

31603

T.C.

İstanbul Üniversitesi

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

Farmakoloji Anabilim Dalı

**İZOLE SIÇAN KALPLERİNDE POTASYUM  
DEPOLARİZASYONU ve TETRAETİL AMONYUM ile  
KALSİYUM PARADOKSU HASARININ AZALTILMASI**

(Farmakoloji Uzmanlık Tezi)

Dr. Öner Süzer

İstanbul, 1993



Her Őeyden 6nce asistanlığım s6resince bana elinden gelen yardımları esirgemeyen sayın hocalarım Prof.Dr. Zeki 6z6ner, Prof.Dr. Alaaddin Akcasu, Prof.Dr. Esat EŐkazan, Prof.Dr. Cihat K666kh6seyin ve Dođ.Dr. Aydın Barlas'a, ayrıca katkılarından dolayı arkadaŐım Nuhan Puralı'ya teŐekk6r6 bir borç bilirim.

Dr. 6ner S6zer

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Giriş.....	1
Genel Bilgiler.....	4
Gereç ve yöntem.....	12
Bulgular.....	15
Tartışma.....	20
Özet .....	22
Summary.....	23
Kaynaklar.....	24

## GİRİŞ

Kısa bir süre  $Ca^{2+}$  içermeyen bir solüsyonla perfüze edilen kalplerin daha sonra  $Ca^{2+}$  içeren bir solüsyonla perfüze edildiklerinde gözlenen irreversibl değişiklikler ilk kez 1966 yılında Zimmerman ve Hülsman tarafından tanımlanmış ve "Kalsiyum Paradoksu" olarak isimlendirilmiştir (1). Bu araştırmacılar, Langendorff yöntemiyle perfüze ettikleri izole sıçan kalplerinde 2 dakikalık  $Ca^{2+}$ 'suz perfüzyonun hasar vermeye yettiğini,  $Ca^{2+}$ 'suz perfüzyon 10 dakikayı bulursa hasarın irreversibl olduğunu ve kuvvetli kontraktür gözlenen kalbin bir daha çalışmadığını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca kalsiyumun reperfüzyon esnasında perfüzet sıvısının kahverengimsi bir renk aldığını, deney öncesinde ve kalsiyumsuz dönemde perfüzet sıvısında ölçülen laktat dehidrogenaz (LDH) ve kreatin fosfokinazın (CPK) reperfüzyon döneminin hemen başlarında çok yüksek değerlerde ölçüldüğünü, kalsiyumsuz dönemin süresi uzadıkça salınan enzim miktarının da arttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar ayrıca kalsiyumsuz dönemde koroner akımın arttığını, reperfüzyondan sonraki dönemlerde deney öncesi değerlere gerilediğini de rapor etmişlerdir.

Bu konuda daha sonra yapılan araştırmalarda hasarın gerçekleşmesi için kalsiyumsuz dönemde kalsiyum konsantrasyonunun  $50 \mu M$ 'in altında olması gerektiği bulunmuştur (6, 51). Bu irreversibl hasarda, hücre organelerinde şişme ve yırtılma, kontraktür bantları, mitokondrinin atılması, diskus interkalatuslar ve sinir kas plaklarında ayrılma ve sarkolemmada tahribat saptanmış (8, 12, 30, 43), biyokimyasal değişiklikler olarak da hücre içi enzimleri (kreatin fosfokinaz, laktat dehidrogenaz, betahidroksibütirik dehidrogenaz, süksinat dehidrogenaz, fosforilazlar, ATP'azlar vs.) ve miyoglobulin kaybı, sarkolemmada ATP'azların bozulması, mitokondrial kalsiyum transportunda artış, miyokardiyal yüksek enerjili fosfatlarda

düşüş ve hücre içi  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonlarında artış, ancak  $\text{K}^+$  konsantrasyonunda düşüş saptanmıştır (5, 13, 28, 32, 49, 45, 55, 57). Bu bulgular hipoksiye maruz kalmış kalplerde gözlenen değişikliklere çok benzemektedir (3, 25). Burada hücre içine giren  $\text{Ca}^{2+}$ 'un kritik önem taşıdığı fark edilmiş (9, 40) ancak yapılan araştırmalarda hücre içine kalsiyumun hangi yolla girdiği saptanamamıştır. İrreversibl hasar geliştirilen kalplerin hücre zarlarının kalsiyuma serbest geçirgen olmadığı gösterilmiştir (17), böylece kalsiyumun pasif difüzyonla geçemeyeceği ispatlanmıştır. Kalsiyum hasarların voltajla aktive edilen yavaş kalsiyum kanallarının blokerleri olan nifedipin, verapamil ve diltiazem tarafından kısmi olarak azaltılabileceği gösterilmiştir (42, 56). Pek çok araştırmacı da kalsiyumsuz periyotta hücre içinde  $\text{Na}^+$  artışına dikkat çekerek (23) hücre içine giren kalsiyumun  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  değişim mekanizmalarından girebileceğini öne sürmüştür (7, 29, 33, 35, 50). Bundan yola çıkılarak  $\text{Ca}^{2+}$ 'suz periyotta düşük  $\text{Na}^+$  ile perfüze etmenin kalplerde kalsiyum paradoksu hasarını azaltacağı gösterilmiştir (2, 26, 36). Ancak  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  değişim mekanizmalarının kalsiyum hasarında önemli rol oynamadığını iddia eden yayınlar da mevcuttur (39). Kalsiyumsuz periyotta kalbin elektriksel aktivitesi sürer ancak bu dönemde divalant katyonlar (örneğin  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ) (10, 16, 51), kalsiyum kanal blokerleri (örneğin verapamil, D600) veya antiaritmik droglar (örneğin kinidin) veya lokal anestetikler (örneğin tetrakain) verilirse spontan aksiyon potansiyelleri görülmez ve reperfüzyon esnasında kontraktür gözlenmez (38). Ancak yukarıda sayılan farmakolojik yaklaşımların hiçbirisi paradokstan tam bir kurtulma sağlayamamıştır.

Kalsiyum paradoksunun önlenmesinin bugüne kadar geçerliliği genel kabul gören tek yolu hipotermik perfüzyondur.  $30^\circ\text{C}$ 'in altındaki perfüzyonlarda  $\text{Ca}^{2+}$  paradoksunun gelişmediği gösterilmiştir (41, 50, 51, 53). Çeşitli araştırmacılar da

değişik yaklaşımlarla kalsiyum paradoksu hasarını değişik yaklaşımlarla kalsiyum paradoksu hasarını azaltabileceklerini iddia etmişlerdir. Bir grup araştırmacı 180 mMol Na<sup>+</sup>’la perfüzyonun (22), başka bir grup da PGI<sub>2</sub>’nin faydalı etkilerini göstermişlerdir (27). Başka bir grup araştırmacı da taurinin kalsiyum paradoksu oluşumuna direnci arttırdığını iddia etmiştir (19, 44). Kurbağa kalbinde de mepakrin ve indometazinle (34), ayrıca sıçan kalbinde ornitin dekarboksilaz inhibitörü olan diflorometil ornitin ile kalsiyum paradoksunun önlenebileceğine dair yayınlar da mevcuttur (54). Ancak burada sayılan yaklaşımların hiçbirisi genel kabul görmemiştir. Örneğin son sayılan yaklaşıma aksi yönde yayınlar da mevcuttur (24).

Yukarıda sayılan nedenlerle cerrahi teknik açısından kalbin durdurulmasının gerektiği açık kalp ameliyatlarında kullanılan kardiyoplejik solüsyonların kompozisyonu kalsiyum kritik değerinin altına düşürmemek için yüksek potasyumla kardiyopleji sağlanacak şekilde hazırlanmaya başlanmış, ameliyatlarda ayrıca hipotermi teknikleri de uygulamaya girmiştir. Bugün için en çok kullanılan kardiyoplejik solüsyonlar 15-35 mMol KCl içermektedir (6). Potasyum bu konsantrasyonlarda miyokardiyal hücre depolarizasyonunun ilk hızlı Na<sup>+</sup> akımlarını bloke eder. Bu değerinin daha altındaki potasyum konsantrasyonları kalbin geç durmasına sebep olmakta, daha üstündeki değerler ise damar endotel hasarı gibi ciddi sayılan hasarlara yol açabilmektedir. Biz de bu bilgilerin ışığında kardiyoplejide hücre zedelenmesini bilinen diğer elektrolit kompozisyonlarına göre en aza indiren yüksek potasyumlu solüsyonların kalsiyum paradoksunda da faydalı olabileceğini düşündük. Çalışmamıza yorumlarımıza katkıda bulunması amacıyla bir potasyum kanal blokörü olan tetraetil amonyumu (TEA) da ekledik ve değişik potasyum konsantrasyonlarında kalsiyum paradoksunun nasıl etkilendiğini saptamayı amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### Kalp fizyolojisi

