

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DANA KARDİYAK VENİNDE KALSİYUM KANAL  
BLOKÖRLERİNE VERİLEN GEVŞEME CEVAPLARINA  
SOĞUTMANIN ETKİSİ**

**Şerife CANBOLAT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK**

**KONYA - 2016**

T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DANA KARDİYAK VENİNDE KALSİYUM KANAL  
BLOKÖRLERİNE VERİLEN GEVŞEME CEVAPLARINA  
SOĞUTMANIN ETKİSİ**

**Şerife CANBOLAT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. K. Esra NURULLAHOĞLU ATALIK**

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından  
161318003 proje numarası ile desteklenmiştir.

**KONYA - 2016**

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Şerife CANBOLAT'ın "DANA KARDİYAK VENİNDE KALSİYUM KANAL BLOKÖRLERİNE VERİLEN GEVŞEME CEVAPLARINA SOĞUTMANIN ETKİSİ" başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

KONYA, 26/12/2016



Tez Danışmanı

Prof.Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK  
N.Ü. Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.D.

Jüri Üyesi

Prof.Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.Ü. Meram Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji A.D.



Jüri Üyesi

Doç.Dr. Esmâ MENEVŞE

S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya A.D.



Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 26/12/2016 ve 01/02 .sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK  
Enstitü Müdürü

## APPROVAL

We certify that we have read this dissertation entitled “THE EFFECT OF COOLING ON THE RESPONSES OF CALCIUM CHANNEL BLOCKERS IN CALF CARDIAC VEIN” by “Şerife CANBOLAT” that in our opinion it is fully adequate, in scope and quality, as dissertation for the degree of Master of Science in the Department of “TİBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM”, Institute of Health Sciences, University of Necmettin Erbakan

KONYA, 26/12/2016



Principal Advisor

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK  
N.Ü. Meram Medical Faculty Tıbbi Farmakoloji A.D.

Examination Committee Member

Prof.Dr. Ayşe Saide ŞAHİN

N.Ü. Meram Medical Faculty Tıbbi Farmakoloji A.D.



Examination Committee Member

Doç.Dr. Esmâ MENEVŞE

S.Ü. Medical Faculty Tıbbi Biyokimya A.D.



This thesis has approved for the University of Necmettin Erbakan Institute of Health Sciences.



Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK  
Director of Institute of Health Sciences

## **BEYANAT**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, yararlandığım bütün bilgi ve yorumları kaynak olarak gösterdiğimi ve kaynaklar listesinde sunduğumu, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Şerife CANBOLAT



# DANA KARDİYAK VENİNDE KALSİYUM KANAL BLOKÖRLERİNE VERİLEN GEVŞEME CEVAPLARINA SOĞUTMANIN ETKİSİ

ORIJINALLIK RAPORU

% **15**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **13**

İNTERNET  
KAYNAKLARI

% **2**

YAYINLAR

% **1**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

**1**

[pharmacy.erciyes.edu.tr](http://pharmacy.erciyes.edu.tr)

İnternet Kaynağı

% **2**

**2**

[library.cu.edu.tr](http://library.cu.edu.tr)

İnternet Kaynağı

% **2**

**3**

[earsiv.atauni.edu.tr](http://earsiv.atauni.edu.tr)

İnternet Kaynağı

% **2**

**4**

[www.vethekimder.org.tr](http://www.vethekimder.org.tr)

İnternet Kaynağı

% **1**

**5**

[www.powershow.com](http://www.powershow.com)

İnternet Kaynağı

% **1**

**6**

K. E. Atalik. "Role of the nitric oxide on diazoxide-induced relaxation of the calf cardiac vein and coronary artery during cooling", *Fundamental & clinical Pharmacology*, 06/2009

Yayın

% **1**

**7**

[tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com](http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com)

İnternet Kaynağı

% **1**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bana her zaman destek olan ve hiçbir Şekilde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Kısmet Esra Nurullohoğlu Atalık'a teşekkür ederim. Ayrıca eğitim süresince bana çok Őey öğreten Prof. Dr. Ayşe Saide Şahin, Doç. Dr. Burak Cem Soner, Yrd. Doç. Dr. Salim Sinan Yalçın ve Yrd. Doç. Dr. Mehmet Kılıç'a teşekkür ederim.

Şerife CANBOLAT



## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI.....	ii
APPROVAL.....	iii
BEYANAT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ .....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	x
TABLOLAR LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. <i>Büyük Kardiyak Ven</i> .....	3
2.2. <i>Kalsiyum Metabolizması</i> .....	3
2.3. <i>Kalsiyum Kanalları</i> .....	5
2.3.1. <i>Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanalları (VOCCs)</i> .....	7
2.3.2. <i>Reseptöre Bağlı Kalsiyum Kanalları (ROCCs)</i> .....	10
2.3.3. <i>Mekanik Olarak Aktive Olan Kalsiyum Kanalları</i> .....	11
2.3.4. <i>Depolanmış Kalsiyum Miktarına Duyarlı Kalsiyum Kanalları</i> .....	12
2.4. <i>Düz Kasın Kasılma ve Gevşeme Mekanizması</i> .....	13
2.5. <i>Kalsiyum Kanal Blokörleri</i> .....	14
2.5.1. <i>Verapamil</i> .....	21
2.5.2. <i>Amlodipin</i> .....	22
2.5.3. <i>Benidipin</i> .....	25
2.6. <i>Nitrik Oksit</i> .....	27



<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	39
3.1. <i>DeneySEL Prosedür</i> .....	39
3.2. <i>İstatistik</i> .....	40
3.3. <i>İlaçlar</i> .....	40
<b>4. BULGULAR</b> .....	41
4.1. <i>Verapamil'e Verilen Cevaplar</i> .....	41
4.2. <i>Amlodipin'e Verilen Cevaplar</i> .....	41
4.3. <i>Benidipin'e Verilen Cevaplar</i> .....	42
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	45
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....	49
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	50
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	62

## KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

5-HT	Serotonin
7-NI	7-Nitroindazol
ACh	Asetilkolin
ADMA	N-N-Dimetil-L-Arjinin
A-II	Anjiyotensin II
ATP	Adenozin Trifosfat
BH4	Tetrahidrobiopterin
Ca <sup>2+</sup>	Kalsiyum iyonu
CaM	Kalmodulin
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP	Siklik Guanozin Monofosfat
Cl <sup>-</sup>	Klor iyonu
cNOS	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit molekülü
CPA	Siklopiazonik asid
DAG	Diaçilgliserol
DHP	Dihidropiridin
DMSO	Dimetil Sulfoksit
EDRF	Endotel-Kaynaklı Gevşetici Faktör
E <sub>max</sub>	Agonist için maksimum etki
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentazı
ET-1	Endotelin-1
FAD	Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	Flavin Mono Nükleotid
GTN	Gliseril Trinitrit
GTP	Guanozin-5-Trifosfat
HVA	Yüksek Voltajla Aktive Edilen
I/R	İskemi/Reperfüzyon
IP <sub>3</sub>	İnositol 1,4,5-trifosfat
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
K <sup>+</sup>	Potasyum iyonu
L-NA	Nitro-L-Arjinin
L-NAA	N-Amino-L-arjinin
L-NAME	N <sub>ω</sub> -Nitro-L-Arjinin Metil Ester Hidroklorid

L-NIO	N-Aminoetil-L-Ornitin
L-NMMA	N-Metil-D-Aspartat
LVA	Düşük Voltajla Aktive Edilen
Mg <sup>2+</sup>	Magnezyum iyonu
MLCK	Miyozin Hafif Zincir Kinazı
Na <sup>+</sup>	Sodyum iyonu
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NANK	Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik
NMDA	Monometil-L-Arjinin
nNOS	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik Oksit
NO <sub>2</sub>	Nitrojen Dioksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O <sub>2</sub>	Oksijen molekülü
pIC <sub>50</sub>	İnhibitör konsantrasyonunun yarısı
PKG	Protein Kinaz
PKC	Protein Kinaz C
PLC	Fosfolipaz C
PMCA	Plazma Membranı Ca <sup>2+</sup> -ATP az
ROCCs	Reseptöre Bağımlı Kalsiyum Kanalları
SS	Standart Sapma
SERCA	Sarkoplazmik/Endoplazmik Retikulum Ca <sup>2+</sup> ATPaz
SIN-1	Sidonimin
SMOC	Second Messenger'a Bağlı Kanal
SNP	Sodyum Nitroprussid
SOCCs	Store-Operated Kalsiyum Kanalları
SOD	Süperoksit Dismutaz
SR/ER	Sarkoplazmik /Endoplazmik Retikulum
TRP	Transient Reseptör Potansiyeli
VIP	Vazoaktif İntestinal Polipeptid
VOCCs	Voltaja Bağımlı Kalsiyum Kanalları

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Büyük Kardiyak Ven .....	3
Şekil 2.2: Damar düz kası hücrelerinin depolarizasyonu başlıca kalsiyum influksına bağlıdır .....	5
Şekil 2.3: Hücre içi Kalsiyumu Düzenleyen Mekanizmalar .....	6
Şekil 2.4: Plazma Membranından Kalsiyum Transport Mekanizmaları: ROC: Reseptörle Çalıştırılan Kanal, VOC: Voltaja-Bağımlı Kanal, SOC: Depo-Kontrollü Kanal, SMOC: Second Messenger' a Bağlı Kanal, Kalsiyumun Uzaklaştırılması: PMCA: Plazma Membranı $Ca^{2+}$ -ATPaz ve Na/Ca - Na/ $Ca^{2+}$ Değiş-tokuşu, .....	7
Şekil 2.5: Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanallarının Genel Yapısı .....	10
Şekil 2.6: Depolanmış Kalsiyum Miktarına Duyarlı Kalsiyum Kanalları (SOC).....	12
Şekil 2.7: Vasküler Düz Kasın Kontraksiyon Mekanizması.....	13
Şekil 2.8: Düz kas hücresinde gevşeme mekanizması .....	14
Şekil 2.9: Kalsiyum Kanal Blokörlerinin Kalsiyum Kanalında Bağlandığı Yerler ...	15
Şekil 2.10: Endotel tabakasında NO sentezi ve düz kas hücresine etkisi. ....	28
Şekil 2.11: Nitrik oksit salıverilmesini etkileyen kimyasal ve fizyolojik etkenler ....	29
Şekil 2.12: Nitrik Oksit Biyosentezi .....	30
Şekil 2.13: Vasküler Düz Kas Hücrelerinin eNOS Aracılıklı Gevşemesi .....	31
Şekil 2.14: Santral ve periferik sinir sisteminde nNOS aktiftir. Oluşan NO nörotransmisyon ve hafıza oluşumunda görevlidir. ....	31
Şekil 2.15: İndüklenebilir NOS (iNOS) aktivitesi .....	32
Şekil 2.16: Nitratlar ile Düz Kasta Kasılma ve Gevşeme Mekanizması.....	34
Şekil 2.17: Nitrik oksit, nitrejik nöronlardan nNOS etkisiyle sentezlenip nörotransmitter olarak salıverilir. ....	35
Şekil 2.18: Nitrik Oksidin İmmünomodülatör Etki Mekanizması.....	38
Şekil 4.1: Serotonin ( $10^{-6}$ M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında $37^{\circ}C$ ' de, $28^{\circ}C$ ' de ve $28^{\circ}C$ ' de $10^{-4}$ M L-NAME varlığında verapamil ( $10^{-9}$ - $3 \times 10^{-4}$ M) ile elde edilen gevşeme cevapları .....	43
Şekil 4.2: Serotonin ( $10^{-6}$ M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında $37^{\circ}C$ ' de, $28^{\circ}C$ ' de ve $28^{\circ}C$ ' de $10^{-4}$ M L-NAME varlığında amlodipin ( $10^{-9}$ - $3 \times 10^{-4}$ M) ile elde edilen gevşeme cevapları .....	43
Şekil 4.3: Serotonin ( $10^{-6}$ M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında $37^{\circ}C$ ' de, $28^{\circ}C$ ' de ve $28^{\circ}C$ ' de $10^{-4}$ M L-NAME varlığında benidipin ( $10^{-9}$ - $10^{-3}$ M) ile elde edilen gevşeme cevapları .....	44

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1: Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanallarının Sınıflandırılması .....	8
Tablo 2.2: Kalsiyum Kanal Blokörleri.....	15
Tablo 2.3: Jenerasyonlara Göre Kalsiyum Kanal Blokörleri .....	20
Tablo 2.4: Nitrik Oksit Sentetaz İzofomları .....	32
Tablo 2.5: Nitrik Oksitin Etkileri .....	36
Tablo 4.1: Serotonin (5-HT, $10^{-6}$ M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında 37 °C, 28 °C ve 28 °C' de L-NAME ( $10^{-4}$ M) varlığında Verapamil( $10^{-9}$ - $3 \times 10^{-4}$ M), Amlodipin ( $10^{-9}$ - $3 \times 10^{-4}$ M) ve Benidipin ( $10^{-9}$ - $10^{-3}$ M) ile elde edilen $pIC_{50}$ değerleri. ....	44

## ÖZET

Kalsiyum kanal blokörleri, kalsiyum kanallarından hücre içine kalsiyum ( $\text{Ca}^{2+}$ ) iyonunun girişini engellerler, böylece düz kas hücrelerinin gevşemesini sağlarlar. Dana kardiyak veninde yapılan bu in vitro çalışmada, serotonin (5-HT;  $10^{-6}$  M)'e bağlı kasılma üzerine bir fenilalkilamin türevi kalsiyum kanal blokörü olan verapamil ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}$  M), ve dihidropiridin (DHP) türevleri olan amlodipin ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}$  M) ve benidipin ( $10^{-9}$  -  $10^{-3}$  M)'e bağlı gevşeme cevaplarına soğutmanın etkileri araştırılmıştır.

Dana kardiyak ven halkaları,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de ısıtılan ve normal Krebs-Henseleit solüsyonu içeren, % 95  $\text{O}_2$  ve % 5  $\text{CO}_2$  ile gazlandırılan 15 ml'lik organ banyosunda çalışıldı. Preparatlara, dinlenme süresinin sonunda,  $10^{-6}$  M 5-HT ilavesiyle elde edilen kasılma cevapları üzerine uygulanan verapamil, amlodipin ve benidipin konsantrasyona bağımlı gevşeme cevapları oluşturuldu. İkinci aşamada dokular normal temperatürde  $10^{-6}$  M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo ısı  $28^{\circ}\text{C}$ 'ye düşürülerek banyoya kümülatif olarak sırayla verapamil, amlodipin ve benidipin ilave edildi.  $28^{\circ}\text{C}$ 'de kalsiyum kanal blokörlerine ait maksimum cevap ( $E_{\text{max}}$ ) değerleri değişmezken,  $\text{pIC}_{50}$  değerleri  $37^{\circ}\text{C}$ 'de bulunan değerlere kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu. Soğutma esnasında nitrik oksidin (NO) etkisini araştırmak amacıyla yapılan üçüncü aşamada ise,  $28^{\circ}\text{C}$ 'de nitrik oksid sentez inhibitörü nitro-L-arjinin-metil-ester (L-NAME;  $10^{-4}$  M) ile 20 dk inkübasyonun ardından çalışılan her üç kalsiyum kanal blokörüne de duyarlılık ve  $E_{\text{max}}$  anlamlı olarak azaldı. Her bir preparatta kalsiyum kanal blokörlerinden sadece bir tanesi ile çalışıldı.

Bu sonuçlar, dana kardiyak veninde verapamil, amlodipin ve benidipin cevaplarına soğutmanın etkisinde NO'nun rolünün olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Amlodipin; Benidipin; Kardiyak ven; Nitrik oksid; Soğutma; Verapamil

## ABSTRACT

Calcium channel blockers inhibit the entry of calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) into the cell from the calcium channels, allowing vascular and other smooth muscle cells to relax. In this in vitro study, the effect of cooling (to  $28^\circ\text{C}$ ) on the vasodilatation induced by verapamil; a phenylalkylamine calcium channel blocker ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}\text{M}$ ) and dihydropyridines; amlodipine ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}\text{M}$ ) and benidipine ( $10^{-9}$  -  $10^{-3}\text{M}$ ) were investigated on serotonin-pre-contracted calf cardiac vein and the role of nitric oxide in these effects were analyzed.

Ring preparations of veins obtained from calf hearts were mounted in 15 ml organ baths which were maintained at  $37^\circ\text{C}$  and bubbled with 95%  $\text{O}_2$  and 5%  $\text{CO}_2$ . After the stabilization period, isometric contraction was induced by 5-HT ( $10^{-6}\text{M}$ ) and then one of the antagonists was applied cumulatively at  $37^\circ\text{C}$ . In another part of the study, the medium temperature was decreased to  $28^\circ\text{C}$  after the preparations were contracted with 5-HT, then cumulative concentrations of blocker was added. During cooling, the  $\text{pIC}_{50}$  value, but not the maximal response, to all blockers were significantly higher than at  $37^\circ\text{C}$ . Cooling to  $28^\circ\text{C}$  in the presence of  $\text{N}^{\text{G}}$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME,  $10^{-4}\text{M}$ ) decreased the  $\text{pIC}_{50}$  and  $\text{E}_{\text{max}}$  values to verapamil, amlodipine and benidipine. Only one blocker was tested in each preparation.

These results suggest that nitric oxide plays an essential role in the cooling-induced responses of verapamil, amlodipine and benidipine in calf cardiac vein.

**Key Words:** Amlodipine; Benidipine; Cardiac vein; Cooling; Nitric oxide; Verapamil

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Damar düz kasının çeşitli ilaçlara verdiği cevaplar fiziksel ve kimyasal faktörlerden etkilenmektedir. Sıcaklık, damar düz kasının endojen ve eksojen maddelere olan yanıtlarında değişikliğe neden olan faktörlerden biridir.

Ortam sıcaklığının normal çalışma sıcaklığının altına indirilerek (<37°C) soğutma yapılması kullanılan türe, dokuya ve çalışılan ajanlara bağlı olarak cevapları etkileyebilmektedir.

İyon kanalları, hücrelerin fonksiyonu ve bazı özel hücresel cevapların gelişmesi açısından önemli oluşumlardır. Bunlar, hücre membranları boyunca iyonların hareketlerine olanak sağlar. Kimyasal ve fiziksel uyarılar sonucu; sodyum (Na<sup>+</sup>) , potasyum(K<sup>+</sup>) , kalsiyum (Ca<sup>2+</sup>), klorür (Cl<sup>-</sup>) gibi iyonlar, kendilerine özgü kanallar aracılığı ile hücre içine ve dışına hareket ederler. İyonların bu hareketi belli fizyolojik etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Kalsiyum kanallarının çeşitli ilaçlar tarafından bloke edilmesi Ca<sup>2+</sup> iyonlarının hücre içine geçişini engelleyerek kalp ve damar düz kasının kasılmasını inhibe eder. Bu nedenle, bu yolla etki gösteren ilaçlar kalsiyum kanal antagonisti (kalsiyum kanal blokörü) olarak adlandırılırlar.

Klinikte hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar arasında yer alan kalsiyum kanal blokörleri, damar düz kası ve kalp hücrelerinde sitoplazma membranlarındaki voltaja-bağımlı kalsiyum kanal proteini ve oligomerik kompleks üzerindeki özel bağlanma yerleri olan kendilerine özgü reseptörlere yüksek afiniteli bir şekilde bağlanarak kalsiyum girişini azaltırlar. Bunun sonucu olarak damarları gevşetirler, myokardı ve diğer kalp hücrelerini deprese ederler.

Kalsiyum kanal blokörleri yapıca farklı üç alt gruba ayrılırlar: Dihidropiridin türevleri, fenilalkilamin türevleri ve benzotiazepin türevleri. Dihidropiridin türevleri vazoselektiftirler ve diğer iki gruptan farklı olarak damarlarda gevşeme oluşturan doz ve konsantrasyonlarda kalp kasında ve diğer kalp hücrelerinde belirgin depresyona neden olmazlar. Vazodilatör etkilerinde kısmen damar endotelinden NO salıverilmesini arttırmaları rol oynamaktadır.

Nitrik oksit, damar endotelinden salıverilen ve damar düz kas tonusunun lokal regülasyonunda rol oynayan önemli bir endojen vazodilatör maddedir. Nitrik oksit; vasküler permeabilitenin düzenlenmesi, trombosit agregasyonu ve lökositlerin adhezyonunun engellenmesi, düz kas hücrelerinin proliferasyonunun ve yeniden yapılanmanın (remodelling) düzenlenmesi, ayrıca vasküler inflamatuvar ve



immünolojik aktivitenin kontrolü gibi görevlerinin yanı sıra arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde de önemli rol oynamaktadır.

Temperatüre bağlı cevapları araştıran çalışmalar çoğunlukla yüzeysel damarlarda yapılmış olup, izole derin damarlarda soğutmanın etkilerinin araştırıldığı çalışmalar oldukça az sayıdadır. Literatürde dana kardiyak veninde kalsiyum kanal blokörlerine bağlı damar düz kası gevşemelerine soğutmanın etkisini ve NO'nin rolünü değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmanın bundan dolayı orijinal nitelikli olacağı ve literatüre katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

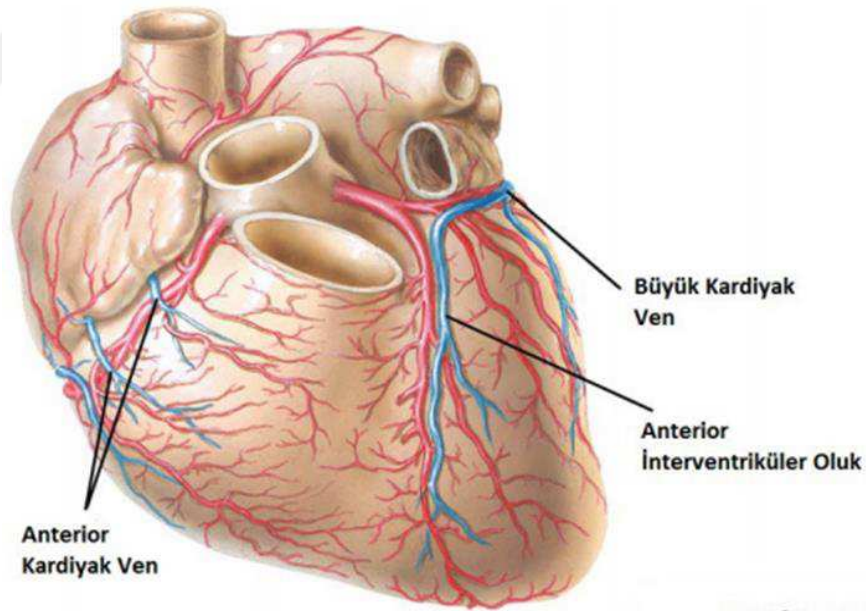


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Büyük Kardiyak Ven

Büyük kardiyak ven, kalbin venöz sistemi içerisinde yer almakta olup, anterior interventriküler venin devamıdır. Anterior interventriküler sulkusta sol anterior inen arterin komşuluğunda yer alır. Apekten koroner sinüs içerisine devam eder (Şekil 2.1). Anterior interventriküler ven; anterior interventriküler septumu, her iki ventrikülün anterior yüzeyini, sol atriyumun bir parçasını ve kalbin apikal bölgesini drene eder.

Orta kardiyak ven apekten başlayıp posterior desendan artere komşu inferior interventriküler sulkus boyunca yukarı çıkar. Büyük ve orta kardiyak ven arasında, posterolateral ven bulunabilir. En geniş ven koroner sinüs olup, sol sirkumfleks arter ve atriyoventriküler arterle posterior atriyoventriküler oluk içinde seyreder. Koroner sinüs proksimalde büyük kardiyak ven distalde ise orta kardiyak ven ile birleşir. Sağ atriyuma drene olur.



Şekil 2.1: Büyük Kardiyak Ven  
Kaynak: Netter, 2015

### 2.2. Kalsiyum Metabolizması

Kalsiyum iyonu hücrelerde fizyolojik olayların düzenlenmesinde rol alır. Kalsiyum iyonları ikinci ulak olarak da görev yaparlar. Kalsiyumun haberci görevine çoğunlukla kalmodulin aracılık eder. Kalmodulin, 148 amino asitten oluşan  $Ca^{2+}$

bağlayıcı bir proteindir. Kalmodulin  $Ca^{2+}$ 'u bağlamadıkça aktif değildir;  $Ca^{2+}$  ile bağlanınca aktive edilir ve birçok enzimin aktivitesini düzenler. Dört adet birbirine benzer kısmı vardır ve her biri kalsiyum iyonu bağlar. Kalmodulin hücre membranında, sitoplazmada ve organellerde serbest olarak ve bol miktarda bulunur. Çizgili kaslarda ise kalmodulin yerine, kalsiyum bağlayıcı troponin C'dir.

Kalsiyumun bir kısmı hücre içinde, membran, mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi çeşitli hücre organellerine bağlanmış durumdadır; diğer kısmı ise sitosolda serbest durumda bulunur. Ayrıca paratiroid, D vitamini (1.25-dihidroksikolekalsiferol) ve daha az derecede olmak üzere kalsitonin vücutta  $Ca^{2+}$  dengesinin düzenlenmesinden sorumludurlar. Plazmada  $Ca^{2+}$  düzeyi, paratiroid hormon ve D vitamini tarafından yükseltirken, kalsitonin tarafından azaltılır (Kayaalp 2012).

