

27706

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI

**SICAK VE SOĞUK KANLI İSKELET KASLARININ
BİYOELEKTRİK VE BİYOMEKANİK
PARAMETRELERİNE KETAMİNİN ETKİSİ**

MASTER TEZİ

DANIŞMANI
Doç. Dr. İsmail GÜNAY

MASTER ÖĞRENCİSİ
IŞIL ÖCAL

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

ADANA - 1993

TEŐEKKÖR

Tez konumun seçilmesinde, yűrűtűlmesinde ve tamamlanmasında desteęini esirgemeyen ve her tűrlű fedakarlıęa katlanan Biyofizik Anabilim Dalı BaŐkanı hocam Doç.Dr.İsmail Gűnay'a, elektrofizyolojik aletlerin kullanılmasında Fizyoloji Anabilim Dalı BaŐkanı Prof.Dr.Tuncay Őzgűnen'e, fizyoloji konularında yardımını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr.Gűlay Loęoęlu'na sonsuz teŐekkűrlerimi sunarım.

Ayrıca Fizyoloji araŐtırma gűrevlisi Dr.Mustafa İteęin'e, istatistiklerde yardımcı olan Dr.Seçil Binokay'a, yazılmasında emeęi geçen Anatomi Anabilim Dalı sekreterlerinden Nuray Aslan'a ve tűm Biyofizik ve Fizyoloji Anabilim Dallarını personellerine teŐekkűr ederim.

ÖZET

Bu çalışmada soğuk ve sıcak kanlı deney hayvanlardan kurbağa ve sıçanın siyatik sinir-sartorius kas ve frenik sinir-hemidiyaf-ragma sinir-kas preparatlarının biyoelektrik ve biyomekanik parametreleri ve bu parametrelere ketaminin etkisi incelenmiştir. Çalışmada ağırlıkları 80-100 g arasında değişen Rana-pipien türü kurbağadan disekte edilen 18 adet siyatik sinir-sartorius kas preparatı ile, ağırlıkları 200-230 g arasında değişen Albino-wistar türü sıçandan disekte edilen 13 adet frenik sinir-hemidiyaf-ragma kas preparatı kullanılmıştır.

Bu preparatların normal ve ketamin dozuna bağlı mekanogram değerleri, izole organ banyosunda izometrik çevirec ile ölçüldü. Her iki preparatta da nöromüsküler iletimin blokaj miktarları artan ketamin dozu ile artmakta, fakat iletimi bloke eden ketamin konsantrasyonları farklı olmaktadır. Bununla birlikte, ketamin etkisinin ortadan kalkma süresi, yani yıkandıktan sonra geriye dönüş süreleri aynıdır.

Kullanılan preparatlarının biyoelektriksel parametreleri mikroelektrot yöntemiyle ölçüldü. Her iki preparatın biyoelektriksel parametrelerinin normal değerlerinin farklı olduğu, fakat zar ve aksiyon potansiyeli parametrelerinin ketaminin dozuna bağlı olarak değiştiği bulundu.

Soğuk ve sıcak kanlı iskelet kaslarının biyomekaniksel ve biyoelektriksel özelliklerinin farklı olduğu ve bu kaslarda ketaminin doza bağlı etki derecelerinin de farklı olduğu belirlendi. Literatürde soğuk ve sıcak kanlı kasların biyoelektrik ve biyomekanik parametrelerine (BBP) ait çok sayıda bilgi bulunmaktadır. Bu çalışmada laboratuvarımızda kullanılan Rana-pipien türü kurbağanın sartorius sinir-kas preparatlarının BBP'nin normal değerleri ile Albino-wistar türü sıçanın diyafragma sinir-kas preparatlarının BBP'nin normal değerlerini saptamak ve karşılaştırmak da amaçlanmıştır.

Klinikte genel anestezi olarak kullanılan ketamin, lokal anestezi gibi davranıp sinir-kas preparatlarında nöromüsküler

kavşacı etkileyerek iletimi bloke eder. Düşük ketamin konsantrasyonları zarı depolarize, yüksek konsantrasyonları ise zarı hiperpolarize eder. Sıcak kanlı sıçan frenik sinir-hemidiyafragma kas preparatında nöromüsküler iletimi bloke eden ketamin konsantrasyonu, soğuk kanlı kurbağa siyatik sinir-sartorius kas preparatında nöromüsküler iletimi zayıflatır, yani bloke edemez, ancak daha yüksek ketamin konsantrasyonlarında nöromüsküler iletim bloke olur.

Ketaminin doza bağılı olarak oluşturduğu etkinin farklı olması, kullanılan preparatların yapısı, işlevleri ve ortam sıcaklığının farklı olmasından ileri gelmektedir.



İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1-2
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Hücre ve Hücre Zarı.....	3-4
2.1.1. Pasif Taşınım.....	4-5
2.1.2. Kolaylaştırılmış Diffüzyon.....	5
2.1.3. Aktif Taşınım.....	5-6
2.2. Voltaj Bağımlı İyon Kanalları.....	6
2.2.1. Sodyum Kanalları.....	6-7
2.2.2. Potasyum Kanalları.....	7-8
2.2.3. Kalsiyum Kanalları.....	8-9
2.3. Kasta Hücreiçi ve Hücredişi Ortam.....	9
2.4. Akson.....	9-10
2.5. İskelet Kası.....	10-13
2.6. Sıçan ve Kurbağa Kaslarının Yapısı.....	13
2.6.1. Histolojik Yapıları.....	13-14
2.7. Sinir-Kas Kavşağı.....	14-17
2.8. Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi.....	17-18
2.9. Termoregülasyon.....	18
2.9.1. Poiklotermlerde Termoregülasyon.....	18-19
2.9.2. Homoitermlerde Termoregülasyon.....	19-21
2.10. Kas Kasılmasına Sıcaklığın Etkisi.....	21-22
2.11. Zar Potansiyelleri.....	22-23
2.12. Aksiyon Potansiyelleri.....	23-26
2.13. Lokal Anestezikler.....	26-27
2.13.1. Yapı-Etki İlişkisi.....	27-28
2.13.2. Etki Mekanizması.....	28
2.13.3. Lokal Anesteziklerin Sodyum Kanallarına Etkisi.....	28-31
2.14. Genel ve Lokal Anestezikler.....	31
2.15. Ketamine Hidroklorür.....	32-33
3. MATERYAL VE METOD.....	34
3.1. Organ Banyosunda Kullanılan Cihazlar.....	34
3.2. Intraseküler Kayıtlarda Kullanılan Cihazlar.....	34
3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler.....	34-35
3.4. Çevireçler (Transducer).....	35-37
3.5. Mikroelektrot.....	37-38
3.5.1. Cam Mikroelektrotlar.....	38-39
3.6. Sıçan.....	39
3.6.1. Sıçan Frenik Sinir-Diyafagma Kası.....	39
3.6.2. İzole Organ Banyosunda Kasılma Kuvvetinin Ölçülmesi.....	39-42
3.7. Kurbağa.....	42
3.7.1. Siyatik Sinir-Sartorius Kas Preperatı Diseksiyonu.....	42-43
3.7.2. İzole Organ Banyosunda Kasılma Kuvvetinin Ölçülmesi.....	43-44
3.8. Intraseküler Kayıt.....	44-45

4. BULGULAR.....	46
4.1. Mekanogramlar.....	46-52
4.2. Elektrofizyoloji.....	53-57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	58
5.1. Biyomekanik Parametreler.....	58-60
5.2. Biyoelektrik Parametreler.....	60-61
5.3. Ketaminin Etkisi.....	61-63
5.4. Sonuçlar.....	64
6. KAYNAKLAR.....	65-69



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çok hücreli canlı organizmalarda iç haberleşme iki mekanizmayla gerçekleşmektedir. Genellikle hücre düzeyinde ve özel olarak, dolaşım ile uzak mesafeler arası haberleşmeler, hormon adı verilen kimyasal haberci meddelerle sağlanırken, (çok hücrelilerde) uzak mesafeler arasındaki hızlı ve doğru haberleşmeler sinir sinyalleri aracılığıyla olmaktadır.

Gelişmiş canlı organizmaların sinir sistemi, periferik sinir sistemi ve merkezi sinir sistemi olarak üzere ikiye ayrılabilir. Haberleşmenin yapısal birimi sinir hücresi, efektör organın birimi de kas hücresidir. Sinir ve kas hücreleri herhangi bir uyararla uyarılabilen uyarılabilir dokulardır. Merkezi sinir sisteminden gelen bir uyarı doğrudan kasa ulaşamaz. İmpuls, sinir ucu ve kas lifi arasındaki nöromusküler bağlantıya gelir ve kimyasal olarak kasa iletilir. Bir sinir impulsu nöromusküler bağlantıya ulaştığı zaman, sinaptik aralığa presinaptik terminaldeki ACh vesiküllerinden ACh molekülleri salınır. ACh molekülleri postsinaptik zarı etkiledikçe zarı depolarize eder. Postsinaptik zar, kimyasal olarak aktive edilebilen iyon kanalları ve bazı enzimler içerir.

Sinir-kas preparatlarının buldukları fizyolojik ortama eklenen bazı kimyasal maddeler zardaki iyon kanallarına etki ederek sinyali bloke etmektedirler. Bu maddelerden birisi olan ketamin, klinikte genel anestezi olarak düşük dozlarda kullanılmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda ketamin zarı depolarize ederken yüksek konsantrasyonlarda lokal anestezi etki göstererek zarın uyarılabilirliğini deprese etmektedir (1-6).

İn-vitro preparatlarda ketaminin etki mekanizması, voltaj-clamp (voltaj-kenetleme) ve mikroelektrot teknikleriyle araştırılmıştır. Ketaminin nöromusküler ekleme etkisi, yukarıdaki tekniklerin yanında kuvvet çevireçleriyle de (force-transducer) incelenmiştir (7-9).

Soğukkanlı kurbağa (Rana-pipiens) sıyatik sinir-sartorius kas

preparatı üzerinde in-vitro olarak yapılan deneylerde, ketaminin blokaj etkisinin doza bağılı olarak arttığı, 200 µM ketamin konsantrasyonunda kasılma kuvvetinin % 95 oranında azaldığı, ketaminin dozuna bağılı olarak minyatür son-plak potansiyellerinin frekanslarının ve genliklerinin düştüğü ve ayrıca ketaminin aksiyon potansiyellerinin sürelerini, sodyum kanal aktivasyonunu bloklayıp potasyum iletkenliğini arttırarak uzattığı belirlenmiştir (10,11).

Soğuk kanlı kurbağa (*Rana-pipiens*) iskelet kası liflerinde mikroelektrot tekniğiyle yapılan deneylerde, ekstrasellüler olarak uygulanan ketaminin, kas liflerinde sodyum kanallarının intrasellüler taraflarına yakın yerlerinde bulunan opiat sigma reseptörlerinin subtiplerine etki ederek sodyum iletkenliğini deprese ettiği ve uyarılabilirmeyi blokladığı gözlenmiştir.

Ayrıca soğuk kanlı kurbağa izole Ranvier boğumunda ve mürekkep balığının dev aksonunda voltaj-clamp tekniği ile yapılan deneylerde ekstrasellüler olarak uygulanan ketaminin doza bağılı olarak dinlenim zar potansiyelini düşürdüğü belirlenmiştir (17).

Sıcak kanlı sıçanların izole frenik sinir-hemidiyafragma kas preparatlarında in-vitro olarak yapılan deneylerde, ketaminin doza bağılı olarak presinaptik terminalden ACh'in serbestisini ve sentezini inhibe ettiği, ön ve arka beyinlerden izole edilmiş sinaptosomlarda ise ketaminin amino-asit yapısındaki nörotansmitterlerin geri alınımını (uptake) blokladığı, diğer sinir-kas kavşağı deneylerinde ise ketaminin voltaj-bağımlı sodyum kanallarından sodyumun içeriye doğru akışını engelleyerek sinir-kas kavşağını bloke ettiği gözlenmiştir (9,12-16).

Şimdiye kadar soğuk ve sıcak kanlı deney havanlarının sinir-kas kavşağına ketaminin doza bağılı etkisi incelenip karşılaştırılmamıştır. Bu nedenle bu araştırmada, soğuk ve sıcak kanlı deney hayvanları sinir-kas preparatlarının biyoelektriksel ve biyomekanik parametrelerine ketaminin konsantrasyona bağılı etkileri, biyomekanik ve biyoelektrik yöntemlerle incelenmiş ve karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hücre ve Hücre Zarı

Bir canlı organizmanın en basit birimi hücredir. Tek bir hücre tüm canlılık işlevlerini yürütebilen, bağımsız yaşayabilen açık bir sistemdir. Doku yapılarındaki hücreler de, tıpkı bağımsız hücreler gibi açık sistemlerdir. Hücrelerarası sıvı (interstial fluid), ortam içinde bulunan ve ortamdaki hücre zarı ile ayrılan doku hücreleri arasında bulunur.

Hücre zarının temel işlevi, hücre bütünlüğünü korumaktır. Zar, iç ortamın özelliklerinin sabit kalmasını, dış ortamdaki etkilenmesini sağlar. Hücrenin çevresi ile seçimli madde alışverişi yapması, gereksinim duyulan maddelerin kolaylıkla içeriye alınması, reaksiyonlar sonucu artık ürünlerin dışarıya atılması hücre zarı aracılığıyla gerçekleşir.

Extrasellüler sıvı hücrelere fonksiyonları için gerekli besin maddelerini ve öteki maddeleri sağlar. Fakat hücrelerin bu maddelerden yararlanması için hücre zarından taşınmaları gerekir.

Hücrenin bütün fiziksel yapıları temelde lipid ve proteinlerden oluşan zarlarla çevrilidir. Zarlardaki lipidler, su ve suda eriyen maddelerin hücrede bir kompartmandan ötekine serbestçe hareketlerini önleyen bir bariyer oluşturur. Temel yapısı 2 molekül kalınlığında ince bir film ibaret çift katlı bir lipid tabakasıdır ve hücre yüzeyini tamamen kaplar. Zarın çift katlı lipid tabakası, genellikle iyonlar, glikoz üre v.b. suda eriyen maddelere geçirgen değildir. Bu çift lipid tabakası içinde yüzen küresel yapılar çoğu glikoprotein olan zar proteinleri bulunur. Zarda 2 çeşit protein vardır:

1. Zarın kalınlığı boyunca uzayarak çıkıntı yapan integral proteinler.

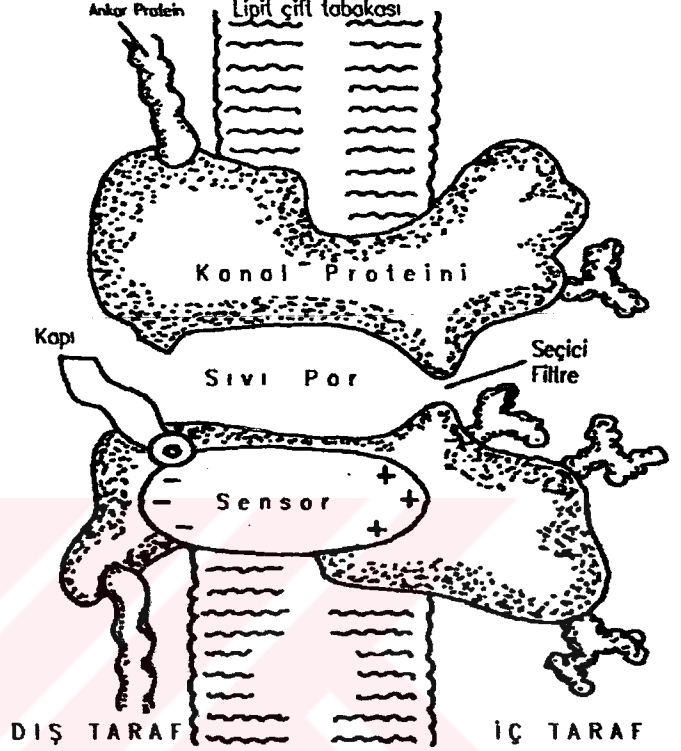
2. Zarın içine girmeyip, yüzeyine tutunan periferik proteinlerdir.

Integral proteinler suda eriyen maddelerin, özellikle

iyonların ekstrasellüler ve intrasellüler sıvılar arasında kolayca difüzyona uğrayabileceği kanallar (porlar) içerir. Periferik proteinlerin hepsi enzim görevi yaparlar. Zardaki enerji dönüşümlerinde hücrenin çevresi ile madde alış verişinin seçimli olmasında, proteinler önemli rol oynar.

Zarlardaki iyon kanalları, hormon reseptörleri, taşıyıcı proteinler gibi işlevsel birimler izole edilerek incelenebilmektedir (Şekil.2.1).

Taneciklerin zardan geçiş tarzları oldukça çeşitlidir. Aynı tür bir tanecik, moleküler mekanizmaları farklı birkaç değişik yoldan zarı geçebilmektedir. Bilinen taşınım (transport) mekanizmaları enerjetik açıdan pasif taşınım ve aktif taşınım olarak iki başlıkta toplanabilmektedir (18-23).



Şekil 1.1: Hücre zarının kanal yapısı.

2.1.1. Pasif Taşınım

Metabolik bir enerji harcanması gerekmeyen, konsantrasyon ve elektriksel potansiyel gradyent kuvvetleri etkisinde taneciklerin zardan kendiliğinden geçişlerinin pasif taşınım (pasif geçiş) denir. Pasif taşınımın basit difüzyon ve kolaylaştırılmış difüzyon olarak adlandırılan iki biçimi vardır.

Basit Difüzyon: Bir başka molekülün aracılığı olmaksızın, taneciklerin zardan kendi kinetik hareketleriyle geçişine denir. Zarın, lipid çift tabakasından ve protein kanallarından geçişler basit difüzyonla olur.

Doğrudan Geçiş: İstatiksel karakterde oldukları kabul edilen geçitlerden ancak molekül ağırlığı küçük, hızları büyük olan

moleküller geçebilmektedir. Hidralize olarak irileşen iyonların bu geçitlerden geçme olasılıkları çok düşüktür.

Protein Kanallarından Geçiş: Yüklü tanecikler, zarı ancak içsel(integral) proteinlerin meydana getirdikleri kanallardan geçebilmektedir. Protein kanallarının çok az bir kısmı her koşul altında açık bulunabilir. Bunlar pasif veya kapısız kanal olarak adlandırılır.

Aktif veya kapılı kanal olarak adlandırılan diğer çoğu protein kanalları ise, özel kapılar tarafından açılıp kapanırlar. Protein kanallarını kontrol eden kapılar, açılıp kapanma mekanizmalarına göre üçe ayrılır:

- i) *Potansiyel bağımlı kapılar, (voltaj kapıları)*
- ii) *Kimyasal ajanlara bağımlı kapılar, (ligand kapıları)*
- iii) *Mekanik kapılar.*

Sinir ve kas hücre zarlarındaki kapılar, bilgiyi iletiminde rol alan sodyum ve potasyum kanal kapıları, potansiyele bağımlı olarak çalışırlar. Sinaptik iletimlerde rol alan kanallar, transmitter adı verilen moleküllerin proteinle birleşmesi sonucu açılırlar.

2.1.2. Kolaylaştırılmış Difüzyon

Zarı doğrudan geçemeyen bazı taneciklerin zarındaki özel, taşıyıcı bir proteine bağlanarak zarı geçmesince *kolaylaştırılmış difüzyon* veya *taşıyıcı aracılığı ile geçiş* denir. Tanecikler ilke olarak iki yönde de taşınabilir. Net geçiş yönünü pasif gradyentler belirler, ancak basit difüzyonda akı, konsantrasyon farkı ile doğru orantılı olarak artarken, kolaylaştırılmış difüzyonda konsantrasyon farkı artarken akı, bir doygunluk değerine ulaşır.

2.1.3. Aktif Taşınım

Hücre zarlarında bazı molekül ve iyonların, biyolojik metabolik enerjisi harcanarak, pasif gradyentlerin belirlediği yönün tersi yönde (yokuş-yukarı) taşınmasına aktif taşınım denir. Aktif taşınımında taşıyıcı proteinler rol alırlar. Gerçekli enerji ATP'den sağlanır Ayrıca taşıyıcı proteinler ATP az aktivitesine de sahiptirler. Hücre zarlarından aktif olarak taşınan maddeler

arasında Na^+ , K^+ , Ca^{++} , H^+ , Cl^- , I^- iyonları sayılabilir.

Proteinler, biri sodyuma diğeri glikoza (veya amino asite) bağlanabilen iki reseptör bölgeye sahiptir. Sodyum kendi konsantrasyon gradyenti etkisinde içeriye doğru taşınırken bu sırada glikoz daha yüksek konsantrasyon bölgesine taşınabilir.

Taşıyıcı bir protein, dış tarafında sodyuma bağlanma yerine, iç tarafında kalsiyum, potasyum gibi bir başka iyonla bağlanma yerine sahip olabilir. Bu durumda sodyum kendi gradyenti etkisinde içeri doğru taşınırken, karşıt iyon yokuş-yukarı taşınabilir. Bazı hücrelerde rastlanan sodyumla diğeri iyonların bu şekilde aktif olarak değiştirilmesi yöntemine *sodyumla karşıt taşınım* (cotransport) denir.

