

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Farmakoloji Anabilim Dalı

**KOBAY İZOLE TRAKEA PREPARATLARINDA
LEVOSİMENDAN'IN GEVŞETİCİ ETKİSİNDE
POTASYUM KANALLARININ ROLÜ**

Bilsen EKSERT

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2008

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Farmakoloji Anabilim Dalı**

**KOBAY İZOLE TRAKEA PREPARATLARINDA
LEVOSİMENDAN'IN GEVŞETİCİ ETKİSİNDE
POTASYUM KANALLARININ ROLÜ**

Bilsen EKSERT

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Coşkun USTA

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Tarafından Desteklenmiştir
(Proje No: 2006.02.0122.006)

‘Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir’

Antalya, 2008

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu alışma jürimiz tarafından Farmakoloji Programı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir./...../2008

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Coşkun USTA
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Gülay şADAN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı

Üye: Prof. Dr. ağlar ÖĞÜTMAN
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Sadi ÖZDEM
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. A. Candan ÖĞÜş
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

ONAY:

Bu tez. Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2008 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurettin ÖĞUZ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Bu çalışmada levosimendan'ın kobay izole trakea preparatlarındaki etkisi ve bu etkide potasyum kanallarının rolü araştırılmıştır. Çalışmada kobaylardan alınan trakea örnekleri 0,5 cm genişliğinde (4-5 kıkırdak içeren) halkalar şeklinde kesilmiş ve 20 mL'lik organ banyolarına asılmıştır. İzometrik gerilim bilgisayar bazlı bir veri toplama sistemine bağlı izometrik transdüserler aracılığıyla sürekli olarak kaydedilmiştir. Karbakol (10^{-6} M) ile önceden kasılmış kobay izole trakea preparatlarında levosimendan (10^{-7} - 10^{-4} M) ve ATP duyarlı potasyum kanal açıcısı kromakalim (10^{-7} - 10^{-4} M) konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları meydana getirmiştir. Kobay izole trakea preparatlarının 30 dakika süreyle ATP duyarlı potasyum (K_{ATP}) kanal blokörü glibenklamid (10^{-6} M) ile inkübasyonu levosimendan ve kromakalim gevşeme yanıtlarını anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Kalsiyumla aktive edilen potasyum (K_{Ca}) kanal blokörü iberiotoksin (10^{-7} M) ile 30 dakika inkübasyon da levosimendan'la oluşan gevşeme yanıtlarında anlamlı bir inhibisyona neden olmuştur. Trakea halkaların 10 dakika süreyle voltaj bağımlı potasyum (K_V) kanal blokörü 4-aminopiridin (5mM) ile inkübasyonu levosimendan'ın gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır.

Bu bulgulardan kobay izole trakea preparatlarında levosimendan'ın gevşetici bir etki oluşturduğu ve bu etkide K_{Ca} ve K_{ATP} kanallarının rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: levosimendan, potasyum kanalları, kobay trakeası

ABSTRACT

We investigated both the effect of levosimendan and the role of various potassium channels in the effect of levosimendan in isolated guinea-pig trachea preparations. Samples of trachea preparations obtained from guinea-pig were cut into 0.5 cm wide rings (including 4-5 rings) and suspended in 20 ml organ baths. Isometric tension was continuously measured with an isometric force transducer connected to a computer-based data acquisition system. Levosimendan (10^{-7} – 10^{-4} M) or cromakalim (10^{-7} – 10^{-4} M) produced concentration-dependent relaxation responses in guinea-pig trachea rings precontracted by 10^{-6} M carbachol. Incubation of guinea-pig trachea rings with ATP-dependent potassium (K_{ATP}) channel blocker glibenclamide (10^{-6} M) for 30 min significantly inhibited the relaxant responses to both levosimendan and cromakalim. Incubation of guinea-pig trachea rings with Ca^{2+} -activated potassium (K_{Ca}) channel blocker iberiotoxin (10^{-7} M) also caused a significant inhibition on relaxant responses to levosimendan. Incubation of the trachea rings with the voltage-dependent potassium (K_V) channel blocker 4-aminopyridine (5 mM) for 10 min did not cause significant alterations in relaxant responses to levosimendan.

The findings of the present study indicated that levosimendan induced relaxation responses in guinea-pig trachea preparations that were depended on the activation of K_{Ca} and K_{ATP} .

Key words: levosimendan, potassium channel, guinea pig trachea

TEŞEKKÜR

Sayın Hocam Doç. Dr. Coşkun USTA'ya yüksek lisans çalıőmalarımda olduğu gibi tezimin hazırlanmasında gosterdiği öncülük, titizlik, özveri ve bilimsel katkılarından dolayı teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca başta Anabilim Dalımız Başkanı Prof. Dr. Gülay ŐADAN olmak üzere diğer öğretim üyelerimize, çalışma arkadaşlarıma ve desteklerinden dolayı aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. Levosimendan	2
2.1.1. Levosimendan'ın Etki Mekanizması	3
2.1.1.1. Pozitif İnotropik Etkisi	3
2.1.1.2. Levosimendan'ın Vazodilatör etkisi	4
2.1.2. Levosimendan'ın Hemodinamik Etkileri	5
2.1.3. Levosimendan'ın Farmakokinetiği	5
2.1.4. Levosimendan'ın Yan Etkileri	7
2.1.5. Levosimendan'ın Diğer Olası Endikasyonları	8
2.2. Hava Yolu Düz Kasında Eksitasyon Kontraksiyon Kenetlenme Mekanizması	8
2.3. Potasyum Kanalları	9
2.3.1. Potasyum Kanallarının Fizyolojisi	10
2.3.2. Potasyum Kanalları Yapısı ve Sınıflandırılması	11
2.3.3. Hava Yolu Düz Kasında Potasyum Kanalları	12

2.3.3.1. Voltaj Bağımlı Gecikmiş Rektifiye Potasyum Kanalları	12
2.3.3.2. Büyük Kondüktanslı Kalsiyumla Aktive Edilen Potasyum Kanalları	13
2.3.3.3. ATP Duyarlı Potasyum Kanalları	13
GEREÇ VE YÖNTEM	14
3.1. Trakea'nın İzolasyonu	14
3.2. Deney Protokolü	14
3.3. Deneylerde Kullanılan İlaçlar	15
3.4. İstatistiksel Analiz	15
BULGULAR	16
TARTIŞMA	20
SONUÇLAR	22
KAYNAKLAR	23
ÖZGEÇMİŞ	33

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

K_v Kanalları	:	Voltaj bağımlı potasyum kanalları
K_{Ca} Kanalları	:	Ca ⁺² ile aktive edilen potasyum kanalları
K_{ATP} Kanalları	:	ATP duyarlı potasyum kanalları
BK_{ca} Kanalları	:	Büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları
SK_{Ca} Kanalları	:	Küçük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları
cAMP	:	Siklik adenozin monofosfat
MHZK	:	Miyozin hafif zincir kinaz
TEA	:	Tetraetilamonyum
4-AP	:	4-Aminopiridin
SUR	:	Sülfonilüre reseptör
PDE	:	Fosfodiesteraz
TM	:	Transmembranal

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Levosimendan'ın Pozitif İnotropik Etki Mekanizması	4
Şekil 2.2. Levosimendan'ın Vazodilatör Etki Mekanizması	5
Şekil 2.3. Levosimendan'ın Metabolizması	7
Şekil 4.1. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında; 10^{-6} M glibenklamid varlığında ve yokluğunda levosimendan'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları	17
Şekil 4.2. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında; 10^{-7} M iberiotoksin varlığında ve yokluğunda levosimendan'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları	17
Şekil 4.3. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında; 5 mM 4-aminopiridin varlığında ve yokluğunda levosimendan'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları	18
Şekil 4.4. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında levosimendan ve kromakalim'in kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları	18

TABLULAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Levosimendan'ın Sağlıklı Gönüllülerde ve Konjestif Kalp Yetmezlikli Hastalardaki Farmakokinetiği	6
Tablo 4.1. Karbakol ile kasılmış kobay trakea halkalarında levosimendan (n= 9) ve kromakalim (n=9)'in E_{max} (% papaverin) ve pD_2 (-log EC_{50}) değerleri	19

GİRİŞ

Levosimendan ({{[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-okso-3-piridazinil) fenil] hidrazino} propandinitril'in (-) enantiyomeri) dekompanse kronik kalp yetmezliğinin ve akut myokard enfarktüsünün tedavisinde etkisi kanıtlanmış pozitif inotropik bir ajandır (1). Levosimendan troponin C'nin N-terminal ucuna bağlanıp kalsiyum-troponin C konformasyonunda değişiklik yaparak kalsiyum bağlanmasını stabilize etmek suretiyle myokardın kontraktilitesini artırmaktadır (2, 3).

Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda levosimendan'ın pozitif inotropik etkisi dışında damarlarda gevşetici bir etkiye sahip olduğu da gösterilmiştir (4-7). Levosimendan'la oluşan etkide başta değişik tipteki potasyum kanallarının aktivasyonu olmak üzere (8), fosfodiesteraz (PDE) enzim inhibisyonu aracılığıyla hücre içi serbest kalsiyum düzeyini düşürmesi gibi etkiler sorumlu tutulmaktadır (9). Ayrıca damarlardaki gevşetici etkide nitrik oksit üretimini artırması ve damar düz kasına kalsiyum duyarlılığını azaltmasının rol oynadığını gösteren çalışmalar da vardır (10, 11). Bu nedenle halen levosimendan'ın değişik damar düz kaslarındaki vazodilatör etkiden sorumlu etki mekanizmaları araştırılmaktadır. Ancak levosimendan'ın damar dışı düz kaslardaki etkileri ve bu etkiden sorumlu mekanizmaları henüz çalışılmamıştır.

Biz de bu çalışmada bir düz kas preparatı olan trakeada ilk olarak levosimendan'ın etkisini ve bu etkide değişik tipteki potasyum kanallarının rolünün olup olmadığını araştırdık.

GENEL BİLGİLER

2.1. Levosimendan

Levosimendan ({{[4-(1,4,5,6-tetrahidro-4-metil-6-okso-3-piridazinil) fenil] hidrazino} propandinitril'in (-) enantiyomeri) dekompanse kronik kalp yetmezliğinin ve akut myokard enfarktüsünün tedavisinde etkisi kanıtlanmış pozitif inotropik bir ajandır (1). Yapılan klinik çalışmalarda β_1 -adrenoseptör agonistleri ve PDE 3 inhibitörleri gibi pozitif inotropik ilaçlarla gözlenen yan etkilerden dolayı kalp yetmezliğinin kısa ve uzun süreli tedavisinde bu ilaçların kullanımları kısıtlanmaktadır. Bu yan etkiler arasında hücre içi kalsiyum düzeyini ve sonrasında myokardın oksijen gereksinimini artırmaları ve aritmojenik etkiler yer almaktadır. Levosimendan oksijen tüketiminde önemli değişikliklere neden olmaksızın myokardiyal performansı ve myofilamentlere kalsiyum duyarlılığını artıran, kalp ritmi üzerine etkisiz inotropik etkili bir ilaçtır.