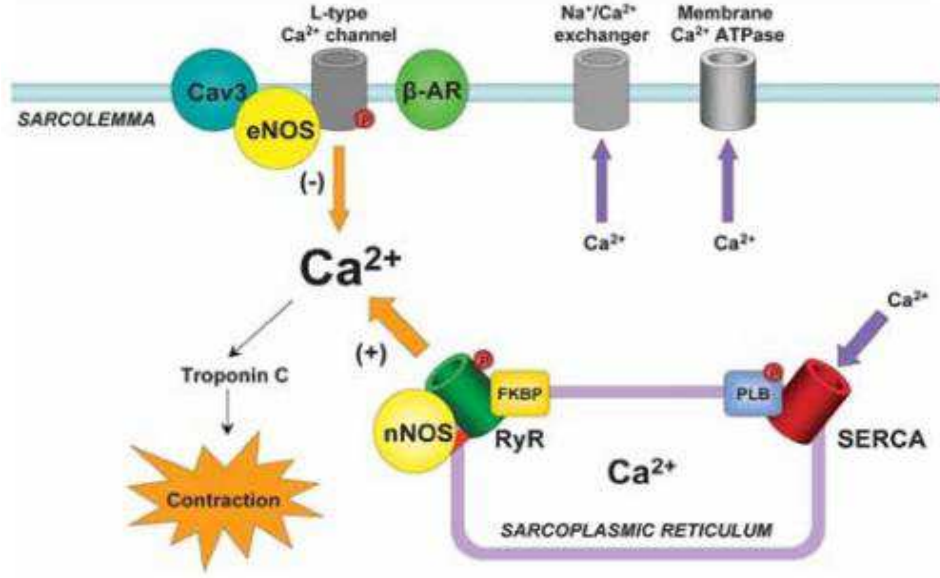
Plazmada  $Ca^{2+}$  üç fraksiyon halinde bulunur:

**(i) İyonize  $Ca^{2+}$ :** Totalin %50'sini teşkil eder.

**(ii) Proteine bağlı  $Ca^{2+}$ :** Totalin % 40' ını oluşturur. Bu fraksiyondaki  $Ca^{2+}$ 'un % 90'a yakını albümine ve geri kalanı globülinlere bağlanmıştır. Kalsiyumun proteinlere bağlanması pH'sine bağlı olduğu için kan pH'sinin değişmesi bağlı  $Ca^{2+}$ 'un total içindeki payını değiştirir. Şöyle ki asidoz bağlanmayı azaltır ve iyonize  $Ca^{2+}$  düzeyini yükseltir. Alkaloz ise (hiperventilasyona bağlı akut respiratuvar alkaloz sırasında olduğu gibi), bağlanmayı artırır, iyonize  $Ca^{2+}$  düzeyini düşürür ve tetani belirtilerine yol açabilir.

**(iii) Suda çözünen kompleks içindeki  $Ca^{2+}$ :** Plazmadaki total  $Ca^{2+}$ 'un %10'unu teşkil eder; kompleks,  $Ca^{2+}$ 'un plazmadaki fosfat, sitrat, bikarbonat ve benzeri anyonlarla birleşmesi sonucu oluşur. Bu fraksiyondaki  $Ca^{2+}$  iyonize değildir. Birinci ve üçüncü fraksiyonlar kapillerin çeperinden difüze olabilir ve ikisi birlikte difüzyona veya ultrafiltrasyona elverişli fraksiyonu oluşturur; bu fraksiyon ekstraselüler sıvıdaki  $Ca^{2+}$ 'la denge halindedir. İkinci fraksiyon difüzyona elverişli değildir.

Damar düz kası hücrelerinin depolarizasyonu başlıca  $Ca^{2+}$  influksına bağlıdır (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2:** Damar düz kası hücrelerinin depolarizasyonu başlıca kalsiyum influksına bağlıdır  
Kaynak: Mendrinou ve Chrysohoou, 2014

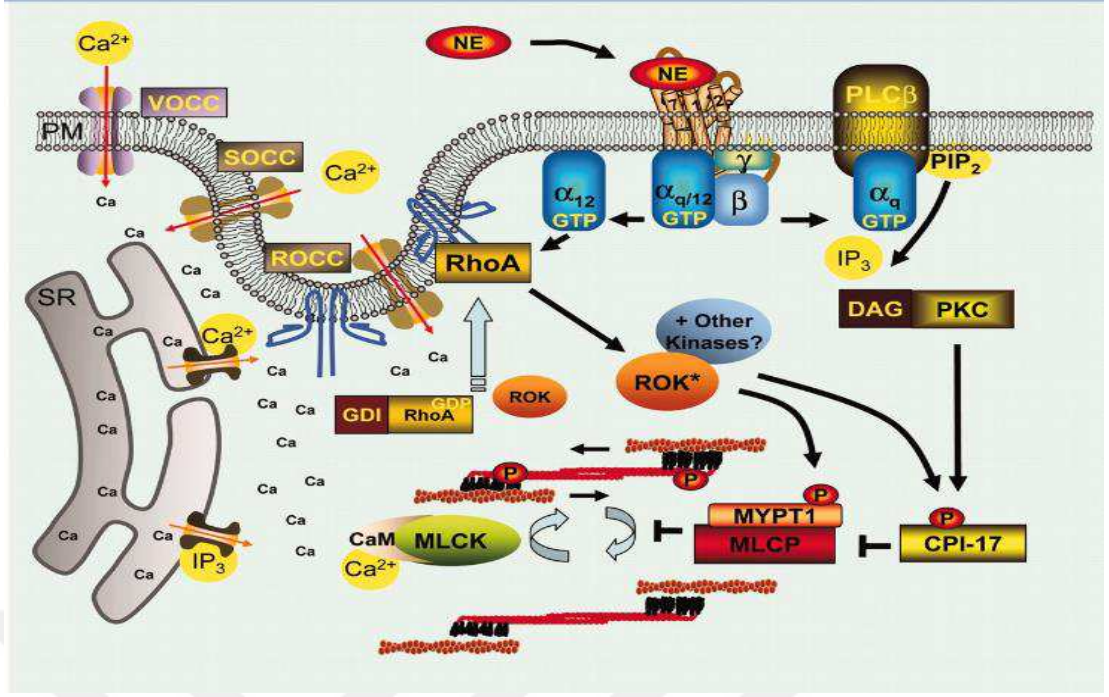
### 2.3. Kalsiyum Kanalları

Hücresinin işlevini etkileyen hücre içi serbest  $Ca^{2+}$  iyon artışı iki yolla gerçekleşir.

- i. Hücre içi kalsiyum depolarlarından  $Ca^{2+}$  un salınması
- ii. Hücre dışından hücre içine  $Ca^{2+}$  girişi

Başka bir deyişle,  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu artışı, hücre zarında bulunan iyon kanalları ile endoplazmik retikulum (ER) veya sarkoplazmik retikulum (SR) yüzeyinde yer alan iyon kanalları sayesinde olmaktadır (Berridge ve ark., 2000b).

Hücre membranındaki reseptörlere uygun agonistin kombine olmasıyla aktive edilen Gs proteininin stimüle ettiği fosfolipaz C (PLC), membran fosfolipitlerinde inozitol 1,4,5-trifosfat ( $IP_3$ ) ve diaçilgliserol (DAG) aracılığı ile  $Ca^{2+}$  salınımını sağlar (Şekil 2.3). Endoplazmik retikulum zarında yer alan  $IP_3$  reseptörü kanal görevi yapar. Kalsiyum iyonlarının  $IP_3$ 'e bağlanmasıyla ER'dan sitozole  $Ca^{2+}$  salınır. Sarkoplazmik retikulundan  $Ca^{2+}$  salınımı, kas hücresi voltaja bağımlı kalsiyum kanalları ve  $Ca^{2+}$  salınım kanalı olarak görev yapan ryanodin reseptörleri ile düzenlenir (Putney ve McKay, 1999). Şayet hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeyi belirli bir seviyeye ulaşırsa store-operated kalsiyum kanalları (SOCCs) açılır ve hücre dışından hücre içine daha fazla  $Ca^{2+}$  girer. Bir başka  $Ca^{2+}$  kaynağı hücre dışı sıvılardır; hücre zarında bulunan iyon kanalları  $Ca^{2+}$ 'un hücre dışı sıvıdan hücre içerisine geçişine izin verir.



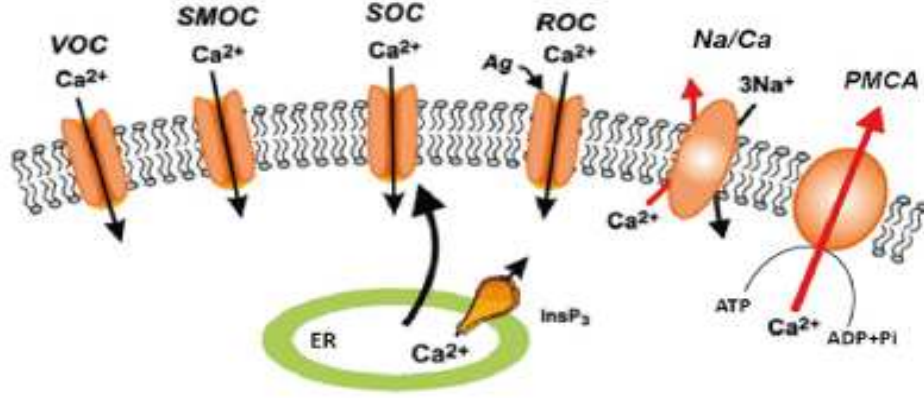
**Şekil 2.3:** Hücre içi Kalsiyumu Düzenleyen Mekanizmalar  
Kaynak: Ratz ve ark., 2005.

Kalsiyum seviyesinin düzenlenmesinde mitokondrinin rolü önemlidir. Mitokondri  $Ca^{2+}$ 'a karşı düşük afinite gösterir ancak, yüksek oranda depolama kapasitesi vardır. Bundan dolayı  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunu azaltmada, hücrel cevap oluşumunda önemli rol oynar. Ayrıca hücre dışı ortamdaki  $Ca^{2+}$ 'un da sinyal mekanizmasında rolü önemlidir.

Hücre içerisine  $Ca^{2+}$ 'un girişi, farklı özellikteki kanallar aracılığı ile gerçekleşir (Berridge ve ark., 2003).

Bu kanallar;

1. Voltaja bağlı kalsiyum kanalları (Voltage operated calcium channels / VOCCs)
2. Reseptöre bağlı kalsiyum kanalları (Receptor operated calcium channels /ROCCs)
3. Mekanik olarak aktive olan kalsiyum kanalları (Mechanically activated calcium channels)
4. Depolanmış  $Ca^{2+}$  miktarına duyarlı kalsiyum kanalları (store operated kalsiyum kanalları; SOCCs) şeklinde tanımlanırlar (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4:** Plazma Membranından Kalsiyum Transport Mekanizmaları: ROC: Reseptörle Çalıştırılan Kanal, VOC: Voltaja-Bağımlı Kanal, SOC: Depo-Kontrollü Kanal, SMOC: Second Messenger' a Bağlı Kanal, Kalsiyumun Uzaklaştırılması: PMCA: Plazma Membranı  $Ca^{2+}$ -ATPaz ve Na/Ca - Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> Değiş-tokuşu,  
Kaynak: Parekh&Putney 2005

### 2.3.1. Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanalları (VOCCs)

İstirahat halindeki hücre depolarize olurken, transmembranal potansiyel -50- -40 mV düzeyine erişince ve yavaş olarak açılan kalsiyum kanallarıdır. Kalp hücrelerinin membranlarında reseptöre-bağımlı kalsiyum kanallarından ziyade, voltaja-bağımlı kalsiyum kanalları vardır.

Tsien ve ark. (1998) farmakolojik ve elektrofizyolojik teknikler kullanarak voltaja bağlı kalsiyum kanallarının aktive edilmeleri için gerekli transmembranal voltaj eşiği, kanal içinden geçen akımın büyüklüğü ve inaktivasyon hızları gibi biyofizik özellikleri ve belirteç ajanlarla blokaja duyarlılıklarını dikkate alarak üç tipini belirlemişlerdir. Bunlar L (“long-lasting”), T (“transient”) ve N (neither T nor L) tipi kanallardır. Bu sınıflandırma yeni bulgular ve özellikle bazı tiplere selektif nörotoksinlerin bulunması ile modifiye edilmiştir.

Yeni sınıflandırma ile söz konusu kalsiyum kanalları, aktive edilebilmeleri için, istirahat halindeki eksitabl hücreye uygulanması gereken voltajın büyüklüğüne göre iki ana gruba ayrılırlar: bunlar, düşük voltajla aktive olan (LVA, “low-voltage activated”) ve yüksek voltajla aktive olan (HVA, “high-voltage activated”) kalsiyum kanalları olup sırasıyla düşük eşikli ve yüksek eşikli kanallar adı da verilir. Düşük voltajla aktive edilen grup, önceki sınıflandırmadaki T kanallarını kapsamaktadır. Bu kanallar, membran potansiyelinin istirahat düzeyinden (yaklaşık -80 mV), en fazla -70 mV gibi düşük bir eşik düzeye yükseltilmesi ile açılır. Diüretik bir ilaç olan amiloridil tarafından bloke edilirler. Yüksek voltajla aktive olan kanallar, L-, N-, P-, R- ve Q-tipi kanallardır (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1:** Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanallarının Sınıflandırılması

Tip	Özellik	Lokasyon / Fonksiyon
<b>L-tip</b> <b>(Ca<sub>v</sub>1)</b>	Yüksek voltaj ile aktive olur. Dihidropiridin ile bloke olur	Endokrin, nöron, düz kas, iskelet kası hücreleri; Uyarılma-kasılma
<b>P/Q-tip</b> <b>(Ca<sub>v</sub>2.1)</b>	Yüksek voltaj ile aktive olur. $\omega$ -agatoksin ile bloke olur	Sinir uçları, nöroendokrin hücreler; transmitter salımı, hormon salımı
<b>N-tip</b> <b>(Ca<sub>v</sub>2.2)</b>	Yüksek voltaj ile aktive olur. $\omega$ -konotoksin ile bloke olur	Sinir uçları, nöroendokrin hücreler; transmitter salımını, hormon salımı
<b>R-tip</b> <b>(Ca<sub>v</sub>2.3)</b>	Yüksek voltaj ile aktive olur SNX-482 ile bloke olur	Nöronal hücre, dendrit; tekrarlayan ateş, dendritik Ca <sup>2+</sup> geçişi
<b>T-tip</b> <b>(Ca<sub>v</sub>3)</b>	Düşük voltaj ile aktive olur ve oktanol ile bloke olur	Kalp ve nöronlarda pacemaker aktivite için önemlidir

Kaynak: Catterall ve ark., 2005

N-tipi kanallar santral ve periferik sinir sisteminde akson uçlarında; presinaptik yerleşmişlerdir ve bu uçlardan nöromediyatör salıverilmesi için Ca<sup>2+</sup>'un içeri girişini sağlarlar. R-tipi ve Q-tipi kanallar ise esas olarak santral sinir sistemindeki nöronlarda bulunur.

P-tipi kanallar yerleşim yerleri ve fonksiyonları bakımından N-tipi kanallara benzer. P-tipi kanallar ilk kez beyincik purkinje hücrelerinde bulunduğundan bu şekilde adlandırılmıştır. Santral ve periferik sinir sisteminde bazı yerlerde presinaptik uçtan nöromediyatör salıverilmesine bu kanallar aracılık ederler.

N-tipi kanallar, omega-konotoksin-GVIA( $\omega$ -CgTx) adlı bir toksin tarafından selektif olarak bloke edilirler. Bu toksin, 27 aminoasitli bir peptid olup, Conus Geographus adlı deniz salyangozundan elde edilir. P-tipi kanallar bu toksine duyarsızdır; onlar bir huni-ağlı örümcek (funnel web spider) türü olan Agelenopsis Aperta venomundan elde edilen iki toksin tarafından bloke edilirler. Bunlar, bir non-aromatik poliamin olan huni-aę toksini (FTX, funnel web toxin) ve bir peptid olan omega-agatoksin-İVA( $\omega$ -AGA-İVA)'dir, bu iki toksin N-tipi kanallarda etkisizdir (Yousef ve ark., 2005). P-tipi kanallar memelilerde çizgili kaslardaki motor sinir uçlarında ayrıca adrenal medulla kromatin hücrelerinde bulunur (Llinas ve ark. 1989).

L- ve T-tipi kanallar damar düz kasının, myokard ve kalbin özelleşmiş iletim sistemi hücrelerinin ve tempo tutucu hücrelerin dışardan giren  $Ca^{2+}$  tarafından aktive edilmelerini sağlayan ve kardiyovasküler sistemde önemli rolü olan kanallardır. Aktive olmaları; için istirahat halindeki hücrenin transmembranal potansiyelini 0 mV'a çıkarmaya yetecek kadar görece yüksek voltajlı stimulus uygulanması gerekir. Transmembranal potansiyel farkı -10 mV veya daha aşağıya inince bu kanallar inaktive olurlar. L-tipi kanalların konduktansı en yüksek (ortalama 25 pS, pikosiemens) ve inaktivasyon; kapanma süreleri en uzundur (500 milisaniyeden fazla). Kalsiyum kanalı aktive edilince, hücre dışındaki  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu hücre içine göre yaklaşık 10.000 kez daha yüksek olduğu için  $Ca^{2+}$ , kanal açık kaldığı süre boyunca hızla hücre içine girer.

Antianginal ilaç olarak kullanılan DHP'ler ve diğer kalsiyum kanal blokörü ilaçlar, sadece L-tipi kanalları bloke ederler. Bu ilaçlar T-, N- ve P-tipi kalsiyum kanallarına etkisizdirler. T-tipi kanallar antihipertansif ve antianginal bir ilaç olarak çıkarılan ve toksisitesi nedeniyle geri çekilen mibefradil tarafından oldukça selektif bir şekilde bloke edilir.

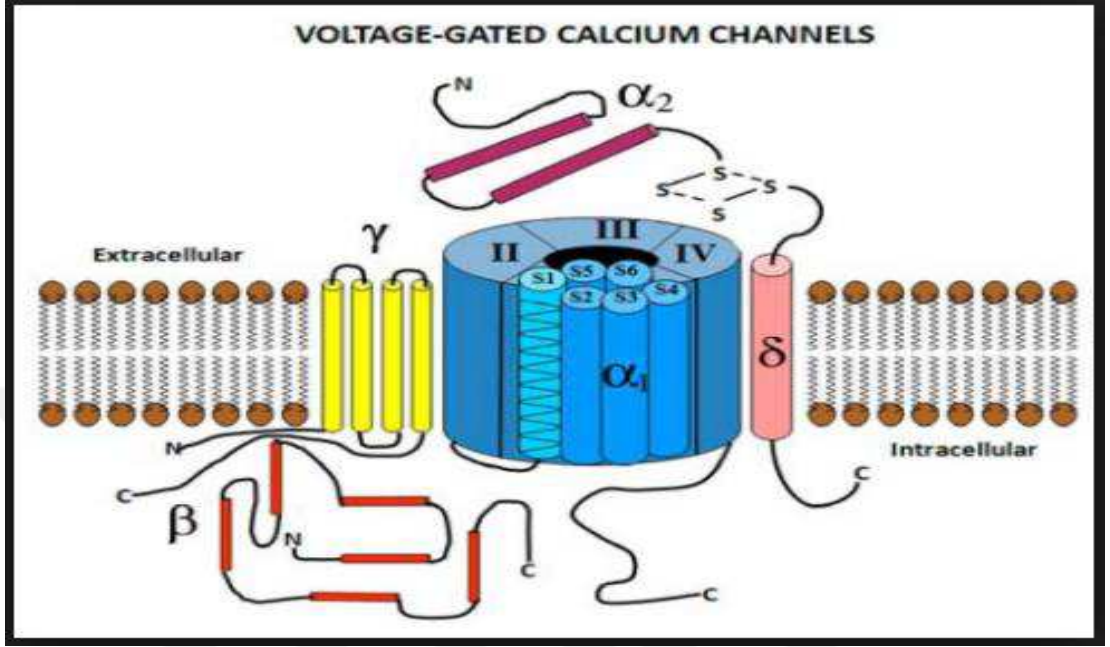
Kalsiyum kanallarından inaktivasyonu yavaş olanların; aktivasyon hızı da yavaştır. Esasında, en hızlı açılıp kapanan T tipi kalsiyum kanalları bile hızlı sodyum kanallarına göre 20-30 kez daha yavaş çalışır.

Kanal tiplerinin ilaçlara duyarlılığı farklıdır; ayrıca aynı kanalın alt-tipleri arasında da farklılık gözlenir. En çok üyeli olan ve klinikte en sık kullanılan DHP türevi ilaçlara (nifedipin ve benzerleri gibi), yukarıda belirtildiği gibi, sadece L-tipi kanallar duyarlıdır. Çizgili kas hücresi membranında T tübüllerinin SR membranı ile birleşme yerleri olan triad noktalarında yoğun şekilde bulunan L-tipi kanallar ise dihidropiridinlere ve diğer iki tür kalsiyum kanal blokörüne duyarsızdır; düşük molekül ağırlıklı (170 kilodalton) olan bu atipik kanallar gerçekte kanal değil, voltaj duyargası (sensör) görevi yaparlar ve çizgili kas hücresinin membranı (dolayısıyla T tübülleri) depolarize olunca hücre içine SR'deki depodan  $Ca^{2+}$  deşarjını tetiklerler (Kayaalp 2012).

Kardiyovasküler sistemin efektör hücrelerinin esas kalsiyum kanallarını oluşturan L-tipi kalsiyum kanalların beş alt-birimden oluşan, heterooligomerik yapıda bir proteindir. Bu alt-birimler: alfa<sub>1</sub> ( $\alpha_1$ ), alfa<sub>2</sub> ( $\alpha_2$ ), beta ( $\beta$ ), gama ( $\gamma$ ) ve delta ( $\delta$ ) şeklinde isimlendirilir. Bütün alt-birimlerin cDNA'sı yapılmış ve klonlanmıştır. Kanal fonksiyonu yapan ve ilaçları bağlayan alt-birim  $\alpha_1$  alt-birimidir. L-tipi



kalsiyum kanalının  $\alpha_1$  alt-birimi üzerinde, kanalın açılıp kapanma mekanizmasını allosterik bir şekilde ve genellikle kapatıcı yönde etkileyen stereoselektif bağlanma yerleri bulunur (Budreisi ve ark., 2005; Görlitzer ve ark., 1991) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5: Voltaja Bağlı Kalsiyum Kanallarının Genel Yapısı  
Kaynak: Gurkoff ve ark 2013

Kalsiyum kanal blokörü ilaçların kalsiyum kanallarında yaptığı bloğun derecesi kullanıma veya frekansa-bağımlı olarak artar (“use- or frequency-dependent” blok). Myokard hücrelerinde istirahat potansiyeli -80 mV dolayında, damar düz kaslarında ise -50 mV kadardır; damar düz kasının daha depolarize durumda olmasının bu ilaçların vazoselektif özelliklerinin rol oynadığı ileri sürülmüştür.

### 2.3.2. Reseptöre-Bağlı Kalsiyum Kanalları (ROCCs)

Hücre membranında bir G proteini aracılığı ile reseptöre kenetlenmiş ve reseptörün kendine uyan agonist madde tarafından aktivasyonu ile açılan ya da kapanan kanallardır. Visceral ve vasküler düz kaslarda bulunan reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının muskarinik ve adrenerjik reseptörler ile aktive edildiği bilinmektedir (Thorneloe and Nelson 2005). Bunların dışında histamin, endotelin-1 (ET-1), nörokinin A, substans P, urasil trifosfat ve vazopressin gibi agonistler de bu kanalları aktive etme yeteneğine sahiptir (McFadzean and Gibson, 2002).

Muskarinik reseptörler tarafından aktive edilen reseptöre bağlı kalsiyum kanalları birçok düz kaslı yapıda tanımlanmıştır. Bunlar; gastrik, trakeal, jejunum, ileum ve pilorik sirküler düz kas hücreleridir (Lee et al. 2003, Wang et al. 1997, Pacaud and Bolton 1991, Komori et al. 1992, Vogalis and Sanders 1990).

Reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının düz kas hücre membranını depolarize ederek voltaja bağlı kanallardan  $Ca^{2+}$  geçişi için gerekli olan stimulyonu sağlayabileceği bilinmektedir (Thorneloe and Nelson 2005). Hücrenin istirahat membran potansiyelinde, reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının aktivasyonu ile büyük oranda  $Na^+$  iyonları tarafından taşınan içeriye doğru bir akım oluşur. Bu akım sonucu oluşan membran depolarizasyonu sayesinde VOCCs açılır ve içeri giren  $Ca^{2+}$  iyonları kontraksiyona neden olur. Bu mekanizma voltaja bağlı kalsiyum kanallarından bağımsız olarak gerçekleşen yalnızca reseptör stimulyonu sonucu  $Ca^{2+}$  alımının aracılık ettiği bir düz kas kontraksiyon mekanizmasıdır (Large 2002).

Bu kanallar, voltaja bağımlı kanalların aksine in vitro ortamda yüksek  $K^+$  ile oluşturulan depolarizasyonda  $Ca^{2+}$  girişine neden olmazlar. Kalsiyum antagonistleri bu kanalları voltaja bağımlı kanallar kadar güçlü bloke etmezler. İn vitro koşullarda  $Ca^{2+}$  suz ortamda agoniste bağlı kasılmalar görülmez ancak bazı agonistler reseptör aktivasyonu üzerinden kalsiyum kanallarına dokunmaksızın hücre içindeki depolardan intraselüler  $Ca^{2+}$  salıvermek suretiyle kasılma meydana getirirler ( $\alpha_1$ -adrenoseptör agonisti fenilefrin'in yaptığı gibi). Bu şekilde meydana gelen kasılmalar genelde kalsiyum antagonistleri ile veya ortamdan  $Ca^{2+}$ 'u uzaklaştırmakla ortadan kalkmazlar.

Kaynaklara göre bazı agonistler tarafından intraselüler depolardan  $Ca^{2+}$  salıverilmesinde hücre içinde oluşan  $IP_3$ 'ın rol oynadığı belirtilmiştir ancak son yapılan çalışmalar reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının da içinde bulunduğu non-selektif katyon kanallarının yalnızca intraselüler  $IP_3$  tarafından değil, DAG ve analogları tarafından da aktive edildiğini ortaya koymuştur (Large 2002).

Reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının damarlarda bulunan bir alt-tipi de  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlere bağımlı olan kanallardır. Bunlar, kural dışı olarak kalsiyum antagonistleri ile güçlü bir şekilde bloke edilirler (Kayaalp 1992).

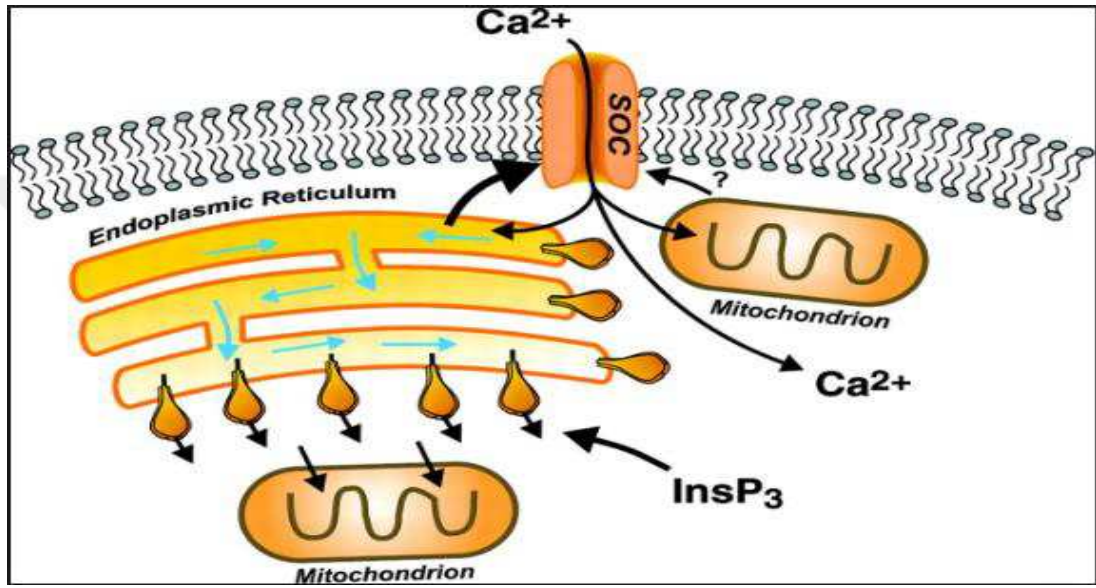
### 2.3.3. Mekanik Olarak Aktive Olan Kalsiyum Kanalları

Bu kanallar, pek çok hücre tipinde bulunur ve hücre deformasyonuna cevapta, stres ve şekil değişikliği durumunda bilgi iletilmesinde görev alırlar. Trakeadaki

epitelyum hücreleri veya iç kulaktaki koklear hücreleri örnek olarak verilebilir (Boitano ve ark. 1992).

#### 2.3.4. Depolanmış Kalsiyum Miktarına Duyarlı Kalsiyum Kanalları

Hücre içi  $Ca^{2+}$  depolarının boşalması durumunda aktive olabilirler ayrıca, farmakolojik bir madde veya fizyolojik olarak  $Ca^{2+}$  u hareketlendirecek haberciler aracılığı ile de aktive edilirler (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Depolanmış Kalsiyum Miktarına Duyarlı Kalsiyum Kanalları (SOC)  
Kaynak: Parekh ve Putney, 2005.

Depolanmış kalsiyum miktarına duyarlı kalsiyum kanallarından  $Ca^{2+}$  girişi,

(i) Hücre içi  $Ca^{2+}$  depolarının  $IP_3$  ile boşaltılması ya da,

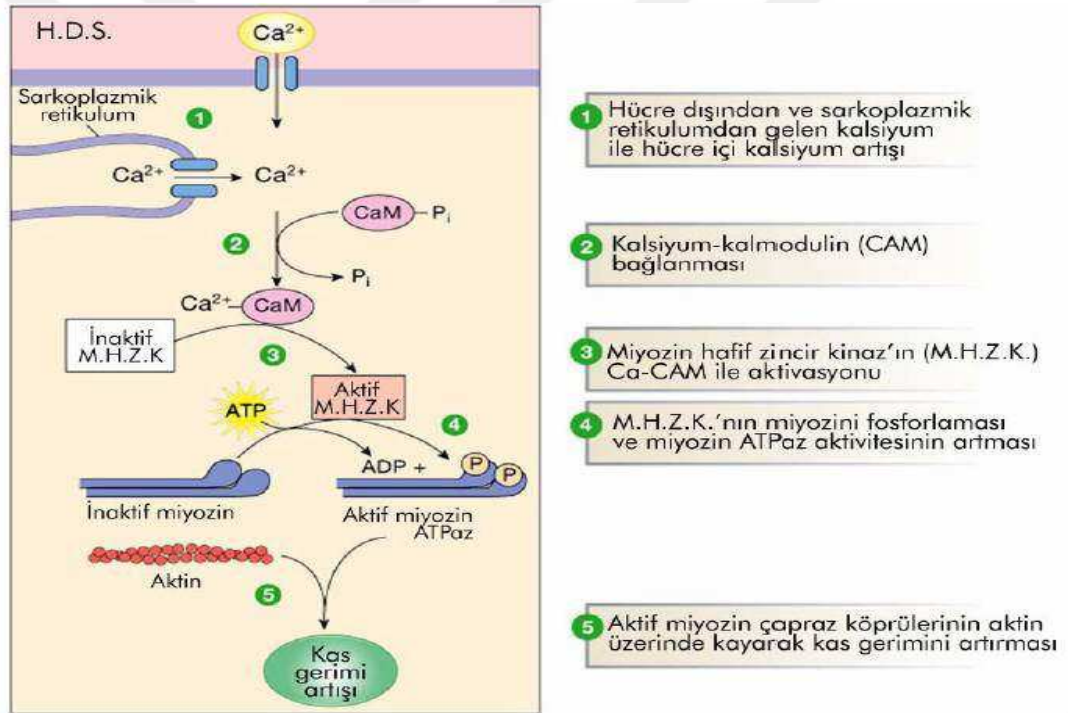
(ii) Siklopiazonik asid (CPA), tapsigarjin gibi ajanlar ile SR içine  $Ca^{2+}$  alımını sağlayan sarkoplazmik/endoplazmik retikulum  $Ca^{2+}$ ATPaz (SERCA) pompasının selektif inhibisyonu sonucunda pasif olarak hücre içi depoların boşaltılması sonucu olmaktadır (Targos ve ark., 2005).

Depolanmış kalsiyum miktarına duyarlı kalsiyum kanallarından  $Ca^{2+}$  girişi ile hücre içerisine giren  $Ca^{2+}$ , hücre membranı ile SR arasındaki kompartmanda hapsedilerek kasılma oluşturmazken (Blaustein ve Golovina, 2001; Papp ve ark., 2003), yine bu kompartmanda bulunan protein kinaz C (PKC) etkinleşmesi ile kasılma oluştuğu kaydedilmiştir (Abe ve ark., 1995; Tosun ve ark., 1998).

Bu kanallarla elektrofizyolojik çalışmalarda, hücre tipine göre farklılıklar görülmüş olup, her bir hücre tipinde farklı tipte SOCCs kanalı bulunduğu söylenebilir. Bu kanalların en iyi örneği Drosophila türlerinde transient reseptör potential (TRP) kanallar olarak adlandırılan homolog proteinler olabilir (Katz ve Minke, 2009).

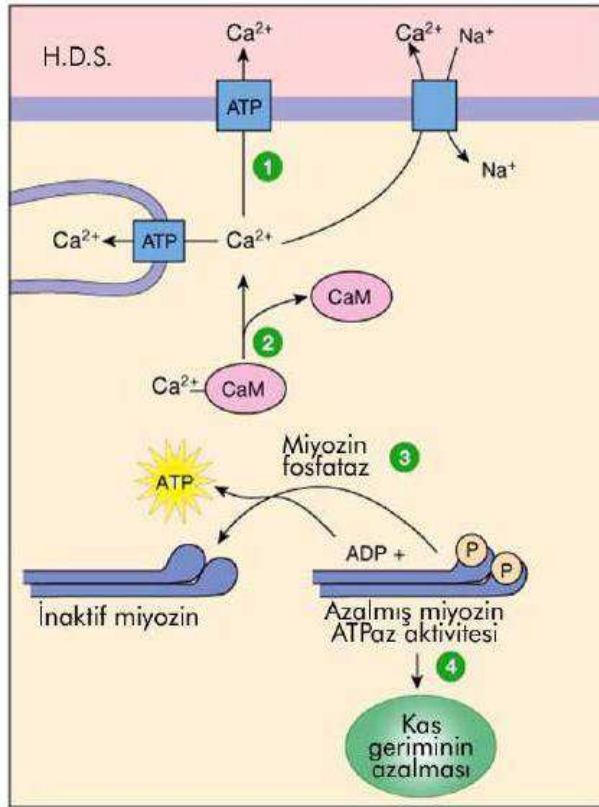
#### 2.4. Düz Kasın Kasılma ve Gevşeme Mekanizması

Kalsiyum iyonlarının, aksiyon potansiyeli ya da başka bir uyarın aracılığı ile hücre sitoplazmasına girmeleri sonucu derişimleri artar ve kalmoduline bağlanırlar. Kalmodulin- $Ca^{2+}$  kombinasyonu miyozin kinazla birleşir, onu aktive eder. Aktive edilen miyozin kinaz miyozin hafif zincirini fosforile eder, miyozin başının aktin filamenti ile bağlanması sonucu kasılma oluşur (Şekil 2.7).



Şekil 2.7: Vasküler Düz Kasın Kontraksiyon Mekanizması  
Kaynak: Özyener F.

Kalsiyum derişimi geri pompalanma aracılığı ile eşik değerin altına düştüğünde miyozin fosfataz enzimi, miyozin hafif zincirinden fosfatı ayırır. Defosforile miyozin başının aktinden ayrılması sonucu döngü ve beraberinde kasılma sonlanır (Şekil 2.8).



1 Hücre içi serbest kalsiyum miktarı hücre dışına veya sarkoplazmik retikulumu pompalanma sonucu azalır.

2 Kalsium, kalmodulinden ayrılır.

3 Miyozin fosfataz, miyozinden fosfat kopararak, miyozinin ATPaz aktivitesini azaltır.

4 Düşük miyozin ATPaz aktivitesi kas gerimini azaltır

Şekil 2.8: Düz kas hücresinde gevşeme mekanizması  
Kaynak: Özyener F.

### 2.5. Kalsiyum Kanal Blokörleri

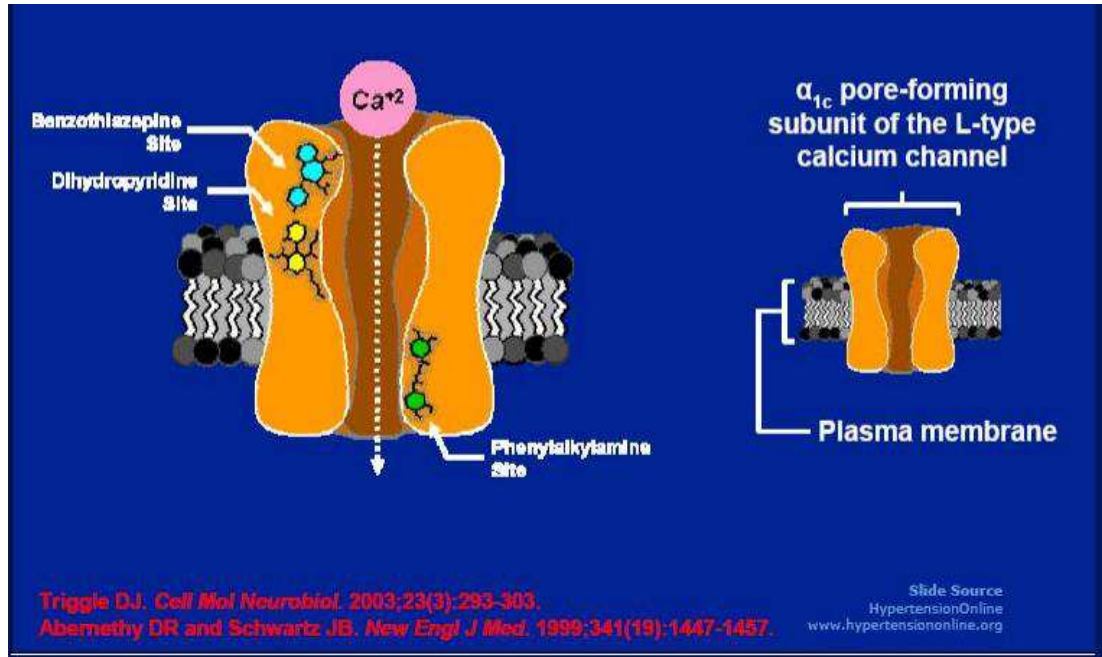
Kalsiyum kanal blokörleri terimi; kimyasal, farmakolojik ve terapötik olarak heterojen bir kardiyovasküler terapötik ajan ve moleküler ilaç grubunu ifade eder. Kalsiyum kanal blokörleri, temel yapılarına göre üç gruba ayrılırlar: Fenilalkilaminler (verapamil), benzotiyazepinler (diltiazem) ve 1,4-DHP'ler (nifedipin) (Ashimori ve ark., 1990). Günümüzde, bu ilaçlar, DHP'ler (nifedipin) ve DHP yapısı taşımayanlar (non-DHP: verapamil ve diltiazem) olarak da sınıflandırılmaktadır (Budriesi ve ark., 2005) (Tablo 2.2).

**Tablo 2.2:** Kalsiyum Kanal Blokörleri

<b>Dihidropiridinler</b>		<b>Fenilalkilaminler</b>	<b>Benzotiazepinler</b>
Prototipi : Nifedipin		Prototipi : Verapamil	Prototipi : Diltiazem
Amlodipin	Manidipin	Anipamil	
Barnidipin	Nikardipin	Devapamil	
Benidipin	Niguldipin	Gallopamil	
Elgoidipin	Niludipin	Ronipamil	
Felodipin	Nilvadipin	Tiapamil	
Flordipin	Nimodipin		
Isradipin	Nisoldipin		
Klevidipin	Nitrendipin		
Lasidipin	Teludipin		

Kaynak: Hernandez ve ark., Am J Ther, 2003

Bu ilaçların antihipertansif, antianginal ve seçici antiaritmik kardiyovasküler aktiviteleri voltaja duyarlı L-tipi kalsiyum kanalları üzerinden  $Ca^{2+}$  taşınımı ile olan etkileşimleri ile karakterizedir. Bu bileşikler, heterojen kimyasal yapıları nedeni ile kalsiyum kanalının birbirinden farklı alt birimlerine bağlanarak etki göstermektedir (Şekil 2.9).



**Şekil 2.9:** Kalsiyum Kanal Blokörlerinin Kalsiyum Kanalında Bağlandığı Yerler

İlk olarak Freiburg Üniversitesi'nden Albrecht Fleckenstein (Kalsiyum kanal blokörlerinin babası; 1917-1992) kalsiyum kanallarının "kalsiyum kanal blokörleri" şeklinde isimlendirilen ajanlar tarafından bloke edildiğini belirtmiştir (Fleckenstein 1967). Daha sonra yapılan çalışmalar sonucu ikinci grup ilaçlar keşfedilmiş ve bunun sonucu seçici türevler olan 1,4-DHP türevi olan amlodipin, benidipin, silnidipin, felodipin, isradipin, lasidipin, lerkanidipin, manidipin, nikardipin, nilvadipin, nimodipin, nisoldipin ve nitrendipin elde edilmiştir. Bu ilaçlar, nifedipine yapısal benzerlik göstermelerine rağmen belli farmakodinamik ve farmakokinetik farklılıklar gösterirler (Trigle, 2007).

Kalsiyum kanal blokörlerinin başlıca etki yerinin eksitasyon-kontraksiyon için hücre dışı  $Ca^{2+}$  akışının inhibisyonunu sağlayan voltaja bağımlı kanallar olduğu bilinir. Kalsiyum kanal blokörleri, yalnızca direkt olarak sitoplazmik  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunu azaltmaz, aynı zamanda hücre içi depolardan  $Ca^{2+}$  salınımının azalmasına da neden olur (Sanborn ve ark.,1993).

Düz kaslardaki kalsiyum kanalları, yavaş ve hızlı inaktivasyon karakteristiklerine göre L- ve T-tipi kalsiyum kanalları olarak tanımlanır (Hess 1990). L-tipi kalsiyum kanalları, magnezyum ( $Mg^{2+}$ ) iyonları ve nifedipin, nimodipin, isradipin gibi DHP'ler tarafından inhibe edilir (Sperelakis ve ark., 1992). L-tipi kalsiyum kanallarının fonksiyonu, guanozin-5'- trifosfat (GTP) bağlı proteinler ve düz kaslar üzerinde negatif etkiye sahip fosforilasyon ile düzenlenebilir (Sanborn ve ark.,1993, Birnbaumer ve ark., 1990).

L-tipi kanallar için, klinik olarak kullanılan 1,4-DHP'lerin etkilerinin vasküler selektivitesi ve vazodilatör özellikleri, vasküler endotelial hücrelerden NO salınımını stimüle etme yeteneğinden kaynaklandığını gösteren kanıtlar vardır (Dehin ve ark., 1999). Böyle bir etki, vasküler düz kas hücrelerinde, kalsiyum kanallarının direkt blokajı ile oluşturulan vazodilatasyona eklenebilir. Endotelial NO sentaz (eNOS), L-arjini vasküler düz kas hücrelerine difüze olan ve vasküler gevşemeyi sağlayan NO'e dönüştürür (Furchgott ve Zawadzki, 1980; Lamas ve ark., 1992; Thomas ve ark., 2001). Dihidropiridinlerin NO salıcı etkisi, terapötik konsantrasyonlarda görülür ve endotelial hücrelere  $Ca^{2+}$  akışının stimülasyonunu içerir (Dehin ve ark., 1995; Zhang ve Hinke 1998; Crespi ve ark., 2002).

Kalbin kasılma gücü, kardiyak etki potansiyeli süresince hücre membranından  $Ca^{2+}$  akışı ile kontrol edilir. Miyokardiyal ve vasküler düz kas  $Ca^{2+}$  hareketi iki tip kanal tarafından düzenlenir. Birincisi membran depolarizasyonu ile

aktive olan kanallardır ve hücre membranı boyunca voltajda değişikliğe neden olur ve sonuç olarak kalsiyum kanalları açılır. Böylece hücre dışı  $Ca^{2+}$ 'un hücre içine girişine izin verilir ve kas kontraksiyonu başlar. İkinci tip kanallar,  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlere norepinefrinin bağlanması ile hücre içi depolardan  $Ca^{2+}$  salınımını düzenleyen kanallardır. Prensip olarak kalsiyum kanal blokörü ilaçlar, voltaj duyarlı kanallar boyunca hücre içine  $Ca^{2+}$ 'un girişi ile etkileşirler. Ayrıca bazı kalsiyum antagonistlerinin yüksek konsantrasyonu,  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler üzerinde kompetitif mekanizma ile norepinefrinin etkilerini bloke edebilir (Weiner, 1988). Kalsiyum, çeşitli regülatör ve sinyal süreçlerinde hücresel aktivitede önemli bir role sahiptir. Kalsiyum akışı epinefrin veya teofilin gibi kardiyostimülan ilaçlar ile artırılabilirken, kalsiyum kanal blokörleri ile inhibe edilir. Bu grup ilaçlar, angina pektoris, hipertansiyon ve birçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde önemlidir. Bu grup ilaçların özellikle kardiyak, periferik ve serebral düz kaslar başta olmak üzere birçok dokuda,  $Ca^{2+}$  akışını inhibe ederek etki gösterdikleri öne sürülmüştür. Beyin, kalp, bağırsak, karaciğer, böbrek ve çeşitli endokrin organlar, işaretlenmiş DHP kalsiyum antagonistleri ile etkileşen bağlanma bölgelerine sahiptir (Bellemann ve ark., 1983).

Nitrovazodilatör bir ilaç olan nitrogliserin, bir NO donörüdür ve vasküler düz kaslarda siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyini düşürmek için guanilat siklazı aktive ederek gevşemeyi artırır. Nitrovazodilatörler, angina pektoris ve akut miyokardiyal infarktüs tedavisinde yararlı bileşiklerdir. Dihidropiridin halkasının üç numaralı konumunda nitro grubu içeren bileşiklerin nifedipine göre femoral ve vertebral arteriyel kan akışını arttırdıkları bulunmuştur. Dihidropiridinlerin 1,3-dinitrooksi-2-propil analoglarının güçlü kalsiyum kanal antagonist bileşikler olduğu ve in vivo NO açığa çıkardıkları keşfedilmiştir.

Kombine ilaç tedavisine alternatif olarak bir ilaçta birden fazla farmakolojik aktiviteyi taşıyan kardiyovasküler hibrit ilaçlar önem kazanmaktadır. Bu amaçla 1,4-DHP halkasının beş numaralı konumundaki ester gruplarının nitroksialkil grupları ile yer değiştirdiği türevler sentezlenerek beş numaralı konumdaki sübstitüentin NO donörü olarak aktivite göstermesi amaçlanmıştır. Böylece üçüncü kuşak kalsiyum kanal modülatörleri bir kardiyoselektif agonist olarak konjestif kalp yetmezliği tedavisinde ideal terapötik profile sahip olmuştur. NO donörleri ayrıca platelet agregasyonu ve adhezyonu inhibe edici, immünostimülan ve anti-kanser etkilere sahiptir (Miri ve ark., 2000).



Nifedipin ve nikardipin gibi ilk kuşak 1,4-DHP'ler klinikte geniş kullanıma sahip olsalar da kısa etki süreleri bu ilaçların dezavantajıdır. Amlodipin ve tiyamdipin gibi ikinci kuşak 1,4-DHP'ler farklı farmakokinetik profile sahiptir. Uzun plazma yarı ömrü ve % 100 oral biyoyararlanım gibi farmakokinetik özellikler uzun etki süresi ve günde bir kez alımla güçlendirilmiş antihipertansif etkinin sürdürülmesini sağlar.

Miyokardiyal kasılmanın kontrolünü sağlayan mekanizmalardan biri sempatik sinir sistemi aracılığı ile olmaktadır. Konjestif kalp yetmezliği, sempatik sinir sistemi tarafından katekolamin düzeyinin artırılması ile miyokardiyal inotropik kasılmanın sonucudur. Kalbin yüksek düzeyde endojen katekolaminlere maruz kalması miyokardiyal  $\beta_1$ -adrenoreseptörlerin sayısını ve duyarlılığını azaltmaktadır. Kalp katekolamin stimülasyonuna daha az duyarlı hale gelmesine rağmen diğer mekanizmalar kardiyak kasılmayı artırır. Bu mekanizmalardan biri, histamin  $H_2$  reseptörleri aracılığı ile gerçekleşir. Miyokardiyal histamin  $H_2$  reseptörlerinin stimülasyonu adenilat siklaz sistemini aktive eder ve miyokardiyal kasılma stimüle olur. Histamin  $H_2$  agonisti olan impromidin, doğal agonist histaminden 48 kez daha güçlüdür. İn vivo olarak impromidin insanda pozitif inotropik etki gösterir ve kardiyak verimi artırır. Kalp hızı sabit kalırken sistemik arteriyal kan basıncını azaltır. İmpromidin'in gastrik asit salınımının güçlü stimülatörü olması ve diğer kardiyak stimülanlar gibi aritmilere neden olabilmesi dezavantajıdır. İmpromidin'in taşıdığı imidazolin propil guanidin ile histamin  $H_2$  agonistik aktiviteden sorumlu olduğu, metil imidazol grubunun ise afiniteye katkısı olduğu sanılmaktadır. Pozitif inotropik ve vazodilatör etkilerin bir ilaçta kombinasyonu, eğer  $\beta_1$  adrenerjik sistemden bağımsız olarak kardiyak performans geliştirilebilirse konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde yararlı olabilir. Bu amaçla kalsiyum kanal blokör aktiviteye ilaveten kardiyotonik aktiviteye sahip DHP'ler tasarlanmıştır. Bu şekilde iki aktivitenin bir ilaçta toplandığı moleküller yeni araştırma konularıdır.

Christiaans ve arkadaşları (1994), vazodilatör etkili 1,4-DHP ve pozitif inotropik aktiviteli histamin  $H_2$  agonist aktiviteye sahip negatif inotropik bir moleküle ulaşmaya çalışmışlardır. Yapısal modifikasyonlar impromidin üstünde olmuştur. İmpromidin'in  $H_2$ -nonspesifik yapısal bölümü 1,4-DHP'ler ile değiştirilerek potansiyel vazodilatör özellikler moleküle kazandırılmaya çalışılmıştır. Bu amaçla histamin  $H_2$  agonist ve 1,4-DHP yapısını taşıyan hibrit moleküller sentezlenmiştir.

1,4-DHP türevlerinin etki mekanizması,  $Ca^{2+}$ 'un hücre içine girişinin, kalp ve damar düz kasında bulunan kalsiyum kanallarının geri dönüşlü olarak inhibe edilmesi ile önlenmesidir.

Nifedipin, diltiazem ve verapamil'in kardiyovasküler profilleri karşılaştırıldığında, ilk kuşak kalsiyum kanal antagonistlerinin farklı kardiyovasküler profillere sahip oldukları ve buradan yola çıkarak bu grup bileşiklerin kalsiyum kanallarında farklı bölgelere bağlanarak aktivite gösterdikleri söylenebilir. Önemli bir gözlem de 1,4-DHP serilerinde yapılan küçük moleküler değişiklikler ile vazokonstriktör ve kardiyookseleratör etkili güçlü kalsiyum kanal aktivatörlerine ulaşılmasıdır. Bütün bu gözlemler, kalsiyum kanalları üzerindeki farklı reseptör bölgelerinin aşağıdaki genel özelliklere sahip olduğunu göstermektedir:

- Aktivatör ve antagonist ligantlar için spesifik bağlanma bölgeleri,
- İyon kanalının geçirgenlik ve açılıp kapanmasına bağlanma bölgesinin katılımı,
- Homojen ve heterojen etkiler (hastalık hali ve genetik özellikler) tarafından düzenlenme,
- Hastalık durumunda fonksiyon değişimi.