Eğer bir maddenin zardan geçişleri konsantrasyon gradyenti, potansiyel gradyenti gibi yalnızca pasif kuvvetlerle yönetiliyor ve maddenin zardan net geçiş akısı sıfır ise, bu maddenin *dengede olduğu*; aktif ve pasif geçişlere rağmen, hücre kompozisyonunun zamanla değişmediği durumda ise *kararlı durumda* veya dinamik denge durumunda olduğu söylenir (18-23).

2.2. Voltaj Bağımlı İyon Kanalları

Hücre zarlarındaki iyon kanallarının, kesikli olarak çalışan, iyon seçici moleküler gözenekler olduğu bilinmektedir. Kanalın yapısını meydana getiren içsel (integral) proteinler, çeperlerinde polar grup ve yüklü gruplar bulunan gözenekli bir yapıya sahiptir.

Kanal kapılarının açılıp kapanması için gerekli konformasyon değişiklikleri, yüklü veya dipolar yapıdaki bir voltaj sensörüne, etkiyen elektriksel kuvvetlere, veya nörotransmitter moleküllerin bağlanmasından doğan kimyasal kuvvetlere bağlıdır. Kanallar oldukça fazla seçiciliğe sahiptirler, ancak bir kanal göreceli olarak, zayıfda olsa birçok farklı türden iyonu da geçirebilmektedir. Na^+ kanalları, Na^+ iyonları yanında Li^+ iyonlarını Na^+ iyonları kadar iyi geçirmektedir.

Bir uyarının yayılması ile ilgili en önemli kanallar Na^+ kanalları, K^+ kanalları ve Ca^{++} kanallarıdır. Özellikle sinaptik

iletim sonrası hücrenin ne türden yanıt oluşturacağı zarda bulunan kanalların türlerine bağlıdır. Bir nöronun farklı bölgelerinde kanallar farklı dağılım göstermektedir. Örneğin Ca^{++} kanalları sinir son uçlarında çok yoğundur ve bu kanallardan içeri Ca^{++} girişi ile transmitter madde salınır.

2.2.1. Sodyum Kanalları

Bu kanallar paralitik ve öldürücü etkileri olan, suda çözülebilen iki önemli zehir, tetrodotoxin (TTX) ve saxitoxin (STX) tarafından bloke edilirler. Kanalları tersinir biçimde bloke eden bu iki molekülün de zarın dış yüzeyinde bulunan aynı bağlanma bölgesine bağlanırlar. Bazı lokal anestezik molekülleri ise kanal içindeki farklı bağlanma yerlerine bağlanarak kanalı bloke etmektedirler.

Sodyum kanalları düşük pH'larda bloke olurlar. Bu olay, kationların kanalı geçmesinde kanal içindeki iyonlaşmış bir karboksil asit grubunun (COO^-) yardımcı olduğunu düşündürmüştür. Asidik ortamda bu grup, proton bağlayarak negatif yükünü kaybederek bloke olur. Kanalin en darlaştığı yerde bulunan bu COO^- grubu ile hidrojen bağı yapabilen, hidroksil ($-OH$) veya amin ($-NH_2$) gruplarını içeren, pozitif yüklü iyonlar sodyum kanalından geçebilmektedir. Hidrojen bağı yapamayan metil grubu içeren pozitif yüklü iyonlar ise Na^+ kanalını geçememektedir (5,18-27).

Memelilerin miyelinsiz aksonları ve iskelet kas lifleri dahil birçok zarda, birim alandaki Na^+ kanal sayısı $70-500 \mu/m^2$ 'dir. Na^+ kanalları arasındaki ortalama uzaklığın 100 nm 'olup kanallar yüzeyine çok seyrek dağılmışlardır. Bir sodyum kanalının iletkenliği ise $\gamma_{Na} = 2-10 \text{ pS}$ 'dir.

İnsan ve Rat kas liflerinde kurbağa kas liflerinden daha az sayıda voltaj-bağımlı potasyum kanalları vardır. Patch-clamp yöntemiyle amfibilerde tek kanal iletkenliği $29 \text{ pikosiemens (ps)}$, memelilerde 45 ps ve memelilerde voltaj-kapılı Na ve K kanallarının tek kanal iletkenliği, amfibilerden 2-3 kez daha büyük iletkenliğe sahip olduğu bulunmuştur (21).

Bir kanalın açık durumda bulunma olasılığı, bir depolarizasyon basamağının ilk dönemlerinde artar. dinlenme halinde kanalların

büyük çoğunluğu genellikle kapalı durumda, şiddetli bir depolarizasyon sırasında ise açık durumdadır. Ara depolarizasyonlarda her bir Na^+ kanalı zamanın büyük bir kesimini açık ve kapalı durumlar arasında gidip gelmekle geçirir (3-12).

Sodyum Kanalının Aktivasyonu: Zar potansiyeli sükun durumdan daha az negatif olursa, yani -90 mV'tan sıfıra yükselirse (genellikle -70 ve -50 mV'da) aktivasyon kapısında ani bir konformasyon değişikliği yaratarak kapı açık duruma getirir. Aktif durum denilen bu durumda sodyum iyonları bu kanaldan içeriye akarak, zarın sodyum geçirgenliğini $500-5000$ kat arttırır (5,21-27).

Sodyum Kanalının İnaktivasyonu: Aktivasyon kapısını açan voltaj yükselmesi inaktivasyon kapısını kapatır. İnaktivasyon kapısının kapanması aktivasyon kapısının açılmasından saniyenin onbinde birleri kadar sonra meydana gelir. İnaktivasyon kapısını kapanmış duruma geçiren konformasyon değişikliği yavaş bir olay olduğu halde, aktivasyon kapısını açan konformasyon değişikliği çok hızlı bir olaydır.

Sodyum kanalının çok önemli bir karakteristiği ise, inaktivasyon kapısının zar potansiyeli tam başlangıç dinlenim potansiyeli düzeyine yada ona yakın bir değere dönünceye kadar tekrar açılmamasıdır (5,21-27).

2.2.2. Potasyum Kanalları

Aksonlarda aksiyon potansiyelinin repolarizasyon evresinde rol alan tek tipte K^+ kanalı vardır. Dinlenim durumunda K^+ kanalının kapısı kapalıdır. Zar potansiyelinin -90 mV'dan sıfıra doğru yükselmesi, kapının yavaşça açılmasını sağlayacak bir konformasyon değişikliği yaratır ve bu potasyumun zardan dışarıya doğru diffüzyonunu arttırır. Ancak potasyum kanallarının açılmasındaki yavaşlık nedeniyle bu açılma, sodyum kanallarının inaktivasyonla kapanmasına rastlar. Böylece sodyumun hücreye girişi azalırken, aynı zamanda potasyumun hücreden çıkışı, repolarizasyon olayını hızlandırır ve potansiyel saniyenin onbinde birleri kadar bir süre içinde tamamen dinlenim potansiyeline döner (21-27).

2.2.3. Kalsiyum Kanalları

Her ne kadar aksonların uyarılmasında Na^+ ve K^+ kanalları rol

oynasa da, bunun yanısıra birçok uyarılabilir hücrede Ca^{++} kanalları da önemlidir. Kalp ventrikülünde bir aksiyon potansiyeli 0,2-0,5 s sürmektedir. Çabuk inaktive olan Na^+ kanalları ile bu kadar uzun süreli depolarizasyonlar gerçekleştirilemez. Bu dokuda zarlar, Na^+ kanallarına ek olarak aktive olmaları için daha büyük depolarizasyonlar gerektiren ve hemen inaktive olmayan Ca^{++} kanalları içermektedir.

Genel olarak Na^+ kanalları çok kısa süreli ve hızlı yükselen aksiyon potansiyelleri verirken, Ca^{++} kanalları uzun süreli ve yavaş yanıtlar verirler. Sodyum kanalları aktive edildiği zamanki voltaj düzeyi üzerine, interstisyel sıvıdaki kalsiyum iyon konsantrasyonunun etkisi çok büyüktür. Kalsiyum iyonları eksikliğinde, sodyum kanalları, zar potansiyelinin normal sukun düzeyi üzerine hafifçe yükselmesiyle kolayca aktive olur. Ca^{++} iyonları sodyum kanallarındaki protein molekülünün dış yüzüne tutunurlar ve kalsiyum iyonlarının pozitif yükleri, kanal proteinin elektriksel durumunu değiştirerek kapıları açmak için gerekli olan voltaj düzeyini arttıırırlar (21-27).

2.3. Sıçan ve Kurbağa Kaslarında Hücreiçi ve Hücre dışı Ortam

Her iki preperat içerdiği iyonlar bakımından farklıdır. Sıcak kanlı sıçan diyafagma kasının iyon kompozisyonu $K_i/K_o = 39$, $Na_o/Na_i = 12$, $Cl_o/Cl_i = 30$, soğuk kanlı kurbağa sartorius kasının iyon kompozisyonu $K_i/K_o = 56$, $Na_o/Na_i = 13$, $Cl_o/Cl_i = 33$ dir. Bu nedenle extrasellüler akışkanın öziletkenliği, sıcak kanlı sıçanda 68 $\Omega.cm$, soğuk kanlı kurbağada 77 $\Omega.cm$ dir.

2.4. Akson

Soma nöronun ana gövdesidir. Tek bir akson soma bölümünden periferik sinire kadar uzanır. Dendritler ise somadan medulla spinalisin komşu alanlarına kadar uzanan, 1 mm lik ince uzantılardır. Medulla spinalis ve beynin öteki bölümlerindeki nöronlar, motor nöronlardan farklıdır. Bu farklar;

- a) Hücrelerin büyüklüğü
- b) Dendritlerin sayıları ve boyları

c) Aksonların çapları ve boyları

d) Presinaptik terminallerin binlere ulaşan sayıları yönünden farklıdır.

Motor nöronda dendritte ve soma yüzeylerinde ortalama 6000 kadar küçük presinaptik terminal (düğüm) bulunur (%80-90 dendritlerde, %10-20 somada). Ayrıca tek bir nörona ait birkaç sonlanma vardır.

Hücre gövdesi birkaç $M\Omega$ 'luk dirence sahiptir. Bu sebepten dolayı uç dendritler yüksek potansiyel değişikliklerine maruz kalırlar. Eğer uç dendritler çok yüksek eksitasyon eşiğine sahip olmasalardı, impulsları deşarj etme eğiliminde olurlar ve bütün nöronunun kararlılığını ve entegrasyon görevini aksatırlardı.

Eğer uç dendritlerin zar öz direnci birkaç bin $\Omega.cm^2$ olan pasif ve kaçaklı kablolar gibi davransalardı, bunlardan kaynaklanan sinaptik bir potansiyel değişikliği yolda çok zayıflardı ve akson başlangıcına yakın kritik noktalara önemli hiçbir etki ulaşamazdı.

Bir motor sinir hücreğine ulaşan eksitatör impulslar akson başlangıcını 15-20 mV kadar depolarize etmeye yeterli ise, hücrede bir impuls oluşur, akson boyunca iletilerek kas lifine ulaşan bu impuls kas lifinde sarsıya yol açar. Kas hücreğine ulaşan ince akson dalcığının çapı 10 μm kadar ve çevresinde miyelin kılıfı yoktur. Kas hücreğinin çapı ise 100 μm kadardır. Akson dalcığına oranla kas hücreğinin çapı büyük olduğu için sinir yoluyla gelen bir impuls ancak kimyasal araçlar yardımı ile kas hücreğini uyarabilir.

Akson dalcığının ucu ile kas hücreği arasında, yani son-plak denilen bölgede asetilkolin moleküllerinden meydana gelen küçük paketler vardır. İmpuls sinir ucuna ulaşınca bu paketlerden bazıları açılır ve asetilkolin molekülleri serbest kalır (18-24).

2.5. İskelet Kası

Vücut ağırlığının % 40'ını oluşturan iskelet kasları, çapları 10-100 μm arasında değişen ve boyları kas uzunluğu boyunca uzanan kas liflerinden oluşmuşlardır. Lifler kasın sonunda, tendonlarla sonlanırlar. Her bir kas lifi, tek bir hücredir, çok çekirdeği

vardır, uzun silindirik bir yapıdadır ve sarkolemma denilen bir hücre zarı ile çevrilidir. Hücreler arasında sinsital köprüler (syncytial bridges) yoktur (18,19,21-23).

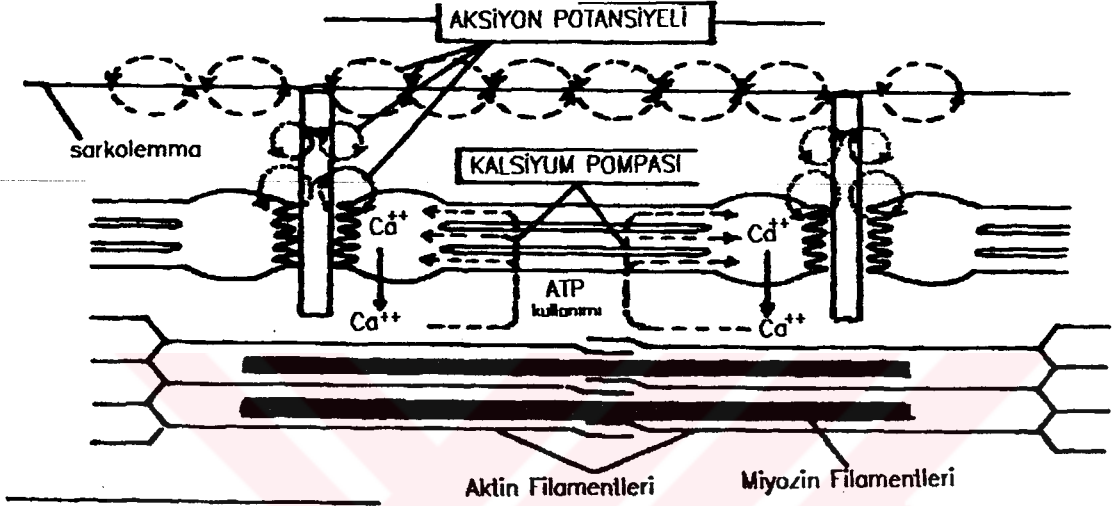
Kas lifleri bireysel filamentlere bölünbilen liflerden oluşmuştur. Filamentler, kasılma mekanizmasını (contractile-mechanism) gerçekleştiren kontraktıl proteinler içerirler. Bu proteinler, aktin, miyozin, tropomiyozin ve troponindir (Troponin-I, Troponin-T, Troponin-C). (21-23).

Şekil-2.2'de görüldüğü gibi, aktin ve miyozin filamentleri birbirine kenetlenmiş, polarize ışığa karşı duyarlı aktin filamenti izotrop (I), polarize ışığa karşı duyarlı olmayan miyozin filamentleri anizotrop (A) görülmektedir. Aydınlık I bandı, karanlık Z çizgisiyle bölünür. Karanlık A bandının merkezinde biraz daha aydınlık H hattı bulunur. A bandının H hattının ortasında oluşturduğu yarı-karanlık bölgeye ise yalancı H hattı (psedo-H zone) ve iki komşu Z çizgisi arasındaki alana da sarkomer denir. Dinlenme durumunda sarkomerin boyu 2-3 μm 'dir. Kas rclakse durumda iken, ince filamentler kalın filamentlerin üzerine binerler.

Miyozin-I, aktin bağlayıcı kompleks bir proteindir. İntestinal epitel hücrelerde ve gözde bulunur. İskelct kasında ise miyozin-2 proteini bulunur. Miyozin-2, 2 ağır zincir, 4 hafif zincir içerir. Hafif zincirler ve ağır zincirlerin N-terminali globular başlardan oluşmuştur. Bu başlar, aktin bağlayıcı ve ATP'yi hidroliz edici katalitik bölge, başlıca aktin molekülcrinde geçiş-köprüleri formundadırlar (cross-bridges). Miyozin molekülleri sarkomer merkezinin diğer tarafından simetrik biçimde yalancı H-çizgisini oluşturmuşlardır. Tropomiyozin molekülleri aktin üzerinde 2 zincir arasındaki uzun filamentlere yerleşmiştir. Herbir ince filament 300-400 aktin molekülü, 40-60 tropomiyozin molekülü içerir. Troponin molekülleri ise tropomiyozin molckülünün uzunluğu boyunca küçük globüler birimler halinde yerleşmişlerdir. Troponin-T, tropomiyozindeki diğer troponin bileşenlerini bağlar, troponin-I aktin ve miyozinin interaksiyonunu inhibe eder.

Troponin-C ise kontraksiyondaki Ca^{++} bağlayıcı bölgeler içerir. Kas lifleri zarlarla çevrilidir ve vesiküller tübüller içerirler.

Yapıları sarkotübüller sistemi biçimindedir. Sarkotübüller sistem, T-sistem ve sarkoplazmik retikulumdan oluşmuştur. Transver tübüllerin T-sistemi kas liflerinin zarıyla devam eder. 2-T sistemi arasındaki bölgede bulunan sarkoplazmik retikulum ise fibrillerin herbirinin çevresinde düzensizce bulunur ve A ve I bantları arasındaki bağlantılarda T sistemiyle kapalı kontak durumda, oldukça büyük terminal sistemlerdir. Sarkoplazmik matrikste bol miktarda potasyum, magnezyum, fosfat iyonları ve protein enzimleri vardır.



Şekil-2.2. Bir aksiyon potansiyelinin, sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum iyonlar salınmasına yol açması ve bu iyonların kalsiyum pompası tarafından geri alınması.

Ayrıca miyofibrillere paralel mitokondrilerde vardır. Sarkoplazmik Retikulum uzunlamasına tübüller ve bu tübüllerin iki ucunda şişkin kesecikler, sisternalar olmak üzere iki bölümden oluşmuşlardır.

Kas hücresi sitoplazmasına sarkoplazma denir. Sarkoplazmik matrix bol miktarda potasyum, magnezyum, fosfat iyonları ve protein enzimleri içerir. Sarkoplazma içinde kas kasılmasında çok önemli bir yeri olan zengin sarkoplazmik retikulum ağı bulunur. Bu ağ kasın kasılma hızı ile orantılıdır. Kas lifi içinde sarkoplazmik retikulum ağından başka enine tübüller veya T-borucukları denen,

diğer ağ sistemine ve miyofibrillere dik olarak yerleşmişlerdir. İçleri intestisyal sıvı ile doludur. Sarkoplazmik retikulum ile enine borucuklar sistemi, belirli yerlerde birbirleriyle ilişki kurarlar. Bu yerlerde bir T-borucuğu ile ona bitişik sisternalardan oluşan yapıya, *üçlü yapı* (triad) denir.

İskelet kasında, her miyozin filamentinin her iki ucunda birer bölgede olmak üzere, her sarkomerde iki triad yer alır. Kalp kasında ise her sarkomerde bir üçlü yapı bulunur. Kastaki bütün liflerde, hücre zarından aksiyon potansiyelinin hızla geçişi, T sisteminin bir fonksiyonu olup, sarkolemma boyunca devam eder (21-23).

2.6. Sıçan ve Kurbağa Kaslarının Yapısı

2.6.1. Histolojik Yapıları

Soğuk kanlı kurbağa sartorius kasında iki çeşit kas lifi bulunur: % 40 oranında slow system (Felderstruktur), kırmızı renkli, yavaş kas lifleri ve % 60 oranında twicth system (Fibrillestruktur), beyaz renkli, hızlı kas lifleri. Sıcak kanlı sıçan diyafragma kası ise, % 40 Tip-I ve % 60 Tip-II olarak adlandırılan kas liflerinden oluşmuştur (48).

Soğuk kanlı Tip-I kas lifleri uzundur ve kalın sinirlerle innerve edilirler, lipid tabakası yoktur, Z-diski zigzagliıdır ve düzgün görünmez, sinir terminalleri "en grappe" şeklindedir. Tip-II kasları Tip-IIa, Tip-IIb ve Tip-IIc subunitleri vardır, bu lifler düzgün Z-diski içerir, kas lifleri dağınık, küçük, ince sinirlerle innerve edilirler ve uzun süreli yavaş kasılmalar oluştururlar ve sinir terminalleri "en plaque" şeklindedir. "En grappe" şeklinde sinir terminalleri içeren kas liflerinde tek bir stimulus yayılmış aksiyon potansiyeli oluşturamazken, "En plaque" şeklinde sinir terminalleri içeren kas fiberlerinde tek bir stimulus lif boyunca aksiyon potansiyelinin yayılması için yeterlidir (48,49).

Sıcak kanlı sıçan diyafragma kası % 40 Tip-I, % 27 Tip-IIa, % 34 Tip-IIb 'den oluşmuştur. Tip-II kasları lipid tabakası, çok

sayıda sarkoplazmik granüller, Z-diski içcrir. Her iki kas arasındaki en büyük fark, soğuk kanlı kurbağa sartorius kasının Tip-I kasında sinir terminalleri 'en grappe' şeklinde olup bir kas lifi üzerinde 300 µm aralıklarla 4 en grappe bulunmaktadır. Bir en grappe gelen tek bir stimulus, kas lifi üzerinde bir aksiyon potansiyeli oluşturamazken, sıcak kanlı sıçan diyafragma kasını oluşturan heriki kas lifi tipindeki sinir terminalleri 'En Plaque' şeklinde olup bir kas lifi bir en plaque içerir ve tek bir stimulus, kas lifi boyunca potansiyelin yayılması için yeterlidir (48-50).