#### Kalbin fizyolojik impuls üretimi ve iletimi:

Kalp normal durumda, sinoatrial düğümde düzenli olarak oluşan impulsların atrium miyokardına ve oradan sırasıyla atrioventriküler düğüm, His demeti, sağ ve sol dallar ile Purkinje şebekesi üzerinden ventrikül miyokardına yayılması sonucu ritmik kontraksiyonlar yapar. Sinoatrial düğüm hücreleri otomasiteye sahiptir. Otomasite hücrenin kendi kendine depolarize olabilme özelliğinin bir sonucudur. Otomatik hücrelerin membranlarının istirahat halinde hücre içine sodyum iyonları sızdırdığı kabul edilir. Bundan dolayı böyle bir hücrede repolarizasyon olduktan sonra istirahat periyodu sırasında hücre-içi potansiyel sabit kalmaz ve spontan olarak giderek yükselir. Normalde kalp hücrelerinin çoğunun istirahat membran potansiyeli -90 mV dolayındadır. Elektriksel veya kimyasal stimülasyon sonucu ya da sinoatrial düğüm hücresinde olduğu gibi spontan olarak istirahat potansiyeli aşağı yukarı -65 mV düzeyine yükselirse, sinir hücresinde olduğu gibi, aksiyon potansiyeli gelişir. Kalpte sinoatrial düğümden başka diğer bazı yerlerdeki hücrelerin de otomasite özelliği vardır. Bunlar atrioventriküler düğüm ve çevresindeki atrium kısmı, His demeti ve Purkinje lifleridir. Ancak normalde sinoatrial düğüm, bu yerlere göre daha çabuk self-depolarizasyona uğradığı için kalp ona bağlı olarak çalışır ve diğer yerlerdeki otomatik hücreler deşarj olanağı bulamazlar. Bu odaklara latent odaklar adı verilir ve bunların yukarıda belirtildiği şekilde baskılanmasına aşırı-sürme denilir. İskemi gibi bazı patolojik durumlarda, atrium ve ventrikül miyokard hücreleri de otomasite gösterebilirler. Sinoatrial düğüm yavaşladığında veya oradan çıkan impulsların kalpte yayılması bozulduğunda, latent odaklar supresyondan kurtulurlar ve ateşlemeye başlarlar.

**Kalpdeki eksitabl hücrelerin temel fizyolojik özellikleri:**

Son otuz yıl içinde kalp elektrofizyolojisinde önemli ilerlemeler olmuştur. Bunda, önceleri sinir uyarılması sırasında gelişen iyonik akımları incelemek için kullanılan *voltage clamp* tekniğinin kalp hücrelerine uygulanması önemli rol oynamıştır. Bu yöntemin esası, miyokard hücrelerini transmembran potansiyelinin üstünde, fakat aksiyon potansiyeli aralığı içinde kalan belirli voltaj düzeylerinde sabit olarak tutmak ve bu sırada gelişen içe ya da dışa yönelik membran akımlarını kaydetmektir. Böylece miyokardın çeşitli kısımlarındaki hücrelerde aksiyon potansiyelini oluşturan ve voltaja ya da zamana bağımlı olan iyonik akımların niteliği ile ilaçlara verdiği cevaplar incelenebilir. Bu akımları oluşturan iyonların, membrandan kendilerine özgü kanallar veya kapıcıklar içinden geçtikleri varsayılır. Aksiyon potansiyeli süresi içinde belirli bir iyonun ait kanallar açıldığında (yani o iyonun karşı membranın geçirgenliği arttığında), akımın yönünü, membranının iki yüzeyi arasındaki konsantrasyon farkı belirler. Adı geçen yöntemden sonra, membranın ufak bir bölümünde inceleme yapmaya olanak veren *patch clamp* tekniği geliştirilmiştir; bununla tek bir iyon kanalından geçen akım bile incelenebilmekte, kanalların konduktansının pikosimens (simens, uluslararası birimler sisteminin elektriksel iletim birimidir) olarak değeri ölçülmekte ve kinetiği belirlenebilmektedir.

Kalpte hücrelerin ve liflerin morfolojisi voltaj kısılacı yönteminin, sinir liflerinde olduğu kadar kolay uygulanmasına olanak vermez. Bunun bir istisnası Purkinje lifleridir. Kalpte en fazla incelenen bir yapı olan Purkinje liflerinde, aksiyon potansiyeli süresi içinde membran voltajına ve zamana bağımlı olarak açılıp kapanan belirli kanallardan geçen ve bu potansiyelin şeklini veren, başka bir deyimle fazlarının oluşmasına katkıda bulunan iyon akım türlerinin başlıcaları şunlardır:

a) **İçe yönelik katyon akımları:** Membranın depolarizasyonundan



sorumludurlar. Şu tipleri vardır:

i Hızlı sodyum akımı ( $I_{Na}$ ): Depolarizasyon başlangıcında sodyum kanallarının çok kısa bir süre (birkaç milisaniye) açılmasına bağlı olan ve aksiyon potansiyelinin faz 0'ını (fırlama fazını) oluşturan şiddetli bir akımdır. TTX (tetrododoksin) ve sagitoksin ile bloke edilir (11, 14, 21). Ancak, kalp kasında bu kanalların bloke edilmesi için sinir hücrelerine yeterli olandan daha yüksek konsantrasyon gereklidir (59).

ii İçer yönelik ikinci yavaş akım ( $I_{si}$ , *second inward current*): Aksiyon potansiyelinin faz 0'ı sırasında aktive edilir, yavaş olarak yükselir, faz 2'de maksimuma ulaşır, birkaç milisaniye sürer ve faz 2'nin sonuna doğru aktivasyonu sona erer. Faz 0'dan sonra depolarizasyonun sürdürülmesinden ve böylece plato fazının (faz 2) oluşmasından sorumludur. Voltaja bağımlı L tipi kalsiyum kanallarından hücre içine giren  $Ca^{2+}$  ve biraz da  $Na^+$  tarafından taşınır. Sinoatrial düğüm ve atrioventriküler düğüm hücrelerinde hızlı sodyum akımı yoktur; buralarda depolarizasyondan sorumlu yegane akım, bu yavaş  $Ca^{2+}$  akımıdır. Bu kanallar dihidropridin türevleri, verapamil ve diltiazem ile bloke edilir (11, 20, 31).

iii İçer yönelik devamlı akım: Membrandan az da olsa devamlı  $Na^+$  (biraz da  $Ca^{2+}$ ) sızmasına bağlı ve bütün fazlarda oluşan zayıf bir akımdır. Bu akım, istirahat esnasında aktivasyonu giderek azalan  $I_{k2}$  ile birlikte, *pacemaker* hücrelerinin diyastolik (yavaş) depolarizasyonundan sorumludur. Ancak son zamanlarda, Purkinje liflerinde ve belki de *pacemaker* hücrelerdeki diyastolik depolarizasyonun (bu depolarizasyon sırasında dışa yönelik taban akımı sabit kalsa da),  $I_f$  adı verilen içer yönelik sodyum akımının giderek artmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür.

iv İçer yönelik rektifiye edici  $K^+$  akımı: Hiperpolarize hücrede; membran potansiyeli, potasyum denge potansiyelinin altına düştüğünde tetiklenen bir

akımdır. Bu akım TEA ve 4-aminopridin ile bloke edilir. Potasyum akımları normal olarak dışa yönelik olduğu için, bu akım anormal *rectifier* adını da alır.

**b) Dışa yönelik katyon akımları:** Membranın repolarizasyonundan sorumludurlar. Aşağıdaki tipleri vardır:

i  $I_{K2}$ : Aksiyon potansiyelinin plato fazının sonuna doğru (membran potansiyeli yaklaşık -40 mV düzeyine inince) aktive edilir; plato fazının kaybolmasından ve transmembran potansiyelinin istirahat düzeyine inmesinden yani hücrenin repolarizasyonundan sorumludur. Repolarizasyon tamamlanmadan önce ve aktivasyonu yavaşça sona erer. Hücre membranındaki kalsiyuma bağımlı  $K^+$  kanallarından içeri giren potasyum tarafından taşınır.

ii  $I_{K2}$ : Hem voltaja hem de zamana bağımlı bir potasyum akımıdır. Aksiyon potansiyeli sırasında aktiftir, repolarizasyonun sonuna doğru azalarak istirahatin (faz 4'ün) başlangıcında aktivasyonu sona erer. Bu akım, *pacemaker* hücrelerde, istirahat halindeki yavaş depolarizasyonun başlamasına yol açar. İstirahat dışında içeri yönelik taban sodyum akımını nötralize eder; istirahat periyodunun başlangıcında  $I_{K2}$ 'nin deaktivasyonu bu nedenle, *pacemaker* hücrelerin otomatizasyonunun oluşmasına katkıda bulunur.

iii Bu akımlardan başka, dışa yönelik ve ikincil önemi olan diğer akımlar da vardır. Bunlardan  $I_{K1}$  devamlı etkinlik gösteren ve zamana göre değişmeyen zayıf bir  $K^+$  akımıdır; bu akım dışa yönelik taban akımı olarak da nitelendirilir.

c) İçer yönelik anyon ( $Cl^-$ ) akımı ( $I_{qr}$ ): Purkinje liflerinde faz 0 ile plato fazı arasında yer alan hızlı repolarizasyondan (faz 1) sorumlu olan ve çok kısa süren bir  $Cl^-$  akımıdır. Ventrikül hücrelerinde bulunmaz. İçer yönelik anyon akımları da dışa yönelik katyon akımları gibi repolarizasyon yaparlar.

