



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İZOLE SIÇAN MİYOMETRİYUMUNDA
METABOLİK İNHİBİSYONA BAĞLI
KONTRAKTİL BASKILANMADA SODYUM-
POTASYUM POMPASININ ROLÜNÜN
İNCELENMESİ**

RAMAZAN ŞAHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON - 2013



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İZOLE SIÇAN MİYOMETRİYUMUNDA
METABOLİK İNHİBİSYONA BAĞLI
KONTRAKTİL BASKILANMADA SODYUM-
POTASYUM POMPASININ ROLÜNÜN
İNCELENMESİ**

RAMAZAN ŞAHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Ahmet AYAR

TRABZON - 2013

ONAY

Bu Tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun

Bulunmuştur

Prof. Dr. Ahmet AYAR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ramazan Şahan'ın hazırladığı **"İzole Sıçan Miyometriyumunda Metabolik İnhibisyona Bağlı Kontraktil Baskılanmada Sodyum-Potasyum Pompasının Rolünün İncelenmesi"** başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek oybirliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Ahmet AYAR _____

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ahmet AYAR _____

Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM _____

Prof. Dr. Faik Ahmet AYAZ _____

Tarih: .../.../...

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../.... tarih ve ... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet KALKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

BEYAN

Bu tez çalışmasının KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eseri olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

20.12.2013

Ramazan ŞAHAN

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkıda bulunan, tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet AYAR’a şükranlarımı sunarım.

Üniversitemiz değerli hocalarından Prof. Dr. Sibel K. VELİOĞLU’na teşekkürlerimi sunarım. Anabilim Dalımız eski Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Sinan CANPOLAT'a temel cerrahi eğitimi, kavramlar, tutumlar ve beceriler gibi bilgilerini kazandırmasından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca yüksek lisans eğitimim süresince manevi desteklerini hissettiğim Anabilim Dalımızdaki değerli hocalarım, Doç. Dr. Mehmet YILDIRIM'a, Doç. Dr. Şükrücan H. BAYTAN'a, Yrd. Doç. Dr. Mukadder OKUYAN’a zor anlarımda yardımcı olan sevgili arkadaşlarıma, destekleri ve dostluğundan dolayı Dilek KOCABAŞ ve Sema MISIR’a, hayatımın her aşamasında sevgi, maddi ve manevi destekleriyle arkamda olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Ramazan ŞAHAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ve ONAY	III
BEYAN	IV
TEŞEKKÜR	V
TABLolar DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER, KISALTMALAR ve FORMÜLLER DİZİNİ	XIII
1. ÖZET	XV
2. SUMMARY	XVI
3. GİRİŞ ve AMAÇ	1
4. GENEL BİLGİLER	3
4.1 Kas Fizyolojisi ve Düz Kas Kavramı	3
4.1.1 Kas Fizyolojisi	3
4.2 Düz Kasta Aksiyon Potansiyeli	3
4.3 Düz Kaslar ve Kasılma Gevşeme Mekanizmaları	4
4.3.1 Düz Kaslarda Kasılma Mekanizması	4
4.3.2 Düz Kaslarda Gevşeme Mekanizması	5
4.4 Uterus Kas Fizyolojisi	6
4.4.1 Miyometriyumda Spontan Kasılma Süreci	8
4.4.2 Miyometriyumun Meydana Getirdiği Elektriksel Aktive ve Kasılmaları	8

4.5.	Miyometriyal Kasılma Aktivitesini Etkileyen Endokrin Faktörler	9
4.5.1	Oksitosin	10
4.5.2	Prostaglandin	11
4.5.3	Dijitalis Glikozitleri	12
4.5.4	Magnezyum	13
4.6	Hipoksi ve Hipoksi Çeşitleri	13
4.6.1	Hipoksi Çeşitleri	15
4.6.1.1	Hipoksik Hipoksi	15
4.6.1.2	Anemik Hipoksi	16
4.6.1.3	Histotoksik Hipoksi	16
4.6.1.4	Stagnant (Durgunluk) Hipoksi	16
4.7	Miyometriyal Aktivitenin İyonik Temelleri	17
4.8	Miyometriyal Kasılmada İyon Kanallarının Rolü	17
4.8.1	İyon Kanalları	18
4.8.1.1	Kalsiyum Kanalları	18
4.8.1.2	Kalsiyum Bağımlı Potasyum Kanalları	19
4.8.1.3	Kalsiyum Bağımlı Klor Kanalları	20
4.8.1.4	ATP Duyarlı Potasyum Kanalları	21
4.8.2	Sodyum-Potasyum Pompası	22
4.8.3	Gap Kavşakları	22
4.8.4	Potasyum Siyanür (KCN)	23

5.	GEREÇ ve YÖNTEM	
5.1	Materyaller	24
5.2	İzole Organ ve Banyo Sistemi	25
5.3	Kullanılan Çözeltiler	26
5.4	Kimyasal Ajanlar	26
5.5	Uterus Şeritlerinin Hazırlanması	27
5.6	Deney Prosedürü	27
5.7	Veri Analizi	31
6.	BULGULAR	32
6.1.	İzole Sıçan Miyometriyumda Digoksinin Miyometriyum Kasılmalarına Etkisi	32
6.1.1.	Miyometriyal Spontan Kontraksiyonlara Digoksinin Etkisi	32
6.1.2.	İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometriyal Kasılmalara 1 mg/ml Digoksinin Etkisi	35
6.1.3.	İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometriyal Kasılmalara 10 mg/ml Digoksinin Etkisi	36
6.1.4.	İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometriyal Kasılmalara 30 mg/ml Digoksinin Etkisi	37
6.1.5.	İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometriyal Kasılmalara 300 mg/ml Digoksinin Etkisi	38
6.2.	İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosin İle İndüklenen Miyometriyal Kontraksiyonlar	39
6.2.1	İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 1 mg/ml Digoksinin Etkisi	42

6.2.2	İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 10 mg/ml Digoksinin Etkisi	43
6.2.3	İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 30 mg/ml Digoksinin Etkisi	44
6.2.4	İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 300 mg/ml Digoksinin Etkisi	45
7.	TARTIŞMA	47
8.	SONUÇLAR	52
9.	ÖNERİLER	52
10.	KAYNAKLAR	54
11.	ÖZGEÇMİŞ	62

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. Kobay, sıçan ve kedi izole miyometriyum hücrelerinde hücre içi ve hücre dışı muhtemel iyon konsantrasyonu	20
Tablo 2. İzole sıçan miyometriyum şeritlerine spontan kasılmaların amplitüd değerleri üzerine KCN'nin etkisi	34
Tablo 3. İzole sıçan miyometriyumda oksitosinle tetiklenen kasılmaların amplitüd değerleri ve KCN'nin etkisi	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Sıçan uterusunun çift boynuzlu görünümü	6
Şekil 2. Oksitosin α -hipofamin, Oksitosik hormon	10
Şekil 3. Prostaglandin F2 α metil ester	11
Şekil 4. Aglikonun kimyasal yapısı	12
Şekil 5. İzole organ banyo sistemi	25
Şekil 6. Organ banyosuna yerleştirilmek üzere hazırlanmış uterus kesitleri	30
Şekil 7. Organ banyosunda asılmış uterus preparatı	30
Şekil 8. İzole sıçan miyometriyumunda spontan kontraksiyonlar üzerine KCN'nin etkisi	32
Şekil 9. KCN ile metabolik inhibisyon gerçekleştirilen miyometriyum şeritlerine farklı dozlarda digoksin uygulamasının spontan kasılmaların amplitüt değerleri üzerine etkisi	33
Şekil 10. Spontan miyometriyal kontraksiyonların kasılma eğrisi altında kalan alan değerleri üzerine digoksinin etkileri	34
Şekil 11. Digoksinin (1 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometriyal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	35
Şekil 12. Digoksinin (10 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometriyal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	36
Şekil 13. Digoksinin (30 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometriyal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	37
Şekil 14. Digoksinin (300 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometriyal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	38

Şekil 15. İzole sıçan miyometriyumunda oksitosinle indüklenen kontraksiyonlar üzerine KCN'nin etkisi	39
Şekil 16. Oksitosinle indüklenmiş kasılmaların amplitüt değerleri üzerine KCN'nin inhibitör etkisi ve farklı dozlarda digoksin uygulamasının etkisi	40
Şekil 17. Oksitosinle indüklenmiş kasılmaların kasılma eğrisi altında kalan alan değerleri üzerine KCN'nin inhibitör etkisi ve farklı dozlarda digoksin uygulamasının etkisi.	41
Şekil 18. Digoksinin (1 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	42
Şekil 19. Digoksinin (10 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	43
Şekil 20. Digoksinin (30 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	44
Şekil 21. Digoksinin (300 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt	45

KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin tri fosfat
OT	Oksitosin
SR	Sarkoplazmik Retikulum
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
PVN	Paraventriküler Nükleus
VBKK	Voltaja Bağımlı Kalsiyum Kanalları
SOP	Supraoptik
O ₂	Oksijen
PGs	Prostaglandin
ICl-ca	Kalsiyum Bağımlı Klor Kanalları
AP	Aksiyon Potansiyeli
MHZK	Miyozin Hafif Zincir Kinaz
um	Mikrometre
mg	Miligram
ml :	Mililitre
mV	milivolt
kDa	kilo dalton

Formüller

Mg ⁺	Magnezyum İyonu
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
MgSO ₄	Magnezyum Sülfat
Ca ⁺²	Kalsiyum

CaCl_2	Kalsiyum Klorür
CO_2	Karbon dioksit
H^+	Hidrojen İyonu
K^+	Potasyum İyonu
KCl	Potasyum Klorür
KCN	Potasyum Siyanit
Na^+	Sodyum İyonu
NaCl	Sodyum Klorür
NaHO_3	Sodyum Bikarbonat
NaH_2PO_4	Sodyum Fosfat Monobazik

ÖZET

İZOLE SIÇAN MİYOMETRİYUMUNDA METABOLİK İNHİBİSYONA BAĞLI KONTRAKTİL BASKILANMADA SODYUM-POTASYUM POMPASININ ROLÜNÜN İNCELENMESİ

Bu çalışmada, izole sıçan miyometriyumunda metabolik strese bağlı gelişen kontraktil inhibisyonda sodyum-potasyum pompasının (Na^+-K^+ ATPaz) olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır.

Dekapitasyondan sonra, virjin erişkin Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlardan miyometriyum kesitleri alınarak içerisinde 37°C 'de (pH 7.4) Krebs solüsyonu bulunan ve %95 O_2 - %5 CO_2 ile sürekli gazlandırılan izole organ banyosunda asıldı. İstirahat gerimine adaptasyonu takiben spontan kontraksiyonlar kayıt edildi, ilave protokollerde oksitosinle kasılmalar tetiklendi. Metabolik inhibisyon organ banyosunda potasyum siyanür (KCN 0.1 mM) uygulaması ile sağlandı, Na^+-K^+ ATPaz inhibisyonu kardiyak glikozit olan digoksin (1 mg/ml, 10 mg/ml, 30 mg/ml, 300 mg/ml) ile sağlandı. Protokollerin izometrik kontraksiyonların frekans, güç ve amplitütlerine olan etkileri 10 dakikalık periyotlar halinde değerlendirildi. Bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde ANOVA testi kullanıldı.

Digoksinin uygulanan dozları (1 mg/ml, 10 mg/ml, 30 mg/ml, 300 mg/ml) KCN'nin (0.1 mM) hem spontan hem de oksitosinle indüklenmiş miyometriyal kontraksiyonlar üzerindeki inhibitör etkisini ne amplitüt, ne de frekans verileri yönüyle önleyemediği ve ortadan kaldırıcı anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edildi (n=7 her bir protokol için).

Sıçan miyometriyumunda, metabolik inhibisyona bağlı miyometriyum kasılma gücünde meydana gelen zayıflamayı, kardiyak glikozit digoksinin önlemediği, tedavi edemediği sonucuna varılmıştır. Tez çalışmasının bulguları, bu deneysel modelde Na^+-K^+ ATPaz kasılmayı sekteye uğratan mekanizmalar arasında yer almadığı ve/veya kesinlikle tek sorumlu mekanizma olmadığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Miyometriyum, Kasılma, Metabolik Stres, Digoksin, Na^+-K^+ ATPaz, Sıçan

SUMMARY

**INVESTIGATION OF POSSIBLE ROLE OF SODIUM-POTASSIUM PUMP IN
METOBOLIC INHIBITION-MEDIATED CONTRACTILE FAILURE IN
ISOLATED RAT MYOMETRIUM**

The aim of this study was to investigate the possible role of sodium-potassium pump ($\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase) on metabolic stress-mediated inhibition of contractility of isolated rat myometrium.

After decapitation, myometrial strips were isolated from non-pregnant adult Sprague Dawley rats, and suspended in an isolated tissue bath containing Krebs solution, continuously bubbled with 95% O_2 and 5% CO_2 , maintained at 37°C (pH 7.4). Following equilibration under resting tension, spontaneous contractions were recorded, and in additional protocols contractions were elicited by oxytocin. Metabolic inhibition was established by bath application of potassium cyanide (KCN 0.1 mM). The cardiac glycoside digoxin (1 mg/ml, 10 mg/ml, 30 mg/ml, 300 mg/ml) was applied to tissue bath for the inhibition of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase pump. To evaluate the impacts of study protocols on the amplitude, frequency and force of contractions, these parameters were evaluated by 10-minute intervals. ANOVA test was used for statistical analysis of the data.

The utilized dose of digoxin (1 mg/ml, 10 mg/ml, 30 mg/ml and 300 mg/ml) failed to prevent or recover the KCN (0.1 mM)-induced inhibition of myometrial contractility in terms of amplitude and frequency of the both spontaneous and oxytocin-induced contractions ($n=7$ for each protocol).

In conclusion it was determined that the cardiac glycoside digoxin is unable to prevent or restore the attenuation of contractile force due to metabolic inhibition. Findings of this thesis study indicating that the $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz pump is not involved and/or definitely not the solely responsible mechanism of the contractile failure.

Key words: Myometrium, contraction, metabolic stress, digoxin, $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase, rat

3. GİRİŞ VE AMAÇ

İzole sıçan miyometriyum dokusu, genelde düz kas ve özelde miyometriyum dokusunun kasılmasının fizyolojik mekanizmasını ve farmakolojik yönlerinin araştırılmasında önemli rol oynamıştır.

Düz kaslar uterus, solunum yolları, kan damarları, mesane gibi birçok farklı organların duvarlarında yer almaktadırlar. Ayrıca iskelet ve kalp kasından farklı özelliklere sahiptirler. Mikroskobik olarak kalp ve iskelet kasında mevcut olan çizgili yapıda bulunan bantlar düz kasların yapısında mevcut değildirler. Düz kasların kontrol mekanizması otonom sinir sistemi tarafından düzenlenmektedir. Düz kasların önemli bir diğer özelliği ise iskelet kaslarındaki gibi tek bir yöne doğru değil, değişik yönlere doğru kasılabilir olmasıdır. Bu sayede miyometriyum dokusunda doğumda yavrunun dışarı atılması sırasında itici bir güç ortaya çıkarmaktadır (1,2).

Metabolik faaliyetlerin devamı için atmosferdeki oksijenin hücrelere ve dokulara etkin bir şekilde taşınması gerekir. Hücre fonksiyonu için gerekli oksijenin yetersizliği hipoksi (oksijen azlığı) olarak adlandırılmaktadır. Hücrenin tamamen oksijensiz durumda kalması ise anoksi olarak adlandırılmaktadır. Anoksi hücre hasarı veya ölümünün en önemli nedenlerindendir (3,4). Hipoksinin nedenleri arasında ise en önemli olanı iskemidir (kansızlık; dokulara gelen arteriyel akımın aksaması sonucu ortaya çıkan dolaşım bozukluğu). Beyin, akciğer ve göz gibi bazı organlar perfüzyonun aksamasından hızla olumsuz etkilenirken, deri ve sindirim kanalı dokuları hipoksiye karşı daha dirençlidirler.

Metabolizma yönünden daha ziyade oksidatif olan düz kaslar hipoksiye dayanıklılıkları bakımından da farklılıklar gösterir. *In vitro* çalışma sonuçları, uterus ve mesane düz kaslarının anoksik ortamlarda kasılma güçlerini hızla kaybettiklerini göstermiştir (2,4). Uterus kan akımı seviyesi (perfüzyon) ile uterus kasılabilirliği arasında yakın bir ilişki vardır (5). Bu durum, doğum esnasında uterusun şiddetli kasılmalarının kendi dokusunu besleyen damarlarda meydana getirdiği oklüzyon sonucu, takip eden kasılmaları baskılayarak doğum eylemini etkileyebileceği ve dolayısı ile klinik önemi olan bir durumu yansıtmaktadır (5).

Uterus dokusuna *in vivo* olarak gelen kan akımının azalması, dokuda anaerobik metabolizmanın uyarılmasına, adenosin trifosfat (ATP) gibi bazı metabolitlerde değişmeye ve pH'nın düşmesi gibi metabolik sonuçlara yol açmaktadır (6).

Normal doğum süreci başlayan hamilelerde sürecin aniden başarısızlığa uğramasına ve normal doğumdan uzaklaşarak sezaryen gerekliliği klinik önemi olan bir gerçektir (7,8). Uterusun kendini besleyen damarlarında meydana gelen bu perfüzyon baskılanması sonucu ortaya çıkan uterus atonisi geliştikten sonra, oksitosin, prostaglandinler (PGs) gibi doğumu uyarıcı ajanlar uterusda yeterli kasılmayı oluşturamamakta ve sezaryen dışında herhangi bir çözüm yolu bulunmamaktadır. Anne ve bebek için sağlık riski doğuran bu durumun mekanizmasının anlaşılması amacıyla uterus dokularında bu hipoksik şartlar modellenmiş ve mekanizması açığa çıkarılmaya, önlemeye ve tedavi edilmeye yönelik araştırmalar devam etmektedir (9,10).

Dijitaler uzun yıllardan beri kalp yetmezliğinde kasılmayı uyarıcı ve tamir edici olarak klinikte kullanılmaktadır. Kardiyak glikozitler $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pompasını inhibe ederek hücrede pompanın kapasitesine bağlı olarak kısıtlı bir kalsiyum artışı sağlamak ve kasılmaları desteklemektedir.

Bu tez çalışmasında, hipoksi sonucunda kasılma gücünde meydana gelen baskılanmada $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pompasının rol alıp almadığı hakkında bilgi elde etmek amacıyla, KCN (0.1 mM) uygulaması ile doku hipoksisi oluşturularak $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ pompası inhibitörü digoksinin etkileri incelendi.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. KAS FİZYOLOJİSİ VE DÜZ KAS KAVRAMI

4.1.1. KAS FİZYOLOJİSİ

Kasılma sayesinde iskelet sisteminin hareketi, kalpte bulunan kanın damarlara pompalanması, damarların çapının değiştirilmesi ve dolayısıyla damar sistemi içinde kanın akış hızının ve basıncının ayarlanması, sindirim sisteminin içinde bulunan ya da sindirim esnasında ve sindirimden sonra oluşan sindirim artıklarının uzaklaştırılması gibi olaylar meydana gelmektedir. Kas hücreleri; düz kas, kalp kası ve iskelet kası olmak üzere üç temel gruba ayrılır. Hem çizgili hem düz kaslar uyarılabilir doku niteliğinde olup; aksiyon potansiyeli üretme kapasitesindedir (11,12).

4.2. DÜZ KASTA AKSİYON POTANSİYELİ

Bir hücre dinlenim durumunda iken hücre zarının iç kısmı dışa göre daha negatif bir potansiyele sahiptir. İstirahattaki bir hücre uyarıldığı zaman dinlenim potansiyelinde değişim meydana gelerek hücre zarının iç kısmı dışarıya göre daha pozitif değerlere ulaşabilir ki bu durum depolarizasyon olarak adlandırılır. Depolarizasyondan sonra hücre zarının dinlenim potansiyeline geri dönmesi ise repolarizasyon olarak adlandırılır (12).