Sonuç olarak voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının T, L, N, P/Q ve R alt-tiplerinin  $\alpha_1$  alt birimi ile birlikte kanalın ana biyofiziksel ve farmakolojik özelliklerini belirlediği, diğer alt birimler olan  $\alpha_2$ ,  $\delta$ ,  $\beta$ , ve  $\gamma$  ile iyon kanallarının bütünlüğü ve ilaç bağlanma ve geçiş özelliklerinin değiştirildiği söylenebilir. Cav 1 ile ifade edilen L tipi kanallar 1,4-DHP türevlerine duyarlıdır (Triggle, 1999, 2003. Schleifer 1999). Tedavide nifedipin ve verapamil kullanımının bazı dezavantajları vardır. Plazma ömürlerinin oldukça kısa olması nedeniyle bu ilaçlar yeterli klinik etkiyi oluşturmak için gün içinde tekrarlanan dozlarda alınmalıdır. 1967 yılından beri uzun etki süreli, güçlü vazodilatör bileşiklere ulaşmak için çok sayıda DHP türevi sentezlenmiştir. Daha sonra Bayer A.G. tarafından DHP yapısına analog dihidropiran, dihidrotiyopiran, dihidropiridazin ve dihidropirazin türevleri sentezlenmiştir. Cho ve arkadaşları (1989), 1,4(3,4)-dihidropirimidin türevlerinin, anestezi altındaki köpeklerde vertebral arter üzerindeki vazodilatör etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada DHP reseptörüne iyi afinite için gerekli olan bir numaralı konumdaki azota bağlı hidrojenin olmaması durumunun aktiviteye olan etkisi incelenmiştir. Bazı dihidropirimidin yapısına sahip bileşiklerin DHP'lerle kıyaslanabilir hipotansif etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

Amlodipin ile diğer 1,4-DHP'ler arasındaki en temel fark DHP halkası 2 numaralı konumunda bulunan 2-amino etoksi metil grubudur. X-ışınları analizi ve nükleer manyetik rezonans çalışmalarına göre halkanın N-H grubu ile yan zincirdeki oksijen atomu arasında reseptöre ve P450 enzim sistemine duyarlılığı etkileyen molekül içi bir hidrojen bağı bulunmaktadır. Buna ek olarak, amlodipinin biyolojik membranlarda konumlanması, diğer 1,4-DHP türevlerinden protonlanmış amino fonksiyonu ile membranda bulunan negatif yüklenmiş fosfolipit temel yapısı ile farklılık gösterir. Alker ve arkadaşları (1992), amlodipin türevleri sentezlemiş ve bu türevlerde yan zincirdeki oksijen atomu yerine kükürt atomu veya metilen grubu gibi biyoizosterlerini yerleştirmek suretiyle farmakokinetik ve kalsiyum antagonist etkilerini karşılaştırmışlardır. Bu biyoizosterlerde bütün temel moleküler boyutlar sağlanmış olsa da molekül içi hidrojen bağı oluşumu mümkün olmamıştır. Aynı araştırmacıların farklı çalışmalarına göre amlodipin molekülünün DHP merkezi aktivite için kesin bir gereklilik değildir. Asıl olarak molekülün yüksek kalsiyum antagonisti etki göstermesini sağlayan, iki numaradaki hetero yapılarla DHP reseptörü arasında oluşan hidrojen bağlarıdır; bunlar, hem afiniteyi artırmış hem de etki süresini uzatmıştır.

Kalsiyum antagonistlerinin alt grupları arasında belirgin farklılıklar olup bunlar; verapamil, diltiazem ve nifedipin gibi birinci kuşak bileşiklerle, daha sonra geliştirilen DHP'i içeren ikinci kuşak ajanlardır (Tablo 2.3). İkinci kuşak ajanlar, damar düz kaslarına seçici olup ve daha uzun etkilidirler. Kalsiyum kanal blokörü ilaçlar, damarlarda L-tipi kanalları bloke ederek vazodilatasyona oluştururlar.

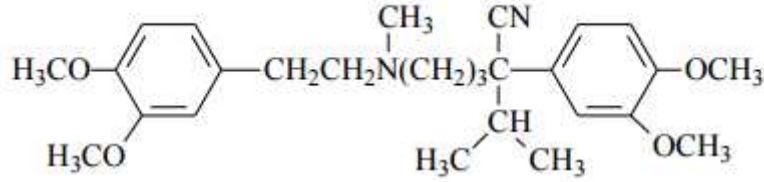
**Tablo 2.3:** Jenerasyonlara Göre Kalsiyum Kanal Blokörleri

I. KUŞAK	II. KUŞAK	III. KUŞAK
Verapamil	Verapamil SR	Uzun plazma yarı ömürlü Amlodipin
Diltiazem	Nifedipin XL	Uzun reseptör yarı ömürlü Lasidipin
Nifedipin	Felodipin ER	Lerkanidipin
Felodipin	Diltiazem SR	Manidipin
İsradipin	İsradipin CR	Benidipin
Nikardipin		
Nitrendipin		

Kaynak: Messerli FH, AJH July 2002;15:94S-97s

### 2.5.1. Verapamil

Hücre içinde  $Ca^{2+}$ , kasılma, salgılama ve nöral etkiler gibi fizyolojik olayları düzenlemekle görevlidir. Kalsiyumun kendine ait kanallar aracılığıyla hücreye girişi damar düz kası ve kalp kasında kasılma oluşturur ve tansiyon yükselir. Bu ilaçlar tarafından kalsiyum kanalları bloke edilerek hücre içine  $Ca^{2+}$ 'un girişinin önlenmesi angina pectoris, hipertansiyon, vazospazm, atriyal fibrilasyon, miyokardiyal iskemi, periferik hastalıklar ve diğer birçok hastalığın tedavisinde önemli bir yaklaşımdır (Janis ve Triggle, 1984). Kalsiyum kanal blokörlerinin ilk örneği verapamildir. Bu ilaç, 1960'lerde tedaviye  $\beta$ -adrenerjik reseptör blokörü olarak girmiş olup, yapılan deneysel ve klinik çalışmalarla 1970'lerin başında söz konusu etkisi bulunmuştur (Wehinger ve Gross, 1986).



Verapamil

**Farmakokinetik:** İntravenöz yolla uygulanan verapamilin hemodinamik etkileri, kısa sürer. Beş dakika içinde plazma düzeyi maksimuma çıkar. Etkisi 10-20 dakika içinde kaybolur. A-V düğüm üzerine 10-15 dakikada belirgin etki görülür ve altı saat kadar devam eder (Towart ve Schramm, 1985). Oral yoldan alındığında, etkisi iki saatte başlar, beş saat sonra maksimum düzeye çıkar. Tedavi edici kan düzeyi, 100-200 ng/ml'dir, yavaş salgılanan formunun etki süresi, 6-14 saat kadar devam eder. Bu yolla alınan verapamilin tamamı barsaktan absorbe olurken, biyoyararlanımı sadece % 10-20 kadardır. Nitekim absorbe olan verapamil karaciğerden ilk geçişi esnasında % 80-90 gibi büyük oranda metabolize olur. Oral dozu, intravenöz dozun (5-10 mg) 10-20 katı kadar yüksektir. Hepatik metabolitlerin de, ilacın tedavi edici etkilerine katkıları vardır. Verapamil, % 89-92 gibi büyük bir oranda plazmada proteinlere bağlanır (Towart ve Schramm, 1985). Böbrekler tarafından itrah edilir ve en hızlı elimine olan kalsiyum antagonistidir.

**Doz:** İntravenöz yolla verapamil uygulanması, monitor kontrolü altında yapılır. Miyokardiyal hastalık varsa ya da beta adrenerjik reseptör bloke edici ilaç veya digital alan hastalarda infüzyona çok küçük dozda başlanır ve alınan cevaba

göre, hız ayarlanır. Bir dakikanın üzerinde bir süre içerisinde, 0.1-0.15 mg/kg dozunda bolus verilebilir. Gerekirse, 30 dakika sonra bu doz tekrarlanabilir. Bolus uygulamadan sonraki infüzyon hızı, 0,005 mg/kg/dk'dır. Oral doz, günde 3 defa 80-160 mg olup, bu doz maksimum 720 mg/gün'e çıkarılabilir. Karaciğer yetmezliklerinde doz gözden geçirilmelidir (Zanehetti ve Krikler, 1981).

**Yan Etki:** Oral alınan verapamilin yan etkileri nadir gözlenirken, en belirginleri, baş dönmesi, yüzde kızarma, bulantı ve kabızlıktır (Zanehetti ve Krikler, 1981).

**Kardiyak Depressan Etki:** Bir takım deneysel çalışmalarda, negatif inotrop etki gözlenmiş olmakla birlikte klinikte uygulanan, dozlarda böyle bir etki söz konusu değildir (Mellemegaard ve ark., 1978; Mangiardi ve ark., 1977). Öte yandan, kalp yetmezliği ya da iletim bloğu olmayan koroner arter hastalarına verapamil intravenöz uygulandığında, muhtemelen afterloadın azalması neticesinde, sol ventrikül fonksiyonlarında düzelme yapabilmektedir.

**Kontrendikasyonlar:** Verapamil, sol ventrikül disfonksiyonu, hipotansiyon, kardiyojenik şok, sinüs sendromu, ikinci veya üçüncü derece A-V blok, atrial flutter veya atriyal fibrilasyon, Wolff-Parkinson White Sendromu'nda kontrendikedir (Alstaedter, 1981).

Gebelik kategorisi C olup, ilaç anne sütüne geçer.

**İlaç Etkileşimleri:** Beta-adrenerjik reseptör blokörleri alanlara intravenöz verapamil verilmemelidir; ani ölüm bildirilmiştir. Digital zehirlenmesinde de, intravenöz verapamil, ölümcül aritmilere neden olabildiğinden verilmez. Benzer şekilde, kinidin ve prokainamid alanlarda, intravenöz verapamil uygulanmamalıdır.

**Toksik Etkilerin Tedavisi:** Ağır kardiyodepresan etkiye bağlı olarak kalp yetmezliği ve hipotansiyon gözlenen hastalarda, intravenöz olarak 1-2 g dozunda kalsiyum glukonat uygulanabilir. Atropin, kalsiyum glukonatın alternafidir, 1 mg atropin intravenöz uygulanarak, uzamış olan A- V iletimi kısaltır. Beta adrenerjik reseptör stimülanı ilaçlar da verilebilir.

### 2.5.2. Amlodipin

Kalsiyum kanal blokörlerinden 1,4- DHP türevi ilaçlar, angina pectoris ve hipertansiyon tedavisinde sıklıkla kullanılır. Bu ilaçlar etkilerini voltaja bağlı kalsiyum kanalları aracılığıyla gösterirler.

Amlodipin, en yaygın kullanılan kalsiyum antagonisti olup tüm dünyada hipertansiyon tedavisinde tercih edilir. Vasküler düz kas içine  $Ca^{2+}$  iyonlarının akışını önler.

Amlodipin, molekülünde amino metoksimetil grubu gibi iyonize olabilen bir grup içermesi nedeniyle; nikardipin hariç, iyonize olmayan nötral DHP türevlerinin çoğundan farklılık gösterir. İyonize (bazik) olması nedeniyle kalsiyum kanalları içindeki DHP reseptörü ile etkileşmesi de nötral türevlerinkinden farklıdır. Diğer DHP türevlerinin çoğundan farklı olarak nitro ( $NO_2$ ) grubu içermez; ışığa duyarlı değildir. Nötral DHP türevleri kalsiyum kanallarında sadece voltaja bağımlı blok yaptıkları halde, amlodipin hem voltaja ve hem de frekansa bağımlı blok yapar (Kayaalp, 2012) Diğer DHP'lerden farklı olarak kalsiyum kanallarının sadece DHP bağlanma yerlerine değil, verapamil ve diltiazem bağlanma yerlerine de bağlanır.

Üçüncü kuşak DHP türevi olan amlodipinin antihipertansif etkisi yanında, antioksidan, lipid peroksidasyonunda inhibiyon, NO üretiminin artırılması, düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunun azaltılması ve süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin korunması gibi özellikleri de vardır (Mason, 2002). Deneysel çalışmalarda iskemik kalpte NO üretimini, endotel hücrelerinde eNOS aktivitesini arttırdığı ve köpeklerde miyokardın oksijen tüketiminde azalma oluşturduğu gözlenmiştir (Zhang ve Hintze, 1998; Lenasi ve ark., 2003). Oksidatif stres NO'ü inaktive eder ve amlodipin oksidatif stresi bastırır (Mason ve ark., 1999).



Asıl etki yeri periferik damarlar olup, periferik vazodilatasyonla, sistemik vasküler rezistansı azaltıp koroner kanlanmayı artırarak antianginal etki oluşturur. Böylece koroner spazm esnasında miyokarda oksijen sağlanır (Burges ve Moisey, 1994). Farklı çalışmalarda diğer iskemi/reperfüzyon (I/R) organlarından olan beyin, kalp ve karaciğerde (Yao ve ark., 2000; Lukic ve Panin, 2007; Ahmed ve ark., 2009) amlodipinin koruyucu etkisi gösterilmiştir. Amlodipin, lasidipin ve nikardipin

hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta olup, bu ilaçların kan basıncını düşürmek suretiyle kardiyovasküler hastalıkları önlediği in vitro denemelerle de damarlar üzerindeki antioksidan etkileri gösterilmiştir (Civantos ve Aleixandre, 2004). Amlodipinin hayvanlarda (Kataoka ve ark., 2004) ve insanlarda (Pitt ve ark.,2000) antiaterosklerotik ve anti-inflamatuvar etkileri de gösterilmiştir. Bunlardan başka amlodipinin, overiyal I/R hasarına karşı protektif ve antiosteoprotik etkileri de bildirilmiştir (Halıcı ve ark., 2008). Amlodipinin güçlü antioksidan etkisi, vasküler iskemilere bağlı organ hasarlarının azalmasını sağlamaktadır (Mason, 2002). Deneysel hipertansiyon oluşturulmuş sıçanlarda gerçekleştirilen bir inme modelinde amlodipin tedavisinin beyin hasarını azalttığı ve bu etkileri SOD'u arttırarak oluşturduğu gösterilmiştir (Umemoto ve ark., 2004). Bunlara ilaveten amlodipin ile tedavi edilen sıçanlarda, kronik arter tıkanıklığına bağlı olarak gözlenen arter oklüzyonunda azalma olduğu bildirilmiştir (Kyselovic ve ark, 2001).

**Farmakodinamik Özellikleri:** Amlodipin, miyokard ve düz kas hücrelerinde  $Ca^{2+}$  iyonlarının transmembran akımını inhibe eder. Antianginal etkisinin temel mekanizmaları şunlardır:

- Amlodipin, total periferik direnci azaltır. Birlikte refleks taşikardi gelişmemesi nedeniyle, kardiyak yükün azalması, miyokardın oksijen ihtiyacının ve tüketiminin azalması ile sonuçlanır. Amlodipinin kardiyak iskemideki etkinliği bu şekilde açıklanabilir (Tulenko ve ark, 1999).

- Amlodipin, yavaş kalsiyum kanallarından  $Ca^{2+}$  girişini inhibe ederek koroner dilatasyonu sağlar. Esas etki yeri periferik damarlardır, periferik vazodilatasyonla, sistemik vasküler rezistansı azaltıp koroner kanlanmayı artırır, antianginal etki oluşturur (Carter ve ark, 1988).

**Farmakokinetik Özellikleri:** Amlodipin oral uygulandığında iyi absorbe olur. Uzun plazma yarı ömürlü bir DHP türevidir. Etki süresinin uzun oluşu hem eliminasyon yarılanma ömrünün uzun oluşuna (ortalama 34 saat) ve hem de kalsiyum kanallarındaki reseptörlere bağlanmasının ve onlardan ayrılmasının yavaş olmasına bağlıdır. Yarılanma ömrünün uzunluğu, ayrıca sanal dağılım hacminin büyüklüğüne de bağlıdır. Oral biyoyararlanımı diğer DHP türevlerine göre yüksektir (ortalama % 64). İlk geçiş eliminasyon olayına diğer DHP türevlerine göre daha az maruz kalır. Diğer DHP türevleri gibi plazma proteinlerine, % 98 gibi yüksek bir oranda bağlanır. Eliminasyon yarılanma süresinin uzunluğu nedeniyle yinelenerek verildiğinde etkindir; platokonsantrasyonuna erişmesi bir haftalık uygulamadan sonra

olur. Bu nedenle ve reseptörlerine bağlanmasının yavaş olması nedeniyle terapötik etkinliği yavaş gelişir. Plazma konsantrasyonu 6-12 saat sonra maksimuma ulaşır. Eliminasyon yarılanma ömrü 35-50 saate kadar uzar. Uygulamaya başladıktan 7-8 gün sonra plazmada sabit konsantrasyona ulaşır. Büyük ölçüde karaciğerde metabolize olur. Alınan dozun % 10'undan az kısmı ile metabolitler, değişmeden idrar ile vücuttan atılır (Packer ve ark, 1996).

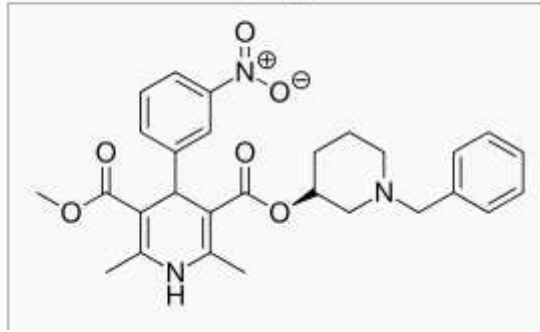
**Doz:** Hipertansiyon ve angina tedavisinde mutad başlangıç dozu günde bir defa 5 mg olup hastanın cevabına göre doz, maksimum 10 mg'a kadar çıkarılabilir.

**Yan Etki:** Uzun süre kullananlarda diş etlerinde hiperplazi yapar. Baş ağrısı, yüzde kızarma, baş dönmesi, sersemlik, ayak bileği ödemi ve yorgunluk gibi DHP türevlerinin ortak yan etkilerini oluşturabilir. Nifedipin gibi fakat daha hafif refleks taşikardi yapabilir (Kayaalp, 2012).

### 2.5.3. Benidipin

Uzun etki süreli bir kalsiyum antagonistidir. Benidipin membranda voltaja-bağlı kalsiyum kanallarının DHP bağlanma bölgelerine bağlanılarak hücre içerisine  $Ca^{2+}$  girişini inhibe eder, koroner ve periferik damarlarda genişlemeye yapar.

**Benidipine**



Benidipin ve bir diğer 1,4-DHP türevi efonidipin'in, L-tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek oluşan antihipertansif etkilerinin yanında, T-tipi kalsiyum kanal blokasyonu yaparak, anjiyotensin II (A-II) ve potasyum ( $K^+$ )'la indüklenen aldosteron salgılamında inhibisyon yaptıkları gösterilmiştir. Bu özellikleri, A-II reseptör blokörleri veya anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleriyle birlikte hipertansiyonun kombine tedavilerinde bu ilaçları etkin kılmaktadır (Matsubara ve ark., 2008).



Her üç kalsiyum kanalını da (T-, L- ve N-tipi) bloke ederek kardiyoprotektif ve renalprotektif etki gösterir. Benidipin, aldosteron hormonunun üretimini engelleyerek, tuza duyarlı hipertansiyon olgularında üstünlük kazandıran diüretik etki de oluşturur. Vasküler selektivitesi yüksektir; vasospazmik angina prognozu üzerinde diğer kalsiyum kanal blokörlerine kıyasla daha fazla etkilidir. Güvenli ve güçlü bir antihipertansif etki gösterir.

**Farmakokinetik Özellikleri:** Benidipin, oral yoldan süratle absorbe olur, 0.5-1.1 saat içinde doruk plazma konsantrasyonuna ulaşır. Plazma eliminasyon yarılanma ömrü, günde tek doz uygulandığında 1-2.4 saattir. İlaç, plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır, karaciğerde metabolize olup, idrar ve feçesle itrah edilir.

Hipertansiyonda, renal parankimal hipertansiyonda ve anjina pektoriste kullanılır.

**Doz:** Benidipin sadece oral yoldan uygulanır. Hipertansiyonda ve renal parankimal hipertansiyonda; erişkinlere genellikle kahvaltıdan sonra günde bir defa 2-4 mg benidipin verilir. 2-4 mg'lık dozlar yeterli gelmez ise dozaj hastanın yaşı ve semptomlarına göre günde 8 mg'a kadar arttırılabilir. Ağır hipertansiyon vakalarında, kahvaltıdan sonra günde bir kez 4-8 mg benidipin verilir. Anjina pektoriste, erişkinlere genellikle kahvaltı ve akşam yemeğinden sonra günde iki kez 4 mg benidipin verilir. Dozaj hastanın yaşı ve semptomların şiddetine göre ayarlanabilir.

**Yan Etki:** Çarpıntı, yüzde kızarıklık, ateş basması, kızarıklık, kan basıncında düşme yapabilir.

Gebelik Kategorisi C' dir.

**Kontrendikasyonları:** Karaciğer yetmezliği olan hastalarda dikkatli kullanılmalıdır. Kardiyojenik şok durumunda, benidipin altta yatan nedenlerin şiddetlenmesine neden olabileceğinden kontrendikedir. Gebelerde kullanımı güvenli değildir.

**Besinlerle Etkileşimi:** Greyfurt suyu benidipinin karaciğerdeki metabolizmasını azaltır. Sonuçta benidipin aşırı tansiyon düşüklüğüne neden olabilir.

**İlaç Etkileşimleri:** Benidipin diğer antihipertansif ilaçlar ile birlikte alındığında, tansiyon düşürücü etkinin artması sonucu, kan basıncında aşırı düşme oluşabilir.

Kalp glikozidi bir ilaç olan digoksinin etkisi, benidipin gibi kalsiyum kanal blokörü ilaçlar tarafından azaltılabilir ve digoksinin kan düzeyi yükselebilir ve zehirlenmeler ortaya çıkabilir.

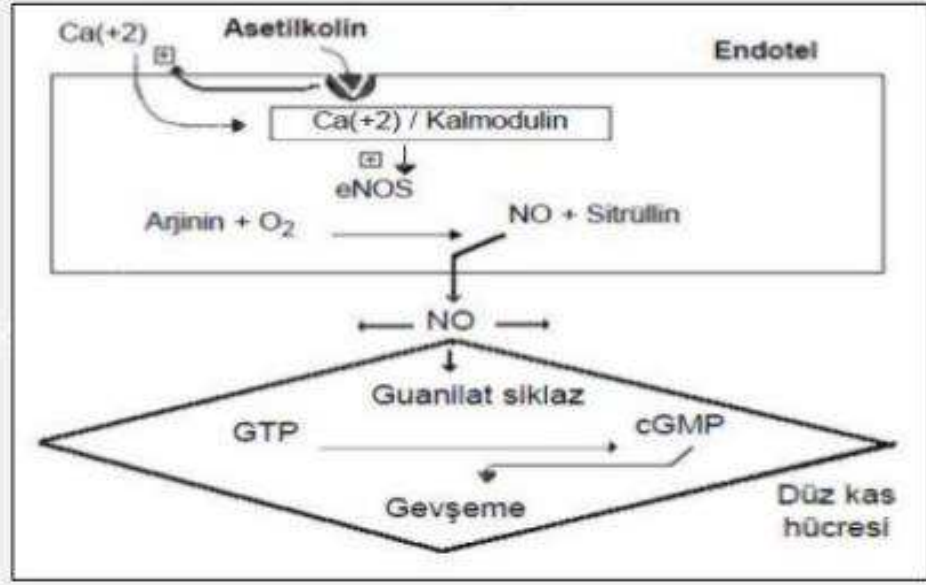
Simetidin, mide asiditesini azaltarak bazı ilaçların mideden emiliminde artışa neden olabilir. Buyüzden simetidin-benidipin birlikte kullanıldığında kan basıncında da aşırı düşüşler olabilir.

Rifampisin enzim indüksiyonu yaparak, ilacın plazma konsantrasyonlarında düşüşe neden olur. Birlikte kullanılmaları durumunda, benidipinin tansiyon düşürücü etkisi azalabilir.

## 2.6. Nitrik Oksit

Daha önceleri atmosferde kirletici bir gaz olarak bilinen, küçük molekül ağırlıklı ve zehirli bir gaz olan NO'nun, memeli hücrelerinde sentez edildiğinin gösterilmesiyle biyolojik araştırmalarda önemli bir süreç başlamıştır. 1916'da, Mitchell ve arkadaşları tarafından NO'nun memeli hücrelerinden salındığı keşfedildi. 1928'de, Tannenbaum ve arkadaşları tarafından da memelilerin NO sentezledikleri doğrulandı.