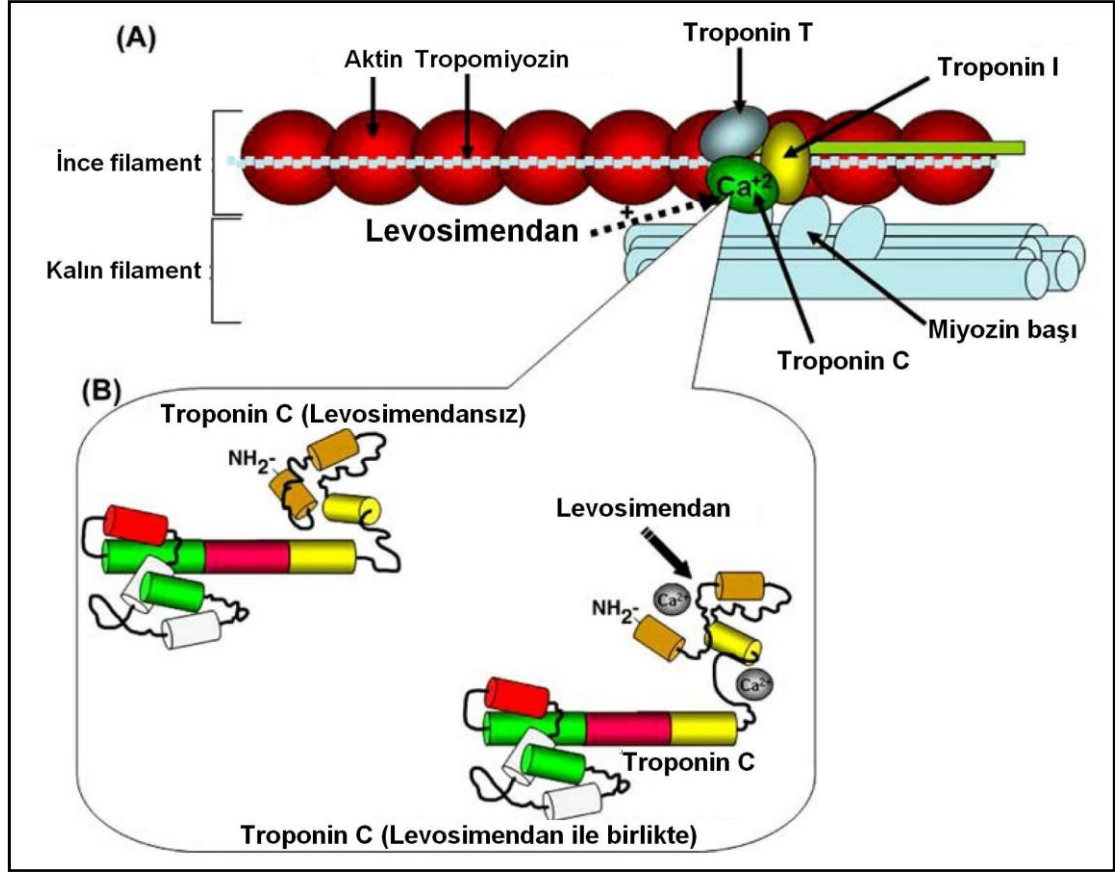
Kasılma fonksiyonu ileri derecede bozulmuş myokardın fonksiyonunu düzeltmek için oksijen, diüretikler, vazodilatörler ve antikoagülanların verilmesine ek olarak pozitif inotropik ajanlarla desteklemek oldukça önem taşımaktadır. Kardiyak fonksiyonları bozuk olan birçok hasta tipinde bu ilaçlar sıklıkla kasılabilirliği artırmakta ve semptomları düzeltmektedir (2). Birçok klinik çalışma sonucunda myokard kasılma fonksiyon bozukluğunun tedavisinde kullanılan bazı ilaçlara kısıtlamalar getirilmiştir (12). Mortaliteyi etkilemeyen digoksin dışındaki diğer ilaçlardan PDE 3 inhibitörleri ve β_1 -adrenoseptör agonistleri gibi pozitif inotropik ilaçların kalp yetmezliğinin uzun süreli tedavisinde malign ventriküler taşiaritmilerin gelişmesine ve ani kardiyak ölüm insidansında artışa neden olması gibi bazı zararlı etkilerinin olduğu saptanmıştır (13-16). Bundan dolayı, intraselüler kalsiyumda artış sağlamayan bir mekanizmayla etki gösteren pozitif inotropik ilaç geliştirmek için birçok araştırma yapılmıştır. Teorik olarak bu yaklaşımlar arasında kardiyak aritmi riskini veya myokardiyal oksijen gereksinimini artırmaksızın kasılma gücünü artırmak yer almaktadır (2). Levosimendan, pimobendan, EMD-53998, EMD-57033, ORG-30029, MCI-154 gibi ilaçlar kontraktıl proteinlerden troponin C'in kalsiyuma afinitesini artırmakta ve troponin C'nin kalsiyuma bağlanışını stabilize ederek kalsiyuma duyarlılığı artırmaktadır (17,18). Klinik çalışmalarda levosimendan'ın diyastolik fonksiyonları bozmadığı, klinikte tavsiye edilen konsantrasyonlarda çok az PDE inhibitör etkiye sahip olduğu, kalp ritmi üzerine etkisiz olduğu ve yaşam süresini artırmada dobutamin'e avantajlı bir ilaç olduğu saptanmıştır (19-22). Kalsiyuma duyarlılığı artıran ilaçlar içerisinde yalnızca levosimendan ve pimobendan klinik kullanıma sunulmuştur (23). Levosimendan ilk olarak İsviçre'de 2000 yılında onaylanmıştır ve halen yaklaşık 30 ülkede genellikle de Avrupa ve Güney Amerika'da klinik kullanımdadır (2).

2.1.1. Levosimendan'ın Etki Mekanizması

2.1.1.1. Pozitif İnotropik Etkisi

Myofilamentlere Ca^{+2} Duyarlılığının Artırılması: Myosit sarkolemması depolarize olduğunda sarkolemmal voltaj kapılı L-tipi kalsiyum kanallarından ekstraselüler Ca^{+2} hücre içerisine girer. Bu etki myofilamentlerde kasılma meydana gelmesi için yetersizdir ancak sonradan kasılmayı başlatacak sarkoplazmik retikulumdan sitozole büyük miktarda Ca^{+2} 'un pasif salınımını tetiklemektedir (24). Kasılma miyozin, aktin, tropomiyozin ve troponin kompleks (troponin C, troponin I, troponin T) gibi düzenleyici ve yapısal protein türleri arasındaki etkileşimle gerçekleşir. Sitolik Ca^{+2} gevşeme sırasında düşük konsantrasyonda olduğunda (yaklaşık $10^{-7}M$) tropomiyozin aktin ve miyozin arasındaki etkileşimi inhibe etmektedir. Sitolik Ca^{+2} yükseldiğinde (yaklaşık $10^{-5}M$) troponin C'ye bağlanmakta ve bu proteinin konformasyonunda değişikliğe neden olarak kasılma başlatılmaktadır. Troponin T'nin aktivasyonu ile adenosin trifosfat (ATP)'in reaktif bölgesinden tropomiyozin ve troponin I ayrılmaktadır. Böylece aktinin miyozinle etkileşimine izin verilmekte ve çapraz bağlanma işlemi gerçekleşmektedir. Ca^{+2} troponin C'ye bağlandığı sürece aktin ve miyozin arası sürekli etkileşim olmaktadır. Burada bilinmesi gereken bir nokta da kasılma sırasında Ca^{+2} 'un myofilamentleri tam olarak doyuramaması ve tam aktivasyonun yaklaşık % 25'i düzeyinde bir etki elde edilmesidir. Bu yedek aktivasyon ya bağlanma için gerekli Ca^{+2} miktarı ya da myofilamentlere Ca^{+2} duyarlılığı artırılarak harekete geçirilebilir. Gevşeme troponin I'nin fosforilasyonu ile birlikte sitozolik Ca^{+2} 'un genellikle sarkoplazmik endoplazmik retikulum kalsiyum adenosin trifosfataz izoform 2 (SERCA 2) aracılığıyla sarkoplazmik retikulum içine alınmasıyla başlatılmaktadır. Her kasılma-gevşeme döngüsünde hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda net kazanç veya kayıp olmamaktadır (2).

Levosimendan myokardın kontraktilesini kardiyak troponin C'nin N-terminal ucuna yüksek afiniteyle bağlanarak ve bu düzenleyici proteinine Ca^{+2} bağlanmasını stabilize ederek artırmaktadır (Şekil 2.1) (3, 25, 26, 27). Bu nedenle çapraz bağlanma döngüsünün hızı değiştirilmeksizin aktin miyozin filamentlerinin sistol sırasında etkileşimini uzatmaktadır (2). Myofilamentlere Ca^{+2} duyarlılığını artıran diğer ilaçlar hem sistol hem de diyastol sırasında troponin C- Ca^{+2} kompleksine bağlanırlar. Bu ilaçlar sistol sırasında kasılma fonksiyonunu artırırken, diyastolik fonksiyon için gerekli gevşemeyi sağlayamazlar (28). Oysa levosimendan'ın troponin C'ye bağlanması sitozolik Ca^{+2} konsantrasyonuna bağlıdır. Sistol sırasında Ca^{+2} 'a bağlanma artmasına karşın diyastol sırasında göreceli olarak bir değişiklik olmamaktadır (29). Bu mekanizma deneysel ve klinik çalışmalarda levosimendan'ın aritmiye neden olmadan veya myokardın oksijen gereksinimini artırmadan sol ventrikül fonksiyonunu düzelttiğini göstermektedir (19, 29, 30, 31, 32).



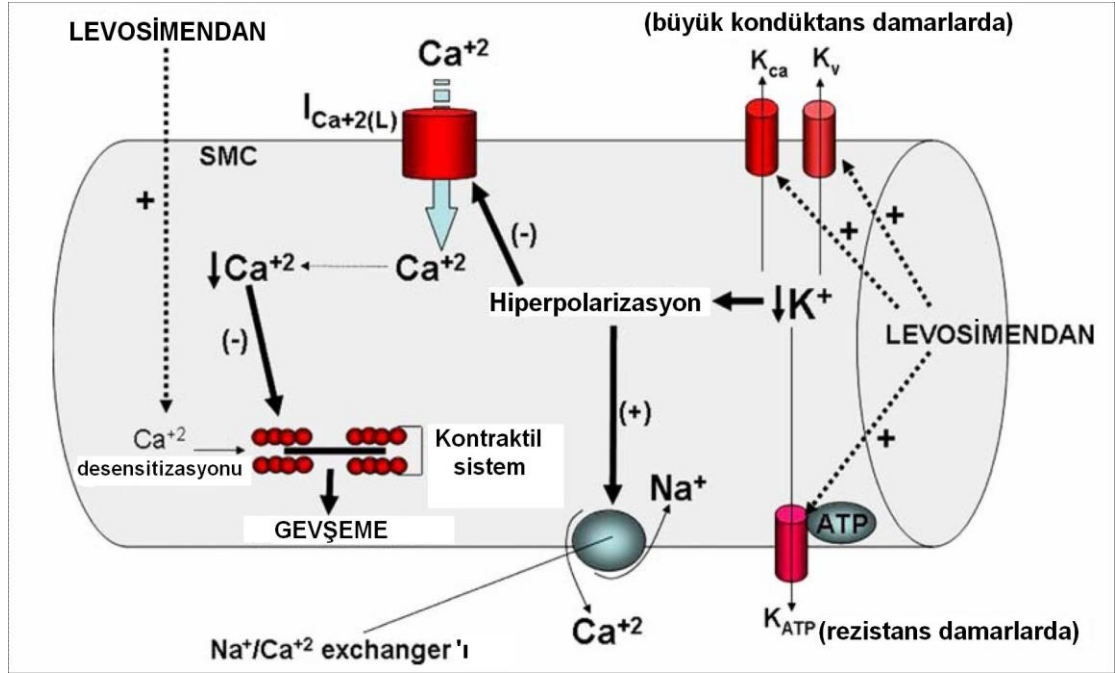
Şekil 2.1. Levosimendan'ın Pozitif İnotropik Etki Mekanizması

Fosfodiesteraz İnhibisyonu: Levosimendan'nın myofilamentlere Ca⁺² duyarlılaştırılmasına ek olarak farklı hayvan türleri ve insan kalplerindeki PDE'lardan genellikle PDE 3'ü inhibe ettiğini gösteren çalışmalar vardır (1, 20, 33, 34). Ancak, klinikte terapötik konsantrasyonlarda kullanıldığında levosimendan'la meydana gelen pozitif inotropik etkiden PDE inhibisyonundan çok Ca⁺² duyarlılığını artırıcı etkinin sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar vardır (1).

2.1.1.2. Levosimendan'ın vazodilatör etkisi

Levosimendan safen, portal, sistemik venlerde olduğu gibi koroner, pulmoner, renal, splanknik, serebral ve sistemik arterleri de içeren çeşitli damarlarda vazodilatasyona neden olmaktadır (4, 5, 6, 7, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41). Sistemik, koroner ve pulmoner damarların düz kasındaki vazodilatasyondan sorumlu mekanizmanın potasyum kanallarının açılışı olduğu ileri sürülmüştür (6, 36). Levosimendan'ın potasyum kanalları üzerinden olduğu düşünülen etkisinin değişik çapta damarlardaki farklı tipte potasyum kanalları üzerinden olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Büyük çaplı damarlarda K_V ve K_{Ca} kanallarını, küçük çaplı damarlarda ise K_{ATP} kanallarını aktive ederek vazodilatör etki gösterdiği bildirilmiştir (42, 43, 44). Potasyum kanallarının açılışı hücre membranını hiperpolarize ederek Ca⁺²'un içe doğru akımını inhibe etmekte, Na⁺-Ca⁺² pompasını Ca⁺² çıkışı yönünde aktive etmektedir. Böylece hücre içi Ca⁺²'un azalmasın sonucu damarlarda gevşeme meydana gelmektedir (Şekil 2.2) (2, 25).

Levosimendan'la oluşan vazodilatasyonda olası ikinci mekanizma olarak da damar düz kaslarındaki kontraktıl proteinlerin Ca^{+2} 'a duyarlılığının azalması düşünülmektedir (11). Bununla birlikte, PDE inhibisyonunun da levosimendan'la oluşan vazodilatasyona damar düz kaslarında siklik adenozin monofosfat (cAMP)'ı artırması nedeniyle katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (9). Sonuç olarak levosimendan ile ortaya çıkan vazodilatör etkiden temel olarak potasyum kanallarının açılmasının sorumlu olduğu düşünülmektedir (2).



Şekil 2.2. Levosimendan'ın Vazodilatör Etki Mekanizması

2.1.2. Levosimendan'ın Hemodinamik Etkileri

Klinik ve deneysel çalışmalarda levosimendan'ın kardiyak debiyi artırdığı gözlenmiştir. Teorik olarak düşünüldüğünde bu etki olasılıkla kalp atım hızının değişmesi, kardiyak performansın düzelmesi ve vazodilatasyon aracılığıyla olabilir. Klinikte önerilen dozlarda kullanıldığında levosimendan'la oluşan kardiyak debideki artışta kalp atım hızının rolünün olmadığı anlaşılmıştır (2). Kardiyak performans açısından değerlendirildiğinde in vitro, in vivo ve klinik çalışmalarda levosimendan'ın kardiyak performansı artırdığı saptanmıştır (22, 33, 39, 45). Bununla birlikte, klinik çalışmalarda levosimendan'la oluşan vazodilatasyonun kalp performansındaki artışa paralel olduğu gözlenmiştir (2). Sonuç olarak levosimendan ile kardiyak debideki artıştan kardiyak performanstaki artış ve vazodilatasyonun sorumlu olduğu düşünülmektedir.