Düz kasta membran dinlenim potansiyeli -50 / -60 mV kadardır. Visseral düz kasta aksiyon potansiyeli çoğunlukta iskelet kasına benzer nitelikte olup süresi 10-50 ms civarındadır (11).

4.3. DÜZ KASLAR VE KASILMA GEVŞEME MEKANİZMALARI

Düz kaslarda, çizgili kaslar ve kalp kası gibi aktin ve miyozin filamentleri düzenli bir sıra halinde değildir. Düz kaslarda filamentler rastgele bir dağılım gösterir yapıda olması nedeni ile mikroskop altında çizgili bir yapıda görünmezler. Düz kaslar genel olarak; iç organların düz kasları (visseral düz kaslar) ve çok üniteli düz kaslar olarak iki grup altında sınıflandırılır (11).

4.3.1. DÜZ KASLARDA KASILMA MEKANİZMASI

Düz kaslarda aktin ve miyozin filamentleri kasılma mekanizmasında rol alan başlıca filamentlerdir. Miyozin molekülü iki hafif zincir (MHZ) ve iki ağır zincir (MAZ) yapısında olmak üzere altı polipeptid zincirden meydana gelmektedir. Ağır zincirler sarmal bir yapı oluşturarak birbirlerinin etrafında sarılı bir durumda bulunmaktadır. Zincirlerin her bir ucu miyozin başı adı verilen globüler polipeptid oluşturmaktadır. Bu nedenle miyozin molekülünün bir ucunda yan yana uzanan iki serbest baş bulunmaktadır (11,13). Sarmalın devam eden kısmına kuyruk adı verilmektedir.

Miyozine ait hafif zincirler kasılma esnasında başın fonksiyonunu kontrol etmektedir. Kas kasılması esnasında miyozin başları ATPaz enzim aktivitesi yapar. Başın bu özelliği sayesinde ATP'nin yapısında bulunan yüksek enerjili fosfat bağlarındaki enerji kas kasılması sırasında kullanılabilir. Aktin filamentleri tropomiyozin ve f-aktinden oluşmaktadır. Troponin molekülü ise düz kasların aktin filamentlerinde yoktur. Bunun yerine ise kalmodulin adı verilen düzenleyici bir protein bulunmaktadır. Kalmodulin kasılmanın başlangıcında dört tane Ca^{+2} 'yi kendine bağlayarak kasılmada önemli rol almaktadır. Kasılma esnasında inaktif miyozin baş aktifleşerek, aktin filamentine bağlanmaktadır. Düz kaslarda hücre içi serbest Ca^{+2} konsantrasyonu artması kasılmayı teşvik eder. Düz kas hücresinin sitoplazmasında Ca^{+2} iyon konsantrasyonu 10^{-5} M'a kadar yükselirse kasılma başlamaktadır. Ca^{+2} iyonu, kalmodulinle bağlanarak miyozin hafif zincir kinazı (MHZK) aktive etmektedir. Fosforile olan MHZK aktin filamentleri ile etkileşim yaparak kasılmaya yol açar.

Miyometriyumda K^+ iyon kanal aktivitesinde de değişiklik söz konusu olup uyarılabilmeyle birlikte voltaj bağımlı K^+ kanallarında artış görölür (13). Aksiyon potansiyeli sayısındaki artış ile gebe insan miyometriyumunun son trimestrisi esnasında negatif membran potansiyelinde (-70 mV ile -55 mV) bir azalma ile birlikte spontan kasılmanın sıklığında kademeli olarak bir artış meydana gelir.

Membran yüzeyinde bulunan kanallardan geçen akımların membranı depolarize ettiği bilinmektedir. Pacemaker hücrelerinin fonksiyonel rolünün tam olarak anlaşılması, uterusun yanında portal ven ve üretra gibi diğer düz kas yapılarındaki uyarılabilirliğin de anlaşılmasına katkıda bulunabilir (11). cAMP sentezini uyarıcı adenilat siklaz ile cAMP yıkımından sorumlu olan fosfodiesterazlar hücre içerisindeki sAMP seviyesini kontrol ederek miyometriyal kasılmayı etkilemektedirler. Örneğin adenilat siklaz, betaagonistler tarafından aktif duruma getirilirler ve bunun sonucunda cAMP miktarında artış meydana gelir ve kontraktilitede azalma görölür (12).

4.3.2. DÜZ KASLARDA GEVŞEME MEKANİZMASI

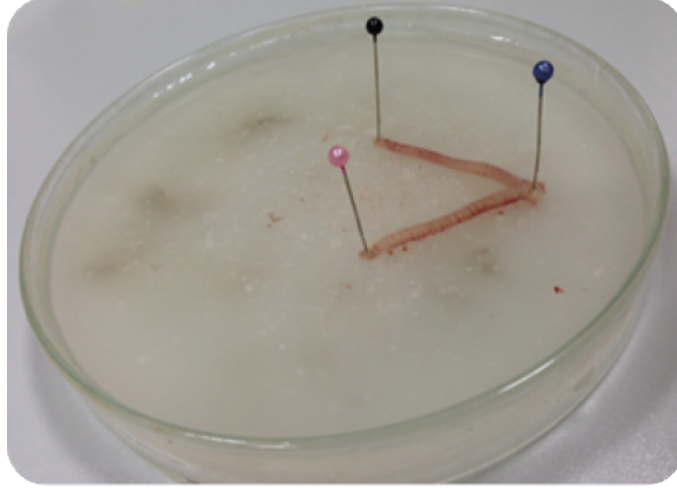
Düz kaslarda gevşemenin gerçekleşebilmesi için öncelikle hücre içerisinde serbest Ca^{+2} konsantrasyonunun istirahat düzeyine azalması gerekmektedir. Hücre zarı Ca^{+2} pompası (Ca^{+2} -ATPaz) ile hücre dışına gönderme ve sarkoplazmik retikulum üzerinde bulunan pompa sayesinde hücre içi depolara geri alım yoluyla hücre içi serbest Ca^{+2} düzeyi 10^{-7} M'ın altına düşmesi sonucunda MHZK inaktif duruma gelir. Ayrıca miyozin hafif zincir fosfataz (MHZF) aktivitesinin de artması gerekmektedir. Bu durumda MHZ ve MHZF tarafından defosforilasyonu gerçekleşir ve gevşeme meydana gelir (13,14). Düz kaslarda kasılmayı inhibe edici ajanlara örnek ise nitrik oksit verilebilir (1,2).

Uterus kasının yapısı, fizyolojik olarak kasılma ve gevşeme mekanizması Susan Wray tarafından çok sayıda derleme ve orijinal makalede ele alınmıştır (5,6,10,15).

4.4. UTERUS KAS FİZYOLOJİSİ

Uterus yumurta ve spermin döllendikten sonra meydana getirdiği zigotu içerisine alarak, beslenmesi korunması gibi fizyolojik süreçlerinin tamamlanması ve doğumun gerçekleşmesine kadar saklayan ve doğum zamanı gelince de yavruyu doğuma sevk eden kontraktıl yapıda bir kassal organdır.

Sıçan uterusu pelvis ve abdomen boşluğunda bulunur. Önde vesicae urinaria (mesane), arkada rektum ile komşuluğu vardır. Bağırsaklar tarafından sarılmıştır. Kranial kısımda ovaryumlar bulunmaktadır. Sıçan uterusu çift boynuzlu olup, bu iki boynuz kaudal tarafta birleşmiştir. Sıçan uterusunun çift boynuzlu görünümü Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Sıçan uterusunun çift boynuzlu görünümü (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı)

Uterus duvarı üç katmandan oluşmaktadır: Tunika seroza (perimetrium), tunika muskularis (miyometrium) ve tunika mukoza (endometrium). Uterusun en iç katmanı epitel hücrelerden oluşan endometriumdur (16). Endometrium tabakası miyometriumun alt ve iç tabakasını oluşturmaktadır. Çeşitli hormon, sitokin ve peptidlerce zengin içerik salgılarıyla miyometrium tabakasının kasılma işlevinin fizyolojik mekanizmalar içerisinde düzenli bir şekilde çalışmasından sorumlu ve

düzenleyicidir (17,18). Miyometriyum uterusun en kalın katmanıdır. Kan ve lenf damarlarının bulunduğu ortada bir bölge ve dış kısımda da perimetriyumun altında uzunlamasına düzenli bir şekilde iş bölümü yapan düz kas demetleri bulunmaktadır (18). Perimetriyum tabakası uterusun en dışındaki ince bir gevşek bağ dokusu olan kısmıdır. Uterus menstrasyon döngüsü proöstrus, östrus, metöstrus, diöstrus dönemlerini kapsamaktadır (13). *İn vivo* ortamda menstrasyon döngüsü gerçekleşirken miyometriyum ve endometriyum tabakaları değişiklik göstermektedirler. Diöstrus evresinde uterusun spontan aktivitesi çok azdır. Östrojenin en fazla olduğu östrus evresindeyse kuvvetli bir spontan aktivite gözlenir.

Gebelik sürecinin normal sınırlar içerisinde devam etmesi fizyolojik mekanizmalarla düzenlenmektedir. Miyometriyum tabakasının aktivitesi bu mekanizmaların en önemlilerindendir. Miyometriyumun kontraksiyonları doğum anına kadar baskılanmakta ve miyometriyum tabakasının değişikliğe uğraması ile kontraksiyonlar başlayarak, doğum sürecine girilmiş olur (8,15,16,19,20).

Kas hücreleri arasında iletişimi sağlayan ara birimlerin (gap junction) ortaya çıkması, oksitosin reseptörlerinin artması, PGs sentezinin hızlanması ve steroid hormonların (özellikle östrojen ve progesteron) yapım hızlarında meydana gelen değişiklikler uterus kas kontraksiyonunun başlamasında rol oynayan faktörlerdir. Bu etkileşimler sonrasında hızı düşük ancak güçlü ve yayılma özelliğine sahip uterus kontraksiyonları ortaya çıkar (17,21).

4.4.1. MİYOMETRİYUMDA SPONTAN KASILMA SÜRECİ

Hücre içerisine Ca^{+2} girişi intraselüler kalsiyum seviyesi miyometriyumun fazik kasılmalarının hemen öncesinde artmaktadır (19,22,23). *İn vitro* bir ortamda oksitosin, siklapiazonik asit gibi maddeler kullanılarak spontan kasılma mekanizmaları incelenmektedir (5,6,24). Eksternal kalsiyumun varlığına spontan aktivitenin bağlı olduğu belirtilmiştir. Miyometriyal şeritlerin bulunduğu ortamda Ca^{+2} varlığı söz konusu ise spontan aktivitelerin gözlemlendiği ancak ortamda Ca^{+2} yok ise spontan aktivitelerin durduğu ve kaybolduğu görülmektedir (24).

Spontan kasılmalar sırasında sarkoplazmik retikulumta (SR) bulunan Ca^{+2} iyonunun herhangi bir rolünün olmadığı belirtilmiştir (5,24)

4.4.2. MİYOMETRİYAL ELEKTRİKSEL AKTİVİTE VE KASILMALARI

Miyometriyum membran potansiyelinde meydana gelen değişiklikler uterus aktivitesinin kontrolünde önemli role sahiptir. Miyometriyumda bulunan pacemaker hücrelerin ritmik spontan depolarizasyonu miyojenik kasılma mekanizmasını teşkil eder. Miyometriyumun yapısında bulunan pacemaker hücreleri anatomik olarak belirgin olmayıp konumları tam olarak bilinmemektedir.

Gebelikte uterusun pacemaker aktivitesi ve onun tetiklediği elektriksel aktivitedeki değişiklik meydana gelir (25,26). Fare uterus longitudinal kaslarında gebeliğin ilk yarısında membran potansiyelinde yaklaşık olarak -57 mV den -48 mV'a değişen dereceli bir depolarizasyon meydana gelmektedir (12,27). Sirküler kas yapılarında ise bu değerler doğuma kadar küçük değişikliklerle devam ederek -45 mV seviyelerindeki bir değere depolarizasyon gösterirler (11). İnsan miyometriyumunda istirahat membran potansiyeli yaklaşık -46 ile -52 mV arasında değişmektedir (25,28).

4.5. MİYOMETRİYAL KASILMA AKTİVİTESİNİ ETKİLEYEN ENDOKRİN FAKTÖRLER

Gebeliğin devamı ve sonlanmasında endokrin faktörler miyometriyal aktivitenin kontrolünü sağlayarak etkili olmaktadır (29,30). Oksitosin (OT), östrojen, progesteron, kortikotropin salgılatıcı faktörler ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) miyometriyal aktivitenin kontrolünde rol almaktadırlar. Nörohipofizden salgılanan bir hormon olan oksitosin ise doğum anında uterus kaslarında kontraksiyon meydana getirir (31,32).

Oksitosin, PGs salınımını pozitif yönde değiştirirken, progestron salınımı ise negatif yönde etkilemektedir (33).

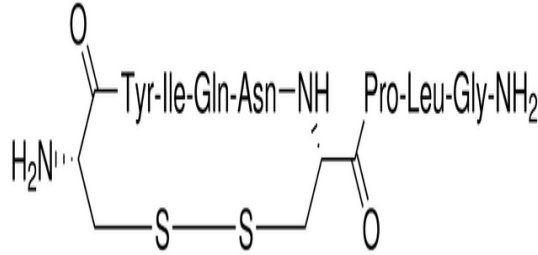
Miyometriyumda östrojen hem kendi reseptörlerini arttırarak hemde oksitosinin reseptörlerinin sayılarını artırarak etki gösterir. Miyometriyum aktivitesini baskılayarak gebeliğin devamını da progestron sağlamaktadır. Relaksin de progestron gibi sıçan miyometriyumunda yapılan çalışmalarda ritmik kasılmaları önlediği bilinmektedir (26).

4.5.1. OKSİTOSİN

Oksitosin (OT) hipotalamusta supraoptik (SOP) ve paraventriküler çekirdeklerden (PVN) salgılanan ve dokuz amino asitten oluşan peptit yapılı bir hormondur. Oksitosik hormonun genel yapısı Şekil 2’de gösterilmiştir.

Günümüze kadar kanda farklı biyolojik özelliklere sahip üç farklı OT benzeri peptit saptanmıştır. Bunlar N-asetillenmiş OT ve OT metabolitleridir. Ama N-asetillenmiş OT hormon olarak etkin bir form değildir. OT metabolitleri ise ayrı bir nöropeptit grubu oluştururlar ve bunların etkileri davranış üzerinedir.

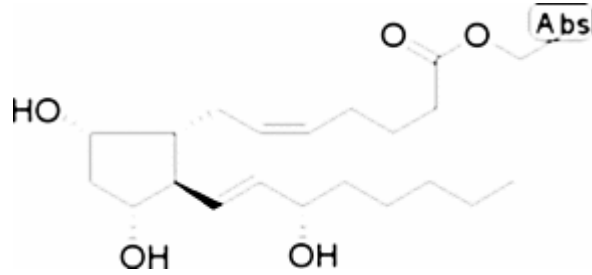
Ratlardaki hipofizde oksitosin (OT) düzeyinin ve östrüs siklusu boyunca salınımının değiştiği konusunda bildirimler bulunmaktadır. Düz kas hücrelerinde (örneğin uterus ve yumurta kanalı) oksitosinin kasılmayı uyardığı da bilinmekte ve bu etkisinin çiftleşme sonrası sperm ve yumurtanın uterusa ulaşmasını kolaylaştırdığı anlaşılmaktadır (31,32). Koyunlarda dışarıdan OT uygulamasının PGF2 alfa düzeyini östrüs döngüsünün son dönemlerinde de artırdığı bilinmektedir (34).



Şekil 2. Oksitosin α -Hipofamin, Oksitosik hormon (Sigma)

4.5.2. PROSTAGLANDİN

Prostaglandin (PG) ve türevleri 20 karbon atomlu pentagonal halka, iki yan zincir ve bir karboksil grubu içerirler. Bu pentagonal halka üzerindeki yapısal değişiklikler sonucunda PG türevleri ortaya çıkmaktadır. Prostaglandin F2 α metil esterin genel yapısı Şekil 3’ de gösterilmiştir. PG’ler yan zincirinde bir, iki veya üç çift bağ içermesine göre 1, 2 ya da 3 serisine dâhil olurlar. Temel olarak halka yapısına bağlı olarak da A, B, E ve F olmak üzere dört tipe ayrılırlar. Prostaglandin F2 alfa ve analogları, kullanımlarının pratik olması ve düşük maliyeti nedeniyle östrus senkronizasyonlarında geniş ölçüde kullanılmaktadır (31,35).



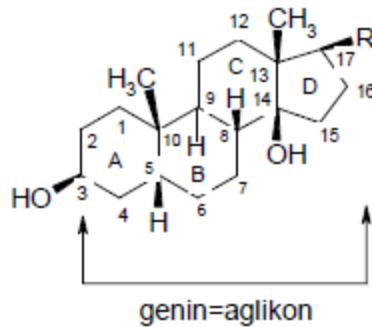
Şekil 3. Prostaglandin F2 α metil ester (Sigma)

4.5.3. DİJİTALİS GLİKOZİTLERİ

Dijitoksin, digoksin ve gitoksin, *Digitalis* L. türlerinin tohumlarından ekstrakte edilen en önemli dijital glikozitlerdir. Aglikonlar bu isimlerin sonuna “-genin” eki getirilerek isimlendirilirler. Aglikonun kimyasal yapısı Şekil 4’de gösterilmiştir. *Digitalis* glikozitleri metabolize olduklarında aglikonun 3 numaralı konumunda bulunan şeker gruplarını kaybederler. Doğal dijitalis glikozitlerinden farmakokinetik özelliklerinin geliştirilmesi ve biyoyararlanımın artırılması amacıyla, metil digoksin α - ve β -asetil digoksin gibi bazı yarı sentetik türevler hazırlanmıştır. Kardiyotonik glikozitler kalpte farklı seviyelerde etkili olurlar. Farmakokinetikleri molekülün polaritesine, özellikle aglikon üzerindeki –OH gruplarının sayısına bağlıdır (36).

Digitalis türlerinden elde edilen glikozitler, kalp dokusunun kasılma gücünü artırıp, pozitif inotrop etki göstermektedirler. Kalp glikozitleri, kalp debisindeki azalmayla birlikte görülen ve ventriküllerin sistolik fonksiyonunun bozulduğu kronik kalp yetmezliği tiplerinin tedavisinde kullanılırlar (36). Atriyum fibrilasyonu ve kombine kalp yetmezliği dijitalerin en etkili olduğu endikasyonlardır. Ayrıca koroner kalp hastalığına bağlı düşük debili yetmezliğin başlangıcında, hipertansiyona bağlı olarak gelişen kalp yetmezliğinde de kullanılırlar.

Ancak kronik perikardite bağlı düşük debili yetmezlikte, miyokarda yaygın dejenerasyonla birlikte olan difteri ve kimyasal zehirlere bağlı toksik miyokarditlerde, romatizmal kardit ve diğer tür akut miyokarditlere bağlı yetmezliklerde ve kardiyojenik şokta etkisizdirler (37).



Şekil 4. Aglikonun kimyasal yapısı (Opie LH)

4.5.4. MAGNEZYUM

Magnezyum (Mg^{2+}) miyometriyal aktiviteyi *in vivo* ve *in vitro* olarak inhibe etmektedir (38). Uterus kasına uyarıları ileten sinirlerin bloke ederek sinirden uyarının iletilememesi ve ikinci olarak da uterusun yapısında bulunan düz kas hücrelerine direkt olarak etkileridir.

Birinci olayda sinir-kas kavşağındaki sinir hücrelerine kalsiyum girişini engelleyen artmış Mg^{2+} seviyesi ve asetilkolinin salınmasını azaltarak etkisini gerçekleştirir. İkincisi baskılanma sürecinde ise magnezyum iyonu uterus düz kasında kalsiyumla yarışa girmekte ve ATP'nin etkilediği aktin-miyozin birlikteliğini engellemektedir (14,15). Klinik çalışmalarda elde edilen veriler $MgSO_4$ 'ın etkisini kalsiyum antagonisti olarak yaptığını ortaya çıkarmıştır. Çünkü $MgSO_4$ alan hastalarda kalsiyum verildiğinde uterus aktivitesi artmaktadır (11).