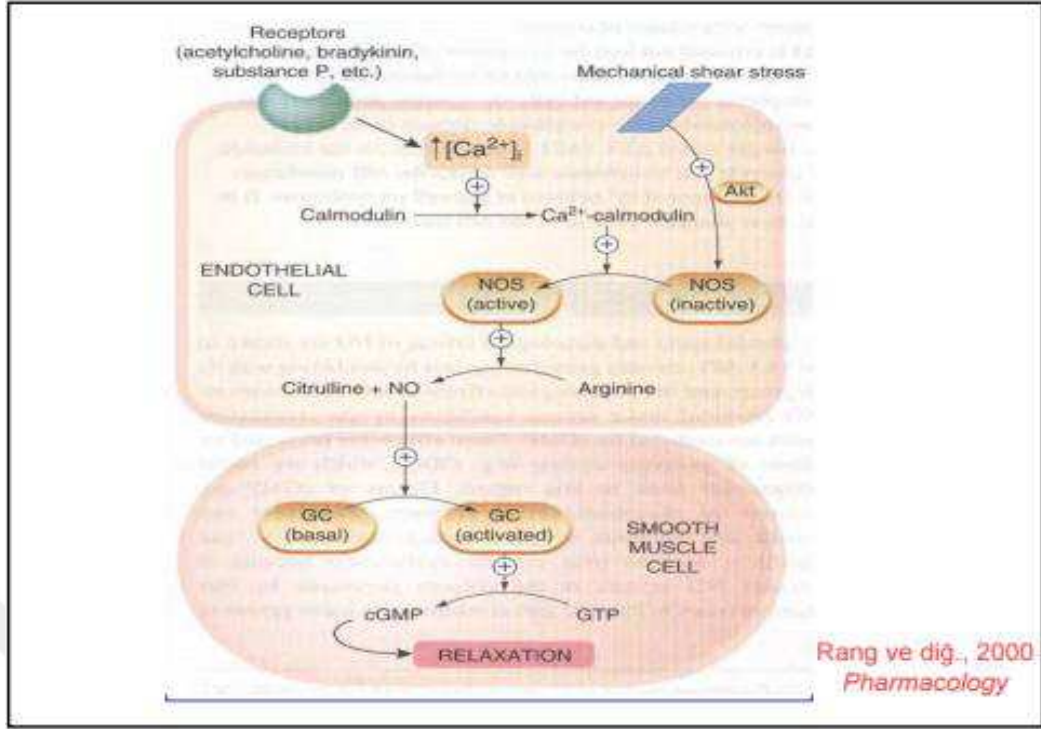
Furchgott ve Zawadski (1980), in vitro ortamda asetilkolin (ACh)'nin damar gevşemesi üzerine etkilerini inceledikleri araştırmada; damar gevşetici özelliği ile bilinen ACh'nin, endotel tabakaları uzaklaştırılan damarlarda daralmaya neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda, damar gevşemesine neden olan ACh'nin endotel hücrelerinden "Endotel-Kaynaklı Gevşetici Faktör" (EDRF) adını verdikleri bir endojen maddenin salınımına neden olduğunu ve bu aracının damar düz kas hücrelerinde guanilil siklaz enzimini aktive ederek, cGMP miktarında artış oluşturduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2.10).



**Şekil 2.10:** Endotel tabakasında NO sentezi ve düz kas hücresine etkisi.  
Kaynak: Cauwels A. Nitrik aside in shock. *Kidney Int* 2077; 72:557-565

Devam eden araştırmalar ile EDRF'nin esasında NO olduğu belirlenmiştir (Ignarro ve Kadowitz 1985; Ignarro ve ark., 1987; Ignarro 1989; Palmer ve Moncada 1989). 1991'den sonra NO ile ilgili araştırmalarda artış olmuş, 1992 yılında da NO yılın molekülü seçilmiştir. Dr. Robert F. Furchgott, Dr. Louis J. Ignarro ve Dr. Ferid Murad, NO'nun dolaşım sistemindeki rolü üzerine yaptıkları araştırmalardan dolayı 1998 yılında Nobel Tıp Ödülü'ne layık görüldüler (SoRelle, 1998).

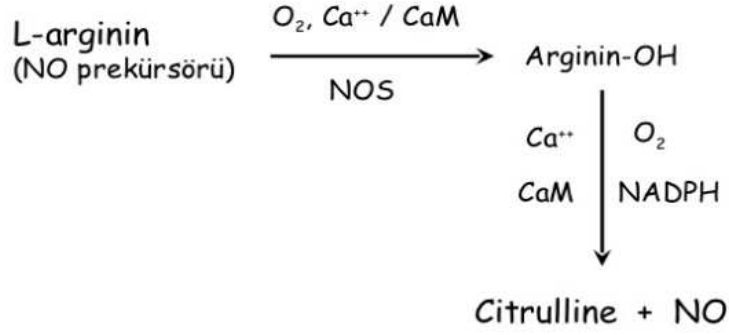
Damar düz kasını gevşeten bu endojen madde ACh'den başka adenin nükleotidler, trombin, P maddesi, kalsiyum iyonoforu A23187 (kalsimisin), bradikinin, A-II, vazopresin, histamin, noradrenalin, 5-HT, araşidonik asit, vazoaktif intestinal polipeptid (VIP), ergometrin, mellitin, tiomerasol, elektriksel stimülasyon, damar kan akımının hızlanması, ultraviyole ışığı ve polifenoller gibi kimyasal ve fizyolojik faktörler tarafından da salıverilmektedir (Moncada ve ark., 1991; Cooper ve ark., 1996) (Şekil 2.11).



Şekil 2.11: Nitrik oksit salıverilmesini etkileyen kimyasal ve fizyolojik etkenler

**Nitrik Oksit'in Fizikokimyasal Özelliği:** Nitrik Oksit, eşleşmemiş tek sayıda elektron içeren, renksiz, serbest bir radikaldir. Molekül ağırlığı 30, kaynama noktası  $-151^{\circ}\text{C}$ ' dir. Bilinen en düşük molekül ağırlıklı, memeli hücresi ürünüdür. Hem yağda hem suda çözünebilme yeteneği sayesinde biyolojik membranlardan geçerek hedef moleküllere kovalent bağla bağlanır. Bu sayede çözünür guanilil siklaza bağlanarak onun aktivitesini 400 kat arttırabilir. Yarılanma ömrü 3-5 sn kadar kısadır. Basit kimyasal yapısına karşın oldukça farklı ve zıt yönde etkileri bulunmaktadır (Lancaster 2000).

**Nitrik Oksit Biyosentezi:** Nitrik oksit, L-arjinin aminoasidinden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile oluşmaktadır. Reaksiyonun sonunda NO ile birlikte L-Sitrulin oluşmaktadır. NO'nin sentezlendiği reaksiyonda ko-faktör olarak flavin mono nükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), kalmmodulin (CaM), tetrahidrobiopterin (BH4), ko-substrat olarak ise nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) ve oksijen ( $\text{O}_2$ ) kullanılmaktadır. Reaksiyon esnasında oluşan sitrulin, üreden gelen bir azot atomunun eklenmesiyle L-arjinin'e geri dönüşmektedir. Bu şekilde üretilen NO, hızla hemoglobin, metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nötralize olur ve 10 sn içinde nitrit ve nitratlara dönüştürülür (Şekil 2.6.3) (Mizutani ve Layon, 1996; Sakurada ve ark., 2001).



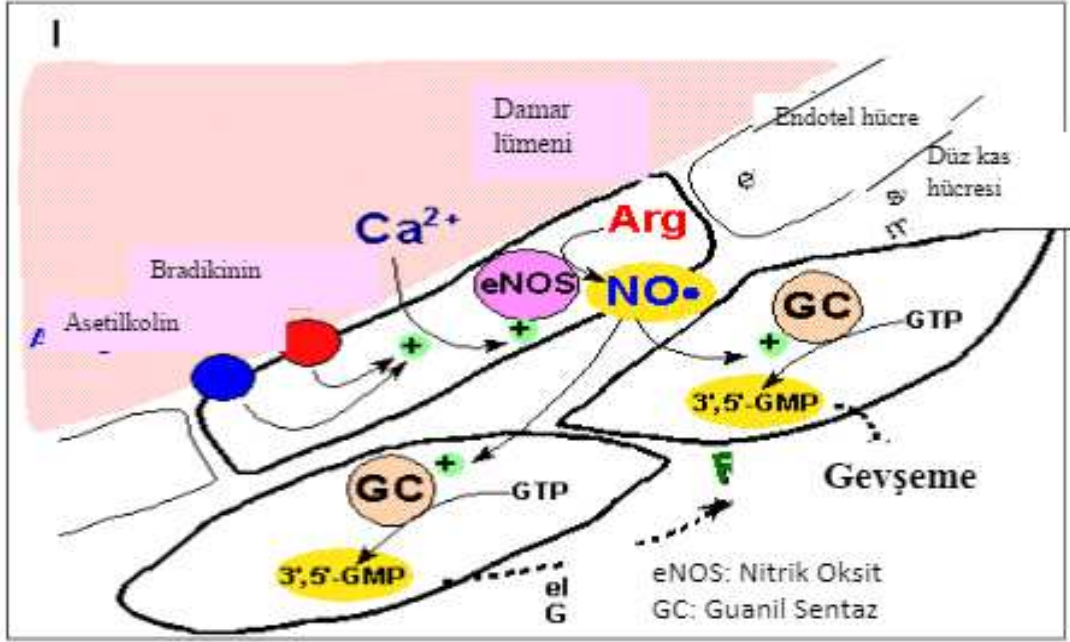
**Şekil 2.12:** Nitrik Oksit Biyosentezi

Nitrik oksit, sadece damar endotel hücrelerinde değil, aynı zamanda serebellum ve ön beyindeki nöronlarda, nötrofil lökositlerde, böbrek tubulus epitel hücrelerinde, adrenal medulla hücrelerinde, mast hücrelerinde ve bazı otonom sinirlerin uçlarında da sentez edilip salıverilir. Sinaptik veziküllerde bulunmaz, ekzositozla terminallerden salınmaz ve hiçbir rezervuarda toplanmaz, ancak bir nörondan diğer bir nörona difüze olabilir. Stimülasyonla salıverilir ve nöronal hücrelerde enzimleri etkiler.

Nitrik oksit, sentez edildikçe salıverilen bir moleküldür ve depolanmaya uygun değildir. Fazlası dokular üzerinde toksiktir, hızla etkisiz hale dönüştürülür. Klasik bir reseptör bölgesi bulunmayıp, guanilil siklaza bağlanarak, hücre için ikincil haberci molekül olarak çalışan cGMP'ın birikimine neden olur. Siklik guanozin monofosfat, miyozin hafif zincir kinazın defosforilasyonunu sağlayarak düz kas gevşemesi yapar. Potasyum kanallarının açılması ile oluşan hiperpolarizasyon, NO'in bazı etkilerine aracılıdır. Nitrik oksit, L-tipi kalsiyum kanallarından  $\text{Ca}^{2+}$  girişini ve intraselüler depolardan  $\text{Ca}^{2+}$  salıverilmesini önler ayrıca intraselüler depolara SERCA aracılığı ile  $\text{Ca}^{2+}$  depolanmasını artırır, sonuçta, hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  düzeyini düşürür. Bu etkiler cGMP üzerinden oluşur (Mizutani ve Layon 1996).

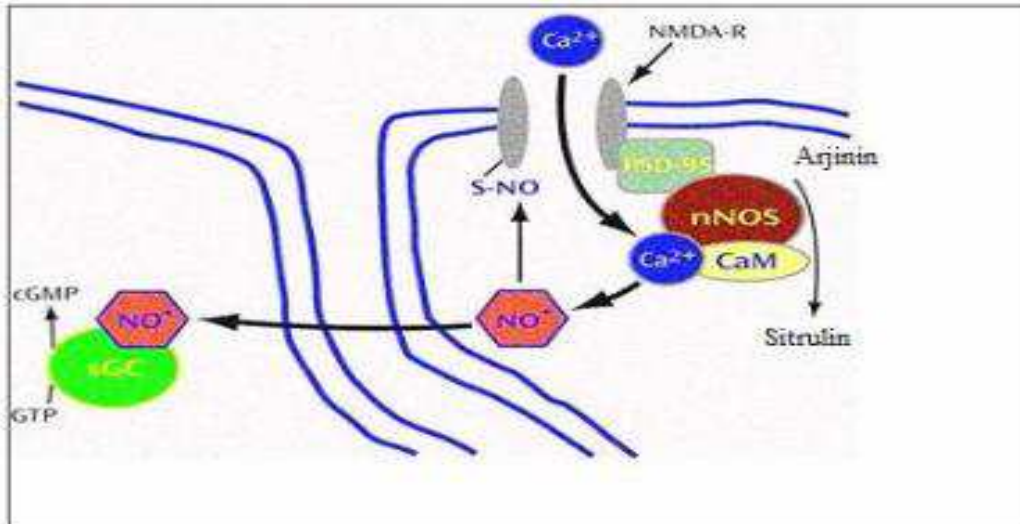
**Nitrik Oksit Sentaz İzoenzimleri:** Nitrik oksit sentazları sentezleyen üç gen mevcuttur. Bu genlerden her biri bir NOS izoformu oluşturur; bunlar tip 1, tip 2 ve tip 3 olarak tanımlanır. Bu enzimler yapısal (konstitütif) (cNOS) ya da indüklenebilir (iNOS) formda olabilir.

Nöral dokuda lokalize olmuş kromozom 12 tarafından kodlanan nöronal NOS (nNOS; tip 1) ve vasküler endotel hücrelerde bulunan ve kromozom 16 tarafından kodlanan endotelial NOS (eNOS; tip 3) aktif hale gelmek için  $\text{Ca}^{2+}$ 'a gereksinim duyar, bu nedenle yapısal NOS enzimleri olarak da adlandırılırlar. Endotelial NOS, damar endotel hücrelerinde bulunur, 135 kDa ağırlığındadır ve  $\text{Ca}^{2+}$  - kalmodüline bağımlıdır (Şekil 2.13).



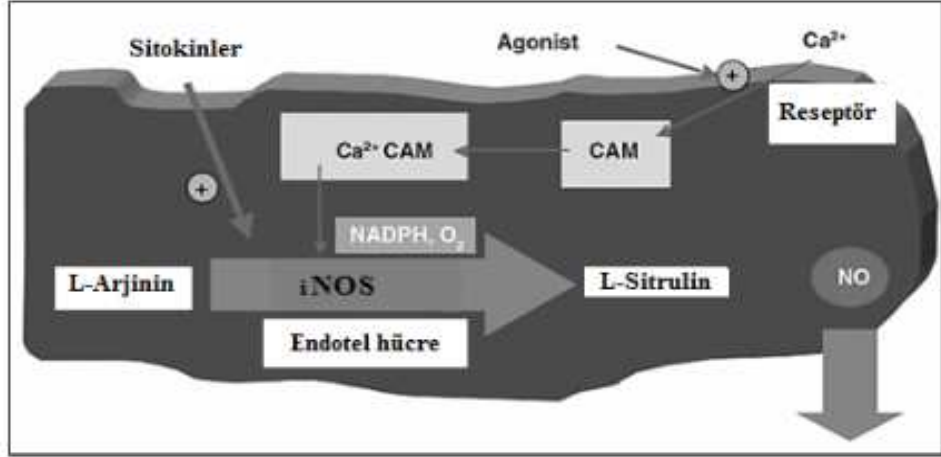
**Şekil 2.13:** Vasküler Düz Kas Hücrelerinin eNOS Aracılıklı Gevşemesi  
Kaynak: [www.kumc.edu/research/medicine/biochemistry/bioc800/sig02-11.htm](http://www.kumc.edu/research/medicine/biochemistry/bioc800/sig02-11.htm)

Nöronal NOS, nöronlarda ve non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) sinirlerde bulunur ve 168 kDa ağırlığında olup,  $Ca^{2+}$ -kalmodülin sisteminin etkisindedir. Beyinde önemli bir nörotransmitter olan glutamat, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerine bağlanarak postsinaptik hücreye  $Ca^{2+}$  girişini başlatır, hücre içerisine giren  $Ca^{2+}$  da kalmodüline bağlanıp NOS'u aktif hale getirir (Şekil 2.14).



**Şekil 2.14:** Santral ve periferik sinir sisteminde nNOS aktiftir. Oluşan NO nörotransmisyon ve hafıza oluşumunda görevlidir.  
Kaynak: Snyder ve Ferris 2000.

Kromozom 7 tarafından kodlanan iNOS; tip 2 ekspresyonu makrofajlarda endotoksin ya da inflamatuvar sitokinlerle karşılaşma sonucu artar. 130 kDa ağırlığındadır. Kalsiyum ve kalmodüline bağımlı değildir. Bu izoforma immunolojik NOS adı da verilir. Uyarıldığı zaman diğer iki enzime kıyasla fazla miktarda ve uzun süreli salınma neden olur (Şekil 2.15).



Şekil 2.15: İndüklenebilir NOS (iNOS) aktivitesi

Kaynak: Förstermann ve ark., 1995.

Nöronal NOS ve eNOS yapısal NOS (cNOS) olarak da isimlendirilir. Yapısal NOS aracılığıyla oluşturulan NO, hava yolu fonksiyonunun fizyolojik regülasyonunda; iNOS aracılığıyla oluşturulan NO ise, hava yollarının inflamatuvar hastalıklarında rol almaktadır (Rang ve ark., 1995) (Tablo 2.4).

Tablo 2.4: Nitrik Oksit Sentetaz İzofomları

NİTRİK OKSİD SENTETAZ	YERLEŞİMİ	ÖZELLİĞİ
NÖRONAL NİTRİK OKSİD SENTETAZ (NOS1-nNOS)	Nöronlar, kardiomyositler, gastrointestinal düz kas hücreleri, keratinositler, makula denses, nötrofiller, iskelet kas hücreleri, tubular epitel, vasküler düz kas hücresi, hepatositler	Ca <sub>2</sub> <sup>+</sup> bağımlıdır*
ENDOTELYAN NİTRİK OKSİD SENTETAZ (NOS3-eNOS)	Endotel hücreleri, bronşial epitel hücresi, eozinofiller, epitelyal hücreler ve insan nazal mukozası, fibroblastlar, gastrointestinal mukozası, hepatositler, lenfositler, nötrofiller, iskelet kası hücreleri, insan plasenta hücresinin sinsitiotrofoblastları, Tip II alveoler hücreler	Ca <sub>2</sub> <sup>+</sup> bağımlıdır*
İNDÜKLENEBİLİR NİTRİK OKSİD SENTETAZ (NOS2-iNOS)	İndüklenebilir ortaya çıkış; Makrofajların indüklenebilir ekspresyonları, havayolu düz kas hücreleri, alveoler makrofajlar, kondrositler, endotel hücreleri, Kupffer hücreleri, akciğer fibroblastları, mast hücreleri, nötrofiller, iskelet kası, tip II epitelyal hücreler, vasküler düz kas hücreleri,  Yapısal ortaya çıkış; Havayolu epiteli, kolon mukozası, kortikal tübüler nekroz, nöronlar, hepatositler, keratinositler	Ca <sub>2</sub> <sup>+</sup> bağımlı DEĞİLDİR

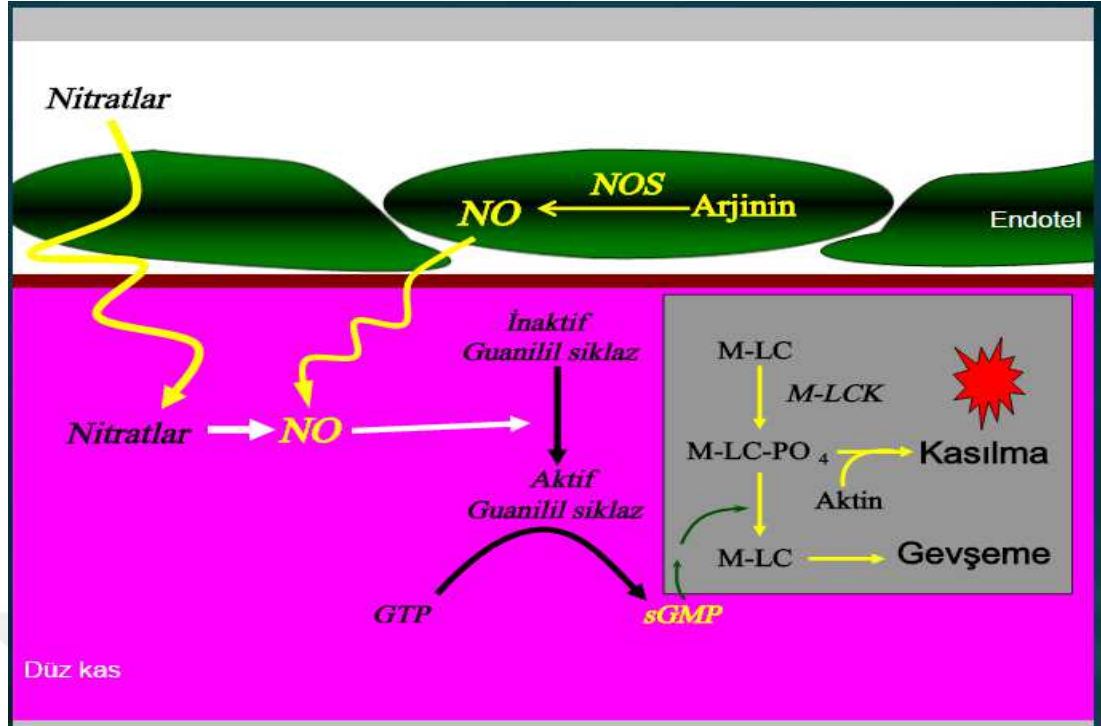
**Nitrik Oksid Sentaz İnhibitörleri:** Nitrik oksid sentaz inhibitörleri iki grupta sınıflandırılabilir:

**i. L-Arjinin Analogları:** Monometil-L-arjinin (L-NMMA), nitro-Larjinin (L-NA), nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME), N-aminoetil-l-ornitin (L-NIO), N-amino-L-arjinin (L-NAA) ve N-N-dimetilarjinin (ADMA), NOS enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Bunlardan ADMA plazmada endojen olarak bulunur. Renal veya bazı immün yetmezlik durumlarında ADMA düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. L-NMMA ve L-NAME oral olarak aktiftir. Diğer iki L-arjinin analogu ADMA ve  $\alpha$ -amino- $\delta$ - izotiyoureidovalenik asid, NOS enziminin aktivitesini inhibe etmezler.

**ii. L-Arjinin Analogu olmayanlar:** 7-nitroindazol (7-NI),N-(1-aminoetil)-L-lizin, merkaptoetilguanidin, L-kanavanin, aminoguanidin, deksametazon, hidrokinon, glukokortikoidler, aminoguanidin, TGF- $\beta$ , IL-4 ve IL-10 de NOS enzimini inhibe ederek etki gösterirler. Nitrik oksit, NOS inhibitörleri dışında hemoglobin, metilen mavisi, süperoksid anyonu , kalmodulin / hem / flavoprotein bağlayıcılar tarafından da inhibe edilir (Rang ve ark., 1995).

**Nitrik Oksit Vericileri:** Nitroprussidler ve organik vazodilatörler; nitrovazodilatörler uzun süredir özellikle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Gliseril trinitrit (GTN), sodyum nitroprussid (SNP) ve sidnonimin (SIN-1) gibi vazodilatör ajanlar ortama NO vererek damar düz kaslarının gevşemesi (Şekil 2.16) ve platelet agregasyonunun inhibisyonu gibi bir seri olaya neden olurlar (Rang ve ark., 1995).



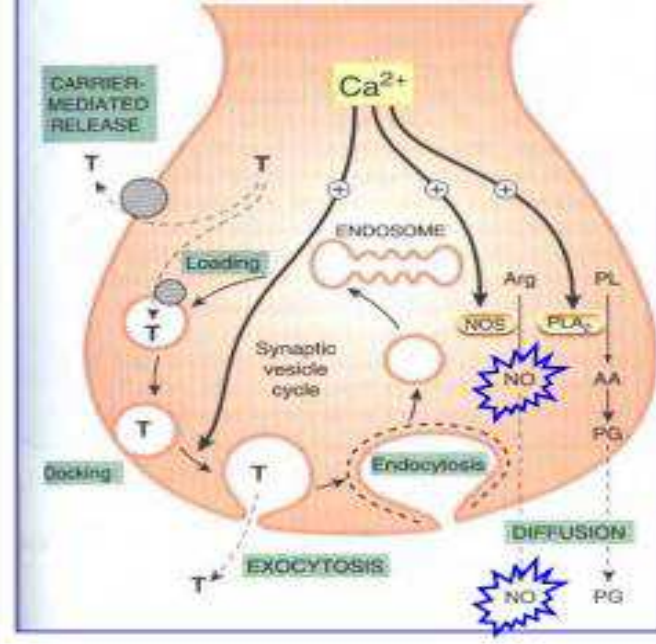


Şekil 2.16: Nitratlar ile Düz Kasta Kasılma ve Gevşeme Mekanizması

**Nitrik Oksit'in Fizyolojik ve Fizyopatolojik Etkileri:** Biyolojik yarı ömrü saniyeler kadar olan NO'nun insan fizyolojisi ve fizyopatolojisinde önemi çok büyüktür. Nitrik oksidin kendine özgü reseptörü olmamakla birlikte, endojen reseptörü guanilat siklazın hem içeren bölgesidir.

Nitrik oksitin guanilat siklaza bağlanmasıyla hemin demiri ayrılır, enzim yapısında bir değişiklikte birlikte katalitik yüz etkinleştirilmektedir (Ignorro 1992). Siklik guanozin monofosfat miktarında artış, hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeyinde azalmaya neden olan farklı mekanizmalarla, düz kaslarda gevşeme ve sinirlerde uyarının iletimi gibi bazı fizyolojik fonksiyonları gerçekleştirir.

Nitrik oksit, kardiyovasküler, endokrin, santral ve periferik sinir sistemi gibi birçok sistemde önemli roller oynamaktadır. Sinir sisteminde major izoform olan nNOS tarafından sentez edilerek santral ve periferik sinir sisteminde de aracı madde olarak görev yapan NO (Şekil 2.17), nörokimyasal sistemin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Nitrik oksit, santral sinir sisteminde hafıza ve öğrenme, sinirsel aktiviteler, serebral kan akımının düzenlenmesi ve ağrının hafifletilmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyonda aracı madde olarak rol oynamaktadır. Bunun dışında, koku alma ve görme işlevinde de rolü olduğu belirtilmiştir.