2.1.3. Levosimendan'ın Farmakokinetiği

Kronik kalp yetmezliği sırasında merkezi sıvı volümünün düşmesi, sıvı retansiyonu, karaciğer ve böbrekler gibi farklı organlara kan akımının azalmasından dolayı birçok ilacın farmakokinetiğinin değişmesine karşın, sağlıklı gönüllülerde ve hasta grubunda levosimendan'ın intravenöz uygulanişı ile elde edilen farmakokinetik

parametrelerin benzer olduğu bulunmuştur (Tablo 2.1) (2, 46). Levosimendan intravenöz bir ajan olarak geliştirilmiştir. Levosimendan'ın oral biyoyararlanımının yüksek olmasına karşın (% 85) farmakokinetiğinin karmaşık olmasından dolayı şimdilik oral preparatları geliştirilmemiştir (47). Kararlı plazma düzeylerine infüzyon başladıktan sonra 5 saat içerisinde ulaşmaktadır (46, 48, 49). Levosimendan'ın β -eliminasyon yarı ömrü yaklaşık olarak 1 saat, sanal dağılım hacmi 20 litre ve total vücut klerensi 300 mL/dak'dır. Levosimendan pH 7,4'de iyonize durumdadır (pKa = 6,26) ve plazma proteinlerine % 98 oranında bağlanır (2).

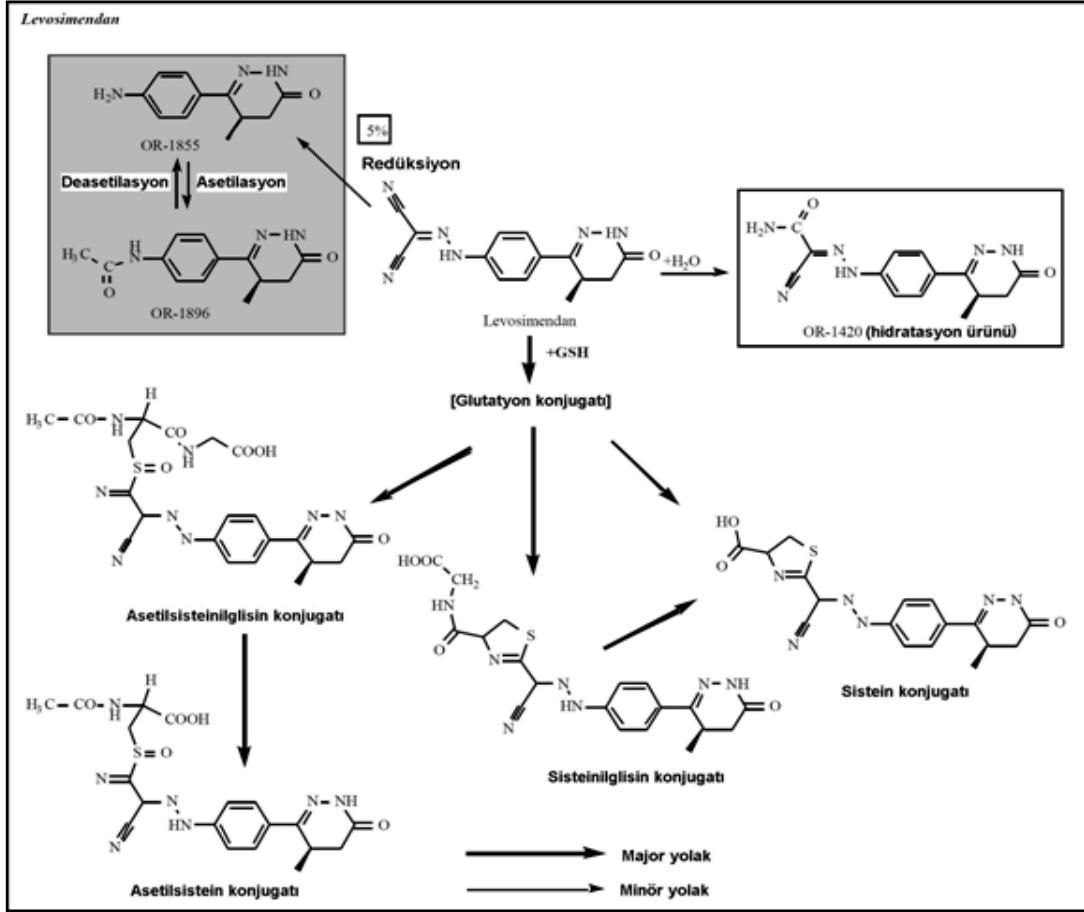
Tablo 2.1. Levosimendan'ın Sağlıklı Gönüllülerde ve Konjestif Kalp Yetmezlikli Hastalardaki Farmakokinetiği

	Sağlıklı Gönüllülerde		KKY'li Hastalarda	
	Değişmemiş Levosimendan	Toplam İlaç	Değişmemiş Levosimendan	Toplam İlaç
$t_{1/2\alpha}$, h	0.20 ± 0.08	0.16 ± 0.08	0.26 ± 0.08	0.17 ± 0.08
$t_{1/2\beta}$, hr	0.96 ± 0.16	0.92 ± 0.16	1.03 ± 0.11	0.94 ± 0.29
$t_{1/2\gamma}$, h	—	5.73 ± 1.53	—	5.23 ± 0.99
Cl_{tot} , ml/min	359 ± 69	104 ± 15	296 ± 61	85 ± 20
V_c , l	12.3 ± 3.3	7.6 ± 0.9	13.0 ± 2.7	7.3 ± 1.3
V_s , l	21.9 ± 5.9	27.9 ± 5.3	19.5 ± 4.5	23.8 ± 2.8
V_{area} , l	30.3 ± 9.1	52.2 ± 20.1	26.4 ± 5.9	37.4 ± 5.5

(Not: Veriler ortalama ± Standart Sapma şeklinde verilmiştir. Her grup için n=15'dir. KKY=Konjestif Kalp Yetmezliği; Cl_{tot} = total klerens; $t_{1/2\alpha}$, $t_{1/2\beta}$ ve $t_{1/2\gamma}$ = α , β ve total eliminasyon yarı ömürler; V_{area} =eğri altı alan ile ifade edilen dağılım hacmi; V_c =dağılımın merkezi hacmi; V_s =kararlı durum dağılım hacmi)

Levosimendan'ın metabolizması sonucu aktif ve inaktif metabolitleri meydana gelmektedir. Levosimendan'ın başlıca metabolizma yolağı glutatyon ile konjugasyon sonucu inaktif metabolitlerinin oluşmasıdır. Levosimendan'ın % 5'inin redüksiyon ile metabolize edilmesi sonucu aktif metabolit OR-1855 meydana gelmektedir. OR-1855'in asetilasyonu ile yine aktif metabolit OR-1896 oluşmaktadır. Levosimendan'ın çok az bir kısmının hidrasyonu sonucunda inaktif metabolit OR-1420 oluşmaktadır (Şekil 2.3)(50). Bu metabolitler plazma proteinlerine % 40 oranında bağlanmaktadır, idrar ve feçesle elimine edilmektedir (25). Klinik olarak en yararlı metabolit OR-1896 kalsiyum duyarlılığını artırıcı, zayıf PDE 3 inhibe edici özelliğe sahiptir ve ana bileşiğe benzer şekilde pozitif inotropik etki göstermektedir. Kronik kalp yetmezlikli hastalarda levosimendan'ın 24 saat infüzyonunun ardından OR-1896 maksimum plazma konsantrasyonuna yaklaşık olarak 2 günde ulaşır ve eliminasyon yarı ömrü 80-90 saattir. Bu nedenle levosimendan'ın uygulamasının kesilmesinden sonraki gözlenen uzamış ve güçlü hemodinamik etkilerden sorumlu olabilir. OR-1896 gibi aktif ve uzun ömürlü bir metabolitin oluşması nedeniyle levosimendan intravenöz olarak 24 saat boyunca

uygulanmaktadır. Sınıf II-IV kalp yetmezlikli hastalarda levosimendan'ın 6-24 µg/kg bolus uygulamasının ardından 0,05-0,2 µg/kg/dak 24 saat infüzyonuyla 10-100 ng/ml (0,035-0,35 µM) plazma konsantrasyonları elde edilmektedir (2).



Şekil 2.3. Levosimendan'ın Metabolizması

2.1.4. Levosimendan'ın Yan Etkileri

Levosimendan orta dereceli ve şiddetli kalp yetmezlikli hastalarda genellikle iyi tolere edilebilir ve yan etki sıklığı plaseboya benzer şekilde % 17-29'dur (2). Ancak damar direncinde bu ilaçla ortaya çıkan azalma değişik hemodinamik etkilere neden olabilir. Hipotansiyon çok sık görülen önemli yan etkileri arasındadır (51, 52). Bu vazodilatör etki bulantı, baş ağrısı, baş dönmesi gibi diğer yan etkilerden de sorumlu olabilir (22, 39, 53, 54). Vazodilatör etki önerilen levosimendan dozlarında çok az görülmekle birlikte myokardiyal iskemi, kardiyak aritmiler ve hipoksiye neden olabilir (51, 54). Levosimendan'ın kardiyak ritm üzerine yan etkileri de söz konusudur, ancak bu proaritmik etkisinin yaşamı tehdit edecek boyutta olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (21). Bununla birlikte levosimendan'ın infüzyonunun ardından serum potasyum seviyeleri, eritrosit sayısı, hemoglobin ve hematokrit değerlerinde az da olsa düşüşler gözlenmektedir, bu nedenle klinikte bu parametrelerin rutin kontrolü ve düzeltilmesi önerilmektedir (2).

2.1.5. Levosimendan'ın Diğer Olası Endikasyonları

Akut dekompanse kronik kalp yetmezliğinin kısa süreli tedavisinde diüretikler, anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve dijitallerle yapılan konvansiyonel tedavi yetersiz kaldığı ve inotropik ajanlara gereksinim duyulduğu durumlar için levosimendan'ın kullanımı onaylanmıştır. İlgi çekici profili nedeniyle diğer olası endikasyonları halen incelenmektedir. Levosimendan'ın myokard iskemisi ve sonrasında, akut koroner sendromlu hastalarda perkütanöz transluminal koroner anjioplasti sonrasında gelişen myokardiyal sersemlemede, kalp cerrahisinde ameliyat öncesi ve sonrası durumlarda, kardiyojenik şokta, sağ ventrikül fonksiyon bozukluğunda olumlu hemodinamik etkileri gösterilmiştir (2). Levosimendan'ın antiinflamatuvar, antiapoptotik ve kardiyoprotektif etkilere sahip olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (25).

Bütün bu veriler toparlandığında deneysel çalışmalarda geniş ölçüde araştırılan ve klinik çalışmaların artan konusu haline gelen levosimendan vazodilatör özelliği ile birlikte pozitif inotropik etkili bir ilaçtır. Amerika'da ve Avrupa'da yapılan klinik çalışmalar halen devam etmektedir. Bu çalışmalarda kronik kalp yetmezlikli hastaların kısa ve uzun dönem tedavisinde levosimendan'ın rolünün saptanması amaçlanmıştır. Bu güne kadar levosimendan'la elde edilen klinik deneyimler cesaret vericidir. Çünkü levosimendan diğer kardiyotonik ilaçlardan farklı olarak oldukça yararlı birkaç etkiyi bir arada bulundurmaktadır. İlk olarak levosimendan myokardiyal kasılma gücünü hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu yükseltmeden artırmaktadır. Bu nedenle myokardiyal oksijen gereksinimini artırmadığı ve kalp ritmi üzerine etkisiz olduğu görülmektedir. Bu etki katekolaminler ve PDE 3 inhibitörleri ile karşılaştırıldığında klinik açıdan oldukça yararlıdır. İkinci olarak levosimendan diğer kalsiyum duyarlılığını artıran ilaçlardan farklı olarak myokardiyal gevşemeyi bozmamaktadır. Üçüncü olarak K_{ATP} kanallarının uyarılması koroner kan akımını düzeltmekte, preload ve afterload'u azaltmakta, anti-iskemik etkilere neden olmaktadır. Sonuç olarak, ilacın kısa ve uzun süreli kullanımında standart inotropolarla karşılaştırıldığında yaşam süresi üzerine avantajlı ve güvenli olduğu düşünülmektedir (2).

2.2. Hava Yolu Düz Kasında Eksitasyon Kontraksiyon Kenetlenme Mekanizması

Fizyolojik koşullarda iskelet kasının kasılabilmesi için kas hücre membranının depolarize edilmesi ve bu depolarizasyonun aksiyon potansiyeli şeklinde olması gerekir. Membran depolarizasyonu sonucu kasılmanın meydana gelmesi olayına '*elektromekanik kenetlenme*' denir. Düz kas kasılmasında elektromekanik kenetlenme olabilmesi için çizgili kastan farklı olarak mutlaka aksiyon potansiyeli şeklinde hızlı bir potansiyel değişimine gereksinim yoktur, aksiyon potansiyeli yapmayacak kadar zayıf depolarizasyon dalgalanmaları da yavaş bir şekilde kasılmayı sağlayabilir. Düz kasın kasılabilmesi (sarkoplazmik kalsiyum düzeyinin belirli bir eşik değer üzerine yükselebilmesi) için mutlaka depolarizasyon olması gerekmez; bu kaslar depolarizasyon olmaksızın da fizyolojik etkenler (nöromedyatörler, hormonlar ve otakoidler gibi) tarafından kasılabilirler (55). Fizyolojik etkenler ve onların etkisini taklit eden ilaçlar tarafından depolarizasyon meydana gelmeksizin düz kas hücrelerinin kasılmasına '*farmakomekanik kenetlenme*' denir (56).

