

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**İZOLE FARE ÖZOFAGUS ÇİZGİLİ KASININ
KARBAKOLE VERDİĞİ CEVAPLAR ÜZERİNDE
KADMIYUMUN ETKİSİ**

Olca (ERGÜRHAN) KIROĞLU

DOKTORA TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından
SBE.2002.D.28 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2006


KABUL VE ONAY FORMU

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan “*İzole Fare Özofagus Çizgili Kasının Karbakole Verdiği Cevaplar Üzerinde Kadmiyumun Etkisi*” adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 25/05/2006


İmza
Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK
Çukurova Üniversitesi
Jüri Başkanı


İmza
Prof. Dr. İsmail GÜNAY
Çukurova Üniversitesi


İmza
Prof. Dr. Serpil ÖNDER
Çukurova Üniversitesi


İmza
Prof. Dr. Cemil GÖÇMEN
Çukurova Üniversitesi


İmza
Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAŞAR
Mersin Üniversitesi

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun 07.06.2006 tarih ve 15/5-2 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Sait POLAT
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın oluşumunda ve gelişiminde bana değerli katkı ve fikirleri ile yol gösteren Sayın hocam Prof. Dr. Atilla Dikmen'e, tezimin tamamlanmasında emeklerini esirgemeyen ve değerli fikirleri ile yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ergin Şingirik'e şükran duygularımı sunarım. Diğer hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma, teknik ve idari personele katkılarından dolayı teşekkür ederim. Tezim sırasında benden değerli yardımlarını esirgemeyen, Sayın Prof. Dr. Ufuk Özgü Mete'ye ve Sayın Doç. Dr. Şeref Erdoğan'a katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca bana verdikleri destekten dolayı, sevgili anneme, sevgili babama, sevgili eşime, sevgili çocuklarıma ve sevgili kardeşlerime çok teşekkür ederim.

Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Fonu tarafından, SBE.2002.D.28. no' lu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Özofagusun Anatomik Yapısı	3
2.1.1. Özofagusun Histolojik Yapısı	3
2.1.2. Özofagusun Fonksiyonu ve Peristaltik Hareketlerin Kontrolü	4
2.1.3. Özofagusun Nonkolinerjik Nonadrenerjik Nöromediyatörleri	7
2.2. Özofagus Çizgili Kas Yapısı	9
2.2.1. Özofagus Çizgili Kas Yapısının Kasılma Mekanizması	12
2.2.2. Özofagus Nöromüsküler Kavşak Yapısı	14
2.3. Kadmiyum İyonunun Yapısı ve Özellikleri	18
2.4. Kalsiyum Kanalları	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Kontrol Deneyleri	25
3.1.1. Kadmiyum Varlığında Yapılan Kontrol Deneyleri	26
3.1.2. Nikel Varlığında Yapılan Deneyler	26
3.2. Kolinerjik Mekanizmayı Etkileyen İlaçların Kullanıldığı Deneyler	26
3.2.1. Kadmiyum Varlığında Kolinerjik Mekanizmayı Etkileyen İlaçların Kullanıldığı Deneyler	27
3.3. Kalsiyum Kanalını Etkileyen İlaçların Kullanıldığı ve Kalsiyum İyon Konsantrasyonunun Değiştirildiği Deneyler	27

3.3.1. Kadmiyumlu Ortamda Kalsiyum Kanalını Etkileyen İlaçların Kullanıldığı ve Kalsiyum İyon Konsantrasyonunun Değiştirildiği Deneyle	27
3.4. Ca ²⁺ -ATPaz Enzim Sistemini Etkileyen İlaçla Yapılan Deneyle	28
3.4.1 Kadmiyumlu Ortamda Ca ²⁺ -ATPaz Enzim Sistemini Etkileyen İlaçla Yapılan Deneyle	28
3.5. Tiyol Metabolizmasını Etkileyen İlaçlarla Yapılan Deneyle	28
3.5.1 Kadmiyumlu Ortamda Tiyol Metabolizmasını Etkileyen İlaçlarla Yapılan Deneyle	29
3.6. Kasılma Kenetini Etkileyen İlaç Varlığında Yapılan Deneyle	29
3.6.1. Kadmiyumlu Ortamda Kasılma Kenetini Etkileyen İlaç Varlığında Yapılan Deneyle	29
3.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	30
3.8. Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonların Hazırlanması	31
4. BULGULAR	32
4.1. Kontrol Deneyle	32
4.1.1. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Cd ²⁺ İyonunun Etkisi	32
4.1.2. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Ni ²⁺ İyonunun Etkisi	32
4.2. Kolinerjik Mekanizmada Etkili Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	35
4.2.1. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Hekzametonyumun Etkisi	35
4.2.2. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Fizostigminin Etkisi	35
4.2.3. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Tubokürarinin Etkisi	35

4.3. Kadmiyum ve Kolinjerjik Mekanizmada Etkili Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	36
4.3.1. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Fizostigminin Etkisi	36
4.3.2. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Tubokürarinin Etkisi	36
4.4. Kalsiyum Kanal Antagonisti Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	39
4.4.1. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Verapamilin Etkisi	39
4.4.2. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Nifedipinin Etkisi	39
4.5. Kadmiyum ve Kalsiyum Kanal Antagonisti Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	40
4.5.1. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Verapamilin Etkisi	40
4.5.2. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Nifedipinin Etkisi	40
4.6. Krebs Solüsyonundaki Farklı Kalsiyum Konsantrasyonlarının Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	44
4.6.1. Kalsiyumsuz ve EGTA'lı Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları	44
4.6.2. Krebs Solüsyonunda Kalsiyum Konsantrasyonu 1.25 mM ve 1.875 mM iken Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları	44
4.6.3. Krebs Solüsyonunda Kalsiyum Konsantrasyonu 5 mM ve 7.5 mM iken Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları	44
4.7. Krebs Solüsyonundaki Farklı Kalsiyum Konsantrasyonlarının ve Kadmiyum İyonunun Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	45

4.7.1. Kalsiyumsuz, EGTA'lı ve Kadmiyumlu Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları	45
4.7.2 Kadmiyum ve 1.25 mM Kalsiyum İçeren Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları	45
4.7.3. Kadmiyum ve 1.875 mM Kalsiyum İçeren Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları	45
4.7.4. Kadmiyum, 5 mM ve 7.5 mM Kalsiyum İçeren Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları	46
4.8. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Siklopiyazonik Asitin Etkisi	51
4.9. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Siklopiyazonik Asitin Etkisi	51
4.10. Tiyol Metabolizması Üzerine Etkili Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	53
4.10.1. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine l-sisteinin Etkisi	53
4.10.2. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Glutatyonun Etkisi	53
4.10.3. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Etakrinik Asidin Etkisi	53
4.10.4. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Diamidin Etkisi	54
4.11. Tiyol Metabolizması Üzerine Etkili Olan İlaçların ve Kadmiyumun Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi	54
4.11.1. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve l-sisteinin Etkisi	54

4.11.2. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Glutasyonun Etkisi	55
4.11.3. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Etakrinik Asidin Etkisi	55
4.11.4. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Diamidin Etkisi	55
4.12. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Trifluoperazinin Etkisi	58
4.13. Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Trifluoperazinin Etkisi	58
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	68
7. KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 1.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda CCh (2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevaplarının (B) trase örnekleri. 33
- Şekil 2.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine; karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} 2×10^{-5} M içeren ortamda kasılma cevapları (B), Nikel (Ni^{2+} , 4×10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C).. 34
- Şekil 3.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevaplarının (kontrol) (A), hekzametonyum (Hx, 3×10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), fizostigmin (5×10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C), tubokürarin (d-Tc, 10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (D). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 37
- Şekil 4.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + fizostigmin (5×10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + d-Tc (10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$). 37
- Şekil 5.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine d-tubokürarin (d-Tc, 10^{-7} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (A), kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) + d-Tc (10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * d-Tc 10^{-7} M içeren ortamdaki kasılma cevaplarına göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 38
- Şekil 6.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), verapamil (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), verapamil (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 42
- Şekil 7.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + verapamil (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + verapamil (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$). 42

- Şekil 8.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol(CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), nifedipin (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), nifedipin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 43
- Şekil 9.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + nifedipin (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + nifedipin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 43
- Şekil 10.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Ca^{2+} (0 mM) + EGTA(2×10^{-3} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Ca^{2+} (0 mM) + EGTA(10^{-2} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.01$, $n=5$). 47
- Şekil 11.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol)(A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (0 mM) + EGTA(2×10^{-3} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (0 mM) + EGTA(10^{-2} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$). 47
- Şekil 12.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Ca^{2+} (1.875 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Ca^{2+} (1.25 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$). 48
- Şekil 13.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (1.875 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (1.25 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 48
- Şekil 14.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Ca^{2+} (5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Ca^{2+} (7.5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$). 49

- Şekil 15.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (7.5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 49
- Şekil 16.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine Ca^{2+} (5 mM) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (A), kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * Ca^{2+} 5 mM içeren ortamdaki kasılma cevaplarına göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 50
- Şekil 17.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), siklopiyazonik asit (CPA, 10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. + grupların kendi içindeki anlamlılığını belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 52
- Şekil 18.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine Cd^{2+} (2×10^{-5} M) içeren ortamda CCh (2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + CPA (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 52
- Şekil 19.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), L-sistein (L-Cys, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), L-sistein (L-Cys, 5×10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C), glutatyon (GSH, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (D). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 56
- Şekil 20.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + L-Cys (10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + L-Cys (5×10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + GSH (10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (D). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 56
- Şekil 21.** İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), etakrinik asit (EA, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), diamid (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$). 57

Şekil 22. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + etakrinik asit (EA, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + diamid (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).

57

Şekil 23. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), trifluoperazin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).

59

Şekil 24. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine Cd^{2+} (2×10^{-5} M) içeren ortamda CCh (2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + trifluoperazin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$).

59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	Adenozin trifosfat
ATPaz	Adenozin trifosfataz
α	Alfa
β	Beta
Ca^{2+}	Kalsiyum
Ca^{2+} ATPaz	Kalsiyum adenozin trifosfataz
$\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATPaz	Kalsiyum/magnezyum adenozin trifosfataz
CCh	Karbakol
Cd^{2+}	Kadmiyum
CPA	Siklopiyazonik asit
λ	Delta
DHP	Dihidropiridin
DHPR	Dihidropiridin reseptörü
d-Tc	d-tubokürarin
DMT_1	İki değerlikli metal taşıyıcı -1 protein
EA	Etakrinik asit
EGTA	etilen glikol-bis (β -aminoetil eter)-N,N,N,N-tetra asetik asit
δ	Gama
GSH	Glutatyon
Hx	Hekzametonyum
K^+	Potasyum
L-Cys	L-sistein
Mg^{2+}	Magnezyum
MSPP	Minyatür son plak potansiyeli
Na^+	Sodyum
$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ pompası	Sodyum/Kalsiyum pompası

NADPH-d	Nikotin adenin dinükleotid fosfat diaforoz
Ni ²⁺	Nikel
NO	Nitrik oksid
RYR	Riyanodin reseptörü
-SH	Tiyol
SR	Sarkoplazmik retikulum
TM	Tropomiyozin
VIP	Vazoaktif intestinal peptid



ÖZET

İzole Fare Özofagus Çizgili Kasının Karbakole Verdiği Cevaplar Üzerinde Kadmiyumun Etkisi

Çalışmamızda izole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol uygulaması ile elde edilen kasılma cevaplarının, kadmiyum tarafından artırılmasında rol alan mekanizmalar araştırıldı. İzole fare özofagus dokusunun 1/3 alt ve üst kısmı uzaklaştırıldı, mukozası sıyrıldı ve 1-1.5 cm boyutlarında preparat hazırlandı. Doku 250 mg ön gerim altında, %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılmış Krebs solüsyonu içeren, sıcaklığı 37 °C olan, organ banyosuna asıldı. Kolinomimetik bir ilaç olan karbakol (2x10⁻⁴ M) uygulandı ve boyutları gittikçe azalan kasılmalar elde edildi. İlk karbakol uygulamasından sonra ortama iki değerlikli bir metal ve kalsiyum kanal antagonisti olan kadmiyum (2x10⁻⁵ M) eklendikten sonra karbakol kasılma cevaplarının boyutunda artma saptandı. Kalsiyum kanal antagonisti ve iki değerlikli bir katyon olan nikel (4x10⁻⁵ M) karbakol kasılmalarını değiştirmede. Presinaptik nikotinik reseptör blokörü hekzametonyum (3x10⁻⁴ M) karbakol kasılmalarını azalttı. Asetilkolinesteraz inhibitörü fizostigmin (5x10⁻⁷ M) kadmiyumlu ortamdaki karbakol kasılmalarının küçülmesine neden oldu. Postsinaptik nikotinik reseptör blokörü tubokürarin (10⁻⁷ M) hem karbakol kasılmalarını hem de kadmiyumlu ortamdaki karbakol kasılmalarını azalttı. Ancak tubokürarinli ve kadmiyumlu ortamdaki cevapların karbakol kontrol kasılmalarına göre artmış olduğu gözlemlendi. Voltaja duyarlı kalsiyum kanal antagonistleri verapamil (10⁻⁶ ve 10⁻⁵ M) ve nifedipin (10⁻⁶ ve 10⁻⁵ M) karbakol kontrol kasılmalarını ve kadmiyum kontrol kasılmalarını 10⁻⁵ M konsantrasyonda azalttı. Kalsiyum konsantrasyonu değiştirildiğinde 1.875 mM ve 1.25 mM'de karbakol kasılma cevapları değişmedi ancak 1.25 mM'de kadmiyumlu ortamdaki kasılmalar arttı. Kalsiyumsuz ve EGTA'lı (2x10⁻³ ve 10⁻² M) ortamda hem kontrol hem de kadmiyumlu ortamda elde edilen karbakol kasılmaları inhibe oldu. Kalsiyum konsantrasyonu 5 mM ve 7.5 mM iken kasılmalar azaldı. Sarkoplazmik retikulum Ca²⁺ ATPaz enzim inhibitörü siklopiyazonik asit (10⁻⁵ M) karbakol kasılmalarını artırdı. Tiyol modülatörü olan glutatyon (10⁻³ M) ve l-sistein (10⁻⁴ M ve 5x10⁻⁴ M) kadmiyumlu ortamdaki karbakol kasılmalarını azalttı. Tiyol okside edici ilaçlar etakrinik asit (10⁻⁴ M) ve diamid (10⁻⁵ M) karbakol kasılmalarını artırdı. Kalmodulin antagonisti trifluoperazin (10⁻⁵ M) kasılma cevaplarını azalttı. Bu sonuçlar kadmiyumun, miyojenik etki göstererek, hücre dışı ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonuyla etkileşerek, sarkoplazmik retikulum Ca²⁺ ATPaz'ı inhibe etmesi sonucu hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artırarak, tiyol gruplarına bağlanarak ya da tiyol depolarını boşaltarak ve kalsiyum gibi fonksiyon gösterip kalmoduline bağlanarak karbakol kasılmalarının artmasına neden olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Özofagus, karbakol, kadmiyum, çizgili kas

ABSTRACT

The Effect of Cadmium on The Responses of Isolated Mouse Esophageal Striated Muscle to Carbachol

The mechanisms which play role in the increase of carbachol induced responses of isolated mouse esophageal striated muscle by cadmium are investigated in this study. One third of upper and lower parts of isolated mouse esophagus were dissected out, mucosa was peeled off and preparations of 1 to 1.5 cm. were made ready. Tissue was mounted in organ bath under a tension of 250 mg. containing Krebs solution aerated with % 95 O₂ and % 5 CO₂ in 37 °C. After application of carbachol (2×10^{-4} M) which is a cholinomimetic drug, contractions with decreasing amplitudes were obtained. Following the first application of carbachol when Ca²⁺ channel antagonist cadmium (2×10^{-5} M) was added to the medium an increase was detected in the amplitudes of carbachol induced contractions. Another Ca²⁺ channel antagonist nickel (4×10^{-5} M) didn't change the carbachol induced contractions. A presynaptic nicotinic receptor antagonist hexamethonium (3×10^{-4} M) decreased the carbachol induced contractions. Physostigmine (5×10^{-7} M) which is an acetylcholinesterase inhibitor decreased the carbachol induced contractions in medium with cadmium. A postsynaptic nicotinic receptor blocker tubocurarine (10^{-7} M) decreased both carbachol induced contractions and carbachol induced contractions in medium with cadmium. But the responses in the mediums with tubocurarine and cadmium increased when compared to control contractions. Voltage sensitive calcium channel blockers verapamil (10^{-6} , 10^{-5} M) and nifedipine (10^{-6} , 10^{-5} M) decreased both the carbachol control and cadmium control contractions in the concentration of 10^{-5} M. When calcium concentration is changed in 1.875 mM and 1.25 mM. carbachol contraction responses didn't change but in 1.25 mM contractions in medium with cadmium increased. In mediums without calcium and with EGTA (2×10^{-3} and 10^{-2} M) carbachol contractions in both control and cadmium added mediums were inhibited. When calcium concentration is 5 mM and 7.5 mM the contractions decreased. Cyclopiazonic acid (10^{-5} M) which is a sarcoplasmic reticulum Ca⁺ ATPase enzyme inhibitor increased the carbachol contractions. Glutathion (10^{-3} M) and L cysteine (10^{-4} and 5×10^{-4} M) which are thiol modulators decreased the carbachol contractions in mediums with cadmium. Thiol oxidation agents ethacrinic acid (10^{-4} M) and diamid (10^{-5} M) increased the carbachol contractions. Trifluoperazine (10^{-5} M) which is a calmoduline antagonist decreased the contraction responses. These results show that cadmium may increase the carbachol contractions by a myogenic effect or by interacting with intracellular and extracellular calcium concentration or by inhibition of sarcoplasmic reticulum calcium ATPase and increasing intracellular calcium concentration or by bounding to thiol groups or reduction the thiol reservoir and by functioning like calcium and binding to calmoduline.

Key words: Esophagus, Carbachol, Cadmium, Striated muscle

1.GİRİŞ

Nonspesifik nikotinic ve muskarinic reseptör agonisti olan karbakol kolinerjik bir ilaç olarak sınıflandırılmaktadır. Gastrointestinal sistemden absorpsiyonu ve kan-beyin bariyerinden geçişi iyi olmadığı için genellikle topikal kullanılmaktadır. Kolinesterazlarla kolay metabolize edilemediğinden etkisi 4-8 saat sürebilmektedir¹. Karbakol ile yapılan çalışmalarda hem presinaptik hem de postsinaptik etkisinin olduğu ortaya konmuştur. Kurbağa nöromusküler kavşağında yapılan çalışmalarda presinaptik etkisiyle asetilkolin salınımını azalttığı gösterilmiştir². Postsinaptik ve hücre içi etkilerini araştırmak amacıyla yapılan çalışmalarda; düz kasda karbakolün muskarinic reseptörleri etkilediği ve membran depolarizasyonunda değişiklik oluşturduğu³ bunun sonucu L-tipi voltaja duyarlı kalsiyum kanalını aktive ederek hücre içine kalsiyum girişini artırdığı tespit edilmiştir⁴. Ayrıca hücre içi inositolfosfat konsantrasyonunu^{5,6} ve ventrikül miyositinde yapılan çalışmalarda hücre içine sodyum iyonu girişini artırması sonucu, sodyum/kalsiyum pompasını ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ pompası) stimüle ederek⁷ kalsiyum konsantrasyonunda artışa neden olduğu belirlenmiştir. Karbakolün iskelet kasında ise nikotinic reseptörleri etkileyerek hücre içi kalsiyum iyonu (Ca^{2+}) seviyesini artırdığı ve artan kalsiyumun, Ca^{2+} depolarını tetikleyerek Ca^{2+} salınımına neden olduğu gösterilmiştir. Ca^{2+} sız ortamda kasılma cevaplarının ortadan kalktığı ve hücre içi Ca^{2+} 'nın osilasyonunun devam edebilmesi için depoların yeniden dolması gerektiği ortaya konmuştur⁸.