4.6 HIPOKSİ VE HIPOKSİ ÇEŞİTLERİ

Hipoksi genel olarak vücut veya vücudun bir bölgesi yeterli miktarlarda oksijenden yoksun bırakılması durumunu ifade eder (3,4). Dokuların ve hücrelerin fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için yeterli miktarlarda kanın dolaşımını sağlamak gerekmektedir.

Hipoksi genellikle patolojik bir durum olmasına rağmen, arteriyel oksijen konsantrasyonunun farklılıkları normal fizyolojisinin bir parçası olabilir. Örnek olarak; ağır fiziksel egzersiz sırasında oluşan oksijen yetersizliği verilebilir. Konuyla bağlantılı olmak üzere, uterus kasının şiddetli kasılmaları sırasında da hipoksi oluşabilir. Oluşabilecek hipoksi sonrasında uterus kasındaki kasılmaların doğum esnasında zorluk oluşturabileceği gibi, aynı zamanda da yavrunun hayatını tehlikeye atabilir (39,40,41).

Hayatın devamı biyolojik enerjinin varlığına bağlıdır. ATP adı verilen bu enerji kaynağının oluşturulabilmesi için oksijene ihtiyaç vardır (12). Dokuların ve organların fonksiyonlarını düzenli bir şekilde yerine getirmesi için yeterli düzeyde oksijenin, besinin sağlanması gerekmektedir. Düz kaslarda, düşük bir metabolizma hızına sahip olduklarından belirli bir periyottaki anoksik duruma karşı dirençlidirler. Fizyolojik ve

biyokimyasal özellikleri bakımından birbirlerinden farklılıkları önemli olan düz kaslar, hipoksi durumuna dayanıklılıkları bakımından da farklılıklar göstermektedirler.

Miyometriyumdaki kontraksiyonlar, uterusun perfüzyonuna önemli derece bağımlıdır (41-43). Hipoksi gibi durumlar sonucunda miyometriyumda kontraksiyonlar hızla baskılanmakta ve hatta tamamen ortadan yok olmaktadır. Uterus kası, gebelik süresince kendisini yapısal olarak değişikliklere uğratmasından dolayı miyometriyumdaki fizyolojik ve biyokimyasal olaylara ışık tutulması açısından önemli bir yapıdır (42,44).

Uterus dokusunda kan akımının azalması, ATP gibi enerji kaynaklarında değişikliklerin olması, reaktif oksijen türlerinin artması, inorganik fosfatın azalması ve pH'nın düşmesi gibi olumsuz yönde gerçekleşen metabolik sonuçların ortaya çıkmasına yol açar. Bunlar da doğrudan veya dolaylı olarak miyometriyumun kasılmasını etkiler. Hipoksi hasarı; birçok hücre tipini, oksidan madde üretimini ve bu doku ve organların fizyolojilerini ve biyokimyasal yapılarını, iyon kanallarının durumunu içeren karmaşık bir süreçtir. Miyometriyumun fizyolojisinin düzenli olması yalnızca bir tek yola değil, birçok biyokimyasal ve moleküler yola, etkileyiciye (örneğin: K[ATP] kanalları) ve oksidanlar ile ilişkilidir (45). MitoKATP kanalları, internal mitokondriyal membranda yerleşiktir ve birçok dokunun mitokondriyal fonksiyonunu düzenler. Dolayısıyla MitoKATP kanallarının da bu aşamada rolü önemli derecededir.

Günümüzde KATP kanallarının iskemik ön koşullanmanın koruyucu etkisinin de önemli bir bölümünü oluşturduğu bilinmektedir (27). Sarkolemmal KATP'ye ilave olarak, mitokondri iç membranında bulunan mito KATP'nin aktivasyonunun hipoksik ve iskemik durumlarda farklı mekanizmalar aracılığıyla önemli roller oynadığını göstermektedir (39,27).

4.6.1. HİPOKSİ ÇEŞİTLERİ

Dolaşım sisteminin içerisinde bulunan ve fizyolojik olarak büyük öneme sahip olan kanın taşıdığı oksijen miktarı zamana, ortama ve çevre şartlarına bağlı olarak değişiklik gösterir (11). Hipoksi, durumu meydana çıkma durumuna göre şu şekilde alt gruplarda sınıflandırılmaktadır;

1. Hipoksik hipoksi
2. Anemik hipoksi
3. Histotoksik hipoksi
4. Stagnant (durgunluk) hipoksi

4.6.1.1. HİPOKSİK HİPOKSİ

Vücuda alınan havadaki oksijen miktarının azalmasına bağlı olarak meydana gelen hipoksi çeşididir. Solunum havasında oksijen yeterli miktarda olmadığında akciğerlerden kana iletilen oksijen miktarının azalmasına bağlı olarak meydana gelen hipoksi çeşididir. Yükseklerle çıkıldıkça artan rakım seviyesi nedeniyle azalan basınç hipoksiye neden olduğundan bu hipoksi türüne yükseklik hipoksisi adı da verilebilmektedir. Yüksekliğe bağlı kalınmaksızın hipoksik hipoksiye neden olan faktörleri de şu şekilde sıralayabilmekteyiz;

- Nefes sayısında azalma (hipoventilasyon),
- Oksijeni düşük ortamda solunum,
- Negatif olan göğüs içi basıncın pozitif olması (Pnömotoraks).

4.6.1.2. ANEMİK HİPOKSİ

Organizmada bulunan toplam eritrosit sayısının veya kanda bulunan eritrositlerin içindeki hemoglobin miktarının azalması ya da her ikisinin de azalması sonucunda anemik hipoksi ortaya çıkabilmektedir.

Canlı organizmalarda anemi, çeşitli nedenlere bağlı olarak oluşabilmektedir. Bunlara örnek olarak ise kan kaybı, eritrosit hücrelerinin hemoglobinlerinin oksijen bağlanma oranlarını azaltan herhangi bir faktör, bu şekilde bir hipoksi ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (11).

4.6.1.3. HİSTOTOKSİK HİPOKSİ:

Histotoksik hipoksi, hücrelerdeki yükseltgenme ve indirgenme reaksiyonlarının işleyişlerinin aksaması nedeniyle oksijenden faydalanılamaması sonucunda ortaya çıkan bir hipoksi türüdür. Hücrelerin oksijen bağlayabilmesi yeteneğinin ortadan kalkmasına bağlı olarak ortaya çıkan hipoksi çeşididir (11).

Hücrelerin zararlı kimyasal maddeler tarafından etkilenmesine (histotoksik) sebep olan bütün zehirli ve radyoaktif maddeler histotoksik hipoksiyi meydana getirirler. Alkol, uyuşturucu bağımlılığı veya bu maddelerin benzer etkilerini meydana getiren ilaçların uzun süre kullanılması sonucunda veya karbon monoksit, siyanür ve bunun gibi zehirli gazlar histotoksik etki meydana getirerek böyle bir hipoksiye sebep olurlar.

4.6.1.4. STAGNANT (DURGUNLUK) HİPOKSİ

Akciğerler tarafından yeterli miktarda oksijen temin edilmesine rağmen dolaşım sistemine bağlı olarak dokunun yeteri kadar oksijenlenememesi nedeniyle ortaya çıkan hipoksi tipidir. Kan akışının azalması sonucu meydana geldiğinden durgun hipoksi de denir. Vücudun periferinde venöz göllenme, kalp yetmezliği, çeşitli nedenlerle oluşan şoklar, gibi sebepler durgun hipoksi için sayılabilecek nedenlerdendir (46).

4.7. MİYOMETRİYAL AKTİVİTENİN İYONİK TEMELLERİ

Spontan pacemaker aktiviteyle ya da hormonal ve nöronal uyarı sayesinde voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları açılmaktadır. Bundan dolayı uterusun kasılması için gerekli olan güç üretiminde voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları, önemli rol oynamaktadır. Kasılmanın gerçekleşebilmesi önemli derecede hücre dışındaki Ca^{+2} konsantrasyonuna bağlıdır. Aksiyon potansiyelindeki ateşlemenin ardından depolarizasyon oluşabilmesi için L-tipi voltaj duyarlı Ca^{+2} kanallarının açılması gerekmektedir bu kanallar açılarak depolarizasyon oluşturulur. Miyometriyum kasılmalarını Ca^{+2} kanal blokörleri seçici olarak bloklar (47,48).

Ca^{+2} kanal inaktivasyonu gerçekleşebilmesi için hem Ca^{+2} konsantrasyonuna hem de membran potansiyeline ihtiyaç duyulur. Gebe uterus; voltaj kapılı, Ca^{+2} duyarlı ve ATP'ye duyarlı kanalların da içerisinde bulunduğu çeşitli K^{+} kanallarını bulundurur (49). Gebelik ve gebelik görülmeyen dönemlerde uterusda bu iyon dağılımı ve konsantrasyonu farklılıklar göstermektedir.

Miyometriyumda meydana gelen kasılmalar bir bütün olarak ele alındığında kasılmanın gevşeme periyodunun yükselmiş K^{+} iletkenliği ve K^{+} kanal aktivitesiyle bağlantılı olduğu ortaya konulmuştur (50). K^{+} kanallarının aktivitesi uterus kasılmalarının kontrolü için büyük bir öneme sahiptir.

4.8. MİYOMETRİYAL KASILMADA İYON KANALLARININ ROLÜ

Gebelik süreci ve doğum sırasında uterus da meydana gelen kasılmaların sürekli bir şekilde kontrol altında tutulması ve düzenlenmesi oldukça önem arz etmektedir. Membranın yüzeyinde iyon kanal aktivitesi potansiyel değişiklikler oluşturduğu bilinmektedir.

4.8.1. İYON KANALLARI

Canlılarda iyon kanalları iyonofor adı verilen proteinlerin iki ana yapı sınıfından birisi olarak sınıflandırılmaktadır. Yapıda bulunan ve fizyolojik süreçte canlıda aktif olan diğer bir sınıf olan iyon taşıyıcı proteinler ise sodyum-potasyum pompası, sodyum-kalsiyum değiştiricisi ve sodyum-glikoz iletiminden sorumlu proteinler olarak örnek verilebilir. İyon kanalları genellikle biyofizik ve elektrofizyoloji alanlarının aktif çalışma alanlarıyla ilgili olarak araştırmalarla yapıları aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

4.8.1.1. KALSİYUM KANALLARI

Kas hücrelerinde ve miyometriyumda kalsiyuma bağlı hücresel işlevlerin gerçekleşebilmesi için sitozolde kalsiyum konsantrasyonunun düşük tutulabilmesi oldukça önemlidir. Sarkoplazmik retikulumda ve hücrenin membranında bulunan Ca^{+2} ATPaz enzimleri bu işlevi yerine getirmektedir (16,51). Miyometriyumun hücre membranında yaygın olan voltaja bağımlı kalsiyum kanalları (VBKK) yer almaktadır. Bu kanallar L ve T tipi olmak üzere iki alt gruptan oluşmaktadır. Sitozole Ca^{+2} girişi L-tipi Ca^{+2} kanallarının uyarılması sonucu gerçekleşmektedir. T-tipi Ca^{+2} kanalları da voltaja duyarlı olan kanallardır, ancak daha negatif (-60 mV) potansiyellerde aktif olmaktadır.

Hücrelerde kalsiyum miktarı düzenlenmesi hücredeki kalsiyumun salınmasına ve plazma membranı boyunca kalsiyumun giriş ve çıkışıyla olmaktadır. Membranlar arası değişim taşıma ve kanallar vasıtasıyla olmak üzere iki temel mekanizmayla gerçekleşmektedir. Taşıma işlevi kalsiyum pompası, sodyum-kalsiyum değiştiricisi, sodyum potasyum pompası dışında konsantrasyon veya elektrik gradyantine karşı taşıyıcı iyonlar tarafından sağlanır. Kalsiyum hücre içerisine hücre dışından üç tip kanal aracılığı ile girer.

Bu kanallar;

- Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları (nöron ya da kas hücreleri gibi uyarılabilir hücrelerde)
- Reseptör kontrollü kalsiyum kanalları (nörotransmitterlere yanıt olarak)
- Depo kontrollü kalsiyum kanalları (hücre içi kalsiyum depoları boşaldığı zaman aktive olan kanallar)

Membrandan hücre içerisine kalsiyum girişi membran kısmen depolarize olduğu zaman açılan voltaj bağımlı kalsiyum kanalları aracılığı ile meydana gelmektedir.

4.8.1.2. KALSİYUM BAĞIMLI POTASYUM KANALLARI

Kalsiyum bağımlı potasyum kanalları, iletkenliği büyük ve iletkenliği küçük olan potasyum kanalları olmak üzere iki çeşittir (31,52). Kalsiyumla aktive edilen potasyum kanallarının aktivasyonu hücre içi kalsiyum iyon konsantrasyonu ile ilişkilidir (38). K^+ kanallarının çok sayıda antagonist ajanları vardır. Bu antagonistlere örnek olarak apamin ve kobalt gibi inorganik katyonlar örnek olarak gösterilebilir. Düz kasta oluşan hiperpolarizasyon olayı K^+ kanallarının aktivasyonu ile bağlantılıdır (53, 54).

Hücrelerin yapısında bulunan iyon kanalları hücre zarında geçitler oluşturan, fonksiyon olarak istirahat membran potansiyeli oluşturmak, aksiyon potansiyelini şekillendirme ve hücrelerde diğer elektriksel sinyalleri iletmek olan yapılardır.

4.8.1.3. KALSİYUM BAĞIMLI KLOR KANALLARI

Kalsiyum bağımlı klor ($I_{Cl(Ca)}$) kanalları düz kaslarda tespit edilmiştir. Düz kas hücrelerinde pacemaker aktivitenin düzenlenmesinde ve bunun yanında spontan kontraktıl aktivitedeki elektiriksel olayların belirlenmesinde $I_{Cl(Ca)}$ kanallarının önemli rolleri olduğu belirtilmektedir (55). Uterus kasılmalarındaki $I_{Cl(Ca)}$ kanallarının rolü çok az bilgi mevcuttur (56,57). Uterusda meydana gelen kontraksiyonlarda Na^+ kanallarının da katkıda bulunduğuna dair deliller vardır. Tablo 1’de kobay, rat ve kedi izole miyometriyum hücrelerinde hücre içi ve hücre dışı muhtemel iyon konsantrasyonu verilmiştir.

Tablo 1. Kobay, sıçan ve kedi izole miyometriyum hücrelerinde hücre içi ve hücre dışı muhtemel iyon konsantrasyonu (48).

	Hücre Dışı	Hücre İçi	Hücre Dışı Hücre İçi
Na^+	137 mmol/L	40 mmol/L	3.4
Ca^{+2}	1.5 mmol/L	0.13 μ mol/L	10^4
K^+	6 mmol/L	169 mmol/L	0.03
Cl^-	134 mmol/L	65 mmol/L	2.1

4.8.1.4. ATP DUYARLI POTASYUM KANALLARI

Adenozin 3'-trifosfat, hücrenin içerisinde bulunan ve hücre için birçok önemli görevi olan bir nükleotiddir. En önemli işlevi hücrenin kendi içerisinde gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlar için gerekli olan kimyasal enerjiyi sağlamaktır.

Hücrelerde iyon giriş çıkışını sağlamak üzere görevli pek çok kanal bulunmaktadır. ATP bağımlı potasyum kanallarının keşfi hücrenin içerisinde ATP miktarında artış olduğu zaman inaktif duruma geçtiği ve ATP yıkımı sonrasında ise ADP'nin artmasına bağlı olarak aktiveleşmesinden dolayı bu şekilde isimlendirilir. (45).

Hipoksiye bağlı olarak aktiviteleri değişebilen bu kanalların, hücrelere yeterli miktarda oksijen sağlanamaması durumunda aktif duruma geçerek hücre dışı potasyum iyonu miktarını arttırmaktadır (27). Bu kanallar oksijen yetersizliğine bağlı olarak açılabilirken aynı zamanda enerji kaynağı olan ATP'nin azalışına bağlı olarak açılmaktadır. Bu kanalın düz kas hücrelerinde, sinir hücrelerinde ve endokrin hücrelerde var olduğu bilinmektedir (58). Bu kanallar sülfonilüre içeren bileşik maddeler tarafından durdurulabilirken, K^+ kanal açıcıları tarafından ise aktivasyonu sağlanmaktadır (59,60).

ATP duyarlı potasyum kanallarının rolünü incelemek gerekirse, bu kanalların açılması hücrede bulunan potasyum iyonu hücre dışıya çıkararak aksiyon potansiyelini süre bakımından kısaltmaktadır (59,61). Bu sayede hücrenin kalsiyum yükü azalmış bir konuma geçebilmektedir. Buna bağlı olarak ise hücrelerin oksijenden daha verimli bir şekilde yararlanması ve de hücrenin gereksinim duyduğu oksijen miktarında bir azaltmaya gidilerek oksijene olan ihtiyaç azalır ve hücrenin yaşamsal ve fizyolojik canlılığının sağlandığı ortaya konulmuştur (62).

4.8.2 SODYUM-POTASYUM POMPASI

Hücrelerde iyonları taşımak için enerji gerektiren protein yapıda bulunan "pompa"lar mevcuttur. Pompalama mekanizmalarından birisi de sodyum-potasyum pompasıdır. Hücrelerde sodyum iyonunu hücre zarından dışarıya, potasyumu içeriye taşıyan ATPaz aktivitesine sahip olan plâzma zarı proteinidir (63). ATP'nin ADP ye dönüşerek ortaya çıkan enerji ile gerekli olan taşıma işlemi gerçekleştirilir.

Hücre zarının yapısında bulunan ve kanal oluşturan proteinler, hücrenin üretilen toplam enerjisinin yaklaşık olarak üçte birini kullanır. Bu kanal yapısında bulunan proteinler aktivitelerini kesmeksizin hücrenin dışına sodyum iyonlarını pompalarken, hücrenin içerisine de potasyum iyonlarını geriye alırlar. Bu esnada hücrenin dışına 3 adet sodyum gönderilir ve buna karşılık olarak hücre içine 2 potasyum alınır (50).

Böylelikle bu hücrenin içerisine ve hücre dışına iyon alış-verişi sayesinde hücre içerisinde sodyum ve potasyum iyonlarına bağlı farklı yoğunluklarda iyon konsantrasyonları ortaya çıkmaktadır.

4.8.3. GAP KAVŞAKLARI

Gebeliğin son dönemlerinde sayılarında artış olduğu tespit edilen gap kavşakları membran proteinlerinden oluşmuşlardır (64). Aksiyon potansiyelleri uterustaki pacemaker hücrelerinin bulunduğu bölgeleri tetikleyerek, tüm dokunun kasılmasına aracılık etmektedir.

Miyometriyumdaki hücreler arası iletişimin hızlı artışının nedeni tam olarak ortaya konulmamakla birlikte hidrojenin (H^+) ve Ca^{+2} 'nin gap kavşaklarının iletkenliğini değiştirebildikleri düşünülmektedir (65).

4.8.4. POTASYUM SİYANÜR (KCN)

Potasyum siyanür canlılar için son derece toksik etkilere sahip bir maddedir. Hücrelerde anaerobik metabolizmanın etkisiyle ATP/ADP oranında azalmaya sebep olur ve böylece Ca^{+2} homeostazisi gibi enerji bağımlı süreçleri etkiler. Bu şekilde Ca^{+2} düzenlenmesinin bozulması nörotransmitter salınımındaki değişiklikler ile gerçekleşmektedir (66). Dokularda süren enzimatik aktiviteleri KCN değiştirerek oksidatif fosforilasyon mekanizmasını aksatmaktadır. KCN metabolik inhibisyon sonucu hipoksi oluşturarak dokuların oksijenlenmesine engel olur. KCN solunum zincirinde yer alan sitokrom oksidaz enzimini sitokrom b ve sitokrom c arasında inhibe eder. Sitokrom oksidaz oksidatif fosforilasyonun son basamağını katalize eden bir enzimdir. Bu enzim ATP üretimini oksijeni indirgeyerek gerçekleştirir (66). KCN'nin sitokrom oksidazı inhibe etmesi ATP düzeyinde azalmaya neden olur (67).