Soğuk kanlı kurbağa kas liflerinin yarıçapı 0.05 nm (=50 µm), sıcak kanlı sıçan kas liflerinin yarıçapı 0.02 nm (=20 µm) dir (21). Kurbağada iki sarkomer arasında Z-çizgisi boyunca bir network (Transver tübüler sistem-sarkoplazmik retikulum ağı) vardır ve T-tübüler sisteminin genişliği 200 nm dir. Memeli kaslarında ise her sarkomerde miyozin filamentlerinin uçların iki network vardır ve T-tübüler sisteminin genişliği 1000 nm dir (21,24).

2.7. Sinir-Kas Kavşağı

Sinir hücreleri arasında veya sinir hücreleri ile kas hücreleri arasında iletişimin kurulduğu yapısal ve işlevsel olarak özelleşmiş bölgelere *sinaps* adı verilir. İki çeşit sinaps vardır: a) Kimyasal sinapslar ve b) Elektriksel sinapslar.

Sinir sisteminde sinyallerin iletildiği sinapsların hemen hepsi kimyasal sinapslardır. Elektriksel sinapslarda iki zar birbirine 2 nm kadar yaklaşır ve aralarında kurulan köprüler aracılığıyla iki hücrenin sitoplazmaları doğrudan temas haline geçer. Yapı ve işlevleri karmaşık olan kimyasal sinapslarda ise iki hücrenin sitoplazmaları arasında doğrudan bir bağlantı yoktur. Kimyasal sinapslarda iletim tek yönlüdür. Presinaptik nöronun salgılandan nörotransmitter, postsinaptik nörona iletilir. Fonksiyonel olarak nöromusküler bağlantı iki ayrı komponentten oluşur. Birincisi impulsu getiren nöron(presinaptik terminal), ikincisi ise impulsu alan (postsinaptik terminal) kas hücrelidir.

Şekil-2.3'de görüldüğü gibi iki hücre zarı arasındaki yarığa sinaptik yarıklık denir. Presinaptik zar ile postsinaptik zar arasındaki uzaklık 20-30 nm, omurgalı sinir-kas kavşağındaki sinaptik yarıkların genişliği ise 50-100 nm arasında değişmektedir. Presinaptik terminaller küçük yuvarlak ya da oval düğümler şeklindedir. Bu nedenden dolayı terminal düğümler, sonlanmalar, sinaps terminalleri gibi adlar alırlar. Bu düğümlerin içinde sinapsı exite veya inhibe edici fonksiyonları içeren 2 yapı bulunur: a) *Sinaps vesikülleri*, b) *Mitokondriler*

Sinaps vesikülleri, transmitter madde içerir. Bu madde, sinaps aralığına serbestlendiği zaman nöronları exite veya inhibe eder. Mitokondriler ise yeni bir transmitter maddenin sentezi için gerekli ATP'yi sağlar. Sinaps terminaller sürekli olarak yeni transmitter maddeleri sentezleme yeteneği bulunmaktadır. Eğer böyle olmasaydı, sinaptik ileti birkaç dakika içinde tamamen etkisiz kalırdı. Bu sentez presinaptik terminalin sitoplazmasında olur ve vesiküller tarafında absorbe edilerek, gerektiğinde kullanılır. Transmitter maddeler postsinaptik zarın spesifik yerleriyle ve zar geçirgenliğinin değişmesiyle tanınır. Şimdiye kadar 30'dan fazla transmitter madde bulunmuştur. Bunlardan ilki ACh'dir.

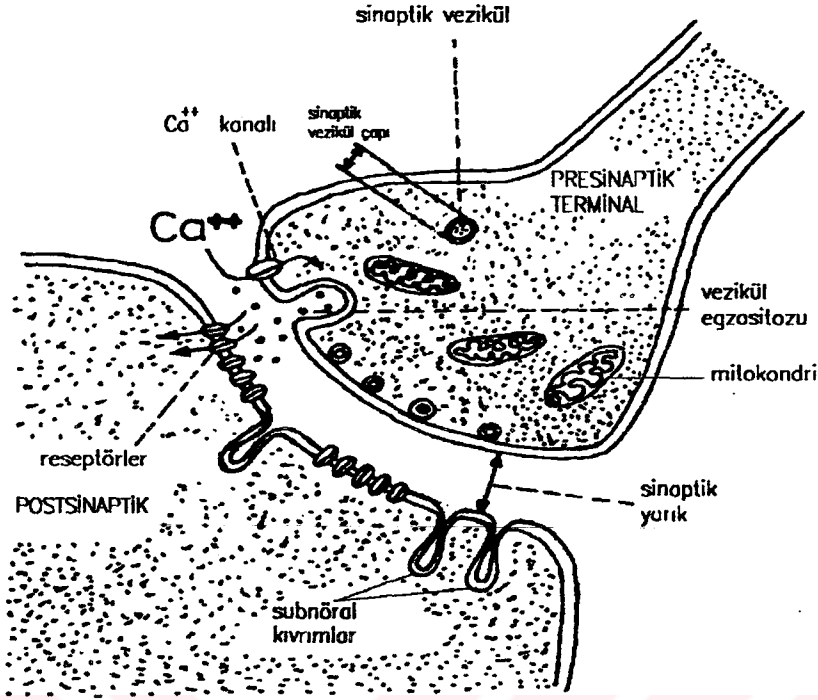
ACh, presinaptik sonlanmalardaki vesiküllerde zara bağlı konsantre durumdadır. Her bir stimulusla milyonlarca ACh molekülü sinaps aralığına serbestlenir. Aksiyon potansiyeli presinaptik terminale ulaştığı zaman, zar depolarize olur ve vesiküllerden ACh sinaps aralığına boşalır.

Presinaptik terminalin sinaptik zarında çok sayıda voltaj-kapılı Ca^{++} kanalı bulunur. Presinaptik terminale giren kalsiyum iyonlarını azaltan koşullar, serbestlenen transmitter miktarıyla doğru orantılıdır.

Bu azaltan koşullar :

- a) Zayıf bir aksiyon potansiyeli (Presinaptik terminali kısmen depolarize eder)
- b) Extraselluler sıvıda Ca^{++} konsantrasyonunun azalması
- c) Herhangi bir sebeble presinaptik terminalin kalsiyum

iyonlarına karşı geçirgenliğinin azalması.



Şekil-2.3. Sinir-kas kavşağının ultrastrüktürel komponentleri.

Sinaps aralığına serbestlenen transmitter miktarı, terminale giren kalsiyum iyonlarının sayısı ile ilişkilidir. İmpuls, motor sinirin sonuna ulaştığı zaman, Ca⁺⁺ karşı geçirgenlik artar, Ca⁺⁺ girişi triggerlanır ve asetilkolin içeren vesiküller exositozla atılır ve bu durum postsinaptik zarı etkiler. Postsinaptik zar;

- Kimyasal maddelerle aktive edilen iyon kanalları,
- Hücre içindeki bir seri metabolik sistemi aktive eden enzim içerir.

Kimyasal olarak aktive edilen iyon kanalları (ligandla aktive edilen kanallar) 3 tiptedir.

a) Sodyum kanalları, sodyumun geçmesine izin verir, çok az miktarda K⁺ iyonları da geçebilir.

b) Potasyum kanalları, başlıca K⁺ geçebilir, çok az miktarda Na⁺ iyonları da geçebilir.

c) Klorür kanalları, Cl⁻ ve bazı iyonların geçmesine izin verir.

Na^+ kanalları postsinaptik nöronu uyarır. Bu yüzden Na^+ kanallarını açan transmitterlere *exite edici transmitterler* denir. Potasyum ve Cl^- kanallarının açılması nöronu inhibe ettiği için, bu transmitterlere *inhibitör transmitterler* denir.

Nikotin, asetilkolinin (ACh) sinir-kas kavşağındaki reseptörleriyle birleşip Na^+ ve K^+ kanallarını açar, kürar da aynı reseptörlerle birleşip kanalları bloke eder. Postsinaptik zar exite olduğunda, zarda, yerel ve dereceli bir potansiyel oluşur. Bu potansiyel *son-plak potansiyelidir*. Kas lifi son plak bölgesine, mikroelektrot ile girilerek kayıt yapılarak veya mikropipet yardımıyla elektrik akımı etkisiyle pozitif yüklü olan ACh molekülleri göndererek, mikroelektrotla son-plak bölgesindeki potansiyel değişiklikleri gözlenebilir (19-24,27).

ACh molekülleri içeren vesiküller, zamanla olgunlaşıp kendiliğinden içini boşaltıldığı zaman, son-plakta 0.5 mV dolayında küçük depolarizasyonlar oluşur. *Minyatür son-plak potansiyeli* (M.S.P.P.) olarak adlandırılan bu potansiyeller, sinir impulslarından bağımsız olarak asetilkolinin küçük paketçikler veya kuantumlar şeklinde salınmasıyla oluşmaktadır. Normal bir son-plak potansiyeli (S.P.P.) ise, presinaptik son uçtan bir impulsun etkisiyle kuantumlar halinde asetilkolin moleküllerinin salınmasıyla oluşmaktadır (3-12).

Soğuk kanlı kurbağa sinir-kas kavşağında her bir stimulus 100-300 ACh moleküllerinin serbest kalmasına sebep olurken, sıcak kanlı sıçan sinir-kas kavşağında her bir stimulus 300-500 ACh molekülünün serbest kalmasına sebep olur (21,56-58).

2.8. Uyarılma-Kasılma Çiftlenimi

Bir kas lifi, ortasına yakın bir yerinden miyelinli sinirle inerve edilir. Sinir-kas kavşağında sinaptik iletim sonrası kas lifi zarında son-plak potansiyeli yeterli bir dereceye ulaştığında, kas lifi zarında bir aksiyon potansiyeli gelişir ve yayılır.

Kas lifinde depolarizasyonla kasılmanın başlamasına kadar süren olayların tümüne, uyarılma-kasılma çiftlenimi denir. Aksiyon

potansiyeli, T-sistemi aracılığıyla lifin her tarafına yayılır. Aksiyon potansiyeli terminal sisternalardan (cisternea) Ca^{++} iyonlarının serbestisini triggerler ve Ca^{++} iyonlarının serbest hale gelmesiyle, kasılma başlar. Depolarizasyon dalgasının T-sistemi aracılığıyla ilerlemesi ve sisternalardan kalsiyum iyonlarının salınma mekanizması bilinmemektedir. Ca^{++} , troponin-C proteinine bağlanarak kasılmayı başlatır. Ca^{++} serbestisinden hemen sonra sarkoplazmik retikulumun longitudinal bölümlerinde aktif transportla tekrar geri alınan Ca^{++} , terminal sisternalara diffüze olur ve yeni bir aksiyon potansiyeli oluşana kadar depo edilir. Sarkoplazmada Ca^{++} düzeyi yüksek kaldığı sürece, kasılma devam eder. Eğer sarkoplazmik retikulumda Ca^{++} transportu inhibe olursa relaksasyon meydana gelmez.

ATP, sarkoplazmik retikulumda Ca^{++} iyonunun aktif transportu için gerekli enerjiyi sağlar. Kas kasılma (kontraksiyon) ve gevşeme (relaksasyon) için ATP ye ihtiyaç duyar (18,19,21-23).

2.9. Termoregülasyon

Hayvanlar, vücut sıcaklıklarının çevre sıcaklığı ile olan ilişkileri dikkate alınarak iki büyük gruba ayrılabilirler. Bunlardan biri SOĞUK KANLI HAYVANLAR (*Poikiloterm*) diğeri ise, SICAK KANLI HAYVANLAR (*Homoiterm*) dir.

2.9.1. Poikilotermlerde Termoregülasyon

Soğuk kanlı hayvanlar grubuna giren omurgasız hayvanlar ile balık kurbağa ve sürüngenler gibi omurgalılarda vücut sıcaklığı sabit olmayıp az çok ortam sıcaklığına yakındır. Buna karşılık sıcak kanlı hayvanlar grubuna giren kuşlar ve memeli hayvanlarda (sıçan, fare v.b.) vücut sıcaklığı ortam sıcaklığına bağımlı değildir. Soğuk kanlı hayvanların vücut sıcaklığı ile ortam sıcaklığı arasında sıkı bir ilişki mevcuttur. Örneğin bir Annelid olan *Lumbricus agricola* suya batırıldığı zaman çevrede meydana gelen 10 °C lık sıcaklık değişmesine iki dakikalık bir süre içerisinde (ve 0.05°C lik bir duyarlılıkla) uyum gösterme yeteneğindedir. Küçük vücutlu su hayvanlarının vücut sıcaklığı özellikle

hareketli oldukları zamanlarda ortam sıcaklığı civarındadır. Bununla beraber hareket halindeki balıklarda vücut sıcaklığının ortam sıcaklığından 10°C derece kadar fazla olduğu ve hareket durunca vücut sıcaklığının giderek azaldığı ve bir süre sonra ortam sıcaklığına düştüğü saptanmıştır.

Soğuk kanlı hayvanlar Sikloterm, Şimioterm ve Helioterm olmak üzere 3 kategoriye ayrılmaktadırlar (62.63).

Sikloterm hayvanlarda vücut sıcaklığı genellikle ortam sıcaklığıyla aynıdır. Bu gruba giren hayvanlar buldukları ortam sıcaklığı 30°C geçtiği veya 10°C nin altına düştüğü zaman vücut sıcaklıklarını fiziksel (buharlaştırma) veya kimyasal (metabolizma hızını artırarak) mekanizmalar ile düzenliyerek ortamın sıcaklığına yakın bir düzeyde tutmaya çalışırlar.

Simioterm hayvanlar vücut sıcaklıklarını kas hareketleri ile arttırabilmektedirler. Sphingidae familyasına dahil hayvanların uçuşa çıkmadan önce kanatlarını titretmeleri bu duruma tipik bir örnektir.

Helioterm hayvanlar ise güneşe karşı durarak vücut sıcaklıklarını yükseltmeye çalışmaktadırlar. Sürüngenler ve böceklerin büyük bir kısmı bu özellikte hayvanlardır.

Hayvanlar vücut sıcaklıkları ile ortam sıcaklıkları arasındaki ilişkiye göre genel anlamda iki büyük gruba ayrılmakla beraber, iki grup arasında çok değişik özellikler gösteren hayvan grupları da mevcuttur. Örneğin bal arıları kendi mikroklimalarını denetleme yeteneğine sahip olduklarından bunlar *Fakültatif Homoiterm* (bağımsız sıcak kanlı hayvanlar) canlılar olarak sınıflandırılmaktadır. Özellikle arılarda olmak üzere sosyal böceklerde kışın oluşturulan kümedeki vücut sıcaklığı ortamdaki havanın sıcaklık derecesinden bağımsızdır. Kümedeki hava sıcaklığı kas hareketi ve vücut örtüsünün izolasyonu sayesinde ortam sıcaklığından daha yüksektir. Bal arıları ortam sıcaklığı yükseldiği zaman buharlaşmayı hızlandırarak vücut sıcaklıklarını düşürme yeteneğindedirler.

2.9.2. Homoitermlerde Termoregülasyon

Kışlayan memeliler kışlama sırasında poikiloterm özellik

göstermektedirler. Sıcak kanlı hayvanların extremiteleri de hava sıcaklığına bağlı olarak değişiklik göstermektedirler.

Küçük vücutlu kuşlar ve memeli hayvanların vücut sıcaklıkları, ortam sıcaklığından ancak dar bir sıcaklık sınırı içerisinde bağımsızdırlar. Örneğin küçük bir ötücü kuşun vücut sıcaklığı normal hallerde 38.5°C-44.6°C arasında değiştiği halde, bu değerler ortam sıcaklığının etkisiyle 23.9°C-44.7°C arasında bir dalgalanma gösterebilmektedir.

Kuş için belirttiğimiz düşük sıcaklık öldürücü değildir. Hayvanların düşük sıcaklığa toleransı yüksek sıcaklığa olan toleranslarından daha geniştir. Yani düşük sıcaklığın daha geniş bir alanına tolerans gösterebilmektedirler.

Canlılar metabolik faaliyetlerini 0°C-50°C arasında devam ettirebildikleri halde, bu sınırların çok altında örneğin -20°C de ve çok üstünde (örneğin 100°C de) ki sıcaklıklarda da canlılıklarını devam ettirebilen organizmalar mevcuttur. Omurgalılardan bazı balık türleri ile kurbağa larvalarınının 40°C lik sularda yaşadıkları saptanmıştır.

Bütün bunlardan şu sonuçlar çıkarılabilir:

- 1) Türlerin sıcaklığa olan toleransları birbirinden farklıdır.
- 2) Her tür için bir alt birde üst öldürücü sıcaklık derecesi vardır.
- 3) Her türün aktif hayatını yavaşlatmak suretiyle yaşayabildiği bir minimum sıcaklık vardır.
- 4) Hayvanların yaşadığı optimum sıcaklık üst öldürücü sıcaklığa daha yakındır.
- 5) Hayvanların düşük sıcaklığa toleransları yüksek sıcaklığa olan toleranslarından daha geniştir.

Hayvanlar sıcaklık extremitelerine karşı koyabilmek için çeşitli fizyolojik adaptasyonlar geliştirmişlerdir. Hayvanların uygun olmayan sıcaklık şartlarına adaptasyonları bir çeşit aklimitasyon, yani iklime alışmadan ibarettir. Fizyolojik adaptasyon sıcak kanlı hayvanlarda kendini metabolik değişmeler ile belli etmektedir. Tropikal bölgelerde yaşayan memeli hayvanlar ortam sıcaklığı 25°C nin altına düştüğü zaman metabolik faaliyetlerini

yükseltmeye başlar. 10°C nin altına düştüğü zaman ise normalin 3 katına çıkartırlar. Ortam sıcaklığı 0°C ye düştüğü zaman ise yaşayabilmeleri için metabolik faaliyetleri yeterli olmaz ve neticede ölürlür. Bunun aksine arktik bölgenin küçük memelileri çevre sıcaklığı -30°C nin altına düştüğü zaman metabolik faaliyetlerini arttırmaya başlamaktadır. Büyük memeliler ise (örneğin misk öküzü) vücutlarında iyi bir izolasyon olduğundan -40°C de bile metabolik faaliyetlerini değiştirmezler.

Soğuk kanlı hayvanlar ise extrem sıcaklıklara karşı doğrudan doğruya bir adaptasyon göstermektedir. Bu gruba giren hayvanların yüksek sıcaklıklara adaptasyonu genellikle evaporasyonu arttırma şeklindedir. Düşük sıcaklıklara adaptasyon ise akklimadasyon ile sağlanmaktadır. Bunun en güzel örneği böceklerde görülmektedir. Böcekler düşük sıcaklığa maruz kaldıklarında dehidratasyon ile iç sıvıların osmotik basıncını arttırırlar (63-65).

2.10. Kas Kasılma Parametrelerine Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklığın yükselmesi ile iskelet kaslarının kasılma zamanı (CT) ve gevşeme zamanı (1/2 RT) kısalır. 10°C sıcaklık değişiminde, bu zamanlarda iki katlık değişim olur (26-37°C). Sıcaklık, 1°C yükseldiğinde hem CT hem de 1/2 RT yaklaşık 2 ms kısalır. Sıcak kanlı sıçan diyafragma kasının 22°C da CT'si 80 ms ve 1/2RT'si 101 ms; sıcaklık 37°C olunca CT'si 20 ms ve 1/2RT'si 23 ms olur (53,60-62). Soğuk kanlı kurbağa sartorius kasının 22°C da CT'si 35 ms olarak ölçüldü.

Aksiyon potansiyelinin iletim hızı sıcak kanlı sıçan diyafragma kasında 20°C de 2 m/s, soğuk kanlı kurbağa sartorius kasında aynı sıcaklıkta 3 m/s dir (21,50-55).

Sıcak kanlı sıçan diyafragma kasının 21°C de dinlenme potansiyeli 90 mV, soğuk kanlı kurbağa sartorius kasının 18-25°C de dinlenme potansiyeli 73-75 mV arasında değişmektedir.

Soğuk kanlı kurbağa siyatik sinir-sartorius kas preparatında aksiyon potansiyeli (AP), 6.3°C de yaklaşık 105 mV, süresi 3.8 ms, 18.5°C de 90 mV, süresi 1.8 ms, 28.9°C de 65 mV, süresi 1.2 ms dir. Görüldüğü gibi sıcaklık 3 kat arttığında AP'nin büyüklüğü % 15

kadar, süresi ise % 50 kadar azalmaktadır (21,52,60-62).

2.11. Zar Potansiyelleri

Bir zarla ayrılan farklı elektrolitik bileşimli iki sıvı bölmesi arasında var olan potansiyele zar potansiyeli ya da denge potansiyeli denir. Biyoelektriksel potansiyeller, aslında zar potansiyelleridir. Biyoelektrik potansiyeller bazı yüklü maddelere karşı seçici geçirme özelliğine sahip zarların, her iki tarafındaki konsantrasyon farkı nedeniyle oluşurlar. Zar potansiyeli:

1. Hücre zarının özelliği,
2. Zarın her iki tarafında, pozitif ve negatif yüklerin farklı dağılımını sağlayan aktif ileti mekanizması,
3. İyonların, konsantrasyon gradiyentinden ötürü diffüzyonları
4. Zarda oluşan potansiyel farkının iyon hareketlerine olan etkisinden oluşur.

Eğer zardan az miktarda maddenin taşınması için bir iş gerekmiyorsa, o maddenin dağılımının dengede olduğu kabul edilir. Dinamik dengede, her iki yöndeki akışlar eşittir. İyonlara etki eden bir kuvvet varsa, bir potansiyel farkı da vardır. Yüksüz moleküllerin denge durumunda, iç ve dış konsantrasyonlar eşittir ve bu nedenle net akış sıfırdır.