Kadmiyum Alman kimyager F. Stromeyer tarafından 1817 yılında ZnCO_3 'den elde edilmiştir. Yeryüzü kabuğunda ve çevrede kadmiyum oksit, kadmiyum klorür veya kadmiyum sülfat tuzları halinde bulunmaktadır⁹. Canlılar kadmiyuma uzun süre maruz kalınca karsinogenik etki oluşmaktadır. İnsanlar kadmiyuma genellikle yiyecek ve içeceklerle oral yoldan ya da inhalasyonla (sigara içimi) maruz kalmaktadırlar. Organizmadaki hedef organları böbrek, karaciğer, akciğer, pankreas, testis, plasenta ve kemiktir^{10,11,12}. Kadmiyumun nöromusküler kavşak üzerine etkileri sıçan¹³ ve fare diafragmasında¹⁴ ve iskelet kasında¹⁵ araştırılmış, presinaptik asetilkolin salınımını azalttığı gösterilmiştir. Fakat kobay ileumun da yapılan çalışmada Ca^{2+}

konsantrasyonuna bağlı olarak nörotransmitter salınımına neden olduğu ortaya konmuştur¹⁶. Kadmiyumun düz kas ve iskelet kasında kasılma mekanizması üzerine etkilerini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Aort üzerinde yapılan çalışmada kontraksiyonları artırdığı gösterilmişken¹⁷, miyokarda yapılan çalışmalarda ise kontraksiyonları azalttığı tespit edilmiştir¹⁸. Fare korpus kavernosum dokusunda nörojenik¹⁹ ve sıçan detrusör kasında miyojenik²⁰ toksik etkisinden dolayı kasılma mekanizmasını etkilediğı ve kasılmaların azalmasına yol açtığı gösterilmiştir. Fare diafragmasında¹⁴ yapılan çalışmada kadmiyumun spontan kontraksiyonları artırdığı bulunmuştur. Yapılan literatür taramaları sonucunda kadmiyumun fare özofagus çizgili kasında kasılma mekanizmasının ve nöromüsküler kavşak üzerine etkilerinin araştırılmamış olduğı tespit edildi. Bu çalışmada karbakol ile kastırılan özofagus çizgili kasında kadmiyumun nöromüsküler kavşak ve kasılma mekanizması üzerine etkisini araştırmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİ

2.1. Özofagusun Anatomik Yapısı

Özofagus insanda farinksten mideye kadar uzanan 23-25 cm uzunluğunda müsküler bir kanaldır. Boyunda krikoid kıkırdağın alt seviyesinde, altıncı servikal vertebra hizasında başlar, kolumna vertabralisin önünden süperior, posterior mediastinumdan ve diyaframda da hiatus özofagusdan geçer. Yedinci kostal kıkırdak hizasında midenin ostium kardiakumuyla birleşir. Özofagus anatomik olarak servikal, torakal ve abdominal olmak üzere üç bölgeye ayrılır. Özofagusun parasempatik uyarımı nervus vagus'la olur. Mukoza bezlerine uyarılar submukoza tabakasında bulunan pleksus Meisner'le, düz kas liflerine ise iki kas tabakası arasında bulunan pleksus Auerbach'la gider. Üst yarıdaki çizgili kaslara nervus vagus'un bir dalı olan nervus rekürrens dağılır. Özofagustaki sempatik sinir lifleri daha çok kan damarlarını uyarır ve ayrıca viseral duyu algılama fonksiyonları vardır²¹.

Proksimal özofagusun sempatik innervasyonu servikal spinal bölgede lokalize olan servikal paravertebral ganglion ve üst torasik spinal bölgede bulunan üst torasik gangliondan gelen sinir lifleriyle oluşmaktadır. Alt özofagus sfinkteri ise alt torasik spinal bölgede lokalize çöliak gangliondan gelen sempatik sinir lifleriyle uyarılmaktadır²².

2.1.1. Özofagusun Histolojik Yapısı

Gastrointestinal sistemin bir parçası olan özofagus genellikle kollabe durumdadır, yutma süreci boyunca açılır. Özofagus sindirim kanalının diğer organları gibi mukoza, submukoza, müskülaris ve seroza tabakalarından oluşur. Mukoza tabakasında epiteliyal tabaka 0,5 mm kalınlığında nonkeratinize çok katlı yassı epitelle kaplıdır. Epitel hücreleri arasında Langerhans hücreleri bulunmaktadır²³. Hayvanlarda yapılan incelemeler sonucunda, kaba ve pürüzlü yiyecekler nedeniyle mukoza tabakasında keratinize tip çok katlı yassı epitel bulunmaktadır²⁴. Müskülaris mukoza,

mukoza ile submukozayı ayıran içte sirküler, dışta longitüdinale düz kas hücrelerinin oluşturduğu bir yapıdır. Submukoza tabakasında mukus salgılayan bezler vardır ki bunlar sayesinde epiteliyal yapı kayganlaşır ve gıdalar mideye rahatlıkla kayar. Ayrıca bu tabakada Meissner sinir pleksusu vardır. Müsküler tabakanın distal ucu düz kas hücrelerinden, orta kısmı düz ve çizgili kas hücrelerinden, proksimal ucu ise sadece çizgili kas hücrelerinden oluşur. Özofagusun periton boşluğundaki kısmı serozayla, geri kalan kısmı adventisya diye isimlendirilen gevşek bağ dokusu tabakası ile kaplıdır²⁵.

2.1.2. Özofagusun Fonksiyonu ve Peristaltik Hareketlerin Kontrolü

Özofagusun en önemli fonksiyonu alınan gıdaların mekanik bir pompa olarak farinksten mideye ulaşmasını sağlamaktır. Gıdalar ağız yoluyla alındıktan sonra farinksten özofagusa geçer, özofagusta çizgili ve düz kas yapısının koordinasyonlu kasılmasıyla ilerler, alt özofagus sfinkterinin gevşemesi ile mideye geçer. Özofagus alınan gıdaların güvenilir ve hızlı bir şekilde mideye iletilmesinde rol oynamakla beraber homojen olmayan bir yapıya sahiptir. Özofagusun müsküler yapısı iki tabakadan oluşmaktadır, içte sirküler dışta longitüdinale hat bulunur²⁶.

Özofagus başlıca üç fonksiyonel bölgesi olan bir organdır: 1. üst özofageal sfinkter 2. özofagus gövdesi 3. alt özofageal sfinkter. İstemli ve istemsiz mekanizmaların bulunduğu ve iki farklı kas tipinin aktivitesinin çok sıkı koordine edildiği bu fonksiyonel bölgelerin hareketleri, santral sinir sistemindeki kontrol mekanizmaları tarafından düzenlenir. Yutmanın santral ve periferale düzeydeki kontrolü eksitator kolinerjik nöronlar tarafından düzenlenir. İnsan özofagusunun distal kısmının %50-%60'ını tamamen düz kastan yapılmıştır. Yutma merkezindeki afferent reseptör sistemi aracılığıyla özofagusun motor fonksiyonlarının kontrolü sağlanır. Özofagustan çıkan duyuşal yolaklar vagus sinirleri içerisinde santral sinir sistemine taşınırlar fakat bu duyuşal yolaklar, omuriliğe giren sempatik sinirler içinde de bulunabilirler. Nükleus ambiguş ve dorsal motor nükleustan gelen sinir liflerini içinde bulunduran vagus siniri, sırasıyla özofagusun çizgili kasını, düz kasını ve sfinkterlerini uyarırlar²⁷. Özofagus çizgili kas yapısı üzerinde yapılan çalışmalarda, çizgili kas ile düz kas yapısının nervus vagus ve onun dalı olan nervus rekürens'le uyarılarak koordineli bir şekilde kasıldığı

gösterilmiştir²⁸. Özofagusun immunohistokimyasal incelenmesinde nonadrenerjik nonkolinerjik transmitterlerin (nitrik oksid, vasoaktif intestinal peptit, galanin, substans-P) varlığı gösterilmiş olup, bunların düz kasta etkileri ortaya konmuştur²⁹.

Özofagusta iki tip peristaltik hareket görülür: primer peristaltizm ve sekonder peristaltizmdir. Primer peristaltizm yutmanın farinks fazında farinksten başlayan ve özofagusa yayılan peristaltik dalganın devamıdır. Bu dalga farinksten mideye kadar tüm yolu 8-10 saniyede geçer. Dik pozisyonda ise gıdalar yer çekiminin de etkisiyle 5-8 saniyede bu mesafeyi geçerler. Primer peristaltik dalgayla özofagusa giren besinin tümü mideye gönderilemezse, özofagusta kalan besinin özofagus duvarını gerdirmesi sonucu sekonder peristaltik dalgalar gelişir ve bu dalgalar besinin tamamı mideye boşalınca kadar devam eder³⁰. Özofagusun kontraksiyonunun kontrolü, özofagusun çizgili ve düz kas yapısı arasındaki aktivasyonun ilişkisine ve kas yapısıyla merkezi ve periferik sinirler arasındaki ilişkiye bağlıdır. Çizgili kas peristaltizmi beyin sapındaki 'merkezi program jeneratöründen' uyarıları alıp ileten nervus vagusla olur. Düz kas peristaltizminin ortaya çıkması da merkezi ve periferik sinirler arasındaki etkileşim ve düz kasın özellikleriyle nöronal mekanizmalar arasındaki etkileşmeye bağlıdır. Düz kasta iki ana nöronal mekanizma bulunmaktadır: eksitatör kolinerjik ve inhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik sinirler. Bu uyarılar birbiriyle etkileşerek peristaltik kontraksiyonların genişliğini, hızını, yayılımını etkilerler. Periferik sinirsel elementler özofagusun off-cevabının (alt özofagus sfinkterinin gevşemesi ve özofagus sirküler kasının hiperpolarizasyonu) oluşumundan sorumludur^{31,32}. Üst özofagusta bulunan bir bolus tarafından ya da yutma eylemi ile başlatılan özofageal peristaltizm için primer kontrol mekanizmasının, retiküler formasyon ve beyin sapındaki yutma merkezinde bulunduğu tespit edilmiştir. Bu merkezden kalkan uyarılar efferent yollarla özofagusun çizgili ve düz kaslarına kademeli olarak yayılırlar. İzole özofagusun direkt ya da vagal sinir aracılığıyla uyarılması da peristaltik hareketlerin başlamasına neden olur. Bundan dolayı özofageal düz kas duvarında bir intrinsik periferik kontrol mekanizması mevcuttur. Bu mekanizma santral komponentten bağımsız olarak fonksiyon görür. Özofagus düz kası istirahat membran potansiyelinde, gastrointestinal sistemin diğer organları mide, ince barsak ve kolon gibi fazik osilasyonlar göstermez. İzole özofagusun vagal sinir aracılığı veya kare dalga elektriksel uyarıyla uyarılmasıyla iki fazlı kasılma fenomeni gözlenmiştir; uyarılmanın başında açma cevabı (on response)

olarak tanımlanan geçici bir kasılma ve uyarılmanın kesilmesinden sonra ortaya çıkan kapama cevabı (off response) olarak tanımlanan bir kasılma oluşur. Sirküler kas tabakasının da uyarılması ile başlangıçta on cevabı sonra off cevabı gözlenmiştir. On cevabı, tekrar edilebilir niteliktedir ve bazen peristaltik olabilir. Özofagus duvarı ve vagus sinirinin uyarıldığı deneysel şartlarda ise lokal peristaltik dalga genellikle off cevaba atfedilir. Yani peristaltik cevabın çıkması off cevabın oluşumuna karşılık gelir. Off peristaltik kasılmalar, özofagus duvarında ya da vagus sinir demetinde bulunan liflerin tümünün aynı anda uyarılmasının bir sonucu olarak ortaya çıkar. Kedi ve maymunlarda (Baboon türü), oluşan peristaltik kasılma dalgası, santral sinir sisteminden özofagus çizgili ve düz kaslarına olan eksitator deşarj dizileri tarafından oluşturulur. Efferent vagal lifler muhtemelen preganglioniktir. Söz konusu off cevabın aktif membran hiperpolarizasyonundan sonra gelişen "rebound" membran depolarizasyonu ile ilişkili pasif bir fenomen veya önceden oluşan inhibisyonun son bulmasından sonra belirginleşen aktif bir eksitator stimulus olup olmadığı bilinmemektedir. Off cevabın değişkenlik göstermesine rağmen kısmen atropine duyarlı olması, kolinerjik uyarıyla oluştuğunu düşündürebilir. Kedi ve maymunda (Baboon türü) özofagus sirküler düz kas tabakasına nörojenik eksitator sinirlerle impulsların ulaşabildiği gösterilmiştir. Kedi özofagus düz kasında elektriksel uyarılara alınan cevapların, atropin ve hemikolinium ile bloke olması, fizostigminle güçlenmesi, eksitator nöronların kolinerjik olduğunu gösterir. Oposum özofagusunda da vagal uyarıyla elde edilen cevaplar kolinerjik kaynaklıdır. Dolayısıyla bazı türlerde sirküler düz kası uyaran eksitator mekanizma kolinerjik kaynaklıdır. Özofagus duvarının direkt uyarılması veya vagal sinirin uyarılması özofagus duvarındaki tüm duyusal nöronları, inhibitör ve eksitator sinir liflerini uyarır. Tekrarlayan stimuluslarla eksitator mekanizma zayıflar ya da inhibitör mekanizma baskın hale geçer, sonuçta eksitator etki ortadan kalkar. Dolayısıyla eksitator "on" cevabı geçicidir ve intakt özofagusta sıklıkla nonperistaltiktir. Stimulus kesildikten sonra off cevap oluşur genellikle peristaltiktir. Özofagus sirküler kasında off ve on cevapların oluşması kolinerjik uyarıların yanısıra diğer α -adrenerjik, dopaminerjik ve histaminerjik (H_1) gibi eksitator mekanizmaların ve β -adrenerjik, dopaminerjik, histaminerjik (H_2) gibi inhibitör mekanizmaların rolü bulunmaktadır.

Özofagus çizgili kas tabakasındaki sinir pleksuslarının 3 fonksiyonu olabileceği ileri sürülmüştür:

1. Buradaki nöronlar duyuşal fonksiyona sahip olabilir. Orofarinks veya özofagustan çıkan duyuşal afferent stimuluslarla, **i.** Santral kaynaklı kontrol mekanizmalarının başlatılmasında, **ii.** Santral kaynaklı kontrol mekanizmalardan kalkan efferent deşarjların yoğunluğu ve zamanlamasının düzenlenmesinde ve **iii.** ‘‘Distal’’ inhibisyonun santral komponentinde önemli rol oynarlar. Periferel kontrol mekanizmalarında eksitasyon ve inhibisyon oluşturabilirler.

2. Yutma merkezinden özofageal çizgili kasa kadar uzanan eksitator yolaklarda ara nöron olarak davranabilirler.

3. Bazı nöronlar özofagus duvarında distal inhibisyona aracılık ederek fonksiyon görürler. Bu özellik özofagus çizgili ve düz kas fonksiyonları arasındaki koordinasyonun kısmen lokal olarak da düzenlendiğini gösterebilir. Sonuç olarak özofagus peristaltik hareketleri için lokal kontrol mekanizması nörojenik olmasına rağmen miyojenik özellikleriyle de ilişkili olabilir. Deneysel şartlarda on cevap peristaltizmi ortaya çıkmasına rağmen, peristaltizmde baskın olarak off cevap peristaltizmi görölmektedir. On cevabın oluşmasında kasın direkt kolinerjik uyarılmasının rolü varken, off cevabın oluşmasında eksitator kolinerjik ve diğer eksitator mekanizmaların rolü bulunmaktadır^{31,33}.

2.1.3. Özofagusun nonkolinerjik nonadrenerjik nöromediyatorleri

Özofagus çizgili ve düz kas yapısının immunohistokimyasal incelenmesi sonucu nonadrenerjik nonkolinerjik nöromediyatorlerin konumu ve fonksiyonları kısmen belirlenmiştir. Oposum özofagusunda yapılan çalışmalarda özofagusun farklı anatomik bölgelerinde çeşitli sinir liflerinin dağılımının da farklı olabileceği gösterilmiştir. İmmunohistokimyasal olarak yapılan incelemelerde: özofagusun servikal bölgesindeki sirküler kas tabakasında bulunan sinir liflerinde nikotin adenin dinökleotid fosfat diaforoz (NADPH-d) bol miktarda bulunurken, özofago-gastrik sfinkter bölgesinde sirküler kas tabakasında önemli derecede azalmış olarak bulunmaktadır. Longitudinal kas tabakasında NADPH-d bulunan sinir lifleri özofago-gastrik sfinkter bölgesinde bol

bulunurken, çizgili kas-düz kas kavşağında önemli derecede azalmış olarak bulunmaktadır. Nitrik oksid sentazın ve kalsitonin geniyle ilişkili peptidin, sinir liflerinde NADPH-d'le aynı lokalizasyonda olduğu belirlenmiştir. Fakat özofagusun herhangi bir tabakasında vasoaktif intestinal peptid (VIP), galanin ve P-maddesi'nin bulunduğu sinir liflerinin dağılımında belirgin bir fark olmadığı gösterilmiştir^{34,35}. Daha sonra kobaylarda, sıçanlarda ve sığırlarda yapılan çalışmalarda özofagusun myenterik pleksusunda bulunan NADPH-d'nin, düz kas ve sfinkter bölgesinin uyarılması yanı sıra çizgili kas tabakasının da uyarılmasında rolü olduğu tespit edilmiştir³⁵. Farklı bir çalışmada ise sığırlar³⁶ ve kobaylarda³⁷ galanin'in, özofagusun çizgili kasının uyarılmasını sağlayan bir mediatör olduğu, nitrik oksid ve VIP içeren sinir liflerinde lokalize şekilde bulunduğu gösterilmiştir. Sıçan gastrointestinal sisteminde yapılan çalışmada pituiter adenilat siklazı aktive eden polipeptid'in ekstrinsik ve intrinsik sinirlerde varlığı gösterilmiş ve gastrointestinal sistemin çeşitli fonksiyonlarında rolü olabileceği ortaya konmuştur³⁸. İnsan özofagusunda myenterik nöronların %55'i nitrejtiktir ve bunların %96'sında VIP, %80'inde kalsitonin geniyle ilişkili peptid ve %59'unda galanin bulunmuştur. Bu nöronların somasında %14 VIP ve %10 galanin olduğu gösterilmiştir³⁹. Myenterik sinirlerde yapılan çalışmalarda bombesin, substans-P, lösin-enkefalin, metionin-enkefalin, nöropeptid Y ve somatostatin benzeri peptidlerin varlığı da gösterilmiştir. Submukozal nöronların ise nöropeptid Y, metionin-enkefalin, lösin-enkefalin ve bombesin hariç yukarıdaki mediatörlerin tamamını içerdiği saptanmıştır. Her iki grup sinirin terminalinde kalsitonin geniyle ilişkili peptid, nöropeptid Y, P-maddesi, VIP, galanin'in bulunduğu anlaşılmıştır. Myenterik sinirlerin terminalinde bunlara ek olarak nöropeptid Y, metionin-enkefalin ve somatostatin bulunmuştur. Bütün kas tabakalarındaki genişlemiş sinir liflerinde kalsitonin geniyle ilişkili peptid, galanin, substans-P ve nöropeptid Y'nin olduğu ileri sürülmüştür. Sirküler kas tabakasında lösin-enkefalin, metionin-enkefalin ve longitudinal kas tabakasının lösin-enkefalin, somatostatin ve bombesin içeren sinir liflerinin çok az sayıda olduğu tespit edilmiştir. Sinir liflerinde kolesistokininin varlığı belirlenememiştir⁴⁰.