Bütün kas tiplerinde elektro veya farmakomekanik eksitasyon aracılı kas kasılmasının gerçekleşebilmesi için kalsiyum gereklidir. Kısacası kaslarda eksitasyon-kontraksiyon kenetinden temel olarak kalsiyum iyonu sorumludur (57). Hava yolu düz kasının eksitasyonu sonucu intraselüler depolardan hücre içerisine kalsiyum salınımı gerçekleşmektedir. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonu ($[Ca^{+2}]_i$) yaklaşık olarak $0,1\mu M$ 'dan $1\mu M$ 'a artmaktadır. $[Ca^{+2}]_i$ 'daki hızlı artış miyozin hafif zincir kinaz (MHZK) enzimini aktive eden kalsiyum/kalmodulin kompleksinin oluşumu ile sonuçlanır. MHZK ise düzenleyici miyozin hafif zinciri fosforile eder. Fosforilasyon sonucunda miyozin başlarındaki ATPaz aktive olur sonuçta aktin ve miyozin arasında çapraz köprü oluşur (58). Kasılma çapraz köprülerin kırılıp yeniden oluşması ile başlar. Kalsiyum iyonunun sarkoplazmada kritik bir düzeyin altına düşmesi miyozin fosfataz'ın aktivasyonuna veya egemen duruma geçmesine neden olur. Bu enzim fosforile edilmiş düzenleyici miyozin hafif zincir molekülünden fosfat gruplarının koparılmasına neden olur (defosforilasyon). Söz konusu defosforilasyon çapraz köprüler ile aktin arası etkileşmeyi inhibe eder ve bunun sonucunda gevşeme meydana gelir (55, 59).

Hücre içi kalsiyumdaki artış farmako ve elektromekanik kenetlenme sırasında farklı mekanizmalarla oluşmaktadır. Bazı kas tiplerinde elektromekanik kenetlenme diğer bazı kas tiplerinde ise farmakomekanik kenetlenme ön plandadır. Hava yolu düz kas hücrelerindeki farmakomekanik kenetlenme agonistin reseptörüne bağlanmasıyla başlar. Sonrasında membrana bağlı guanin nükleotid düzenleyici proteinler (G proteinler) aracılığıyla fosfolipaz C enzimi aktive edilir. Fosfolipaz C ile membran fosfolipidlerinden fosfotidil inozitol-4,5-bifosfat'dan inozitol-1,4,5-trifosfat ve diaçilgliserol oluşur. İnozitol-1,4,5-trifosfat hücre içi kalsiyumda hızlı bir artışa ve kontraksiyonun başlamasına yol açan sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesine neden olmaktadır. Diaçilgliserol ise protein kinaz C'yi aktive ederek etkinin devamını sağlamaktadır. Hava yolu düz kasında farmakomekanik kenetlenme sırasında dihidropiridin-duyarlı voltajla düzenlenen kalsiyum kanallarından ekstraselüler kalsiyumun içeri girişi kalsiyum yükselişine çok az miktarda katkıda bulunmaktadır. Ancak intraselüler kalsiyum depolarının yeniden doldurulmasına önemli katkısı söz konusudur. Diğer yandan agonistle indüklenen kasılmalar sırasında reseptörle düzenlenen kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyumun içeri girişi $[Ca^{+2}]_i$ yüksekliğinin devamından sorumludur. Hücre içi kalsiyumdaki artış büyük kondüktanslı kalsiyumla aktive edilen potasyum kanalları (BK_{Ca}) aracılı hiperpolarizasyonla agonistle oluşan kasılmayı önlemeye meyillidir ancak BK_{Ca} kanallarının G proteini kenetli inhibisyonu bu mekanizma önlenmektedir.

Elektromekanik kenetlenme sırasında ise ekstraselüler potasyum konsantrasyonundaki artış ile meydana gelen hücre depolarizasyon kalsiyumun hücre içine girişini tetikleyen dihidropiridin-duyarlı voltajla düzenlenen kalsiyum kanallarını açmaktadır. Bu ise kasılma için gerekli Ca^{+2} 'un sarkoplazmik retikulumdan salıverilmesini sağlamaktadır (57).

2.3. Potasyum Kanalları

Son 20 yıl içerisinde tekli kanal kayıtları ve moleküler klonlama tekniklerindeki ilerlemelerle birlikte iyon kanallarının fizyolojisi hakkındaki bilgilerimiz giderek artmıştır (60).

İkinci dünya savaşı sırasında belli başlı iyonların izotoplarının (^{42}K , ^{24}Na , ^{36}Cl , ^{45}Ca vb.) elde edilebilmesiyle birlikte 1945'den sonra elektrofizyolojik çalışmalarda hızlı ilerlemeler kaydedilmiştir (61). En önemli ilerlemeler voltaj klamp metodunu yeniden tanımlayan Hodgkin ve arkadaşlarının (1952) bu metodu aksiyon potansiyelinin mekanizmasını araştırmak amacıyla kalamarların dev aksonunda uygulamasıyla kaydedilmiştir. İlk önce membran potansiyeli ölçülmesiyle aksiyon potansiyelinin temelinde yatan Na^+ ve K^+ kondüktanslarındaki voltaja ve zamana bağlı değişikliklerin belirlenmesi sağlanmıştır. K^+ kondüktansındaki artış Na^+ 'dan sonra meydana geldiği ve voltaja bağımlılığı dikkat çekici bir şekilde non-linear olduğundan gecikmiş veya dışa rektifiye olarak tanımlanmıştır (62). İkinci olarak, Katz tarafından iskelet kasında oldukça farklı rektifiye K^+ kondüktansı tanımlanmıştır. Burada K^+ akımları gecikmiş, rektifiye akımlara ters yönde ve membran potansiyelini daha az negatif yapan bir akım olduğundan alışılmışın dışında içe rektifiye olarak tanımlanmıştır (63). 1950'lerde ise ilk defa insan eritrositlerinde sitozoldeki kalsiyum konsantrasyonundaki artışla aktive edilen K^+ geçirgenliği (P_{K}) gösterilmiştir (64).

1970'ler ve 1980'lerin başında hayvansal kökenli üç peptid toksininin potasyum kanallarını bloke ettiği keşfedilmiştir. Bu peptidler arasında apamin, dendrotoksin, karibdotoksin yer almaktadır (65-68). Sonrasında 'patch elektrot kayıt sistemi'nin ve bununla ilişkili 'whole cell recording' metodunun tanımlanmasıyla intraselüler elektrotlarla herhangi bir hasar oluşturmadan hücrenin elektriksel aktivitelerinin izlenmesine olanak sağlanmıştır (61). 1980 yılında M akımı (muskarinik agonistlerle inhibe edildiği için bu ismi almış) Brown Adams tarafından tanımlanmıştır (69). 1983 yılında ise Noma tarafından kardiyak myositlerde K_{ATP} kanalları tanımlanmıştır. Çok geçmeden bu kanalın pankreastaki β hücrelerinden insülin sekresyonunun kontrolünde anahtar rol oynadığı bulunmuştur (70). Bu kanal hücre içi ATP konsantrasyonundaki azalma ile aktive edilmektedir. Kalsitonin gen ilişkili peptid ve adenosin gibi çeşitli endojen agonistlerin düz kas K_{ATP} kanallarını aktive ederek hiperpolarizasyon ve gevşemeye neden olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte noradrenalin, 5-hidroksitriptamin, nöropeptid Y gibi değişik nörotransmitterlerin ve anjiyotensin II, endotelin I gibi vazokonstriktörlerin ise K_{ATP} kanallarını inhibe ederek depolarizasyon ve kasılmaya neden olduğu ortaya konmuştur (71). Tekli kanal kaydıyla birlikte apamin ve karibdotoksinin kullanımı sonucunda üç ana K_{Ca} kanal tipi ortaya konmuştur. Bu kanallar kondüktanslarına göre küçük kondüktanslı, orta kondüktanslı ve büyük kondüktanslı kanallar olarak tarif edilmiştir. (61)

2.3.1. Potasyum Kanallarının Fizyolojisi

Potasyum kanalları kalp atım hızının düzenlenmesi, kas kasılması, nörotransmitter salınımı, nöronal eksitabilite, insülin sekresyonu, epitelyal elektrolit transportu, hücre volümünün düzenlenmesi ve hücre proliferasyonu gibi değişik fizyolojik süreçlerde kritik rol oynayan membran proteinlerinin bir ailesidir (61, 72). Değişik rollere sahip oldukça farklı tipte potasyum kanalları bulunmaktadır. K_{V} gibi bazı potasyum kanalları membran potansiyelindeki değişikliğe yanıt olarak aktive olur. Bu kanallar hücrede depolarizasyona karşı hareket etmektedir ve aksiyon potansiyelinde repolarizasyonda önemlidir. Diğer bir potasyum kanalı intraselüler Ca^{+2} 'daki yükselmeye aktive edilmektedir. Bu kanallar aşırı Ca^{+2} girişini engelleyerek kas gevşemesi ve nörotransmitter salınımının inhibisyonunda rol

oyunlar. Diğ er bir sınıf potasyum kanalları i e rektifiye kanallar temel olarak hiperpolarize edici bir voltaj aralı ğ ının uzerinde akım ge erirler ve bir ok hucrede dinlenme membran potansiyelinin su rdurulmesinde onemli rol oynarlar. Bazı i e rektifiye kanallar intraseluler ATP (ATP duyarlı kanallar) seveleri ile duzenlenmekte, hucresel metabolizma ve membran potansiyeli arasında bağ lantı sağ lamaktadır. Bu kanallar insu lin sekresyonunun metabolik kontrolu ve kas kasılmasında onemli rol oynamaktadır. I e rektifiye kanal ailesinin diğ er u yeleri G-proteinine bağ lı reseptorlerin ligand ve no rotransmitter ile aktivasyonu sonucu G proteiniyle aktive edilmektedirler. G-proteini ile aktive edilen potasyum kanalları kalp atım hızının kontrolu nde ve no ronol fonksiyonlarda anahtar rol oynamaktadır. Bir ok merkezi no ronda ‘arka plan’ veya ‘sızı ntı’ şeklinde potasyum konduktansına izin veren potasyum kanalları bildirilmiş tir. Bu kanallar no rotransmitterler ve intraseluler ulaklar ile duzenlenebilmekte membran potansiyelinin kontrol edilmesine ve santral sinir sisteminde hucresel eksitabiliteye katkı da bulunmaktadır (73).

2.3.2. Potasyum Kanalların Yapısı ve Sınıflandırılması

Potasyum kanalları por oluş turucu α - ve duzenleyici β -alt u nitelerinden oluş maktadır. Sınıflandırma bu alt u nitelere go re yapılmaktadır ve yapısındaki aminoasit dizilimindeki benzerliklere go re de alt ailelere ayrılmaktadır.

Bu gu ne kadar 80’den fazla kanalla iliş kili gen (o rneğ in; por oluş turucu alt u nite ve modu lator alt u niteler) klonlanmış ve karakterize edilmiş tir. Por oluş turucu potasyum kanal α -alt u nitelerin u genel grubu tanımlanmış tir.

Bunlar arasında;

- Altı transmembranal (TM) segment ve bir por oluş turucu bo lge i erenler
- İki TM segment ve bir por oluş turucu bo lge i erenler
- Do rt transmembranal segment ve iki por oluş turucu bo lge i erenler yer almaktadır (73).

2TM ailesi i e rektifiye potasyum kanallarıdır ve G-proteini aracılığ ıyla kardiyak pacemaker uzerinde asetilkolin’in inhibitör etkisine aracılık etmektedir. Klasik i e rektifiye kanallar do ğ al halde su lfonilure reseptorleri ile iliş kili olan ATP duyarlı kanallar gibi iskelet, kalp kası ve no ronlarda go zlenmektedir.

4TM kanalları yakın zamanlarda tanımlanmış bir gruptur ve bir ok no ronda pasif (sızı ntı şeklinde) konduktansa katkı da bulunduğ u duş unlmektedir. Hucra volu münün duzenlenmesinde de rolleri vardır. 2TM ve 6TM alt u nitelerinin tersine 4TM alt u niteleri iki por oluş turucu diziyeye sahiptir.

Son olarak yaygın olan 6TM grubunda her alt u nite tek bir por oluş turucu bo lgeye sahiptir ve fonksiyonel kanal 2TM sınıfında olduğ u gibi tetramerdir. Bunlar kalsiyumla aktive edilen potasyum kanallarının baş lı ca 3 tipi ve voltajla aktive edilen potasyum kanallarıdır (61).

Potasyum kanalları por oluş turucu α alt u nitelere ek olarak kanalların biyofiziksel ve farmakolojik o zelliklerini etkileyebilen β -alt u niteleri de i ermektedir. Potasyum kanalı duzenleyici β -alt u niteleri sitoplazmik proteinler, tek transmembranal geç iř li proteinler (min K ve min K iliş kili proteinler-mirps), bu yu k ATP bağ layıcı kaset (ABC) transport iliş kili proteinler (su lfonilure reseptorleri) gibi geç itli molekuler grupları temsil etmektedirler (73).

Potasyum kanalları değişik sayıda α -alt ünite ve β -alt ünitelerinin kombinasyonlarından oluşmaktadır. Kir6.x ve SUR6.x'in değişik kombinasyonları farklı karakteristik ve fonksiyonel özelliklere sahip dokuya özgü K_{ATP} kanal alt tiplerinin oluşumunu sağlamaktadır. Örneğin, düz kaslara ait iki tip K_{ATP} kanalı klonlanmış ve tanımlanmıştır (Kir6.2-SUR2B ve Kir6.1-SUR2B kanalları) (71). Bütün alt üniteler potasyum kanal kimliğini korumak için kanal merkezi boyunca uzanan 5 aminoasit (özellikle TVGYG: treonin, valin, glisin, tirozin ve glisin) dizisi içeren selektif filtre oluşumundan sorumlu porlar oluşturur. Filtre porun en dar kısmı olup aminoasit dizilimindeki oksijen atomu aracılığıyla yalnızca K^+ iyonlarının geçişini sağlamaktadır (61, 74, 75).