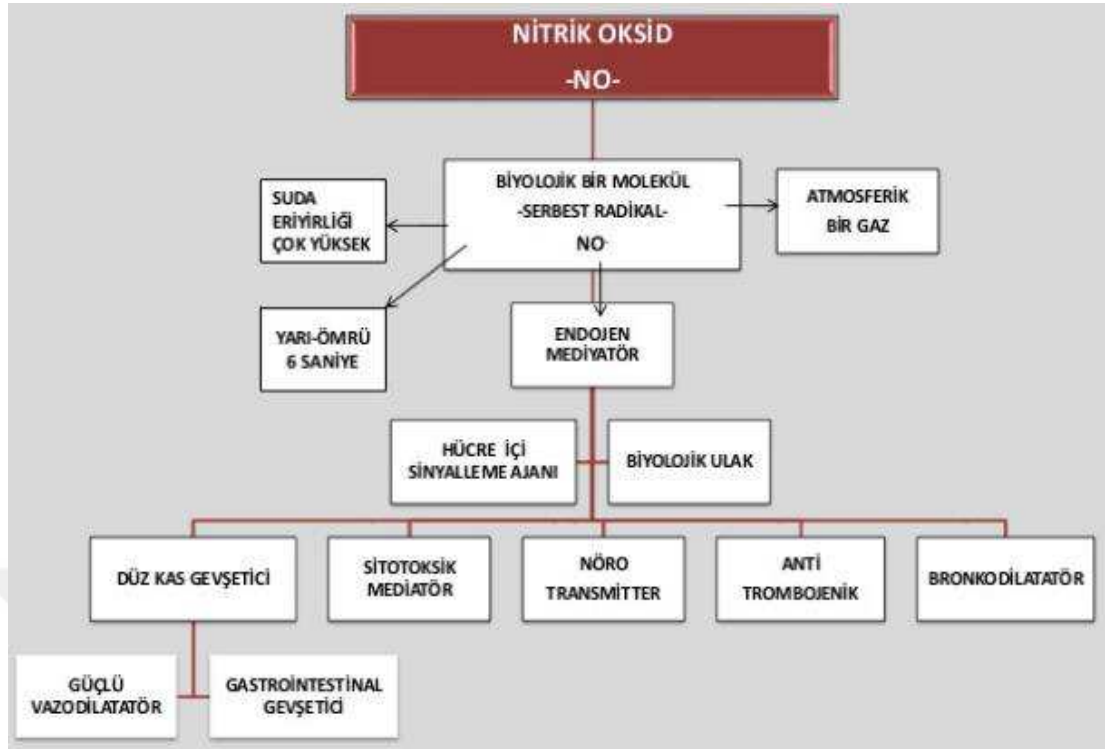


**Şekil 2.17:** Nitrik oksit, nitrejik nöronlardan nNOS etkisiyle sentezlenip nörotransmitter olarak salıverilir.

Kaynak: Rang ve diğ., 2000

Endokrin sistem üzerinde yapılan birçok çalışma NO'nun hipotalamohipofizer hormon salınımını düzenlediğini göstermiştir. Hayvanların ve insanların omurilik ve beyin bölgelerinde NOS enziminin bulunmasıyla NO'nun nörotransmisyonadaki önemi ortaya konmuştur. Nitrik oksit, santral ve periferik sinir sisteminde nöronal bir haberci olarak görev yapmakta ve sinaptik plastisite ile nörotoksisite gibi çeşitli biyolojik olaylara karışmaktadır (Kawabata ve ark., 1994) (Tablo 2.5).

**Tablo 2.5:** Nitrik Oksitin Etkileri



- **Damarlar Üzerine Etkisi:** Nitrik oksit, guanilat siklaz enzimini aktive ederek cGMP de artış ve hücre içi  $Ca^{2+}$  düzeyinde azalmaya neden olan farklı mekanizmalarla düz kas hücrelerinde gevşeme oluşturur. Bu azalma, aktinomyozin ATPaz etkinliğinin düzenlenmesinde görevli miyozin hafif zincir kinazını (MLCK) fosforile eden cGMP bağımlı protein kinaz tarafından gerçekleştirilir (Hathaway ve ark., 1985).

Damarlarda cGMP aracılı gevşemeyi açıklayan çeşitli mekanizmalar ileri sürülmüştür (Moncada ve ark., 1991). Bunlar;

1- cGMP ve cGMP bağımlı protein kinazın agonistler tarafından uyarılan PLC oluşumunu inhibe etmesi ve  $IP_3$  üretiminin engellenmesi,

2- Kalsiyumun hücre dışına atılımının uyarılması (Muhtemelen  $Ca^{2+}$ -ATPaz düzenleyici proteinin, cGMP bağımlı protein kinazla fosforilasyonu ve sarkoplazmik retikulum  $Ca^{2+}$ -ATPaz'ının aktivasyonu),

3- Miyozinin etkin olmayan formunu stabilize eden miyozin hafif zincirinin defosforilasyonunun arttırılması (Çünkü MLCK'nın fosforilasyonu  $Ca^{2+}$ 'un kalmoduline ilgisini azaltır),

4- Reseptörle kontrol edilen kalsiyum kanallarının engellenmesi,

5- Membran  $Ca^{2+}$ -ATPaz'ının uyarılması,

6- Potasyum kanalları aracılığı ile  $K^+$  geçirgenliğinde artış. Potasyum kanalları damar düz kas hücrelerinin membran potansiyelini düzenleyerek damar

tonusunun ayarlanmasında önemli rol oynar. Bu kanalların açılması membranı hiperpolarize eder, voltaja bağımlı kalsiyum kanalları kapanır ve damar genişler.

- **Kalp Üzerine Etkisi:** Nitrik oksit kalbin kasılma gücünü azaltır ve sol ventriküler diastolik hacmi artırır. Kalpte kasılmayı baskılamak üzere her üç NOS tarafından da NO üretilmektedir. Kolinerjik sinir uçları ve NANK sinirlerde nöronal NOS'un immünoreaktivitesi gösterilmiş olmakla birlikte myositler, yüksek miktarda eNOS eksprese etmektedir. Öte yandan myositler, inflamatuvar sitokinlerle stimüle edildiğinde, iNOS enzimini de eksprese ederler. Nöronal NOS tarafından üretilen NO, sempatik sinir uyarımı esnasında salıverilen noradrenalin yoğunluğunu azaltır. iNOS tarafından fazlaca üretilen NO, kalbin kasılma gücünü ve frekansını ve ayrıca  $\beta$ -reseptör agonistlerine verilen yanıtı azaltır (Ritter ve ark., 1991).

Nitrik oksidin kalpte oluşturduğu etkiler, cGMP'ye bağımlı ya da bağımsız olarak oluşur. Nitrik oksidin hem pozitif hem de negatif inotropik etkisi olmakla birlikte NO, kalp kasılmasını inhibe etme yönünde hareket eder. Bununla birlikte, çeşitli agonistlerle oluşturulan pozitif inotropik etki eNOS aktivasyonu veya NO vericileri ile azaltılır. Nitrik oksit, myositlerin, mitokondriyel solunumunda inhibisyonla da kalbin oksijen tüketimini azaltır (Karakaya ve ark., 2000).

- **Trombositler Üzerine Etkisi:** Trombosit hücreleri yaklaşık 2 mm'lik kan hücreleri olup, bu hücreler eNOS mRNA'sı içerir ancak nNOS'u eksprese etmezler. İndüklenebilir NOS mRNA'sının varlığı ise tartışmalıdır (Türköz ve ark., 2001).

Endotel hücrelerin başlıca fonksiyonu damar koruyucu ve pıhtılaşmayı engelleyici moleküllerin üretiminin sağlanmasıdır. Nitrik oksit, trombosit agregasyonunu baskılar. Trombus oluşumunun kontrolü ve kan akışkanlığının sağlanmasında önemli rol oynar; kümeleşmiş trombositlerin dağılmalarına neden olur, trombositlerin, nötrofillerin ve monositlerin adhezyonlarını inhibe eder ve kemotaksislerini düzenler. Damar lümenine doğru salınan NO, difüzyonla trombositlere girerek guanil siklazı aktive eder ve  $Ca^{2+}$  yoğunluğunu azaltarak trombositlerin yapışmasını ve kümeleşmesini engeller (Bülbül ve Soylu, 2008).

- **Damar Düz Kas Hücre Çoğalmasını Önleyici Etki:** Fizyolojik koşullarda, damar boşluğuna salıverilen, damar düz kasında çoğalmayı engelleyici maddeler tarafından damar düz kasının katman kalınlığı sabit kalır. Nitrik oksit, düz kas hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü önleyen güçlü inhibitörlerdendir. Nitrik oksit gibi hücre çoğalmasını önleyen maddelerin noksanlığında, çoğalmayı baskılayıcı etki ortadan kalkar ve damar düz kası hücreleri miktarında artış gözlenir ki bu durum, damar boşluğunda daralma ile birlikte şekillenen kalp-damar şikayetlerinin temelini oluşturmaktadır (Bülbül ve Soylu, 2008).

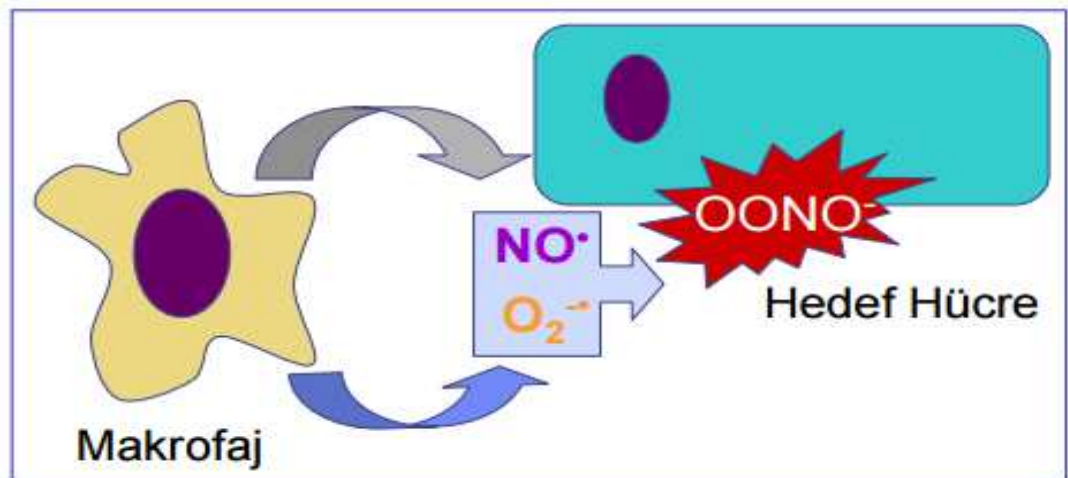
- **Solunum Sistemi Üzerine Etkisi:** Nitrik oksid hava yollarında da sentezlenmektedir (Özkan ve Yüksekol 2003). Nitrik oksidin akciğerlerdeki hücresel kaynakları, epitel hücreleri, pulmoner arter ve venlerin endotel hücreleri, inhibitör NANK nöronlar, düz kas hücreleri, mast hücreleri, mezotel hücreleri, fibroblastlar, nötrofiller, lenfositler ve makrofajlardır (Barnes ve Belvisi, 1993). Solunum yollarında her üç NOS izoformu da bulunur.

Nitrik oksit sentetazın lokalizasyonuna bakıldığında; eNOS pulmoner damar endotel hücrelerinde, bronşiyal epitel hücrelerinde; nNOS solunum yolları sinirlerinde ve iNOS ise tip 2 alveol epitel hücreleri, fibroblastlar, solunum yolları epitel hücreleri, mast hücreleri ve nötrofillerde yoğun olarak bulunduğu bildirilmiştir (Shaul ve ark., 1994).

Nitrik oksit aracılı solunum yolları gevşemesi, kısmen guanilat siklaz ve protein kinaz (PKG) aracılı potasyum kanallarının aktivasyonu ile olmaktadır. Ayrıca, cGMP'ye bağımlı mekanizmalar aracılığı ile solunum yolları düz kas hücrelerinin SR'dan  $Ca^{2+}$  salıverilmesinin inhibisyonunun da bu gevşemeye katkısı gösterilmiştir (Gümüşel 2005). Nitrik oksidin ayrıca bronşlarda önemi bulunan NANK sistemde nörotransmitter olarak davrandığı da bilinmektedir. (Sorelle 1998).

- **Sitotoksik Etki:** Nitrik oksit, akut ve kronik inflamasyonda pro-inflamatuar veya anti-inflamatuar etkileriyle önemlidir. Nitrik oksit oldukça reaktif bir molekül olup doğrudan ya da peroksinitrit oluşumu yoluyla oksidan etki gösterir. Bu oksidan özelliği nedeniyle bakterisid ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik etkili olup, savunma sisteminin bir parçasıdır (Eşsizoglu ve Yıldırım 2005).

- **İmmünomodülatör etki:** Nitrik oksit, immün sistem hücreleri tarafından  $Ca^{2+}$  dan bağımsız olarak , immünolojik sataşma sonucu da üretilmektedir (Şekil 2.18).



**Şekil 2.18:** Nitrik Oksidin İmmünomodülatör Etki Mekanizması  
Kaynak: Beckman, J.S.: Koppenol, W.H. 1996

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneysel Prosedür

Çalışmada Konya Ak Şeker Kurumunda kesimi yapılan iki yaşın altındaki danalardan alınan kalpler soğuk Krebs-Henseleit solüsyonu içerisinde laboratuara getirildi. Kardiyak ven izole edilerek, bağ dokusundan temizlenen venlerden, 2-3 mm genişliğinde halkalar hazırlandı. Bu şekilde hazırlanan preparatlar, 37 ° C'de ısıtılan, normal Krebs-Henseleit solüsyonu içeren, % 95 O<sub>2</sub> ve % 5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli gazlandırılan 15 ml'lik organ banyolarına asıldı. Preparatlara 1 g dinlenme gerilimi uygulandı ve 15 dk ara ile besleyici solüsyonla yıkamak suretiyle 60 dk süreyle dinlenmeye bırakıldı. İlaçlara verilen cevaplar bir transduser (BIOPAC MP36, Santa Barbara, California, USA) aracılığı ile izometrik olarak (Commat, Ankara, Turkey) kaydedildi. Çalışmanın başında halkaların endotel tabakasının bütünlüğü, 5-HT (10<sup>-6</sup> M)'e bağlı kasılma cevabının ardından ACh (10<sup>-6</sup> M) gevşeme cevabı alınmasıyla test edildi.

Deneylerde kullanılan Krebs-Henseleit Solüsyonunun içeriği (mM) olarak şöyledir: NaCl 119 ; KCl 4.7 ; MgSO<sub>4</sub> 1.5 ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 ; CaCl<sub>2</sub> 2.5 ; NaHCO<sub>3</sub> 25 ; glukoz 11.

Dinlenme periyodunun bitiminde çalışma üç bölüm halinde yürütüldü. Birinci bölümde, 37 ° C'de 5-HT (10<sup>-6</sup> M) ilavesiyle dokular kasıldı ve maksimum kasılma elde edildikten sonra banyo ortamına kümülatif konsantrasyonda verapamil (10<sup>-9</sup> - 3x10<sup>-4</sup> M) ilave edildi. Verapamil doz-cevap eğrisi elde edildikten sonra dokular yıkanarak dinlendirildi ve çalışmanın ikinci aşamasında dokular normal temperatürde 10<sup>-6</sup> M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo temperatürü 28°C'ye ayarlandı, dokular bu temperatürde 30 dakika dinlendirildikten sonra banyo ortamına kümülatif konsantrasyonda verapamil (10<sup>-9</sup> - 3x10<sup>-4</sup> M) ilave edildi. Çalışmanın üçüncü aşamasında, dokular normal temperatürde 10<sup>-6</sup> M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo temperatürü 28°C'ye düşürüldü ve L-NAME (10<sup>-4</sup> M) ile 20 dk inkübasyonun ardından banyo ortamına kümülatif konsantrasyonda ilave edilen verapamile gevşeme cevabı alındı.

Benzer işlemler farklı kardiyak ven preparatlarında amlodipin (10<sup>-9</sup> - 3x10<sup>-4</sup> M) ve benidipin (10<sup>-9</sup>- 10<sup>-3</sup> M) için yapıldı. Her dokuda çalışmada kullanılan kalsiyum kanal blokörü ilaçlardan sadece biri denendi.

Çalışmada endotel tabakası uzaklaştırılmadı çünkü amacımız NO'nun rolünü de araştırmaktı.

Amlodipin ve benidipinin çözücüsü; dimetil sülfoksit (DMSO) ile yapılan ön çalışmalarda, bu ajanın etkisiz olduğu saptanmıştır.

### 3.2. İstatistik

Dana kardiyak veninde kalsiyum kanal blokörlerine verilen gevşeme cevapları, 5-HT ile elde edilen kasılmanın % inhibisyonu şeklinde gösterildi. Maksimum gevşeme cevabının ( $E_{max}$ ) % 50'sini oluşturan verapamil / amlodipin/ benidipin konsantrasyonu ( $IC_{50}$ ) her bir konsantrasyon-cevap eğrilerinden sırasıyla, 37, 28 ve 28 °C' de L-NAME varlığında elde edilerek  $pIC_{50}$  değerleri hesaplandı. Çalışmada elde edilen değerler, ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiş olup ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel anlamlılık derecesi Student'ın t testi ile saptandı. Grup içi analizlerde eşleştirilmiş ve gruplar arası analizlerde ise eşleştirilmemiş test uygulandı. P değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3.3. İlaçlar

Deneylerde, serotonin kreatinin sülfat, asetilkolin, L-NAME, verapamil, amlodipin ve benidipin kullanıldı. Çalışmada kullanılan bütün ilaçlar Sigma'dan temin edildi. Amlodipin ve benidipinin stok solüsyonları DMSO içerisinde, kullanılan diğer ilaçların stok solüsyonları ile amlodipin ve benidipin de dahil alt dilüsyonları distile suda hazırlandı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Verapamil'e Verilen Cevaplar

Dinlenme periyodunun bitiminde normal sıcaklıkta ( $37^{\circ}\text{C}$ ) kasıcı ajan olarak submaksimal konsantrasyonda ( $10^{-6}$  M) 5-HT ilavesiyle dana kardiyak ven halkalarında kasılma cevapları elde edildi. Bu cevaplar tekrarlanabilir nitelikteydi ve zamana bağımlı değişim görülmedi. Kasılma cevapları maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra çalışma ortamına kümülatif olarak ilave edilen verapamil ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}$  M; n=6) dokularda konsantrasyona bağımlı tarzda gevşeme cevapları oluşturdu (Şekil 4.1).  $37^{\circ}\text{C}$ 'de verapamile ait  $\text{pIC}_{50}$  değeri  $5.55 \pm 0.14$  olarak bulundu (Tablo 4.1).

Verapamile verilen cevaplara soğutmanın etkisinin araştırıldığı ikinci aşamada, dokular normal sıcaklıkta  $10^{-6}$  M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo sıcaklığı  $28^{\circ}\text{C}$ 'ye düşürülerek banyoya kümülatif olarak ilave edilen verapamil ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}$  M)'e ait  $\text{pIC}_{50}$  değeri  $5.98 \pm 0.04$  olarak bulunmuş olup, bu değer  $37^{\circ}\text{C}$ 'de bulunan değere kıyasla anlamlı olarak yüksektir ( $p < 0.05$ ).

Soğutma esnasında verapamile verilen cevaplara NO'nun etkisini araştırmak amacıyla yapılan üçüncü aşamada, dokular normal sıcaklıkta  $10^{-6}$  M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo sıcaklığı  $28^{\circ}\text{C}$ 'ye düşürülmüş, L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile 20 dk inkübasyonun ardından verapamil gevşeme cevabı alınmıştır.  $28^{\circ}\text{C}$ 'de L-NAME varlığında verapamile ait  $\text{pIC}_{50}$  değeri  $4.55 \pm 0.40$  bulunmuş olup, verapamil gevşeme cevapları L-NAME ile inkübasyondan anlamlı olarak etkilenmiştir ( $p < 0.05$ ).

Verapamile ait % maksimum gevşeme  $37^{\circ}\text{C}$ ,  $28^{\circ}\text{C}$  ve  $28^{\circ}\text{C}$ 'de L-NAME varlığında sırasıyla 100, 100 ve  $83 \pm 4.0$  olarak bulunmuştur.

### 4.2. Amlodipin'e Verilen Cevaplar

Dinlenme periyodunun bitiminde normal sıcaklıkta ( $37^{\circ}\text{C}$ ) kasıcı ajan olarak submaksimal konsantrasyonda  $10^{-6}$  M 5-HT ilavesiyle dana kardiyak ven halkalarında kasılma cevapları elde edildi. Bu cevaplar tekrarlanabilir nitelikteydi ve zamana bağımlı değişim görülmedi. Kasılma cevapları maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra çalışma ortamına kümülatif olarak ilave edilen amlodipin ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}$  M; n=6) dokularda konsantrasyona bağımlı gevşeme cevapları oluşturdu



(Şekil 4.2). 37 °C' de amlodipine ait pIC<sub>50</sub> değeri 4.77 ± 0.47 olarak bulundu (Tablo 4.1).

Amlodipin'e verilen cevaplara soğutmanın etkisinin araştırıldığı ikinci aşamada, dokular normal sıcaklıkta 10<sup>-6</sup> M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo sıcaklığı 28 °C'ye düşürülerek banyoya kümülatif olarak ilave edilen amlodipin (10<sup>-9</sup> - 3x10<sup>-4</sup> M)'e ait pIC<sub>50</sub> değeri 5.74 ± 0.03 olarak bulunmuş olup, bu değer 37 °C' de bulunan değere kıyasla anlamlı olarak yüksektir (p<0.05).

Soğutma esnasında amlodipin'e verilen cevaplara NO'nun etkisini araştırmak amacıyla yapılan üçüncü aşamada, dokular normal sıcaklıkta 10<sup>-6</sup> M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo sıcaklığı 28 °C'ye düşürülmüş, L-NAME (10<sup>-4</sup> M) ile 20 dk inkübasyonun ardından amlodipin gevşeme cevabı alınmıştır. 28 °C'de L-NAME varlığında amlodipine ait pIC<sub>50</sub> değeri 4.39 ± 0.29 bulunmuş olup, amlodipin gevşeme cevapları L-NAME ile inkübasyondan anlamlı olarak etkilenmiştir (p<0.05).

Amlodipine ait % maksimum gevşeme 37 °C, 28 °C ve 28 °C' de L-NAME varlığında sırasıyla 100, 100 ve 69±3.8 olarak bulunmuştur.

#### 4.3. Benidipin'e Verilen Cevaplar

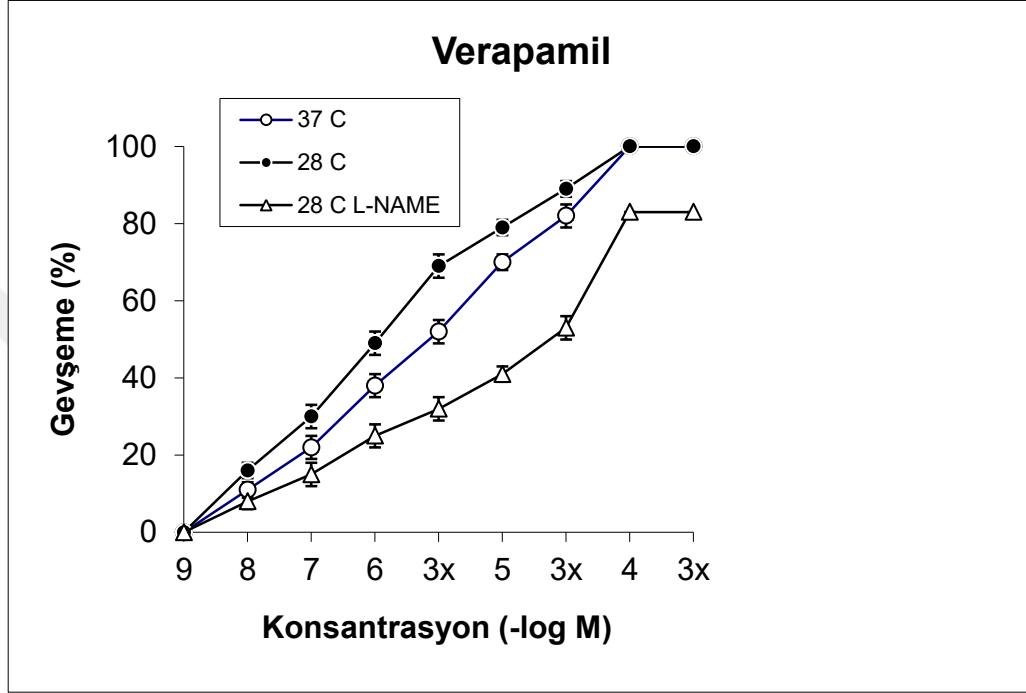
Dinlenme periyodunun bitiminde normal sıcaklıkta (37 °C) kasıcı ajan olarak submaksimal konsantrasyonda 10<sup>-6</sup> M 5-HT ilavesiyle dana kardiyak ven halkalarında kasılma cevapları elde edildi. Bu cevaplar tekrarlanabilir nitelikteydi ve zamana bağlı değişme görülmedi. Kasılma cevapları maksimum kararlı amplitüde ulaştıktan sonra çalışma ortamına kümülatif olarak ilave edilen benidipin (10<sup>-9</sup> -10<sup>-3</sup> M; n=6) dokularda konsantrasyona bağımlı gevşeme cevapları oluşturdu (Şekil 4.3). 37 °C'de benidipine ait pIC<sub>50</sub> değeri 4.53 ± 0.41 olarak bulundu (Tablo 4.1).