2.2. Özofagus Çizgili Kas Yapısı

Her kas, kas lifi adı verilen çok sayıda liften oluşur. Endomisium adlı bir bağ dokusu katmanı bu liflerin her birini sarmalar. Kas lifleri bir araya gelerek fasikülleri oluşturur, bunlar da perimisium denilen bağ dokusu katmanıyla çevrilir, bu yapıda kan damarları ve sinir yapısı bulunmaktadır. Fasiküller kası oluşturmak üzere bir araya gelir ve epimisium denilen bağ dokusu kılıfıyla çevrilirler⁴¹. Çizgili kas hücrelerinin boyu 25 cm'ye kadar ulaşabilir ve çapı 10-80 mikrometre arasında değişir. Kas lifinin hücre membranına sarkolemma denir, bu yapı hücre membranı gibi protein, fosfolipid, kolesterol, karbonhidrat ile birlikte birçok ince kollejen fibrilleri içeren polisakkarid tabakasından meydana gelen dış kılıftan ibarettir. Her kas lifi birkaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibril içerir. Miyofibriller kas lifinde sarkoplazma denilen hücre içi maddelerden oluşan bir matriks içinde asılıdırlar. Sarkoplazma sıvısı potasyum, magnezyum, fosfat ve protein yapısındaki enzimleri içerir. Sarkoplazma içinde bulunan zengin endoplazmik retikuluma kas lifinde sarkoplazmik retikulum denir ve kas kasılmasında önemli rolü bulunmaktadır⁴². Kas liflerinin elektron mikroskopik görünümünde sarkolemma'nın T-tübülleri adı verilen iç ceplenmeleri görülmüştür. Sarkotübüler sistem T-tübül sistemi, sarkoplazmik retikulum'dan oluşan yapıya denir. Her bir kas lifçığının çevresinde düzensiz bir perde yapan sarkoplazmik retikulum, miyosin ve aktin liflerinin kavşağında T sistemi ile yakın temasta olan uç sarnıcı'na genişler, buraya terminal sisterna veya uç sarnıç denir⁴³. Sarkoplazmik retikulum'un (SR) boylamasına uzayan geri kalan bölümleri terminal sisterna ile devam eder ve sarkomerin tüm uzunluğu boyunca uzanır. SR'nin bu bölümü kalsiyum pompalayıcı proteini (Ca^{2+} ATPaz) taşır böylece Ca^{2+} 'nın SR'ye tekrar pompalanmasında önemli rol oynar⁴¹. Bu temas yerlerinde, merkezde T sistemi ve her iki yanında sarkoplazmik retikulumun sarnıçlarıyla birlikte yaptığı oluşuma Triad denir. Sarkolemma'nın devamı olan T sisteminin işlevi aksiyon potansiyelinin hücre zarından kas içindeki bütün myofibrillere hızlı bir şekilde taşınmasını sağlamaktır. Sarkoplazmik retikulumun fonksiyonu Ca^{2+} hareketi ve kas metabolizması ile ilgilidir. Sarkoplazmada bulunan distrofin proteinleri ince aktin filamanlarını sarkolemmadaki β -distroglukan'a bağlayan bir çubuk yapar, β -distroglukan da α - distroglukan'la hücre dışındaki laminin'e bağlanır. Bu distrofin-glikoprotein karmasının kas lifçığıne sağlamlık ve destek verdiği düşünülmektedir⁴³. Ayrıca çizgili kas iskelet yapısındaki distrofin dışındaki diğer

multifonksiyonel proteinlerin, dinamik yapılarındaki değişimlerin, dokunun fonksiyonel yapısıyla ilişkili olduğu görülmüştür. Bu yapıdaki proteinlerin; örneğin aktin bağlayan protein vinkulin veya filamein'nin sarkomerik sinyal yolağıyla birlikte çalışabildiği gsterilmiřtir⁴⁴.

Her miyofibrilde yan yana uzanan yaklaşık 1500 miyozin filamenti ve 3000 aktin filamenti bulunur. Bu polimerize proteinler kasın kasılma fonksiyonundan sorumludurlar ve kısmen i içe girdikleri için miyofibriller birbirini izleyen koyu ve açık bantlar oluştururlar. Aktin filamentlerinden oluşan açık bantlar polarize ışığa izotropiktirler ve I bandı adını alırlar. Myozin filamentleri ile aralara giren aktin filamentlerinin uçlarını içeren koyu bantlar ise polarize ışığa anizotropiktirler ve A bandı adını alırlar. Miyozin filamentlerinin yan tarafından çıkan küçük uzantılara çapraz köprüler denir, bunlar filament boyunca tam orta bölümler dışında yüzeyden çıkıntılar yaparlar. Çapraz köprülerle aktin filamentleri arasındaki etkileşmeler kasılmaya neden olur. Aktin filamentlerinin ucu filamentöz bir protein yapısında olan Z disklerine tutunmaktadır ve bu diskten her iki yöne uzanarak miyozin filamentlerinin arasına girer. Z diski miyofibriller arasına uzanır ve kas lifi boyunca miyofibrilleri birbirine bağlar, böylece çizgili kas yapısının çizgili görünümü oluřur⁴³. Z çizgileri adı verilen iki koyu çizginin arasında yer alan yapıya sarkomer denir ve iskelet kasında yinelenen kasılma birimini temsil eder. Sarkomerin ortalama boyutu 2µm kadardır. Miyozin filamentleri Z-disklerine titin diye adlandırılan hücre iskelet proteinleriyle bağlanır. Titin çok iri (molekül ağırlığı 3000 kDa), elastik proteinlerdir, sarkomerin merkezinden Z-disklerine kadar uzanır ve miyozin filamentlerinin organizasyonu ve sarkomerdeki dizilimi için önemlidir. Miyozin filamentleri her birinin ağırlığı 480 kDa kadar olan birçok miyozin molekülünden oluşmuştur. Miyozin molekülü altı ayrı polipeptidten kurulu olup, molekül ağırlığı 200 kDa olan bir çift ağır zincir ile molekül ağırlığı 20 kDa olan iki çift hafif zincirden oluřmaktadır⁴¹. Bu zincirlerin her birinin ucu kıvrılarak miyozin başını oluştururlar, böylece çift sarmal miyozin molekülünün bir ucunda yan yana uzanan iki serbest baş vardır; sarmalın devam eden kısmına da kuyruk denir. İki bir başa ait olmak üzere, dört hafif zincir de miyozin başının kısımlarıdır. Bu hafif zincirler kas kasılması sırasında başın fonksiyonunu kontrol etmeye yardım eder. Miyozin filamentinin dışa uzanan kollarına ve başlarına birlikte çapraz köprü denir. Miyozin filamentlerinin uzunluğu ortalama 1.6 mikrometredir, bu filamentin ortasında 0.2

mikrometrelik kısımda çapraz köprüler yoktur, böylece ortada sadece miyozin molekülünün kuyrukları vardır başları yoktur. Myozin filamentleri kendi etrafında döner ve her çapraz köprü seti bir önceki setten 120 derece aksiyal olarak yer değiştirir. Bu durum çapraz köprülerin filamentin etrafında her yönde uzanmasını sağlar. Miyozin başının bir diğer temel fonksiyonu adenozin trifosfataz (ATPaz) enzimi olarak fonksiyon görmesidir, bu şekilde adenozin trifosfat (ATP) yıkılarak fosfat bağlarından açığa çıkan enerji kasılma fonksiyonu için kullanılır⁴³. Miyozin filamentinde bulunan miyomesin ve C-protein gibi proteinler ise miyozinin bipolar organizasyonunda ve paketlenmesinde rol alırlar⁴¹.

Aktin filamenti üç protein komponentinden oluşur; aktin, tropomiyozin ve troponin'dir. Aktin filamentinin iskelet yapısını çift sarmal filamana benzer aktin proteini (F-aktin proteini) oluşturur. Çift F-aktin sarmalındaki ipliklerin her biri, globüler aktin (G-aktin) moleküllerinden oluşur. Her G-aktin molekülüne bir adenozin difosfat molekülü tutunmuştur; bu moleküllerin kas kasılması sırasında aktin filamentlerinin, miyozin filamentlerinin çapraz köprüleriyle etkileştiği aktif bölgeler olduğu düşünülmektedir. Aktin filamenti 1 mikrometre uzunluğundadır. Aktin filamentlerinin tabanları Z disklerinin içine yerleşirken, diğer uçlar her iki yönde sarkomerlerde miyozin molekülleri arasındaki boşluklara doğru uzanırlar. Aktin filamentinin içerdiği bir diğer protein tropomiyozindir. Bu moleküller F-aktin sarmalının etrafına spiral olarak sarılmıştır. İstirahat durumunda tropomiyozin moleküllerinin aktin ipliklerinin aktif bölgelerini kapattığı, böylece aktin ve miyozin arasında kasılmaya neden olacak çekimi engellediği düşünülür. Yapılan çalışmalarda tropomiyozinin moleküler diziliminin aktinle-miyozin arasındaki etkileşimde önemli rol oynayabileceği, tropomiyozin (TM) moleküler dizilimindeki değişikliklerin bu yapıların etkileşmesinde bazı aksamalara yol açabileceği gösterilmiştir. TM'nin alternatif uçlarının rolü TM'nin her bir izoformu için aktine spesifik afiniteyi daha çok vermektir. TM'nin aktine afinitesi birlikte çalışan ünitlerin büyüklüğüne, afinitelerine, tam aktivasyon için gerekli olan miyozin başlarının sayısının azlığına bağlıdır⁴⁵. Aktin filamentinde bulunan üçüncü protein yapısı da troponindir; bu moleküler yapı tropomiyozinin bir ucuna bağlanır. Troponin kas kasılmasının kontrolünde rol oynayan üç protein alt biriminden oluşur i. Troponin I aktinin miyozine bağlanmasının tropomiyozin tarafından inhibe edilmesini kolaylaştırır ii. Troponin T tropomiyozine

bağlanır **iii**. Troponin C ise kalsiyum iyonları için kuvvetli afiniteye sahiptir⁴². Aktin filamentinde bulunan diğer proteinler; tropomodülin, α - aktinin ve kapZ dir. Tropomodülin aktin filamentinin sonundan sarkomerin merkezine doğru uzanır ve aktin filamentinin boyunun yerleşmesinde rol alır. α - aktinin ve kapZ ise aktin filamentinin Z-diskine tutunmasında fonksiyonu vardır⁴¹.

2.2.1. Özofagus Çizgili Kas Yapısının Kasılma Mekanizması

Kas kasılması aktin filamentlerinin miyozin filamentleri üzerinde kayması, miyozin başlarının aktine sıkıca yapışması, bu başların miyozin molekülünün geri kalan kısmı üzerine bükülmesi daha sonra ayrılması ile görülür. Miyozin başlarında ATP-bağlayan nokta açık bir yarıklı şeklindedir ve ATP buraya girince hidroliz olur ve yarıklı kapanır. Bu olay miyozin başının aktine bağlı olan geri kalan kısmını bükerek ve daha sonra aktini miyozin üzerinde hareket ettiren ‘güç darbesini’ oluşturmak üzere katılır. Her güç darbesi sarkomeri 10 nm kadar kısaltır. ATP’deki yüksek enerjili fosfatın hidrolizini, miyozin moleküllerinin aktinle temas ettiği yere yerleşmiş olan ATPaz etkinliği katalizler. Kas lifinin depolarize olması ile başlayan kasılma sürecine uyarılma-kasılma keneti (eksitasyon-kontraksiyon bağıntısı) denilir⁴³. Aksiyon potansiyeli T-tübülleri aracılığıyla sarkolemmada yayılırken sarkoplazmik retikulumun terminal sisternalarından Ca^{2+} salınır. Böylece intraselüler Ca^{2+} konsantrasyonu artar ve aktinle miyozin arasındaki kontraksiyon gerçekleşir. Aksiyon potansiyeli genellikle kısa sürer (yaklaşık 5 msn), intraselüler Ca^{2+} ’nın artışı aksiyon potansiyelinden sonra hafifçe başlar ve 20 msn de doruğa ulaşır. Hücre içi Ca^{2+} ’nın artması sarsı adı verilen bir kasılmaya neden olur. İntraselüler Ca^{2+} ’nın artması SR ile T-tübülü arasındaki protein etkileşmesinin sonucudur. T tübülleri ile sarkoplazmik retikulum terminal sisternaları yani uç sarnıçları arasında yaklaşık 15 nm kadar boşluk bulunmaktadır. Bu boşluk üzerinde, protein yapılar bir köprü oluşturur ve bunlara ‘ayak’ adı verilmiştir. Bu ayaklar terminal sisternaların Ca^{2+} salıveren kanalları olup aksiyon potansiyeline yanıt olarak hücre içi Ca^{2+} ’nın yükseltilmesinden sorumludurlar. Bu kanala ryanodin adlı bir ilacın bağlanmasından dolayı ryanodin reseptörü (RYR) denir. SR da bulunan RYR’leri 500 kDa büyüklüğünde protein yapılarıdır. RYR molekülünün çok küçük bir parçası SR

membranına gömülmüştür, önemli bir kısmı sarkoplazmada bulunmaktadır ki, bu yapı T-tübülleri ile terminal sisterna arasındaki boşluğu kapatmaktadır ve T-tübül membranında dihidropiridin reseptörü (DHPR) ile temas halindedir. DHPR 5 alt subünitten oluşmaktadır ve bu alt birimlerden sadece bir tanesine dihidropiridin türevi kanal ilaç bağlanmaktadır. Bu reseptörün yapısındaki değişiklikler ryanodin reseptörlerini açar ve SR'den Ca^{2+} salınımı olur. SR'den Ca^{2+} salınmasının başlatılması için DHPR üzerinden hücre içine Ca^{2+} akmasına gerek yoktur. İskelet kası, hücre dışı Ca^{2+} yokluğunda veya mutasyona uğramış bir DHPR'nin Ca^{2+} 'yı iletememesi halinde de kasılabilir. Kas aksiyon potansiyeli T-tübülünden akarken DHPR'de protein-protein tepkileşmesiyle meydana gelen değişiklikle RYR açılmakta ve SR'den sarkoplazma içine Ca^{2+} salınabilmektedir. Diğer iki protein ise triadin ve kalsekestrin dir. Triadin DHPR'le RYR'nin etkileşiminde rol alır. Kalsekestrin terminal sisternaların lümeninde bulunan düşük afiniteli Ca^{2+} bağlayan bir proteindir. Bu protein yüksek Ca^{2+} konsantrasyonunda Ca^{2+} bağlayarak RYR uyarıldığı zaman SR da sarkoplazmaya Ca^{2+} salınımını artırır⁴¹. Aksiyon potansiyeli, T sistemi sayesinde kas lifinde bütün lifçiklere yayılır ve T sistemine yakın sarkoplazmik retikulum keselerinden Ca^{2+} salınmasını tetikler, Ca^{2+} troponin C'ye bağlanarak kasılmayı başlatır. Dinlenim halindeki kasta troponin I aktinle bağlıdır ve tropomiyozin, miyozin başlarının aktine bağlanma noktalarını örter. Yani, troponin-tropomiyozin karması aktin ile miyozin arasındaki etkileşimi inhibe eden 'gevşetici protein''ni oluşturur. Ca^{2+} troponin C'ye bağlanınca troponin I'nın aktine olan bağlantısı zayıflar ve böylece tropomiyozin yatay olarak hareketlenir. Bu hareketle miyozin başlarının bağlanma noktalarının örtüsü açılır, ATP parçalanır ve kasılma görülür. Bir kalsiyum iyonuna bağlanan her troponin molekülü yedi tane miyozin bağlanma noktasını açığa çıkarır. Ca^{2+} 'nın serbestleşmesinden sonra, sarkoplazmik retikulum membranında bulunan kalsiyum-magnezyum adenozin trifosfataz (Ca^{2+} - Mg^{2+} ATPaz) pompası aracılığıyla Ca^{2+} sarkoplazmik retikuluma toplanır. Hücre içi Ca^{2+} oranı yeterince azaldığı zaman miyozinle aktin arasındaki kimyasal etkileşim durur ve kas gevşer. ATP burada hem kasılma hem de gevşeme için gerekli olan enerjiyi sağlar. Birçok faktör iskelet kasında aktin filamentinin Ca^{2+} 'ya duyarlılığını etkileyerek aktin filamentiyile miyozin filamentinin etkileşimlerini sağlar. Bu faktörler, sıcaklık, pH, sarkomer uzunluğu ve düzenleyici hafif zincir fosforilasyonudur. Bu faktörlerin her biri

bir diğeriyle ilişkilidir; örneğin, Ca^{2+} duyarlılığındaki artış diğer faktörlerdeki azalmayla paralel oluşur⁴⁶.

Kısaca bir çizgili kasın kasılması şöyle gelişir⁴³;

- 1- Motor nöronun boşalması
 - 2- Motor son plakta transmitter (asetilkolin) salınımı
 - 3- Asetilkolinin nikotik reseptörlere bağlanması
 - 4- Son plak membranında Na^+ ve K^+ geçirgenliğinde artma
 - 5- Son plak potansiyelinin oluşması
 - 6- Kas liflerinde aksiyon potansiyelinin oluşması
 - 7- Depolarizasyonun T tübüleri boyunca içeriye yayılması
 - 8- Sarkoplazmik retikulumdan salınan Ca^{2+} 'un aktin ve miyozin filamentlerine sızması
 - 9- Ca^{2+} 'un aktin üzerindeki miyozin bağlanma noktalarını açmak için troponin C'ye bağlanması
 - 10- Aktin ve miyozin arasında çapraz köprülerin kurulması ve lifin boyunda kısılma meydana getirmek üzere aktin filamentlerinin miyozin filamentleri üzerinde kayması.
- Gevşeme basamakları ise;
- 1- Ca^{2+} 'un sarkoplazmik retikuluma tekrar toplanması
 - 2- Ca^{2+} 'un troponinden ayrılması
 - 3- Aktin ve miyozin arasındaki etkileşimin durması⁴³.

2.2.2. Özofagus Nöromüsküler Kavşak Yapısı

Motor nöronların aksonuyla iskelet kas lifleri arasındaki kavşağa nöromüsküler kavşak, miyonöronal kavşak veya motor son plak denir⁴¹. İskelet kas lifine gelen akson, sonlanma noktasına yaklaşırken miyelin kılıfını kaybeder, çok sayıda terminal düğme veya ayak ucuna bölünür. Ayak ucunda çok sayıda asetilkolin içeren vezikül bulunur ve bunlar sinir hücre zarından rasgele salınır, sinir- kas kavşağında 0.5 mV genliğinde minyatür son plak potansiyeli (MSPP) denilen depolarize edici dikenler oluşturur. Sinir uçları, kavşaktaki kalınlaşmış kas zarı bölümü olan motor son plaktaki çöküntülere

yerleşir⁴³. Sinir ile kalınlaşmış kas zarındaki aralığa kavşak yarığı denir. Bu aralık karbonhidrattan zengin amorf materyal içerir ve her son plakta bir tane sinir sonlanır. Presinaptik uçtaki asetilkolin veziküllerinden Ca^{2+} girişiyle doğru, magnezyum (Mg^{2+}) girişiyle ters orantılı olarak asetilkolin salınımı gerçekleşir. Sinir terminalindeki asetilkolin veziküllerinden zengin bölüme aktif hat (zone) denir⁴¹. Presinaptik bölgedeki Ca^{2+} kanalları memelilerde P-tipi kanallardır. Non-aromatik bir poliamin olan huni-ağ toksini ve peptid yapılı omega-agatoksin-İVA ile bloke olurlar. Amfibi çizgili kaslarının motor sinir ucundaki kalsiyum kanalları omega-konotoksin ile bloke olan N-tipi kalsiyum kanallarıdır⁴⁷. Presinaptik uçta plazma membranının depolarizasyonu, voltaja bağlı Ca^{2+} kanalları açılır, asetilkolin içeren veziküller plazma membranıyla birleşir ve asetilkolin sinaptik aralığa salınır. Salınan nöromediatörler kasta düzenli ilerleyici yanıtların oluşmasını sağlar. Her sinir uyarısında 10.000 nörotransmitter molekülü içeren 60 kadar asetilkolin vezikülü serbestleşir. Asetilkolin; kolin-O-asetiltransferaz enzimi aracılığıyla asetilkoenzim A'dan alınan aktif asetil radikallerinin kolinle birleşmesi sonucu oluşur. Çok az motor nöron ve onların aksonlarında asetilkolin sentezi olur, diğer hücrelerin çoğunda nörotransmitter sentezi gerçekleşmez. Asetilkoenzim A nöronlarda sentezlenir fakat kolin sentezlenemez ve ekstraselüler ortamdaki yüksek ve az afiniteli aktif transport sistemleriyle nöron içine alınır. Yüksek afiniteli sistemler sadece kolinerjik nöronlarda bulunur ve ekstraselüler ortamdaki Na^+ konsantrasyonuna bağlı aktivite gösterirler. Bu yapılar hegzametonyum ile inaktive olurlar. Presinaptik uçtaki bu yüksek afiniteli kolin transport sisteminin yapısı ve ardışık dizimi diğer nörotransmitter taşıyıcılarından farklıdır fakat sodyum (Na^+)'ye bağlı glukozu taşıyıcı sisteme benzer bir yapıya sahiptir^{41,47}. Kolin'in kaynağı sinaps aralığında yıkılan asetilkolinden serbest kalan kolin, diyetle alınan ekzojen kolin ve vücutta yıkılan fosfolipidlerden açığa çıkan kolindir. Ağız yolundan kolin ve lesitin verilmesi kolinerjik nöronlardaki asetilkolin sentezini artırır⁴⁹. Presinaptik uçtan nörotransmitterlerin salınması genellikle presinaptik Na^+ ve potasyum (K^+) kanalları tarafından düzenlenir. Nöronal N tipi kanallar G proteini aracılı bir transdüksiyon mekanizması üzerinden inhibe edilebilirler. N tipi kanalların inhibisyonu, bu kanalların voltaj duyarlılığındaki değişikliklerin bir sonucu olarak meydana gelir. Ayrıca nörotransmitterler nöronal K^+ kanallarının açılmasına neden olurlar, böylece sinir ucunda gelişen membran potansiyeli istirahat membran potansiyeli seviyesine gelir ve

geriye zayıf bir aksiyon potansiyeli kalır. Bu aksiyon potansiyeli sinir ucu membranını zayıf bir şekilde depolarize eder ve normalden daha az miktarda Ca^{2+} hücre içine girer, neticede daha az nörotransmitter salınır. Nörotransmitterler kendi salınmalarında ya da diğer mediyatörlerin düzenlenmesinde de rol oynayabilmektedir. Sinir uçlarında genellikle nörotransmittere ait reseptörler (otoreseptör) bulunur ve bu reseptörler aktive edildiğinde nörotransmitterlerin salınması azalabilir veya artabilir⁵⁰. Asetilkolinin kuantal salınımı minyatür son plak potansiyeli (MSPPs) olarak adlandırılan küçük spontan bir depolarizasyonla gerçekleşir. MSPPs'nin frekansı gelişi güzeldir, ortalama her 1 sn'de bir görülür. MSPPs'nin frekansı değişiktir fakat amplitüdleri dar bir aralık içindedir. Her MSPPs ortalama 0.4 mV'le postsinaptik membranda depolarizasyona neden olur. Bu depolarizasyon kas plazma membranında tetikleyici aksiyon potansiyelinin oluşumu için yeterli değildir⁴¹. Presinaptik uçtan salınan asetilkolin, postsinaptik bölgedeki nikotinik reseptörlere bağlanarak, zarın Na^+ ve K^+ iletkenliğini artırır ve Na^+ 'nın içe akışı sonucu son plak potansiyeli adı verilen depolarize edici bir potansiyel oluşur. Asetilkolin sinir-kas kavşağında bulunan asetilkolinesteraz enzimiyle yıkılarak uzaklaştırılır. Aksiyon potansiyeli son plağın her iki tarafında oluşur⁴³.

