free, Ca^{+2} -free and thapsigargin-added Krebs solutions. It was found that both digoxin and monensin caused a positive inotropic effect in normal and Ca^{+2} -free Krebs solutions. Although monensin produced a positive inotropic effect in thapsigargin-treated papillary muscles, digoxin did not show a positive inotropic effect. Because papillary muscles in Na^+ -free Krebs solution showed spontaneous contractions, trusted results were not obtained in Na^+ -free medium. It is concluded that monensin produces a positive inotropic effect by depending on both extracellular Ca^{+2} and Ca^{+2} released from the sarcoplasmic reticulum (SR). Digoxin, on the otherhand, produces its effect by depending on the Ca^{+2} released from SR.

Key Words: Monensin, digoxin, guinea-pig, papillary muscle

KAYNAKLAR

1. Oto A (2001). Koroner Kalp Hastalığı: Geleceğimiz için önemli bir tehdit, *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 01.11.2001 sayfa 3-6, www.tkd.org.tr.
2. Cowie MR (1997). The epidemiology of heart failure-an epidemic in progress, chapter 2, in "Controversies in the Management of Heart Failure" Editor, A Coats, Churchill Livingstone, USA.
3. Krauss RM, Eckel RH, Howard B and Appel LJ (2001). A statement for healthcare professionals from the American Heart Association, *J. Nutr.*, 131, 132-146.
4. Anonim (2001). Ulusal Kalp Sağlığı Platformu. Değiştirilmesi gereken riskli/zararlı alışkanlıklar, kontrol altına alınabilir risk faktörleri, www.tkd.org.tr.
5. Diker E (2001). Konjestif kalp yetersizliği ve ventriküler aritmiler, *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 9-14, www.tkd.org.tr.
6. Anonim (2001). Ulusal Kalp Sağlığı Platformu, İstatistik veriler, www.tkd.org.tr.
7. Onat A, Keleş İ, Çetinkaya A, Başar Ö, Yıldırım B ve Erer B (2001). On yıllık tekharf çalışması verilerine göre türk erişkinlerinde koroner kökenli ölüm ve olaylarının prevalansı yüksek, *Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi*, 29 (1), 602-609.
8. Anonymus (2000). www.worldheart.org.
9. Sole MJ and Jeejeebhoy KN (2000). Conditioned nutritional requirements and pathogenesis and treatment of myocardial failure, *Curr. Opin Clin. Nutr. Metab. Care.*, 3(6), 417-424.
10. Anonymus (2000). www.who.org.
11. Anonymus (1999). www.who.org.
12. Anonymus (2001). Ulusal Kalp Sağlığı Platformu. Ulusal kalp sağlığı platformu öneriyor, www.tkd.org.tr.
13. Anonymus (2000). Dünya Kalp Günü Bildirisi, www.tkv.org.
14. Anonymus (2001). Ulusal Kalp Sağlığı Platformu. Dünya kalp günü ve fiziksel etkinlik, www.tkd.org.tr.
15. Levitt B and Keefe, DL (1985). Clinical use of digitalis materials, *J. Clin. Pharmacol.*, 25, 507-512.
16. Miura DS and Biedert S (1985). Cellular mechanisms of digitalis action, *J. Clin. Pharmacol.*, 25, 490-497.
17. Bigger JT (1985). Digitalis Toxicity, *J. Clin. Pharmacol.*, 25, 514-519.
18. Hoffman BF and Bigger JT (1991). Digitalis allied cardiac glycosides, in "Pharmacological Basis of Therapeutics" (Editors, AG Gilman, TW Rall, AS Nies and P Taylor, McGraw-Hill, USA).
19. Mubagwa K, Lin W, Sipido K, Bosteels S and Flameng W (1997). Monensin-induced reversal of positive force-frequency relationship in cardiac muscle: role