İyon dengesinin belirlenmesi için, zarın her iki tarafındaki iyon konsantrasyonları ve potansiyel farkının bilinmesi gerekir. Bir iyon türünün, iç ve dış konsantrasyonları zara uygun bir voltaj uygulanarak dengeye getirilebilir. Her iyonun zardan geçişini dengede tutan potansiyele, o iyonun denge potansiyeli denir.

Uyarılmamış, istirahat halinde bulunan hücre zarının içi ve dışı arasında var olan potansiyel farkına, istirahat zar potansiyeli denir. Bir iyonun denge potansiyeli Nernst denklemiyle tayin edilir (18-24). $V = V_1 - V_2$ zarın iki tarafı arasındaki potansiyel farkını ve C_2, C_1 zarın iki tarafındaki konsantrasyonları göstermek üzere Nernst denklemi

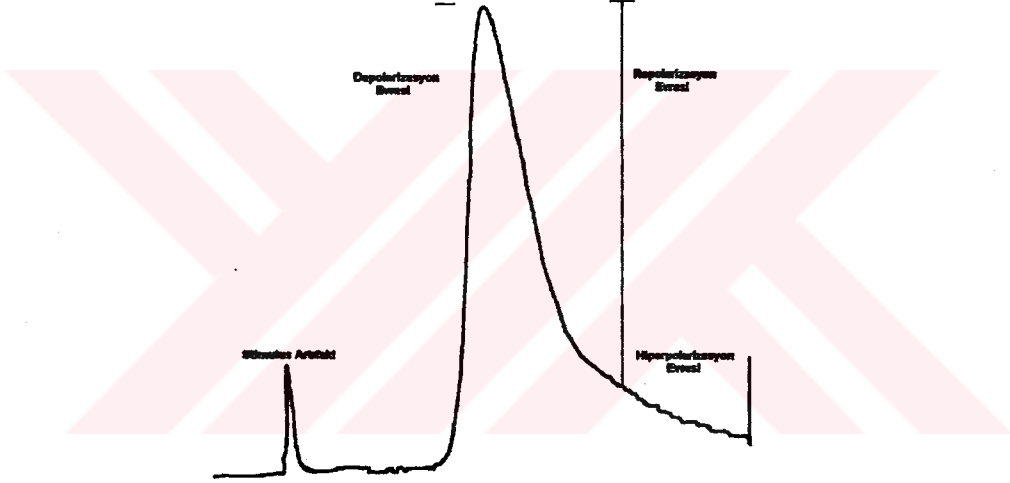
$$V \text{ (volt)} = (61 \times 10^{-3}) \log\left(\frac{C_2}{C_1}\right)$$

şeklinde yazılır.

2.12. Aksiyon Potansiyelleri

Bir hücrenin uyarılan ve istirahatte bulunan bölümleri arasında geçici elektriksel potansiyel değişikliklerine aksiyon potansiyeli denir. Uyarılma sonucu uyarılan bölgede oluşan impuls, dalga biçiminde, hücrenin bir tarafından diğer tarafına iletilir.

Uyarılabilen bir hücre zarının iki yüzü arasında bir zar potansiyeli vardır. Zar uyarıldığında, sodyuma karşı geçirgenliği artar ve hücreye fazla sayıda sodyum iyonları girer ve zarın içi pozitif yüklü olana kadar devam eder. Bu sürece depolarizasyon denir. Bu ters yönlü potansiyel uzun süre devam etmez ve zar tekrar istirahat durumuna döner. Potansiyelin ani azalışı, tersine dönüşü ve bunun arkasından yeniden istirahat potansiyelinin oluşması aksiyon potansiyelini oluşturur.



Şekil-2.4. İntrasellüler olarak Kurbağa sartorius kasından kayıtlanmış bir Aksiyon potansiyeli (AP) ve AP'nin parametreleri.

Aksiyon potansiyeli hakkında bugünkü bilgilcrimizin çoğu Cole, Curtis, Hodgkin-Huxley ve Katz'ın 1940 ve 1950'li yıllarda yaptıkları denel çalışmalarına dayanır. Çalışmalarında kalınlığı 1 mm'ye ulaşan bir cins mürekkep balığının dev aksonu kullanmışlardır. Dev akson üzerinde yapılan ilk deneylerden aksiyon potansiyeli sırasında zar iletkenliğinin arttığı, dış ortamda Na^+ konsantras-

yonu azaltıldığında aksiyon potansiyeli genliğinin azaldığını, dış ortamdaki K^+ konsantrasyonu arttırıldığında ise aksiyon potansiyelinin repolarizasyon temposunun düştüğünü gözlemişlerdir.

Aksiyon potansiyelinin yükselme evresinde (depolarizasyon) zar potansiyeli Na^+ denge potansiyeline doğru değişmektedir. Zarın sodyuma karşı geçirgenliği azalıp, potasyuma geçirgenliği artmaya başlayınca, zar potansiyeli tekrar potasyum denge potansiyeline yaklaşmakta (repolarizasyon) ve dinlenme değerine dönmektedir.

Zarda herhangi bir nedenle bir depolarizasyon gelişirse voltaj-bağımlı Na^+ kanalları açılmaya başlar. Bu sürece, Na^+ kanallarının aktivasyonu denir. Açılan kanallardan Na^+ girişi, zarın daha fazla depolarizasyonuna, bu durum ise daha fazla Na^+ kanalı açılmasına ve zarın sodyuma geçirgenliğinin daha fazla artmasına neden olur.

Şekil-4'de görüldüğü gibi aksiyon potansiyeli eğrisi dört evreye ayrılır.

I. Evrede aktif bölgeden kaynaklanan yöresel akımlar, zarın dinlenme durumunda bir miktar depolarize etmektir. Bu evrede, iyonik iletkenlik oldukça düşük olup zarda kapasitif akım egemendir. Fakat depolarizasyonla birlikte Na^+ kanalları da açılmaya başlamıştır.

II. Evrede açılan kanallardan Na^+ iyonları içeriye girmeye başlar ve Hodgkin çevrimine göre, kendi kendini doğuran süreç gelişir ve zar potansiyeli sodyum denge potansiyeline doğru hızla yaklaşır. Ancak bu evrenin sonlarına doğru daha yavaş açılan K^+ kanallarının sayısı giderek artarken Na^+ kanalları inaktive olmaya başlar. Zardaki Na^+ ve K^+ akımlarının net yoğunluğu sifıra eşit olur. Bu anda aksiyon potansiyeli de tepe noktasına ulaşmıştır.

III. Evrede inaktivasyon nedeni ile sodyum iletkenliği (g_{Na}) azalırken, potasyum iletkenliği (g_K) yükselmesini sürdürür. Dışarı doğru potasyum akımı egemenliğinde zar yeniden polarize olurken (repolarizasyon) zar potansiyeli dinlenme değerine doğru düşer.

IV. Evrede ard potansiyel görülür. potasyum iletkenliği (g_K) yüksek değerlerde iken Na^+ kanalları inaktive olmuşlardır. Bu

nedenle zar potansiyeli potasyum denge potansiyeline oldukça yaklaşmış, zar hiperpolarize olmuştur. Potasyum iletkenliği derece derece azalırken zar da hiperpolarize durumdan dinlenme durumuna ağır ağır döner (1-12).

Uyarılabilirliği yüksek olan liflerde iletim hızı büyüktür. Uyarılabilirliğe ve iletim hızına etkili faktörleri özetlersek;

a) Sodyum iletkenliği tepe değeri, g_{Na} büyüdükçe, yani birim yüzeydeki sodyum kanalları sayısı çoğaldıkça iletim hızı artmaktadır.

b) Eşiğe ulaşmak için gerekli depolarizasyon miktarı ($\Delta V = E_C - E_D$) küçüldükçe, hız artmaktadır.

c) Birim yüzey başına zar sığası (C_m), küçüldükçe hız artar. Miyelin tabakası sığayı küçülttüğünden iletim hızını arttırma rol oynar.

d) Aksoplazmasının öziletkenliği ($\sigma_i = 1/\rho_i$) büyüdükçe, iletim hızı artmaktadır.

e) iletim hızı, sıcaklıkla artmaktadır.

f) Akson yarıçapı arttıkça, iletim hızı da artmaktadır.

Yayıma hızı miyelinli liflerde iletim hızı, yarıçapın yaklaşık olarak kare kökü ile, miyelinli liflerde ise yarıçapla doğru orantılıdır.

Aktif $Na^+ - K^+$ pompası aksiyon potansiyeli oluşumunda ve iletiminde doğrudan rol almaz. Pompanın temel işlevi zarı iletme hazır tutmaya yöneliktir. Her bir lif her aksiyon potansiyeli iletiminden sonra bir miktar Na^+ kazanır, bir miktar K^+ kaybeder. Dinlenme durumunu sürdürmek için gerekli olan pompa, iletimin ardından biraz daha yüksek bir tempoda çalışır. Sodyum ve potasyum iyonlarının iletim sırasında, zardan geçiş mekanizmaları pompa ile taşınma mekanizmalarından tamamen farklıdır.

1) Bu iyonlar, kanallardan serbest enerjinin azaldığı yönde (yokuş-aşağı), aktif pompa ile serbest enerjinin arttığı yönde (yokuş-yukarı) taşınırlar.

2) Enerji kaynağı, kanallardan geçiş için önceden var olan elektrokimyasal gradyent, pompa için ise ATP'dir.

3) Belirli konsantrasyonlarda tetradotoksin (TTX) Na^+ kanalla-

rını, tetraetilamanyum (TEA) ise K^+ kanallarını bloke ederken, pompa üzerine bir etikleri yoktur. Ouabain ise pompayı durdururken, kanal geçişlerinde etkisizdir.

4) Dış ortamdaki $[Ca^{++}]$ artması çşiği yükseltirken, pompa üzerinde etkisizdir.

5) Na^+ kanallarında Li^+ iyonları Na^+ iyonlarından pek ayrıt edilemezden Li^+ iyonları pompa aracılığı ile taşınmamaktadır.

6) Çeşitli zarlarda birim yüzeydeki Na^+ kanalı sayısı 70-500/ $1\mu m^2$ iken, aktif pompa sayısı 4000/ $1\mu m^2$ 'dir (18-27).

Kurbağada bir kanalın açık kalma süresi 1 ms olup zarın depolarizesi ile kısalır ve repolarizesi ile uzar. Kapanma hızı sıcaklığın yükselmesi ile her $10^\circ C$ derecede 3 kat artar. Sonuç olarak end-plate akım süresi normal transmisyon sırasında sinir-kas kavşağındaki serbest asetilkolinin yaşama ömrü tarafından değil de kanalın açık kalma ömrü tarafından belirlenir (21). Serbest ACh konsantrasyonu çok hızlı bir şekilde düşer, end-plate akım tepe değerine ulaştığında en düşük konsantrasyon değerinde olur (21).

2.13. Lokal Anestezikler

Lokal anestezikler, periferik sinir sisteminde impulsların iletimini geri dönüşümlü olarak bloke ederler (1-3,5). Sinir impulslarının iletimi, depolarizasyon dalgasına ve onu takip eden repolarizasyon dalgasının sinir membranı boyunca iletimine bağlıdır. Aksiyon potansiyelinin oluşmaması, impuls iletiminin sodyum kanallarında bloke edilmesidir (1-3,5).

In-vitro olarak nörofizyolojik preparatlara doğrudan lokal anestezikler uygulandığı zaman, sodyum kanallarının bloke olduğu gözlenir. Klinikte kullanılan lokal anestezik ajanlar, sinir iletimini bloke etme, sistemik toksisiteleri az olma ve sinire penetre olma özelliğine sahip olmalıdır.

İlaçların iyonize formları, axon içinde etkilidir. İyonize olmayan ilaçların hemen hemen hepsinin etkisi tam olarak açıklanamamıştır (2-6).

Eğer invitro sinir preparatları çok düşük frekanslarda (< 0.1 Hz) stimule edilirse ve düşük konsantrasyonda lokal anestezisyeye

maruz bırakılırsa, impuls geçişinde minör bir azalma gözlenir. Stimulus frekansındaki artış (> 1 Hz), blokajın gücünü artırır. Tonik (dinlenim) ve fazik (frekansa bağlı) blokajların açıklanması kolay olmamakla beraber, lokal anestezipler sodyum kanallarını tıkayarak periyodu uzatırlar. Sodyum kanalları ise uzayan bu periyodu inaktive duruma gelmek için kullanır (2-6).

2.13.1. Yapı-Etki ilişkisi

Lokal anestezipler, genellikle tersiyer veya sekonder amin bileşikleri olup suda çözünmezler, bundan dolayı suda çözünen tuz şekilleri kullanılır (1-6). Lokal anesteziplerin sodyum kanalında bağlandıkları reseptörler, kanalın sitoplazmaya açılan tarafına yakın bir yerdedir. Bağlanan moleküller, iyonize (katyonik) moleküllerdir. Non-iyonize moleküller ise yeterince bağlanamazlar. Lokal anesteziplerin molekülleri kanalın iç tarafına yakın etki yerine, kanalın içinden geçerek değil, ancak lipid tabakası içinden ulaşabilirler. Bunun içinde önce non-iyonize şekilde sinir lifinin sitoplazma zarın lipid tabakası içinden geçip, sitoplazmaya ulaşmaları gerekir. Bu moleküllerin hücre içinde iyonizasyonu ile oluşan katyonik moleküller, kanalın iç tarafına yakın etki yerine bağlanırlar. Sinir gövdesi etrafına uygulanan lokal anesteziplerin moleküllerinin sinir kılıflarını aşabilmesi ve sinir lifleri ile temas geçebilmeleri için non-iyonize durumda olmaları gerekir. Non-iyonize şekil molekülün etki yerine ulaşmasına indirekt olarak yardım eder (1-6).

Sinir fonksiyonları, farklı modalitelerinden dolayı aynı oranda bloke olmazlar. Enjekte edilen bölgeye ve ilaç kullanımına bağlıdır. Blokajın gelişiminde tipik bir sıralama yapılırsa, ilkin sempatik fonksiyonlar ve bunu takip eden, ağrı duyusu, dokunma duyusu, sıcaklık ve son olarak motor fonksiyonlar etkilenir.

Periferik sinir lifleri modaliteleri ve fizyolojik özelliklerine göre sınıflandırılırlar. Bu durum impuls iletiminde önemlidir. İmpuls iletim derecesi axon çapına, miyelinasyon derecesine bağlıdır. Lokal anesteziplerin blokaja en duyarlı lifler C tipi, en az duyarlı olan ise A tipi liflerdir. C lifleri etrafındaki diffüzyon tamponları A liflerinden daha azdır ve bloke oranı

daha yüksektir.

Ortamın pH'sını düşürerek katyonik şekildeki moleküllerin oranını arttırıp lokal anesteziği etki oluşturma ve ortamın pH'sını yükselterek lokal anesteziği etkiyi ortadan kaldırmak mümkündür (2-6,28,29).

Ekstrasellüler Ca^{++} düzeyinin yükselmesi, sodyum kanalını düşük affiniteli duruma geçirerek, lokal anesteziği kısmen antagonize eder. K^+ düzeyinin yükselmesi ise zar potansiyelini kısmen depolarize edip kanalı yüksek affiniteli inaktif duruma sokarak lokal anesteziğin etkisini artırır (2-6).

2.13.2. Etki Mekanizması

Lokal anesteziği, zarı Na^+ 'a karşı geçirgenliğin artmasını önlerler ve böylece sinir zarını stabilize ederler. Sinirlerdeki eksitabilitiyi ve impuls iletimini engellemelerinin ana nedeni bu etkidir.

Lokal anesteziği ikincil bir etki olarak, K^+ a karşı permeabilitenin artmasında bloke edebilirler. Bu etki, deneysel olarak dış ortamda Na^+ konsantrasyonunu arttırmakla azalır, dış ortamda Na^+ konsantrasyonun düşmesi ise, sinir lifine lokal anesteziğin daha etkili olmasını sağlar (2-6).

2.13.3. Lokal Anesteziğin Sodyum Kanallarına etkisi

Lokal anesteziği sodyum kanallarını oluşturan özel protein moleküllerini direkt olarak etkileyerek depolarizasyon yapabilecek nitelikteki stimulusların sodyum kanalını açmasını engeller. Kanal proteini hücre zarının bir yüzünden diğerine kadar uzanan ve ortası boş monomerik veya oligomerik bir makromoleküldür. Memelilerin sodyum kanallarında proteine ilaveten polipeptidler de vardır. Kanal proteinin iç tarafa yakın kısımda voltaj duyarlı (sensor) ve kanalı açıp kapayan iyonize gruplar olduğu, bu deliğe yakın bir yerde lokal anesteziğin bağlanma yerinin (reseptörlerinin) bulunduğu ileri sürülmüştür. Sinir hücresi zarındaki sodyum kanalları üç konformasyon değişikliği gösterir.

Aktif (açık) durum: Aksiyon potansiyelinin başlangıcında kısa bir süre için sodyum kanalların açık olma durumudur.

İnaktif (kapalı) durum: Aksiyon potansiyelinin düşme döneminde kanalın kapalı durumudur. Kanal kapalı durumda, açık durumdan daha uzun bir süre Na^+ geçişinc kapalıdır, bu durum hücrenin refraktör periyoduna karşılık gelir.

İstirahat duruma (kapalı fakat hemen açılmaya hazır): Lokal anestezipler, inaktif durumdaki sodyum kanalına daha fazla bağlanırlar ve kanalı bu durumda stabilize ederek, lokal anesteziğin etki yaparlar.

Sodyum kanalının lokal anesteziplere affinitesi, istirahat durumunda ileri derecede azalmaktadır. Bu nedenle, stimulus kesilince kanal, lokal anesteziğin etkisinden inaktivasyon halinden 10-1000 kez daha yavaş kurtulur. Bu nedenle lokal anestezipler refraktör periyodunu uzatırlar.

Lokal anestezipler sinir üzerine belirli bir konsantrasyonda uygulandığı zaman, düşük frekanslı stimulusların iletimini bloke etmediği halde, yüksek frekanslı stimulusların iletimini bloke edebilmektedir. Yüksek frekans, sodyum kanallarının yüksek affinitede aktif ve inaktif durumda kalmasının toplam süresini artırır ve böylece ilaç moleküllerinin daha fazlasının etki yerine bağlı kalmasını sağlar. Stimulasyon kesilince moleküller etki yeri olan sodyum kanallarından uzaklaşır (2-6,29,30).

Lokal anestezipler, gösterdikleri farklı fizikokimyasal özelliklerinden ve farklı aktivitelerinden dolayı birbirlerinden ayrılırlar. Bu faktörler, pKa (yağda çözünürlük katsayısı) ve protein bağlama derecesidir (3,4).

Lokal anesteziğin ilaçları, amin grubu ve aromatik halkalar arasındaki zincirlerinin bağlanma doğasına göre 2 grupta sınıflandırılırlar; 1) *Ester bağı (procaine ve derivasyonları)* ve 2) *Amid bağı (lignocaine ve derivasyonları)*

Amin grubu ve aromatik halkalar arasında ester bağı olan lokal anesteziplerin çoğu plasmakolinesterazi ile hızlıca metabolize olurlar. Toksikite güçleri zayıftır fakat çözeltide depolandığı zaman ölümlere sebep olurlar.

Amin grubu ve aromatik halkalar arasında amid bağı olan lokal

anestezikler çok stabildir. Plasma kolincsterazla hidrolize olmazlar ve bundan dolayı breakdown için hepatik detoksifikasyon mekanizmasında güvenilir.

Ester bağı olan lokal anesteziklerin pK_a değerleri, amidlerden daha yüksektir yani yağda çözülebilme oranları, fizyolojik pH çözeltilerinde non-iyonize formları amidlerden daha büyüktür.

I. Fizikokimyasal özellik: pK_a değerindeki bu fark, lokal anestezinin axon zarına penetrasyonda ve zar seviyesinde meydana gelen iyonize formun sodyum kanallarının girişinde kendisini gösterir. Sinirlerin üzeri, lipid zarlarıyla çevrilidir ve non-iyonize durumdadır. Zira en iyi penetre olabilen ilaçlar yağda çözülebilen ilaçlardır. pK_a değeri 7,4'e yakın ilaçlar sinir etrafına diffüze olan uygun tamponlarla uygulandığı zaman, etkilerini hızlı bir biçimde gösterirler. Amid serilerinden lignocaine'nin pK_a değeri bupivacaine'den daha düşüktür ($7,7 < 8,1$) ama lignocaine daha küçük moleküllere sahip olduğu için zira penetre olması daha hızlıdır. pK_a değeri yüksek prokain ile insoluble relatif ilaç A lifleri çevresindeki diffüzyon tamponlarına penetrasyonu çok yavaş olur ve çok yavaş olarak blokaj gelişir. C liflerinde ise penetrasyon ve blokaj hemen gelişir. Miyelinli lifler düşük konsantrasyonlara daha duyarlıdır (3,4).

II. Fizikokimyasal özellik: Protein bağlama derecesidir. Protein bağlama derecesi zincire eklenen protein molekülüyle artar. Bu durum etki süresiyle ilgilidir. Protein bağlama derecesi ne kadar yüksek ise etki süreside o derecede fazladır.