Kalp yetmezliğinde hücre içi kalsiyum düzeyinde artış sağlayarak kontraktiletiyi iyileştirici etki sağlayan kalp glikoziti digoksinin metabolik inhibisyon aracılı kontraktıl inhibisyon üzerine etkileri ve izole sıçan miyometriyumunda metabolik strese bağlı gelişen kontraktıl inhibisyonda sodyum-potasyum pompasının ($Na^{+}-K^{+}$ ATPaz) olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın verileri, hipoksi sonucunda uterus kasılmasının baskılandığını ortaya koymaktadır. Ancak hipoksi sonucunda kasılma gücünde meydana gelen kaybın sebep olacağı uterus atonisinin tedavisinde etkin olup olmadığını araştırmak amacıyla, KCN uygulaması ile doku hipoksisi oluşturularak uterus dokusunda *in vitro* ortamda deneyler gerçekleştirildi.

5.GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Materyaller

Mevcut çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen gebe olmayan Sprague Dawley cinsi sıçanlardan izole edilen uterus kası kesitlerinde gerçekleştirildi. Mevcut çalışmada kullanılan materyaller; Krebs çözeltisi, izole organ banyo sistemi, oksitosin (Synpitan Fort, her ampul 5 I.U./ml) ve digoksin (Digoxin-sandoz ampul, 0.5 mg/2 ml).

Digoxin-sandoz ampul {0.5 mg/2 ml 5 ampul ambalaj} içeriği:

1 steril ampul (2 ml)

Aktif madde:

Digoksin 0.50 mg

Yardımcı maddeler:

Sitrik asid anhidr 2.88 mg

Disodyum hidrojen 7.34 mg

Fosfat anhidrat

Etanol % 94 a/a 126.20 mg

Propilen glikol 829.44 mg

Enjeksiyonluk su

5.2. İzole Organ Banyo Sistemi

İzole organ banyo sistemi, hazırlanan miyometriyum şeritlerinin yerleştirildiği Krebs çözeltisi ile doldurulan hazneler, Krebs çözeltisi bulunan depo, depo ve hazneler arasında Krebs çözeltisinin akmasını ve boşaltılmasını sağlayan iletim hortumlar ve izometrik güç çevirgecinden oluşmaktadır. İzole organ banyo sisteminde bulunan hazneler sisteme bağlı olan termostatl dolaşım pompasından sağlanan 37°C'deki suyla dışarıdan ısıtılmaktadır.

İzole organ banyo sisteminde yer alan Krebs çözeltisi %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırıldı. Kasılmaların gücü izometrik güç dönüştürücüsü (MAY, Commat Ltd., Ankara) tarafından biyoelektriksel potansiyellere dönüştürülerek bilgisayara aktarılmaktadır. Bilgisayar ortamında dönüştürücü ara birimler sayesinde elektronik ortamda veriler kayıt edildi ve verilerin analizleri Biopac AcqKnowledge 4.0 yazılımı sayesinde gerçekleştirildi. Deneylerin gerçekleştirildiği kayıt düzeneği Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5. İzole organ banyo sistemi (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı)

5.3. Kullanılan Çözeltiler

Tez çalışması kapsamında kullanılan Krebs çözeltisi taze olarak hazırlandı. Kullanılan Krebs çözeltisinin içeriği ise aşağıda belirtilmiştir (68);

Krebs çözeltisi;	(mM/L):
1. NaCl	120
2. MgSO ₄	1.2
3. KCl	5.9
4. CaCl ₂	2.5
5. Glikoz	11.1
6. NaHCO ₃	25
7. NaH ₂ PO ₄	1.01

Krebs çözeltisi hazırlanırken distile, de-iyonize su kullanıldı. Hazırlanan Krebs solüsyonunun pH'sı ölçülerek gerektiğinde ortofosforik asit ilave edilerek pH'sı 7.4'e ayarlandı. Çözelti hazırlanırken kalsiyum klorür (CaCl₂) ve magnezyum sülfat (MgSO₄) ayrı ayrı çözülmesi sağlandıktan sonra hazırlanan toplam çözeltiye eklendi.

5.4. Kimyasal Ajanlar

Bu tez çalışması kapsamında Krebs çözeltisinin hazırlanmasında kullanılan bütün kimyasallar analitik saflık düzeyindeydi. KCN (Sigma, Almanya) ve Krebs çözeltisinde kullanılan NaCl (Sigma, Almanya), MgSO₄ (Sigma, Almanya), KCl (Sigma, Almanya), CaCl₂ (Sigma, Almanya), glukoz (Sigma, Almanya) NaHCO₃, (Sigma, Almanya) ve NaH₂PO₄, (Sigma, Almanya) ticari olarak temin edildi.

5.5. Uterus Şeritlerinin Hazırlanması

Bu tez çalışmasında kullanılan uterus şeritlerinin hazırlanabilmesi için Sprague Dawley cinsi yetişkin 12 haftalık, 200 - 260 gram arası daha önce hamilelik yaşamamış dişi sıçanlar kullanıldı. Laboratuvarda dekapitasyondan sonra dişi sıçanların karın bölgeleri hızlı bir operasyonla açıldı. Barsaklar ve diğer karın içi organları ve yağ tabakası ekarte edilerek, hayvanın ovaryumları ve uterus gövdesi arasında kalan iki uterus boynuzu kesildi ve Krebs çözeltisi bulunan petri kutusuna aktarıldı. Uterus boynuz kısımlarından yaklaşık olarak 1 X 0.2 X 0.2 santimetre boyutlarında toplamda 4 adet şerit hazırlandı.

5.6. Deney Prosedürü

Çalışmada dişi sıçanlardan izole edilen uterus boynuzlarından daha önceden belirtilen ölçülerde kesitler çıkarıldı. Her bir sıçandan aynı amaçlı deneyler için hazırlanan kesitlerden sadece bir tanesi kullanıldı. Sıçandan alınan kesitlerin alt ucu ipek bir iplikle organ banyosunun haznesinin içerisine giren kancaya üst ucu ise gene bir ipek iplik sayesinde izometrik güç çevirgecine bağlanarak organ banyosunda vertikal şekilde aşırı gerim uygulamadan asıldı.

Deneye başlamadan önce izometrik güç çevirgecine iki gramlık bir ağırlık asılarak bilgisayarda kayıtlı yazılımda gözlenen değerler belirlenerek, sistem iki gramlık gerimi göstermek üzere kalibre edildi. Daha sonrasında asılan referans olarak kullanılan 2 gramlık ağırlıklar çıkarılarak izometrik güç çevirgeci ile bağlantılı mikro oynatıcı hareket ettirilerek sisteme bağlanan miyometriyum kesitine 2 gramlık bir istirahat gerimi uygulandı. Daha önceden hazırlanan miyometriyum kesitlerini sisteme asarak bu istirahat gerimine adapte olabilmesi için kesitler sistemde 45 dakikalık bir istirahat gerimi uygulandı. Bu esnada gerek duyulduğu zamanlarda her bir miyometriyum kesiti Krebs solüsyonu ile yıkandı. Gerime adapte olabilmesi için asılan kesitler 45 dakikalık denge döneminin sonunda kesitin asılı olduğu organ banyosuna bu adaptasyon işlemlerinden sonra yazılım programında izlenmekte olan kasılmalar kayıt edilmeye başlandı. Takip eden 10 dakikalık kayıt dönemi kontrol dönemi olarak kabul edildi.

İstirahat gerimine 45 dakikalık bir uyum periyodundan sonra spontan kasılma gösteren miyometriyum kesitlerinden ilave 10 dakikalık kontrol kayıtları alınarak, bu periyodun sonunda banyo ortamına potasyum siyanür (KCN, 0.1 mM) uygulanarak ilave 10 dakika kayıt yapıldı bu sürenin sonunda ortama 1, 10, 30 ve 300 mg/ml dozlarında digoksin eklenerek ilave 10 dakika daha kayıt alınarak; organdaki izometrik kontraksiyonların frekansı, amplitüt ve kasılma gücü (eğri altında kalan alan) üzerine olan etkileri değerlendirildi. Kasılmaların amplitüt değerleri miligram (mg) cinsinden hesaplanarak, frekansları ise kasılma sayısı/10 dakika olarak kayıt alındı.

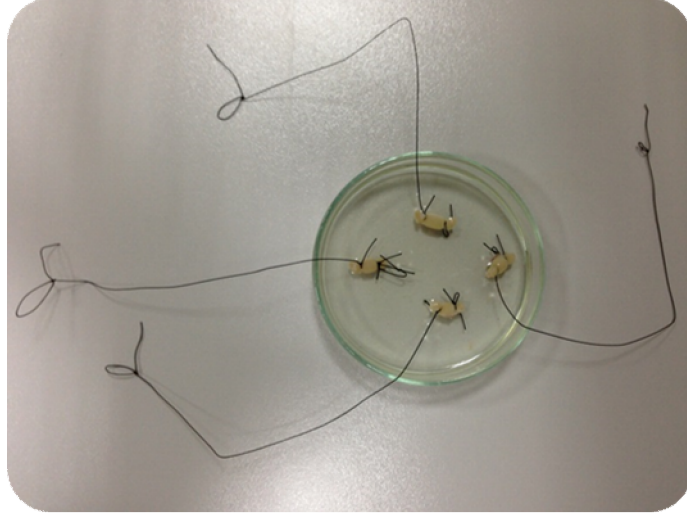
Şekil 6’de organ banyosu haznesine yerleştirilmek üzere hazırlanmış uterus kesitleri Şekil 7’de ise organ banyosunun haznesine yerleştirilmiş uterus kesiti görülmektedir. Her bir protokol için 7 miyometriyum şeriti kullanıldı.

Bu çalışmada uygulanan deney protokolleri aşağıda yer almaktadır:

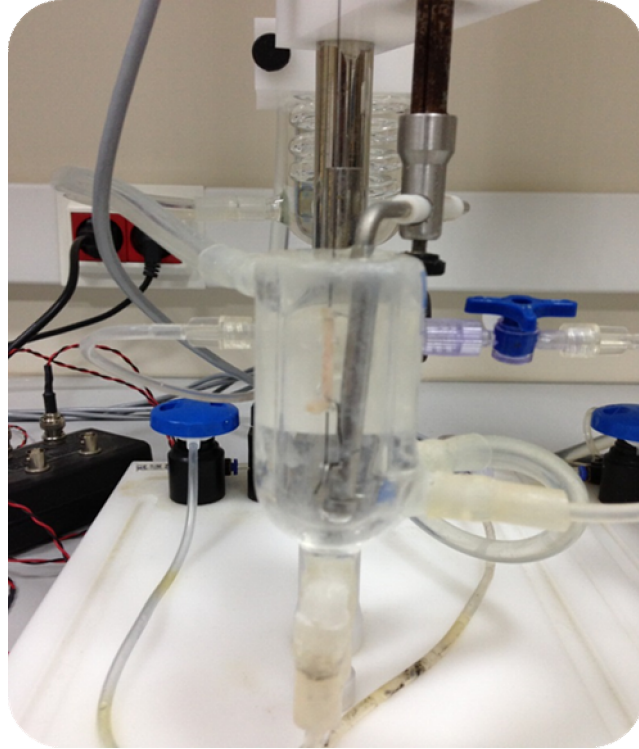
1. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Spontan Kasılmalar (10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + Digoksin (1 mg/ml, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması
2. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Spontan Kasılmalar (10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + Digoksin (10 mg/ml, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması
3. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Spontan Kasılmalar (10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + Digoksin (30 mg/ml, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması
4. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Spontan Kasılmalar (10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + Digoksin (300 mg/ml, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması
5. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Oksitosinle İndükleme (10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + Digoksin (1 mg/ml, 10 dk) + KCI (60 mM) (2 dk) uygulaması
6. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Oksitosinle İndükleme (10 dk) + KCN (0.1 mM) (10 dk) + Digoksin (10 mg/ml) (10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması
7. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Oksitosinle İndükleme (10 dk) +

KCN (0.1 mM, 10 dk) + Digoksin (30 mg/ml, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması

8. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Oksitosinle İndükleme (10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + Digoksin (300 mg/ml, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması
9. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Spontan Kasılmalar (10 dk) + Digoksin (300 mg/ml, 10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması
10. Protokol, (n=7): Adaptasyon (45 dk) + Digoksin (300 mg/ml, 10 dk) + Oksitosinle İndükleme (10 dk) + KCN (0.1 mM, 10 dk) + KCI (60 mM, 2 dk) uygulaması



Şekil 6. Organ banyosuna yerleştirilmek üzere hazırlanmış uterus kesitleri (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı)



Şekil 7. Organ banyosunda asılmış uterus preparatı (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı)

5.7. Veri Analizi

Bütün veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. İstatistiksel değerlendirme ve grafik çizimlerinde Microcal Origin istatistik programı kullanıldı. Amplitüt ve frekans değerlerinin istatistiksel değerlendirmelerinde ANOVA testi kullanıldı.

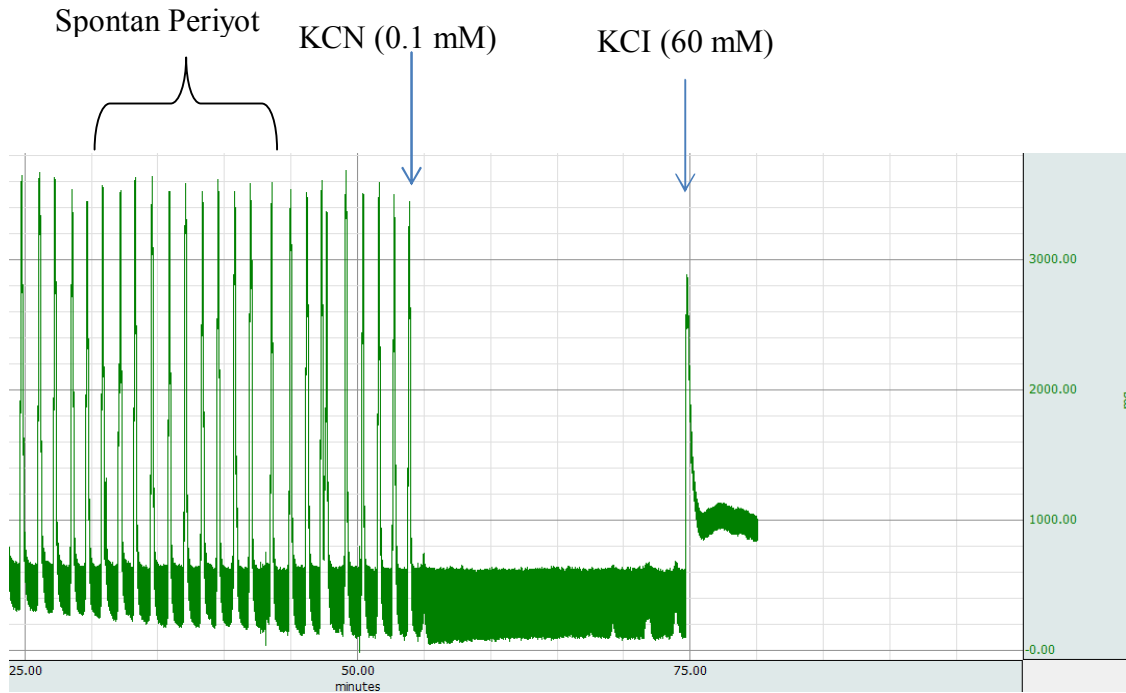
6. BULGULAR

6.1. İzole Sıçan Miyometriyumda Digoksinin Miyometriyum Kasılmalarına Etkisi

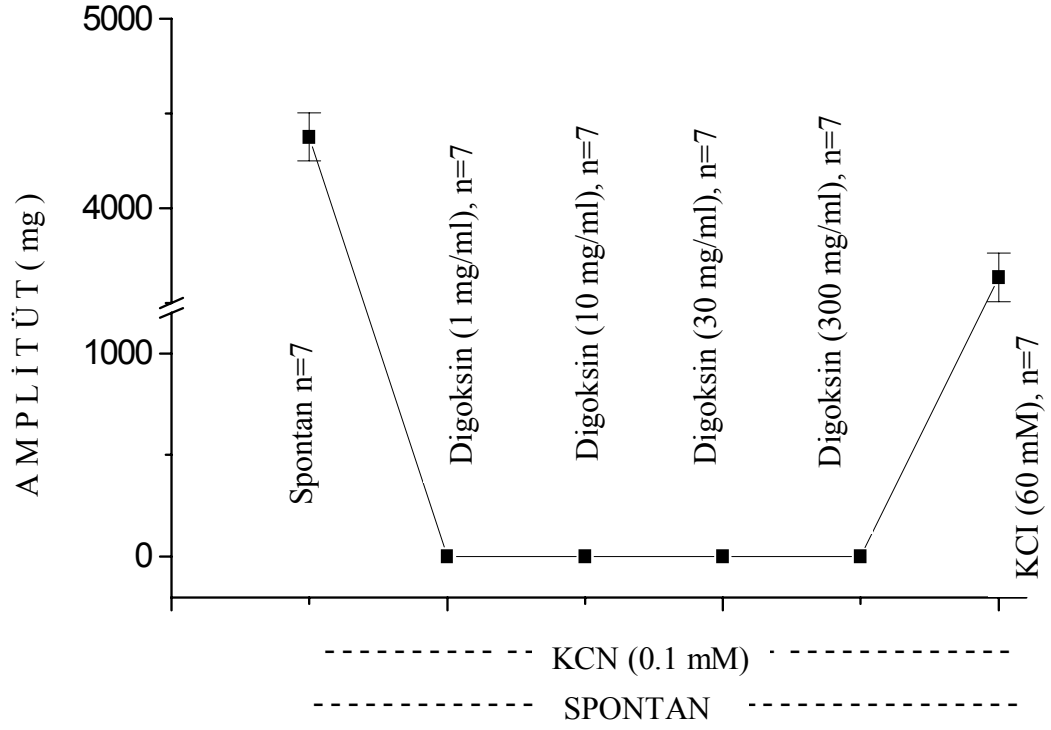
6.1.1. Miyometriyal Spontan Kontraksiyonlara Digoksinin Etkisi

Çalışmada kullanılan kaslar istirahat gerimi altında spontan kasılmalar geliştirdi. Şekil 8’ de. Gelişen spontan kontraksiyonlar üzerine KCN uygulaması sonucunda kasılmalar baskılandı. Ardından uygulanan digoksin (1, 10, 30 ve 300 mg/ml) kasılmaların amplitüt, frekans ve kasılma eğrisi altında kalan alanların değerlerinde istatistiksel anlamlı bir düzelme (geri dönüş) sağlayamadı ($P>0.05$, Şekil 8). Bu protokolün sonunda uygulanan KCl (60 mM) ise kasılmaları yeniden başlatabildi.

Şekil 9’da spontan kasılmaların amplitüt değerleri (mg cinsinden) görülmektedir. Şekil 10’de spontan miyometriyal kontraksiyonların kasılma eğrisi altında kalan alanların değerleri yüzde olarak verilmiştir. Tablo 2’de spontan kasılmaların amplitütlerine ait ortalama değerler yer almaktadır.