- of intracellular sodium in rest-dependent potentiation of contraction, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 29, 977-989.
20. Hugtenburg JG, Mathy MJ, Beckeringh JJ and van Zwieten PA (1989). The differential effect of calcium antagonists on the positive inotropic effects induced by calcium and monensin in cardiac preparations of rats and guinea-pigs, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 340, 558-571.
 21. Pressman BC (1968). Ionophorous antibiotics as models for biological transport, *Fed. Proc.*, 27(6), 1283-1288. "Alınmıştır" Tsuchida K, Otomo S (1990). Electrophysiological effects of monensin, a sodium ionophore, on cardiac purkinje fibers, *Europ. J. Pharmacol.*, 190, 313-320.
 22. Guyton AC and Hall JE (1996). Textbook of Medical Physiology, WB Saunders Company, USA.
 23. Guyton AC, Solomon EP and Davis PW (1985). Anatomy and Physiology, CBS Saunders College edition, USA.
 24. Fozzard HA (1977). Cardiac Muscle: Excitability and passive electrical properties, *Prog Cardiovasc. Dis.*, 19, 343-359.
 25. Huijinga JD (1996). Pacemaker activity and intercellüler communication, in "Textbook of Medical Physiology", Editors, AC Guyton, JE Hall, Türkçe 9. baskısı, Nobel Tıp Kitapları, İstanbul.
 26. Irisawa H (1993). Cardiac pacemaking in the sinoatrial node, *Physiol. Rev.*, 73, 197-216.
 27. Armstrong CM (1992). Voltage- dependent ion channels and their gating, *Physiol. Rev.*, 72, 5-23.
 28. Janvier NC and Boyett MR (1996). The role of Na-Ca²⁺ exchange current in cardiac action potential, *Cardiovasc. Res.*, 32(1), 69-84.
 29. Wolk R, Cobbe SM, Hicks MN and Kane KA (1999). Functional, structural, and dynamic basis of electrical heterogeneity in healthy and diseased cardiac muscle: Implications for Arrhythmogenesis and anti-arrhythmic drug therapy, *Pharmacol. Ther.*, 84(2), 207-231.
 30. Sugiuro S (1999). Actin-miyosin interaction, *Cardiovasc. Res.*, 44(2), 339-360.
 31. Murray KR, Mayes PA, Granner DK and Rodwell VW (1990). Harper's Biochemistry, 21nd Appleton and Lange Medical Publication, California, USA.
 32. Hunter PJ, McCulloch AD and Keurs HE (1998). Modeling the mechanical properties of cardiac muscle, *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 69, 289-331.
 33. Gaide MS, Lehr JT, Wong SS, Lattanzio FA and Bassett AL (1984). Comparative study of the effects of salinomycin and monensin on electrophysiologic and contractile properties of canine myocardium, *Europ. J. Pharmacol.*, 100, 321-327.
 34. Sodeman WA and Sodeman TM (1985). Sodeman's Pathologic Physiology Mechanisms of Disease, Sodeman's Fizyopatoloji, Türkiye Klinikleri Yayınevi, 2. Baskı, Ankara.

35. Brady AJ (1991). Mechanical properties of isolated cardiac myocytes, *Physiol. Rev.*, 71, 413-429.
36. Augustus O and Grant MB (2001). Molecular biology of sodium channels and their role in cardiac arrhythmias, *Am. J. Med.*, 110(4), 296-305.
37. Sipido KR and Wier WG (1991). Flux of Ca^{2+} across the sarcoplasmic reticulum of guinea pig cardiac cells during excitation-contraction coupling, *J. Physiol.*, 435, 605-630.
38. Bers DM (2000). Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction. *Circ. Res.*, 87, 275-281.
39. Fabiato A (1985). Simulated calcium current can both cause calcium loading in and trigger calcium release from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine cardiac purkinje cell, *J. Gen. Physiol.*, 85, 291-320.
40. Satoh H, Ginsburg KS, Qing K, Terada H, Hayashi H and Bers D (2000). KB-R7943 block of Ca^{2+} influx via $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange does not alter twitches or glycoside inotropy but prevents Ca^{2+} overload in rat ventricular myocytes, *Circulation*, 101, 1441-1446.
41. Meral I, Hembrough FB, Bailey TB and Hsu W (2002). Functional changes in isolated guinea-pig papillary muscles induced by monensin and digoxin, *J. Vet. Med. A.*, 49, 51-56.
42. Wier WG and Balke CW (1999). Ca^{2+} release mechanisms, Ca^{2+} sparks, and local control of excitation-contraction coupling in normal heart muscle, *Circ. Res.*, 85, 770-776.
43. Hobai IA and Levi AJ (1999). Review coming full circle: membrane potential, sarcolemmal calcium influx and excitation-contraction coupling in heart muscle. *Cardiovasc. Res.*, 44, 477-487.
44. Bers DM (1999). Ca^{2+} channels in cardiac myocytes: structure and function in Ca^{2+} influx and intracellular Ca^{2+} release, *Circ. Res.*, 42 (2), 339-360.
45. Honore E, Adamantidis MM, Dupuis BA, Challice CE and Guilbault P (1986). Calcium channels and excitation-contraction coupling in guinea-pig papillary muscle, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 65, 1832-1839.
46. Kitazawa T (1984). Effect of extracellular calcium on contractile activation in guinea pig ventricular muscle, *J. Physiol.*, 355, 635-659.
47. Anonymus (2001). Cardiac insufficiency and failure (principles of heart disease), Veterinary Heart Institute, www.vetheart.com/diseases.html.
48. Kocic I (1999). Modulation of the contractility of guinea pig papillary muscle by the activation of ATP-sensitive K^+ channels. *Europ. J. Pharmacol.*, 301, 115-119.
49. Haunstetter A and Izumo S (1998). Apoptosis basic mechanisms and implications for cardiovascular disease, *Cir. Res.*, 82, 1111-1129.
50. Karmazyn M, Gan XT, Humphreys RA., Yoshida H and Kusumoto K (1999). The myocardial Na^+-H^+ exchange structure, regulation, and its role in heart disease, *Cir. Res.*, 85, 775-786.