Sinir son plağının karşısında bulunan çizgili kas hücre membranı farklılaşmış bir yapı gösterir bu bölge kıvrımlı oluşu nedeniyle plağın yüzey alanını 6 kez artırır. Nikotinik tipteki asetilkolin reseptörleri kıvrımların tepesinde yoğunlaşmıştır, kıvrımların çukur bölgelerine doğru ve kas hücresinin kavşak dışı kalan bölgelerinde dansite düşer. Bir son plaktaki toplam reseptör sayısı bulunduğu kas yapısına göre 1.000.000-10.000.000 arasında değişir. Nikotinik reseptörler, yapıcı ligand kapılı kanallardır. Nikotinik reseptörler ortalama membranın sinaptik yüzünde $65 A^0$, sitoplazmik bölgesinde $20 A^0$ boyutlarında çıkıntı oluşturur. Reseptörün sinaptik yüzdeki kanalların ağzı $22 A^0$ genişliğindedir⁵¹. Çizgili kasta bulunan kas tipi nikotinik reseptörlerle, beyin ve otonomik ganglionlarda bulunan nöronal tip nikotinik reseptörlerin oligomerik yapısı ve antagonistlere karşı davranışı farklıdır. Kas tipi nikotinik reseptörler (N_m) 250.000 dalton molekülü ağırlığında pentamerik bir protein kompleksidir; iki alfa ve birer beta, gama ve delta alt-birimlerinden oluşur; erişkin hayvanlarda gamanın yerini epsilon alt birimi alır. Beş alt birimin her biri dört transmembranal helikal segmente sahiptir (M_1 - M_4), M_2 heliksi kanalı çevreler⁵². Bu helikslerin aminoasit diziliminde küçük polar veya nötral rezidüleri (serin, threonin,

glisin) veya büyük non-polar rezidüler (izolösin, lösin, fenilalanin) bulunur. M₂ heliksine bağlı büyük hidrofobik rezidüler kanal ağzından uzaklaşırlar ve kanal açılır. Bu alt-birimler ortada sodyum kanalı oluşturacak şekilde bir rozet gibi dizilmişlerdir. Alfa (α) alt birimi üzerinde agonist ve antagonistlerin birer bağlanma yeri bulunur. Bu bölgeye iki asetilkolin molekülü bağlanınca ortaya çıkan enerji ile hidrofobik rezidüler kanal ağzından uzaklaşır ve kanal açılır. Na⁺ iyonunun hücre içine akışının artması ve K⁺ iyonunun çıkışının azalması nedeniyle, membran depolarizasyonu ve aksiyon potansiyeli gelişir. Asetilkolin kanallarında (-) yüklü aminoasit rezidülerinin oluşturduğu 3 tane negatif halka vardır, bu halkaların negatif yükü dolayısıyla klorür gibi anyonlar bu kanaldan geçemez⁵¹. Bu kanallardan genellikle (+) yüklü iyonlar, özellikle Na⁺ iyonu geçişi olur. Bu geçiş iki nedene bağlıdır; i. Konsantrasyon farkı olan iki iyon vardır, bunlar Na⁺ ve K⁺ dır ii. Membran iç yüzündeki (-) potansiyel ve kanalın negatif yüklü yapısı hücre içine Na⁺ iyonu çekerken, K⁺ iyonlarının hücreden çıkmasını engeller⁵². Özetle, motor sinir liflerinde yayılan depolarizasyon sinir ucuna ulaştığında Ca²⁺ kanalları açılır ve Ca²⁺ sinir ucuna girer; aksoplazma içindeki vezikülleri etkileyerek, buradan asetilkolin moleküllerinin kavşak aralığına boşalmasına neden olur. Asetilkolinin parçalanmasıyla kolinerjik reseptörler tekrar serbest hale getirilirler ve daha sonraki impulsa cevap hazır duruma sokulmuş olur. Nikotinik reseptörlerin asetilkolin tarafından etkilenmesi son plağın sınırlandırılmış ve kademeli depolarizasyonuna neden olur. Böylece son plak potansiyeli oluşur. Bu kademeli depolarizasyon bir spayk potansiyeli tetiklerse, meydana gelen depolarizasyon çizgili kas hücre membranı boyunca yayılır ve kas hücre membranındaki tübüllere yayılarak, hücrenin sarkoplazmik retikulumunda bulunan, bağlı Ca²⁺ iyonlarının salıverilmesini tetikler. Salınan Ca²⁺ iyonları aktin-miyozin sistemini tetikleyerek çizgili kas kasılmasına neden olur. Çizgili kasın kasılmasında Ca²⁺ iyonunun iki önemli rolü bulunmaktadır: i. Motor sinir ucunun uyarılması ve asetilkolin salınması arasındaki kenetlenmeyi sağlar (eksitasyon-salıverilme keneti) ii. Çizgili kas hücrelerinde hücre membranının depolarizasyonu ile kasılma arasındaki kenetlenmeyi sağlar (eksitasyon-kontraksiyon keneti). Kalsiyumun bu etkileri magnezyum tarafından antagonize edilir⁵³.

2.3 Kadmiyum İyonunun Yapısı ve Özellikleri

Metaller iki grupta toplanabilir; esansiyel (gerekli) ve nonesansiyel (gerekli olmayan) metaller olmak üzere. Bakır, çinko ve demir gibi gıdalardan elde edilen esansiyel elementler hem prokaryotlar hem de ökaryotlarda sağlıklı bir hücre için gereklidirler. Bu elementler hücrenin sağlıklı çoğalmını ve birikimini kontrol ederler. Aksine civa, kadmiyum ve kurşun gibi toksik (nonesansiyel) metaller besinsel bir değere sahip değildirler⁵⁴. Kimyasal bir element olan kadmiyum 1817 yılında Almanya’da Friedrich Strohmeyer tarafından bulunmuştur. Kadmiyumun sembolü Cd^{2+} ve atomik numarası 48 olarak belirlenmiştir. Yumuşak, eğilebilen, bükülebilen mavi-beyaz, bıçakla kesilebilir az görülen, iki değerlikli toksik bir metaldir. Genellikle çinkoyla birlikte görülür ve büyük oranda pil yapımında kullanılır. Sıklıkla çinkonun elde edilmesi sırasında çinkodan izole edilir. Çinko metali, sülfürik asitle elektrolize edilerek veya karbonla okside edilerek eritilmektedir. Kadmiyum ise çinkonun eritilmesi sırasında vakumla damıtma yöntemi veya elektrolize solüsyondan presipite edilerek elde edilir. Toksik bir metal olmasına rağmen İngiltere’de 1907’de kadmiyum iyodür geniş cilt yaralanmalarında, glandlarda gelişen kötü huylu hastalıklarda ve el-ayaklarda görülen şişmelerde kullanılmıştır. Doğada bulunan kadmiyum sekiz izotoptan oluşur; $^{113}Cd^{2+}$ (yarılanma ömrü 7.7×10^{15} yıl) ve $^{116}Cd^{2+}$ (yarılanma ömrü 2.9×10^{19} yıldır) izotopları radyoaktiftir, $^{106}Cd^{2+}$, $^{108}Cd^{2+}$, $^{114}Cd^{2+}$ radyoaktif ön metallerdir. Diğer izotoplar $^{110}Cd^{2+}$, $^{111}Cd^{2+}$, $^{112}Cd^{2+}$ stabilize izotoplardır⁹. Grup IIB metallerden olan kadmiyum’un atomik ağırlığı 112.41 g/mol dır. Doğal ortamda kadmiyum oksid (CdO), kadmiyum klorür ($CdCl_2$) veya kadmiyum sülfat ($CdSO_4$) gibi inorganik tuzları yer kabuğunda ve çevrede bulunmaktadır. Kadmiyum insanlar ve hayvanlar için tehlikeli bir metaldir. Her yıl 25.000-30.000 ton Cd^{2+} çevreye salınmaktadır, bu miktarın oluşmasında insanların payı büyüktür (4000-13.000 ton her yıl). İnsanlar Cd^{2+} ’e genellikle iki yolla maruz kalırlar; inhalasyon ve ağız yoluyla alınarak. Cd^{2+} ’ye cilt yoluyla uzun süre maruz kalındığında pek az miktarı perkütan şekilde absorbe olmaktadır ve Cd^{2+} ’nin ciltten bu şekilde absorpsiyonu önemsizdir⁵⁵. Cd^{2+} ’nin bulaştığı suyun içilmesi veya gıdanın yenmesiyle vücudun Cd^{2+} yükü ortaya çıkacaktır. Cd^{2+} ’nin oral alınımında suda çok çözünen formu olan $CdCl_2$ rol oynarken, inhalasyonla alınan

şekilde CdO'nun önemi vardır⁵⁶. Sigara içen insanlar büyük oranda kadmiyum'a maruz kalmakta, her bir sigarada 1-2 µg kadmiyum bulunmakta ve inhale edilen Cd²⁺'nin %40-60'ı pulmoner epitelden geçerek direkt sistemik dolaşıma katılmaktadır. Sigara içmeyenler ise Cd²⁺ içeren gıdaları yiyerek Cd²⁺'le karşılaşmaktadır. Balık, çeşitli organlar (özellikle karaciğer, böbrek), tohum ve tahıllar büyük oranda Cd²⁺ içermektedirler. Patates, lifli sebzeler, köklü sebzeler daha az oranda Cd²⁺ içermektedirler. İnsanlarda ve diğer memelilerde, karaciğer, böbrek, akciğer, pankreas, testis, plasenta ve kemik gibi birçok organ Cd²⁺ tarafından etkilenmektedir. Bu organlar içinde karaciğer ve böbrek ilk ve en çok etkilenen organlardır. Yapılan araştırmalarda oral alınan Cd²⁺'nin gastrointestinal sistemden absorpsiyonunun fare ve sıçanlarda %1-2, maymunlarda %0.5-3, domuzlarda ve kuzularda %5 olduğu gösterilmiştir⁵⁷. Cd²⁺'nin karsinogenik etkisi sonucu hücrelerde apoptosis ve nekroz gelişmektedir. Cd²⁺'ye bağlı hücre hasarı; dozu, alınma şekli ve alınma süresi gibi birçok faktöre bağlıdır¹⁰. İnsanlardaki epidemiyolojik ve toksikolojik araştırmalar sonucu, Uluslararası Kanser Araştırma Merkezleri Cd²⁺'yi I. Kategoride kanser yapan kimyasal ajanlar sınıfına koymuştur. Günümüzde yapılan araştırmalar sonucu Cd²⁺'nin kanserojenik etkisinin protoonkojen aktivasyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir⁵⁸.

Son yıllarda toksik metallerin hedef hücreler içine, moleküler benzerlik (molecular mimic) ya da iyonik benzerlik (ionic mimic) yoluyla girdiği ortaya konmuştur. Moleküler benzerlikte, metaller belirgin biyolojik moleküllerin, örneğin taşıyıcı proteinlerin, kanalların, yapısal proteinlerin, enzimlerin, kopyalayıcı faktörlerin aktif bölgelerine, nükleofilik alanlarına bağlandıkları zaman, yapısal ve fonksiyonel olarak bu endojen yapılara benzer davranışlar göstermesi söz konusudur. Taşıyıcı proteinlerin birçoğu, bazı toksik metallerin taşınmasında rol oynarlar, örneğin amino asit yapılı taşıyıcılar civanın inorganik veya organik formlarının renal epiteliyal hücrelerden, endotelial hücrelerden ve glial hücrelerden içeri taşınmasını sağlamaktadırlar. İyonik benzerlik ise moleküler benzerliğe çok yakın bir tanımlamadır. İyonik taklitçilikte metallerin katyonik türleri, taşıyıcı proteinler, iyon kanalları, enzimler, yapısal proteinler, taşıyıcı faktörler ve metal bağlayan proteinler gibi davranabilme ya da yapısal ve fonksiyonel olarak onların verdiği hizmeti verebilme özelliğine sahip olurlar. Örneğin, toksik metallerin katyonik özelliğine sahip olan maddelerden biri olan Cd²⁺, memeli organizmasındaki hedef hücrelerin içine

geçebilmek için iyon kanallarını (özellikle Ca^{2+} kanalını) veya iki değerlikli metal taşıyıcı-1 protein (divalent metal transporter 1 DMT1/DCT1/Nramp1) gibi belirgin membran taşıyıcılarını kullanabilir. Moleküler ve iyonik benzerlik yapısal ve fonksiyonel benzerlik olarak da sınıflandırılabilir. Yapısal benzerlik bir diğer element veya moleküle büyüklük ve şekil olarak benzeyen moleküler türü açıklamaktadır. Fonksiyonel benzerlik ise bir diğer element veya molekülün yaptığı etkiyi yapabilmesini tanımlamaktadır^{10,54}.

Günümüzde Cd^{2+} 'nin hücre içine giriş yoluyla ilgili birçok hipotez bulunmaktadır;

1. Deneysel çalışmalar göstermiştir ki kadmiyum; kalsiyum, demir ve çinko gibi esansiyel elementlerin taşınmasında rol alan membran proteinleriyle etkileşerek hücre içine girmektedir. Bu geri alınımın iyonik benzerlik mekanizmasıyla olduğu öne sürülmüştür.

2. Cd^{2+} , glutatyon ve sistein gibi düşük moleküler ağırlıklı tiyollerle S-konjugat yapmaktadır. Bu konjugatlar aminoasitler, oligopeptidler, organik katyonlar ve diğer önemli homeostatik moleküllerin taşınmasında (absortive transport) rol alan tam olarak anlaşılammış spesifik taşıyıcı proteinlere benzemekte veya moleküler homologları gibi davranmaktadırlar.

3. Cd^{2+} , Cd^{2+} içeren proteinlerin endositozuyla hücre içine girmektedir. Örneğin Cd^{2+} iyonu metalotiyonin, albümin veya diğer proteinlere bağlanmaktadır. Bu konjugatlar absorpsiyon veya reseptör aracılı endositozda rol alan substratlar gibi davranmaktadırlar. Bu bulgulara göre Cd^{2+} bazı proteinlerle konjugat yaparak esansiyel homeostatik moleküllere, fonksiyonel ve moleküler benzerlik göstermektedir.

4. Cd^{2+} 'nin iki değerlikli formu spesifik membran proteinleriyle taşınan diğer iki değerlikli katyonlara benzer fonksiyon gösterir yani iyonik taklitçilik, benzerlik ortaya koyar. Örneğin Cd^{2+} , Ca^{2+} 'dan daha küçük bir çapa sahiptir. Cd^{2+} , Ca^{2+} 'ya iyonik benzerliği dolayısıyla uyarılabilir hücrelerde Ca^{2+} kanalları aracılığıyla Ca^{2+} 'nın hareketlerini inhibe etmektedir ve bu özelliği nedeniyle Ca^{2+} kanallarının bazı tiplerine antagonist olarak etkili olabileceği düşünülmektedir.

2.4. Kalsiyum Kanalları

Uyarılabilir hücreler dinlenim halindeyken Ca^{2+} iyonlarına pek geçirgen değildirler; böylece hücre dışı ortamda, hücre içindekinden yaklaşık 10.000 kez daha yüksek konsantrasyonda (yaklaşık 1 mM) bulunan bir iyonun hücre içine girişi önlenmektedir. Dinlenim halindeki hücrelerde sitoplazma içindeki serbest Ca^{2+} miktarı $0.1 \mu\text{M}$ 'dir. Hücre dışında bulunan Ca^{2+} , hücre içine eksitasyon sırasında hücre membranında bulunan voltaja-bağımlı kalsiyum kanallarının açılması sonucu, konsantrasyon gradiyentine uyarak pasif bir şekilde girer. Ayrıca membrandaki $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ değiş-tokuş mekanizması da hücre içine Ca^{2+} girişine ikincil katkıda bulunur. Bu değiş-tokuş tek yönlü değildir, membran potansiyeline ve Na^+ ve Ca^{2+} konsantrasyon gradiyentine bağlı olarak dışarıya atılabilir; örneğin hücre depolarize ise Ca^{2+} içeri girer, polarize ise dışarı çıkar. Hücre içinde Ca^{2+} birikimini önlemek ve Ca^{2+} 'nın sitotoksik etkisinden korunmak için sarkolemmal Ca^{2+} pompası yani $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPaz pompası ile SR'de bulunan Ca^{2+} -ATPaz pompası bulunmaktadır. $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPaz pompası hücre içinden Ca^{2+} 'u hücre dışına atarken, Ca^{2+} -ATPaz pompası ise hücre içi Ca^{2+} 'yı SR'ya pompalayarak hücre içi Ca^{2+} seviyesinin $0.1 \mu\text{M}$ 'ye ulaşmasını sağlar. Hücre membranında bulunan çok düşük kondüktanslı kapasitatif Ca^{2+} kanalları retikulumdaki depoların boşalması halinde açılır ve depoların dolması için hücreye Ca^{2+} girişini artırır. Damar ve diğer düz kas hücrelerinde Ca^{2+} depolarizasyondan sorumlu katyondur; sinir ve çizgili kas hücrelerinde ise depolarizasyondan sorumlu esas katyon Na^+ dir. Myokard hücrelerinin depolarizasyonunda hem Ca^{2+} hem de Na^+ iyonları rol oynar; aksiyon potansiyelinin faz O'dan Na^+ , plato fazından Ca^{2+} sorumludur. Depolarizasyondan sorumlu içe yönelik kalsiyum akımında baryum ve strontium iyonları kalsiyumun yerini tutabilir; mangan ve kadmiyum ise kalsiyum kanallarını bloke eder. Hücre içine dışardan giren Ca^{2+} , sarkoplazmik retikulumdaki depodan ve stoplazma membranının içyüzüne bağlı kalsiyum havuzundan kalsiyum salınımına neden olur. Sitoplazmada artan Ca^{2+} seviyesiyle kontraksiyon mekanizması aktive olur. Hücre istirahata geçerken $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPaz pompası, Ca^{2+} -ATPaz pompası devreye girer. Çizgili kaslarda Ca^{2+} -ATPaz pompasının rolü önemlidir.

Hücre içine Ca^{2+} girişine neden olan Ca^{2+} kanallarının iki şekli bulunmaktadır.