Başlangıçta değişik selektiflik derecesi ile potasyum kanallarını etkileyen yalnızca iki ajan bilinmekteydi. Bunlar tetraetilamonyum (TEA) ve 4-aminopiridin (4-AP)'dir. Ancak bugün potasyum kanalları üzerinden etki gösteren birçok ajan bulunmaktadır. Retigabin (M akımı), NS1619, ketokanazol ve asetazolamid büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktive edilen K^+ kanalları (BK_{Ca}), 1-etil-2-benzimidazolinon (EBIO: SK 1-4) ve kromakalim (K_{ATP}) kanal açıcı ajanlara örneklerdir. Potasyum kanalları için çok sayıda değişik blokörler de söz konusudur. Bunlardan bazıları hayvan zehirlerinden izole edilen peptidlerdir. Bu tip peptidler yılanlarda (yeşil mamba'dan dendrotoksinler), bal arısında (apamin, tertiapin), salyangozda (bazı konotoksinler), örümceklerde (hanatoksin, SGTx) ve tüm akreplerde bulunmaktadır. Akrep toksinleri K_v 1.3 blokörü margotoksin ve agitoksin, BK_{Ca} kanal blokörü karibdotoksin ve K_v 1 kanal blokörü iberiotoksin, noksiustoksin ve SK_{Ca} kanal blokörü skillatoksin ve tamapin'den oluşmaktadır (61).

2.3.3. Hava Yolu Düz Kasında Potasyum Kanalları

Potasyum kanalları hava yolu düz kas hücrelerinde ve eozinofiller, bazofiller, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerinde yaygın olarak bulunmaktadır (76). Örneğin, hava yolu düz kas hücrelerinde BK_{Ca} , voltaj bağımlı gecikmiş rektifiye K^+ kanalları (K_v), K_{ATP} gibi değişik tipte potasyum kanalları tanımlanmıştır (77). Bu kanalların uyarılabilen hücrelerde önemli fizyolojik fonksiyonları söz konusudur. Potasyum kanalları dinlenme membran potansiyelinin sağlanmasında ve repolarizan veya depolarizan akımların oluşmasında rol oynarlar. Başlıca etkileri buldukları hücrelerin uyarılabilirliklerini ve uyarının dağılımını azaltmaktır (60).

Hava yolu düz kas hücreleri -45'den -60 mV'a kadar değişebilen oldukça kararlı bir dinlenme membran potansiyeline sahiptir (57). İnsan ve kobay gibi birkaç türde hava yolu düz kas hücrelerinin dinlenme potansiyelinde çok az dalgalanmalar görülür (78,79). Bu dalgalanmalar güçlü dışa doğru rektifikasyon nedeniyle nadiren aksiyon potansiyeline dönüştürülebilir. Bunun anlamı membranın depolarize olma çabasının potasyum kanallarının açılmasıyla oluşan membran hiperpolarizasyonu aracılığıyla engellenmesidir. Potasyum kanal kondüktansı hava yolu düz kas hücrelerinin rektifiye iyon akımlarından ve elektriksel stabilitesinden sorumludur (77, 57, 80).

2.3.3.1. Voltaj Bağımlı Gecikmiş Rektifiye Potasyum Kanalları

Hava yolu düz kas hücresindeki K_v kanalları 4 adet α -alt üniteleri (K_v 1.1, K_v 1.2, K_v 1.3 ve K_v 1.5) ve 4 intraselüler β -alt ünitelerinden (K_v β 1, β 2, β 3, β 4) oluşmaktadır (81, 82, 83). K_v kanalları kalsiyumdan bağımsız voltaja duyarlı

potasyum kanallarıdır. Sadece 20mV'un üzerinde membran depolarizasyonu kanalı aktive eder ve gecikmiş dışa doğru potasyum akımı gerçekleşir (60). Bu kanallar üzerinde çalışmak için selektif inhibitörlere ihtiyaç vardır. 4-AP (1-5mmol/L) K_v potasyum kanallarının inhibitörü olup bu tip kanal araştırmaları için uygun bir farmakolojik ajandır (57, 77, 84, 85). Gastrointestinal (86), özefagus (87) ve damar düz kaslarında (88) yapılan çalışmalar K_v kanallarının düz kasların dinlenme membran potansiyelinin ve dinlenme geriliminin kontrolünde önemli rol oynadığını göstermektedir. K_v kanalları intraselüler kalsiyum konsantrasyonu ve membran kalsiyum kanal aktivitesinin kontrolüyle düz kas uyarılabilirliğini sağlayan önemli bir potasyum kanalıdır (60).

2.3.3.2. Büyük Kondüktanslı Kalsiyumla Aktive Edilen Potasyum Kanalları

Özellikle geniş hava yollarının ve küçük bronşiyollerdeki düz kas hücrelerinin BK_{Ca} kanallarından zengin olduğu gösterilmiştir (84, 89). Bu kanallar altı transmembranal segment bir por oluşturucu bölge içeren α ve iki transmembranal bölge içeren β -alt ünitelerinden oluşmaktadır (90). İntraselüler kalsiyum konsantrasyonunun artışı ve hücre membranının depolarizasyonu BK_{Ca} kanallarını aktive etmektedir. BK_{Ca} kanallarının aktivasyonu voltaj duyarlı kalsiyum kanallarını kapatan ve kalsiyum inluksunu azaltan dışa doğru potasyum hareketine ve membran hiperpolarizasyonuna yol açmaktadır. Bu nedenle BK_{Ca} kanalları kontraksiyon ve depolarizasyonu sınırlamada negatif feedback mekanizması olarak anahtar rol oynamaktadır (60). Sıçan bronşiyal düz kasında yapılan bir çalışmada BK_{Ca} kanallarının eksitator uyarı ile indüklenen gevşeme ve kasılmanın düzenlenmesinde rolünün olduğu ileri sürülmüştür (91). BK_{Ca} kanallarının membran dinlenme potansiyelinin sağlanmasına katkıda bulunup bulunmadığı tartışmalıdır (60). Akrep zehiri bileşenlerinden karibdotoksin ve iberiotoksin genellikle BK_{Ca} kanallarının selektif blokörleri olarak kullanılmaktadır (57).

2.3.3.3. ATP Duyarlı Potasyum Kanalları

K_{ATP} kanalları por oluşturucu α -alt ünitesi olarak içe rektifiye potasyum kanal ailesinden Kir6.x (Kir6.1 veya Kir6.2) ve düzenleyici β -alt ünitesi olarak ATP-bağlayıcı kaset protein süper ailesinden sülfonilüre reseptörü SUR'dan (SUR1 veya SUR2) oluşan hetero-oktamer bir kanaldır (92). İlk olarak insülin sekresyonunun düzenlendiği pankreatik β hücrelerinde tanımlanmasından sonra düz kaslar ve çeşitli nöronları da içeren değişik dokularda da belirlenmiştir. Bu kanallar voltaj ve hücre içi kalsiyum düzeylerinden çok az etkilenmesine karşın temel olarak hücre içi ATP/ADP oranı ile düzenlenmektedir. Bu tip kanallar ATP ile inhibe edilmekte, MgADP ile açılmaktadır (60). Geçtiğimiz on yıl içerisinde kanal aktivasyonu yapan ligandlara benzer şekilde potasyum kanallarını açabilen kromakalim, lemakalim, bimakalim, rilmakalim gibi yeni farmakolojik ajanlar ortaya çıkmıştır. SDZ 217-744 ve KCO 912 gibi ikinci kuşak benzopiran derivelerinin hava yolları üzerine daha selektif olduğu gösterilmiştir. Ek olarak pinasidil gibi bazı siyanoguanidin deriveleri de geliştirilmiştir. Bu bileşikler potasyum kanal açıcıları olarak adlandırılmaktadır. Glibenklamid gibi sülfonilüre deriveleri ise K_{ATP} kanallarının selektif blokörü olarak kullanılmaktadır (85, 93, 94, 95, 96). Sıçanlarda ve insan hava yolu düz kas hücrelerinde yapılan çalışmalarda dinlenme durumunda glibenklamid'in bazal tonus, dinlenme membran potansiyeli ve intraselüler kalsiyum konsantrasyonu üzerine etkisiz olduğu gösterilmiştir (91, 97).

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Trakeanın İzolasyonu

Çalışmada 300-350g ağırlığında 43 adet Dunkin Hartley kobayları kullanıldı. Kobaylar 1g/kg üretan ile anestezi edildikten sonra toraks bölgesi dikkatlice açılıp 2-3 cm uzunluğunda trakea halkası elde edilecek şekilde çıkarıldı. Trakealar önceden % 95 O₂- % 5 CO₂ ile gazlandırılan fizyolojik tuz solüsyonu içerisine konuldu ve dokuların etrafındaki bağ dokusu temizlendikten sonra 0.5 cm genişliğinde (4-5 kıkırdak içeren) halkalar şeklinde kesildi. Bu şekilde hazırlanan trakea preparatları içerisinde Krebs solüsyonu bulunan ve içeriği aşağıda belirtilen; (mM: NaCl 118, KCl 5, NaHCO₃ 25, NaH₂PO₄ 1.0, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5 ve glikoz 11.2) 20 ml'lik organ banyolarına asıldı. Banyolardaki solüsyonun ısı 37°C olacak şekilde sürekli ölçüm yapan bir termometre aracılığıyla sabit tutuldu. Solüsyon pH'sı 7.4 olacak şekilde % 95 O₂- % 5 CO₂ ile deney boyunca gazlandırıldı. Trakea halkaları daha önceden belirlenen 1 g istirahat gerilimi ile 1 saat boyunca dinlendirildi ve her 15 dakikada bir banyo sıvısı değiştirilerek dokuların yıkanması sağlandı. Trakea yanıtları bilgisayar bazlı bir veri toplama sistemine (IOX-base-4, EMKA Ltd.) bağlı izometrik transdüserler (IT1-25, EMKA Ltd.) aracılığıyla kaydedildi. İlaç konsantrasyonları banyo solüsyonunda oluşan molar konsantrasyonları olarak ifade edildi.

3.2. Deney Protokolü

1 saatlik dinlenme periyodundan sonra trakea halkalarına önceden 10⁻⁶ M karbakol verilerek submaksimal kasılma yanıtı elde edildi. Kasılma yanıtı platoya ulaştığında levosimendan (10⁻⁷-10⁻⁴M) kümülatif konsantrasyonlarda uygulanarak doza bağımlı gevşeme yanıtları kaydedildi. Daha sonra değişik tipte potasyum kanallarının gevşetici etkideki rollerini değerlendirmek üzere trakea halkaları K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid (10⁻⁶M) ile 30 dakika, K_V kanal blokörü 4-aminopiridin (5mM) ile 10 dakika ve BK_{Ca} kanal blokörü iberiotoksin (10⁻⁷M) ile 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından karbakol ile kasılmış trakea halkalarında levosimendan'a yanıt eğrileri elde edildi. Bunun dışında karbakol ile kasılmış trakea örneklerinde K_{ATP} kanal açıcısı kromokalim'in (10⁻⁷-10⁻⁴M) uygulanmasıyla oluşan gevşeme yanıtları ve bu yanıtlara glibenklamid inkübasyonunun etkisi kaydedildi. Deneylerde kullanılan maddelerin çözücülerinin trakea halkalarındaki etkilerine de bakıldı.

Deneyler arasında dokular 45 dakika dinlendirildi. Her kanal blokörü için 9-12 adet trakea örneği kullanıldı. Konsantrasyon-yanıt eğrileri elde edilen deneylerin sonunda 3x10⁻⁴ M papaverin ile dokular maksimum olarak gevşetildi ve yanıtlar gram başına düşen gerilim (g/mg) olarak papaverin'in yüzdesi şeklinde hesaplandı. Deneylerin sonunda trakea halkaları tek tek kurutulup ağırlıkları ölçüldü.

3.3. Deneylerde Kullanılan İlaçlar

Deneylerde kullanılan karbakol, glibenklamid, kromakalim, iberiotoksin, 4-aminopiridin ve Krebs solüsyonu için gerekli kimyasal maddeler Sigma kimyasal'dan (St. Louis, Mo.), levosimendan Abbott şirketinden (İstanbul) elde edildi. Karbakol, 4-aminopiridin, iberiotoksin distile suda, glibenklamid ve kromakalim dimetilsülfoksit içerisinde çözüldü.

3.4. İstatistiksel Analiz

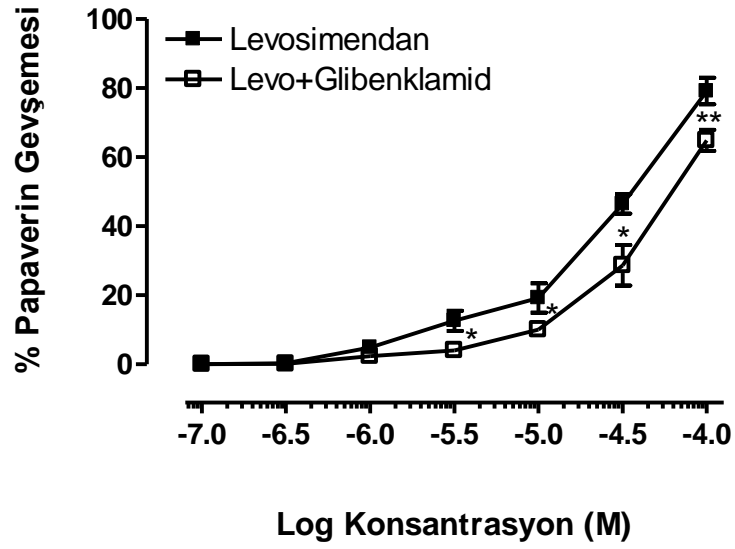
Sonuçların istatistiksel analizi Student t-testi kullanılarak yapıldı. P değerleri 0,05'in altında bulunan değerler anlamlı kabul edildi. Tüm değerler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi.