51. Despopoulos A and Silbernagl S (1997). Renkli Fizyoloji Atlası, Türkçe Çeviri Editörü: H Çavuşoğlu, Nobel Tıp Kitabevi/Yüce Yayınları, 4. baskı, İstanbul.
52. Yılmaz B (1999) Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi, Feryal Matbaacılık, Ankara.
53. Notterma DA (1991). Inotropic agents. Catecholamines, digoxin, amrinone, *Crit. Care Clin.*, 7, 583-590.
54. Meral I (1998). Effects of different concentrations of monensin on the contractility changes of guinea-pig papillary muscle, *Tr. J. Vet. Anim. Sci.*, 22, 145-149.
55. Goth A (1968). Medical Pharmacology, The C.V. Company, Saint Louis, USA.
56. Scholz H and Schmitz W (1984). Positive inotropic effects of digitoxin and digitoxin-glucuronide in human isolated ventricular heart muscle preparations, *Basic Res. Cardiol.*, 79, 134-139.
57. Bökesoy TA, Çakıcı İ ve Melli M (2000). Farmakoloji Ders Kitabı. Gazi Kitabevi, Ankara.
58. Hauptman PJ and Kelly RA (1999). Cardiovascular drugs: digitalis, *Circulation*, 99, 1265-1270.
59. Eisner DA (1986). The Role of intracellular Ca^{2+} ions in the therapeutic and toxic effects of cardiac glycosides and catecholamines, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 8 (supply). 3, 2-9.
60. Hoffman BF and Singer DH (1964). Effects of digitalis on electrical activity of cardiac fibers. *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 7, 226-231.
61. Luciano VS, Sherman JH and Luciano DS (1990). Human Physiology, 5nd Ed. York Graphicis Services, USA.
62. Cattell H and Gold M (1940). Mechanism of digitalis action abolishing heart failure, *Arch. Intern. Med.*, 65, 263-271.
63. Ebner F, Bachmaier A, Schönsteiner G and Reiter M (1985). Diffusion-controlled receptor occupancy determines the rate of inotropic action of some cardioactive steroids, *J. Moll. Cell. Cardiol.*, 17, 1115-1126.
64. Garg R, Gorlin R, Smith T and Yusuf S (1997). The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure, *N. Engl. J. Med.*, 336, 525-533.
65. Mollenhauer HH, Morre DJ and Rowe LD (1990). Alteration of intracellular traffic by monensin; mechanism, specificity and relationship to toxicity, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1031, 225-246.
66. Daştan M (1999). Akkaraman erkek toklularının karma yemlerine katılan monensin, lasalocid ve salinomycin'in rumen sıvısı ve kan parametreleri üzerine etkisi, Y.Y.Ü. Fen Bil. Enst., Zootekni Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Van.
67. Spears JW (1990). Ionophores and nutrient digestion and absorpsiyon in ruminants, Symposium, *J. Nutrition.*, 120, 632-638.
68. Çınar DA (1994). Monensinin buzağılarda büyüme ve gelişme üzerine etkisi, A. Ü. Sağlık Bil. Enst., Doktora tezi, Ankara.

84. Kocic I (1997). Thapsigargin attenuates the potentiation of positive inotropic effect of digoxin induced by pretreatment with rimalkalim in the guinea pig heart, *Polish J. Pharmacol.*, 49, 425-430.
85. Zhu BH, Guan YY, Min J and He H (2001). Contractile responses of diabetic rat aorta to phenylephrine at different stages of diabetic duration, *Acta Pharmacol. Sin.*, 22(5), 445-449.
86. Barry WH, Hasin Y and Smith TW (1985). Pump inhibition, enhanced calcium influx via sodium-calcium exchange, and positive inotropic response in cultured heart cells, *Circulation Res.*, 56, 231-241.
87. Priebe L, Friedrich M and Benndorf K (1996). Functional interaction between K_{ATP} channels and the Na^+-K^+ pump in metabolically inhibited heart cells of the guinea-pig, *J. Physiol.*, 492(2), 405-417.
88. Snedecor GW and Cochran WG (1989). Statistical Methods, 8 th Ed, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
89. Ergün M (1995). Bilimsel Araştırmalarda Bilgisayarla İstatistik Uygulamaları: SPSS for Windows, Ocak yayınları, Sıhhiye Ankara.



YÖNETİM KURULU
DOKÜMANLARI MERKEZİ

ÖZGEÇMİŞ

13.11.1970 tarihinde Muğla'nın Milas ilçesine bağlı Ören Kasabası'nda doğdu. İlk ve ortaokulu Ören İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini Muğla Turgut Reis Lisesi'nde tamamladı. 1988 yılında kazandığı İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1993 yılında Veteriner Hekim olarak mezun oldu. Askerlik vazifesini 1995 yılında Diyarbakır'da yedek subay olarak tamamladı. 1995-1996 yıllarında Ören Kasabası'nda bir yıl serbest klinik işletti.

Eylül 1996 döneminde Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji A.B.D.'da doktora öğrenimine başladı. Mayıs 1997'de ise Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi kadrosuna atandı. Şubat 2002 de kendi isteğiyle araştırma görevliliği kadrosundan ayrıldı. Mart 2002 tarihinden bu yana da Afyon da özel bir klinik işletmektedir. Evli ve üç çocuk babasıdır.