1- Voltaja-bağımlı kalsiyum kanalları: Hücre depolarizasyonu sırasında membran potansiyeli -50 -40 mV düzeyine erişince bu kanallar yavaşça açılır. Aktive edilmesi için erişilmesi gereken transmembranal voltaj eşliğinin değeri, kanal kondüktansının büyüklüğü ve inaktivasyon hızları gibi biyofizik özellikleri ve çeşitli kimyasalların blokajına duyarlılıklarına göre iki gruba ayrılmaktadır. i. Düşük voltajla aktive edilen kalsiyum kanalları; bu grupta T (transient) kalsiyum kanalları bulunmaktadır. Bu kanalların açılması için, membranın en fazla -70 mV gibi düşük bir eşik düzeye yükseltilmesi yeterlidir. En hızlı açılıp kapanan Ca^{2+} kanallardır⁴⁷. Bu tip kanallar birçok dokuda (kalp dokusu, düz kas hücreleri ve nöronlar) tempocu, ateşleyici aktivite için önemlidir⁵⁹. T-tipi kanallar dihidropiridin (DHP) derivelerine rezistanstır ve amiloridle bloke edilebilmektedir. Kobay portal veninde ve sıçan sensor nöronlarında DHP derivelerine duyarlı T-tipi kanalların olduğu gösterilmiştir⁶⁰.

ii. Yüksek voltajla aktive edilen kalsiyum kanalları; L-tipi, N-tipi, P-tipi, R-tipi ve Q-tipi kanallardır. N-tipi kanallar santral ve periferik sinir sisteminde akson uçlarında yerleşmiş olan ve bu uçlardan Ca^{2+} girişini sağlayarak nörotransmitter salınışına neden olan kanallardır⁴⁷. Bu kanallar voltajla aktive edilmelerine rağmen, bazı N-tipi kanallar G proteini gibi reseptör bağlantılı ikinci ulak sistemleri tarafından da modüle edilebilirler⁶¹. P-tipi kanalar yerleşme yerleri ve fonksiyonları açısından N-tipi kanallara benzerler. Ayrıca P-tipi kanallar memeli çizgili kaslarında motor sinir uçlarında ve adrenal medulla kromofin hücrelerinde de bulunurlar. N-tipi kanallar omega-konotoksin-GVIA ile spesifik olarak bloke edilirken, P-tipi kanallar omega-agatoksin-IVA ile bloklanmaktadır⁴⁷. Omega-konotoksin aynı zamanda nöronal L tipi kanallarını da bloklamaktadır fakat kas tipi L kanallarına etkisizdir⁶². R-tipi ve Q-tipi kanallar esas olarak santral sinir sisteminde bulunmaktadırlar. L-tipi kanallar kardiyovasküler sistemin efektör hücrelerinin esas Ca^{2+} kanalını oluştururlar. Bu kanallar T-tipi kanallarla birlikte damar düz kaslarının, myokard ve kalbin iletim sistemi hücrelerinin ve tempo tutucu hücrelerinin dışardan giren Ca^{2+} ile aktive edilmesini sağlar. Bu kanalların aktivasyonu için hücre istirahat potansiyelinin 0 mV'a çıkması gerekir, bu potansiyel -10 mV'un aşağısına indiğinde kanallar inaktive olur. Bu kanallar beş alt birimden oluşan heterooligomerik bir proteindir. Bu alt birimler alfa₁ (α_1), alfa₂

(α_2), beta (β), gama (δ) ve delta (λ) alt birimleridir. Bütün alt birimlerin cDNA'sı yapılmış ve klonlanmıştır⁴⁷. Yapılan çalışmalarda α_1 alt-biriminin heterojen ailesine ait olduğu tespit edilmiştir. α_1 alt-biriminden kopyalanmış on alt birimi bulunmaktadır (α_{1S} , α_{1A} , α_{1B} , α_{1C} , α_{1D} , α_{1E} , α_{1F} , α_{1G} , α_{1H} ve α_{1I}), bunlar 1610-2424 amino asit diziliminden oluşmaktadır ve her biri altışar transmembranal segment içermektedir. Aminoasit ardışıkları Na^+ kanal protein dizilimlerine çok benzerlik göstermektedir. Bu on α_1 alt-birimin üç gruba ayrılmaktadır; 1-yüksek voltajla aktive olan dihidropiridine hassas kanallar (L-tip) da (α_{1S} , α_{1C} , α_{1D} , ve α_{1F}) 2- yüksek voltajla aktive olan dihidropiridine hassas olmayan kanallar (α_{1A} , α_{1B} , ve α_{1E}) 3- düşük voltajla aktive kanallar (T-tipi) (α_{1G} , α_{1H} ve α_{1I}) dir Bu alt-birimlerin her biri altı transmembranal domain (alan) içermektedir. Bu alt-birimlerin dokulardaki dağılım yoğunlukları da farklıdır. Örneğin; α_{1S} iskelet kasında, α_{1C} beyin, kardiyak ve düz kaslarda, α_{1B} ise sadece nöronal ve nörosekratuar dokularda bulunmaktadır. β alt-birimi ise 477-632 amino asit dizilimiyle dört alt birimden (β_1 , β_2 , β_3 ve β_4) oluşmaktadır. Hücre yüzeyinde lokalize olan β alt-biriminin, inaktivasyon proteinleri ile ve G-proteinlerle etkileşimi olduğu tespit edilmiştir. δ alt-birimi de 222 aminoasit diziliminden oluşmaktadır ve üç alt-birimi bulunmaktadır (δ_1 , δ_2 ve δ_3). İskelet kasında δ_1 alt-birimi yoğun olarak bulunurken, farelerde yapılan çalışmalarda δ_2 alt-biriminin daha hakim olduğu gösterilmiştir⁵⁹. Bu izoformların görevleri tam bilinmemekle beraber α alt-biriminin etkilerini modüle ettiği düşünülmektedir. L-tipi kanalların α_1 alt-biriminde, kanalın açılıp kapanmasını sağlayan ve genellikle olumsuz yönde etkileyen (kapanma şeklinde) en az dört sterioselektif bağlanma yeri vardır. Bunlar 1,4-dihidropiridin (nifedipin), fenilalkil amin (verapamil), benzotiazepin (diltiazem) ve tetrolol (mifebradil) bağlanma yerleri veya reseptörleridir. BAYK 8644 de dihidropiridin reseptörüne bağlanır fakat reseptörün açılmasına neden olur. L-tipi kanallar inaktivasyon süresi uzun olan kanallardır. Bu kanalları etkileyen antagonist ilaçlar diğer kanal tiplerine etkisizdirler. Kanal tiplerinin ilaçlara olan duyarlılığı farklıdır, ayrıca aynı tipin alt-tipleri arasında da farklılık vardır. Örneğin, dihidropiridin türevi ilaçlara sadece L-tipi kanallar duyarlıdır. Çizgili kas hücre membranının triad noktalarında yoğun şekilde bulunan kanallar, kanal görevi görmeyip voltaj sensörü gibi davrandıkları için bu grup ilaçtan etkilenmezler⁴⁷. Ca^{2+} 'nın hücre içine girişinin artması bazı dokularda L-tipi akımı inhibe eder oysa köpek ventrikül ve purkinje hücrelerinde T-tipi akımları

artırır. Hücre içine giren kalsiyumun inhibisyonuyla, sitoplazmik faktörlerin veya inhibitör etkide değişen kanal, membran, hücre iskelet yapısının değişmesi, lipid bariyerde bulunan L-tipi kanalların yeniden yapılanmasına neden olur⁶². Kalsiyum kanalları üç kinetik durumda bulunurlar; “açık” (aktive edilmiş), “istirahat” (kapalı fakat aktive edilebilir) ve “inaktive” (açık, fakat Ca^{2+} 'nın geçmesine elverişli değil) durumlarıdır. Bu durumlar arasında membran potansiyeli ve uyarının frekansına bağlı bir denge vardır. Kanal blokörü olan ilaçlar hücre istirahat halindeyken reseptöre bağlanmazlar ancak hücre depolarize olduktan sonra yani kanal açıldıktan sonra bağlanırlar. Bu nedenle bloğun derecesi kullanıma veya frekansa-bağımlı olarak artar⁴⁷.

2- Reseptöre Bağlı Ca^+ kanalları;

Ligand kapılı Ca^{2+} kanalları iki gruba ayrılmıştır; i. Reseptör aracılı kanallar. ii. İkincil haberci aracılı kanallar. Bu tip kalsiyum kanalları hücre membranında bir reseptörle kenetlenmiş bulunan ve reseptörün kendine uyan agonist madde molekülleri tarafından aktivasyonu sonucu açılan kanallardır. Kalsiyum ve sodyum kanalları bu grup içinde yer almaktadır. Voltaja bağlı kanalların aksine yüksek konsantrasyonda K^+ ile in vitro depolarizasyon yapılmış hücrelerde açık duruma geçemezler. Kalsiyum antagonistleri bu tip kanalları, voltaja bağlı kanallarda olduğu gibi güçlü bir şekilde bloke edemezler⁶³. Reseptör aracılı kanallar uyarılabilir hücrelerde bulunmaktadır, örneğin glutamatla aktive olan kanallar vertebra nöronlarında veya ATP ile aktive olan kanallar düz kas, kadiyak ve çizgili kasta, ekzokrin hücrelerde, makrofajlarda bulunurlar. İkincil haberci aracılı kanallar intraselüler etkili habercilerle açılırlar. Aktivatör veya modülatörleri; G-protein, protein kinaz, IP_3 ve bunun indirgenen ürünleridir. Ca^{2+} kanallarının aktivasyonu intraselüler Ca^{2+} depolarının dolmasıyla yakından ilgilidir⁶³.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylede Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 25-30 g ağırlığında Swiss Albino türü her iki cinsten fareler kullanıldı. Fareler servikal dislokasyonla öldürüldükten sonra torakal bölge açılarak özofagus dokusu izole edildi. Doku oda sıcaklığında içinde modifiye Krebs solüsyonu (mM kompozisyon: NaCl 115.5, KCl 4.16, CaCl₂ 2.5, MgSO₄ 1.16, NaHCO₃ 21.9, NaH₂PO₄ 1.16, glukoz 11.1) bulunan bir petriye alındı, çevre dokulardan temizlendi. Üst özofageal sfinkterin alt kısmı ve gastroözofageal sfinkterin üst kısmı enine bir kesitle uzaklaştırıldı. Kalan 1-1.5 cm boyutlarındaki özofagus dokusu longitudinal bir kesile şerit haline getirildi ve mukozası sıyrıldı. Krebs solüsyonu içeren 5 ml hacimli organ banyosu içerisine asıldı ve dokuya 0.25 g tansiyon uygulandı. Banyo ortamı %95 O₂ + %5 CO₂ ile sürekli olarak gazlandırıldı. Krebs solüsyonunun pH'si 7.4'de ve ortam sıcaklığı 37 °C'de sabit tutuldu. Dokunun dengelenmesi için 1 saat beklendi ve 30. dakikada doku taze Krebs solüsyonu ile yıkandı. Cevaplar izotonik transdüsrıla (Ugo Basile, 7006) 30 büyütme ile poligraf (Ugo Basile, Gemini 7070) üzerine kaydedildi.

3.1. Kontrol Deneyleleri

Dokunun bir saatlik dengelenme periyodundan sonra, poligraf yürütülerek dokunun temel tonusu 2 dk yazdırıldı. Banyo ortamına nonspesifik nikotinic ve muskarinic reseptör agonisti olan karbakol¹ (CCh, 2x10⁻⁴ M) ilave edilerek, daha önceki çalışmalarda çizgili kas dokusu olduğu gösterilen⁶⁴ preparat kastırıldı. Kasılma 30 sn gözlemlendikten sonra doku Krebs solüsyonu ile yıkandı, 45 dk'lık dinlenim süresinden sonra yeniden CCh ilavesi yapılarak kastırıldı. Her uygulamadan sonra preparat Krebs solüsyonuyla yıkanarak, yukarıdaki protokole uygun şekilde iki kez daha CCh uygulaması yapıldı. Böylece CCh'ye bağlı dört kasılma cevabı elde edilerek, CCh kontrol cevapları oluşturuldu.

3.1.1. Kadmiyum Varlığında Yapılan Kontrol Deneyleri

Preparatın 1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra, poligraf yürütülerek dokunun temel tonusu 2 dk yazdırıldı. Banyo ortamına CCh ilave edilerek, preparat kastırıldı. Doku, Ca^{2+} kanal antagonisti ve tiyol bağlayan bir kimyasal ajan olan kadmiyum¹⁰ (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren Krebs solüsyonu ile yıkandı. Preparat bu ortamda 45 dk'lık dinlenme süresinden sonra tekrar CCh ilavesiyle kastırıldı. Her uygulamadan sonra doku Cd^{2+} içeren Krebs solüsyonuyla yıkanarak, yukarıdaki protokole uygun şekilde iki kez daha CCh uygulaması yapıldı. Bu şekilde Cd^{2+} kontrol cevapları oluşturuldu.

3.1.2. Nikel Varlığında Yapılan Deneyler

Bu deney grubunda; bir saatlik inkübasyon periyodundan sonra, banyo ortamına CCh ilave edilerek, preparat kastırıldı. Kasılma 30 sn gözlendikten sonra doku, kadmiyum gibi iki değerlikli bir katyon olan nikel (Ni^{2+} , 4×10^{-5} M) içeren Krebs solüsyonu ile yıkandı. Doku bu ortamda 45 dk'lık inkübasyon süresinden sonra yeniden CCh ilavesiyle kastırıldı. Her uygulamadan sonra doku nikel içeren Krebs solüsyonuyla yıkanarak, 45 dk aralarla yukarıdaki protokole uygun şekilde iki kez daha CCh uygulaması yapıldı.

3.2. Kolinerjik Mekanizmayı Etkileyen İlaçların Kullanıldığı Deneyler

Bu deney gruplarında; doku 1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Preparat, fizostigmin (5×10^{-7} M), d-tubokürarin (d-Tc, 10^{-6} M), veya heksametonyum (Hx, 3×10^{-4} M) içeren Krebs solüsyonuyla yıkandı ve 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra bu ortamda 45 dk aralarla üç kez karbakol cevabı tekrarlandı. Her kimyasal ajan için ayrı deney grupları oluşturuldu.

3.2.1. Kadmiyum Varlığında Kolinjerjik Mekanizmayı Etkileyen İlaçların Kullanıldığı Deneyler

Bu deney grubunda; doku 1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı, kasılma cevabı 30 sn izlendikten sonra doku kadmiyum ve fizostigmin (5×10^{-7} M), d-tubokürarin (10^{-6} M) içeren Krebs solüsyonuyla yıkandı ve 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra bu ortamda 45 dk aralarla üç kez CCh cevabı elde edildi. Her kimyasal ajan için ayrı deney grupları oluşturuldu.

3.3. Kalsiyum Kanalını Etkileyen İlaçların Kullanıldığı ve Kalsiyum İyon Konsantrasyonunun Değiştirildiği Deneyler

Bu deney gruplarında; preparat 1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Doku verapamil (10^{-6} , 10^{-5} M) veya nifedipin (10^{-6} , 10^{-5} M) içeren Krebs solüsyonu ile 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra ilaçlı ortamda bekletilen preparattan 45 dk aralarla üç kez karbakol cevabı elde edildi. Her kimyasal ajan ve konsantrasyon için ayrı deney grupları oluşturuldu.

Bir diğer deney grubunda; Krebs solüsyonundaki Ca^{2+} iyon konsantrasyonu değiştirilerek, dokuda CCh uygulamasına bağlı kasılma cevapları oluşturuldu. Kalsiyumsuz ve Ca^{2+} iyonu bağlayan bir ajan olan etilen glikol-bis(β -aminoetil eter)-N,N,N,N-tetra-asetik asid (EGTA, 2×10^{-3} , 10^{-2} M) içeren Krebs solüsyonunda 45 dk inkübe edilen preparattan, yukarıdaki protokole uygun olarak CCh kasılma cevapları elde edildi. Farklı deney gruplarında ise Krebs solüsyonundaki Ca^{2+} iyon konsantrasyonu (1.25, 1.875, 5 ve 7.5 mM) değiştirilerek yukarıdaki protokole uygun deneyler yapıldı. Her kimyasal ajan ve konsantrasyon için ayrı deney grupları oluşturuldu.

3.3.1. Kadmiyumlu Ortamda Kalsiyum Kanalını Etkileyen İlaçların Kullanıldığı ve Kalsiyum İyon Konsantrasyonunun Değiştirildiği Deneyler

Bu deney grubunda; doku 1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı, preparat verapamil (10^{-6} , 10^{-5} M) veya nifedipin (10^{-6} , 10^{-5} M) içeren kadmiyumlu Krebs solüsyonuyla yıkandı, 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra ilaçlı ortamda 45 dk aralarla üç kez CCh cevabı elde edildi. Her kimyasal ajan ve konsantrasyon için ayrı deney grupları oluşturuldu.

Bir diğer deney grubunda; Krebs solüsyonuna kadmiyum eklenmesine ilave olarak Ca^{2+} iyon konsantrasyonu değiştirildi. Doku Krebs solüsyonundaki 1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı, preparat kadmiyumlu Krebs deki Ca^{2+} iyon oranının (1.25, 1.875, 5 ve 7.5 mM) değiştirildiği solüsyonda bekletilerek, 45 dk aralarla üç kez CCh cevabı elde edildi.

Farklı deney grubunda ise; ilk CCh cevabı alındıktan sonra preparat EGTA'lı (2×10^{-3} , 10^{-2} M) ve Ca^{2+} 'suz Krebs içeren ortama alınıp 45 dk bekletildi. Ardından EGTA uzaklaştırıldı, kadmiyumlu Ca^{2+} 'suz Krebs içeren ortamda tekrar 45 dk beklendi. Bu ortamda 45 dk arayla üç kez CCh uygulaması yapıldı.

3.4. Ca^{2+} -ATPaz Enzim Sistemini Etkileyen İlaçla Yapılan Deneyler

Bu deney grubunda; doku 1 saatlik inkübasyon periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Preparat siklopiyazonik asit (CPA, 10^{-5} M) ilave edilmiş Krebs solüsyonuyla yıkandı ve 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra ilaçlı ortamda 45 dk aralarla üç kez karbakol cevabı elde edildi.

3.4.1. Kadmiyumlu Ortamda Ca^{2+} -ATPaz Enzim Sistemini Etkileyen İlaçla Yapılan Deneyler

Bir diğer deney grubunda; doku 1 saatlik dengelenme periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Preparat kadmiyum ve siklopiyazonik asid (10^{-5} M) içeren Krebs solüsyonuyla yıkandı. 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra bu ortamda 45 dk aralarla üç kez karbakol cevabı elde edildi.

3.5 Tiyol Metabolizmasını Etkileyen İlaçlarla Yapılan Deneyler.

Bu deney gruplarında; doku 1 saatlik dengelenme periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Preparat, l-sistein (l-Cys, 10^{-4} , 5×10^{-4} M), glutatyon (GSH, 10^{-3} M), etakrinik asid (EA, 10^{-4} M), diamid (10^{-5} M) içeren Krebs solüsyonuyla yıkandı ve 45 dakika inkübe edildi. Ardından ilaçlı ortamda 45 dk aralarla üç kez karbakol cevabı tekrarlandı. Her kimyasal ajan ve konsantrasyon için ayrı deney grupları oluşturuldu.

3.5.1. Kadmiyumlu Ortamda Tiyol Metabolizmasını Etkileyen İlaçlarla Yapılan Deneyler.

Bu deney grubunda; doku 1 saatlik dengelenme periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Preparat l-sistein (10^{-4} , 5×10^{-4} M), glutatyon (10^{-3} M), etakrinik asid (10^{-4} M), diamid (10^{-5} M) içeren kadmiyumlu Krebs solüsyonuyla yıkandı, 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra ilaçlı ortamda 45 dk aralarla üç kez karbakol cevabı tekrarlandı. Her kimyasal ajan ve konsantrasyon için ayrı gruplar oluşturuldu.

3.6. Kasılma Kenetini Etkileyen İlaç Varlığında Yapılan Deneyler.

Bu deney grubunda; doku 1 saatlik dengelenme periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Preparat trifluoperazin (10^{-7} M) içeren Krebs solüsyonuyla yıkandı, 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra ilaçlı ortamdaki dokuya 45 dk aralarla üç kez karbakol uygulaması yapıldı.

3.6.1. Kadmiyumlu Ortamda Kasılma Kenetini Etkileyen İlaç Varlığında Yapılan Deneyler

Bu deney grubunda; doku 1 saatlik dengelenme periyodundan sonra, CCh uygulamasıyla kastırıldı. Preparat kadmiyum ve trifluoperazin (10^{-7} M) içeren Krebs

solüsyonuyla yıkandı, 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyon döneminden sonra ilaçlı ortamda 45 dk aralarla üç kez karbakol cevabı elde edildi.