Sinir blokajında sinir içindeki fibrillerin dizilişi önemlidir. Distal yapıda bulunan fibriller korlarla ayrılmıştır ve dışardan proximala bağlıdır. Lokal anesteziklerin sinirle diffüze olmasında periferin sonundaki lifler de etkilidir. Branchial plexusun blokajının yavaş olarak gelişmesi açık olarak anatomiksel faktörlere bağlıdır (kök, kordon, kafes, bronşlar).

Lokal anesteziklerin farklı farmakolojik ve fizikokimyasal özellikleri, birleşen varyasyonlarıyla karşılaştırılır. Farklı sınıflardaki lokal anestezikler farklı yollarla sodyum kanallarını

bloke ederler.

2.14. Genel ve Lokal Anestezikler

Genel ve lokal anestezikler, zar stabilizatörleri içerirler. Dinlenme zar potansiyelini değiştirmezlcr ama diğer ajanların hiperpolarize ve hiperpolarize etkisinin düzenlenmesinde rol oynarlar (2-4). Stabilizatörler, aksiyon potansiyelinin yükselmesi fazında rol oynayarak Na^+ iletkenliğinin spesifik artışını azaltırlar. Frank ve ark. genel ve lokal anesteziklerin, Na^+ aktivasyonunu blokladıklarını ileri sürmüşlerdir.

Seeman, anestezik ajanların dinlenme zar potansiyelini değiştirdiğini, geri dönüşümlü olarak sinir iletimini blokladığını saptamışlar ve bu nedenden dolayı anestezik ajanları zarın stabilizatörleri olarak kabul etmiştir.

Yüksek konsantrasyonlarda genel anestezikler in-vitro olarak, Na^+ iletkenliğini ve sinir iletimini bloklarlar. Genel anesteziklerin, klinikte efektif konsantrasyonlarda periferik sinir iletiminde çok küçük veya hiç etkisi yoktur, fakat merkezi sinir sisteminde en küçük liflerin bazılarında genel anesteziklerin verilmesiyle, iletimin bloklandığı gözlenmiş ve in-vivo konsantrasyonları hesaplanmıştır.

Genel ve lokal anesteziklerin uyarılabilir hücrelerde, nöronal uyarılabilirlikte, Ca^{++} ve Na^+ iyonlarıyla birlikte etkileri deneysel olarak incelendiğinde benzerlikler ve farklılıklar ortaya çıkmıştır. Ortamdaki Ca^{++} ve Na^+ konsantrasyonlarının artması, lokal anesteziklerin etkisini antagonize eder.

Halothane (36 mM), ketamine (0.73 mM), procaine (5 mM) ve cocaine (3 mM) izole kurbağa (*Rana-pipien*) sıyatik siniri üzerinde uygulandığında, amplütüdün yükselmesinin önemli derecede azaldığı ve sinir preparatının % 30'dan daha fazlasında iletimin tamamen bloklandığı gözlenmiştir (31-35).

Lokal anestezikler zar stabilizatörleridirler. Sinir aksiyon potansiyelinin amplütüdünü azaltır ve eşik voltajını yükseltirler. Genel anestezikler ise sadece yüksek konsantrasyonlarda aksonal iletimi deprese ederler (2-4).

2.15. Ketamin Hidroklorür

Ketamin molekülü fensiklidin ve sikloheksamin'e benzer. Kimyasal adı sikloheksilamindir, molekül ağırlığı 238 g dır, suda çözülenebilir ve pK_a değeri 7.5'dur. İki tekrar çözülebilen optikal izomer veya enantimerler üretilmesinde bir şiral merkez içerir.

Rasemik karışım (2 ketamin izomerinin eşit miktarlar içermesi) 1970'de genel klinikte önerilmesine rağmen, kardiovasküler sistemi stimüle etme özelliğinden ve acil reaksiyonlarda rahatsız verici özelliğinden dolayı klinikte kullanışsız olarak nitelendirilmiştir (4-6).

Ketamin intravenöz veya intramusküler enjekte edildiğinde, dissosiyatif durum denilen katalepsiye benzeyen, çevreden kopma durumu oluşturur. Ketaminin oluşturduğu bu anestezi tipine dissosiyatif anestezi denir (2-6). Domino ve arkadaşları, EEG çalışmalarında ketaminin limbik sistemin kokominant aktivasyonunu ve talamo-nörokortikal yolları deprese ettiğini gözlemişlerdir (3,6). Massaput ve arkadaşları, medial talamik çekirdeklerde ketamin, selektif depresant etkisi olduğuna göstermişlerdir. Spar'ın çalışmalarında ketaminin afferent sinyalleri bloklamasını, ağrı duyusunun hassas affektif komponentleriyle birleştirmişlerdir (3,6).

Ketaminin minör dozları, santral sinir sisteminde nörotransmitter sistemi etkileyerek, minör değişiklikler meydana getirir. Beyin asetiklolin esteraz ve muskarinik tipteki kolinerjik reseptörlerle reaksiyonuna giren ketamin, subkortikal yapılarda eletrofizyolojik değişiklikler meydana getirir (14). Birkaç araştırmacı merkezselsel-aktif antikolinesteraz physistigminin ketaminin sedatif ve analjezik etkilerini antagonize ettiğini göstermişlerdir (36). Ketamin yeterli derecede kas gevşemesi yapmaz. Ancak d-tübokürarin nöromusküler blokajı etme gücünü arttırır. Solunum üzerinde belirgin bir depresyon yapmaz, sadece intravenöz enjeksiyonun başlangıcında, kısa süren bir depresyon oluşturur. Solunum yollarının direncini arttırmaz fakat dış salgı bezlerinin salgısını arttırır ve antikolinerjik bir ilaçla premedikasyon yapılmasını gerektirir (3,6,31-33,37-39).

Santral etkiyle, sempatoadrenal stimulasyon yaptığı için kan basıncını, kalp atış hızını ve kalp debisini belirgin şekilde arttırır. Ketaminin en önemli sakıncası ayılmanın olaylı olması, ayılma sırasında hallüsinasyonlar, korkulu rüyalar v.b. geçici bir psikoz halinin görülmesidir. Kaslarda rijidite, laringo spazm ve istem dışı hareketler oluşur. Santral sinir sisteminde eletriysel etkinliğini arttırır, fakat konvülsiyon yapmaz. Serebrospinal sıvının basıncını arttırır ve göz içi basıncında hafif bir artma yapar (2-6,31-34,37-40).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Organ Banyosunda Kullanılan Cihazlar

- 1-Palmer Bioscience Stimulator 6012,
- 2-Palmer Bioscience Stimulator 6001,
- 3-Palmer Bioscience Programmer 150,
- 4-Palmer Bioscience Heater 61310-I,
- 5-Palmer Bioscience Electronic Recorder MD2,
- 6-Strain Gauge Coupler Type FC 117,
- 7-Force transducer Type D1 50 Gram,

3.2. Intraseellüler Kayıtlarda Kullanılan Cihazlar

- 1-Nihon Kohden Electronic Stimulator (Model Sen-3201),
- 2-Nihon Kohden Isolator (Model-SS 1025),
- 3-Nihon Kohden High Gain Amplifier AVH-10,
- 4-Nihon Kohden Dual-Beam Memory Oscilloscope (Model VC-10),
- 5-Nihon Kohden Microelectrode Amplifier (Model-MEZ-8201),
- 6-Nihon Kohden Averager (Model Dat-1100),
- 7-Harvard Microelektrode Puller,
- 8-Brinkmann Micromanipulator,
- 9-Olympus Sterozoommicroscope WMZ,
- 10-Type MT-Lauda Heater Circulator.

3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler

Soğuk Kanlı Kurbağa Siyatik Sinir-Sartorius Kası İçin Ringer

Çözeltisi:

NaCl: 115 mM ———> 6,72 g/l

KCl: 2,5 mM ———> 0,18 g/l

CaCl₂ (Susuz): 1,8 mM ———> 0,120 g/l

Na₂ HPO₄: 2,15 mM ———> 0,37 g/l

NaH₂PO₄ (Susuz): 0.85 mM ———> 0,32 g/l

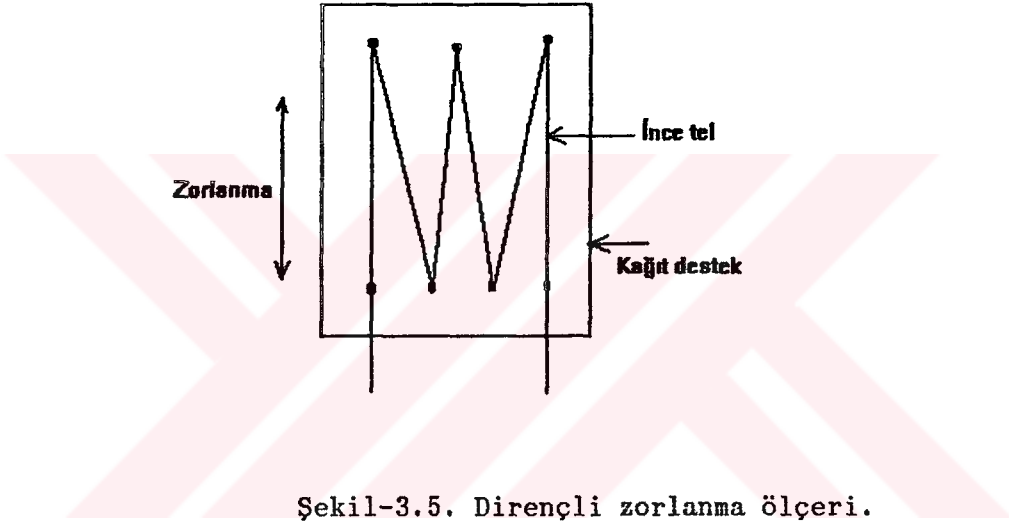
Sıcak Kanlı Sıçan Frenik Sinir-Hemidiyafragma Kası İçin Krebs

Çözeltisi

NaCl: 118 mM —> 6,92 g/l
KCl: 469 mM —> 0,35 g/l
MgSO₄: 0.6 mM —> 0.29 g/l
KH₂PO₄ : 1,17 mM —> 2,16 g/l
Glukoz: 11,1 mM —> 2,0 g/l
NaHCO₃: 25,0 mM —> 2,1 g/l
CaCl₂ (Susuz): 2,5 mM —> 0,28 g/l

3.4. Çevireçler (Transducer)

Genel anlamda çevireçler, herhangi bir fiziksel değişkeni başka bir fiziksel değişkene, dar anlamda ise herhangi bir fiziksel değişkeni elektriksel sinyallere dönüştüren aletlerdir. Fiziksel .



Şekil-3.5. Dirençli zorlanma ölçeri.

bakımdan transducerler kuvvet, basınç, ışık, sıcaklık v.s. fiziksel parametreleri anında elektriksel sinyallere çeviren aletlerdir. Transducerin giriş elemanı elektriksel olmayıp, çıkış elemanı elektriksel bir değişkendir. İdeal bir transducerde elektriksel çıkış voltajı, elektriksel olmayan giriş etkisinin bir fonksiyonu olmalı ve giriş ile çıkış arasındaki ilişki lineer olmalıdır.

Fiziksel değişkenleri elektriksel sinyale çeviren transducerler değiştirdikleri fiziksel değişkene göre ad alırlar. Bütün transducerler iki ideal transducer tipinin özelliklerini ihtiva eder.

a) İzotonik transducerlar (uzun ve yumuşak bir yaya sahip olup, gerim sabittir).

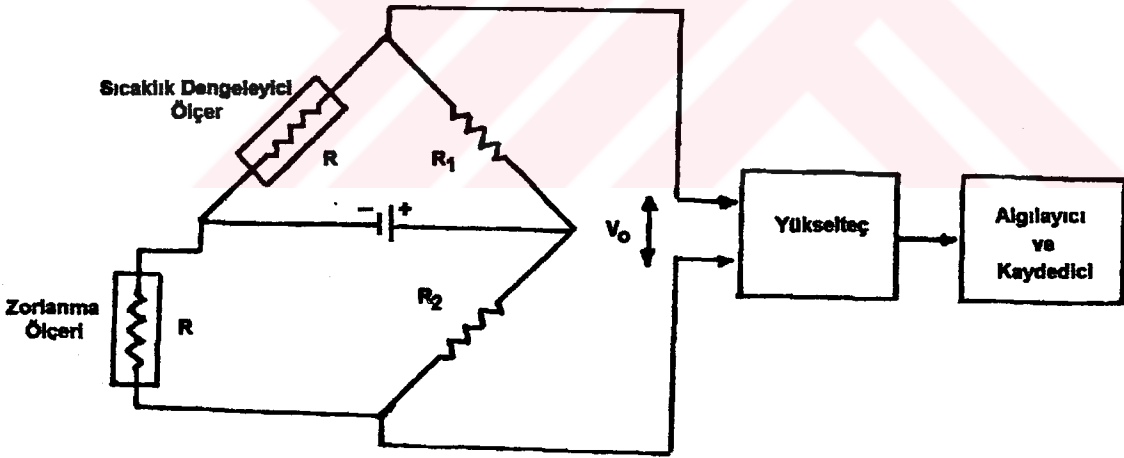
b) İzometrik transducerler (kısa ve sert bir yaya sahip olup, boy sabittir).

Her iki transducer özelliğine göre bir yay kullanılmaktadır. Mekanik değişimler bir direnç zorlanma ölçeri ile kolaylıkla ölçülebilir.

Şekil-3.5'de görüldüğü gibi ileri geri bükülmüş 0.025 mm çaplı metal tel, ince bir kağıt desteğe sıkıca bağlanır. Ölçer, denemekte olan yapı elemanının yüzeyine doğrudan tutkalla yapıştırılır ve elemanın uzunluğundaki değişimler ölçerin direncindeki değişimler yardımıyla ölçülür. Dirençteki değişim büyüklüğü;

$$R = \sigma \frac{L}{A}$$

L, telin toplam uzunluğunu, A kesitini ve σ ise öz direncini gösterir. Uzunluktaki bağıl değişim



Şekil-3.6. Sıcaklık etkilerini ortadan kaldırmak için ikinci bir ölçer kullanılan köprü devresi.

başına dirençteki bağıl değişim, yada ölçer çarpanı, $K = (\Delta R/R) /$

($\Delta L/L$), ölçerin duyarlılığının bir ölçüsüdür. Ölçer çarpanı

$$K = 1 + 2\alpha + L \frac{d\alpha}{dL}$$

α , tel maddesinin Poisson oranıdır. Dirençteki değişim, mekanik zorlanma artı öz dirençteki değişim sebebiyle tel boyutlarındaki değişimlerden doğmaktadır.

Zorlanma ölçerleri, dirençlerindeki değişimleri ölçmek için genellikle köprü devreleri kullanılarak ölçülür. Çünkü küçük direnç değişimleri kolaylıkla ölçülebilir ve sıcaklık düzeltmeleri rahatlıkla yapılabilir.

Zorlanma olmadığında köprü duyarlılığı Şekil-3.6'da görüldüğü gibi $R_1 = R_2 = R$ olup çıkış gerilimi sıfırdır ve R_1 direncinin uçları arasındaki gerilim $V/2$ 'dir.

Zorlanma olduğu zaman ölçer direnci $R + \Delta R$ gibi bir değere ulaşır ve çıkış gerilimi;

$$V_0 = \frac{V(R + \Delta R)}{2R + \Delta R} - \frac{V}{2} = \frac{\Delta R}{4R + 2\Delta R} V \implies V_0 = \frac{KV\Delta L}{4L}$$

Bu bağıntı, çıkış işaretinin doğrudan doğruya mekanik zorlanmanın bir ölçüsü olduğunu gösterir. $\Delta L/L \approx 10^{-3}$ olduğundan, çıkış işareti 10 mV büyüklüğünde yada daha az demektir. Bu yüzden genellikle köprü bir osilatörle uyarılabilir ve böylece bir doğru akım (d.c) yükselticisindeki kayma problemlerini önlemek amacıyla bir alternatif akım (a.c) çiftlenmiş yükselteç kullanılabilir. Eş zamanlı olarak dedekte etmek, düşük gürültüde çalışma imkanı sağlar ve aynı zamanda hem pozitif hem de negatif zorlamaları ölçer (41,42).

3.5. Mikroelektrot

Mikroelektrot tekniği kaslar, sinirler, sinir hücreleri ve diğer uyarılabilen hücrelerin zar ve intrasellüler potansiyellerinin kayıtlanmasında kullanılan bir teknik olup, fizyolojik çalışmaların vazgeçilmez çalışma alanıdır.

Bu teknikle spinal kord nöronları, serebral korteksin promidal

hücreleri, serebellar korteks, purkinje hücreleri, motor nöronlar, talamik ve beyin stem nöronları, kültüre edilmiş hücreler ve değişik tip hücrelerin elektriksel ve fiziksel özelliklerini incelemek mümkün olmuştur. Pratikte hücreye elverişli bir şekilde girmek mümkündür. Bunun için pipetin ucu çok ince, hücre büyük ve hücreyi saran dokunun mekanik direncinin etkisiz bırakılmış olması gerekmektedir.

Uç kalınlıkları 0.5 μm ve içleri derişik KCl çözeltisi ile doldurulmuş pipetler 100 μm çapında bir kas lifine sokulurlarsa, dinlenme potansiyelini % 1-2 den daha fazla düşürmez ve girdikleri yerde mikroskopik düzeyde bir zarar vermezler. Bugün mikroelektrot tekniği fizyolojide, farmakolojide, zoolojide, biyolojide ve deneysel fizyoloji çalışma alanlarında gereksinim duyulan bir teknik olmuştur (41-44).

3.5.1. Cam mikroelektrotlar

Intrasellüler kayıttaki kullanılan metal elektrotlar, metal ve elektrolit arasındaki bağlantı yüzeyinin çok küçük olmasından dolayı bazı problemlere sebep olmuştur. Bu nedenle metal elektrotlar yerine cam mikroelektrotlar kullanılmaya başlanmıştır. Cam mikropipetler sertlik, incelik, uç sivriliği, elektriksel yalıtım ve kimyasal stabiliteye sahip olmasından dolayı biyoelektriksel olayların incelenmesinde geniş bir şekilde kullanılma şansını arttırmıştır. Cam mikropipetler yapımında en çok kullanılan çapları 1-2 mm olan, B_2O_3 içeren borsilikat kapiller cam tüpler kullanılmaktadır. Bu cam tüpler yüksek yumuşama noktaları, yüksek kimyasal stabiliteleri ve mükemmel elektriksel öz dirençleriyle karakterize edilmişlerdir.

Kapiller cam tüp, mikroelektrot puller'ına ısıtıcı filament halkası içinden geçirilip, iki ucundan klemplerle tutturulur. Mikroelektrot puller'ın çekim kuvveti ve ısıtma derecesi ayarlanıp start düğmesine basılır. Kapiller cam yumuşar yumuşamaz selenoid bir kuvvetle yavaş ve hızlı bir şekilde çekilerek, uçları 1 μm den daha küçük olabilen iki ayrı mikropipete ayrıştırılır. Çekilerek elde edilen mikroelektrotlar konsantre olarak hazırlanan 3 M KCl elektrolit ile doldurulur. Bu derişik tuz çözeltisi çok ince olan

mikroelektrodun uç direncini azaltır. Bu direnç 10-20 MΩ dan daha az olamaz. Bizim bu araştırmada kullandığımız mikroelektrodun empedansı 15-30 MΩ arasında değişmektedir.

Mikroelektrot çalışmalarında iyi sonuç alabilmek için;

- Elektrolit hassas hazırlanmalı,
- Mikroelektrot doldurulurken hava kabarcıkları ve tuz kristalleri oluşmamalı,
- Mikroelektrot uçları 0.5 µm dolayında olmalı ve kırık olmamalıdır (36-38).

3.6. Sıçan

Deneylerde, ağırlıkları 200-250 g arasında değişen 13 adet Wistar albinos türü sıçanın frenik sinir-hemidiyafragma kas preparatları kullanıldı. Deney hayvanları Ç.Ü. Deneysel Cerrahi Araştırma Merkezinden sağlandı.