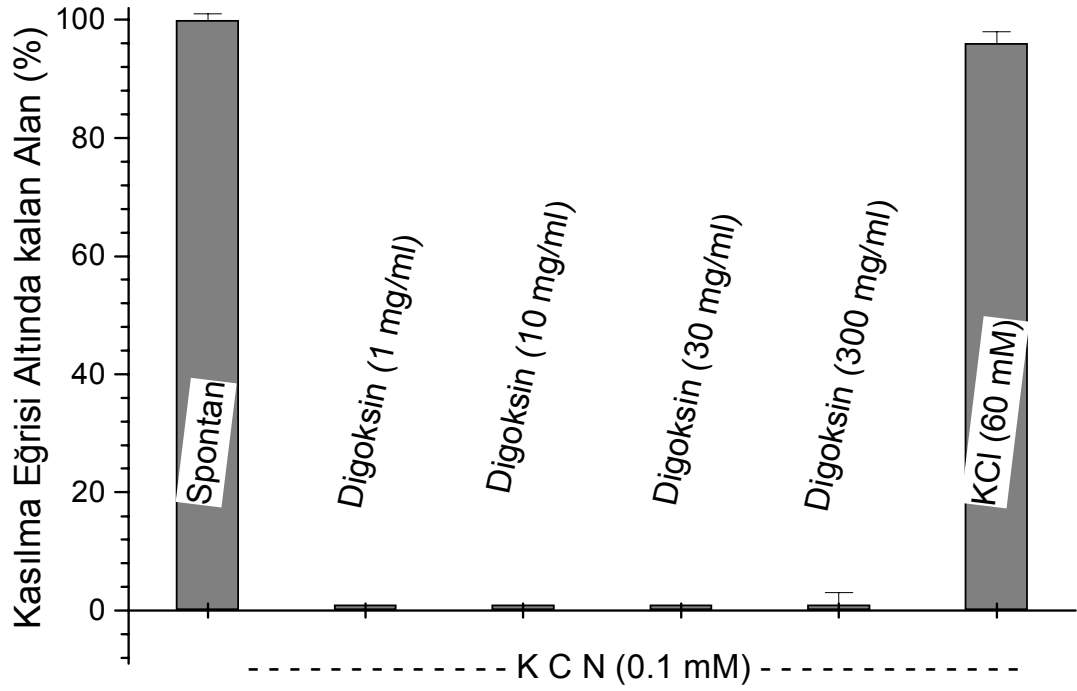
Şekil 8. İzole sıçan miyometriyumunda spontan kontraksiyonlar üzerine KCN’nin etkisi (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).



Şekil 9. KCN ile metabolik inhibisyon gerçekleştirilen miyometriyum şeritlerine farklı dozlarda digoksin uygulamasının spontan kasılmaların amplitüt değerleri üzerine etkisi.

Tablo 2. İzole sıçan miyometriyum şeritlerinde spontan kasılmaların amplitüd değerleri üzerine KCN'nin etkisi (n=7, p<0.001)

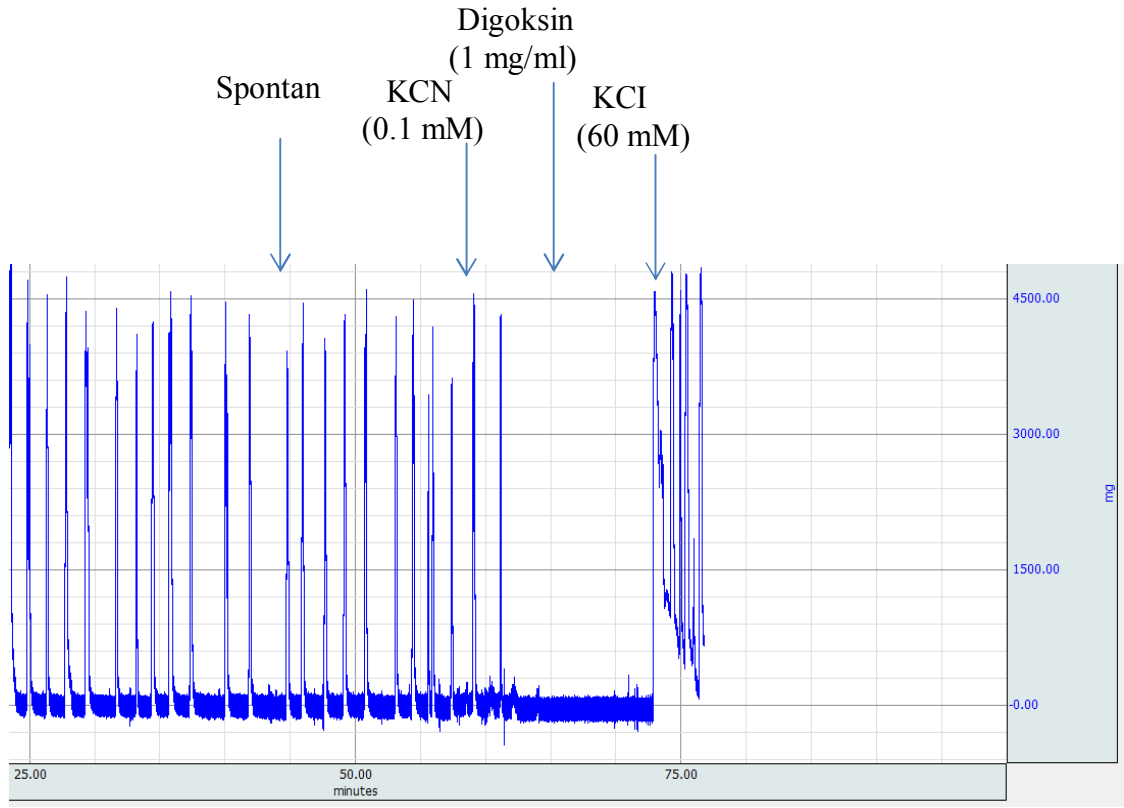
	Spontan	KCN (0.1 mM)	KCl (60 mM)
Amplitüt (mg)	4375±128	116±91	3634±236



Şekil 10. Spontan miyometriyal kontraksiyonların kasılma eğrisi altında kalan alan değerleri üzerine digoksinin etkileri

6.1.2. İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometrijal Kasılmalara 1 mg/ml Digoksinin Etkisi

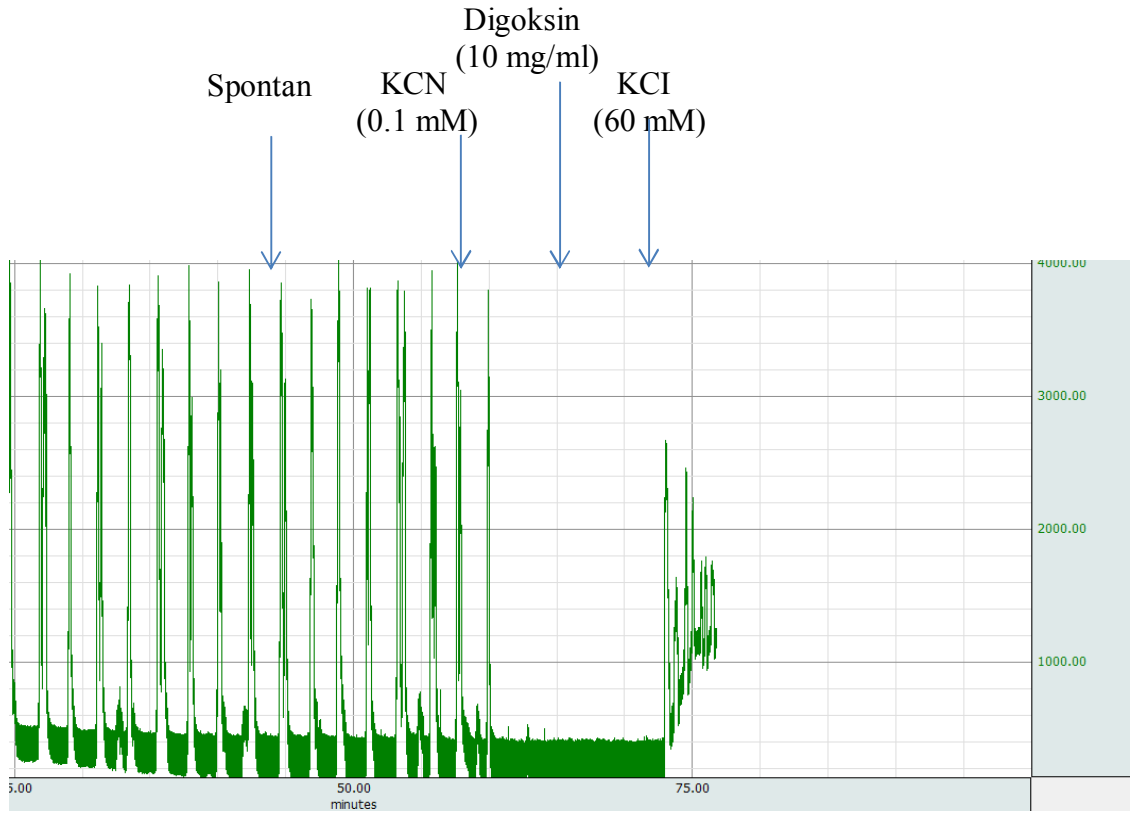
KCN ile baskılanan spontan kasılmalar üzerine digoksinin (1 mg/ml) etkisini gösteren kayıt Şekil 11’da yer almaktadır. KCN spontan kontraksiyonları hızla başlayan bir etkiyle tamamen inhibe etti; digoksinin bu dozu kasılmalarındaki bu inhibisyonu geri döndüremedi. Gözlenen inhibisyonda canlılık testi için KCl (60 mM) uygulandı; kas uygulanan bu KCl’ye kasılarak yanıt verdi.



Şekil 11. Digoksinin (1 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometrijal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

6.1.3. İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometrijal Kasılmalara 10 mg/ml Digoksinin Etkisi

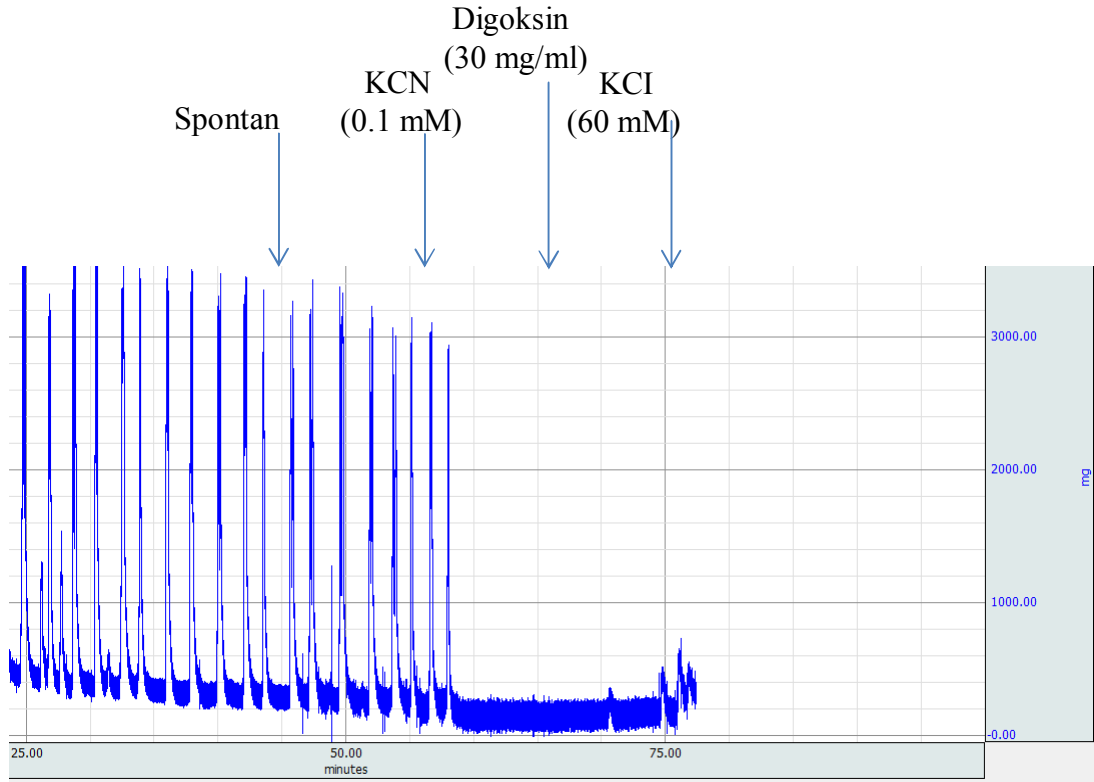
KCN ile baskılanan spontan kasılmalar üzerine digoksinin (10 mg/ml) etkisini gösteren kayıt Şekil 12’de yer almaktadır. KCN spontan kontraksiyonları hızla başlayan bir etkiyle tamamen inhibe etti; digoksinin bu dozu kasılmalarındaki bu inhibisyonu geri döndüremedi. Gözlenen inhibisyonda canlılık testi için KCl (60 mM) uygulandı; kas uygulanan bu KCl’ye kasılarak yanıt verdi.



Şekil 12. Digoksinin (10 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometrijal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

6.1.4. İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometrijal Kasılmalara 30 mg/ml Digoksinin Etkisi

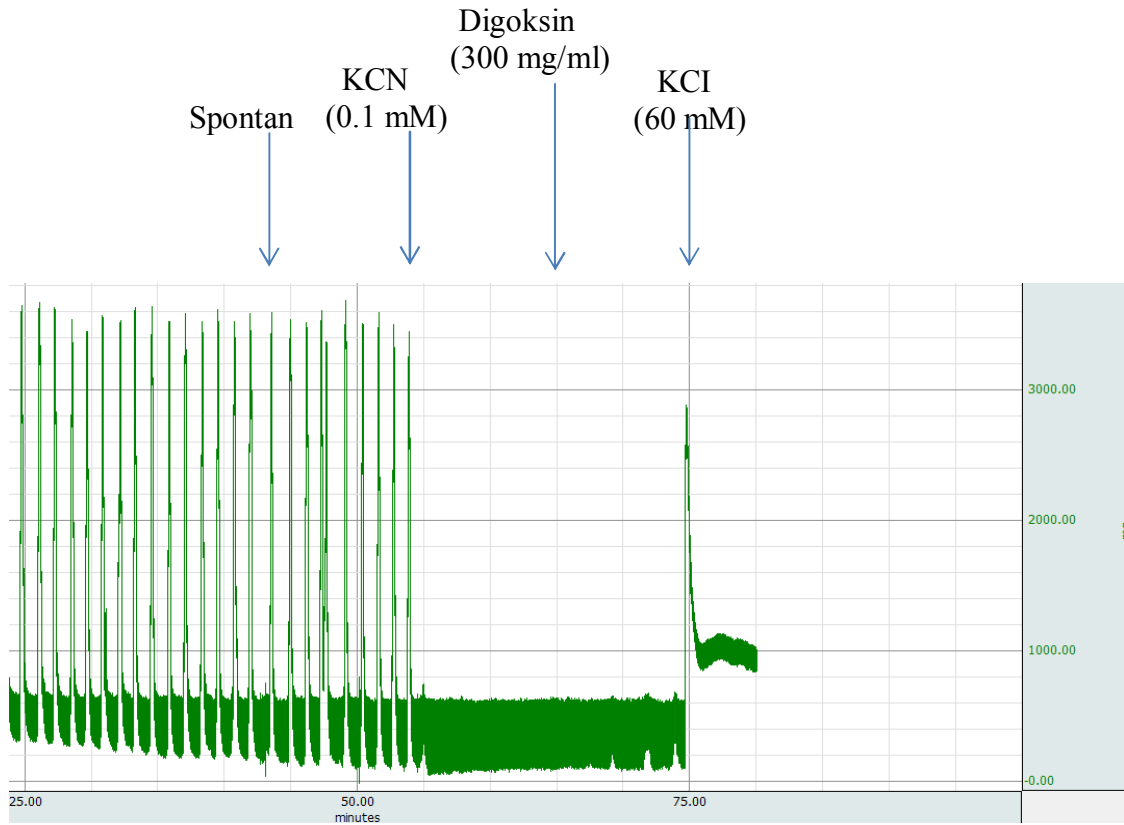
KCN ile baskılanan spontan kasılmalar üzerine digoksinin (30 mg/ml) etkisini gösteren kayıt Şekil 13’de yer almaktadır. KCN spontan kontraksiyonları hızla başlayan bir etkiyle tamamen inhibe etti; digoksinin bu dozu kasılmalarındaki bu inhibisyonu geri döndüremedi. Gözlenen inhibisyonda canlılık testi için KCl (60 mM) uygulandı; kas uygulanan bu KCl’ye kasılarak yanıt verdi.



Şekil 13. Digoksinin (30 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometrijal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

6.1.5. İzole Sıçan Miyometriyumda KCN İle Baskılanan Spontan Miyometriyal Kasılmalara 300 mg/ml Digoksinin Etkisi

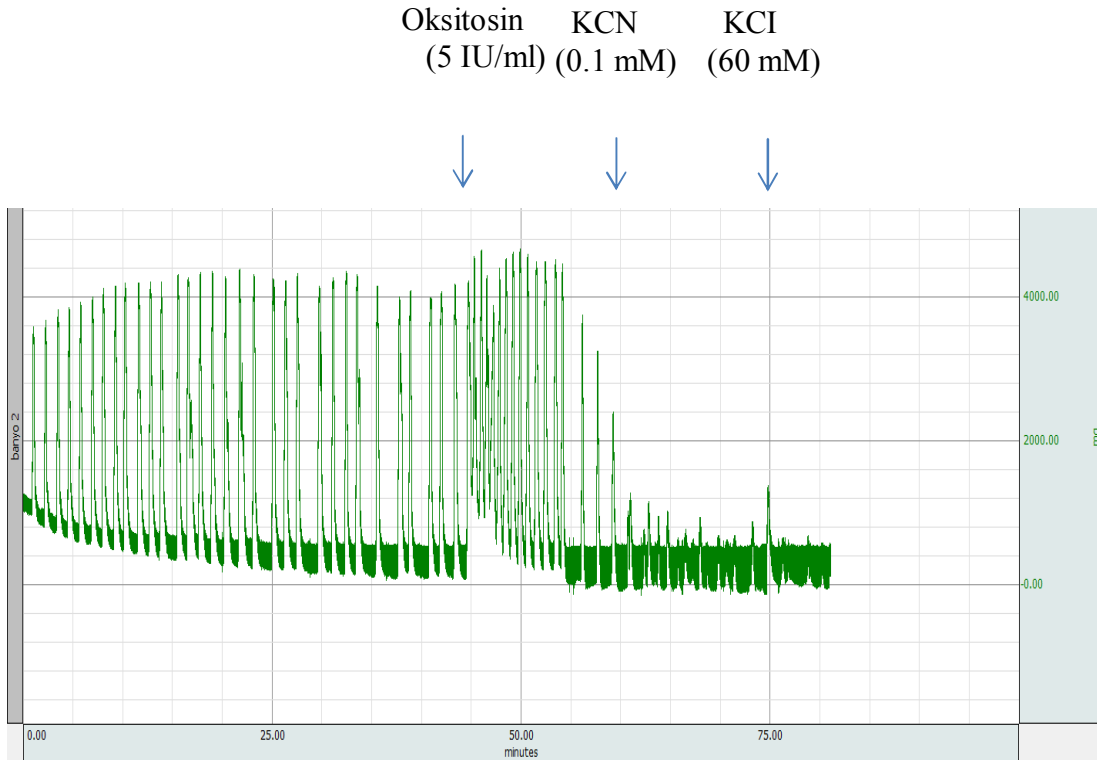
KCN ile baskılanan spontan kasılmalar üzerine digoksinin (300 mg/ml) etkisini gösteren kayıt Şekil 14’de yer almaktadır. KCN spontan kontraksiyonları hızla başlayan bir etkiyle tamamen inhibe etti; digoksinin bu dozu kasılmalarındaki bu inhibisyonu geri döndüremedi. Gözlenen inhibisyonda canlılık testi için KCl (60 mM) uygulandı; kas uygulanan bu KCl’ye kasılarak yanıt verdi.