BULGULAR

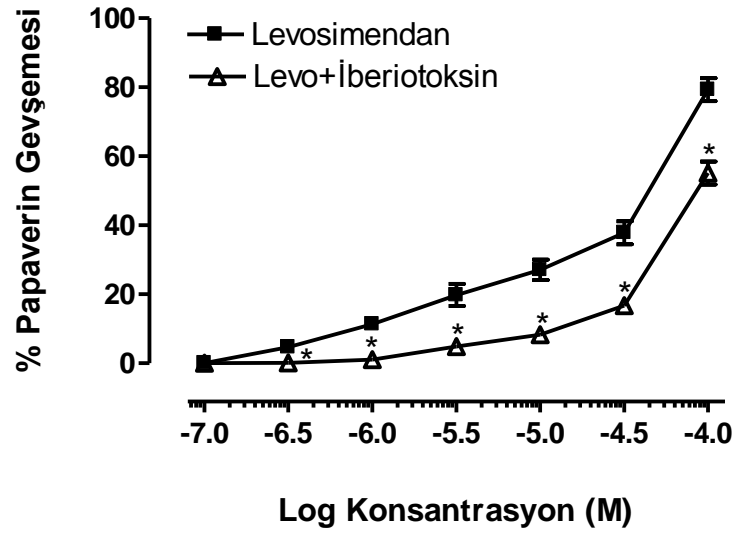
Trakea halkalarında gevşeme yanıtı oluşturabilmek için önceden karbakol (10^{-6}M) ile kasılma yanıtları elde edildi. Bu kasılma yanıtlarının oldukça stabil olduğu görüldü. Levosimendan'ın trakea halkalarında bazal tonus üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı saptandı. Bununla birlikte potasyum kanal blokörlerinden iberiotoksin ve 4-AP inkübasyonunun trakea halkalarında bazal tonusta istatistiksel olarak anlamsız bazı artışlara neden olduğu, glibenklamid inkübasyonunun ise herhangi bir etkisinin olmadığı görüldü.

Karbakol ile önceden kasılmış trakea halkalarında ise levosimendan (10^{-7} - 10^{-4}M) konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları oluşturdu. Oluşan bu gevşeme yanıtının K_{ATP} blokörü glibenklamid (10^{-6}M) ve K_{Ca} blokörü iberiotoksin (10^{-7}M) ile 30 dakika inkübasyon sonrasında anlamlı bir şekilde inhibe edildiği görüldü (Şekil 4.1, 4.2). Bununla birlikte K_{Ca} blokörü iberiotoksin varlığında levosimendan ile oluşan gevşeme yanıtının daha belirgin bir şekilde inhibe edildiği görüldü. Trakea halkalarının K_{V} blokörü 4-AP (5mM) ile 10 dakika inkübasyonunun ise levosimendan ile oluşan gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı saptandı (Şekil 4.3).

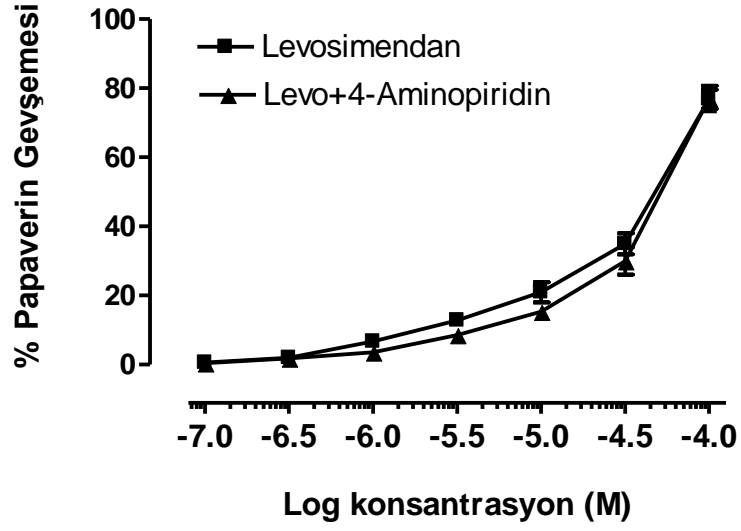
Karbakol ile önceden kasılmış trakea halkalarında spesifik K_{ATP} kanal açıcısı kromakalim (10^{-7} - 10^{-4}M) levosimendan'a benzer bir şekilde konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları oluşturdu (Şekil 4.4). Dokunun K_{ATP} blokörü glibenklamid'le (10^{-6}M) 30 dakika inkübasyonu sonrasında levosimendan yanıtlarında olduğu gibi kromakalim'e gevşeme yanıtlarında da istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe edildiği görüldü. Levosimendan ve kromakalim ile oluşan maksimum yanıt ve pD_2 değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı (Tablo 4.1).



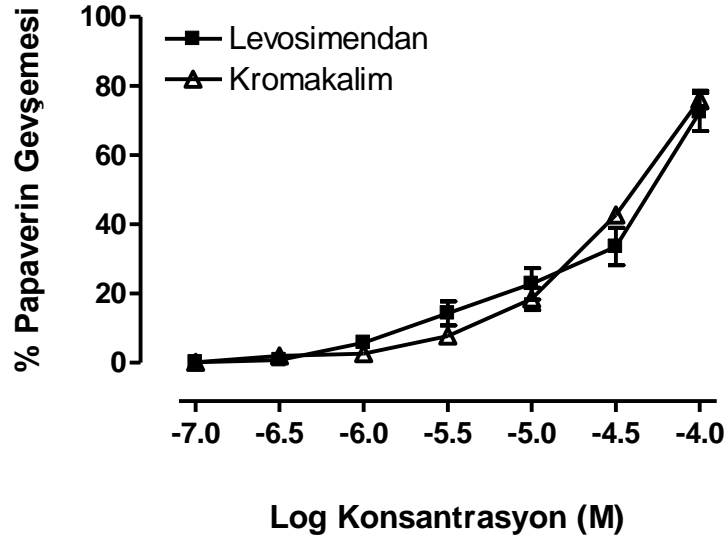
Şekil 4.1. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında; 10^{-6} M glibenklamid varlığında (□) ve yokluğunda (■) levosimendan'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n= 11, *p < 0,05, **p < 0,001).



Şekil 4.2. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında; 10^{-7} M iberiotoksin varlığında (Δ) ve yokluğunda (■) levosimendan'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n=11, *p < 0,001).



Şekil 4.3. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında; 5 mM 4-aminopiridin varlığında (▲) ve yokluğunda (■) levosimendan'ın kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n = 12).



Şekil 4.4. 10^{-6} M karbakol ile kasılmış kobay trakea preparatlarında levosimendan (■) ve kromakalim'in (Δ) kümülatif dozlarda oluşturduğu gevşeme yanıtları (n = 9).

Tablo 4.1. Karbakol ile kasılmış kobay trakea halkalarında levosimendan (n= 9) ve kromakalim (n=9)'in E_{max} (% papaverin) ve pD_2 (-log EC_{50}) değerleri.

	E_{max}	pD_2
Levosimendan	$72,48 \pm 5,51$	$4,09 \pm 0,18$
Kromakalim	$76,09 \pm 2,53$	$4,24 \pm 0,06$

TARTIŞMA

Değişik hayvan türlerinde hava yolu düz kas hücrelerinin dinlenme membran potansiyellerinin karakteristiği açısından farklılıklar olduğu bilinmektedir. Ancak insan ve kobay düz kas tonusunda benzer şekilde yavaş dalgalanmalar saptanmıştır (78, 98, 99). Kobay trakea düz kasının yavaş dalgalanmalarının ortalama amplitüd ve frekansı yaklaşık olarak 12mV ve 50 dalga/dakika şeklindedir. Ortalama membran potansiyeli yaklaşık olarak -50mV'dur ve sonuçta bu değerler insan preparatlarındaki değerlere oldukça yakındır (100). Bu açıdan değerlendirildiğinde insan ve kobay hava yolu düz kas hücreleri oldukça benzer bir fizyoloji göstermektedir. Bu nedenle levosimendan'ın düz kastaki etkisini araştırmak amacıyla çalışmamızda kobay trakeası kullanılmıştır.

İnsanlar da dahil olmak üzere değişik hayvan türlerinde dinlenme durumundaki bronşiyal tonustan başta kolinerjik sistem olmak üzere adrenerjik ve non-adrenerjik non-kolinerjik inervasyon sorumlu tutulmaktadır (101). İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda hava yolu düz kas hücrelerinde pek çok potasyum kanal tipinin eksprese edildiği gösterilmiştir (96, 102, 103, 104). Bu nedenle çalışmamızda potasyum kanallarının izole kobay trakeasının bazal tonusu üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını incelemek amacıyla tek başına değişik potasyum kanal blokörlerinin etkisi araştırıldı. Potasyum kanal blokörlerinden iberiotoksin ve 4-AP'nin inkübasyonunun trakea halkalarının bazal tonusunda istatistiksel olarak anlamsız bazı artışlara neden olduğu, glibenklamid inkübasyonunun ise herhangi bir etkisinin olmadığı görüldü. Dolayısıyla kobay trakea bazal tonusunda potasyum kanallarının fizyolojik bir rolünün olmadığı kanısına varıldı.

Levosimendan selektif bir şekilde troponin C'ye bağlanarak kalp kasında kalsiyum duyarlılığını artıran yeni bir pozitif inotropik ilaçtır (3). Diğer pozitif inotropik ajanlarla karşılaştırıldığında aritmojenik etkisinin olmaması ve inotropik etki oluştururken kalbin oksijen ihtiyacını artırmaması nedeniyle daha avantajlıdır (22,32). Levosimendan bu etkisinden dolayı akut ve konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılmaktadır (26, 105).

Levosimendan'ın pozitif inotropik etkisi dışında başta vazodilatör etki olmak üzere kardiyoprotektif, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (11, 106, 107, 108). Bu çalışmalar arasında levosimendan'ın vazodilatör etkisinde potasyum kanallarının rolünün olduğunu gösteren çalışmalar söz konusudur (109). Sıçan atriyal ve ventriküler myositlerinde yapılan çalışmalarda levosimendan'ın K_{ATP} kanal açıcı etkisi gösterilmiştir (8, 109). Bununla birlikte levosimendan'ın sıçan karaciğer (110) ve kalp (111) preparatlarında ise mitokondriyel K_{ATP} kanallarını açtığı saptanmıştır (112). Levosimendan'ın vazodilatör etkisinde fosfodiesteraz enzimlerinin de rol oynadığı düşünülmektedir (9). Levosimendan değişik damarlarda farklı tip potasyum kanallarını açarak etki göstermektedir. Örneğin insan izole portal ve safen venlerinde, kedilerde pulmoner damar yataklarında K_{ATP} kanalları üzerinden etki gösterdiği saptanmıştır (4, 5, 6, 36).

Ayrıca, domuz izole koroner arterlerinde K_V ve K_{Ca} kanallarının ve insan safen veninde K_{Ca} kanallarının aktivasyonunun levosimendan'ın gevşetici etkisinde rollerinin olduğu gösterilmiştir (5, 42). Bununla birlikte koroner arterlerde cAMP'ye bağımlı ve bağımsız mekanizmaların, domuz koroner damarlarında nitrik oksit üretiminin ve domuz koroner arterlerinde kalsiyum desensitizasyonunun levosimendan'ın gevşetici etkisine katkıda bulunduğunu gösteren çalışmalar da söz konusudur (7, 10, 11). Ayrıca biz de koroner arter bypass grefti için sıkça kullanılan internal torasik arter preparatlarında yaptığımız çalışmada levosimendan'ın gevşetici etkisinde K_{ATP} ve K_{Ca} kanallarının rol oynadığını gösterdik (40). Usta ve arkadaşları ise sıçan mezenter arterinde yaptıkları çalışmada gevşetici etkide K_{ATP} kanallarının rol oynadığını göstermişlerdir (41).

Levosimendan klinikte kullanılan bir ilaç olduğu için kalp ve damar dışı dokulardaki etkilerinin de bilinmesi önemlidir. Araştırdığımız kadarıyla literatürde bu tip çalışmalara rastlanmamıştır. Bu nedenle tezimizde levosimendan'ın damar dışı bir düz kas preparatı olan trakea üzerine etkilerini ve bu etkide hangi tip potasyum kanallarının rol oynadığını araştırdık. Çalışmamızda kobay trakea halkalarında levosimendan 0,1-100 μM konsantrasyon aralığında belirgin bir gevşetici etki oluşturmuştur. Levosimendan ile değişik dokularda oluşan etkilerin pD_2 değerleri karşılaştırıldığında belirgin farklılıklar söz konusudur. Örneğin, çalışmamızda elde edilen pD_2 değeri $4,09 \pm 0,18$ iken, izole insan atrial trabekülünde $6,82 \pm 0,33$ (113) ve domuz koroner arterlerinde ise $3,64 \pm 0,05$ olarak bulunmuştur (7). Levosimendan'ın potensindeki değişikliklerin türler arası farklılıklardan ve farklı vazokonstriktör madde kullanımından kaynaklandığını ileri süren çalışmalar söz konusudur (7).