**Kalpdeki hücreler, elektriksel cevabın hızına göre ikiye ayrılırlar:**

Hücre membranında var olan çeşitli iyon kanallarının dağılımındaki farklılıklar (dolayısıyla iyon akımlarındaki farklılıklar) nedeniyle aksiyon

potansiyeli profili kalbin çeşitli bölgelerinde belirgin değişiklikler gösterir. Buna bağlı olarak kalpteki yapılar iki grupta toplanabilirler:

i Hızlı elektriksel cevap veren yapılar: Bunlar Purkinje lifleri, ventrikül ve atrium miyokard hücreleridir. Bu hücrelerde faz 0 çok kısa ve belirgindir ve depolarizasyon  $\text{Na}^+$  tarafından oluşturulur. Eksitabl hücrelerde faz 0'ın amplitütü ve yükselme hızı ( $dV/dT$ ) ile iletim hızı arasında doğru orantı vardır. Bu nedenle söz konusu yapılarda impuls iletimi nispeten hızlıdır (0,3-3 m/sn) ve güvenlik faktörü yüksek olduğundan iletim sırasında aksiyon potansiyeli, amplitütünden kaybetmeksizin ilerler.

ii Yavaş elektriksel cevap veren yapılar: Bunlar sinoatrial düğüm, A-V düğüm hücreleri gibi nodal hücreler ile özel bazı miyokard hücreleridir (A-V halka, mitral ve triküspit kapakçıklar içindekiler gibi). Depolarizasyon (faz 0) yavaş olarak gelişir ve esas olarak, sodyumun değil kalsiyumun girişine ( $I_{\text{si}}$ ) bağlıdır. Bu tür cevap gösteren hücrelerin (yavaş hücreler) istirahat membran potansiyeli, hızlı hücrelere göre daha az negatiftir (-70 - -60 mV), aksiyon potansiyelinin amplitütü düşüktür (tepesi ancak 0 - +15 mV düzeyine erişir). Bu yapılar impulsu yavaş (0,01 - 0,1 m/sn) iletirler ve elektriksel cevap bir hücreden diğerine geçerken şiddetinden kaybeder ve kolayca bloke edilebilir. Yavaş cevaplar TTX ile inhıbe edilmezler fakat kalsiyum kanal blokörleri ile inhıbe edilirler.

Ventrikül hücresi ve Purkinje lifinin aksiyon potansiyeli profili birbirine çok benzer; aralarındaki fark Purkinje lifinde aksiyon potansiyeli süresinin daha uzun olması, istirahat sırasında yavaş depolarizasyon gelişmesi ve faz 1 ile faz 2 arasında belirgin bir çentik bulunmasıdır. Atrium ve ventrikül hücrelerinin aksiyon potansiyelleri arasında bulunan fark ise atrium hücresinin aksiyon potansiyelinin çok daha kısa sürmesidir (59).

**Hızlı cevap veren hücrelerde aksiyon potansiyelinin fazları:** Yukarıda iyonik akımlarla ilişkileri yönünden belirtilen ve faz 0, 1, 2, 3 ve 4 olarak adlandırılan

aksiyon potansiyelinin çeşitli segmentleri ventrikül miyokard hücresinden veya Purkinje liflerinden kaydedilen potansiyel traselerinde belirgin bir şekilde ortaya çıkarlar. Bu fazların niteliği şu şekilde özetlenebilir:

i Faz 0: Bir iki milisaniye içinde transmembran potansiyelinin istirahat değerinden (-90 -80 mV) pozitif değerlere (+20 - +30 mV) fırladığı fazdır. Hızlı sodyum kanallarının açılmasına bağlıdır. En kısa süren fazdır.

ii Faz 1: Yükselmiş membran potansiyelinin biraz düşmesi (kısa repolarizasyon) sonucu ortaya çıkar. Sodyum kanallarının faz 0 sonunda hızlı bir şekilde inaktivasyonuna ve ayrıca Cl<sup>-</sup> kanallarının açılmasına bağlıdır.

iii Faz 2: Aksiyon potansiyelinin en uzun süren fazıdır. Plato fazı diye de adlandırılır. Esas olarak, yavaş açılıp yavaş kapanan Ca<sup>2+</sup> kanallarının açılmasına bağlıdır.

iv Faz 3: Ana K<sup>+</sup> kanallarının açılmasına bağlı esas repolarizasyon fazıdır.

v Faz 4: Aksiyon potansiyelinin kaybolduğu istirahat fazıdır (59).

#### **Kalp kası kasılmasının düzenlenmesi:**

Kalp ve iskelet kaslarının en önemli iki proteini aktin ve miyozindir. Aktin kas proteinlerinin %25'ini, miyozin ise %55'ini oluşturur. Kas kasılmasının düzenlenmesinde Ca<sup>2+</sup> anahtar rol oynar. Bu kasların kasılma sikluslarında tek kısıtlayıcı faktör ATP'dir. Çizgili kas kasılmasının inhibitörü ise troponindir ve troponinin TpT, TpI ve TpC componentleri F-aktin-tropomiyozin kompleksine bağlıdır. TpI miyozinin F-aktin bağlanma kısmına bağlanmasını önler.

Kas kasılmasının uyarılması Ca<sup>2+</sup> aracılığı ile gerçekleştirilir. İstirahat halinde sarkoplazma içindeki Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonu 10<sup>-7</sup> - 10<sup>-8</sup> mol/l'dir. Sarkomer zarı uyarıldığında (örneğin bir kolinerjik reseptörün asetilkolinle uyarılması) Ca<sup>2+</sup> sarkoplazmik retikulumdan hızla sarkoplazmaya salınır, sarkoplazmadaki

$\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonu  $10^{-5}$  mol/l'ye çıkar. TpC üzerindeki  $\text{Ca}^{2+}$  bağlayıcı kısımlar hemen  $\text{Ca}^{2+}$  tarafından işgal edilir. TpC.4 $\text{Ca}^{2+}$  TpI ve TpT'ye etki ederek onların tropomiyozine bağlanmalarını engeller. Böylece miyozin F-aktin kompleksiyle ilişkiye geçerek kas kasılma siklusunu başlatır.

Kas gevşemesi ise şu şekilde gerçekleşir: Enerji bağımlı  $\text{Ca}^{2+}$  pompası çalışır ve  $\text{Ca}^{2+}$  yeniden sarkoplazmik retikulum içine alınır ve sarkoplazma  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonu  $10^{-7}$ 'nin altına düşer. Bundan sonra TpC.4 $\text{Ca}^{2+}$  kompleksi  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarını kaybeder; troponin miyozin F-aktin kompleksiyle etkileşir ve ATP varlığında miyozin F-aktin kompleksinden ayrılır.

Kalp kasında ekstraselüler sıvı eksitasyonda kullanılan  $\text{Ca}^{2+}$ 'un ana kaynağıdır. Ekstraselüler sıvıdan  $\text{Ca}^{2+}$  uzaklaştırıldığında kalp kası kasılması 1 dakika içinde durur. İskelet kası ise ekstraselüler  $\text{Ca}^{2+}$  kesilse bile saatlerce kasılmaya devam edebilir.

Sarkoplazma içinde ATP kaybının iki ana etkisi vardır: 1. Sarkoplazmik retikulumda  $\text{Ca}^{2+}$  pompası durur ve sarkoplazma  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonu düşürülemez. 2. Miyozin ATP'ye bağlı olduğu için F-aktin kompleksinden ayrılmaz. Sonuç olarak kasta kontraktür gelişir <sup>(55)</sup>.