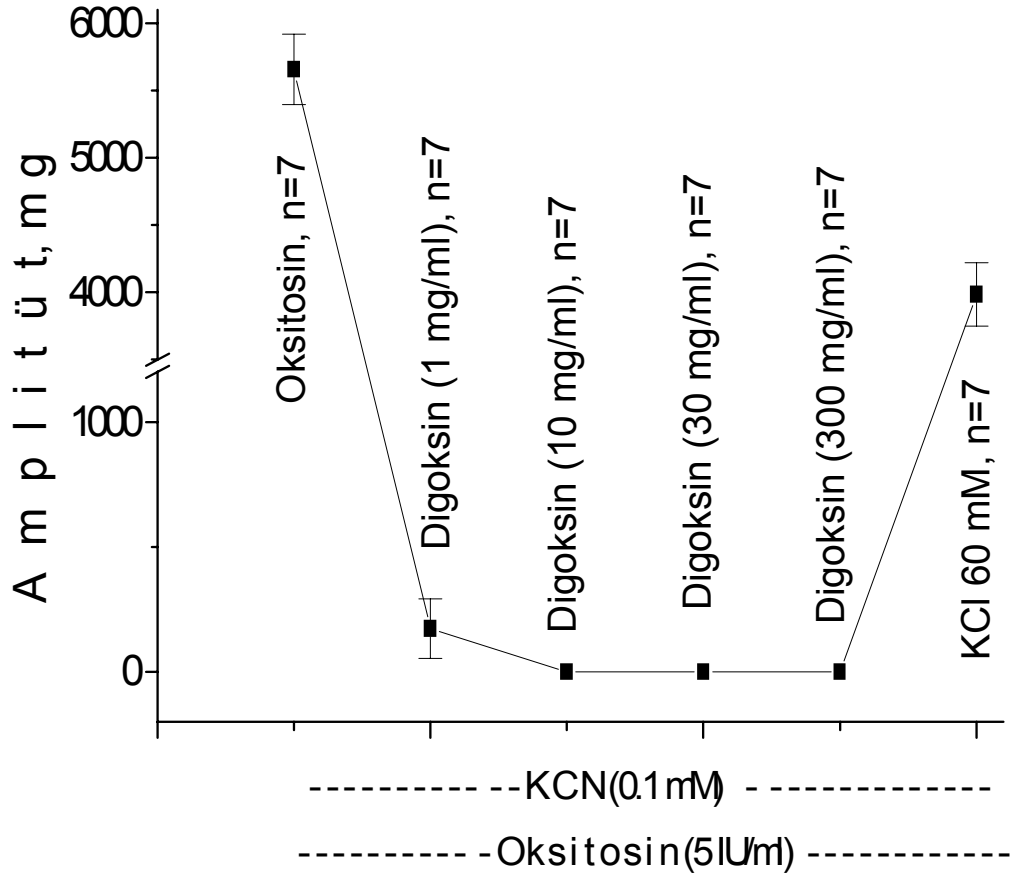
Şekil 14. Digoksinin (300 mg/ml) KCN ile inhibe edilmiş spontan miyometriyal kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

6.2. İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosin İle İndüklenen Miyometriyal Kontraksiyonlar

Bu protokollerde miyometriyum kesitleriyle adaptasyon sürecinin ardından organ banyosuna oksitosin (5 IU/ml) uygulanarak kasılmalar uyarıldı; ardından KCN uygulanarak kasılmalar baskılandı ve farklı dozlarda digoksin (1, 10, 30, 300 mg/ml) uygulayarak bu inhibisyonun geri dönüşüp dönüşmeyeceği test edildi (Şekil 15). Bu şekilde uygulanan digoksin kasılmaların amplitüt (Şekil 16, Tablo 3), kasılma eğrisi altında kalan alan (Şekil 17) değerleri üzerinde anlamlı bir düzelme sağlayamadı. Ardından uygulanan oksitosine küçük amplitütlü de olsa kasılma yanıtı elde edildi.



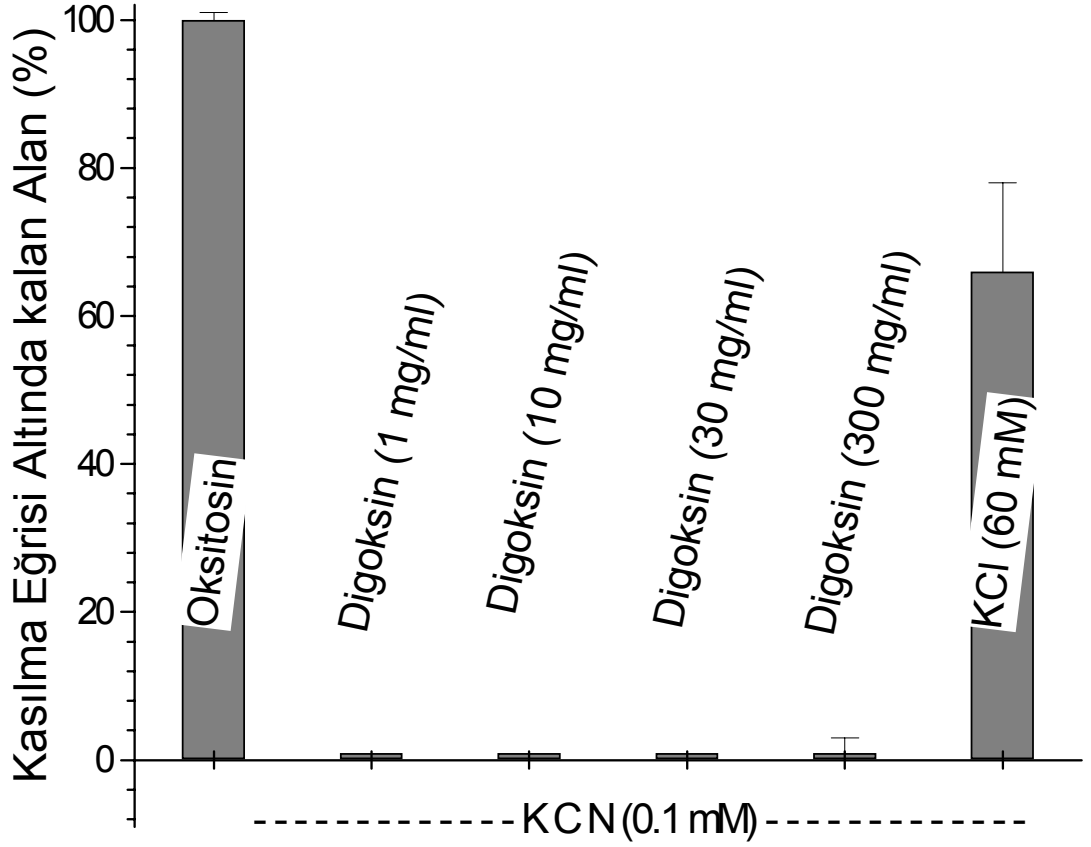
Şekil 15. İzole sıçan miyometriyumunda oksitosinle indüklenen kontraksiyonlar üzerine KCN'nin etkisi (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).



Şekil 16. Oksitosinle indüklenmiş kasılmaların amplitüt değerleri üzerine KCN'nin inhibitör etkisi ve farklı dozlarda digoksin uygulamasının etkisi.

Tablo 3. İzole sıçan miyometriyumda oksitosinle tetiklenen kasılmaların amplitüd değerleri ve KCN'nin etkisi (n=7, p<0.001)

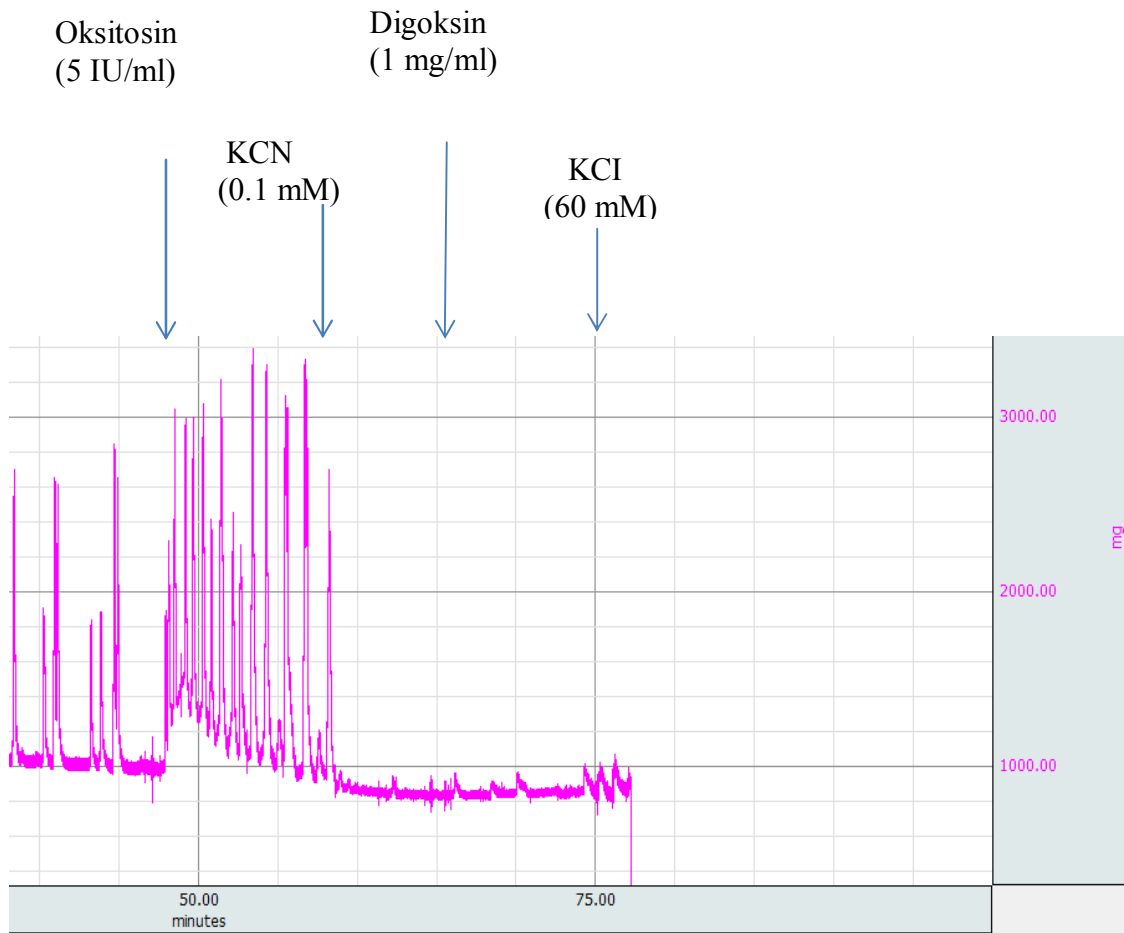
	OKSİTOSİN	KCN (0.1 mM)	KCl (60 mM)
Amplitüt (mg)	5657±261	173±120	3984±236



Şekil 17. Oksitosinle indüklenmiş kasılmaların kasılma eğrisi altında kalan alan değerleri üzerine KCN'nin inhibitör etkisi ve farklı dozlarda digoksin uygulamasının etkisi.

6.2.1 İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 1 mg/ml Digoksinin Etkisi

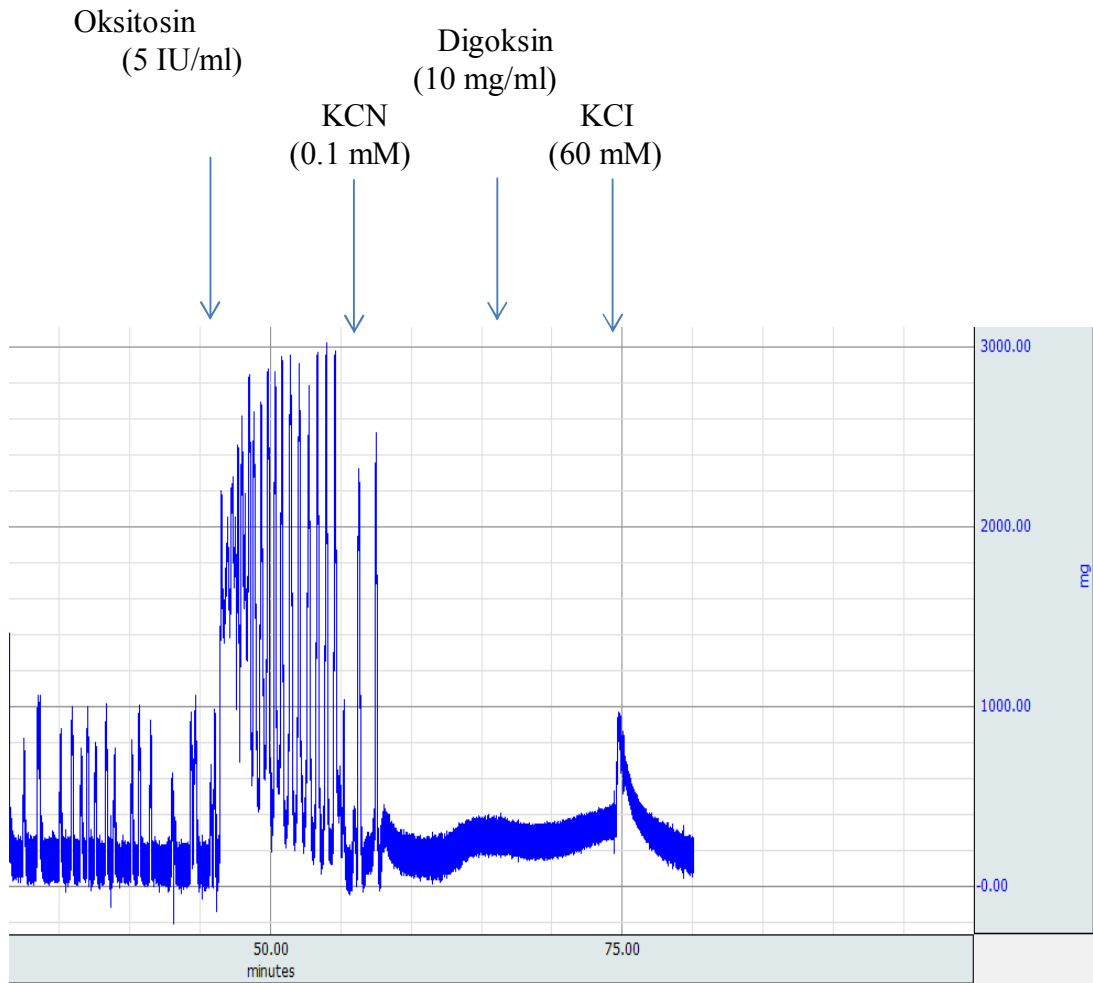
Oksitosinle indüklenen kasılmalar KCN uygulanarak baskılandı ve farklı dozlarda 1 mg/ml digoksin uygulayarak bu inhibisyonun geri dönüşüp dönüşmeyeceği test edildi (Şekil 18). Bu şekilde uygulanan digoksin kasılmaların amplitüt ve frekans değerleri üzerinde anlamlı bir düzelme sağlayamadı. Ardından uygulanan oksitosine küçük amplitütlü de olsa kasılma yanıtı elde edildi.



Şekil 18. Digoksinin (1 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

6.2.2 İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 10 mg/ml Digoksinin Etkisi

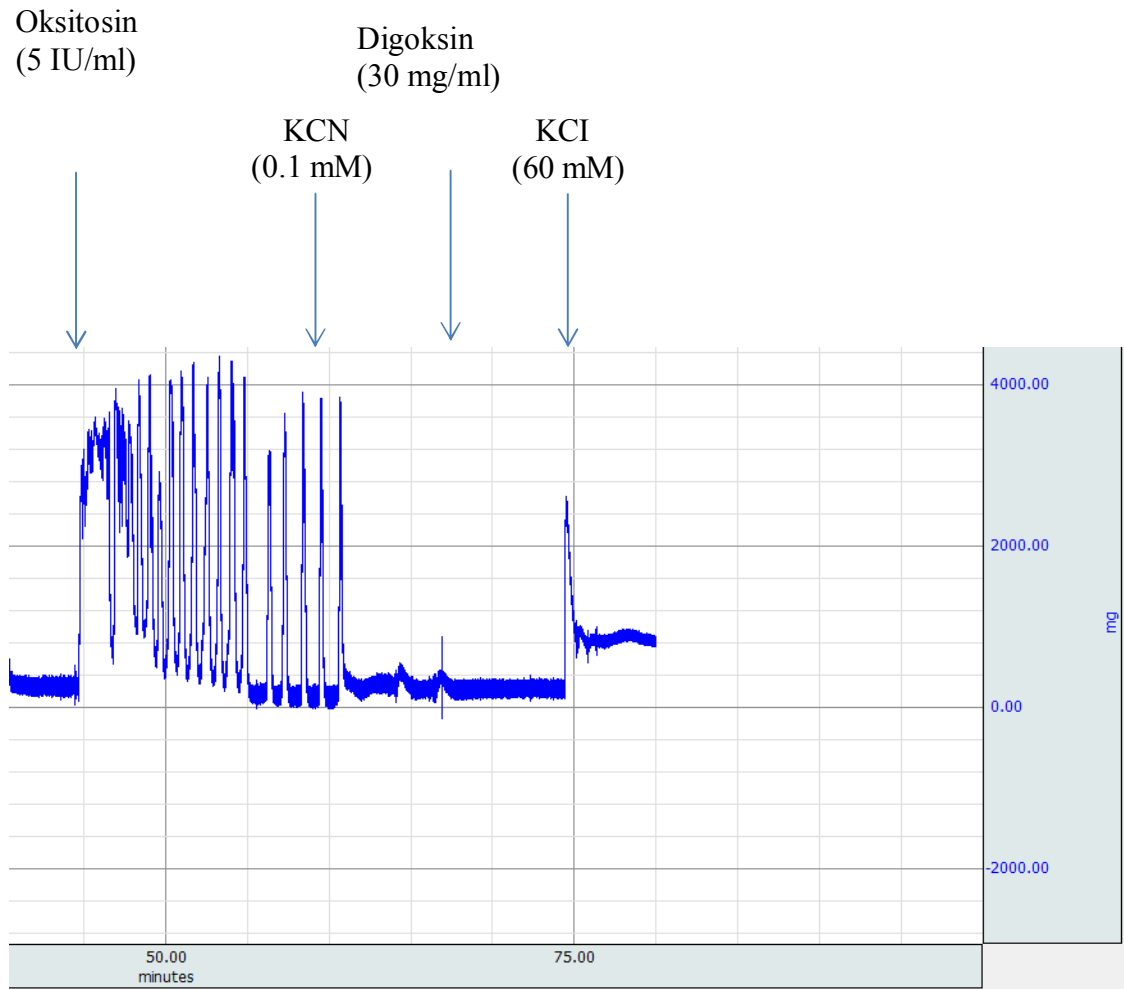
Oksitosinle indüklenen kasılmalar KCN uygulanarak baskılandı ve farklı dozlarda 10 mg/ml digoksin uygulayarak bu inhibisyonun geri dönüşüp dönüşmeyeceği test edildi (Şekil 19). Bu şekilde uygulanan digoksin kasılmaların amplitüt ve frekans değerleri üzerinde anlamlı bir düzelme sağlayamadı. Ardından uygulanan oksitosine küçük amplitütlü de olsa kasılma yanıtı elde edildi.



Şekil 19. Digoksinin (10 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

6.2.3 İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 30 mg/ml Digoksinin Etkisi

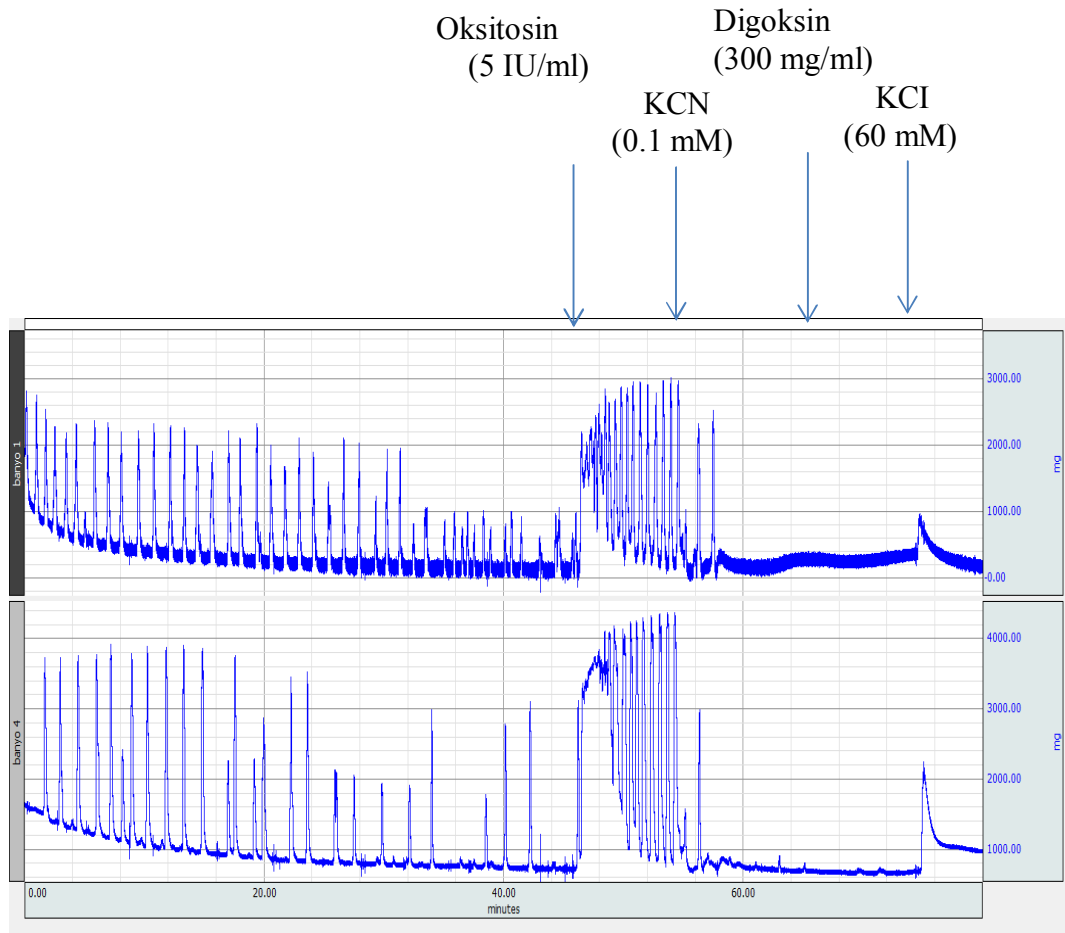
Oksitosinle indüklenen kasılmalar KCN uygulanarak baskılandı ve farklı dozlarda 30 mg/ml digoksin uygulayarak bu inhibisyonun geri dönüşüp dönüşmeyeceği test edildi (Şekil 20). Bu şekilde uygulanan digoksin kasılmaların amplitüt ve frekans değerleri üzerinde anlamlı bir düzelme sağlayamadı. Ardından uygulanan oksitosine küçük amplitütlü de olsa kasılma yanıtı elde edildi.