Çalışmamızda levosimendan'ın bu gevşetici etkisinde hangi tip potasyum kanallarının rol oynadığını da araştırdık. Kobay trakea halkalarında K_{Ca} kanal blokörü iberiotoksin'in inkübasyonu, K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid'den daha belirgin derecede levosimendan'ın gevşeme yanıtlarında anlamlı bir inhibisyona neden olurken, K_V kanal blokörü 4-AP'de böyle bir etki gözlenmemiştir. Dolayısıyla çalışmamızda levosimendan'ın bu dokudaki gevşetici etkisinden K_{Ca} ve K_{ATP} kanallarının sorumlu olduğu gösterilmiştir.

Levosimendan'ın etkisini K_{ATP} kanalları üzerinden gösterdiğini düşündüğümüz için K_{ATP} kanal açıcısının prototipi olarak bilinen kromakalim'in etkisiyle levosimendan'ın etkisi karşılaştırılmıştır. Kromakalim kobay izole trakea halkalarında aynı şekilde gevşeme yanıtları oluşturmuştur. Levosimendan (E_{max} $72,48 \pm 5,51$, pD_2 $4,09 \pm 0,18$) ve kromakalim (E_{max} $76,09 \pm 2,53$, pD_2 $4,24 \pm 0,06$) yanıtları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür. Levosimendan ve kromakalim ile oluşan gevşetici etki K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid ile anlamlı bir şekilde inhibe edilmiştir. Böylece levosimendan ile oluşan etkide K_{ATP} kanallarının rol oynadığı doğrulanmıştır. Levosimendan'ın K_{ATP} blokörü glibenklamid ile antagonize edilebilen vazodilatör etkisi koroner arterlerde (36) olduğu gibi arteriyel (8) ve venöz (4) damar yataklarında da gösterilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada ilk olarak kobay trakea halkalarında levosimendan'ın gevşetici etki oluşturduğu ve bu etkiden K_{Ca} ve K_{ATP} kanal aktivasyonunun sorumlu olduğu gösterilmiştir.

SONUÇLAR

Kobay izole trakea preparatında levosimendan'ın etkisi ve bu etkide potasyum kanallarının rollerini araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmada;

1. Karbakol ile kasılmış kobay izole trakea preparatlarında levosimendan kümülatif dozlarda gevşeme yanıtları oluşturdu. Oluşan gevşeme yanıtlarının K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid ve K_{Ca} kanal blokörü iberiotoksin varlığında anlamlı bir şekilde inhibe edildiği görüldü. Ancak K_V kanal blokörü 4-AP varlığında levosimendan ile oluşan gevşeme yanıtlarında anlamlı bir değişikliğin olmadığı gözlemlendi.

2. Karbakol ile önceden kasılmış kobay trakea preparatlarında spesifik K_{ATP} kanal açıcısı kromakalim de konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları oluşturdu. K_{ATP} kanal blokörü glibenklamid varlığında kromakalim'e gevşeme yanıtlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe edildiği görüldü. Levosimendan ve kromakalim ile oluşan maksimum yanıt ve pD_2 değerleri arasında anlamlı bir fark olmadığı saptandı.

Böylece karbakol ile önceden kasılmış kobay izole trakea preparatlarında levosimendan'ın gevşetici bir etki oluşturduğu ve bu etkide K_{Ca} ve K_{ATP} kanallarının rol oynadığı sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Szilágyi S., Pollesello P., Levijoki J., et al. The effects of levosimendan and OR-1896 on isolated hearts, myocyte-sized preparations and phosphodiesterase enzymes of the guinea pig. *Eur J Pharmacol*, 486: 67-74, 2004.
2. Toller WG., Stranz C.. Levosimendan, a New Inotropic and Vasodilator Agent. *Anesthesiology*, 104: 556-569, 2006.
3. Pollesello P., Ovasaka M., Kaivola J., et al. Binding of a new Ca^{++} sensitizer, levosimendan, to recombinant human cardiac troponin C. A molecular modeling, fluorescence probe and proton nuclear magnetic resonance study. *J Biol Chem*, 269: 28584-28589, 1994.
4. Pataricza J., Hohn J., Petri A., et al. Comparison of the vasorelaxing effect of cromakalim and the new inodilator, levosimendan, in human isolated portal vein. *J Pharm Pharmacol*, 52: 213-217, 2000.
5. Hohn J., Pataricza J., Petri A., et. al. Levosimendan interacts with potassium channel blockers in human saphenous veins. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 94: 271-273, 2004.
6. De Witt BJ., İbrahim IN., Bayer E., et al. An analysis of responses to levosimendan in the pulmonary vascular bed of the cat. *Anesth Analg*, 94: 1427-1433, 2002.
7. Gruhn N., Nielsen-Kudsk JE., Theilgaard S., et. al. Coronary vasorelaxant effect of levosimendan, a new inodilator with calcium-sensitizing properties. *J Cardiovasc Pharmacol*, 31: 741-749, 1998.
8. Yokoshiki H., Katsube Y., Sunagawa M., et al. Levosimendan, a novel Ca^{++} sensitizer, activates the glibenclamid-sensitive K^+ channel in rat arterial myocytes. *Eur J Pharmacol*, 333: 249-259, 1997.
9. Haikala H., Linden IB.. Mechanisms of action of calcium –sensitizing drugs. *J Cardiovasc Pharmacol*, 26 (Suppl 1): 10-19, 1995.
10. Grossini E., Caimmi PP., Molinari C., et al. Hemodynamic Effect of Intracoronary Administration of Levosimendan in the Anesthetized Pig. *J Cardiovasc Pharmacol*, 46: 333-342, 2005.
11. Bowman P., Haikala H., Paul RJ.. Levosimendan, a calcium sensitizer in cardiac muscle, induces relaxation in coronary smooth muscle through calcium desensitization. *J Pharmacol Exp Ther*, 288: 316-325, 1999.

12. Thackray S., Easthaugh J., Freemantle N., et al. The effectiveness and relative effectiveness of intravenous inotropic drugs acting through the adrenergic pathway in patients with heart failure: A meta-regression analysis. *Eur Heart J*, 4: 515-529, 2002.
13. Thackray S., Coletta A., Jones P., et al. Clinical trials update: highlights of the scientific sessions of heart failure 2001, a meeting of the Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology. Contak-Cd, Christmas, Optimechf. *Eur J Heart Fail*, 3(4): 491-494, 2001.
14. Digitalis Investigation Group. The effect of digoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. *N Engl J Med*, 336: 525-533, 1997.
15. O'Connor CM., Gattis WA., Uretsky BF. et al. Continuous intravenous dobutamine is associated with an increased risk of death in patients with advanced heart failure: Insights from the Flolan International Randomized Survival Trial (FIRST). *Am Heart J*, 138: 78-86, 1999.
16. Packer M., Carver JR., Rodeheffer RJ., et al. Effect of oral milrinone on mortality in severe chronic heart failure. The PROMISE Study Research Group. *N Engl J Med*, 325: 1468-1475, 1991.
17. Perrone SV., Kaplinsky EJ.. Calcium sensitizer agents: A new class of inotropic agents in the treatment of decompensated heart failure. *Int J Cardiol*, 103: 248-255, 2005.
18. Endoh M.. Mechanisms of action of novel cardiotoxic agents. *J Cardiovasc Pharmacol*, 40: 323-338, 2002.
19. Sonntag S., Sundberg S., Lehtonen LA., et al. The calcium sensitizer levosimendan improves the function of stunned myocardium after percutaneous transluminal coronary angioplasty in acute myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol*, 43: 2177-2182, 2004.
20. Edes I., Kiss E., Kitada Y., et al. Effects of Levosimendan, a cardiotoxic agent targeted to troponin C, on cardiac function and on phosphorylation and Ca^{+2} sensitivity of cardiac myofibrils and sarcoplasmic reticulum in guinea pig heart. *Circ Res*, 77: 107-113, 1995.
21. Lilleberg J., Ylonen V., Lehtonen L., et al. The calcium sensitizer levosimendan and cardiac arrhythmias: An analysis of the safety database of heart failure treatment studies. *Scand Cardiovasc J*, 38: 80-84, 2004.
22. Follath F., Cleland JG., Just H., et al. Efficacy and safety of intravenous levosimendan compared with dobutamine in severe low-output heart failure (the LIDO study): A randomised double-blind trial. *Lancet*, 360: 196-202, 2002.

23. Greenberg B., Borghi C., Perrone S.. Pharmacotherapeutic approaches for decompensated heart failure: a role for the calcium sensitizer, levosimendan? *Eur J Heart Fail*, 5: 13-21, 2003.
24. Fabiato A.. Calcium-induced release of calcium from the cardiac sarcoplasmic reticulum. *Am J Physiol*, 245: C1-14, 1983.
25. Antoniades C., Tousoulis D., Koumallos N., et al. Levosimendan: Beyond its simple inotropic effect in heart failure. *Pharmacol Ther*, 114: 184-197, 2007.
26. Haikala H., Kaivola J., Nissinen E., et al. Cardiac troponin C as a target protein for a novel calcium sensitizing drug, levosimendan. *J Mol Cell Cardiol*, 27: 1859-66, 1995.
27. Sorsa T., Pollesello P., Rosevear PR., et al. Stereoselective binding of levosimendan to cardiac troponin C causes Ca^{+2} -sensitization. *Eur J Pharmacol*, 486: 1-8, 2004.
28. Hajjar RJ., Schmidt U., Helm P., et al. Ca^{++} sensitizers impair cardiac relaxation in failing human myocardium. *J Pharmacol Exp Ther*, 280: 247-254, 1997.
29. Haikala H., Nissinen E., Etemadzadeh E., et al. Troponin C-mediated calcium sensitization induced by levosimendan does not impair relaxation. *J Cardiovasc Pharmacol*, 25: 794-801, 1995.
30. Sato S., Talukder MA., Sugawara H., et al. Effects of levosimendan on myocardial contractility and Ca^{+2} - transients in aequorin-loaded right-ventricular papillary muscles and indo-1-loaded single ventricular cardiomyocytes of the rabbit. *J Mol Cell Cardiol*, 30: 1115-1128, 1998.
31. McGough MF., Pagel PS., Lowe D., et al. Effects of levosimendan on left ventricular function: Correlation with plasma concentrations in conscious dogs. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 11: 49-53, 1997.
32. Lilleberg J., Nieminen MS., Akkila J., et al. Effects of a new calcium sensitizer, levosimendan, on haemodynamics, coronary blood flow and myocardial substrate utilization early after coronary artery bypass grafting. *Eur Heart J*, 19: 660-668, 1998.
33. Hasenfuss G., Pieske B., Castell M., et al. Influence of the novel inotropic agent levosimendan on isometric tension and calcium cycling in failing human myocardium. *Circulation*, 98: 2141-2147, 1998.
34. Boknik P., Neumann J., Kaspareit G., et al. Mechanisms of the contractile effects of levosimendan in the mammalian heart. *J Pharmacol Exp Ther*, 280: 277-283, 1997.

35. Michaels AD., McKeown B., Kostal M., et al. Effects of intravenous levosimendan on human coronary vasomotor regulation, left ventricular wall stress, and myocardial oxygen uptake. *Circulation*, 111: 1504-1509, 2005.
36. Kaheinen P., Pollesello P., Levijoki J., et al. Levosimendan increases diastolic coronary flow in isolated guinea-pig heart by opening ATP-sensitive potassium channels. *J Cardiovasc Pharmacol*, 37: 367-74, 2001.
37. Pagel PS., Hettrick DA., Warltier DC.. Influence of levosimendan, pimobendan, and milrinone on the regional distribution of cardiac output in anaesthetized dogs. *Br J Pharmacol*, 119: 609-615, 1996.
38. Pagel PS., Hettrick DA., Warltier DC.. Comparison of the effects of levosimendan, pimobendan, and milrinone on canine left ventricular-arterial coupling and mechanical efficiency. *Basic Res Cardiol*, 91: 296-307, 1996.
39. Slawsky MT., Colucci WS., Gottlieb SS., et al. Acute hemodynamic and clinical effects of levosimendan in patients with severe heart failure. *Circulation*, 102: 2222-2227, 2000.
40. Usta C., Eksert B., Gölbaşı İ., et al. The role of potassium channels in the vasodilatory effect of levosimendan in human internal thoracic arteries. *Eur J Cardiothorac Surg*, 30(2): 329-332, 2006.
41. Özdem SS., Yalçın O., Meiselman HJ., et al. The Role of Potassium Channels in Relaxant Effect of Levosimendan in Rat Small Mesenteric Arteries. *Cardiovasc Drugs Ther*, 20(2): 123-127, 2006.
42. Pataricza J., Krassoi I., Hohn J., et al. Functional role of potassium channels in the vasodilating mechanism of levosimendan in porcine isolated coronary artery. *Cardiovasc Drugs Ther*, 17: 115-216, 2003.
43. Yokoshiki H., Sperelakis N.. Vasodilating mechanisms of levosimendan. *Cardiovasc Drugs Ther*, 17: 111-113, 2003.
44. Kersten JR., Montgomery MW., Pagel PS., et al. Levosimendan, a new positive inotropic drug, decreases myocardial infarct size via activation of K_{ATP} channels. *Anesth Analg*, 90: 5-11, 2000.
45. Pagel PS., McGough MF., Hettrick DA., et al. Levosimendan enhances left ventricular systolic and diastolic function in conscious dogs with pacing-induced cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharmacol*, 29: 563-573, 1997.
46. Sandell EP., Hayha M., Antila S., et al. Pharmacokinetics of levosimendan in healthy volunteers and patients with congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol*, 26 (suppl 1): 57-62, 1995.