### **Hücre içi $\text{Ca}^{2+}$ konsantrasyonunun düzenlenmesi:**

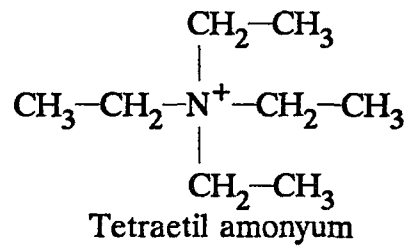
Hücrelerin hemen tümünde hücre içi  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonu 200 nM'nin altında tutulur. Bu değer plazma konsantrasyonunun yaklaşık olarak 1/1000'idir. Bu yüksek konsantrasyon gradientine karşı bir çok düzenleme mekanizması vardır. Bu mekanizmaların intraselüler olanlarının arasında iyonun enerjiye bağımlı bir sistemle mitokondri ve endoplazmik retikulum içinde toplanması, parvalbumen, kalmudilin ve kontraktil proteinler gibi pasif tampon sistemlerine bağlanması sayılabilir. Ancak bu sayılan sistemler sınırlı kapasiteye sahiplerdir. Bu nedenle uzun dönemli regülasyonda hücre içinde birikmiş olan  $\text{Ca}^{2+}$ 'un hücre

dışına atılması için mekanizmalara ihtiyaç vardır. Bu tür iki sistem bulunmuştur. Bunlardan birincisi ATP'ye bağımlı  $Ca^{2+}$  pompası, ikincisi de  $Na^+/Ca^{2+}$  değişimidir.

### Tetraetil Amonyum

TEA, öncelikle ganglion blokeri olarak ortaya çıkartılmış sentetik bir ajandır. TEA'un gangliyonlarda "nikotinin etkisini ortadan kaldırıcı" etkisi ilk kez 1915'te Burn ve Dale tarafından tanımlanmıştır. Gangliyonlardaki ve kardiyovasküler etkileri 1946'da Acheson, Pereria ve Moe tarafından incelenmiş ve yayınlanmıştır <sup>(60)</sup>. Bu bilgilerin ışığında heksametonyum gibi başka gangliyon blokerleri sentez edilmiş ve kısa etkili olduğu için TEA'un gangliyon blokeri olarak kullanımı son bulmuştur.

Son zamanlarda, değişik dokularda farklı tiplerde potasyum kanallarının gösterilmesiyle potasyum kanallarının farmakolojisi sıkça incelenmiştir. TEA'un potasyum kanallarının çoğunu nonselektif olarak bloke ettiğinin gösterilmesinden sonra potasyum kanallarının çalışılmasında sıklıkla bir araç olarak kullanılmaktadır. Ancak  $K^+$  kanal blokerlerinin tedavide kullanılması henüz çok yeni araştırılan bir konudur <sup>(61)</sup>. TEA'un yapısı aşağıda gösterilmiştir.



## GEREÇ ve YÖNTEM

Deneyleerde DETAM'dan sağlanan 150-200 g ağırlığında sağlıklı erkek veya hamile olmayan dişi Wistar sıçanları kullanıldı. Sıçanlara deneyleerden önce herhangi bir işlem uygulanmadı. Sıçanlar kafaları kesilerek öldürüldü, sternal torakotomi ile kalbe ulaşıldı, kalpler zedelenmeden arkus aortanın alt hizasından kesildi. Kalpler kesilir kesilmez içinde 100 IU/ml heparin içeren buz içersindeki modifiye Tyrode solüsyonuna konuldu, kalbin durması, kanımı boşaltması, solüsyonla temas etmesi için kısa bir süre beklendi ve 1 dakikadan daha kısa bir süre içinde Langendorff metoduyla perfüze edilmek üzere kanüle takılıp bağlandı (4). Kalpler apeks bölgelerinden ince bir ipek iplikle Grass Instruments FTO3 izometrik transdusere bağlandı. Mekanik kayıtlar Grass Model 5 poligrafla yapıldı. Deneyle esnasında aritmi görülen veya başlangıçtaki kasılma amplitüdünde belirgin düşüş gözlenen kaslar kalsiyum paradoksuna tabi tutulmadan ekarte edildi.

Tüm solüsyonlarda kullanılan su titizlikle hazırlandı. Sular önce distile edildi, daha sonra *mixed bed* reçineden geçirilerek deiyonize edildi. Suyun direncinin 1 m $\Omega$ /cm'den daha yüksek olmasına dikkat edildi. Tüm düzenek ve kaplar bu su ile defalarca yıkandı. Ayrıca kalsiyumsuz solüsyonlara kalsiyum kontaminasyonunu önlemek için 0,5 mM EGTA (etilenglikol-bis- $\beta$ -aminoetil eter) N,N,N',N'-tetraasetik asit eklendi (52, 56). Deneyleerde kompozisyonları Tablo 1'de verilen %95 O<sub>2</sub> + %5 CO<sub>2</sub> ile oksijenlendirilmiş ve 37° C sabit ısıda tutulmuş solüsyonlar kullanıldı. Deneyleler, 4,7 mMol KCl içeren kontrol grubu, 20 mMol KCl içeren 1. yüksek potasyum grubu (*Yük. K1*), 76,8 mMol KCl içeren 2. yüksek potasyum grubu (*Yük. K2*), 132,7 mMol KCl içeren ve hiç Na<sup>+</sup> eklenmeyen 3. yüksek potasyum grubu (*Yük. K3*) ve son olarak 4,7 mMol KCl ve 20 mMol

tetraetilamonyum (TEA) içeren *TEA* grubu ile gerçekleştirildi. Deney gruplarındaki farklı solüsyonlar sadece kalsiyumsuz dönemde uygulandı. Tüm solüsyonların pH'sı 7,4'te tutuldu. Hava embolisini önlemek ve perfüzyon sıvısı değişimi esnasında sıcaklığının değişmemesi amacıyla deney düzeneğinin dışı da 37° C'ta sabit tutuldu. Isı düzenlemeleri için bir cam bölmeler içinde dolaşan sıvıyı, diğeri havayı ısıtan iki ayrı ısıtıcı sistem kullanıldı. Kalpler önce 30 dakika süreyle 85 mm H<sub>2</sub>O sabit basınçta modifiye Tyrode solüsyonu ile perfüze edildikten sonra 7 dakika süreyle kalsiyum içermeyen değişik deney solüsyonlarına tabi tutuldu. Daha sonra tüm kalplere yeniden 7 dakika süreyle modifiye Tyrode solüsyonu uygulandı.

mMol	Modifiye Tyrode	Kalsiyumsuz Solüsyonlar				
		Kontrol	Yük. K1	Yük. K2	Yük. K3	TEA
NaCl	128	128	112.7	54	-	108
KCl	4.7	4.7	20	76.8	132.7	4.7
CaCl <sub>2</sub>	1.36	-	-	-	-	-
NaHCO <sub>3</sub>	20	20	20	20	-	20
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.36	0.36	0.36	0.36	-	0.36
MgCl <sub>2</sub>	1	1	1	1	1	1
Glikoz	10	10	10	10	10	10
EGTA	-	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	-	-	-	0.36	-
KHCO <sub>3</sub>	-	-	-	-	20	-
TEA	-	-	-	-	-	20

**Tablo 1.** Deney sırasında kullanılan solüsyonların kompozisyonları. Tüm değerler mMol/l birimi ile verilmiştir.



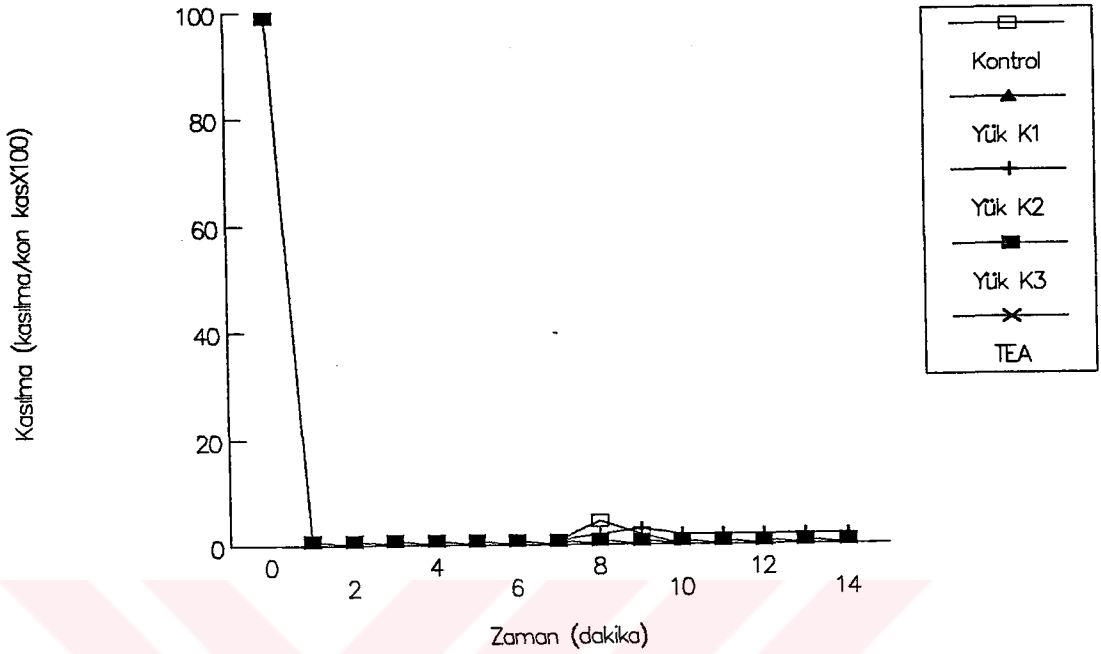
Deney öncesinde ve deney esnasında perfüzyon sıvısı toplanarak koroner akım ölçüldü. Bu sıvılar Merkez Biyokimya Laboratuvarı'na en çok 12 saat içinde gönderilerek LDH (laktat dehidrogenaz) tayinleri yapıldı. Deney sonrasında kalpler çıkartıldı ve otoklavda 90° C ısıda 32-36 saat tutulup kurutuldu ve daha sonra kuru kalp ağırlıkları ölçüldü. Koroner akım ml/dk/kuru kalp ağırlığı, LDH IU/dk-kuru kalp ağırlığı, kasılma kasılma/deney öncesi kasılma X 100, gerim, gerim/deney öncesi kasılma X 100 şeklinde ifade edildi. Tüm veriler ortalama  $\pm$  standart hata ile belirtildi. İstatistiksel analiz Student t testi ile yapıldı. 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi. Verilerde istatistiksel anlamlılık,  $p < 0,05$  ise \* ve  $p < 0,01$  ise \*\* ile gösterildi. Deneylerde kullanılan TEA, Sigma St. Louis MO'dan satın alındı.