Şekil 20. Digoksinin (30 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

6.2.4 İzole Sıçan Miyometriyumda Oksitosinle İndüklenmiş Kasılmalar Üzerine KCN ile İnhibisyonu ve 300 mg/ml Digoksinin Etkisi

Oksitosinle indüklenen kasılmalar KCN uygulanarak baskılandı ve farklı dozlarda 300 mg/ml digoksin uygulayarak bu inhibisyonun geri dönüşüp dönüşmeyeceği test edildi (Şekil 21). Bu şekilde uygulanan digoksin kasılmaların amplitüt ve frekans değerleri üzerinde anlamlı bir düzelme sağlayamadı. Ardından uygulanan oksitosine küçük amplitütlü de olsa kasılma yanıtı elde edildi.



Şekil 21. Digoksinin (300 mg/ml) oksitosinle indüklenmiş kontraksiyonlara etkisini gösteren kayıt (KTÜ Temel Tıp Bilimleri Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı).

İlave olarak, ön muamale protokolü olarak digoksin (300 mg/ml) uygulaması yapıldı ve 10 dakika sonunda KCN (0.1 mM) uygulandı. Bu protokolde de KCN kontraksiyonları anlamlı düzeyde baskıladı. Böylece digoksinin KCN ile indüklenen hipoksiye bağlı kontraktil baskılanmaya karşı preventif etkinliğinin olup olmadığı test edilmiş oldu.

7. TARTIŞMA

Bu deneysel çalışmanın bulguları, izole sıçan miyometriyumunda potasyum siyanür ile oluşturulan metabolik inhibisyonun, hem spontan hem de oksitosinle indüklenen miyometriyum kasılmalarını tamamen inhibe ettiğini literatürle uyumlu olarak ortaya koymuştur (8). Bu modelde etkisi test edilen kalp glikoziti digoksin (1, 10, 30 ve 300 mg/ml derişimlerde), metabolik inhibisyonun spontan ve oksitosin ile indüklenen kontraksiyonları baskılaması üzerine anlamlı bir önleyici/restore edici etki göstermediği tespit edildi.

Bir düz kas kasılmasında hücre içi iyonize kalsiyum, kasılma mekanizmasında çok kritik role sahiptir (69). Bir kasta kasılma için mutlaka $[Ca^{+2}]_i$ artış olması; gevşeme için ise istirahat seviyelerine düşüş olması gerekir (70). Ayrıca, hücresel kontraktıl yapıların hücre içi $[Ca^{+2}]_i$ duyarlılık düzeyleri de bir uyarıya bağılı kasılma cevabını değıştirebilir; böylece $[Ca^{+2}]_i$ düzeyinde değışiklik olmaksızın kasılma cevaplarının artması ya da zayıflaması da mümkündür ve bu mekanizmayı hedef alan yaklaşımlar klinik düzeyde kullanıma girmiştir (örn. kalp yetmezliğı tedavisinde levosimendan kullanımı). Bu tez metninin giriş kısmında ayrıntılı olarak ele alındığı gibi, düz kasların (özelde miyometriyumun) gevşeme mekanizmaları arasında kalsiyum kanallarının inhibisyonu, potasyum kanallarının açılması, kas hücresi membranı hiperpolarizasyonu, miyozin hafif zincir kinaz/miyozin hafif zincir fosfataz aktivitesinin fosfataz lehine kayması, hücre içi homeostazisin bozulması (pH değışikliğı, ATP/ADP oranının değışmesi, vb) yer almaktadır (71,72).

Düz kaslar; mide, damarlar, barsaklar, idrar kesesi, hava yolları ve uterus gibi birçok içi boş organların duvarlarında yer almaktadırlar (70). Birçok düz kas gibi miyometriyum da hipoksiden hızla etkilenir (73, 74).

Uterusun fazık kasılmalarının yeterli bir zaman ve güçte gerçekleşmesi doğum olayının gerçekleşmesi için son derece önemlidir. İnsanlarda doğum olayı sırasında aktif doku kontraksiyonlarının, uterus kan damarlarına basınç uygulaması sonucunda bu dokuya kan akımının azaldığı tespit edilmiştir (75). Kan akımında ortaya çıkan bu azalma aktif olan bu dokuya sağlanan oksijen, glikoz ve ATP miktarını düşürür. Birçok düz kas gibi uterus kasında da yer alan ATP duyarlı potasyum kanalları (K^+ -ATP) hücre

içi ATP seviyesi fizyolojik aralıkta (10-100 μ M) ise kapalıdır ve bu aralıktaki bulunan ATP düzeyinin altına düşüş sonucu aktive olmaktadır (76,77). Hipoksi esnasında ATP seviyesinde meydana gelen azalma, buna bağlı olarak da ADP düzeyinde artma, bu kanalların aktivasyonu sonrasında zar hiperpolarizasyonu ve kontraktilitenin baskılanmasına neden olabilir (78,79). Serbest kalsiyum seviyesinin hipoksi durumunda hücre içerisinde arttığı bilindiğinden bu kalsiyumun, kalsiyum duyarlı potasyum kanallarının aktivasyonunu sağlayarak membran hiperpolarizasyonu sonucu spontan kontraksiyonları inhibe edebileceği bir başka olasılık olarak gösterilmektedir (80). Uterustaki her bir kasılma anında hipoksi meydana geldiği net bir şekilde belirlenmiştir (5,81). Hipoksinin düz kaslarda, her ne kadar aracılık eden mekanizma net olarak aydınlatılamamışsa da kontraktiletiyi değiştirdiği görülmüştür (7). Uterus düz kas kasılması pH değerinde meydana gelen çok küçük değişimler kasılmayı baskılamaktadır. Miyometriyumda metabolik inhibisyona bağlı gelişen pH değerindeki düşüşler kontraksiyonları inhibe ederken, artmalar ise kontraksiyonların gücünde artmaya neden olur (82-84). Düz kaslarda metabolik stres veya inhibisyonun kasılabilmeyi olumsuz yönde ve hızlı bir zaman skalasında etkilediği bilinmektedir. Metabolik inhibisyon ve hipoksi olayının kasılabilmek üzerine olumsuz etkilerinden korunma yollarının bilinmesi önem teşkil etmektedir. ATP, fosfokreatin ve inorganik fosfatların uterus kontraksiyonları üzerine çok az katkılarının olduğu saptanmıştır (10, 39,85).

Kardiyak glikozidler hücre zarındaki sodyum/potasyum pompasını inhibe ederek, ikincil olarak hücre içi kalsiyumun artmasına ve böylece kontraktilitenin güçlenmesine yol açarlar. Aynı zamanda vagal tonusu arttırırlar, diyastol sırasında ventrikülün daha iyi dolmasına olanak tanırırlar. Dijitaller kalp yetmezliğinde uzun yıllardan beri kasılmayı uyarıcı / tamir edici etkilerine bağlı olarak klinikte kullanılmaktadır. Kalp yetmezliğindeki bu etkileri, uterus atonisinin tedavisinde işe yarama olasılığı hipotez edilebilir. Ancak, mevcut tezin konusu olan bu yaklaşım hipoksik şartlarda denenmemiştir. Bu çalışmada hedef alınan kısım ise klinikte kullanımı olan kardiyak glikozit olan digoksinin hipoksiye bağlı uterus tembelliği deneysel modelinde miyometriyum düz kasında sekteye uğrayan kasılmaları tamir etme potansiyeli ile denenmeye değer ve ilk defa olması nedeniyle özgün yaklaşımdır.

Bu çalışmada kullanılan kardiyak bir glikozit olan digoksin tıp ve veteriner hekimliğinde kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılmaktadır. Kalp glikozidleri hem insanlarda hem de kedi ve köpekler gibi küçük hayvanlarda kalp yetmezliğinde en çok kullanılan ilaçlardır (86, 87). Digoksin klinikte pozitif inotropik, supraventriküler aritmilere karşı antiaritmik ve miyokardiyal etkilerinden dolayı sık olarak kullanılmaktadır. Kalp yetmezliğinde hücre içi kalsiyum düzeyinde artış sağlayarak kontraktileti iyileştirici etki sağlayan kalp glikoziti digoksinin metabolik inhibisyon aracılı kontraktıl inhibisyon üzerine etkileri bu *in vitro* çalışmanın temel amacıdır. Ayrıca metabolik inhibisyon sonucunda kasılma gücünde meydana gelen kaybın mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için Na-K ATPaz bu inhibisyona aracılık edip etmediği hakkında bilgi elde etmek alakalı bir başka amaçtır.

Konjestif kalp yetmezliğini düzeltmeleri kalp glikozitlerinin (digoksin) esas olarak direkt pozitif inotrop etkilerine dayanır. Bunu gerçekleştirirken, kalbin oksijen tüketimini artırmadıklarından kalbin yaptığı iş / tüketilen oksijeni artırır. Dijitaller aynı sonucu *in vitro* çalışan kalpte de verir (86,88). Etkinin hücresel mekanizmasında, glikozidlerin miyokard hücrelerinde $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPaz}$ inhibe ederek, hücre içi Na^+ seviyesini artırmaları ve buna ikincil olarak hücre içinde $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ değiş tokuşunu stimule ederek hücre içi serbest Ca^{+2} seviyesini artırmalarıdır. Bu olay miyokardın kasılmalarını güçlendirir. $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPaz}$ nitelik olarak 3 Na^+ atılmasına karşılık 2 K^+ 'u hücreye sokar ve hücreyi hiperpolarize yapar. Dijitaller; purkinje lifi, miyokard ve diğer uyarılabilme yeteneği olan kalp hücrelerinde kısmi depolarizasyon yapar. Sodyum potasyum pompası, pek çok hücrede özellikle de sinir ve kas hücrelerinde elektriksel potansiyel fark oluşturmak için sodyum-potasyum konsantrasyon gradiyenti oluşturulan yerlerde bulunur.

Metabolik inhibisyon oluşturmada kullanılan KCN sonrasında kontraktilitelerde amplitüt, frekans ve eğri altında kalan alan değerlerini azaltması veya inhibe etmesi daha önceden yapılan hipoksi çalışmalarıyla arasında uyum olduğunu göstermektedir (8). KCN ile hipoksi meydana getirilmesi uterusun da dâhil olduğu bazı düz kaslarda gösterilmiştir (40). Hipoksi esnasında kalsiyumdaki geçici azalma güçteki bir azalmaya neden olur (62). Düz kasların bazılarında dışa doğru K^+ geçişindeki artış ve içe yönelik Ca^{+2} akımındaki düşüş, metabolik bir inhibitör olan KCN varlığında ortaya çıkarmıştır

(50). KCN (0.1 mM) uygulaması sonucunda miyometriyumda oluşan kasılmalarda hemen başlayan bir inhibisyon ortaya çıkmıştır. Yapılmış olan çalışmalarla, KCN'den miyozin hafif zincir fosforilasyonunun etkilenmediği gösterilmiştir (71). KCN, kalsiyumun mitokondrilere geri alınımında aksaklık oluşturduğu bilinmektedir (29). KCN'nin depolarize olmuş dokularda gücün düşmesine sebep olması, miyoflamentlerin kalsiyuma duyarlılığında farklılık meydana getirdiğini de düşündürmektedir. KCN varlığında artmış K^+ çıkışı uyarılmayı zorlaştırarak dokunun hiperpolarizasyonuna neden olur ve KCN ile ortaya çıkan kontraksiyonların frekansındaki azalmanın nedeni olarak açıklanabilir (8). KCN metabolik inhibisyonun sıçan miyometriyal kontraktilesini inhibe etmesinde daha önce bildirilen Ca^{+2} homeostazis mekanizmaları ile hücre içi inorganik fosfat artışı gibi faktörlerin kombine etkisinin yanında K^+ kanallarının da rol aldığı düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasının bulgularında ise, KCN'ye bağlı olarak inhibe olan miyometriyum kontraksiyonlarının, ortama KCl eklenmesi sonucunda hemen geri döndüğü tespit edildi. Monir ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada miyometriyum dokusunda KCN'nin meydana getirdiği kontraktıl baskılanmanın KCN'nin uzaklaştırılması ile az da olsa geri döndüğü gösterilmiştir (50). Mevcut tez çalışmasında KCl ile depolarizasyon sonucunda kasılma cevabı el edilmesi bulgusu dokunun ölmediği, kontraksiyonların ise geriye dönüşebilir bir şekilde inhibe olduğu ortaya koymaktadır.

Metabolik inhibisyon (KCN ile) sonucu [ATP]i seviyesinde oksidatif fosforilasyonda ortaya çıkan değişmelere bağlı olarak düşüş olduğu bildirilmiştir (17). Hipoksi miyometriyumda oksidatif fosforilasyonun inhibisyonunu sağlar, hücre içerisindeki metabolit düzeyini değiştirir (69). Böylelikle anaerobik mekanizmanın uyarılması sonrasında asitleşme meydana gelir. Bu durumun kontraktıl gücün azalmasına katkılarının olduğu da bildirilmiştir (41).

Hipoksinin K^+ kanalları üzerindeki etkisinin membran potansiyelini değiştirebileceği bundan dolayı da L-tipi Ca^{+2} kanallarından Ca^{+2} geçişinin baskılanabileceği bildirilen bir başka mekanizmadır (15). Hipoksinin hem Ca^{+2} akımı üzerinde direkt etkileri hem de düşük pH'nın gap kavşaklarının iletkenliğini inhibe

etmesi durumu Ca^{+2} akımlarının azalmasına yönelik mekanizmalar olarak açıklanabilir (89,90).

Kalpte hipoksi anında hücre içerisinde serbest Ca^{+2} düzeyinin arttığını ve buna bağlı olarak artan Ca^{+2} 'nin kalsiyum duyarlı potasyum kanallarını (K_{Ca}) aktive ettiği ortaya konulmuştur (89). Bu veriyi miyometriyum düz kas hücreleriyle kıyasladığımızda artan K_{Ca} 'nın membranı hiperpolarize ederek kasılmaları inhibe etmesi bir başka olasılık olarak düşünülebilir (20). Bu mekanizmalara karşı digoksinin direk olarak etki etmesi beklenmemektedir ve bu durum elde edilen negatif sonuçları açıklayabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen bulgular, siyanürle tetiklenen kontraktıl baskılanmada digoksinin etkili olmadığını ortaya koymaktadır. Özetle, digoksin uygulamasının KCN ile yapılan metabolik inhibisyona bağlı kontraktıl baskılanmayı ortadan kaldıramamış olması bulgusu, düz kasların hipoksiye adaptasyonda etkili mekanizma olarak sodyum-potasyum pompasının rolünün olmadığını veya aracılık eden tek mekanizma olmayacağını düşündürmektedir.

Metabolik inhibisyon modeli olan bu tez çalışmasında elde edilen bulguların, hipoksiye bağlı olarak ortaya çıkabilecek patolojilerin tedavisinde klinikte çözümler meydana getireceği düşünülmekte ve uterus kasında metabolik inhibisyonda sodyum-potasyum pompasının rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için hücre içi pH farklılığı, kontraktıl elemanların kalsiyuma olan duyarlılığı ve inorganik fosfat birikmesi gibi metabolik inhibisyona bağlı kontraktıl baskılanmada rol oynayan diğer faktörlerin de birlikte ele alındığı ilave çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

8. SONUÇLAR

1. Mevcut bu çalışmada izole sıçan miyometriyumunda digoksin (1, 10, 30 ve 300 mg/ml)'in denenen dozlarda spontan kontraksiyonlara etkisi olmadığı bulundu.
2. İzole sıçan miyometriyumunda hipoksi ile oksidatif fosforilasyonun inhibe edilerek gücün azaldığı literatür ile uyumlu olarak tespit edildi.
3. İzole sıçan miyometriyumda KCN ile sağlanan inhibisyonun nonspesifik mebran depolarizasyonu (ortama 60 mM KCl ilavesi ile) ile geri döndüğü tespit edildi.
4. KCN'nin spontan ve oksitosinle indüklenmiş izole sıçan miyometriyum kasılmaları üzerindeki inhibitör etkisi kardiyak glikozit olan digoksinle düzeltilemedi. Bu durum glikozitlerin etkilerinin kalp dokusuna özgü olabileceğine de yorumlanabilir.
5. Sonuç olarak etkin bir tedavisi olmayan “uterus tembelliğini” modelleyen bu *in vitro* çalışmada uygulanan yaklaşımdan da klinik denemeye umut vaat edecek bir bilgi elde edilememiş olup; anne ve çocuk sağlığını tehdit eden bu durumun çözümü için patofizyolojiyi hedef alan çalışmalara ihtiyaç devam etmektedir

9. ÖNERİLER

1. Çalışmada uygulanan hipotezin başarısız olmasına ilave olarak, çalışma protokolleriyle ilgili deneysel süreçlerde dikkate alınarak yorumlanmalıdır.
2. Digoksinin klinik preparat olarak kullanılmış olması dikkate alındığında, kimyasala uyumsuzluk, çözünme sorunu veya organ banyosunda pH değişimi ihtimallerine karşılık digoksinin analitik saflıkta formunun temin edilerek deneylerde kullanılması önerilebilir. Yine de digoksinin klinikte kullanılan formunu kullanılmış olması ve anlamlı bir etki belirlenememesi durumu bu deneysel çalışmanın verilerinin kliniğe yansımalarının kısıtlı olacağını ortaya koymaktadır.

3. İzole sıçan miyometriyumunda KCN ile sağlanan hipoksi çok şiddetli bir hipoksi sağlamış olabilir. Bu bağlamda digoksinin etkisi organ banyosuna oksijen sunumunu uzun süre keserek gerçekleştirilebilecek daha ılımlı bir hipoksi modelinde denenebilir.
4. Digoksinin etkisi, pH tamponu, fosfokreatin ve kalsiyum duyarlılığını artıran ajanlar (levosimendan gibi) ile kombine ederek patofizyolojide çoklu faktörler hedef alınabilir.