3.6.1. Sıçan Frenik Sinir-Diyafragma Kası Diseksiyonu

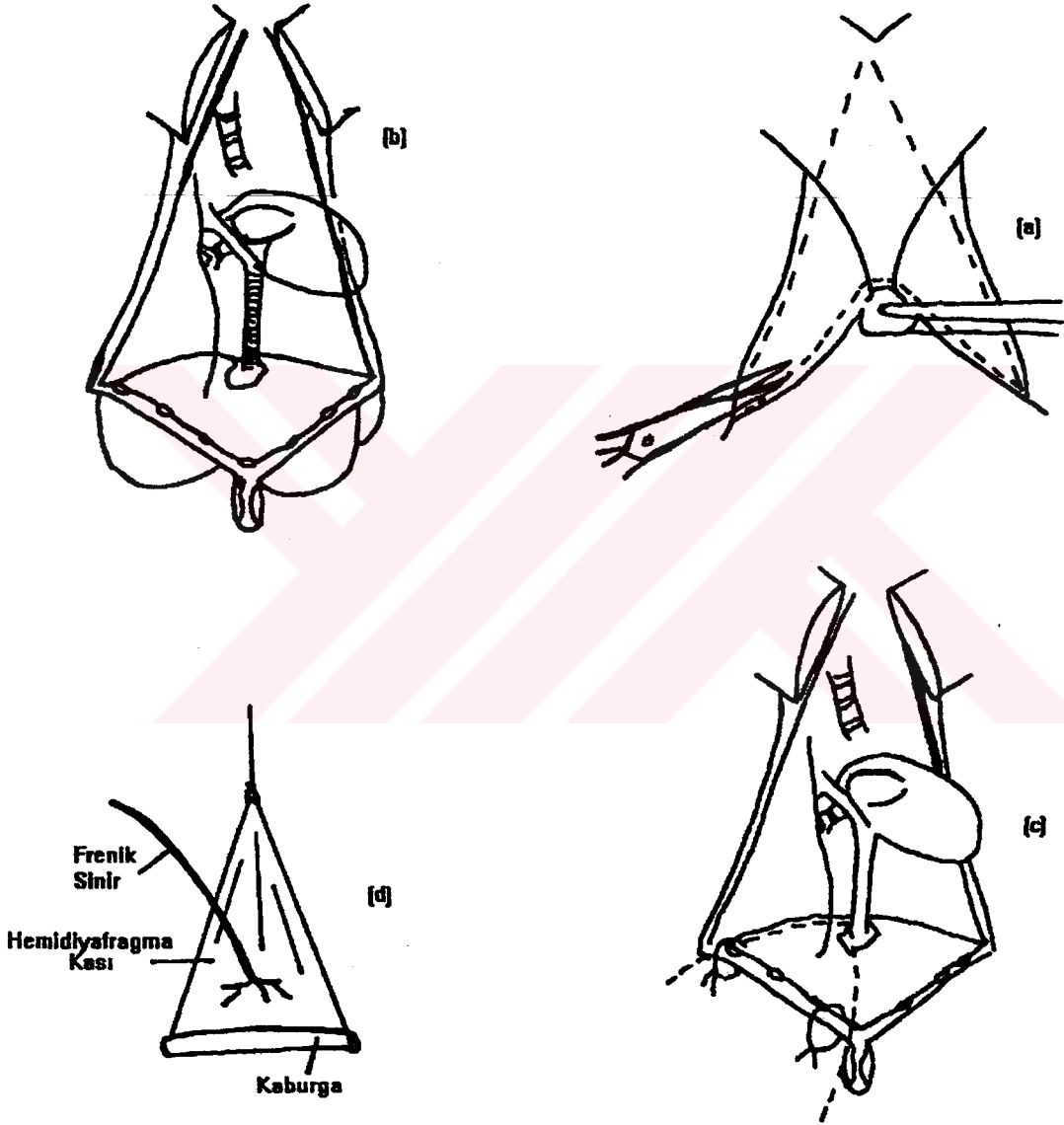
Sıçan, kuyruk ve başından tutulup, omurilik bedenden ayrılacak biçimde çekildi ve sonra boynundaki damarlar kesilerek baş bedenden ayrıldı (dekapitasyon) (42).

Öldürülen sıçan, sırtüstü yatırdı ve bacaklarından fikse edildi. Derisi açılan sıçanın, thoraxın ve riblerin üzerindeki kaslar disekte edildi. Diyafragmaya doğru abdominal bölgeden küçük bir yarık açıldı. Sternum kapalı bırakılacak şekilde dikkatlice mediastinal dokudan disekte yapıldı. Diyafragma, 5. ve 6. kaburga kemikleri (ribler) arasından başlar. Eğri, keskin uçlu bir makasla, göğüs (chest) duvarında mediasternumun diyafragma kasının bağlantıları kesildi. Sağ üst tarafta uzanan ve diyafragmaya giren frenik sinir görüldü. Yavaşça frenik sinir medialden kaldırıldı ve kalbin sağ tarafından dikkatlice diyafragmaya kadar disekte edildi. Frenik sinirin uzunluğu yaklaşık olarak 2.5 cm kadardır (Şekil-7). Disekte edilen frenik sinir-hemidiyafragma kas preparatı, krebs solusyonu içeren petri kutusuna alındı.

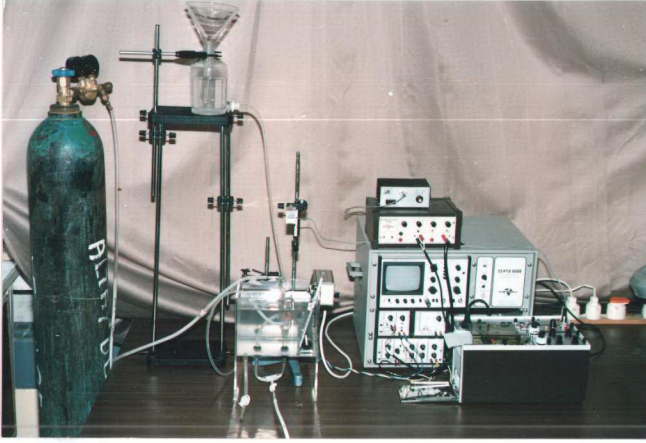
3.6.2. İzole Organ Banyosunda Kas Kasılma Kuvvetinin Ölçülmesi

Disekte edilen frenik sinir-hemidiyafragma kas preparatı, hooked elektroduna riblerden destek alınarak diyafragma sabit

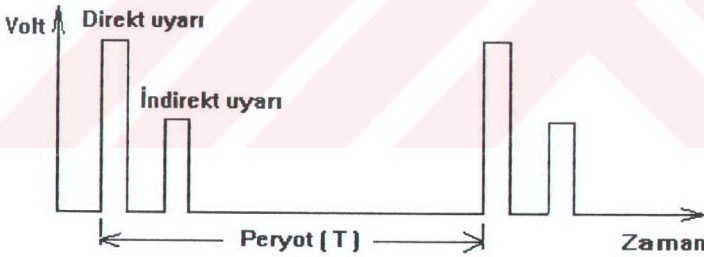
olacak biçimde yatay pozisyonda bağlandı. Frenik sinir, platin tel elektrotlarından oluşan bir elektrot holderından geçirildi. Frenik sinir gergin olmayacak ve her bir impulsta kas serbestçe hareket edebilecek biçimde, sinir-kas preparatı içinde krebs çözeltisi bulunan izole organ banyosuna asıldı. Banyo sıcaklığı $T=36.5\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutuldu ve sürekli olarak %95 O₂ ve %0.5 CO₂ ile oksijenlendirildi (Resim-1).



Şekil-3.7. Sıçan Frenik Sinir-Hemidiyafragma Kas Preperatı Diseksiyonu



Sinir-kas preparatının denge periyoduna gelmesi için elektro-fizyolojik şartlarda bir saat bekletildi. Frenik sinir-hemidiyafragma kasını direkt ve indirekt olarak uyarmak için, BIOSCIENCE PROGRAMMER 150 ve BIOSCIENCE STIMULATOR 6001 ve STIMULATOR 6012 kullanıldı. Frenik sinir-hemidiyafragma kasındaki kuvvet değişiklikleri BIOSCIENCE TYPE D2 İZOMETRİK KUVVET TRANSDUCER'U ile ölçüldü ve iki kanallı BIOSCIENCE MD 402 RECORDER'ı ile kayıtlandı.



Şekil-3.8.Direkt-İndirekt Uyarı

Programmer, 1.3 saniye aralıklarla önce kası uyarır ve sonra siniri uyarır stimulatörlere birer uyarı gönderecek şekilde

programlandı. Frenik sinir-hemidiyafragma kası supramaksimal olarak önce kas sonra sinir uyarılacak şekilde sırasıyla (Kas: 2V, Sinir: 1.5 V), 0.05Hz (her 20 sn'de bir) frekanslı ve 1 ms süreli kare pulslarla, direkt ve indirekt olarak uyarıldı (Şekil-3.8).

Frenik sinir-hemidiyafragma kasının önce normal kas kuvvetleri alındı. Sonra banyo çözeltisine 21, 31.6, 42, 63.4, 73.8 μ M ketamin (ketalar flakon, Park Davise) konsantrasyonları kümülatif olarak eklendikten sonra kayıt alındı. Ketamin içeren Krebs solusyonunun pH= 7,4 olarak biçimde tris ve HCl kullanılarak ayarlandı. Yapılan ön çalışmalarda her bir ketamin konsantrasyonu 2.5 dakikadan sonra kas kasılma kuvvetini değiştirmediği için, her bir konsantrasyon basamağından 2.5 dakika süresince kayıt alındı. Banyo çözeltisinin ketamin konsantrasyonları arttıkça frenik sinir-hemidiyafragma kas kuvvetlerinde azalmalar gözlemlendi. indirekt olarak sinir-kas preparatının cevap vermediği zaman, banyo çözeltisi değiştirildi ve krebs çözeltisinde geri-dönüşümler kayıtlandı.

3.7. Kurbağa

Deneylerde, ağırlıkları 80-100 g arasında değişen 18 adet kiş su kurbağaları (*Rana-cameroni*) siyatik sinir-sartorius kası preparatı kullanıldı. Deney hayvanları derelerden sağlandı.

3.7.1. Kurbağa Siyatik Sinir-Sartorius Kas Preparatı Diseksiyonu

Desebre edilmiş kurbağa (Omuriliği zcdelenmiş) tahta bloğum üzerine ventral yüzeyi üst yüzeye gelecek biçimde tespit edildi. A-şağı abdomen ve uyluk kemiğinden derisi çıkarıldı. Sartorius kasının pozisyonu şekilde görüldüğü gibi, rektus abdominis kasının altından başlar ve uyluk kemiğininin medial yüzeyi boyunca uzanır. İnce uzun üçgen biçimindeki bu kas, dize doğru incelik ve dizde distal bölęeye bir tendonla bağlanır (Şekil-3.9).

Dize yakın kasın marjinlerindeki bağ dokusuna iğne ile yarık açıldı. Diseksiyona, distalde tendon açık kalana değin devam edildi. Sonra kas lifleri zarar görmeyecek biçimde tendon sıkıca bağlandı. Ayrılan tendonla kas yukarıya doğru kaldırıldı ve kas serbest kalana dek pelvic girdle kadar diseksiyona devam edildi. Bu arada orta-uyluk kemiğinin bulunduğu bölęede, kan damarları ve

Siyatik sinir-sartorius kasının önce normal kas kuvvetleri, sonra banyo çözeltisine 28, 56, 140, 280 µM ketamin (ketalar, flakon, Park Davise) konsantrasyonları kümülatif olarak eklenip, kas kuvvetleri kayıtları. Ketamin içeren ringer çözeltisinin pH'sı 7 olacak biçimde tris ve HCl kullanılarak ayarlandı. Daha önceki çalışmalarda her bir ketamin konsantrasyonu 2.5 dakikadan sonra kas kuvvetlerini değiştirmedeği gözlemlendiği için, her bir konsantrasyon basamağında 2.5 dakika süresince kayıt alındı.

Siyatik sinir-sartorius kasından indirekt olarak cevap alınmadığı zaman, banyo çözeltisi değiştirildi ve ringer çözeltisinde geri-dönüşümler kayıtları.

3.8. İntrasellüler Kayıt

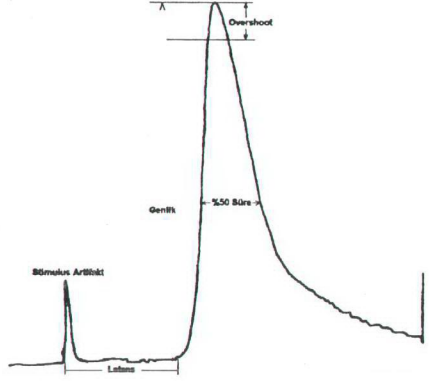
Daha önce bahsedildiği biçimde hazırlanan sinir-kas preparatlarında zar potansiyelleri ve aksiyon potansiyeli parametreleri intrasellüler kayıt yöntemiyle ölçüldü.

Preparat 55 x 27 mm boyutunda parafinle kaplanmış preparat tablası (plexiglass) üzerine çelik iğnelerle tutturuldu. Yaklaşık 10 ml alabilecek kapasitede ve perfüze imkanı olan preparat odasına alındı. Sinir-kas preparatı için gerekli olan ortam sıcaklığı, pH değerleri, oksijenlendirme ve perfüzyon hızı organ banyosundaki değerlere göre ayarlandı.

Mikroelektrotlar, INTRAFIL (dış çapı 1.0 mm, iç çapı 0.58 mm) marka borsilikat kapiller cam tüpler mikroelektrot pullerlardan, uç dış çapları 0.5-1 µm olacak biçimde çekilerek elde edildi. Mikroelektrotlar, 3 M KCl ile dolduruldu. Doldurulan bu mikroelektrotların empedansları 15-30 MΩ arasında değişmektedir. Doldurulan mikroelektrotlar 3 M KCl çözeltisiyle doldurulmuş mikroelektrot holderına yerleştirildi. Referans elektrot olarak Agar-Jel elektrotu kullanıldı.

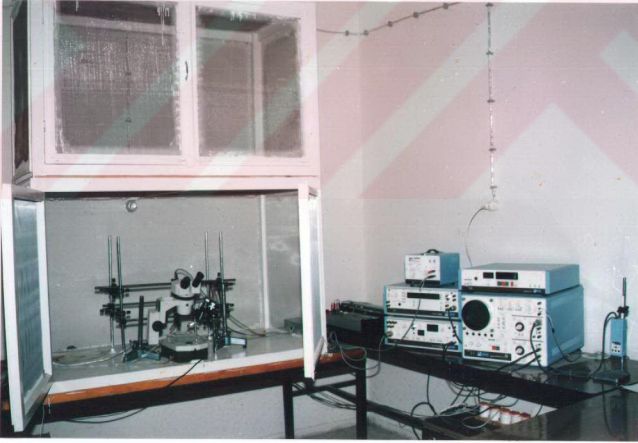
Potansiyeller Nihon-Kohden Microelectrode Amplifier (MEZ-8201) ve elektrofizyolojik gözlem sistemiyle ölçüldü ve N.K.MODEL SEN-3201 elektronik stimülatörü ve SS-201 J izolatörü ile manuel olarak, supramaksimal 0.2 ms süreli kare pulslarla uyarıldı (Şekil-3.8).

Nihon Kohden High Gain preamplifikatör AVB-10'u olan VC-10 Dual Beam Memory Oscilloscope'u ile hafızaya alınan potansiyeller, PR-200 recorder'ı ile kağıda aktarıldı ve parametreler ölçüldü (Şekil-2.4). Preparat odasında bulunan sinir-kas preparatlarının normal ve değişik ketamin konsantrasyonlarında



Şekil-3.11. Aksiyon Potansiyeli Parametreleri

membran potansiyelleri ve aksiyon potansiyelleri parametreleri ölçüldü (Şekil-3.11).



4. BULGULAR

Sıcak kanlı sıçan frenik sinir-kas preparatı ve soğuk kanlı siyatik sinir-sartorius kas preparatıyla yapılan biyomekanik ve elektrofizyolojik değerlerden elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur. Biyomekanik değerler (Kas Kasılmaları) izole organ banyosunda elektrofizyolojik deneylerde mikroelektrot tekniğiyle yapılmıştır.

Bütün sonuçlar, tablolarda ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir ve farklı grupların ortalama değerleri arasındaki fark Student-t testi ve Anova ile değerlendirilmiştir.

4.1. Mekanogramlar

Ağırlıkları 200-230 gram arasında değişen toplam 13 adet sıcak kanlı sıçan frenik sinir-hemidiyafragma kası ve ağırlıkları 80-100 gram arasında değişen toplam 18 adet soğuk kanlı kurbağa siyatik sinir-sartorius kası üzerinde deneyler yapıldı. Bu kasların izole organ banyosunda sabit sıcaklık koşullarında direkt (kasta) ve indirekt (sinirden) uyararak normal banyo (sıcak kanlı sıçan Krebs çözeltisinde, soğuk kanlı Ringer çözeltisinde) ve değişik ketamin konsantrasyonlu ortamlarda izometrik kasılma kuvvetleri ölçüldü. Elde edilen sonuçlar toplu olarak Tablo-4.1, Tablo-4.2, Tablo-4.3 ve Şekil-4.9, Şekil-4.10, Şekil-4.11, Şekil-4.12 de gösterilmiştir.

Tablo-4.1, Tablo-4.2 ve Tablo-4.3 de normal banyoda ve değişik ketamin konsantrasyonlu banyoda direkt ve indirekt uyarma koşullarında kasın gram cinsinden kasılma kuvvetleri, bu kuvvetlerin normalize (% değerleri) değerleri gösterildi. Tabloların son sütunlarında ise direkt ve indirekt uyarma koşullarında elde edilen ortalama kasılma kuvvetleri arasındaki farkın anlamlılık düzeyleri Student-t testi ile gösterildi. Tablo-4.1, Tablo-4.2 ve Tablo-4.3 de kararlı duruma ulaşma zamanı, ilgili ketamin konsantrasyonunda banyoya ketamin eklendikten itibaren kasın cevaplarında değişimin olmadığı zamana kadar geçen süredir. Bu nedenle 4. ve 5. sütunlarda

verilen direkt ve indirekt kasılma kuvvetleri, kas kararlı duruma ulaştığı zamanlardaki kasılma kuvvetleridir.

Tablo-4.1, Tablo-4.2, Tablo-4.3 de etki fazı ile, ketamin dozlarının uygulanıp cevabın kaydedildiği faz, Tablo-4.1 ve Tablo-4.2 deki geriye-dönüş fazı ile, maximum blokaja ulaştıktan sonra banyo konsantrasyonu normal Krebs'e ve normal Ringer'e çevrilip ve 5 dakika aralıklarla kas cevaplarının kaydedildiği fazı gösterilmektedir.

Sıcak ve soğuk kanlı iskelet kaslarından direkt ve indirekt uyarıda kasın kasılma kuvvetinde %50 inhibisyona ve blokaja neden olan banyo ketamin konsantrasyonları μM cinsinden aşağıda toplu halde gösterildi.

Preperat	Direkt Uyarı (Kastan)		Indirekt Uyarı (Sinirden)	
	% 50 Inhibisyon	Blokaj	% 50 Inhibisyon	Blokaj
Sıcak Kanlı	63.5 μM	-	52.6 μM	73.8 μM
Soğuk Kanlı	140 μM	-	90 μM	280 μM

TABLO-4.2. Kurbağa siyatik sinir-sartorius kas preparatlarında ketaminin konsantrasyona bağlı olarak oluşturduğu blokaj etkisi ve yıkandıktan sonra kasın geri dönüş izometrik mekanogram değerleri. Kasılma kuvvetleri izometrik transducer ile gram (g) cinsinden ölçülmüştür.

KURBAĞA Siyatik Sinir-Sartorius Kası KASILMA Kuvveti-KETAMİN Konsantrasyonu					
FAZLAR	BANYO KETAMİN KONSANTRASYONU (µM/L)	KARARLI DURUMA ULAŞMA ZAMANI T(Dak)	DİREKT UYARIDA KASILMA KUVVETİ (G)	İNDİREKT UYARIDA KASILMA KUVVETİ (G)	STUDENT T-TESTİ
ETKİ FAZİ	0	0	17.9±0.3 (%100)	17.9±0.3 (%100)	p>0.05
	28	4.3	15.3±0.4 (%85.4)	13±0.6 (%72.6)	p<0.001
	56	8.1	12.6±0.3 (%70.3)	9.2±0.4 (%51.3)	p<0.001
	140	12.4	9.3±0.3 (%51.9)	4.3±0.1 (%24)	p<0.001
	280	17.1	4.1±0.2 (%22.9)	0	-
GERİYE DÖNÜŞ FAZİ	NORMAL BANYO	5	5.5±0.2 (%30.7)	2.8±0.1 (%14.5)	P<0.001
		10	9.3±0.3 (%51.9)	6.6±0.2 (%36.8)	P<0.001
		15	11.9±0.3 (%66.4)	10.7±0.3 (%59.7)	P<0.001
		20	16.8±0.3 (%93.8)	13.1±0.6 (%73.1)	P<0.001
		25	16.9±0.3 (%9-4.4)	14.1±0.3 (%78.7)	P<0.001

4.2. Elektrofizyoloji

Sıcak ve soğuk kanlı iskelet kaslarına ait zar potansiyeli (MP) ve aksiyon potansiyeli (AP) parametreleri Tablo-4 de gösterildi ve grafikleri Şekil-4.13, Şekil-4.14, Şekil-4.15 de çizildi.

Tablo-4.4 de MP ile AP nin genlik, latans, overshoot ve % 50 sürelerinin ortalama \pm standart sapma değerleri gösterildi. Deneyde soğuk kanlı kurbağa sıyatik sinir-sartorius kasından bu parametrelerin yalnız Ringer çözeltisindeki normal (kontrol) değerleri ile, sıcak kanlı sıçan frenik sinir-hemidiyafragma kasının Krebs çözeltisinde normal değerleri yanında değişik banyo ketamin konsantrasyonlarındaki değerleri de ölçüldü. Tablo-4.4 de ayrıca, soğuk kanlı ve sıcak kanlı iskelet kaslarının MP ve AP parametrelerinin normal değerlerinin ortalamaları arasındaki farkın anlamlılık düzeyleri (Student-t Testi sonuçları) de gösterildi.