Benidipine verilen cevaplara soğutmanın etkisinin araştırıldığı ikinci aşamada, dokular normal sıcaklıkta 10<sup>-6</sup> M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo sıcaklığı 28 °C'ye düşürülerek banyoya kümülatif olarak ilave edilen benidipin(10<sup>-9</sup> -10<sup>-3</sup> M)'e ait pIC<sub>50</sub> değeri 5.37 ± 0.49 olarak bulunmuş olup, bu değer 37 °C' de bulunan değere kıyasla anlamlı olarak yüksektir (p<0.05).

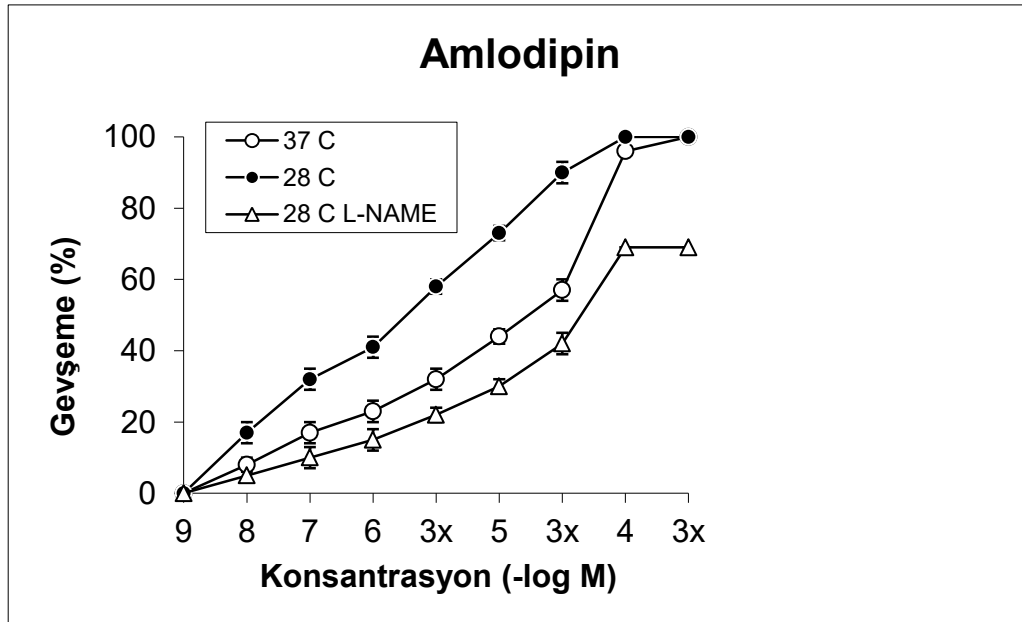
Soğutma esnasında benidipine verilen cevaplara NO'in etkisini araştırmak amacıyla yapılan üçüncü aşamada, dokular normal sıcaklıkta 10<sup>-6</sup> M 5-HT ilavesiyle kasıldıktan sonra banyo sıcaklığı 28 °C' ye düşürülmüş, L-NAME (10<sup>-4</sup> M) ile

20 dk inkübasyonun ardından benidipin uygulanarak gevşeme cevabı alınmıştır. 28 °C’de L-NAME varlığında benidipine ait  $pIC_{50}$  değeri  $4.16 \pm 0.41$  bulunmuş olup, benidipin gevşeme cevapları L-NAME ile inkübasyondan anlamlı olarak etkilenmiştir ( $p<0.05$ ).

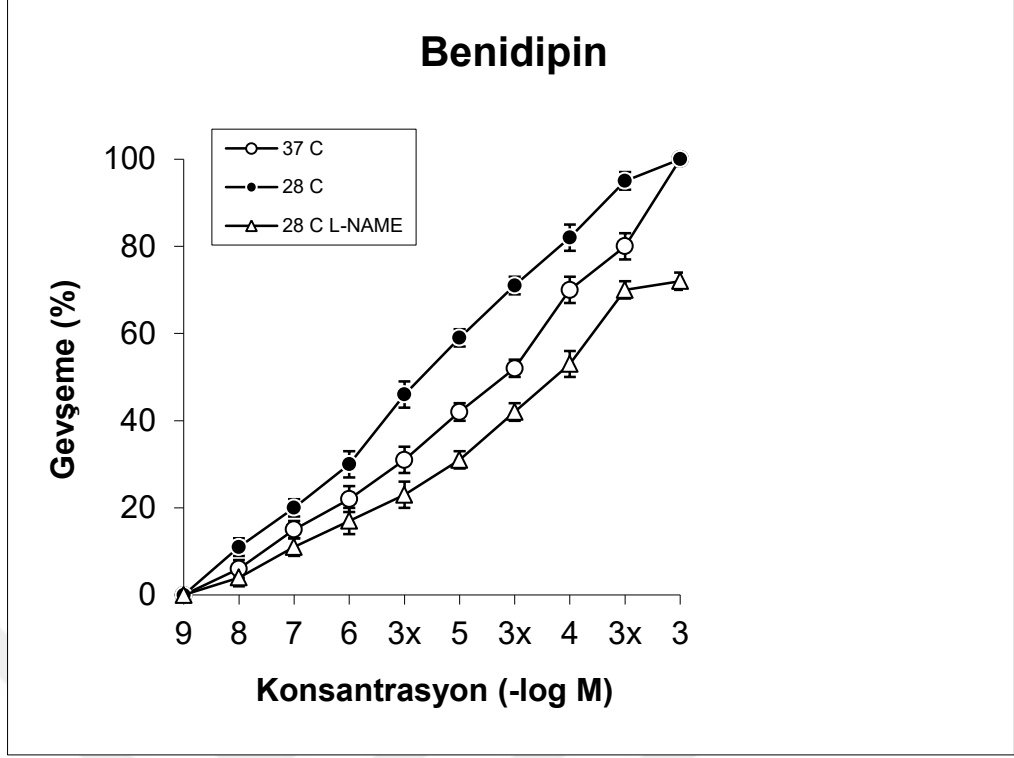
Benidipine ait % maksimum gevşeme 37 °C, 28 °C ve 28 °C’de L-NAME varlığında sırasıyla 100, 100 ve  $72 \pm 4.6$  olarak bulunmuştur.



Şekil 4.1: Serotonin ( $10^{-6}$  M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında 37 °C’ de, 28 °C’ de ve 28 °C’ de  $10^{-4}$  M L-NAME varlığında verapamil ( $10^{-9}$ - $3 \times 10^{-4}$  M) ile elde edilen gevşeme cevapları



Şekil 4.2: Serotonin ( $10^{-6}$  M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında 37 °C’ de, 28 °C’ de ve 28 °C’ de  $10^{-4}$  M L-NAME varlığında amlodipin ( $10^{-9}$ - $3 \times 10^{-4}$  M) ile elde edilen gevşeme cevapları



**Şekil 4.3:** Serotonin ( $10^{-6}$  M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında  $37^{\circ}\text{C}$ ' de,  $28^{\circ}\text{C}$ ' de ve  $28^{\circ}\text{C}$ ' de  $10^{-4}$  M L-NAME varlığında benidipin ( $10^{-9}$ - $10^{-3}$  M) ile elde edilen gevşeme cevapları

**Tablo 4.1:** Serotonin (5-HT,  $10^{-6}$  M) ile kasılan dana kardiyak veni halkalarında  $37^{\circ}\text{C}$ ,  $28^{\circ}\text{C}$  ve  $28^{\circ}\text{C}$ ' de L-NAME ( $10^{-4}$  M) varlığında Verapamil ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}$  M), Amlodipin ( $10^{-9}$  -  $3 \times 10^{-4}$  M) ve Benidipin ( $10^{-9}$  -  $10^{-3}$  M) ile elde edilen  $\text{pIC}_{50}$  değerleri.

$\text{pIC}_{50}$	VERAPAMİL	AMLODİPİN	BENİDİPİN
$37^{\circ}\text{C}$	$5.55 \pm 0.14$	$4.77 \pm 0.47$	$4.53 \pm 0.41$
$28^{\circ}\text{C}$	$5.98 \pm 0.04^*$	$5.74. \pm 0.03^*$	$5.37 \pm 0.49^*$
$28^{\circ}\text{C} - \text{L-NAME}$	$4.55 \pm 0.40^{**}$	$4.39. \pm 0.29^{**}$	$4.16 \pm 0.41^{**}$

Sonuçlar ortalama  $\pm$  SS olarak verilmiştir. Her grupta 6 farklı doku kullanılmıştır.

\*  $p < 0.05$   $37^{\circ}\text{C}$ ' ye kıyasla

\*\*  $p < 0.05$   $28^{\circ}\text{C}$ ' ye kıyasla

## 5. TARTIŞMA

Temperatür, izole damar düz kasının cevap verebilirliğinde önemli bir faktördür. Bu *in vitro* çalışmada, dana kardiyak veninde, 5-HT'e verilen kasılma cevabının kalsiyum kanal blokörleri verapamil, amlodipin ve benidipinle inhibisyonuna soğutmanın etkisi ve NO'nun olası rolünün belirlenmesine çalışılmıştır.

Dana kardiyak veni kolay temin edilebilen bir doku olmasına karşın, üzerinde çok fazla *in vitro* çalışma yapılmamış bir derin damar olması, temperatürle ilgili çalışmaların çoğunlukla yüzeysel damarlarda (Bailey ve ark 2004, Jantschak ve ark 2010), yapılmış olması bu çalışmayı orijinal kılmaktadır.

Serotonin, damar düz kasında bulunan 5-HT<sub>2</sub> reseptörleri aracılığıyla büyük arter ve venlerde kasılmaya neden olduğu bilinmektedir (Vanhoutte, 1987). Serotonin 5-HT<sub>2</sub>-tipi serotonin reseptörlerini (Clancy ve Mayani 1985), aktive ederek vasküler düz kaslarda oluşturduğu kasılma cevaplarında hem ekstraselüler sıvıdan hücre içine giren hem de intraselüler depolardan salıverilen Ca<sup>2+</sup> iyonları rol oynamaktadır (Karabacak ve Doğan 1996). Dana kardiyak veninde yapılan bu çalışmada, 5-HT tekrarlanabilir nitelikte kasılma cevabı oluşturmuştur. Benzer şekilde, yakın zamanda, 5-HT'nin dana kardiyak veninde, tekrarlanabilir ve zamana bağlı olarak değişmeyen kasılmalar oluşturduğu bildirilmiştir (Guresir ve Nurullahoglu, 2014; Nurullahoglu-Atalik ve ark. 2015). Bundan başka, çeşitli araştırmacılar 5-HT'nin birçok damar yatağında olduğu gibi dana, köpek ve domuz koroner arterlerinde de kasılma oluşturduğunu göstermişlerdir (Frenken ve Kauman, 1984; Kauman, 1983; Nabata ve Sakai, 1983; Barret ve ark., 1986; Cenik ve ark., 1993).

Kalsiyum, düz kaslı yapılarda depolarizasyondan sorumlu temel katyondur. Eksitasyon esnasında voltaja duyarlı kalsiyum kanallarından hücre içine giren Ca<sup>2+</sup> sarkoplazmik depodan ve sitoplazma membranının iç yüzündeki Ca<sup>2+</sup> havuzundan salınma neden olur, böylece Ca<sup>2+</sup>'un hücre içi düzeyi ileri derecede artar ve eksitasyon-kontraksiyon keneti aktive edilir. Kalsiyum kanal blokörleri, kalsiyum kanallarından Ca<sup>2+</sup>'un hücre içine girişini engellerler, vasküler ve diğer düz kas hücrelerinin gevşemesi sağlanır (Godfraind ve Kaba 1969a).

Sunulan bu çalışmada, kalsiyum kanal blokörlerinden verapamil, amlodipin ve benidipinin normal temperatürde 5-HT ile elde edilen kasılma cevaplarında,

konsantrasyona bağlı inhibisyon oluşturdukları görülmüştür. Verapamil ve diğer kalsiyum kanal blokörlerinin birçok eksitabl dokuda olduğu gibi, vasküler düz kaslı yapılarda da vazokonstriktör ajanlara verilen cevapları ekstraselüler  $Ca^{2+}$ 'un girişini inhibe etmek suretiyle azalttığı bilinmektedir. Literatürde dana kardiyak veninde kalsiyum kanal blokörlerine bağlı gevşemeyi araştıran herhangi bir çalışma bulunmamakta olup, dana koroner arterinde yapılan çalışmalarda 5-HT'ye bağlı kasılmaların verapamil, nitrendipin, felodipin ve amlodipin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (şahin AS, 1989; Cenik ve arkadaşları, 1993). Sıçan jugular veninde diltiazem ve nitrendipin (Cohen ve Carpenter, 1986) ve tavşan baziller arterinde nimodipin ve felodipin (Takagi ve ark., 1983) ile yapılan farklı çalışmalarda da 5-HT ile elde edilen kasılmaların, çalışılan kalsiyum kanal blokörleri tarafından inhibe edildiğibelirtilmiştir. Bunlardan başka, Cauvin ve çalışma arkadaşları (1983), farklı türlerden izole edilen vasküler yapılarda voltaja bağımlı kalsiyum kanalları aracılığı ile etki gösteren blokörlerin duyarlığında sadece çok k varyasyonların olabileceğini gözlemlemişlerdir.

In vitro yapılan araştırmalarda ortam temperaturü, damar düz kasının tonusunu ve/veya endojen ve eksojen maddelere olan cevaplarını değiştirebilen fiziksel faktörlerden biridir. Çalışma ortamı temperaturü 37 °C'nın altına düşürülerek yapılan soğutmanın damar reaktivitesi üzerine olası etkileri, çalışılan tre, dokuya ve uygulanan ajana göre değişmektedir (Bodelsson ve ark., 1991; Herrera ve ark.,2000).

Bu çalışmada, dana kardiyak veninde kalsiyum kanal blokörlerine verilen gevşeme cevaplarına soğutmanın etkileri de araştırılmış olup, 28 °C'de verapamil, amlodipin ve benidipine duyarlığın 37 °C'ye kıyasla anlamlı olarak arttığı görülmüştür. Temperature bağlı etkilerin araştırıldığı farklı çalışmalarda elde edilen sonuçlar çelişkili olup; Fernandez ve ark (1994), yüzeyel bir damar olan tavşan kulak arterinde histamine bağlı oluşan gevşeme cevabında duyarlığın soğutma esnasında arttığını, derin bir damar olan femoral arterde ise değişmediğini belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada Monge ve ark (1993) da soğutma esnasında kolinerjik stimülasyona verilen gevşeme cevaplarının izole tavşan kulak arterinde artarken, femoral arterde değişmediğini gözlemlemişlerdir. Umbilikal arterde yapılan bir çalışmada (Tiritilli 2000), adozin trifosfat (ATP)'ye duyarlı bir  $K^+$  kanal açıcı ajan olan nikorandil ile elde edilen gevşemelerin, kobay myokardı ve aortasında (Saito ve ark 1998) ise, diğer  $K^+$  kanal açıcı ilaçlar olan NIP-121, kromakalim ve pinasidile bağlı gevşeme cevaplarının soğutma esnasında azaldığı bildirilmiştir. İzole vasküler yapılarda

temperatüre bağı cevaplar, çalışılan damarın yerleşimine göre; yüzeysel ya da derin oluşuna göre değişebildiği gibi, kullanılan ajanlara göre de değişebilmektedir.

Bilindiği üzere endotel tabakası, bir takım kasıcı ve gevşetici faktörler salıvermek suretiyle damar düz kasında eksojen ajanlara verilen cevapları etkileyebilir. Nitrik oksit, bu faktörlerden birisi olup, vasküler regülasyonun düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Nitrik oksit, vasküler düz kaslarda cGMP aracılığı ile gevşeme yapar (Murad, 1994). Soğutma esnasında elde edilen cevaplara endotel tabakasından salıverilen NO'nun rolü kısıtlı sayıda çalışmada araştırılmış ve birbirinden farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmada, soğutma esnasında kalsiyum kanal blokörleri verapamil, amlodipin ve benidipine verilen cevaplarda gözlenen değişikliklere damar endotelinden salıverilen NO'nun etkileri de araştırılmış olup, L-NAME'nin, izole dana kardiyak veninde soğutma esnasında kalsiyum kanal blokörlerine bağı gevşemeleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe ettiği gözlenmiştir. Bu bulgu, çalışılan kanal blokörlerine gevşemelerde nitrik oksidin rolünü telkin etmektedir. Literatürde, çalışma ortamı temperaturü değişikliklerinin NO salıverilmesini, çalışılan damar yatağına ve kullanılan ajanlara bağı olarak farklı etkileyebileceği belirtilmiştir (Bodelsson ve ark 1991, Herrera ve ark 2000). Nitekim soğutma NO salıverilmesinde artışa bağı olarak, tavşan kulak arterinde kolinerjik stimülasyona verilen cevabı artırırken (Garcia-Villalon ve ark 1995), ET-1'e (Monge ve ark 1991) ve adrenerjik aktivasyona kasılma cevaplarını azaltmıştır (Garcia-Villalon ve ark 1992). Kalsiyum kanal blokörleri ile elde edilen gevşeme cevaplarına soğutmanın etkisinde NO'nun rolü konusunda literatürde herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Güresir ve Nurulloğlu (2014), dana kardiyak vende yaptıkları çalışmada, soğutma esnasında rosuvastatine verilen cevaplarda gözlenen değişikliklere damar endotelinden salıverilen NO'nun etkilerini de araştırmış olup, söz konusu endojen maddenin sentezini inhibe ettiği bilinen L-NAME varlığında rosuvastatine duyarlığın, bu çalışmadaki bulgularla benzer şekilde, 28 °C'ye kıyasla anlamlı olarak düşük bulunduğunu bildirmişlerdir. Bazı DHP türevlerinin; nifedipin ve lasidipin gibi, endotel hücrelerinden, NOS inhibitörleri tarafından inhibisyona duyarlı NO salıverilmesini artırdıkları bildirilmiştir (Ding ve Vaziri, 2000; Berkels ve ark., 2001; Krenek ve ark., 2001).

Bir DHP türevi olan benidipinin güçlü ve uzun süreli antihipertansif etkisi olduğu bilinmektedir (Yao ve ark., 2006). Benidipinin hipertansiyon ve

hiperkolesterolemi deney modellerinde endotel fonksiyonunu düzenleyici özelliği olduğu gösterilmiştir (Takayama ve ark., 2006; Takayama ve ark., 2007). Endotel hücrelerinde L-tipi kalsiyum kanalları mevcut olmadığından benidipinin bu etkisi kısmen antioksidan etkisine ya da eNOS ekspresyonundaki up-regülasyonuna bağlanmıştır (Matsubara ve Hasegawa 2004; Matsubara ve Hasegawa 2005; Matsubara ve ark., 2006).



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sunulan bu çalışmada, 5-HT ile kasılan izole dana kardiyak ven halkalarının farklı kalsiyum kanal blokörleri verapamil, amlodipin ve benidipin tarafından konsantrasyona bağlı olarak gevşetildiği, banyo ortamı sıcaklığının düşürülmesine bağlı olarak verapamil, amlodipin ve benidipine duyarlılığın anlamlı olarak arttığı ve soğutma esnasında gözlenen cevaplardaki değişikliklerde NO'nun rolü olabileceği görülmüştür. Soğutmaya bağlı cevaplarda gözlenen bu değişikliklerde rolü olabilecek farklı mekanizmaların incelenmesi amacıyla daha ileri araştırmalar yapılabilir.





## 7. KAYNAKLAR

- Abe F, Mitsui M, Karaki H, Endoh M.** Calcium compartments in vascular smooth muscle cells as detected by aequorin signal. *Br J Pharmacol* 1995;116(7):3000-4.
- Adams DJ, Barakeh J, Laskey R, Van Breemen C.** Ion channels and regulation of intracellular calcium in vascular endothelial cells. *FASEB J* 1989, 3:2389-2400.
- Ahmed LA, Salem HA, Attia AS, El-Sayed ME.** Enhancement of amlodipine cardioprotection by quercetin in ischaemia/reperfusion injury in rats. *J Pharm Pharmacol.* 2009 Sep;61(9):1233-41. doi: 10.1211/jpp/61.09.0014.
- Aidley DJ, Stanfield PR.** **Ion channels.** Molecules in action. Cambridge University Press, Birinci baskı, Avustralya: 59-100, 1996.
- Alker D., Campbell S.F., Cross P.E., Burges R.A., Carter,A.J., Gardiner D.G. (1989).** Long-acting dihydropyridine calcium antagonists. 3. Synthesis and structure-activity relationships for a series of 2 -[(heterocyclymethoxy) methyl] derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 32, 2381-2388.
- Alker, D., Burges, R. A., Campbell, S. F., Carter, A.J., Cross, P. E., Gardiner, D. G. ve diğerleri. (1992).** Long-acting dihydropyridine calcium antagonists. 8. A comparison of the pharmacological and pharmacokinetic properties of amlodipine with its carba and thio bioisosters. *Journal of the Chemical Society. Perkin Transactions*, 2, 1137-1140.
- Alstaedter R.** Coronary heart disease-Calcium antagonist Adalat a World wide success, 1981. p. 5 - 100.
- Ashimori, A., Ono, T., Uchida, T., Ohtaki, Y., Fukaya, C., Watanabe, M. ve diğerleri. (1990).** Novel 1,4-dihydropyridine calcium antagonists. I. Synthesis and hypotensive activity of 4-(substituted pyridyl)-1,4- dihydropyridine derivatives. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 38(9), 2446-2458.
- Barnes P, Belvisi M.** Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993;48:1034-1043
- Barrett JA, DePaul Lynch V, Balkon J, Smith RD, Wolf PS.** Effects of nitroglycerin, dipyridamole, nifedipine, verapamil and diltiazem on canine coronary arterial rings contracted with 5-hydroxytryptamine and anoxia. *Pharmacology.* 1986;33(3):139-47.
- Bellemann, P., Schade, A., Towart, R. (1983).** Dihydropyridine receptor in rat brain labeled with [3 H]nimodipine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 80, 2356-2360.
- Berkels, R. Egink, G. Marsen, T.A, Bartels, H. Roesen, R. & Klaus, W. (2001).** Nifedipine increases endothelial nitric oxide bioavailability by antioxidative mechanisms. *Hypertension*, 37, 240–245.
- Berridge MJ.** Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature.* 1993 J28;361(6410):315-25.

- Berridge, M.J., Bootman, M.D., Roderick, H.L. (2003).** Calcium signalling: Dynamics, homeostasis and remodelling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4, 517-529.
- Berridge, M.J., Lipp, P., Bootman, M.D. (2000).** The versatility and universality of calcium signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 11-21.
- Birnbaumer, L., Abramowitz, J., Brown, A. M. (1990).** Receptor-effector coupling by G proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1031(2), 163-224.
- Blaustein MP, Golovina VA.** Structural complexity and functional diversity of endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> stores. *Trends Neurosci* 2001;24(10):602-8.
- Blocker Kozo Yao, Ken Nagashima, and Hiroyuki Miki.** Pharmacological, Pharmacokinetic, and Clinical Properties of Benidipine Hydrochloride, a Novel, Long-Acting Calcium Channel. *J Pharmacol Sci* 100, 243 – 261 (2006)
- Bodelsson M, Arneklo-Nobin B, Chester AH, Tadjkarimi S, Törnebrandt K, Yacoub M.** Differential effect of hypothermia on the vascular tone and reactivity of human coronary artery and graft vessels. *J Cardiovasc Surg* 1991; 288-94.
- Boitano, S., Dirksen, E.R., Sanderson, M.J. (1992).** Intercellular propagation of calcium waves mediated by inositol trisphosphate. *Science.* 258, 292-295.
- Bootman, M.D., Collins, T.J., Peppiatt, C.M., Prothero, L.S., MacKenzie, L., De Smet, P., Travers, M., Tovey, S.C., Seo, J.T, Berridge, M.J., Ciccolini, F., Lipp, P. (2001).** Calcium signalling-an overview. *Semin. Cell Dev. Biol.* 12, 3-10.
- Budriesi, R., Bissi, A., Ioan, P., Rampa, A., Gobbi, S., Belluti, F. ve diğerleri. (2005).** 1,4-dihydropyridine derivatives as calcium channel modulators: The role of 3-methoxy-flavone moiety. *Biorganic & Medicinal Chemistry.* 13, 3423-3430.
- Burges R, Moisey D.** Unique pharmacologic properties of amlodipine. *American Journal of Cardiology*, 1994, 73: 2A-9A.
- Bülül A, Soylu M.** Nitrik oksitin kalp damar sistemi üzerine etkileri *Vet Hekim Der Derg*, 2008 79(2):49.54.
- Carter AJ, Gardiner DG, Burges RA.** Natriuretic Activity of Amlodipine, Diltiazem, and Nitrendipine in Saline-Loaded Anesthetized Dogs. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1988, 12: S34-S38. 93
- Catterall, W.A., Perez-Reyes, E., Snutch, T.P., Striessnig, J. (2005).** International Union of Pharmacology. XLVIII. Nomenclature and Structure-Function Relationships of Voltage-Gated Calcium Channels. *Pharmacological Reviews*, 57, 411-425.
- Cauvin, C., Loutzenhiser, R. & Van Breemen, C. (1983).** Mechanisms of calcium antagonist-induced vasodilation. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23, 373- 396.