## BULGULAR

Kontrol gruplarında kalsiyum paradoksunun gelişimi, literatürde gözleendiği gibi gerçekleşti. Kalsiyumsuz perfüzyon döneminde kalpler kısa bir süre içinde durdu, reperfüzyon döneminde bazal gerilim bir miktar yükseldi. Reperfüzyonla birlikte kalplerde kasılma gözlenmeksizin bazal gerilimde şiddetli artış saptandı (Şekil 1 ve 2, Tablo 2 ve 3). Aynı zamanda perfüzyon sıvısında ölçülen LDH değerlerinde şiddetli artış saptandı (Şekil 3, Tablo 4). Koroner akım değerlerinde deney süresince yavaş seyreden düşüş saptandı (Şekil 4, Tablo 5).

Deney gruplarından hiçbirinde mekanik kurtulma saptanamadı (Şekil 1), ancak reperfüzyon döneminde daha az kontraktür (Şekil 2) ve daha az LDH salınımı gözleendi (Şekil 3). Deney grupları arasında en az LDH salınımına 76,8 mMol KCl kullanılan grupta saptandı. Potasyumun 132,7 mMol bulunduğu ve sodyum bulunmayan grupta LDH salınımı 20 mMol KCl ile perfüze edilen gruba göre daha az oldu. KCl konsantrasyonu Tyrode çözeltisiyle aynı tutulan TEA grubu da 1. ve 2. yüksek potasyum grubu arasında bir değerde LDH salınımı yaptı. Yüksek KCl ve TEA grupları ile kontrol grubu arasında, koroner akım değişimleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı (Şekil 4, Tablo 5).



Şekil 1. Kasılma Zaman Grafiği

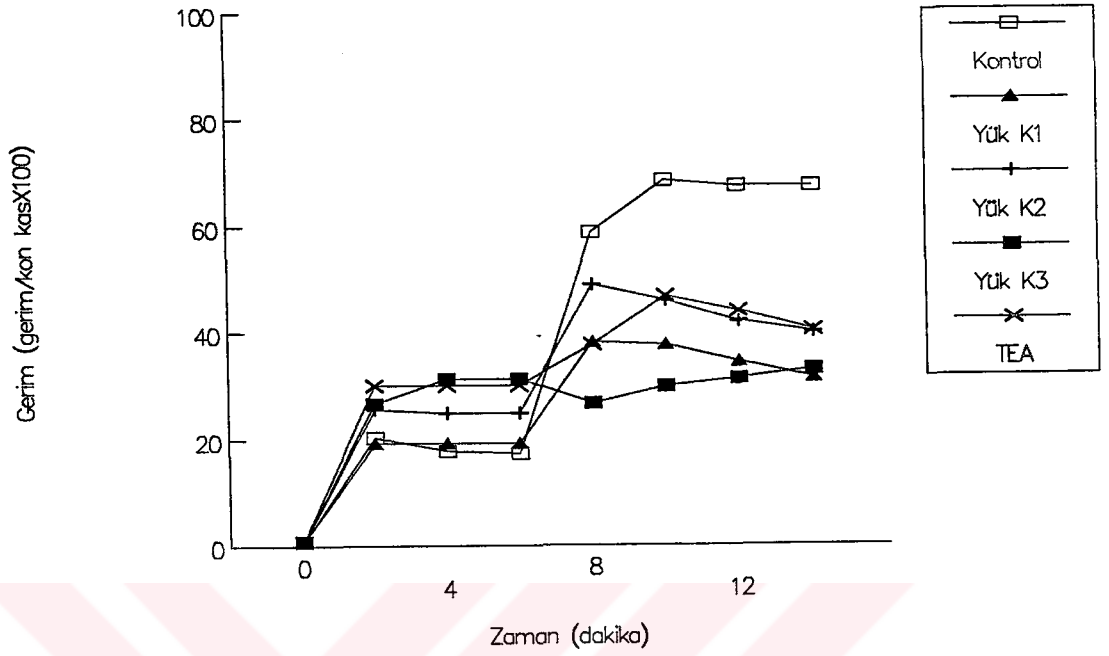
Grup	Kontrol	Yük. K1	Yük. K2	Yük. K3	TEA
Sayı	6	5	5	5	5
Kasılma	0	0	0	0	0
1	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
4	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
5	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
8	4.5 ± 2.1	0.0 ± 0.0	2.0 ± 1.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
9	2.0 ± 1.8	0.0 ± 0.0	3.0 ± 2.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
10	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.0 ± 1.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
11	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.0 ± 1.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
12	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.0 ± 1.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
13	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.0 ± 1.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
14	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	2.0 ± 1.8	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0

Tablo 2. Deney ve kontrol gruplarında elde edilen kasılma sonuçları. Kasılma, kasılma/kontrol kasılma X 100 birimiyle, ortalama ± standart hata şeklinde ifade edilmiştir.

a: deney öncesi

b: kalsiyumsuz dönem

c: reperfüzyon dönemi



Şekil 2. Gerim Zaman Grafiği

Grup	Kontrol	Yük. K1	Yük. K2	Yük. K3	TEA
Sayı	6	5	5	5	5
Gerim	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Z	18.7 ± 5.3	29.3 ± 4.8	26.0 ± 7.9	33.6 ± 1.8*	40.0 ± 7.8
a	20.3 ± 5.3	29.3 ± 4.8	35.6 ± 5.4	36.7 ± 4.1*	40.0 ± 7.8*
m	19.5 ± 4.6	29.3 ± 4.8	35.6 ± 5.4*	41.3 ± 8.1*	40.0 ± 7.8*
a	17.8 ± 4.4	29.3 ± 4.8	34.9 ± 5.3*	41.3 ± 8.1*	40.0 ± 7.8*
n	17.3 ± 4.2	29.3 ± 4.8	34.9 ± 5.3*	42.9 ± 9.4*	40.0 ± 7.8*
d	17.3 ± 4.2	29.3 ± 4.8	34.9 ± 5.3*	41.3 ± 8.1*	40.0 ± 7.8
a	23.7 ± 10.0	29.3 ± 4.8	34.9 ± 5.3	38.2 ± 5.4*	40.0 ± 7.8
k	58.7 ± 15.0	48.1 ± 8.8	58.9 ± 19.3	36.7 ± 4.1	47.6 ± 6.9
i	65.4 ± 14.0	50.9 ± 6.6	52.9 ± 15.9	35.2 ± 2.9	53.0 ± 6.3
k	68.3 ± 13.0	47.6 ± 4.5	55.9 ± 14.3	39.8 ± 4.1	56.7 ± 5.1
a	68.7 ± 13.0	45.7 ± 4.3	51.9 ± 11.9	39.8 ± 4.1	55.8 ± 5.2
	67.3 ± 13.6	44.4 ± 4.3	51.9 ± 11.9	41.3 ± 5.3	53.9 ± 4.9
	67.3 ± 13.0	43.8 ± 4.1	51.9 ± 11.9	42.9 ± 6.5	52.1 ± 5.2
	67.3 ± 13.6	41.4 ± 3.2	49.9 ± 11.3	42.9 ± 6.5	50.3 ± 5.8