Tablo-4.4 de gösterilen kas aksiyon potansiyelleri, indirekt olarak sinirin uyarılması sonucunda kastan kayıtlandı. Tablo-4.4 ve Şekil-4.13,4.14,4.15 den görüleceği gibi, banyo ketamin konsantrasyonunun artmasıyla, dinlenim membrane potansiyelinin negatifliği azalmakta, aksiyon potansiyeli genliği ve overshoot değeri küçülmekte, latansı ve % 50 süresi ise uzamaktadır. Banyo ketamin konsantrasyonu 120 μ M ulaştığı zaman, sıcak kanlı frenik sinir-hemidiyafragma kas preparatından aksiyon potansiyeli kayıtlanamadı. Şekil-4.13 te görüldüğü gibi banyo ketamin konsantrasyonu 110 μ M olduğu zaman aksiyon potansiyelinin değeri % 50 azalmaktadır. 110 μ M ketamin konsantrasyonunda AP değeri, normal değerinin % 50 sine düşerken, latansı ilk değerinin % 143'ne çıkmakta, membrane potansiyeli de ilk değerinin % 94 'ne düşmektedir. Şekil-4.15 de sıcak kanlı ve soğuk kanlı sinir-kas preparatlarından kayıtlanan membrane ve aksiyon potansiyeli parametrelerinin ortalama değerleri toplu halde gösterilmiştir.

Görüldüğü gibi bu parametreler soğuk ve sıcak kanlı iskelet kaslarında birbirinden farklı ve bunların ortalama değerleri arasında istatikselsel olarak $p < 0.001$ düzeyinde farklar bulunmaktadır. Kas tam blokaja ulaştığı zaman, yani aksiyon potansiyeli kayıtlana-

madığı zaman, membrane potansiyeli ilk değerinin % 92.5'na düşmektedir.

Soğuk kanlı kurbağa siyatik sinir-sartorius kasının değişik ketamin konsantrasyonlarındaki davranışının da bir derece farkı, yani kayma dışında sıcak kanlı sıçan frenik sinir-hemidiyafragma kasındaki gibi olması beklenmektedir. Yalnız mekanogram değerleri arasında olduğu gibi kasılma kuvvetinin % azalmalarında farklılıklar da beklenmektedir.

Özet olarak, sıcak kanlı sıçan frenik sinir-hemidiyafragma kasında aksiyon potansiyeli genliği 110 μ M ketamin konsantrasyonunda % 50 inhibe olmakta, 120 μ M ketamin konsantrasyonunda ise tam bloke olmaktadır. 110 μ M'lık ketamin konsantrasyonunda aksiyon potansiyeli parametrelerindeki değişiklikler aşağıdaki toplu halde gösterildi.

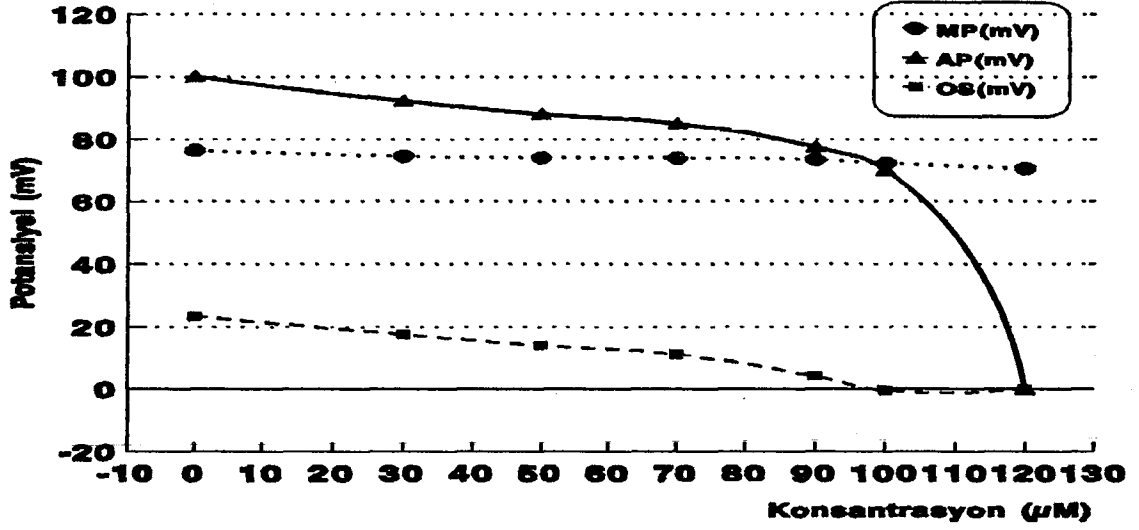
110 μ M Ketamin Konsantrasyonunda Aksiyon Potansiyeli Parametreleri

Sıcak Kanlı Sıçan	MP(mV)	AP(mV)	OS(mV)	L(ms)	% 50S(ms)
Normal Değerler	76.5	100.1	23.5	0.7	0.6
% 50 Inhibisyon	72 (%94)	50 (%50)	-1	1 (%143)	1.1 (%183)

TABLO-4.4. Soğuk ve Sıcak Kanlı iskelet kaslarının zar ve aksiyon potansiyeli parametrelerine ketaminin etkisi. n değerleri ölçüm sayısını ve 30, 50,70,90,100 ve 120 µM/l Ketamin, Krebs çözeltisine kümülatif olarak eklenmiş ketamin konsantrasyonlarını göstermektedir. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Tabloda sadece, sıcak ve soğuk kanlı sinir-kas preparatlarının normal banyo çözeltisinde ölçülmüş membran ve aksiyon potansiyellerinin student t-testi sonuçlarını gösterilmektedir.

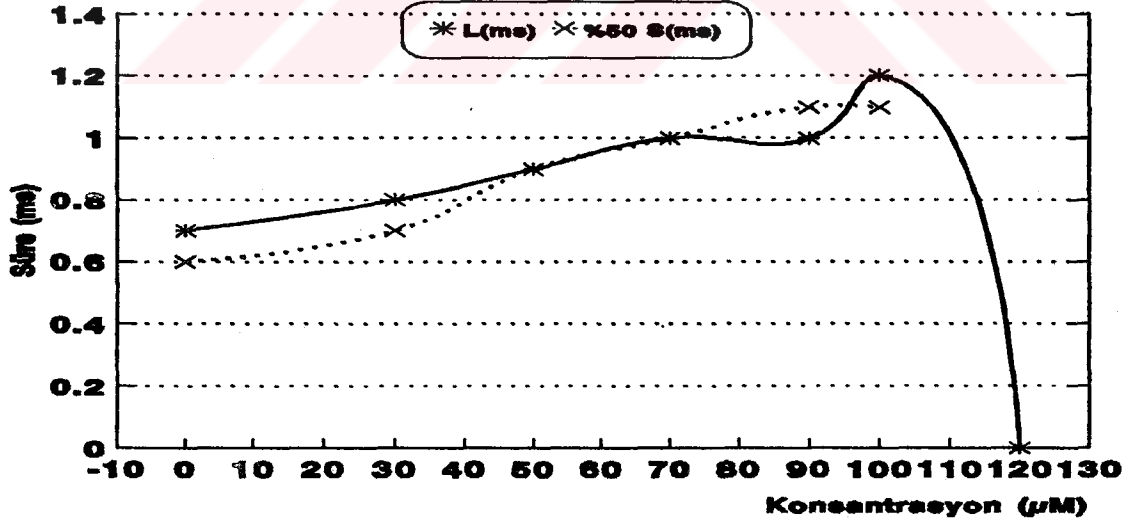
POTANSİYELLERİN Büyüklükleri-KETAMİN Konsantrasyonu					
BANYO ÇÖZELTİSİ	MEMBRAN POTANSİYELİ (mV)	AKSİYON POTANSİYELİ PARAMETRELERİ			
		GENLİK (mV)	LATANS (ms)	OVERSHOOT (mV)	% 50 SÜRE (ms)
NORMAL KREBS n=102	-76.5±2.4	100.1±2.9	0.7±0.1	23.5±2.1	0.6±0.1
30 µM Ketamin n=45	-74.7±1.5	92.4±2.5	0.8±0.2	17.6±1.7	0.7±0.1
50 µM Ketamin n= 45	-74.2±1.9	88.2±2.6	0.9±0.2	14.0±2.8	0.9±0.1
70 µM Ketamin n=45	-74.2±1.2	85.1±2.8	1.0±0.4	11.1±3.0	1.0±0.1
90 µM Ketamin n= 45	-73.6±1.7	77.6±4.5	1.0±0.2	4.1±4.0	1.1±0.1
100 µM Ketamin n= 45	72.4±1.8	70.2±3.0	1.2±0.4	-0.5±2.3	1.1±0.1
120 µM Ketamin n= 45	70.8±1.3	-	-	-	-
Soğuk Kanlı Kurbağa Siyatik Sinir-Sartorius Kas Preparatına Ait Mikroelektrot Sonuçları					
Normal Ringer	-85.8±3.4	117.8±2.9	2.9±0.6	32.3±0.5	4.6±2.1
Normal Banyoda Student T-Testi					
	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001

SICAK KANLI İSKELET KASI MP VE AP DEĞERLERİ



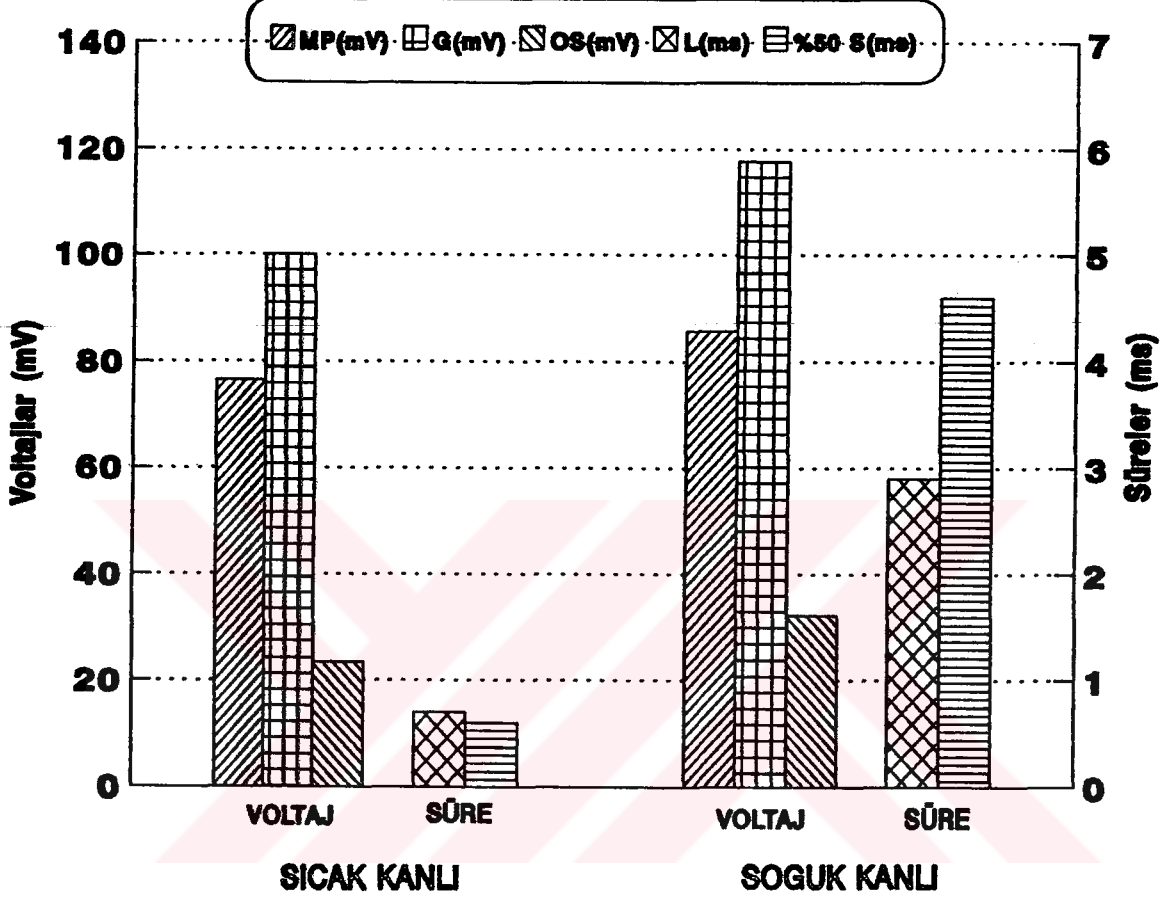
ŞEKİL-4.13. Sıcak kanlı iskelet kasından mikroelektrot ile kayıtlanan MP ve AP 'lerinin voltaj değerleri ile banyo ketamin konsantrasyonları arasındaki ilişkiler.

SICAK KANLI İSKELET KASI AP SÜRELERİ



ŞEKİL-4.14. Sıcak kanlı iskelet kasından mikroelektrot ile kayıtlanan AP süreleri ile ketamin konsantrasyonları arasındaki ilişkiler.

**Sıcak-Soguk Kanlı Sınır-Kas Preparatlarında
Aksiyon Potansiyeli Parametrelerinin Karşılaştırılması**



ŞEKİL-4.15. Hemidiyafragma ve sartorius kaslarından mikroelektrot ile kayıtlanan Membrane ve Aksiyon potansiyeli ile Latans ve AP genliğinin %50 olduğu noktalarındaki süreler.

5- TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. Biyomekanik Parametreler

Kurbağa sıyatik sinir-sartorius kas preparatının (SS-SK) ve sıçan frenik sinir-hemidiyafragma kas preparatının (FS-DK) mekanogram değerleri Tablo-4.1 ve 4.2 de verildi. Bunların normal banyodaki sarsı değerleri sırasıyla 17.9 g ve 11.4 g dır.

SS-SK ve FS-DK kaslarının enine kesit alanları farklı olduğundan sarsı kuvvetlerinde farklılıklar beklenir, çünkü kaslarda oluşan kuvvet enine kesit alanıyla orantılıdır ve 35 N/cm^2 dir (47-53). Bu iki kasın kesit alanları veya toplam kütleleri belirlenmediği için kesit alanındaki farklılığın hangi oranda kasılma kuvvetine etki ettiği söylenemez.

Sıcaklık: İzometrik sarsı kuvvetine banyo sıcaklığında etkisi vardır(50). 35 ve 22°C sıcaklıklardaki sarsı oranı $1160/1257=0.92$ ve her derecedeki azalma $(1.00-0.92)/13=6.15 \times 10^{-3}$ dir. Aynı düşünce ile kurbağa kasının 37°C'taki sarsı kuvveti ölçülseydi, yüzde azalma $6.15 \times 10^{-3} \times (37-22)=0.09$ olurdu ve kuvvet ölçülen değer $1-0.09=0.91$ 'i, yani $17.9 \times 0.91=16.23$ gram olacaktı. Bu nedenle, bu iki kasta birim enine kesit alan başına oluşan kuvvetlerin aynı olduğu kabul edilirse, SK'nın enine kesit alanı DK'nın kesit alanının $16.23/11.4=1.4$ katı olur.

Sarkomer Boyu: Kasılma kuvvetine sarkomer boyununda etkisi vardır. Sarkomer uzun oldukça miyozindeki cross-bridge sayısı da fazla olacak ve dolayısıyla daha fazla kuvvet oluşacaktır. Sıçan kasının sarkomer uzunluğu kurbağa kasının sarkomer uzunluğundan yaklaşık %10 daha uzun olduğundan (21,48,53-56), bu kaslar aynı kalınlıkta bile olsalar, sarsı kasılma kuvvetleri farklı olur.

Kas Lifi Yapıları ve Innervasyonlar: Soğuk ve sıcak kanlı iskelet kaslarındaki temel farklardan biri de, bu kasların yapıları ve innervasyonları farklı kas liflerinden meydana gelmiş olmalarıdır (54,57-59). Soğuk kanlı kurbağa sartorius kasında iki çeşit kas

lifi bulunur: % 40 oranında slow system (Felderstruktur) kırmızı renkli, yavaş kas lifleri ve % 60 oranında twicth system (Fibrillenstruktur), beyaz renkli, hızlı kas lifleri. Sıcak kanlı sıçan diyafragma kası ise, % 40 Tip-I, yavaş, kırmızı ve % 60 Tip-II, hızlı, beyaz olarak adlandırılan kas liflerinden oluşmuştur (48,50-52,56,58,60).

Soğuk kanlı Felderstruktur kas lifleri kısadır ve ince sinirlerle innerve edilirler, lipid tabakası yoktur, kas lifleri dağınıktır, uzun süreli yavaş kasılmalar oluştururlar, Z-diski zigzagli ve düzgün görünmez, sinir terminalleri "en grappe" şeklindedir. Fibrillenstruktur kas lifleri düzgün Z-diski içerir, kas lifleri uzun, kalın sinirlerle innerve edilirler ve kısa süreli hızlı kontraksiyonlar oluştururlar ve sinir terminalleri "en plaque" şeklindedir. "En grappe" şeklinde sinir terminalleri içeren kas liflerinde tek bir stimulus yayılan aksiyon potansiyeli oluşturamazken, "En plaque" şeklinde sinir terminalleri içeren kas liflerinde tek bir stimulus lif boyunca yayılan aksiyon potansiyeli oluşturur (50,51,56,58).

Sıcak kanlı sıçan diyafragma kası % 40 Tip-I, % 60 Tip-II (% 27 Tip-IIa, % 34 Tip-IIb) liflerinden oluşmuştur. Tip-II kasları, lipid tabakası, çok sayıda sarkoplazmik granüller ve Z-diski içerirken, Tip-I kas lifleri lipid tabakası içermez, az sayıda sarkoplazmik granüller içerir ve zigzagli Z-diskleri vardır. Tip-I ve Tip-II kas liflerinde sinir sonlanmaları "en plaque" şeklindedir (48,50,61,62).

Görüldüğü gibi SK'nın %40 slow sistem ve %60 sarsı sistem kas lifleri ve DK'nın ise %40 Tip-I ve %60 Tip-II kas lifleri içermeleri nedeniyle, bu iki kasın kesit alanları eşit olsa bile sarsı kuvvetleri eşit olamaz (50.56).

Süre: Soğuk ve sıcak kanlı kaslarının sarsı kuvvetlerindeki farklar yanında kasılma ve gevşeme sürelerindedir farklar vardır. Bilindiği gibi sıcaklıkla moleküllerin diffüzyon katsayıları küçülmekte ve bütün kinetik ve mekanik süreçler yavaşlamaktadır. Her ne kadar bu bilgi tezin bulgular bölümünde gösterilmedi ise de,

sartorius kasının kasılma süresi (CT) 35 ms olarak ölçüldü fakat yarı gevşeme süresi (1/2 RT) ölçülmedi. Sıçan diyafragma kasının 22°C ta CT si 80 ms ve 1/2 RT si 101 ms iken, 37°C ta CT si 20 ms ve 1/2 RT si 23 ms ye düşmektedir (50,51,62).

Sonuç: Bu iki kasın ekstrapolasyon yapılarak aynı sıcaklıkta elde edilen biyomekanik parametrelerinin de birbirinden farklı olduğu ortaya çıkar. Bu farklılık; kas lifi yapılarından, dişli çark mekanizmalarındaki farklılıktan, sarkomer uzunluğu ve her sarkomerdeki network sayısındaki farklılıktan, kurbağa kas lifi çapının sıçan kas lifi çapının (50/20) μm (2.5) katı olması sonucu AP nin aynı sıcaklıkta kurbağa kas liflerinde sıçan kas liflerinden %50 $\{(3 \text{ m/s})/(2 \text{ m/s})\}$ daha hızlı yayılmasından ileri gelmiş olabilir (21,50,51,52). Kısılma hızı, 22-30°C arasında yaklaşık lineer değişirken, 30-37°C ler arasında lineer değildir (50).

5.2. Biyoelektrik Parametreler

Soğuk ve sıcak kanlı kaslarının biyomekanik parametrelerindeki farklar yanında biyoelektrik parametrelerindeki de farklar vardır. SK ve DK nin normal ortam koşullarında (sırası ile 22 ve 37 °C sıcaklıkta) ölçülen zar potansiyelleri (MP) -85.8 mV ve -76.5 mV ; AP lerinin genlikleri 117.8 mV, 100.1 mV; latansları 2.9 ms, 0.7 ms ve diğer parametreleri de birbirinden farklıdır (Tablo-4.4 ve Şek-4.13-15). Bu farkların esas nedeni sıcaklık olabilir, çünkü dinlenim zar potansiyeli sıçan diyafragma kasında 21 °C ta 90 mV ve 37 °C ta 76.5 mV olarak ölçülmüştür (52,62).

Sıcaklık: Huxley, murekkep balığı aksonunda yaptığı deneyde, sıcaklık 6.3 °C tan 18.5 °C a yükselince AP nin genliğinin ilk değerinin %85 ine düştüğünü ve %50 AP süresinin ise, 5 kat arttığını ölçmüştür (62). SK da 25 °C ve 18 °C sıcaklıklarda sırasıyla MP 75 mV ve 73 mV, Overshoot 23 ve 38 mV, yayılma hızı 3.3 ve 1.8 m/s olarak ölçülmüştür (52), yani yayılma hızı her santigrat derecede $(3.3-1.8)/(25-18)=0.21 \text{ m/s.}^\circ\text{C}$ değişmektedir, bu nedenle $37-22=15$ °C lık sıcaklık değişiminde hızda $0.21 \times 15=3.15 \text{ m/s}$ lik bir değişim (kurbağada azalma) olurken, lif çaplarındaki farklılık nedeni ile

ise, 2.5 katlık bir artma beklenir, fakat yapılan deneyler aynı sıcaklıkta yalnız %50 lik bir değişme olduğunu göstermektedir. Bu nedenle sıcaklığın etkisi baskın gelerek latansta uzama olmaktadır. Sıcaklık, iyon kanal kapılarının açılma-kapanma hızını da değiştirir; sıcaklık 10 °C yükselince hız 3 kat artar (11,21,62).