47. Cleland JGF., McGowan J.. Levosimendan: a new era for inodilator therapy for heart failure? *Curr Opin in Cardiol*, 17: 257-265, 2002.
48. Antila S., Huuskonen H., Nevalainen T., et al. Site dependent bioavailability and metabolism of levosimendan in dogs. *Eur J Pharm Sci*, 9(1): 85-91, 1999.
49. Kivikko M., Antila S., Eha J., et al. Pharmacokinetics of levosimendan and its metabolites during and after a 24-hour continuous infusion in patients with severe heart failure. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 40(10): 465-471, 2002.
50. Kivikko M., Lehtonen L.. Levosimendan: A New Inodilatory Drug for the Treatment of Decompensated Heart Failure. *Curr Pharm Design*, 11: 435-455, 2005.
51. Nieminen MS., Akkila J., Hasenfuss G., et. al. Hemodynamic and neurohumoral effects of continuous infusion of levosimendan in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 36(6): 1903-1912, 2000.
52. Mebazaa A., Barraud D., Welschbillig S.. Randomized clinical trials with levosimendan. *Am J Cardiol*, 96(6): 74-79, 2005.
53. Sundberg S., Lehtonen L.. Haemodynamic interactions between the novel calcium sensitiser levosimendan and isosorbide-5-mononitrate in healthy subjects. *Eur J Clin Pharmacol*, 55(11-12): 793-799, 2000.
54. Moiseyev VS., Poder P., Andrejevs N., et al. Safety and efficacy of a novel calcium sensitizer, levosimendan, in patients with left ventricular failure due to an acute myocardial infarction. A randomized, placebo-controlled, double-blind study (RUSSLAN). *Eur Heart J*, 23(18): 1422-1432, 2002.
55. Kayaalp SO.. Düz kas fizyolojisi ve farmakolojide kullanılan ölçüm yöntemleri. *Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumları Dizisi II, İzole Organ Preparatları 1. Düz Kas Preparatları*, 5-22, Ankara, 1993.
56. Somlyo AV., Somlyo AP.. Electromechanical and pharmaco-mechanical coupling a vascular smooth muscle. *JPET*, 159: 129, 1968.
57. Thirstrup S.. Control of airway smooth muscle tone. I-Electrophysiology and contractile mediators. *Respir Med*, 94: 328-336, 2000.
58. Barnes PJ.. Pharmacology of Airway Smooth Muscle. *Am J Respir Crit Care Med*, 158: 123-132, 1998.
59. Arthur C. Guyton, John E. Hall. Düz kasın uyarılması ve kasılması. *Tıbbi Fizyoloji*, Bölüm 8, 9. Baskı.

60. LIU Xian-sheng, XU Yong-jian. Potassium channels in airway smooth muscle and airway hyperreactivity in asthma. *Chinese Medical Journal*, 118(7): 574-580, 2005.
61. Jenkinson DH.. Potassium channels-multiplicity and challenges. *Br J Pharmacol*, 147: 63-71, 2006.
62. Hodgkin AL., Huxley AF., Katz B.. Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J Physiol*, 116: 424-448, 1952.
63. Katz B.. Les constantes électriques de la membrane du muscle. *Archs Sci Physiol*, 3: 285-299, 1949.
64. Ga'rdos G.. The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*, 30: 653-654, 1958.
65. Banks BEC., Brown C., Burgess GM., et al. Apamin blocks certain neurotransmitter-induced increases in potassium permeability. *Nature*, 282: 415-417, 1979.
66. Blatz AL., Magleby KL.. Single apamin-blocked Ca^{+2} activated K^{+} channels of small conductance in cultured rat skeletal muscle. *Nature*, 323: 718-720, 1986.
67. Dolly JO., Halliwell JV., Black JD., et al. Botulinum neurotoxin and dendrotoxin as probes for studies on transmitter release. *Journal de Physiologie*, 79: 280-303, 1984.
68. Miller C., Moczydlowski E., Latorre R., et al. Charybdotoxin, a protein inhibitor of single Ca^{2+} -activated K^{+} channels from mammalian skeletal-muscle. *Nature*, 313: 316-318, 1985.
69. Brown DA., Adams PR.. Muscarinic suppression of a novel voltage-sensitive K^{+} current in a vertebrate neuron. *Nature*, 283: 673-676, 1980.
70. Ashcroft FM., Harrison DE., Ashcroft SJH.. Glucose induces closure of single potassium channels in isolated rat pancreatic beta-cells. *Nature*, 312: 446-448, 1984.
71. Teramoto N.. Physiological roles of ATP-sensitive K^{+} channels in smooth muscle. *J Physiol*, 572(3): 617-624, 2006.
72. Buckley JF., Singer M., Clapp LH.. Role of K_{ATP} channels in sepsis. *Cardiovasc Res*, 72: 220-230, 2006.
73. Wickenden AD.. K^{+} channels as therapeutic drug targets. *Pharmacol Therapeut*, 94: 157-182, 2002.
74. MacKinnon R.. Potassium channels. *FEBS Letters*, 555: 62-65, 2003.

75. Doyle DA., Cabral JM., Pfuetzner AK., et al. The structure of the potassium channel: Molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science*, 280: 69-77, 1998.
76. Black JL., Barnes PJ.. Potassium channels and airway function: new therapeutic prospects. *Thorax*, 45: 213-218, 1990.
77. Yost CS.. Potassium channels: basic aspects, functional roles, and medical significance. *Anesthesiology*, 90: 1186-1203, 1999.
78. Ito Y, Suzuke H, Aizawa H, et al. The spontaneous electrical and mechanical activity of human bronchial smooth muscle: its modulation by drugs. *Br J Pharmacol*, 98: 1249-1260, 1989.
79. Mccaig DJ., Rodger IW.. Effects of leukotriene D4 on the mechanical and electrical properties of guinea-pig isolated trachealis. *Br J Pharmacol*, 94: 729-736, 1988.
80. Miura M., Belvisi MG., Stretton CD., et al. Role of potassium channels in bronchodilator response in human airways. *Am Rev Respir Dis*, 146: 132-136, 1992.
81. Coetzee WA., Amarillo Y., Chiu J., et al. Molecular diversity of K⁺ channels. *Ann N Y Acad Sci*, 868: 233-285, 1999.
82. Adda S., Fleischmann BK., Freedman BD., et al. Expression and function of voltage-dependent potassium channel genes in human airway smooth muscle. *J Biol Chem*, 271: 13239-13243, 1996.
83. Cheng DJ., Xu YJ., Liu XS., et al. The regulating effects of K_v on the tension of normal and passively sensitized human airway smooth muscle. *Chin J Pathophysiol*, 12: 129-137, 2004.
84. Pelaia G., Gallelli L., Vatrella A., et al. Potential role of potassium channel openers in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Life Sci*, 70: 977-990, 2002.
85. Kotlikoff MI.. Potassium channels in airway smooth muscle: a tale of two channels. *Pharmacol Ther*, 58: 1-12, 1993.
86. Amberg GC., Koh SD., Imaizumi Y., et al. A-type potassium currents in smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 284: 583-595, 2003.
87. Wade GR., Laurier LG., Preiksaitis HG., et al. Delayed rectifier and Ca⁺²-dependent K⁺ current in human esophagus: roles in regulating muscle contraction. *Am J Physiol*, 277(4 Pt 1): 885-895, 1999.

- 88.** Platoshyn O., Golovina VA., Bailey CL., et al. Sustained membrane depolarization and pulmonary artery smooth muscle cell proliferation. *Am J Physiol*, 279: 1540-1549, 2000.
- 89.** Senetkov VA., Ward JP.. Ion currents in smooth muscle cells from human small bronchioles: presence of an inward rectifier K⁺ current and three types of large conductance K⁺ channels. *Exp Physiol*, 84: 835-846, 1999.
- 90.** Knaus HG., Garcia-Calvo M., Kaczorowski GJ., et al. Subunit composition of the high conductance, calcium-activated potassium channel from tracheal smooth muscle, a representative of the mSlo and slowpoke family of potassium channels. *J Chem*, 269: 3921-3924, 1994.
- 91.** Liu XS., Xu YJ., Zhang ZX., et al. The investigation of K⁺ channels and its effects on membrane potential in rat bronchial smooth muscle cells. *J Huazhong Uni Sci Tech*, 23: 141-144, 2003.
- 92.** Seino S., Miki T.. Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K⁺ channels. *Prog Biophys Mol Biol*, 81: 133-176, 2003.
- 93.** Sebille S., De Tullio P., Boverie S., et al. Recent developments in the chemistry of potassium channel activators: the cromakalim analogs. *Curr Med Chem*, 11: 1213-1222, 2004.
- 94.** Buchheit KH., Fozard JR.. K_{ATP} channel openers for the treatment of airways hyperreactivity. *Pulm Pharmacol Ther*, 2: 103-105, 1999.
- 95.** Buchheit KH., Manley PW., Quast U., et al. KCO912: a potent and selective opener of ATP-dependent potassium (K_{ATP}) channels which suppresses airways hyperreactivity at doses devoid of cardiovascular effects. *Nauyn. Schmiedebergs. Arch Pharmacol*, 365: 220-230, 2002.
- 96.** Matsushita Y., Henmi S., Muraki K., et al. Cromakalim-induced membrane current in guinea-pig tracheal smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol*, 389: 51-58, 2000.
- 97.** Zhao LM., Xu YJ., Zhang ZX., et al. Regulating effects of delayed rectifier potassium channel on the tone of human passively sensitized bronchial smooth muscle. *Chin Appl Physiol*, 3:33-39, 2005.
- 98.** Small RC.. Electrical slow waves and tone of guinea-pig isolated trachealis muscle: effects of drugs and temperature changes. *Br J Pharmacol*, 77: 45-54, 1982.
- 99.** Honda K., Tomita T.. Electrical activity in isolated human tracheal muscle. *Jpn J Physiol*, 37: 333-336, 1987.

- 100.**Tomita T.. Electrical Properties of Airway Smooth Muscle. In: Coburn RF, ed. Airway Smooth Muscle in Health and Disease. New York: Plenum Press, 151-167, 1989.
- 101.**Barnes PJ.. Autonomic Pharmacology of the Airways. In: Fan Chung K, Barnes PJ, eds. Pharmacology of the Respiratory Tract Ð Experimental and Clinical Research. New York: Marcel Dekker, Inc.,; 415-455, 1993.
- 102.**McCann JD., Welsh MJ.. Calcium-activated potassium channels in canine airway smooth muscle. *J Physiol*, 372: 113–27, 1986.
- 103.**Oonuma H., Iwasawa K., Iida H., et al. Inward rectifier K⁺ current in human bronchial smooth muscle cells: inhibition with antisense oligonucleotides targeted to Kir2.1 mRNA. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 26: 371-379, 2002.
- 104.**Nuttle LC., Farley JM.. Muscarinic receptors inhibit ATP sensitive K⁺ channels in swine tracheal smooth muscle. *Am J Physiol* 273: L478-484, 1997.
- 105.**Jamali IN., Kersten JR., Pagel PS., et al. Hettrick DA., Warltier DC.. Intracoronary levosimendan enhances contractile function of stunned myocardium. *Anesth Analg*, 85: 23-29, 1997.
- 106.**Oldenburg O., Cohen MV., Yellon DM., et. al. Mitochondrial K(ATP) channels: role in cardioprotection. *Cardiovasc Res*, 55(3): 429-437, 2002.
- 107.**Parissis JT., Adamopoulos S., Antoniades C., et. al. Effects of levosimendan on circulating proinflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with decompensated advanced heart failure. *Am J Cardiol*, 93(10): 1309, 2004.
- 108.**Trikas A., Antoniades C., Latsios G., et al. Long-term effects of levosimendan infusion on inflammatory processes and sFas in patients with severe heart failure. *Eur J Heart Fail*, 8(8): 804-809, 2006.
- 109.**Yokoshiki H., Katsube Y., Sunagawa M., et al. The novel calcium sensitizer levosimendan activates the ATP-sensitive K⁺ channel in rat ventricular cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 283:375-383, 1997.
- 110.**Kopustinskiene DM., Pollesello P., Saris NE.. Levosimendan is a mitochondrial K_{ATP} channel opener. *Eur J Pharmacol*, 428: 311-314, 2001.
- 111.**Kopustinskiene DM., Pollesello P., Saris N-EL.. Potassium-specific effects of levosimendan on heart mitochondria. *Biochem Pharmacol*, 68: 807, 2004.
- 112.**Rump AF., Acar D., Rosen R., et. al. Functional and antiischaemic effects of the phosphodiesterase inhibitor levosimendan in isolated rabbit hearts. *Pharmacol Toxicol*, 74: 244-248, 1994.

113.Usta C., Puddu PE., Papalia U., et al. Comparison of the inotropic effects of levosimendan, rolipram, and dobutamine on human atrial trabeculae. *J Cardiovasc Pharmacol*, 44: 622-625, 2004.

ÖZGEÇMİŞ

Bilsen EKSERT, 14.09.1982'de Tavşanlı'da doğdu. İlk öğrenimini Tavşanlı Milli Egemenlik İlkokulu'nda (1988-1993), orta öğrenimini Tavşanlı Anadolu Lisesi'nde (1993-1997), lise öğrenimini Eskişehir Fatih Fen Lisesi'nde (1997-2000) tamamladı. 2004 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldu. 2004-2005 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde hastane eczacısı olarak çalıştı. 2004-2005 Eğitim Öğretim Yılı Bahar Dönemi'nde Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2005 yılında Enstitü araştırma görevlisi olarak atandı. Halen bu görevini sürdürmektedir.