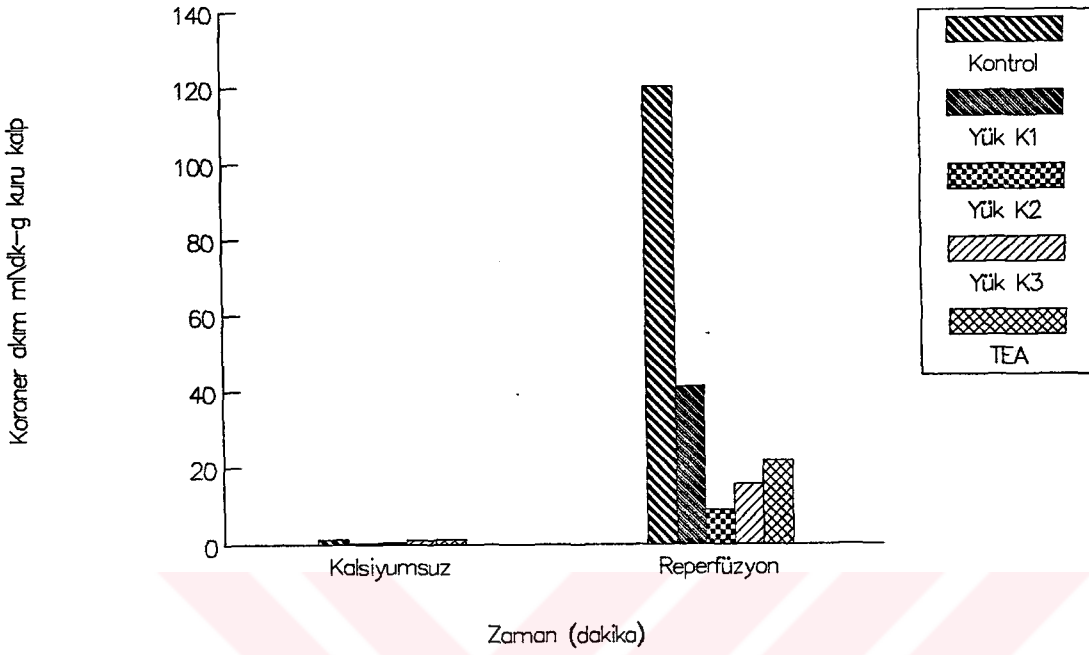
Tablo 3. Deney ve kontrol gruplarında elde edilen gerim sonuçları. Gerim, gerim/kontrol kasılma X 100 birimiyle, ortalama ± standart hata şeklinde ifade edilmiştir.

a: deney öncesi

b: kalsiyumsuz dönem

c: reperfüzyon dönemi

\* p<0,05



Şekil 3. LDH Salınımı Zaman Grafiği

Grup	Kontrol	Yük. K1	Yük. K2	Yük. K3	TEA
Sayı	6	5	5	5	5
Salınan a	0.1 ± 0.0				
LDH b	1.4 ± 0.2	0.4 ± 0.1**	0.6 ± 0.2**	1.3 ± 0.2	1.4 ± 0.2
c	120.2 ± 27.0	41.4 ± 5.5**	8.9 ± 0.9**	15.7 ± 1.4**	21.7 ± 5.2**

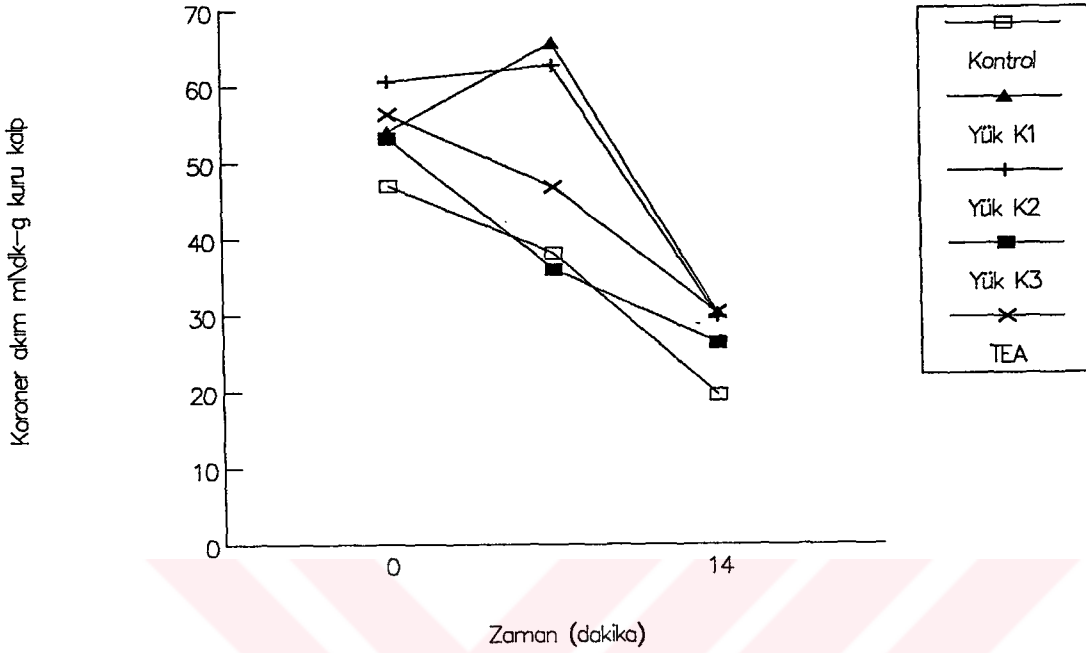
Tablo 4. Deney ve kontrol gruplarında elde edilen LDH salınımı sonuçları. Salınan LDH, IU/dk-g kuru kalp birimiyle, ortalama ± standart hata şeklinde ifade edilmiştir.

a: deney öncesi

b: kalsiyumsuz dönem

c: reperfüzyon dönemi

\*\* p<0,01



Şekil 4. Koroner Akım Zaman Grafiği

Grup	Kontrol	Yük. K1	Yük. K2	Yük. K3	TEA
Sayı	6	5	5	5	5
Koroner Akım	a 47.0 ± 1.3 b 38.1 ± 4.8 c 19.5 ± 2.2	54.1 ± 3.4 65.7 ± 3.3 30.2 ± 2.4**	60.6 ± 6.0 62.7 ± 7.4 29.8 ± 6.5	53.2 ± 4.3 36.0 ± 5.6 26.3 ± 2.6	56.3 ± 3.6 46.8 ± 3.5 30.3 ± 2.0**

Tablo 5. Deney ve kontrol gruplarında ölçülen koroner akım değerleri. Koroner akım, ml/dk-g kuru kalp birimiyle, ortalama ± standart hata şeklinde ifade edilmiştir.

a: deney öncesi

b: kalsiyumsuz dönem

c: reperfüzyon dönemi

\*\* p<0,01

## TARTIŞMA

Bu deneylerde üç ayrı konsantrasyonda potasyumun kalsiyum paradoksu üzerinde nasıl etkili olabileceği araştırılmıştır. Birinci yüksek potasyumlu gruptaki (*Yük. K1*) potasyum konsantrasyonu en çok kullanılan kardiyoplejik solüsyona eşit olarak 20 mMol'dır <sup>(6)</sup>. Bu konsantrasyondaki potasyum 35 mV depolarizasyon için yeterlidir. İkinci yüksek potasyumlu grupta (*Yük. K2*) potasyumun daha da yükseltilmesine ek olarak sodyumun da düşürülmesi hedeflenmiştir. Düşük sodyumla hücre hasarının azaltılması literatürde daha önce saptanmış bir bulgudur <sup>(2, 26, 36)</sup>. Bu araştırmada ise, hasarın potasyum depolarizasyonu ile daha da azaltılıp azaltılamayacağı araştırılmıştır. Son yüksek potasyumlu grupta (*Yük. K3*) hücreye hiç sodyum girmemesi hatta hücrenin sodyum kaybı amaçlanmıştır. TEA da tek başına veya KCl'ye ek depolarizasyon yapabilmektedir. 10 mMol TEA konsantrasyonu için bu değer ortalama 15 mV civarında hesaplanmıştır <sup>(15)</sup>. Son grupta da TEA'un potasyum depolarizasyonuna benzer bir depolarizasyonla kalsiyum paradoksu üzerinde nasıl etkili olabileceği araştırılmıştır.

Deneylerde potasyum depolarizasyonu ile kalsiyum paradoksu hasarının kısmen azaltılabileceği gösterilmiştir. Hiç bir grupta mekanik kasılma gerilmemiştir. Ancak gruplar arasında LDH salınımı açısından belirgin farklar gözlenmiştir. En az LDH salınımı *Yük. K2*, grubunda gerçekleşmiştir. Bu bulgu, *Yük. K1* grubu ile hücre zedelenmesi azaltılmasının, daha düşük sodyumlu perfüzyonla daha da azaltılabileceğini göstermektedir. *Yük. K3* grubunda hasarın derecesi *Yük. K2* grubuna göre biraz daha fazla bulunmuştur. Zedelenen kalplerde hücre içi potasyum konsantrasyonunun düşük bulunduğu önceden saptanmış olan bir bulgudur. Hasarın yüksek potasyumlu perfüzyonla azaltılabilmesi, hücre içi potasyum konsantrasyondaki bu düşüklüğün hücre hasarına gerçekten katkıda

bulduğunu göstermektedir. Reperfüzyon döneminde kontraktürün azaltılabilmesi:

- i. hücre hasarının azaltılmış olmasına
- ii. hücre içi potasyum-kalsiyum dengesinin daha iyi korunmuş olmasına
- iii. depolarizasyon sonucu hücrenin uyarılabilirliğin azalmasına bağlanabilir.