3.7. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Her bir karbakol kasılması mm olarak ölçüldü. İkinci, üçüncü ve dördüncü, kasılmaların birinci kasılmaya oranlanmasıyla elde edilen değerler (toplam üç ayrı değer), birinci kasılmanın yüzdesi olarak ifade edildi. Şöyle ki;

$$\text{Yüzde (\%)} \text{ Kasılma}_1 = \frac{\text{CCh Kasılma}_2}{\text{CCh Kasılma}_1} \times 100$$

$$\text{Yüzde (\%)} \text{ Kasılma}_2 = \frac{\text{CCh Kasılma}_3}{\text{CCh Kasılma}_1} \times 100$$

$$\text{Yüzde (\%)} \text{ Kasılma}_3 = \frac{\text{CCh Kasılma}_4}{\text{CCh Kasılma}_1} \times 100$$

Bu şekilde her bir deney grubundan üç ayrı yüzde kasılma cevabı elde edildi. Bu değerlerden elde edilen ortalamalar hem kendi içlerinde hem de diğer deney

gruplarında, sıralamada kendilerine karşılık gelen yüzde kasılma cevaplarıyla karşılaştırıldı. Tüm değerler tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) ile değerlendirildi. Varyanslar homojen, grup sayısı ikiden fazla olduğu için, çoklu gruplar arası karşılaştırma Bonferroni-t testine göre yapıldı. 0.05'den küçük *P* değerleri anlamlı olarak kabul edildi. Bütün veriler, ortalama ± SEM olarak ifade edildi.

3.8. Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonların Hazırlanması

Deneyleerde kullanılan aktif maddelerin tümü SIGMA firmasından temin edildi. Deneyleerde kullanılan ilaçlar; Karbamilkolin klorür (Karbakol; CCh), kadmiyum klorür (Cd^{2+}), nikel klorür (Ni^{2+}), fizostigmin, d-tubokürarin klorür (d-Tc), heksametonyum bromür (Hx), l-sistein (l-Cys), etakrinik asid (EA), glutatyon (GSH), diamid, verapamil, nifedipin, trifluoperazin dihidroklorür, siklopiyazonik asit (CPA), Etilen glikol-bis(β -aminoetil eter)-N,N,N,N-tetra-asetik asit (EGTA) dır. Kadmiyum, nikel, d-tubokürarin klorür, EA, EGTA Krebs solüsyonunda çözülerek kullanıldı. Karbakol, fizostigmin, heksametonyum, l-sistein, glutatyon, diamid, trifluoperazin, distile suda çözünerek, 5 ml'lik banyo ortamına doğrudan verildi. Karbakol, ve diamidin stok solüsyonları buzdolabında saklandı, kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirilerek çözüldü. Siklopiyazonik asidin, dimetilsülfoksit içerisinde, nifedipin ve verapamilin ise etanol içerisinde stok solüsyonları hazırlandı.

Krebs solüsyonunda Ca^{2+} iyon konsantrasyonu azaltılırken veya artırılırken, bu değerlere karşılık gelecek şekilde NaCl miktarı osmolalite esasına göre artırıldı veya azaltıldı.

4.BULGULAR

4.1. Kontrol Deneyleri

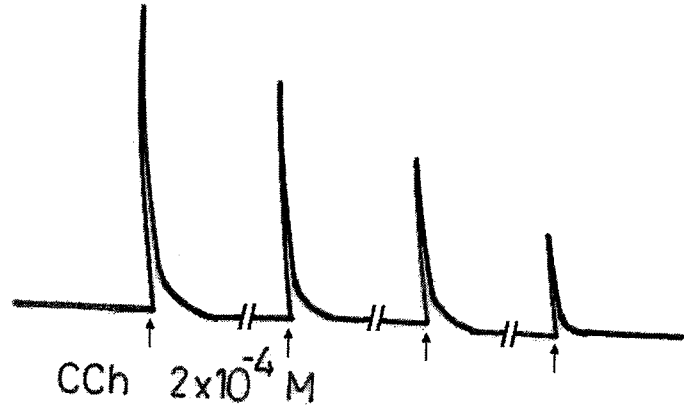
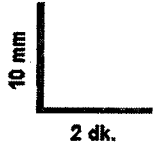
İzole fare özofagus çizgili kas dokusuna, nonspesifik nikotinic ve muskarinic reseptör agonisti olan karbakol (2×10^{-4} M) uygulandığında, uygulama sayısına bağlı olarak azalan kasılma yanıtları elde edildi. Yapılan ölçümler sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 58.3 ± 8.4 , 40.7 ± 6.0 , 31.1 ± 6.7 idi. Her CCh uygulamasında dokunun kasılma boyunda azalma olduğu gözlenmekle birlikte, sadece dördüncü kasılma ile ikinci kasılma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi (Şekil-1A, Şekil-2, $P < 0.05$, $n=8$).

4.1.1 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Cd^{2+} İyonunun Etkisi

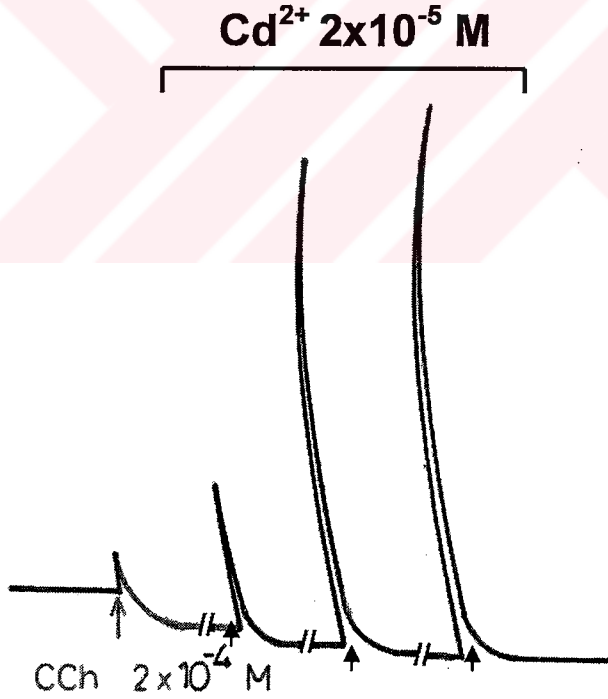
İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama bir Ca^{2+} kanal antagonisti ve tiyol bağlayıcı kimyasal ilaç olan Cd^{2+} (2×10^{-5} M) eklenmesi, kasılma cevaplarında CCh kontrol kasılmalarına göre zamana bağlı olarak artışa neden oldu. Yapılan ölçümler sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 176.1 ± 38.0 , 485.1 ± 80.7 , 707.4 ± 55.3 idi. Ayrıca bu sonuçlara göre ikinci ile üçüncü uygulama arasında ve üçüncü ile dördüncü uygulama arasında anlamlı bir artış olduğu belirlendi (Şekil-1B, Şekil-2, $P < 0.05$, $n=8$).

4.1.2 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Ni^{2+} İyonunun Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama iki değerlikli bir katyon olan Ni^{2+} (4×10^{-5} M) eklenmesi, kasılma cevaplarında anlamlı bir değişmeye neden olmadı. Yapılan ölçümler sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 232.4 ± 98.3 , 150.5 ± 46.8 , 205.2 ± 73.3 idi. Elde ettiğimiz bu sonuçlara göre, Cd^{2+} gibi iki değerlikli bir katyon olan Ni^{2+} kasılma cevaplarında Cd^{2+} 'ye benzer şekilde artışa neden olmadı (Şekil-1, $P < 0.05$, $n=5$).



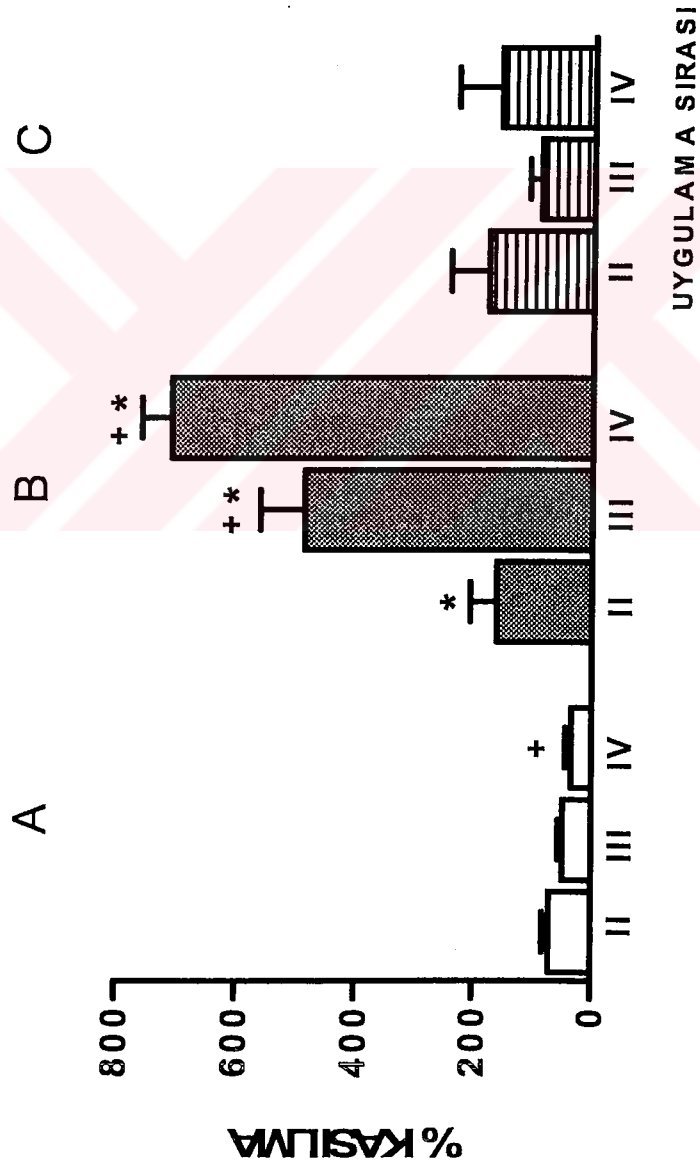
A.



B.

Şekil 1. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevaplarının (kontrol) (A), kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda CCh (2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevaplarının (B) trase örnekleri.

□ Kontrol
 ▨ $Cd^{2+} 2 \times 10^{-5} M$
 ▤ $Ni^{2+} 4 \times 10^{-5} M$



Şekil 2. İzole fare özofagus çizgili kasi üzerine; CCh $2 \times 10^{-4} M$ uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), $Cd^{2+} 2 \times 10^{-5} M$ içeren ortamda kasılma cevapları (B), Nikel (Ni^{2+} , $4 \times 10^{-5} M$) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. + grupların kendi içindeki anlamlılığını belirtmektedir. Veriler ortalama ± SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=8$).

4.2 Kolinerjik Mekanizmada Etkili Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.2.1 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Hekzametonyumun Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama bir presinaptik nikotinik reseptör blokörü olan hekzametonyumun (3×10^{-4} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 9.5 ± 1.4 , 18.3 ± 4.0 , 22.6 ± 6.4 idi. Kasılmalar kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark yok iken, CCh kontrol cevaplarıyla karşılaştırıldığında hekzametonyumlu ortamda elde edilen ikinci ve üçüncü kasılma değerlerinin, kontrolün ikinci ve üçüncü kasılma değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu tespit edildi (Şekil-3, $P < 0.05$, $n=5$).

4.2.2 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Fizostigminin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama bir kolinesteraz inhibitörü olan fizostigminin (5×10^{-7} M) eklenmesinden sonra elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 105.0 ± 29.4 , 88.4 ± 23.9 , 41.8 ± 11.5 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları kendi içinde ve CCh kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme gözlenmedi (Şekil-3, $P < 0.05$, $n=5$).

4.2.3 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Tubokürarinin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama bir postsinaptik nikotinik reseptör antagonisti olan d-tubokürarinin (10^{-7} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 24.3 ± 7.8 , 20.8 ± 3.5 , 14.1 ± 3.1 idi. Elde edilen bu değerler sonucunda kasılma cevapları kendi içinde karşılaştırıldığı zaman istatistiksel

olarak anlamlı bir değişme gözlenmedi. Fakat bu ortamda elde edilen ikinci ve üçüncü cevap, CCh kontrol grubundaki ikinci ve üçüncü cevapla karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi (Şekil-3, $P<0.05$, $n=5$).

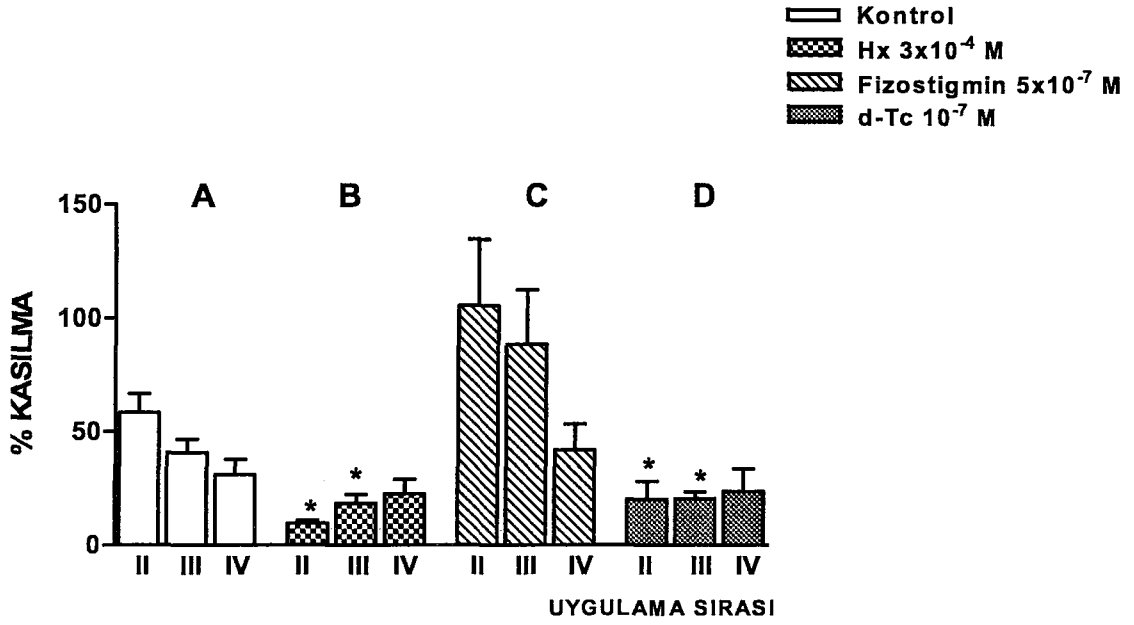
4.3 Kadmiyum ve Kolinerjik Mekanizmada Etkili Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.3.1 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Fizostigminin Etkisi

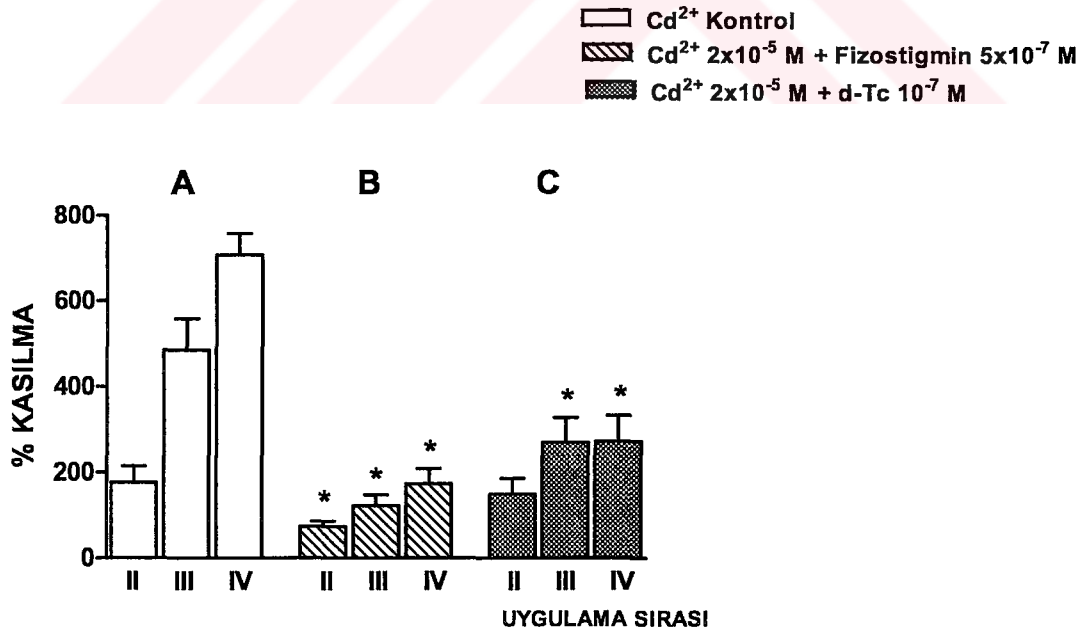
İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve fizostigminin (5×10^{-7} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 149.7 ± 36.9 , 269.9 ± 57.7 , 272.0 ± 61.3 idi. Bu sonuçlara göre kadmiyumlu ve fizostigminli ortamda elde edilen ikinci ve üçüncü kasılmalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu bulundu ($P<0.05$). Bu bulgular Cd^{2+} kontrol grubundaki bulgularla sırasıyla karşılaştırıldığında cevaplarda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gözlemlendi. Aynı zamanda bu grubun dördüncü kasılma cevabıyla, fizostigminli CCh yanıtlarının dördüncüsü kıyaslandığında, istatistiksel olarak artış olduğu tespit edildi (Şekil-4, $P<0.0001$, $n=5$).

4.3.2 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Tubokürarinin Etkisi



İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve d-tubokürarinin (10^{-7} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 73.7 ± 12.9 , 122.7 ± 24.8 , 172.8 ± 35.8 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları, Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla sırayla karşılaştırıldığında üçüncü ve dördüncü cevaplar arasında anlamlı azalma olduğu bulundu ($P<0.001$). Fakat d-tubokürarin içeren ortamdan elde edilen CCh cevaplarıyla sırasıyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olduğu belirlendi (Şekil-4, Şekil-5, $P<0.001$, $n=5$).

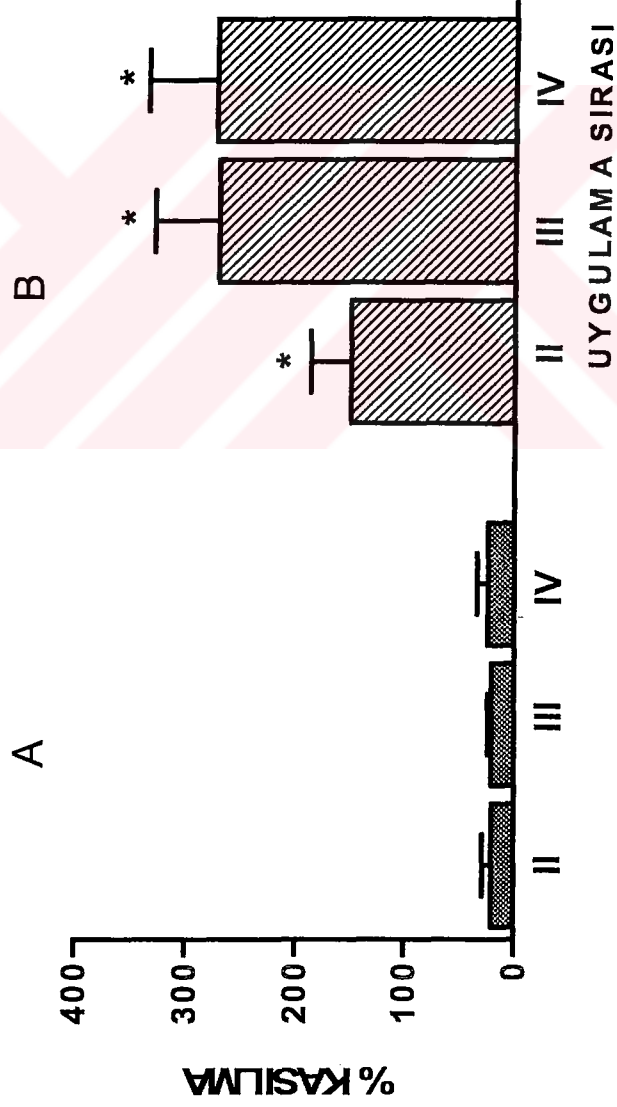


Şekil 3. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevaplarının (kontrol) (A), heksametonyum (Hx, 3×10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), fizostigmin (5×10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C), tubokürarin (d-Tc, 10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (D). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 4. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + fizostigmin (5×10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + d-Tc (10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$).

 d-Tc 10^{-7} M
 Cd^{2+} 2×10^{-5} M + d-Tc 10^{-7} M



Şekil 5. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine d-tubokürarin (d-Tc, 10^{-7} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (A), kadmium (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) + d-Tc (10^{-7} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * d-Tc 10^{-7} M içeren ortamdaki kasılma cevaplarına göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, n=5).