Ortam: MP ve AP parametrelerindeki farkların diğer bir nedeni de hücreiçi ve hücre dışı iyonik kompozisyonlardaki farklılıklardır (21,52,62). Kurbağa kasında $K_i/K_o=56$, $Na_o/Na_i=13$, ve sıçanda $K_i/K_o=39$, $Na_o/Na_i=12$ dir. MP potasyum denge potansiyeline yakın olduğu ve K_i/K_o oranı daha büyük olduğu için, kurbağa kasındaki MP daha negatif olur.

$$\epsilon = \frac{RT}{ZF} \ln\left(\frac{C_o}{C_i}\right)$$

Nernst denkleminde 22 °C ta kurbağanın ve 37 °C ta sıçanın potasyum iyonu denge potansiyelleri hesaplanırsa, sırası ile -102.2 ve -97.8 mV bulunur. Na_o/Na_i oranları her iki kasta yaklaşık eşit olduğu için, APnin genişliğindeki değişmeye bu iyonun etkisi olmaz.

Kanal İletkenliği: MP ve AP parametrelerindeki farklılıklara etki eden diğer faktörler kanal iletkenliği ve kanal sayısıdır. Kanal iletkenliği amfibilerde 29 pS ve memelilerde 45 pS dir (21,55,61-63). Kurbağa kas lifi zarında sıçan kas lifi zarına göre K kanal sayısı fazla Na kanal sayısı ise yaklaşık aynıdır (21,53).

5.3. Ketaminin Etkisi

Gerek kas kasılma kuvvetlerinde ve gerekse biyopotansiyellerde bulunan bu farklılıklar: *i) Kasın yapısı, ii) Ortam sıcaklığı ve iii) ortam iyonik kompozisyonundaki farklılıklardan* kaynaklanmaktadır. Bu nedenle yapıları ve ortam sıcaklıkları farklı olan bu kasların aynı büyüklükteki kimyasal, elektriksel, v.s. gibi etkilere aynı oranda yanıt vermemeleri doğal gibi gözükür.

Düşük Ketamin konsantrasyonu: Tablo-4.1,3, Şekil-4.9,4.11,4.12 de görüldüğü gibi, banyo ketamin konsantrasyonu 42 µM/L iken DK nın kasılma kuvveti normal değerinin %133.3 üne ulaşır. Benzer etki MP

de de görülmektedir, fakat ketaminin bu etkisi SS-SK preparatlarında görülmedi (Tablo-4.2). Ketaminin düşük doz etkisi, ketaminin DK daki antikolinesteraz aktivitesinden ve zarı depolarize edici (potasyum iletkenliğini azaltıcı) etkisinden kaynaklanmış olabilir (2-6,46).

Yüksek ketamin konsantrasyonu: Tablo-4.1, 4.3, Şekil-4.9, 4.11, 4.12 de görüldüğü gibi, banyo ketamin konsantrasyonu 73.8 μM olduğu zaman, sıcak kanlı sıçan sinir-kas preparatı indirekt uyarıda bloke olurken (kas kasılmazken), direkt uyarıda kasılma kuvveti ilk değerinin % 4.3 ne düşer. Tablo-4.3 ve Şekil-4.10-12 de görüldüğü gibi, banyo ketamin konsantrasyonu 280 μM olduğu zaman, kurbağa sinir-kas preparatı indirekt uyarıda bloke olurken, direkt uyarıda kasılma kuvveti, ilk değerinin % 22.9 una düşer. Ketaminin direkt ve indirekt kas kasılmalarında aynı etkiyi yapmaması, fakat çok yakın etkiler göstermesi, ketaminin hem sinir-kas kavşağına ve hem de hücre zarına etki ettiğini göstermektedir. Nitekim genel anestezi (dissosiyatif anestezi) olan ketamin, yağda çözünür fakat suda çözünmez ve p_H sı 7.4 tür. Ketamin, uyarılabilir zarlarda sodyum iletkenliğini ve sodyum inaktivasyon prosesini suprese ederek, aksiyon potansiyelinin yükselme hızını azaltır ve düşme fazını uzatır. Ayrıca açık konformasyondaki nikotinik ACh reseptörünün iyonik kanalıyla etkileşimde bulunarak, postsinaptik olayları (kurbağa sartorius kasında norömusküler geçişi) bloke eder. Ketamin tek kanal iletkenliğini azaltır, kanalın açılıp-kapanma süresini kısaltır ve son-plak akımını (EPC) ve minyatür son-plak akımını (MEPC) eksponansiyel olarak azaltır (10,11,13,29,-30).

Bazı araştırmacılar ketaminin etki mekanizmasını reseptörler düzeyinde açıklamaya gitmişler ve iyonize ketamin moleküllerinin, postsinaptik terminallerde bulunan asetilkolin reseptörlerine etki ederek iletimi bloke ettiğini göstermişlerdir (7). Ketaminin tavşanlarda, presinaptik terminalden ACh serbestisini azaltarak sarsı genliğini azalttığı (12,13), fakat sıçan kasında ise barbitüratların gösterdiği etkiye benzer bir etki gösterdiği (yani

doğrudan postsinaptik iyon kanallarına etki ettiği) belirlenmiştir (46).

Ketamin kurbağa siyatik sinir ve iskelet kas liflerinde bir sterospesifik opiat etkiyle uyarılabilirliği deprese eder. Bu sonuçlar aksonların ve iskelet kaslarının bir çok opiatlar içermesinden kaynaklanır (7). Bazı araştırmacılar aksonların ve iskelet kaslarının birçok opiat maddeler içerdini, non-peptid opiat ilaçların ise lokal anesteziyelere benzer etki gösterdiğini, ketaminin non-peptid yapıda bir opiat olduğunu, peptid yapıda opiatların intrasellüler olarak uygulandığında, non-peptid yapıda opiatlar extrasellüler olarak uygulandığında daha bir uzun zamanda etkidini göstermişlerdir (7).

Sıcaklık: Ketamin hem SS-SK ve hcmde FS-DK preperatlarında postsinaptik zardaki iyon kanallarıyla etkileşerek blokaj etki yarattığı halde, aynı dozdaki ketaminin SS-SK ve FS-DK preperatlarında farklı blokaj etki yaratmasının diğer bir nedeni de, ortam (banyo) sıcaklıklarının farklı olmuş olmaları olabilir. Sıcaklıkla kanal kinetiği ve iyon diffüzyon hızları değişir. D diffüzyon katsayısı $D=kT/F$ olduğundan sıcaklık 22°C (=295K) den 37°C (310K) e yükselince D, $(310-295)/295=5\%$ kadar değişir (k=Boltzmann sabiti, T=mutlak sıcaklık, F=Faraday sabiti).

Sıcaklık iyon kanallarının açılıp-kapanma hızını da değiştirir. İyon kanallarının açılıp-kapanma hızı 10°C de 3 kat değiştirdiğinden, 15°C de ise 4.5 kat değişir. Ketaminin blokaj dozları $280/73.8=3.8$ dir. Bu değer sıcaklık değişimsinden beklenen değer dolayındadır. Kimyasal reaksiyonlar, kalsiyum salınımını ve geri alınımını yavaşlattığından kasılma-gevşeme süreleri o oranda yavaşlar. Birim zamanda diffüze olarak postsinaptik zara ulaşan molekül sayısı soğuk kanlıda % 5 daha az olur.

5.4. Sonuçlar

1. Kendi doğal koşullarında (kurbağada 22°C ve sıçanda 37°C) SK'nın ve DK'nın kasılma kuvveti, kasılma süresi gibi biyomekanik parametreleri birbirinden farklıdır. Bu kasların histolojik ve innervasyon yapılarında da farklılıklar vardır.

2. SK ve DK'nın dinlenim zar potansiyelleri, aksiyon potansiyelleri ve aksiyon potansiyel parametreleri gibi biyoelektrik parametreleri de farklıdır.

3. Ketaminin SS-SK ve FS-DK preparatlarında oluşturdukları blokaj aynı değildir, aynı doz aynı blokajı yapmaz.

4. Soğuk kanlı ve sıcak kanlı sinir-kas preparatlarında hücre zarları, sinir-kas kavşakları, kas liflerinin yapıları ve innervasyonları farklı olduğundan, ketamin gibi anestetiklerin etkileri araştırılırken soğuk kanlı sinir-kas preparatı sıcak kanlı sinir-kas preparatı için model oluşturamaz.

KAYNAKLAR

- 1) WHITE FP.: Clinical Uses of Intravenous Anesthetic and Analgesic Infusions, *Anesth. Analg*, 68: (161-171), 1989.
- 2) DIAMOND IB., HAVDALA HS., SABELLI HC.: Differential Membrane Effects of General and Local Anesthetics, *Anesthesiology*, 43(6), 1975.
- 3) WILDSMITH JAW.: Peripheral Nerve and Local Anaesthetic Drugs, *Br.J. Anaesth.*, 58:(629-700), 1986.
- 4) WHITE F., WALTER LW., TREVOR AJ.: Ketamine-Its Pharmacology and Therapeutic Uses, *Anesthesiology*, 56: (119-136), 1982.
- 5) MANAS O., KAYAALP OS.: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara Üniversitesi Yayınları, Beşinci Baskı, Cilt 2,3 1990.
- 6) IDVALL J., AHLGREN I., ARONSEN KF., STENBERG P.: Ketamine Infusions: Pharmacokinetics and clinical Effects, *Br J. Anaesth.* , 51:(1167-1173),1979.
- 7) LEE H J, FRANK GB.: Opioid Effects of Racemic Ketamine on the Excitability of Sciatic Nerve and Skeletal Muscle Fibers of the Frog, *Japan J. Pharmacol* 51:(321-327), 1989.
- 8) BENOIT E, CARRATU MR., DUBOIS JM., MITOLO-CHIEPPA D.: Mechanism of action of ketamine in the current and voltage clamped myelinated nerve fibre of the frog, *Br. J. Pharmacol.*,87:(291-297),1986.
- 9) WILSON A.: Ketamine and Muscle Relaxant, *Proceedings of the Anaesthetic Research Society, Department of Pharmacology, University College, Cork.*,1975.
- 10) SHRINVASTAV B B.: Mechanism of Kctamine Block of Nerve Conduction, *J. Pharmacol Exper. Ther.*, 201(1):(162-170),1986.
- 11) MALEQUE MA., WARNICK JE. and ALBUQUERQUE EX.: The Mechanism and Site of Action of Ketamine On Skeletal Muscle, *J. Pharmacol. Exper. Ther.*,219(3):(638-645),1981.
- 12) MARTIN CD., ADAMS RJ., WATKINS CA.: Inhibition of Synaptosomal Serotonin uptake by Ketalar, *Reseach Commun. Chem. Path. Pharmacol.*,62(1):(129-132) 1988.
- 13) LARRABEE MG., POSTERNAK JM.: Selective action of Anesthetics on Synapses and Axons in Mammalian Sympathetic Ganglia,
- 14) CLANACHAN AS., McGRATH JC.: Effects of Ketamine on the Peripheral Autonomic Nervous System of the Rat, *Br J. Pharmacol.*, 58:(247-252), 1976.

- 15) THOMSON MA., WEST DC., LODGE D.: An N-methylaspartate Receptor-Mediated Synapse in Rat Cerebral Cortex: A site of Action of Ketamine?, Nature (London), 313(7):479-481, 1985.
- 16) BENTHUYSEN JL.: Synthetic opioids Compared With Morphine and Ketamine: Catalepsy, Cross-tolerance and Interactions In the Rat, Neuropharmacology., 28(10):1011-1015, 1989.
- 17) SHRIVASTAV BB.: Active form of Ketamine in Squid Giant Axons, J. Pharmacol. Exper. Ther., 201(1), 1977.
- 18) YILDIRIM H.: Biyofizik, Anadolu Üniversitesi Eskişehir 1985.
- 19) PEHLİVAN F.: Biyofizik, Ank. Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, 1989.
- 20) DAMASK AC., SWENBERG CE.: Medical Physics Synapse, Neuron, Brain, Academic Press vol. 2, 3 1984.
- 21) PATTON HD., FUCHS AF., HILLE B., SCHER AM., STEINER R.: Textbook of PHYSIOLOGY, Excitable Cells and Neurophysiology W.B. Saunders Company. 21 st. Edition vol.1, 1989.
- 22) ARTHUR C., GUYTON MD.: Medical Physiology, Department of Physiology and Biophysics University of Mississippi School of Medicine, seventh Edition 1986.
- 23) GANONG FW.: Review of Medical Physiology. Fifteenth Edition by Appleton and Lange a Publishing Division of Prentice Hall. California, 11-12, 1991.
- 24) HILLE B.: Ionic Channels of Excitable Membrane. University of Washington, 1984.
- 25) KRUEGER KB.: Toward an understanding of structure and function of channels. The FASEB Journal, vol.3:(1906-13), 1989.
- 26) GOLDMAN L.: Internal cations, Membrane Current, and Sodium inactivation gate closure in Myxicola Giant Axons. Biophys. J. Vol. 54, 1988.
- 27) KATZ B.: Nerve Muscle and Synapse. McGraw-Hill Book Company, 1966.
- 28) CHARLES HMCL.: pH of Local Anaesthetic Solutions, Anaesthesia and Analgesia, 59(11):(892-893), 1980.
- 29) GÜNAY İ., ERİŞ OF., DOĞAN A., İTEĞİN M.: Periferik Sinir İletimi Üzerine Ketaminin pH'ya Bağlı Blokaj Etkisi, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, Sayı-3, 1989.

- 30) GÜNAY İ., ERİŞ OF., SARICA Y., İTEĞİN M., DOĞAN A.: Ketamin ve Prokainin Periferik Sinir İletimi Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi, Sayı-3, 1989.
- 31) SHAHOR A.: Morphological Alterations in Cultured Neuromuscular Tissue Induced by Two Anesthetic Agents, Neurochem. Res., 14(10):- (1017-1024), 1989.
- 32) WHITE FP., MARIETTA MP., PUDWILL WL., TREVOR AJ.: Effects of Halothane Anesthesia on the Biodisposition of Ketamine in Rats, J. Pharmacol. Exp. Ther., 196(3):(545-555), 1976.
- 33) HARTEL NA.: Spinal Effects of Four Injectable Anesthetics on Nociceptive Reflexes In Rats: A comparison of Electrophysiological and Behavioral Measurement, Br J. Pharmacol., 101:(563-568), 1990.
- 34) ERECINSKA M., NELSON D., SILVER IA.: Interactions of Benzotropine Atropine and Ketamine With Veratridine-activated Sodium Channels: Effects on Membrane Depolarization, K⁺ efflux and Neurotransmitter amino acid release, B.J. Pharmacol., 94:(871-881), 1988.
- 35) HORN R.: Asymmetry of the Acetylcholine Channel Revealed by Quaternary Anesthetics, Science., 210(10), 1980.
- 36) TORO-MATOS CA., RENDON-PLATAS AM., AVILA-VALDEZ E., VILLARREAL-GUZMAN AR.: Physostigmine Antagonizes Ketamine Anesth and Analg., 59(10):(764-767), 1980.
- 37) MCGIVEN J.: General Anesthetics and Field Currents In Unclamped, Unmyelinated Axons of Rat Olfactory Cortex, Br J. Pharmacol., 101:(217-223), 1980.
- 38) NISHINO TMD.: Different Laryngeal Responses During Respiratory Arrest Produced by Hypoxia Withdrawal, Thio Pentone, Ketamine, and Lidocaine in Cats, Anesthesiology, 56:(280-285), 1982.
- 39) BOURKE LD., MALIT LA., SMITH TC.: Respiratory Interactions of Ketamine and Morphine, Anesthesiology, 66:(153-156), 1987.
- 40) RION B.: Inotropic Effect of Ketamine on Rat Cardiac Papillary Muscle, Anesthesiology., 71: (116-125), 1989.
- 41) KÖKSAL F.: Fenciler için Temel Elektronik, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, No.132, 1980.
- 42) CHAPMAN RA.: Experiments in Physiology Department of Physiology Using the Bioscience 400 Series Washington Oscillographs G.D. Searle and Co Ltd., 1978.
- 43) NAKANISHI T.: Action Potentials Recorded by Fluid Electrodes, Electroencephal. Clin. Neurophys., 53:(343-345), 1982.

- 44) LIM PS., MUIR TC.: Micro Electrode Recording of The Effects of Agonist and Antagonists on α -adrenoceptors on Rat Somatic Nerve Terminals, Br. J. Pharmac., 80:(41-46), 1983.
- 45) PERRY WLM.: Pharmacological Experiments on Isolated Preparations by Staff of the Department of Pharmacology University of Edinburgh. Churchill-Livington, 1970.
- 46) KRAUNAK P., PLEUVRY BJ., REES JMS.: In Vitro Study of Interactions Between I.V. Anesthetics and Neuromuscular Blocking Agents, Br.J.Anaesth., 49:(465), 1977.
- 47) YOUNG A. : The Relative Isometric Strength of Type I and Type II Muscle Fibers in the Human Quadriceps. Clinical Physiology, 4:(23-32), 1984.
- 48) HESS A. : The Structure of Extrafusal Muscle Fibers in the Frog and Their Innervation Studied by the Cholinesterase Technique, Department of Anatomy, Washington University School of Medicine, St.Louis, Missouri
- 49) METZGER JM., SCHEIDT KB., FITTS RH.: Histochemical and Physiological Characteristics of the Rat Diaphragm, Department of Biology, Marquette University, Milwaukee, Wisconsin 53233.
- 50) EDSTRÖM L., KUGELBERG E.: Histochemical composition, Distribution of Fibers and Fatiguability of Single Motor Units, J.Neural.-Neurosurg.Psychiat 31:(424-433), 1968.
- 51) MORRIS CJ.: Human Skeletal Muscle Fibre Type Grouping and Collateral Re-innervation, J.Neural.Neurosurg.Psychiat., 32:(440-444), 1969.
- 52) ROSENFALCK P.: Intra and Extracellular Potential Fields of Active Nerve and Muscle Fibers., Acta Physiol.Scand., 321:(1-169), 1969.
- 53) SICA R.E.P., McCOMAS.: Fast and Slow Twitch Units in a Human Muscle, J.Neuro. Neurosurg. Psychiat., 34:(113-120), 1971.
- 54) MASSARELLI PS., GREEN HJ., HUGHSON RL., SHARRATT MT.: Mechanical and Metabolic Alteration in Rat Diaphragm during Electrical Stimulation, Department of Kinesiology, University of Waterloo, Waterloo, Ontario N2L3G1, Canada
- 55) SEOW CY., STEPHENS NL.: Fatigue of Mouse Diaphragm Muscle in Isometric and Isotonic Contractions, Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba R3E 0W3, Canada
- 56) PAGALA KD., NAMBA T., GROB D.: Failure of Neuromuscular

Transmission and Contractility during Muscle Fatigue, Muscle and Nerve 7:(454-464), 1984.

57) ROCHESTER DF.: The Diaphragm : Contractile Properties and Fatigue, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, Virginia 22908.

58) ALDRICH KT., SHANDER A., CHAUDHRY I., NAGASHIMA H.: Fatigue of Isolated Rat Diaphragm: Role of Impaired Neuromuscular Transmission, Department of Medicine and Anesthesiology, Montefiore Medical Center and Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York 10467.

59) BARAKA A.: Nerve and Muscle Stimulation of the Rat Isolated Phrenic Nerve-Diaphragm Preparation, Anesthesia and Analgesia Vol.53, No.4, July-August, 1974.

60) HUXLEY AF.: Excitation and Conduction in Nerve: Quantitative Analysis, Science Vol.145, No.3637, 1964.

61) STEIN RB., GORDON T., SHRIVER J.: Temperature Dependence of Mammalian Muscle Contraction and ATPase Activities, Biophys.J, Nov. 40(2):(97-107), 1982.

62) FITTS RH., HOLLOSZY JO.: Effect of Fatigue and Recovery on Contractile Properties of Frog Muscle, J.Appl.Physiol.Dec 45(6):- (899-902), 1978.

63) YAZGAN Ş. : Hayvan Ekolojisi, Ç.Ü. Fen-Edeb. Fak. Biyoloji Bölümü, 1.Baskı, 1989.

64) DEMİRSOY A. : Yaşamın Temel Kuralları, Hacettepe Üniv. Yayınları, Cilt-I, 1979.

65) NOYAN A. : Fizyoloji, Hacettepe Üniv. Yayınları, 5.Baskı, 1989.

ÖZGEÇMİŞ

Ekim 1967 Adana doğumluyum. 1978 yılında Necatibey İlkokulundan, 1981 yılında İstiklal ortaokulundan ve 1984 yılında Adana Abdulkadir Paksoy Kız Lisesi'nden mezun oldum.

Aynı yıl Ç.Ü.Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik bölümüne girdim. 1988 yılı Temmuz ayında lisans öğrenimimi tamamladım. 1989 yılı Şubat ayında Ç.Ü.Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik bölümünde Master programına başladım. 1989 yılı Ağustos ayında Ç.Ü.Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalının açmış olduğu master programına girerek bu bölümde master programımı tamamladım.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**