Potasyum depolarizasyonu ile kalsiyum paradoksu hasarının azaltılabilmesi daha önce beklediğimiz bir bulgudur. Bu durum iki pozitif bulgu ile gösterilmiştir. Bunlardan birincisi hücre hasarının göstergesi olarak aldığımız LDH salınımı, ikincisi ise hücre içi yüksek kalsiyum aktivitesinin göstergesi olarak aldığımız gerim artışıdır. Gruplar arasında her iki bulguda da hasarın azaltılmasında paralellik gösterilmiştir. Bu deneyleri yaparken yola çıktığımız varsayım, bugün için kardiyopleji sonrasında hücre korunması için en uygun solüsyon olan potasyum depolarizasyonunun kalsiyum paradoksunda da hasarın azaltılmasında rol oynayabileceğidir. Deney grupları arasında kullandığımız TEA bugüne dek kardiyoplejik veya kardiyoplejiye ek bir ajan olarak düşünülmemiştir. Buradaki bulgularımız TEA'un tek başına kalsiyum paradoksu hasarını azalttığını göstermektedir. Bu bulgu bize, TEA'un kardiyopleji modellerinde de denenebileceğini düşündürmektedir.

Laboratuvarımızda kalsiyum paradoksu mekanizmasının araştırılması ya da bu olaydaki hasarın azaltılması konusunda pek çok çalışma yapılmıştır (46, 47, 48, 58). Bu şekilde 25 yılı aşkın bir zamandır tam olarak açıklanamayan bu olgu üzerindeki tartışmalara katkıda bulunulmaya çalışılmıştır. Bu deneylerde elde ettiğimiz bulgular kalsiyum paradoksunun sadece depolarizasyonla engelenemeyeceğini göstermektedir. Ancak potasyum depolarizasyonu ve TEA ile hasarın azaltılabilmesi orijinal bir bulgudur.



**ÖZET**

Kalsiyum paradoksu 1966 yılında ilk kez tanımlanmış ve bugüne dek tam olarak çözülememiş bir olgudur. Bu deneysel çalışmada, üç ayrı konsantrasyonda  $K^+$  ile yaratılan depolarizasyonun ve bir potasyum kanal blokörü olan tetraetil amonyumun (TEA) kalsiyum paradoksunun gelişimi ve sonuçlanması üzerine etkileri araştırılmıştır. Deneylerde Langendorff metoduyla perfüze edilmiş izole sıçan kalpleri kullanılmıştır ve kasılma, gerim, koroner akım ve LDH salınımı ölçülmüştür. Hiç bir deney grubunda mekanik kasılmanın korunmasını sağlanamamıştır. Ancak  $K^+$  depolarizasyonu yapılan gruplarda ve TEA grubunda, kontrol grubuna göre daha az LDH salınımı ve daha az kontraktür gerçekleşmiştir. Daha çok depolarizasyon yapılan gruplarda daha az hasar gözlenmiştir. Bu bulgular depolarizasyonun tek başına kalsiyum paradoksu gelişimini engileyemediğini ancak hasarı kısmen azaltabildiğini göstermektedir.

### SUMMARY

Calcium paradox is a phenomenon first defined in 1966 and is still not yet solved. In this experimental study, the effects of depolarization made by three different concentrations of  $K^+$  and a potassium channel blocker tetraethyl ammonium (TEA) was researched on the process and consequence of calcium paradox. In the experiments, isolated rat hearts perfused with Langendorff's method were used, and contraction, basal tension, coronary flow and LDH leakage were measured. Protection of mechanical was achieved in none of the experimental groups. However,  $K^+$  depolarized groups and TEA group showed less LDH release and contracture in comparison to the control group. Less injury was seen in more depolarized groups. These results show that only depolarization couldn't prevent calcium paradox but could decrease the injury to an extent.

## KAYNAKLAR

- 1- Zimmerman A.N.E., Hülsmann W.C.: Paradoxical Influence of Calcium Ions on the Permeability of the Cell Membranes of the Isolated Rat Heart. *Nature* August 211: 646-647, 1966
- 2- Uemura S., Young H. et al: Low Sodium Attenuation of the  $Ca^{2+}$  Paradox in the Newborn Rabbit Myocardium. *Am. J. Physiol.* 248: H345-H349, 1985
- 3- Nayler W.G., Elz J.S. et al: Dissociation of Hypoxia-Induced Calcium Gain and Rise in Resting Tension in Isolated Rat Hearts. *Am. J. Physiol.* 254: H678-H685 1988
- 4- Langendorff O. 138 Untersuchungen am überlebenden saugethierherzen *Plügers arch* 61, 291, 1895
- 5- Chapman R.A.: A rise in intracellular sodium would seem to predispose the heart to the calcium paradox. *J Moll Cell Cardiol* 22, 503-505, 1990
- 6- Kirklin / Borret-Boyes: Myocardial Protection During Cardiac Surgery with Cardiopulmonary By-Pass. In, *Cardiac Surgery I. Edition*, Wiley Medical Publication N.Y., pp 83-108 1986
- 7- Chapman R.A., Rodrigo G.C. et al: Calcium Paradox of the Heart: a Role for Intracellular Sodium Ions. *Am. J. Physiol.* 247: H874-H879 1984
- 8- Lamers J.M.J., Stinis T.J. et al: Biochemical Properties of Membranes Isolated from Calcium-Depleted Rabbit Hearts. *Circ Res* 54 (3): 217-226 1984
- 9- Alto E.L., Dhalla S.N.: Role of Changes in Microsomal Calcium Uptake in the Effects of Reperfusion of  $Ca^{2+}$ -Deprived Rat Hearts. *Circ Res* 48: 17-24 1981
- 10- Nayler W.G., Grinwald P.M.: Dissociation of  $Ca^{2+}$  Accumulation from Protein Release in Calcium Paradox: Effect of Barium. *Am. J. Physiol.* 242: H203-H210 1982
- 11- Hille B.: Voltage-Gated Channels and Electrical Excitability, In: Dyson J. (ed) *Textbook of Physiology Volume I*, W.B. Saunders, Philadelphia, pp 80-97 1989
- 12- Frank J.S., Rich T.L. et al: Calcium Depletion in Rabbit Myocardium: Ultrastructure of the Sarcolemma and Correlation with the Calcium Paradox. *Cir Res* 51 (2): 117-130 1982
- 13- Makino N., Panagia V. et al: Defects in Sarcolemma  $Ca^{2+}$  Transport in Hearts Due to Induction of Calcium Paradox. *Cir Res* 63: 313-321 1988
- 14- Hussain M., Singh J.: Is Vip the Putative Non-Cholinergic, Non-Adrenergic Neurotransmitter Controlling Protein Secretion in Rat Lacrimal Glands? *Quart. J. of Exper. Physiol.* 73: 135-138 1988
- 15- Boyle J.P., Davies J.M. et al: Spasmogen Action in Guinea-Pig Isolated Trachealis:

Involvement of Membrane  $K^+$ -Channels and the Consequences of  $K^+$ -Channel Blockade. *Br. J. Pharmacol.* 93: 319-330 1988

16- Elz S.J., Nayler W.G. et al: Ultrastructural Damage Associated With the  $Ca^{2+}$  Paradox, the Protective Effect of  $Mn^{2+}$ . *Am. J Pathol* 117: 131-139 1984

17- Ashraf M.: Correlative Studies on Sarcolemmal Ultrastructure, Permeability, and Loss of Intracellular Enzymes in the Isolated Heart Perfused With Calcium-Free Medium. *Am J Pathol* 97: 411-432 1979

18- Reuter H., Seitz N.: The Dependence of Calcium Efflux from Cardiac Muscle on Temperature and External Ion Composition. *J. Physiol.* 195: 451-470 1968

19- Kramer J.H., Chovan J.P. et al: Effect of Taurine on Calcium Paradox and Ischemic Heart Failure. *Am. J. Physiol.* 240: H238-H246 1981

20- Curtis M.J., Walker M.J.A.: The Mechanism of Action of Calcium Antagonists on Arrhythmias in the Early Myocardial Ischaemia: Studies with Nifedipine and DHM9. *Br. J. Pharmacol.* 94: 1275-1286 1988