4.4 Kalsiyum Kanal Antagonisti Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.4.1 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Verapamilin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama voltaja bağlı L-tipi kalsiyum kanal antagonisti olan verapamilin (10^{-6} ve 10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçülmesi sonucunda sırasıyla, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri alındı, 10^{-6} M için kasılma ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 49.9 ± 5.2 , 47.6 ± 7.5 , 28.7 ± 6.2 idi. Bu bulgularla CCh kontrol kasılma cevapları karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık olmadığı bulundu. Son konsantrasyon 10^{-5} M için kasılma ortalama yüzde değerleri ise sırasıyla, 13.2 ± 4.4 , 9.8 ± 2.6 , 9.4 ± 2.8 idi. Bu değerlerle CCh kontrol kasılma cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi (Şekil-6, $P < 0.05$, $n=5$).

4.4.2 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Nifedipinin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama voltaja bağlı L-tipi kalsiyum kanal antagonisti olan nifedipinin (10^{-6} , 10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçülmesi sonucunda sırasıyla 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri alındı, 10^{-6} M konsantrasyon için sırasıyla, 41.4 ± 2.2 , 35.1 ± 6.1 , 22.6 ± 5.4 idi. Bu ortamda elde edilen kasılma cevaplarıyla CCh kontrol cevapları karşılaştırıldığında cevaplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmedi ($P < 0.001$). Bir diğer konsantrasyon olan 10^{-5} M için kasılma ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 22.8 ± 1.9 , 12.2 ± 2.8 , 6.7 ± 1.1 idi. Bu bulgularla CCh kontrol kasılma cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gözlemlendi (Şekil-8, $P < 0.05$, $n=5$).

4.5 Kadmiyum ve Kalsiyum Kanal Antagonisti Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.5.1 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Verapamilin Etkisi

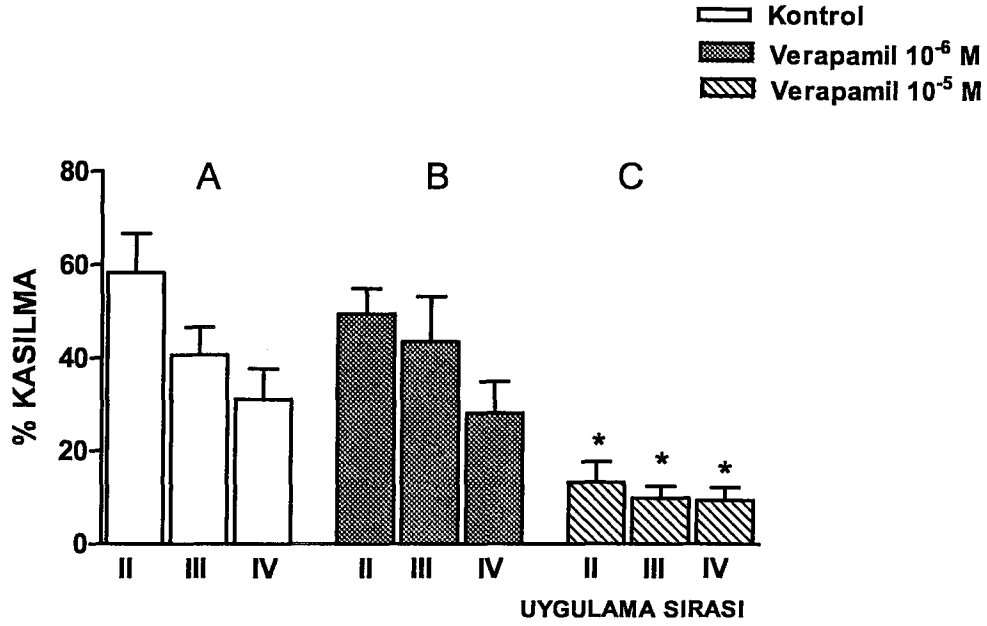
İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama kadmiyum (2×10^{-5} M) ve verapamilin (10^{-6} , 10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçülmesi sonucunda sırasıyla, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri alındı, 10^{-6} M için kasılma ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 73.1 ± 5.2 , 53.4 ± 8.8 , 80.4 ± 8.9 idi. Bu bulgular ile verapamilli ortamdan elde edilen CCh kasılma cevapları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak ikinci ve dördüncü kasılmalarda anlamlı artış olduğu belirlendi ($P < 0.05$). Fakat Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla karşılaştırıldığında tüm kasılma cevaplarında anlamlı olarak bir azalma olduğu bulundu ($P < 0.001$). Son konsantrasyon 10^{-5} M için kasılma ortalama yüzde değerleri ise sırasıyla, 13.6 ± 1.7 , 11.5 ± 1.6 , 8.2 ± 1.5 idi. Bu değerler ile verapamilli ortamdan elde edilen CCh kasılma cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme tespit edilemedi. Ancak Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla karşılaştırıldığında tüm kasılma cevaplarında anlamlı bir azalma olduğu belirlendi (Şekil-7, $P < 0.001$, $n=5$).

4.5.2 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Nifedipinin Etkisi

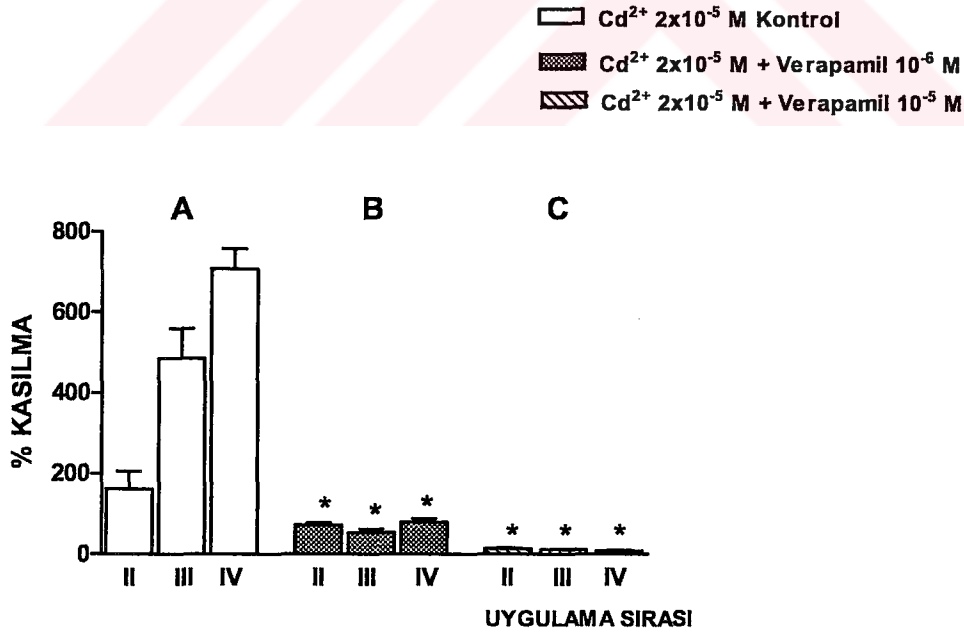
İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve nifedipinin (10^{-6} , 10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçülmesi sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri alındığında, 10^{-6} M konsantrasyon için sırasıyla, 34.3 ± 1.9 , 29.2 ± 7.0 , 19.3 ± 5.7 idi. Bu ortamda elde edilen kasılma cevaplarıyla nifedipinli ortamdan elde edilen CCh cevapları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme belirlenmedi. Bunun yanı sıra kadmiyum kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun şekilde karşılaştırıldığında, cevaplarda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gözlemlendi. Bir diğer konsantrasyon olan 10^{-5} M için kasılma ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 18.8 ± 1.0 , 11.6 ± 2.9 , 8.1 ± 1.1 idi. Bu bulgular ile nifedipinli ortamdan elde edilen CCh cevapları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişme olmadığı gözlemlendi.

($P < 0.05$). Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla karşılaştırıldığında da tüm kasılma cevaplarında anlamlı olarak bir azalma olduğu saptandı (Şekil-9, $P < 0.05$, $n=5$).

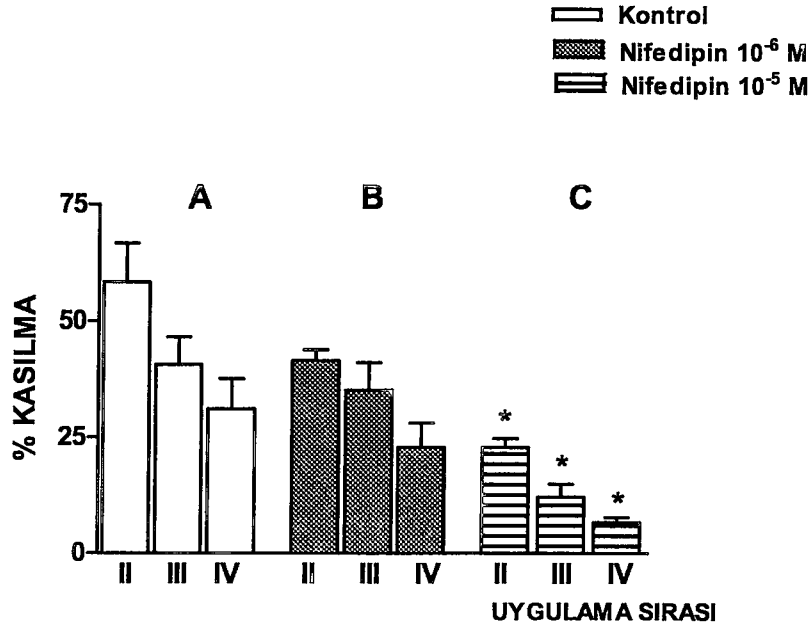




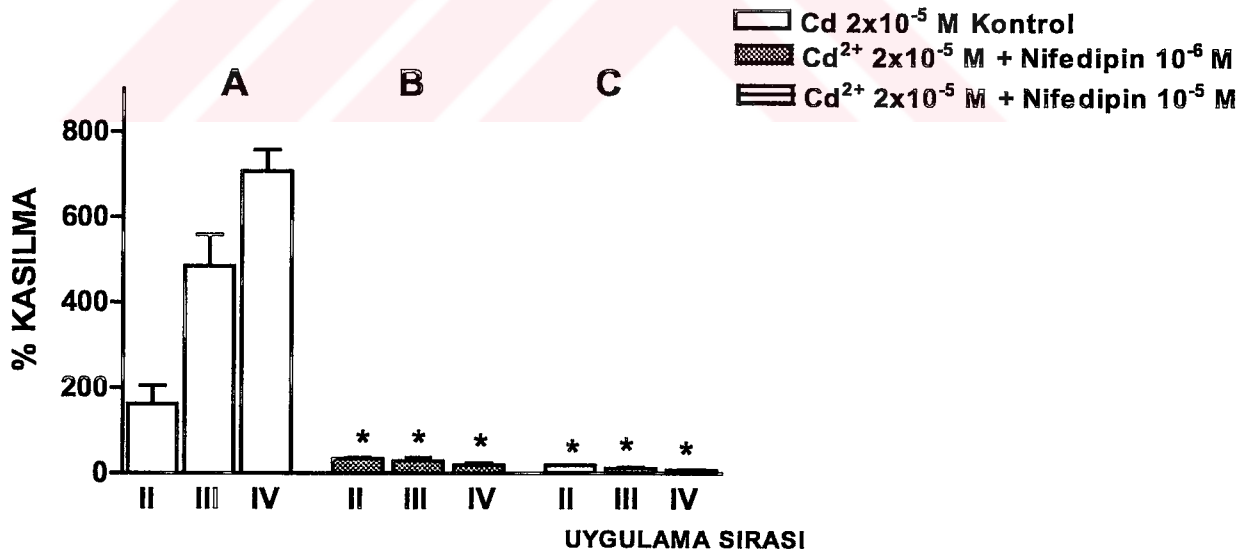
Şekil 6. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), verapamil (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), verapamil (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 7. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + verapamil (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + verapamil (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$).



Şekil 8. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol(CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), nifedipin (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), nifedipin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 9. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + nifedipin (10^{-6} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + nifedipin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).

4.6 Krebs Solüsyonundaki Farklı Kalsiyum Konsantrasyonlarının Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.6.1 Kalsiyumsuz ve EGTA'lı Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları

İlk CCh kasılma cevabından sonra kalsiyumsuz ve kalsiyum iyon bağlayıcı bir ilaç olan EGTA (2×10^{-3} , 10^{-2} M) içeren Krebs solüsyonlu ortamdan elde edilen CCh kasılma cevaplarında 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri alındı, 2×10^{-3} M EGTA'lı ortamdaki bulgular sırasıyla, 8.4 ± 1.7 , 8.0 ± 1.8 , 7.1 ± 2.1 idi. Bir diğer konsantrasyon olan 10^{-2} M için kasılma ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 6.0 ± 0.3 , 5.3 ± 0.5 , 3.0 ± 0.2 idi. Bu bulgular CCh kontrol kasılma cevapları ile sırasıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gözlemlendi (Şekil-10, $P < 0.01$, $n=5$).

4.6.2 Krebs Solüsyonunda Kalsiyum Konsantrasyonu 1.25 mM ve 1.875 mM iken Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları

İlk CCh kasılma cevabından sonra 1.25 mM ve 1.875 mM Ca^{2+} iyonu içeren Krebs solüsyonlu ortamda elde edilen 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri 1.25 mM için sırasıyla, 99.5 ± 20.1 , 85.9 ± 28.6 , 73.1 ± 37.7 iken 1.875 mM için, 100.5 ± 13.4 , 92.5 ± 8.8 , 89.7 ± 16.3 idi. Bu bulgularla CCh kontrol cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü ve dördüncü kasılmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil-12, $P < 0.001$, $n=5$).

4.6.3 Krebs Solüsyonunda Kalsiyum Konsantrasyonu 5 mM ve 7.5 mM iken Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları

İlk CCh kasılma cevabından sonra 5 mM ve 7.5 mM Ca^{2+} iyonu içeren Krebs solüsyonlu ortamdan elde edilen CCh kasılma cevaplarında 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri 5 mM için sırasıyla, 23.2 ± 8.1 , 12.7 ± 4.8 , 10.1 ± 1.9 iken 7.5 mM için 15.8 ± 3.7 , 10.6 ± 3.3 , 8.3 ± 2.1 idi. Bu bulgular ile CCh kontrol cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü ve dördüncü kasılmalarda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu bulundu (Şekil-14, $P < 0.001$, $n=5$).

4.7 Krebs Solüsyonundaki Farklı Kalsiyum Konsantrasyonlarının ve Kadmiyum İyonunun Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.7.1 Kalsiyumsuz, EGTA'lı ve Kadmiyumlu Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları

İlk CCh kasılma cevabından sonra Cd^{2+} 'li (2×10^{-5} M), kalsiyumsuz ve kalsiyum iyon bağlayıcı bir ilaç olan EGTA (2×10^{-3} , 10^{-2} M) içeren Krebs solüsyonlu ortamdan elde edilen CCh kasılma cevaplarında 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri alındığında 2×10^{-3} M EGTA'lı ortamdaki bulgular sırasıyla, 7.2 ± 1.6 , 5.9 ± 0.5 , 5.4 ± 0.4 idi. Bir diğer konsantrasyon olan 10^{-2} M için kasılma ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 4.7 ± 0.7 , 5.2 ± 0.6 , 4.7 ± 0.7 idi. Bu bulgular Cd^{2+} kontrol kasılma cevapları ile sırasıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu gözlemlendi (Şekil-11, $P < 0.001$, $n=5$).

4.7.2 Kadmiyum ve 1.25 mM Kalsiyum İçeren Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları

İlk CCh kasılma cevabından sonra Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve 1.25 mM Ca^{2+} iyonu içeren Krebs solüsyonlu ortamda elde edilen 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 1027.1 ± 254.4 , 2150.0 ± 286.9 , 3116.7 ± 888.6 idi. Bu bulgular ile Cd^{2+} kontrol cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü ve dördüncü kasılmalarda istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi (Şekil-13, $P < 0.001$, $n=5$).

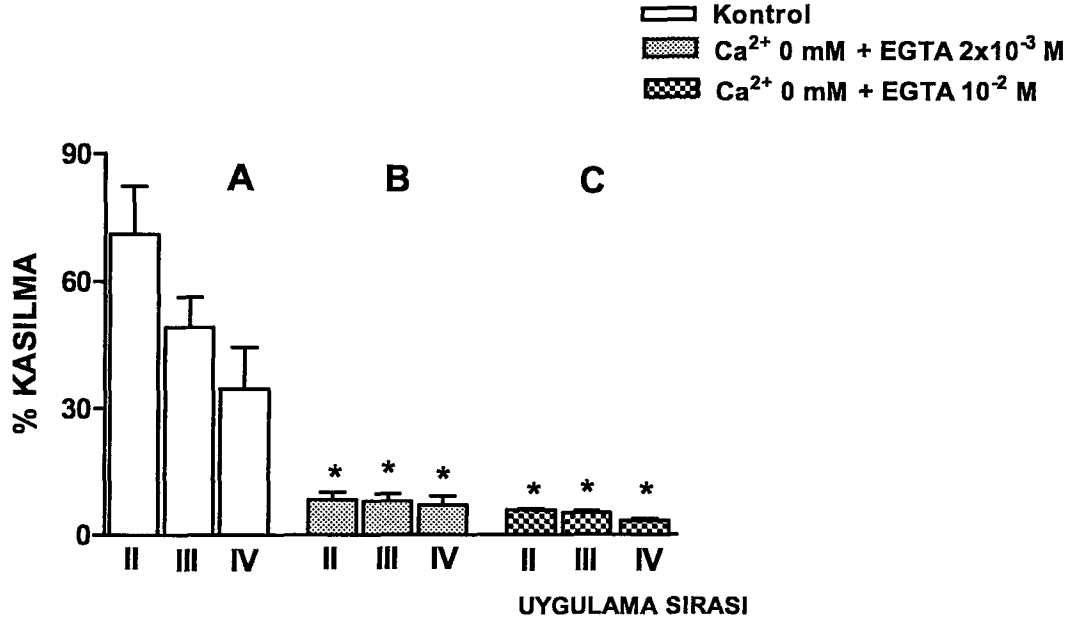
4.7.3 Kadmiyum ve 1.875 mM Kalsiyum İçeren Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları

İlk CCh kasılma cevabından sonra Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve 1.875 mM Ca^{2+} iyonu içeren Krebs solüsyonlu ortamda elde edilen 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 176.1 ± 38.0 , 707.4 ± 119.7 , 883.0 ± 190.4 idi. Bu

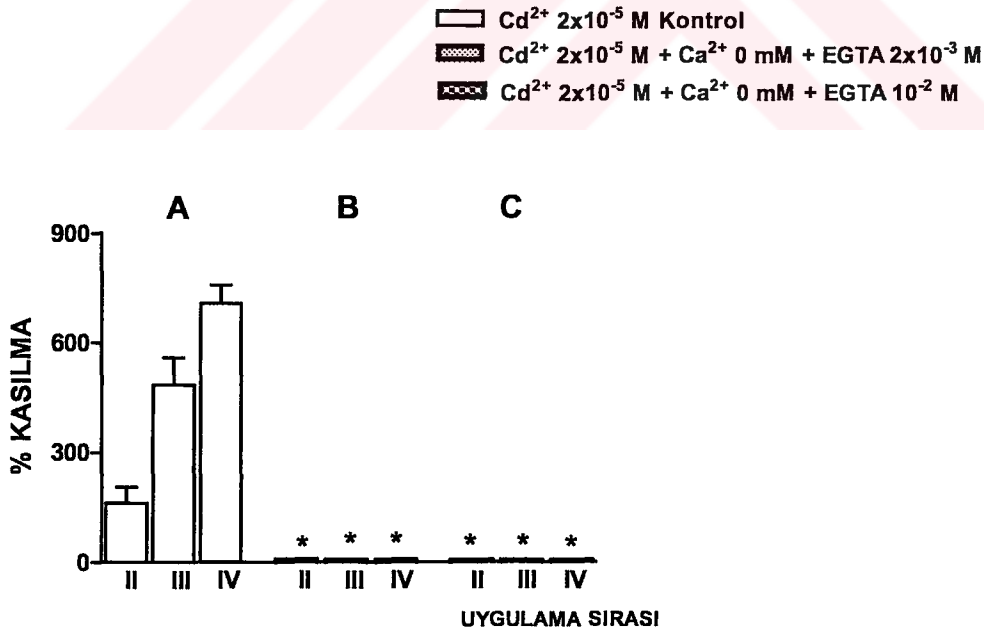
bulgular ile Cd^{2+} kontrol cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı gözlemlendi (Şekil-13, $P<0.05$, $n=5$).