- Cenik A., Dalgıç H., Atalık E, Doğan N.** İzole Dana Koroner Arterinde 5-HT'e Bağlı Kasılmalar Üzerine Kalsiyum Kanal Blokörlerinin İnhibitör Etkileri, S.Ü.Tıp Fakültesi Dergisi 9(3), 317-320, 1993.
- Cho, H., Ueda, M., Shima, K., Mizuno, A., Hayashimatsu, M., Ohnaka, Y. (1989).** Dihydropyrimidines: Novel calcium antagonists with potent and long-lasting vasodilative and antihypertensive activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 32, 2399-2406.
- Christiaans, J. A. M., Windhorst, A. D., van der Goot, H., Timmerman, H. (1994).** Synthesis and in vitro pharmacology of a series of hybrid molecules possessing 1,4-dihydropyridine calcium-channel blocking activity an histamine H<sub>2</sub>-agonistic properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 29, 579-593.
- Civantos B, Aleixandre A.** Blood pressure and alpha-vascular reactivity in hypertensive rats treated with amlodipine and dietary Ca. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 489: 101-110.
- Clancy BM, Mayani S.** 5-Hydroxytryptamine receptor in isolated rabbit aorta: Characterization with tryptamine analogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 233: 761-9.
- Cohen ML, Carpenter R, Schenck K, Wittenauer L, Mason N.**Effect of nitrendipine, diltiazem, trifluoperazine and pimoziide on serotonin2 (5-HT<sub>2</sub>) receptor activation in the rat uterus and jugular vein. *J Pharmacol Exp Ther.* 1986 Sep;238(3):860-7.
- Cooper JR, Bloom FE, Roth RH.** The biochemical basis of neuropharmacology. Seneth Edition, New York: Oxford Univercity Press, 119-122, 1996.
- Crespi, F., Vecchiato, E., Lazzarini, C., Andreoli, M., Gaviraghi, G. (2002).** Evidence that lacidipine at nonsustained antihypertensive doses activates nitrogen monoxide system in the endothelium of salt-loaded Dahl-S rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 39(4), 471-477.
- Dhein, S., Salameh, A., Berkels, R., Klaus, W. (1999).** Dual mode of action of dihydropyridine calcium antagonists: A role for nitric oxide. *Drugs*, 58(3), 397-404.
- Dhein, S., Zhao, Y., Simsek, S., Salameh, A., Klaus, W. (1995).** Actions of 1,4-dihydropyridines in isolated mesenteric vascular beds. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 26(5), 784-791.
- Ding, Y. & Vazırı, N.D. (2000).** Nifedipine and diltiazem but not verapamil up-regulate endothelial nitric-oxide synthase expression. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 292, 606–609.
- Dolphin, A. C. (2006).** A short history of voltage-gated calcium channels. *British Journal of Pharmacology*, 147, S56-S62.

- Edraki N., Mehdipour A.R., Khoshneviszadeh M., Miri R. (2009).** Dihydropyridines: evaluation of their current and future pharmacological applications. *Drug Discovery Today*, 14(21-22), 1058-1066.
- Eşsizöğlü A, Yıldırım E.** Ruhsal bozuklukların psikobiyolojisinde nitrik oksit. *Dicle Tıp Dergisi*, 2009 Cilt: 36, Sayı: I (67-74)
- Fleckenstein A., Kammermeier H DJ., Freund HJ., Grün G KA.** Zum Wirkungsmechanismus neuartiger Coronardilatatoren mit gleichzeitigen sauerstoffesparenden Myocardeffekten, Prenylamin und Iproveratil. *Z Kreislaufforsch* 1967.
- Fleckenstein, A., Tritthart, H., Doring, H. J., Byon, K. Y. (1972).** BAY a 1040- a highly potent  $Ca^{2+}$ -antagonistic inhibitor of electro-mechanical coupling processes in mammalian myocardium. *Arzneimittelforschung*, 22(1), 22-33.
- Förstermann U, Gath I, Schwarz P, Closs EI, Kleinert H.** Isoforms of Nitric Oxide Synthase. Properties, Cellular Distribution and Expressional Control. *Biochem Pharmacol.*1995, 50: 1321-1332
- Frenken M, Kaumann AJ.** Interaction of ketanserine and its metabolite ketanserinol with  $5HT_2$  receptors in pulmonary and coronary arteries of calf. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1984 Jul;326(4):334-9.
- Furchgott R.F., Zawadzki J.V. (1980).** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288(5789), 373-376.
- Godfraind, T. & Kaba, A. (1969).** A Blockade or reversal of the contraction induced by calcium and adrenaline in depolarized arterial smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 36, 549–560.
- Godfraind, T., Miller, R., Wibo, M. (1986).** Calcium antagonism and calcium entry blockade. *Pharmacological Reviews*, 38(4), 321-416.
- Görlitzer, K., Schmidt, E. (1991).** Anellierte Lactone aus Bay-K-8644 und Dihydropyridin-Nebenprodukten der Hantzsch-Synthese. *Archiv der Pharmazie*, 324, 879-886.
- Guresir MS, Nurullahoglu Atalık KE.** Role of the nitric oxide on rosuvastatin-induced relaxation of the calf cardiac vein during cooling. *Bratisl Lek Listy.* 2014;115(12):753-6.
- Gurkoff G, Shahlaie K, Lyeth B., Berman R.** Voltage-Gated Calcium Channel Antagonists and Traumatic Brain Injury *Pharmaceuticals* 2013, 6(7), 788-812;
- Gümüsel B.** Nitrik oksit ve solunum sistemi. Türk Farmakoloji Derneği Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programı Nitrik Oksidin Farmakolojisi Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara 27 Mayıs 2005; ss:22-31

- Halici Z, Karaca M, Keles ON, Borekci B, Odabasoglu F, Suleyman H, Cadirci E, Bayir Y, Unal B.** Protective effects of amlodipine on ischemia-reperfusion injury of rat ovary: biochemical and histopathologic evaluation. *Fertility and Sterility*, 2008 b, 90: 2408-2415.
- Halici Z, Suleyman H, Cadirci E.** Effects of calcium channel blockers on hyaluronidase-induced capillary vascular permeability. *Archives of Pharmacal Research*, 2008 a, 31: 891-899.
- Hathaway DR, Konicki MV, Coolican SA (1985).** Phosphorylation of myosin light chain kinase from vascular smooth muscle by cAMP and cGMP dependent protein kinases. *J. Moll. Cell Cardiol.*, 17, 841- 850.
- Herrera B, Eisenberg G, Holberndt O, Desco MM, Rabano A, Garcia-Barreno P, Del Cazino JF.** Paradoxical effects of temperature on vascular tone. *Cryobiology* 2000; 41:43-50.
- Hess O.M. (1990).** Pathophysiology of heart insufficiency. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 120(49), 1833-1837.
- Iftinca MC.** Neuronal T-type calcium channels: what's new? Iftinca: T-type channel regulation. *J Med Life*. 2011 May 15;4(2):126-38. Epub 2011 May 25.
- Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G (1987).** Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.*, 84, 9265-9269.
- Ignorro LJ (1989).** Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties. *FASEB J.*, 3, 31-36.
- Ignorro LJ (1992).** Haem-dependent activation of cytosolic guanylate cyclase by nitric oxide: a widespread signal transduction mechanism. *Biochem. Soc. Trans.*, 20, 465-469.
- Ignorro LJ, Kadowitz PJ (1985).** The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Annul. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 25, 171-191.
- Janis RA., Triggle D.J. (1984).** 1,4-Dihydropyridine Ca<sup>2+</sup> channel antagonists and activators - a comparison of binding characteristics with pharmacology. *Drug Development Research*, 4(3), 257-274.
- Karabacak H, Doğan N.** İzole dana koroner arterinde muskarinik agonistlerle oluşan cevaplar ve bu cevapların kalsiyumla ilişkisi. *S Ü.Tıp Fak Derg* 1996; 12: 397-404.
- Karakaya D, Barış S, Tür A.** Nitrik Oksit. *O.M.Ü. Tıp Dergisi* 2000 17(3): 139-148.
- Kataoka C, Egashira K, Ishibashi M, Inoue S, Ni WH, Hiasa K, Kitamoto S, Usui M, Takeshita A.** Novel anti-inflammatory actions of amlodipine in a rat model of arteriosclerosis induced by long-term inhibition of nitric oxide

synthesis. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 2004, 286: H768-H774.

**Katz, B., Minke, B. (2009).** Drosophila photoreceptors and signaling mechanisms. *Front. Cell. Neurosci.* 3, 2.

**Kaumann AJ.** Yohimbine and rauwolscine inhibit 5-hydroxytryptamine-induced contraction of large coronary arteries of calf through blockade of 5 HT<sub>2</sub> receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1983 Jun;323(2):149-54.

**Kawabata A., Manabe S, Manabe Y., Takagi H.** Effect of topical administration of L-arginine on formalin-induced nociception in the mouse: a dual role of peripherally formed NO in pain modulation. *Br J Pharmacol*, 112: 547-550, 1994.

**Kayaalp SO.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 2. Cilt. Altıncı Baskı. Ankara, 1992.

**Kayaalp SO.** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Pelikan Yayıncılık, ANKARA 2009.

**Kayaalp, SO.** Akılcı Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 13.baskı 1.cilt 40.Konu Pelikan Yayıncılık ANKARA 2012.

**Komori S, Kawai M, Takewaki T, Ohashi H.** GTP binding protein involvement in membrane currents evoked by carbachol and histamine in guinea-pig ileal muscle. *J Physiol.* 1992; 450: 105–126.

**Kyselovic J, Krenek P, Wibo M, Godfraind T.** Effects of amlodipine and lacidipine on cardiac remodelling and renin production in salt-loaded stroke-prone hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*, 2001, 134: 1516-1522.

**Lamas, S., Marsden, P. A., Li, G. K., Tempst, P., Michel, T. (1992).** Endothelial nitric oxide synthase: Molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(14), 6348-6352.

**Lancaster JR, JR** in *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology* Ignarro, LJ, ed. Academic Press, San Diego, CA: p. 209-224, 2000.

**Large WA.** Receptor-operated Ca<sup>2+</sup> permeable nonselective cation channels in vascular smooth muscle: a physiologic perspective. *Journal of cardiovascular electrophysiology.* 2002; 13(5): 493-501.

**Lee YM, Kim BJ, Kim HJ, Yang DK, Zhu MH, Lee KP et al.** TRPC5 as a candidate for the nonselective cation channel activated by muscarinic stimulation in murine stomach. *Am J Physiol.* 2003; 284: 604-616.

**Lenasi H, Kohlstedt K, Fichtlscherer B, Mulsch A, Busse R, Fleming I.** Amlodipine activates the endothelial nitric oxide synthase by altering phosphorylation on Ser(1177) and Thr(495). *Cardiovascular Research*, 2003, 59: 844-853.

- Llinas RR, Sugimori M, Cherksey B.** Voltage-dependent calcium conductances in mammalian neurons. The P channel. *Ann N Y Acad Sci.* 1989; 560:103-11.
- Lukic-Panin V, Kamiya T, Zhang H, Hayashi T, Tsuchiya A, Sehara Y, Deguchi K, Yamashita T, Abe K.** Prevention of neuronal damage by calcium channel blockers with antioxidative effects after transient focal ischemia in rats. *Brain Res.* 2007 Oct 24;1176:143-50. Epub 2007 Aug 2.
- Mangiardi, L.M. Hariman, R.J., McAllister, R.G., Bhargavo, V., Borys, S., and Shabetai, R.** Electrophysiologic and hemodynamic effects of verapamil correlation with plasma drug concentration. *Circulation,* 57:366, 1977.
- Marriot J.F.** A comparison of the effects of the calcium entry blockers, verapamil, diltiazem and flunarizine against contractions of the rat isolated aorta and portal vein. *Br. J. Pharmacol.* (1988), 95, 145-154.
- Mason RP, Mak IT, Trumbore MW, Mason PE.** Antioxidant properties of calcium antagonists related to membrane biophysical interactions. *American Journal of Cardiology,* 1999, 84: 161-221.
- Mason RP, Walter MF, Trumbore MW, Olmstead EG, Jr., Mason PE.** Membrane antioxidant effects of the charged dihydropyridine calcium antagonist amlodipine. *Journal of moleküler and cellular cardiology,* 1999, 31: 275-281.
- Mason RP.** Mechanisms of plaque stabilization for the dihydropyridine calcium channel blocker amlodipine: review of the evidence. *Atherosclerosis,* 2002, 165: 191-199.
- Matsubara M, Hasegawa K.** Benidipine, a dihydropyridine-calcium channel blocker, prevents lysophosphatidylcholineinduced injury and reactive oxygen species production in human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis* 2005, 178:57-66.
- Matsubara M, Hasegawa K.** Effects of benidipine, a dihydropyridine-Ca<sup>2+</sup> channel blocker, on expression of cytokineinduced adhesion molecules and chemoattractants in human aortic endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 2004, 498:303-314.
- Matsubara M, Yao K, Hasegawa K.** Benidipine, a dihydropyridinecalcium channel blocker, inhibits lysophosphatidylcholineinduced endothelial injury via stimulation of nitric oxide release. *Pharmacol Res* 2006, 53:35-43.
- Matsubara M., Akizuki O., Inayoshi A., Kitayama T., Yao K., Shirakura S. ve diğerleri. (2008).** Blockade of T-type voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channels by benidipine, a dihydropyridine calcium channel blocker, inhibits aldosterone production in human adrenocortical cell line NCI-H295R. *European Journal of Pharmacology,* 584(2-3), 424-434.
- McFadzean I, Gibson A.** The developing relationship between receptoroperated and store-operated calcium channels in smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 2002; 135: 1-13

- Mellemgaard, K. Sande, E. Jensen, Colloquim.** The use of calcium antagonist in heart disease. A report of a colloquim held in Copenhagen, 1978. p. 9-68
- Mendrinós D., Chrysohoou C.** The Ryanodine Receptor Leak: Its Role in the Development of Heart Failure. *Hospital Chronicles* 2014, 9(2): 1–7
- Miri R., Mc Even C.A., Knaus E.E. (2000).** Synthesis and calcium modulating effects of modified Hantzsch nitroalkyl 1,4-dihydro-2,6- dimethyl-3-nitro-4-(pyridinyl or 2-trifluoromethylphenyl)-5-pyridine carboxylates. *Drug Development Research*, 51,225-232.
- Mizutani T., Layon A. J.** Clinical applications of nitric oxide. *Chest*, 110: 506-524, 1996.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.** Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacologic Reviews*, 43:109- 141, 1991.
- Murad F. (1994).** The nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system for intracellular and intercellular communication. *Recent Prog. Horm. Res.*49, 239–248.
- Nabata H, Sakai K.** Effects of a new antianginal agent, nicorandil, on normoxic and anoxic contractions in isolated miniature pig coronary arteries exposed to 5-hydroxytryptamine and norepinephrine: comparison with nitroglycerin and diltiazem. *Eur J Pharmacol.* 1983 Dec 9;96(1-2):37-44.
- Nurullahoglu-Atalik KE, Oz M, Shafiyi A.** Rosuvastatin-induced responses in calf cardiac vein. *Bratisl Lek Listy.* 2015;116(8):494-8.
- Opie, L.H.** Drugs and the heart. *The Lancet*, 7 Adam Street, London WC2N 6AD p. 27.
- Özkan M, Yüksekol İ.** Nitrik oksit ve akciğerler. *Toraks Dergisi*, 2003;4(1):88-94
- Özyener F.** Düz Kas Fizyolojisi Ders Notları Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2011.
- Pacaud P, Bolton TB.** Relation between muscarinic receptor cationic current and internal calcium in guinea-pig jejunal smooth muscle cells. *J Physiol.* 1991; 441: 477–499.
- Packer M, O'Connor CM, Ghali JK, Pressler ML, Carson PE, Belkin RN, Miller AB, Neuberg GW, Frid D, Wertheimer JH, Cropp AB, DeMets DL.** Effect of amlodipine on morbidity and mortality in severe chronic heart failure. Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation Study Group. *The New England journal of medicine*, 1996, 335: 1107-1114.
- Palmer RMJ, Moncada S (1989).** A novel citrulline forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Commun.*, 158, 348-352.



- Papp S, Dziak E, Michalak M, Opas M.** Is all of the endoplasmic reticulum created equal? The effects of the heterogeneous distribution of endoplasmic reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -handling proteins. *J Cell Biol* 2003;160(4):475-9.
- Parekh AB, Putney JW Jr.** Store-Operated Calcium Channels *Physiological Reviews* Published 1 April 2005 Vol. 85 no. 2, 757-810 DOI: 10.1152/physrev.00057.2003
- Pitt B, Byington RP, Furberg CD, Hunninghake DB, Mancini GBJ, Miller ME, Riley W, Investigators P.** Effect of amlodipine on the progression of atherosclerosis and the occurrence of clinical events. *Circulation*, 2000, 102: 1503-1510. 92
- Pope, J.E., Thompson, A.E. (2003).** Calcium channel blockers for primary Raynaud's phenomenon: A meta-analysis. *Arthritis and Rheumatism*, 48(9), S627-S627.
- Putney JW.** PLC-gamma: an old player has a new role. *Nat Cell Biol.* 2002 Dec; 4(12): E280-1.
- Putney, J.W. Jr, McKay, R.R. (1999).** Capacitative calcium entry channels. *Bioessays* 21, 38-46.
- Rang H.P., Dale M.M., Ritter J.M.** Nitric oxide. *Pharmacology* 3. edition (Editors: Rang H. P., Dale M. M., Ritter J. M.), New York, Churchill Livingstone, 203-213, 1995.
- Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS.** Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus *American Journal of Physiology-Cell Physiology* Published 10 March 2005 Vol. 288 no. 4, C769-C783
- Ritter J.M, Benjamin N, Dutton J.** Human vascular smooth muscle cells inhibit platelet aggregation when incubated with glyceryl trinitrate: evidence for generation of nitric oxide. *Br. J. Pharmacol* (1991), 102, 847-850
- Sakurada C, Sugiyama A, Nakayama M, Yonezawa A, Sakurada S, Tan – No K, Kisara K, Sakurada T.** Antinociceptive effect of spinally injected L-NAME on the acute nociceptive response induced by low concentrations of formalin. *Neurochem Int*, 38:417-423, 2001.
- Sanborn, B. M., Anwer. K., Wen, Y. (1993).** Garfeld R.E., Tabb T.N.(Ed.), *Control of Uterine Contractility* (s. 105-128). Florida: CRC Press.
- Schleifer, K. J. (1999).** Stereoselective characterization of the 1,4-DHP binding site at L-type calcium channels in the resting state and the opened/inactivated state. *Journal of Medicinal Chemistry*, 12, 2204-2211.
- Shaul P, North A, Wu L.** Endothelial Nitric Oxide Synthase Is Expressed in Cultured Human Bronchiolar Epithelium. *J- Clin. Invest.* 1994 Volume 94,2231-2236

- Singer, SJ., Nicolson, GL. (1972).** The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175: 720-731.
- Snyder SH, Ferris CD.** Novel Neurotransmitters and Their Neuropsychiatric Relevance. *Am J Psychiatry*. 2000, 157: 1738-1751
- SoRelle R (1998).** Nobel Prize awarded to scientists for nitric oxide discoveries. *Circulation*, 98, 2365– 2366
- Sperelakis N., Inoue Y., Ohya Y. (1992).** Fast Na<sup>+</sup> channels and slow Ca<sup>2+</sup> current in smooth muscle from pregnant rat uterus. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 114(1-2), 79-89.
- Şafak C., Şimşek, R. (2006).** Fused 1,4-dihydropyridines as potential calcium modulatory compounds. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 6(7), 747-755.
- Tabrizchi R. (2003).** Amlodipine and endothelial nitric oxide synthase activity. *Cardiovascular Research*, 59(4), 807-809.
- Takagi T, Satake N, Shibata S.** The inhibitory action of FR 34235 (a new Ca<sup>2+</sup> entry blocker) as compared to nimodipine and nifedipine on the contractile response to norepinephrine, potassium and 5-hydroxytryptamine in rabbit basilar artery. *Eur J Pharmacol*. 1983 Jun 3;90(2-3):297-9.
- Takayama M, Arakawa E, Yao K, Ina Y, Sato H, Hasegawa K, Kohno H, Ohno T.** Effects of combination of angiotensin receptor blocker and calcium channel blocker on ox-LDL levels and cardiovascular dysfunction in Dahl rats. *Pharmacology* 2006, 77:179-187.
- Takayama M, Matsubara M, Arakawa E, Takada C, Ina Y, Hasegawa K, Yao K.** Comparison of the antiatherosclerotic effects of dihydropyridine calcium channel blocker and HMG-CoA reductase inhibitor on hypercholesterolemic rabbits. *Vascul Pharmacol* 2007, 46:302-308.
- Targos B, Baranoska J, Pomorski P.** Store-operated calcium entry in physiology and pathology of mammalian cells. *Acta Biochim Pol* 2005;52(2):379-409.
- Thomas, G. D., Zhang, W., Victor, R. G. (2001).** Nitric oxide deficiency as a cause of clinical hypertension: Promising new drug targets for refractory hypertension. *The Journal of the American Medical Association*, 285(16), 2055-2057.
- Thorneloe KS, Nelson MT.** Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. *Can J Physiol Pharmacol*. 2005; 83: 215-242.
- Tosun M, Paul RJ, Rapoport RM.** Coupling of store-operated Ca<sup>2+</sup> entry to contraction in rat aorta. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;285(2):759-66.
- Towart R., Schramm M. (1985).** Calcium channel modulators and calcium channels. *Biochemical Society Symposia*, 50, 81-95

- Trepakova E.S., Csutora P., Hunton D.L., Marchase R.B., Cohen R.A. (2000).** Bolotina VM. Calcium influx factor directly activates storeoperated cation channels in vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* 275, 26158-26163.
- Triggle D. J. (1999).** The pharmacology of ion channels: With particular reference to voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channels. *European Journal of Pharmacology*, 375, 311-325.
- Triggle D. J. (2007).** Calcium channel antagonists: Clinical uses-Past, present and future. *Biochemical Pharmacology*, 74, 1– 9.
- Triggle, DJ. (2003).** 1,4-Dihydropyridines as calcium channel ligands and privileged structures. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23(3), 293-303.
- Tsien, R. W., Lipscombe, D., Madison, D. V. and Fox, A. P. (1998).** Multiple types of neuronal calcium channels and their selective modulation, *Trends in Neurosciences*, 11 (10), 431-438.
- Tulenko TN, Brown J, Laury-Kleintop L, Khan M, Walter MF, Mason RP.** Atheroprotection with amlodipine: cells to lesions and the PREVENT trial. Prospective Randomized Evaluation of the Vascular Effects of Norvasc Trial. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 1999, 33 Suppl 2: S17-22.
- Türköz Y, Aygün D, Gözükar E ve ark.** Nitrik oksit(NO) ve nitrik oksit sentaz(NOS)'in fizyolojik ve patolojik özellikleri *T Klin Pediatri* 2001.10
- Umemoto S, Tanaka M, Kawahara S, Kubo M, Umeji K, Hashimoto R, Matsuzaki M.** Calcium antagonist reduces oxidative stress by upregulating Cu/Zn superoxide dismutase in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension Research*, 2004, 27: 877-885.
- Vanhoutte PM.** Cardiovascular Effects of Serotonin. *Journal of Cardiovasc Pharm* 1987; 10 (3): S8–S11.
- Vanhoutte, P. M. (1985).** Calcium-entry blockers, vascular smooth-muscle and systemic hypertension. *American Journal of Cardiology*, 55(3), 17-23. 107
- Visentin, S., Rolando, B., Di Stilo, A., Fruttero, R., Novara, M., Carbone, E. ve diğerleri. (2004).** New 1,4-dihydropyridines endowed with NO-donor and calcium channel agonist properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(10), 2688-2693.
- Vogalis F, Sanders KM.** Cholinergic stimulation activates a non-selective cation current in canine pyloric circular muscle cells. *J Physiol.* 1990; 429: 223–236.
- Wang YX, Fleischmann BK, Kotlikoff MI.** M<sub>2</sub> receptor activation of nonselective cation channels in smooth muscle cells: calcium and G<sub>i</sub> / G<sub>(o)</sub> requirements. *Am J Physiol.* 1997; 273: 500–508.
- Wehinger, E., Gross, R. (1986).** Calcium modulators. *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 21, 85-94.

**Weiner, D. A. (1988).** Calcium channel blockers. Cardiovascular Pharmacotherapy, 72, 83- 86.

**Widmaier EP, Raff H ve Strang KT;** Çev Ed: Demirgören S. Vander İnsan Fiziyojisi, 2005

**Yao K, Nagashima K, Miki H.** Pharmacological, pharmacokinetic, and clinical properties of benidipine hydrochloride, a novel, long-acting calcium channel blocker. J Pharmacol Sci 2006, 100:243-261.

**Yao K, Sato H, Ina Y, Nagashima K, Nishikawa S, Ohmori K, Ohno T.** Benidipine inhibits apoptosis during ischaemic acute renal failure in rats. J Pharm Pharmacol. 2000 May;52(5):561-8.

**Yousef, M. F., Omar, A. H., Morsy, M. D., Abd El-Wahed, M. M. and Ghanayem, N. M. (2005).** The mechanism of action of calcium channel blockers in the treatment of diabetic nephropathy, The International Journal of Diabetes and Metabolism, 13, 76-82.

**Zanehetti, A. arid Krikler, DM.** Calcium antagonism in cardiovascular therapy: Experience with verapamil. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford Princeton 1981 p. 10-233.

**Zhang XP, Hintze TH.** Amlodipine releases nitric oxide from canine coronary microvessels - An unexpected mechanism of action of a calcium channel-blocking agent. Circulation, 1998, 97: 576-580.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Konya'nın Kulu ilçesinde doğdu. İlköğretimi Tuzyaka İlköğretim Okulu'nda ve liseyi Kulu Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında Selçuk Üniversitesi Karaman Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümünü kazandı ve 2010 yılında okul ikincisi olarak mezun oldu. 2010 yılında Kulu Sağlık Ocağı'nda hemşire olarak çalıştıktan sonra 2011 yılında Konya Numune Hastanesi'ne atandı. 2011 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime başladı ve aynı yıl Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'na yatay geçiş yaptı. Halen Konya Numune Hastanesi'nde hemşire olarak çalışmakta olup evlidir.