21- Catterall W.A.: Molecular Pharmacology of Voltage-Sensitive Sodium Channels. *Isi Atlas of Science: Pharmacology* 190-195 1988

22- Alabovskii W.W., Winokurov A.A. et al: Prevention of Myocardial Reperfusion Injury by Increasing Artificial Trans-Membrane Sodium Gradient in "Calcium Paradox" and Post-Ischemic Reperfusion. *Fiziol-Zh* 37 (3): 25-30 1991

23- van-Echteld C.J., Kirkels J.H. et al: Intracellular Sodium During Ischemia and Calcium-Free Perfusion: a  $^{23}Na$  NMR Study. *J Mol Cell Cardiol* 23 (3): 297-307 1991

24- Busselen P.: Polyamines and the Calcium Paradox in Rat Hearts. *J Mol Cell Cardiol* 23 (3): 237-247 1991

25- Ravingerova T., Styk J. et al: Functional Changes in Isolated Rat Heart Related to Different Factors of Reperfusion Damage. *Bratisl Lek Listy* 92 (2): 102-107 1991

26- Rodrigo G.C. Chapman R.A.: The Calcium Paradox in Isolated Guinea-Pig Ventricular Myocytes: Effects of Membrane Potential and Intracellular Sodium. *J. Physiol London* 434: 627-645 1991

27- Kertesz Z., Balogh I. et al: Cytochemical Effect of a Stable  $PGI_2$  analog Iloprost on Guinea Pig Heart in Calcium-free and Calcium Paradox Conditions. *Pol J Pharmacol. Pharm.* 41 (6): 538-551 1989

28- Tribulova N., Slezag J. et al: Transmural Non-Homogeneity of Calcium-Induced Heart Injury. *Physiol Bohemoslov* 39 (2): 147-150 1990

- 29- Bhojani I.H., Chapman R.A.: The Effects of Bathing Sodium Ions upon the Intracellular Sodium Activity in the Calcium-Free Media and the Calcium Paradox of Isolated Ferret Ventricular Muscle. *J. Mol Cell Cardiol* 22 (5): 507-522 1990
- 30- Slezak J., Tribula N. et al: Differences in Transmural Distribution of Cardiomyocyte Injury Ca Paradox Versus Postischemic Perfusion Phenomenon. *Biomed Biochim Acta* 48 (2-3): S102-S107 1989
- 31- Tsien R.W.: Calcium Channels in Excitable Cell Membranes. *Ann. Rev. Physiol.* 45: 341-358 1983
- 32- Tribulova N., Slezag J. et al: The Effect of Diltiazem (Lachema) on Transmural Non-Homogeneity of Histochemical Changes Due to the Ca-Paradox. *Bratisl Lek Listy* 90 (3): 168-174 1989
- 33- Soares K.G., Sollero T. et al: Effects of Dichlorobenzamil, a Sodium-Calcium Exchange Inhibitor on the Calcium Paradox and the Sodium Withdrawal Contractures of Frog Atrial Muscle. *Braz J Med Biol Res* 21 (6): 1197-1211 1988
- 34- Duncan C.J.: The Role of Phospholipase A<sub>2</sub> in Calcium-Induced Damage in Cardiac and Skeletal Muscle. *Cell Tissue Res* 253 (2): 457-462 1988
- 35- Chapman R.A.: Calcium Channels, the Sodium-Calcium Exchange and Intracellular Sodium in the Predisposition of the Heart to the Calcium Paradox. *Biomed Biochim Acta* 46 (8-9): S512-S516 1987
- 36- Busselen P.: Effects of Sodium on the Calcium Paradox in the Rat Hearts. *Pflugers Arch* 408 (5): 458-464 1987
- 37- Ganote C.E., Nayler W.G.: Contracture and the Calcium Paradox. *J Mol Cell Cardiol* 17: 733-745 1985
- 38- Tunstall J., Busselen P. et al: Pathways for the Movements of Ions During Calcium-Free Perfusion and the Induction of the "Calcium Paradox". *J Mol Cell Cardiol* 18 (3): 241-254 1986
- 39- Diederrichs F., Wittenberg H.: Intracellular Ca<sup>2+</sup> in the Course of Ca<sup>2+</sup> Paradox and During Poisoning. Ca<sup>2+</sup>-Selective Microelectrode Measurements in the Perfused Rat Heart. *J Clin Chem Clin Biochem* 24 (12): 971-979 1986
- 40- Frank J.S., Brady A.J. et al: Ultrastructure and Function of Isolated Myocytes after Calcium Depletion and Repletion. *Am J Physiol* 250 (2 Pt 2): H265-H275 1986
- 41- Poupa O., Helle K.B. et al: Calcium Paradox from Cyclostome to Man: A Comparative Study. *Comp Biochem Physiol A.* 81 (4): 801-805 1985

- 42- Meno H., Kainaide H. et al: Effects of Diltiazem on the Calcium Paradox in Isolated Rat. J. of Pharm. and Exper. Ther. 228 Vol 1: 220-224 1984
- 43- Preuner J.: Functional Alterations of the Sarcolemma in  $\text{Ca}^{2+}$ -Free Perfused Hearts. Basic Res Cardiol 80 Suppl 2: 19-23 1985
- 44- Takihara K., Azuma J. et al: Taurine's Possible Protective Role in Age-Dependent Responce to Calcium Paradox. Life Sci 37 (18): 1705-1710 1985
- 45- Busselen P.: Suppression of Cellular Injury During the Calcium Paradox in Rat Heart by Factors which Reduce Ca Uptake by Mitochondria. Pflugers Arch 404 (2) 166-171 1985
- 46- Puralı N., Üren A., Özüner Z.: Does Papaverine Prevent Calcium Depletion injury in Isolated Rat Hearts. Turk J Med Biol Res, basımda
- 47- Süzer Ö., Puralı N., Barlas A., Özüner Z.: Kalsiyum Paradoksunda Sodyumun Sukrozla Değiştirilmesi Hasarı Azaltmıyor. 24. Ulusal Farmakoloji Kongresi 1992
- 48- Puralı N.: İzole Sıçan Kalplerinde Bazı Sodyum-Kalsiyum Karşı Değiştiricisi Blokerlerinin Kalsiyumsuzluk Zedelenmesine Olan Etkileri. Uzmanlık Tezi İstanbul 1993
- 49- Chapman R.A., Tustali J.: The Calcium Paradox of the Heart. Prog. Biophys. Molec. Biol. 50: 67-96 1987
- 50- Miller D.J.: Are Cardiac Muscle Cells 'skinned' by EGTA or EDTA? Nature 277: 142-143 1979
- 51- Rich T.L., Langer G.A.: Calcium Depletion in Rabbit Myocardium. Calcium Paradox Protection by Hypothermia and Cation Substitution. Circ Res 51: 131-141 1982
- 52- Miller D.J., Mörchen A.: On the Effects of Divalent Cations and Ethylene Glycol-bis-( $\beta$ -Aminoethyl Ether) N,N,N',N'-Tetraacetate on Action Potential Duration in Frog Heart. J. of Gen. Physiol. 71: 47-67 1978
- 53- Boink A.B.T.J., Ruigrok T.J.C. et al: The Effect of Hypothermia on the Occurence of the Calcium Paradox. Pflügers Archiv 385: 105-109 1980
- 54- Koenig H., Goldstone A.D. et al: Polyamines Mediate Uncontrolled Calcium Entry and Cell Damage in Rat Heart in the Calcium Paradox. J. of Clin. Invest. 80: 1322-1331 1987
- 55- Rodwell V.W.: Contractile and Structural Proteins, In: Murray R.K., Granners D.K. et al (eds) Harper's Biochemistry, Appleton & Lange, Norwalk, pp 618-634 1988
- 56- Nayler G.W., Peri S.E. et al: Calcium, Sodium and the Ca Paradox. Cir Res 55: 227-237 1984
- 57- Chizzonite R.A., Zak R.: Calcium-Induced Cell Death: Susceptibility of Cardiac Myocytes

Is Age Dependent. Science 213: 1508-1511 1981

58- Puralı N., Süzer Ö., Özüner Z.: Effect of Prostaglandin Synthesis Inhibitors on the Occurrence of Calcium Depletion Injury of Isolated Rat Hearts. Turk J Med Biol Res 2 (4): 325-329 1991

59- Kayaalp O.S., Tıbbi Farmakoloji Cilt: 2; Antiaritmik İlaçlar, sayfa 1175-1214 1988

60- Taylor P.: Agents Acting at the Neuromuscular Junction and Autonomic Ganglia, In: Gilman A.G, Rall T.W., Nies A.S., Taylor P. (eds) The Pharmacological Basis of Therapeutics, Pergamon Press, New York pp 166-186 1990

61- Local Anaesthetics and Other Drugs that Affect Excitable Membranes, In: Rang H.P., Dale M.M., Pharmacology, Churchill Livingstone, UK, pp 746-761 1991