10. KAYNAKLAR

1. Dufour P, Vinatier D, Puech F (1997). The use of intravenous nitroglycerin for cervico-uterine relaxation: Arch Gynecol Obstet 261: 1-7.
2. Axemo P, Fu X, Lindberg B, Ulmsten U, Wessén A (1998). Intravenous nitroglycerin for rapid uterine relaxation. Acta Obstet Gynecol Scand 77: 50-3.
3. Chang K, Xiao D, Huang X, Longo LD, Zhang L (2009). Chronic hypoxia increases pressure-dependent myogenic tone of the uterine artery in pregnant sheep: role of ERK/PKC pathway. Am J Physiol Heart Circ Physiol 296: H1840-9.
4. Zhou S, Yi T, Shen K, Zhang B, Huang F, Zhao X (2011). Hypoxia: the driving force of uterine myometrial stem cells differentiation into leiomyoma cells. Med Hypotheses 77: 985-6.
5. Wray S, Jones K, Kupittayanant S, Li Y, Matthew A, Monir-Bishty E, Noble K, Pierce SJ, Quenby S, Shmygol AV (2003). Calcium Signaling and Uterine Contractility. J Soc Gynecol Investig 10: 252-64.
6. Noble K, Matthew A, Burdyga T, Wray S (2009). A review of recent insights into the role of the sarcoplasmic reticulum and Ca^{2+} entry in uterine smooth muscle. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 144: S11-9.
7. Wray S, Kupittayanant S, Shmygol A, Smith RD, Burdyga T (2001). The physiological basis of uterine contractility: a short review. Exp Physiol 86: 239-46.
8. Monir-Bishty E, Pierce SJ, Kupittayanant S, Shmygol A, Wray S (2003). The effects of metabolic inhibition on intracellular calcium and contractility of human myometrium. BJOG 110: 1050-6.
9. Kleikers PW, Wingler K, Hermans JJ, Diebold I, Altenhöfer S, Radermacher KA, Janssen B, Görlach A, Schmidt HH (2012). NADPH oxidases as a source of oxidative stress and molecular target in ischemia/reperfusion injury. J Mol Med 90: 1391-406.
10. Taggart MJ, Wray S (1995). The effect of metabolic inhibition on rat uterine intracellular pH and its role in contractile failure. Pflugers Arch 430: 125-31.

11. Guyton AC, Hall JE (2007). Textbook of Medical Physiology. Tıbbi Fizyoloji. 11th ed. Çeviren: Çavuşoğlu H, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Sti., İstanbul, 45-100.
12. Inoue Y, Nakao K, Okabe K, Izumi H, Kanda S, Kitamura K, Kuriyama H (1990). Some electrical properties of human pregnant myometrium. Am J Obstet Gynecol 162: 1090-8.
13. Sadiqoc ST (2001). Canlılarda Molekül Düzenleme Mekanizması (Signal Transduction Pathways). Erciyes Üniversitesi Yayınları No:127. Kayseri.
14. Somlyo AV, Khromov AS, Webb MR, Ferenczi MA, Trentham DR, He Z H, Sheng S, Shao Z, Somlyo AP (2004). Smooth muscle myosin: regulation and properties. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 359: 1921-30.
15. Taggart MJ, Menice CB, Morgan KG, Wray S (1997). Effect of metabolic inhibition on intracellular Ca^{2+} , phosphorylation of myosin regulatory light chain and force in rat smooth muscle. J Physiol 499: 485-96.
16. Wray S (1993). Uterine contraction and physiological mechanisms of modulation. Am J Physiol 264: 1-18.
17. Balducci J, Risek B, Gilula NB, Hand A, Egan JF, Vintzileos AM (1993). Gap junction formation in human myometrium: a key to preterm labor Am J Obstet Gynecol 168: 1609-15.
18. Lammers WJ, Hamid R (1998). The initiation, continuation, and termination of spontaneous episodes of circus movements in the pregnant myometrium of the rat. Am J Obstet Gynecol 179: 1515-26.
19. Shmigol AV, Eisner DA, Wray S (1999). The role of the sarcoplasmic reticulum as a Ca^{2+} sink in rat uterine smooth muscle cells. J Physiol 1: 153-63.
20. Hockey JS, Wu C, Fry CH (2000). The actions of metabolic inhibition on human detrusor smooth muscle contractility from stable and unstable bladders. BJU Int 86: 531-7.
21. Savineau JP, Mironneau J (1990). Caffeine acting on pregnant rat myometrium: analysis of its relaxant action and its failure to release Ca^{2+} from intracellular stores. Br J Pharmacol 99: 261-6.

22. Noble K, Wray S (2002). The role of the sarcoplasmic reticulum in neonatal uterine smooth muscle: enhanced role compared to adult rat. *J Physiol* 545: 557-66.
23. McKillen K, Thornton S, Taylor CW (1999). Oxytocin increases the $[Ca^{2+}]_i$ sensitivity of human myometrium during the falling phase of phasic contractions. *Am J Physiol* 276: 345-51.
24. Wray S (2007). Insights into the uterus. *Exp Physiol* 92: 621-31.
25. Wray S, Duggins K, Iles R, Nyman L, Osman V (1992). The effects of metabolic inhibition and acidification on force production in the rat uterus. *Exp Physiol* 77: 307-19.
26. Tanonaka K, Taguchi T, Koshimizu M, Ando T, Morinaka T, Yogo T, Konishi F, Takeo S (1999). Role of an ATP-sensitive potassium channel opener, YM934, in mitochondrial energy production in ischemic/reperfused heart. *J Pharmacol Exp Ther* 291: 710-6.
27. Xiao D, Zhang L (2004). Calcium homeostasis and contraction of the uterine artery: effect of pregnancy and chronic hypoxia. *Biol Reprod.* 70: 1171-7.
28. Wray S, Shmygol A (2007). Role of the calcium store in uterine contractility. *Semin Cell Dev Biol.* 18: 315-20.
29. Sergeant GP, Hollywood MA, McCloskey KD, Thornbury KD, McHale NG (2000). Specialised pacemaking cells in the rabbit urethra. *J Physiol* 526: 359-66.
30. Okashiro T, Tokuno H, Fukumitsu T, Hayashi H, Tomita T (1992). Effects of intracellular ATP on calcium current in freshly dispersed single cells of guinea-pig portal vein. *Exp Physiol* 77: 719-31.
31. Molnár M, Hertelendy F (1990). Regulation of intracellular free calcium in human myometrial cells by prostaglandin F₂ alpha: comparison with oxytocin. *J Clin Endocrinol Metab* 71: 1243-50.
32. EW, Vilee DB (1981). *Human Reproduction: Essentials of Reproductive and Perinatal Medicine*. Philadelphia; 322.
33. Ayar A, Kutlu S, Yilmaz B, Kelestimur H (2001). Melatonin inhibits spontaneous and oxytocin-induced contractions of rat myometrium in vitro. *Neuro Endocrinol Lett* 22: 199-207.

34. Uzun M, Sulu N (2002). Oksitosin ve Fizyolojik Etkileri. Kafkas Üniversitesi Veteriner Bilimleri Fakültesi Dergisi 8: 91-97.
35. Canooğlu E (2004). İneklerde senkronizasyon amaçlı prostaglandin F2a uygulamalarından sonra oluşacak östrusların görülme zamanı. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 1: 43-47.
36. Kirmizibekmez H, Masullo M, Festa M, Capasso A, Piacente S (2013). Steroidal glycosides with antiproliferative activities from digitalis trojana. Phytother Res 12: 25.
37. Opie LH (2013). Digitalis, yesterday and today, but not forever. Circ Cardiovasc Qual Outcomes 6: 511-3.
38. Grover AK, Kwan CY, Daniel EE (1982). Ca^{2+} dependence of calcium uptake by rat myometrium plasma membrane-enriched fraction. Am J Physiol 242: C278-82.
39. Turin L, Warner AE (1980). Intracellular pH in early Xenopus embryos: its effect on current flow between blastomeres. J Physiol 300: 489-504.
40. Arakawa TK, Mlynarczyk M, Kaushal KM, Zhang L, Ducsay CA (2004). Long-term hypoxia alters calcium regulation in near-term ovine myometrium. Biol Reprod 71: 156-62.
41. Earley L, Wray S (1993). Effects of hypoxia on force produced by agonists and depolarization and arising spontaneously in the rat uterus. J Reprod Fertil 99: 539-44.
42. Buckler KJ, Vaughan-Jones RD (1994). Effects of hypoxia on membrane potential and intracellular calcium in rat neonatal carotid body type I cells. J Physiol 476: 423-8.
43. Maybin JA, Hirani N, Jabbour HN, Critchley HO (2011). Novel roles for hypoxia and prostaglandin E2 in the regulation of IL-8 during endometrial repair. Am J Pathol 178: 1245-56.
44. Gilany K, Vafakhah M (2010). Hypoxia: a review. Journal of Paramedical Sciences 1: 40-58.
45. Weiss JN, Venkatesh N, Lamp ST (1992). ATP-sensitive K^+ channels and cellular K^+ loss in hypoxic and ischaemic mammalian ventricle. J Physiol 447: 649-73.

46. Morita Y, Chin-Yee I, Yu P, Sibbald WJ, Martin CM (2003). Critical oxygen delivery in conscious septic rats under stagnant or anemic hypoxia. *Am J Respir Crit Care Med* 167: 868-72.
47. Khan RN, Matharoo-Ball B, Arulkumaran S, Ashford ML (2001). Potassium channels in the human myometrium. *Exp Physiol* 86: 255-64.
48. Sanborn BM (2000). Relationship of ion channel activity to control of myometrial calcium. *J Soc Gynecol Investig* 7: 4-11.
49. Rocher A, Obeso A, Gonzalez C, Herreros B (1991). Ionic mechanisms for the transduction of acidic stimuli in rabbit carotid body glomus cells. *J Physiol* 433: 533-48.
50. Crichton CA, Taggart MJ, Wray S, Smith GL (1993). Effects of pH and inorganic phosphate on force production in alpha-toxin-permeabilized isolated rat uterine smooth muscle. *J Physiol* 465: 629-45.
51. Xiao D, Longo LD, Zhang L (2010). Role of KATP and L-type Ca^{2+} channel activities in regulation of ovine uterine vascular contractility: effect of pregnancy and chronic hypoxia. *Am J Obstet Gynecol* 203: 6-12.
52. Burdyga T, Wray S (1997). Simultaneous measurements of electrical activity, intracellular $[\text{Ca}^{2+}]$ and force in intact smooth muscle. *Pflugers Arch* 435: 182-4.
53. Olesen SP, Bundgaard M (1993). ATP-dependent closure and reactivation of inward rectifier K^{+} channels in endothelial cells. *Circ Res* 7: 492-5.
54. Strotmann R, Schultz G, Plant TD (2003). Ca^{2+} -dependent potentiation of the nonselective cation channel TRPV4 is mediated by a C-terminal calmodulin binding site. *J Biol Chem* 278: 41-9.
55. Noble K, Matthew A, Burdyga T, Wray S (2009). A review of recent insights into the role of the sarcoplasmic reticulum and Ca entry in uterine smooth muscle. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 144: 11-9.
56. Jones K, Shmygol A, Kupittayanant S, Wray S (2004). Electrophysiological characterization and functional importance of calcium-activated chloride channel in rat uterine myocytes. *Pflugers Arch* 448: 36-43.
57. Putney JW Jr, McKay RR (1999). Capacitative calcium entry channels. *Bioessays* 21: 38-46.

58. Holmuhamedov EL, Wang L, Terzic A (1999). ATP-sensitive K⁺ channel openers prevent Ca²⁺ overload in rat cardiac mitochondria. *J Physiol* 519: 347-60.
59. Yamada M (2010). Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels, protectors of the heart. *J Physiol* 588: 283-6.
60. Gwilt M, Norton B, Henderson CG (1993). Pharmacological studies of K⁺ loss from ischaemic myocardium in vitro: roles of ATP-dependent K⁺ channels and lactate-coupled efflux. *Eur J Pharmacol* 236: 107-12.
61. Chi L, Black SC, Kuo PI, Fagbemi SO, Lucchesi BR (1993). Actions of pinacidil at a reduced potassium concentration: a direct cardiac effect possibly involving the ATP-dependent potassium channel. *J Cardiovasc Pharmacol* 21: 179-90.
62. Yamada S, Arrell DK, Kane GC, Nelson TJ, Perez-Terzic CM, Behfar A, Purushothaman S, Prinzen FW, Auricchio A, Terzic A (2013). Mechanical dyssynchrony precedes QRS widening in ATP-sensitive K⁺ channel-deficient dilated cardiomyopathy. *J Am Heart Assoc* 2: 04-10.
63. Gullledge AT, Dasari S, Onoue K, Stephens EK, Hasse JM, Avesar D (2013). A sodium-pump-mediated afterhyperpolarization in pyramidal neurons. *J Neurosci* 33: 13025-41.
64. Wray S (1990). The effects of metabolic inhibition on uterine metabolism and intracellular pH in the rat. *J Physiol* 423: 411-23.
65. Shmygol A, Wray S (2005). Modulation of agonist-induced Ca²⁺ release by SR Ca²⁺ load: direct SR and cytosolic Ca²⁺ measurements in rat uterine myocytes. *Cell Calcium* 37: 215-23.
66. Özaydın S (1998). Siyanürün sitokrom oksidaz üzerine olan etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
67. Delhumeau G, Cruz-Mendoza AM, Gomez Lojero C (1994). Protection of cytochrome c oxidase against cyanide inhibition by pyruvate and alpha-ketoglutarate: effect of aeration in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 126: 345-51.
68. Celik H, Ayar A, Baltaci A, Tug N (2002). Erythromycin inhibits prostaglandin F2alpha-induced contractions of myometrium isolated from non-pregnant rats. *BJOG* 109: 1036-40.

69. Kudolo GB, Yang YQ, Chen DB, Jones MA, Harper MJ (1995). Differential metabolism of exogenous platelet-activating factor by glandular epithelial and stromal cells of rabbit endometrium. *J Reprod Fertil* 105: 315-24.
70. Taggart MJ, Sheader EA, Walker SD, Naderali EK, Moore S, Wray S (1997). External alkalization decreases intracellular Ca^{+2} and spontaneous contractions in pregnant rat myometrium. *Am J Obstet Gynecol* 177: 959-63.
71. Tang DC, Stull JT, Kubota Y, Kamm KE (1992). Regulation of the Ca^{2+} dependence of smooth muscle contraction. *J Biol Chem* 267: 11839-45.
72. Kihira M, Matsuzawa K, Tokuno H, Tomita T (1990). Effects of calmodulin antagonists on calcium-activated potassium channels in pregnant rat myometrium. *Br J Pharmacol* 100: 353-9.
73. Giaccia AJ, Simon MC, Johnson R (2004). The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. *Genes Dev* 18: 2183-94.
74. Taggart MJ, Wray S (1998). Hypoxia and smooth muscle function: key regulatory events during metabolic stress. *J Physiol* 509: 315-25.
75. Harrison N, Larcombe-McDouall JB, Earley L, Wray S (1994). An in vivo study of the effects of ischaemia on uterine contraction, intracellular pH and metabolites in the rat. *J Physiol* 476: 349-54.
76. Heaton RC, Wray S, Eisner DA (1993). Effects of metabolic inhibition and changes of intracellular pH on potassium permeability and contraction of rat uterus. *J Physiol* 465: 43-56.
77. Song M, Zhu N, Olcese R, Barila B, Toro L, Stefani E (1999). Hormonal control of protein expression and mRNA levels of the MaxiK channel alpha subunit in myometrium. *FEBS Lett* 460: 427-32.
78. Auchampach JA, Maruyama M, Gross GJ (1994). Cardioprotective actions of potassium channel openers. *Eur Heart J* 15: 89-94.
79. Lazdunski M (1994). ATP-sensitive potassium channels: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol* 4: 1-5.
80. Obradovic M, Bjelogrić P, Rizzo M, Katsiki N, Haidara M, Stewart AJ, Jovanovic A, Isenovic ER (2013). Effects of obesity and estradiol on $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPase and their relevance to cardiovascular diseases. *J Endocrinol* 218: 13-23.

81. Coleman HA, Hart JD, Tonta MA, Parkington HC (2000). Changes in the mechanisms involved in uterine contractions during pregnancy in guinea-pigs. *J Physiol* 523: 785-98.
82. Smith L, Stull JT (2000). Myosin light chain kinase binding to actin filaments. *FEBS Lett* 480: 298-300.
83. Harrison N, Larcombe-McDouall JB, Wray S (1995). A ³¹P NMR investigation into the effects of repeated vascular occlusion on uterine metabolites, intracellular pH and force, in vivo. *NMR Biomed* 8: 28-32.
84. Ayar A, Tuğ N (2001). Dantrolen sodyumun izole sıçan miyometriyumunda agonistlerle indüklenen kasılmalara inhibitör etkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 2: 195-201.
85. Heaton RC, Wray S, Eisner DA (1993). Effects of metabolic inhibition and changes of intracellular pH on potassium permeability and contraction of rat uterus. *J Physiol* 465: 43-56.
86. Aytekin İ, Akgül Y (2008). Köpeklerde Subakut Digoksin Toksikasyonunun Klinik Semptomları, Elektrokardiyografi Üzerine Etkileri ve Sağıltımı. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi* 1: 64-71
87. Parratt J, Taggart M, Wray S (1994). Abolition of contractions in the myometrium by acidification in vitro. *Lancet* 344: 717-8.
88. Arici A M, Kilinc E, Demir O, Ates M, Yesilyurt A, Gelal A (2010). Interactions between verapamil and digoxin in Langendorff-perfused rat hearts: the role of inhibition of P-glycoprotein in the heart. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 107: 847-52.
89. Cole WC, Garfield RE, Kirkaldy JS (1985). Gap junctions and direct intercellular communication between rat uterine smooth muscle cells. *Am J Physiol* 249: 20-31.
90. Wheaton WW, Chandel NS (2010). Hypoxia regulates cellular metabolism. *Am J Physiol Cell Physiol* 300: C385-93.

11. ÖZGEÇMİŞ

1. Adı Soyadı : RAMAZAN ŞAHAN

İletişim Bilgileri

Adres : Döşemealtı Çetince Mevkii Kovanlık Köyü No:1 Antalya

Telefon : 0531 747 01 61

Mail : ramazansahan@outlook.com

2. Doğum Tarihi : 28.03.1989

3. Unvanı : Biyolog

4.Öğrenim
Durumu : Lisans

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji / Biyoloji Öğretmenliği	KTÜ	2007-2011
Yüksek Lisans	Fizyoloji Anabilim Dalı	KTÜ	2012-
Doktora			

5. Akademik Unvanlar

6. Lisans Tezi

Pelodytes caucasicus (Kafkas Kurbağası) türünün larvaları üzerine amonyum nitrat tuzlarının akut etkileri

6.1. Yüksek Lisans Tezi

İzole Sıçan Miyometriyumunda Metabolik İnhibisyona Bağlı Kontraktil Baskılanmada Sodyum-Potasyum Pompasının Rolünün İncelenmesi.

6.2. Doktora Tezi

-

7. Yapılan poster sunumları

Akça M, Şahan R, Okuyan M, Yıldırım M (2012). Epileptik nöbet oluşturan sıçanların kognitif ve motor performanslarına melatoninin etkisi. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi. Özet Kitabı, (S 197) Karadeniz Teknik Üniversitesi, 25-29 Eylül 2012/Trabzon.

7.1. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceeding) basılan bildiriler:

Gedikli O, Kurt A, Sahan R, Ayar A (2013). Investigation of role of "funny" (If) current in spontaneous and agonist-stimulated contractions in isolated rat myometrium. Poster, 37th Congress of IUPS (Birmingham, UK) Proc 37th IUPS, PCB380.

8.Sertifikalar

38. Ulusal Fizyoloji Kongresi Düzenleme Kurulu Sertifikası. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 25-29 Eylül 2012/Trabzon.

38. Ulusal Fizyoloji Kongresi Katılım Sertifikası. TFBD 38. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 25-29 Eylül 2012/Trabzon.

2237 TUBİTAK BİDEB 2237 Proje Eğitim Etkinlikleri Destekleme Programı Kapsamında Sağlık Bilimleri Alanında Proje Teklifi Hazırlama ve Yönetimi Teknikleri Kursu, Karadeniz Teknik Üniversitesi, 2013/Trabzon.

TEOL İngilizce Kursu Sertifikası (Intermediate) (Trabzon, 2013).

9.Ödüller

Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Bölüm Birinciliği (Trabzon, 2012).

Başarılı Üniversite Öğrencilerine Başarı Bursu (Kredi Yurtlar Kurumu) (2009-2011).