4.7.4 Kadmiyum, 5 mM ve 7.5 mM Kalsiyum İçeren Krebs Solüsyonunda Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları

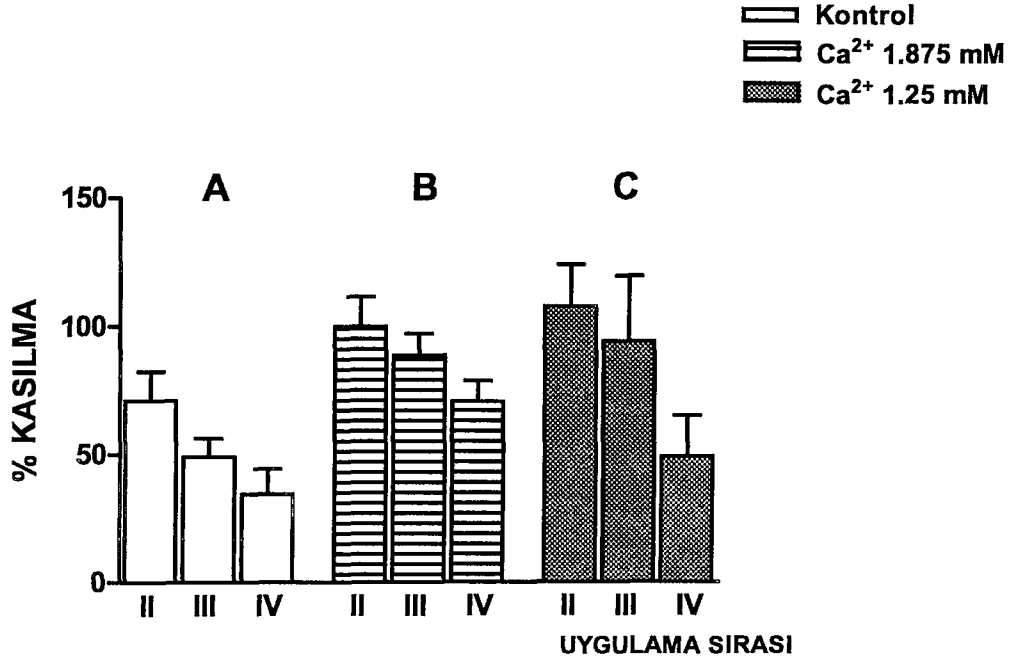
İlk CCh kasılma cevabından sonra Cd^{2+} (2×10^{-5} M), 5 mM ve 7.5 mM Ca^{2+} iyonu içeren Krebs solüsyonlu ortamda elde edilen 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri 5 mM için sırasıyla, 102.5 ± 32.6 , 277.6 ± 53.6 , 440.2 ± 81.1 iken 7.5 mM için 28.0 ± 11.8 , 39.6 ± 1.0 , 39.6 ± 8.1 idi. Bu bulgular ile Cd^{2+} kontrol cevapları sırasıyla karşılaştırıldığında ikinci cevaplarda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmezken, üçüncü ve dördüncü kasılmalarda anlamlı azalma olduğu bulundu. 5 mM da üçüncü cevap için anlamlılık $P<0.05$ iken, diğer cevaplarda $P<0.001$ idi. Cd^{2+} ve 5 mM Ca^{2+} konsantrasyonlu ortamdan elde edilen bulgular, 5 mM Ca^{2+} iyonlu ortamda ki CCh kasılma cevaplarıyla karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü ve dördüncü cevaplarda anlamlı artış olduğu bulundu ($P<0.05$). Cd^{2+} ve 7.5 mM Ca^{2+} konsantrasyonlu ortamdan elde edilen bulgular, 7.5 mM Ca^{2+} iyonlu ortamda ki CCh kasılma cevaplarıyla karşılaştırıldığında ise ikinci, üçüncü ve dördüncü cevaplarda anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. Cd^{2+} kontrol kasılmalarıyla karşılaştırıldığında anlamlı azalma saptandı. (Şekil-15, Şekil-16, $P<0.05$ $n=5$).



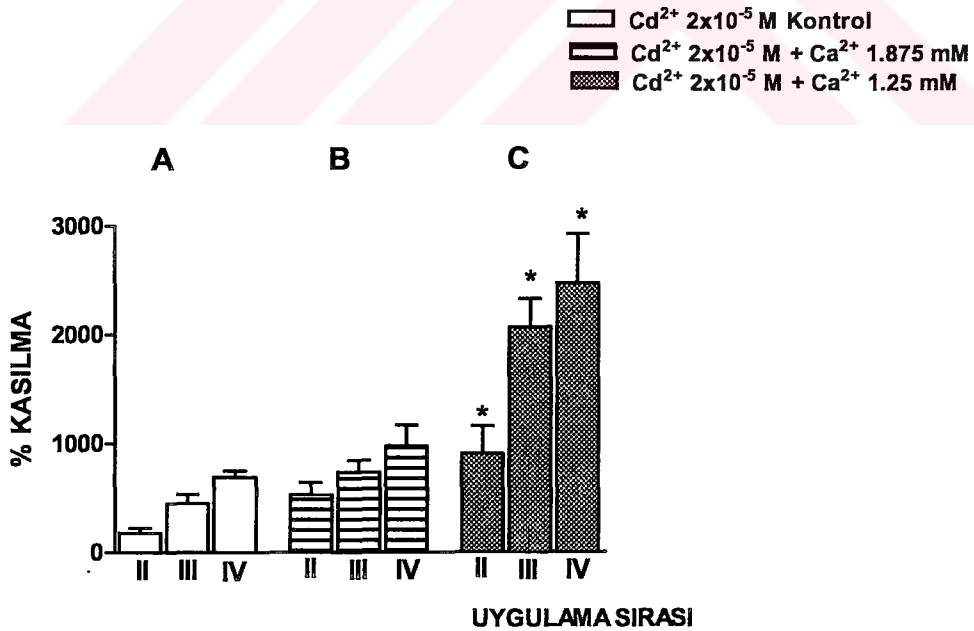
Şekil 10. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Ca^{2+} (0 mM) + EGTA (2×10^{-3} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Ca^{2+} (0 mM) + EGTA (10^{-2} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.01$, $n=5$).



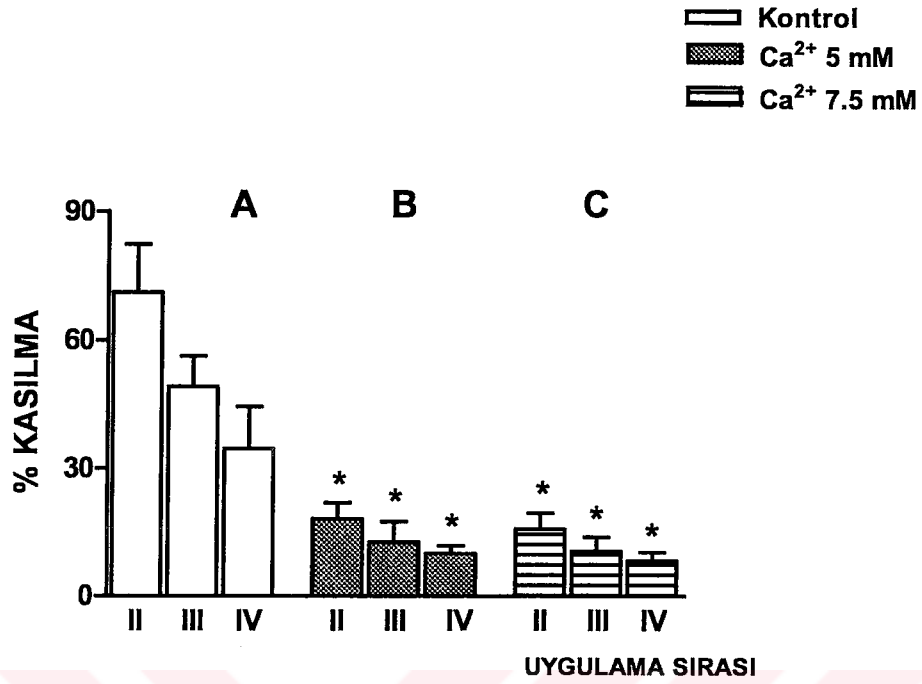
Şekil 11. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (0 mM) + EGTA (2×10^{-3} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (0 mM) + EGTA (10^{-2} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$).



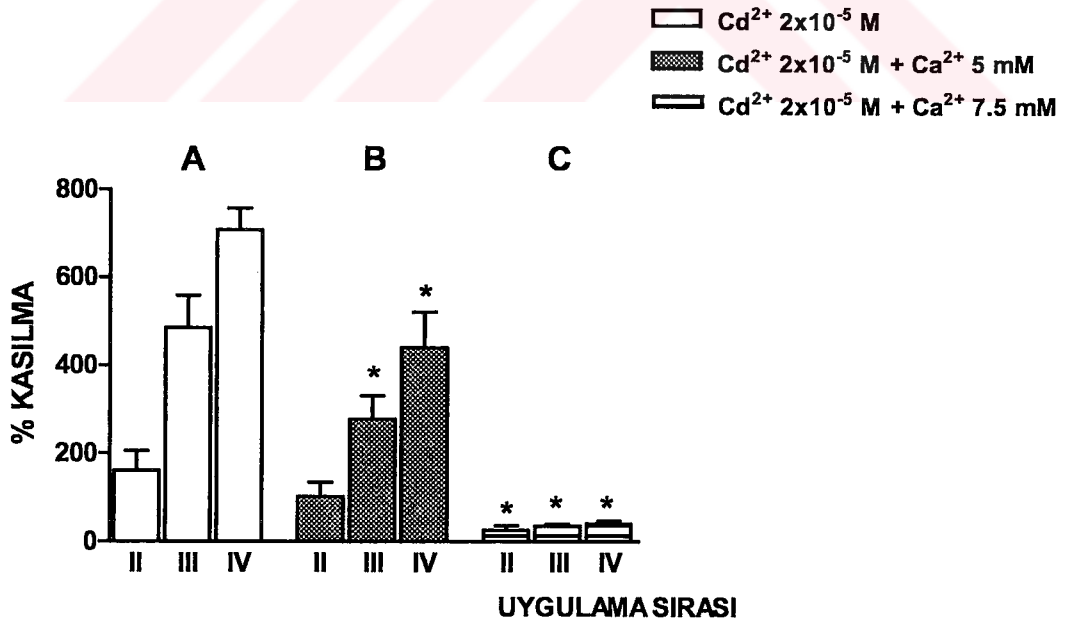
Şekil 12. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Ca^{2+} (1.875 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Ca^{2+} (1.25 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$).



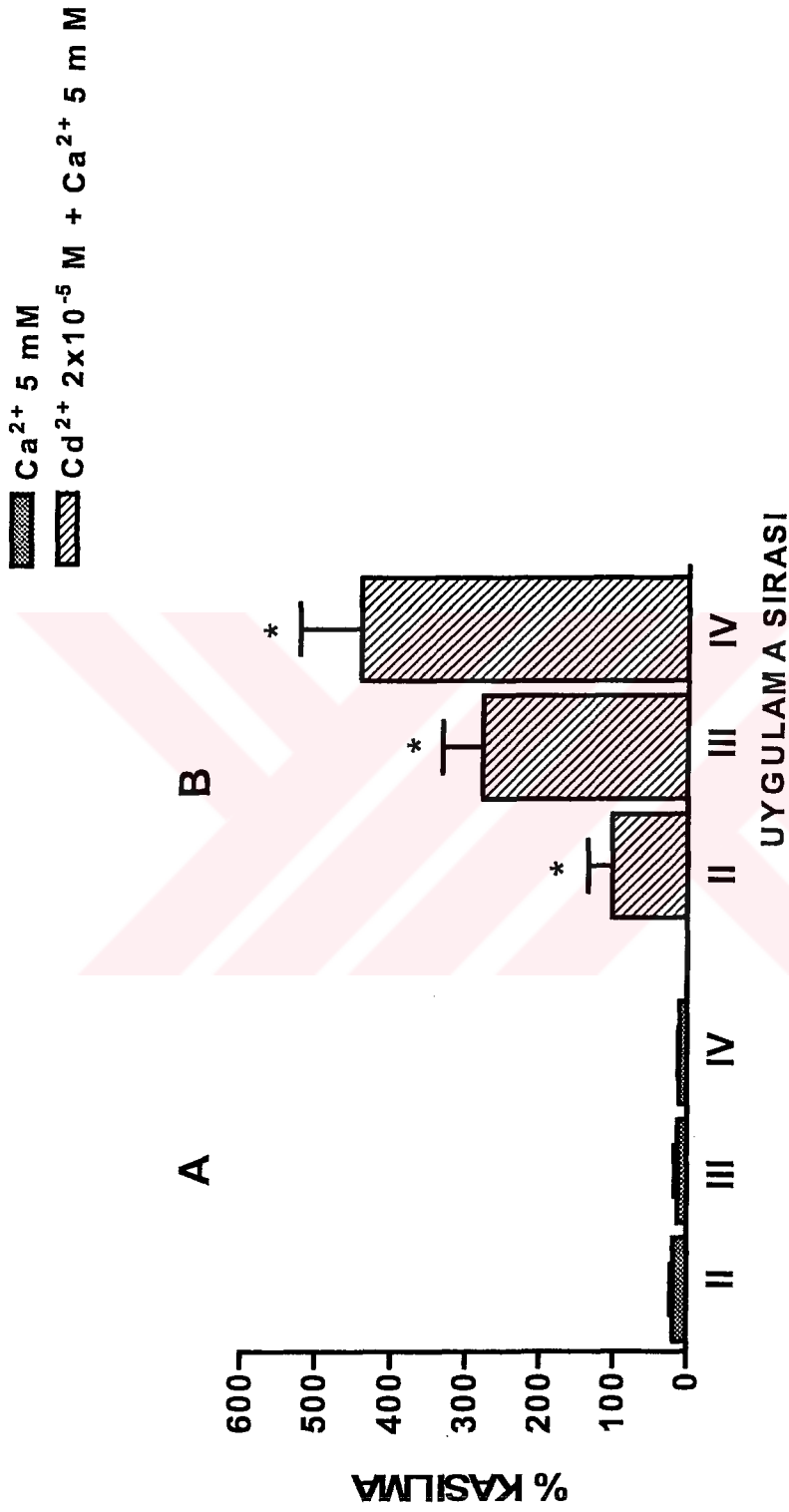
Şekil 13. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (1.875 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + Ca^{2+} (1.25 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 14. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Ca²⁺ (5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Ca²⁺ (7.5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, n=5).



Şekil 15. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd²⁺, 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd²⁺ (2×10^{-5} M) + Ca²⁺ (5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd²⁺ (2×10^{-5} M) + Ca²⁺ (7.5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, n=5).



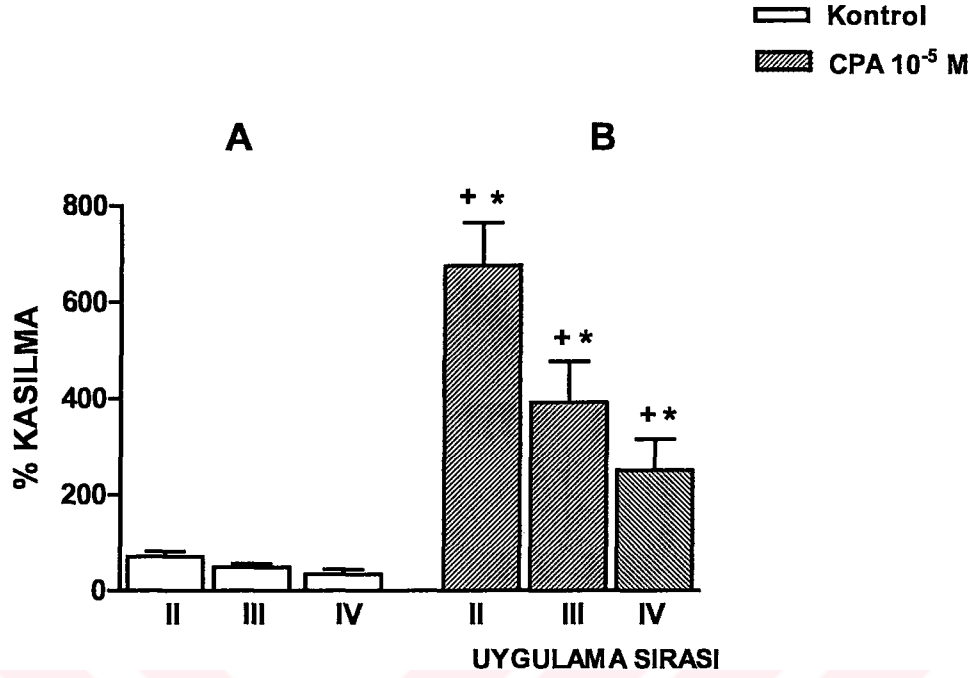
Şekil 16. İzole fare özofagus yizgili kası üzerine Ca²⁺ (5 mM) içeren ortamda karbakol (CCh, 2x10⁻⁴ M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (A), kadmiyum (Cd²⁺, 2x10⁻⁵ M) + Ca²⁺ (5 mM) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * Ca²⁺ 5 mM içeren ortamdaki kasılma cevaplarına göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama ± SEM olarak ifade edildi (P<0.05, n=5).

4.8 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Siklopiyazonik Asitin Etkisi

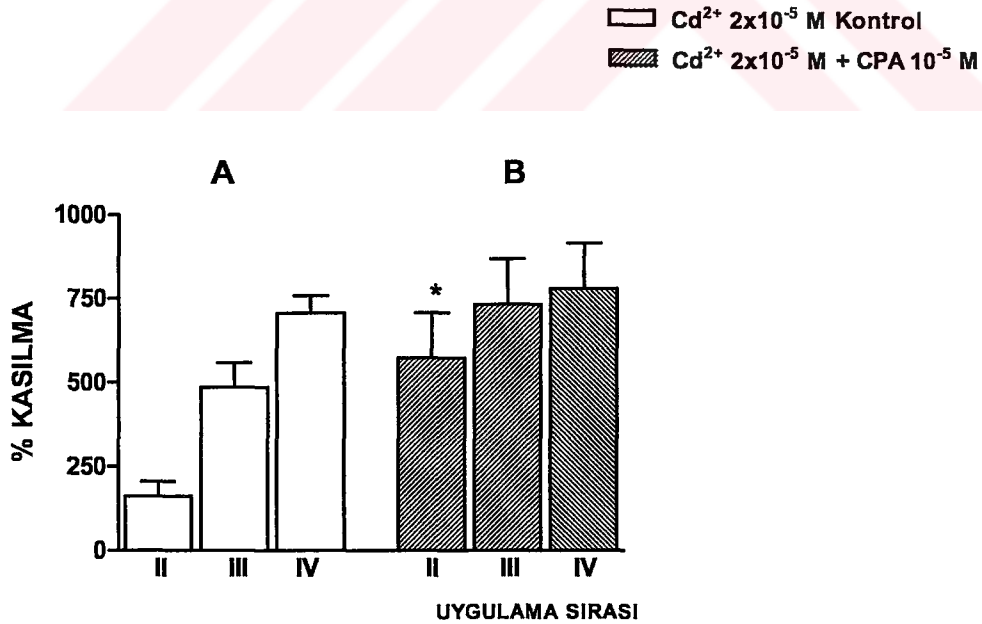
İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama bir sarkoplazmik retikulum Ca^{2+} ATPaz inhibitörü olan siklopiyazonik asidin (10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 489.7 ± 90.4 , 391.7 ± 88.4 , 290.5 ± 49.4 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları kendi içinde karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma ve CCh kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi (Şekil-17, $P < 0.05$, $n=5$).

4.9 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Siklopiyazonik Asitin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabının ardından Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve siklopiyazonik asidin (10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 589.5 ± 166.0 , 733.1 ± 134.7 , 779.8 ± 134.6 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında ikinci cevapta anlamlı artış tespit edildi ancak üçüncü, dördüncü cevaplarda bir fark gözlenmedi (Şekil-18, $P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 17. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), siklopiyazonik asit (CPA, 10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. + grupların kendi içindeki anlamlılığını belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 18. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine Cd²⁺ (2×10^{-5} M) içeren ortamda CCh (2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd²⁺ (2×10^{-5} M) + CPA (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).

4.10 Tirol Metabolizması Üzerine Etkili Olan İlaçların Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.10.1 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine L-Sisteinin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabının ardından Krebs'li ortama bir antioksidan ve tiyol depo modülatörü olan l-sistein (10^{-4} , 5×10^{-4} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri 10^{-4} M için sırasıyla, 59.0 ± 13.0 , 58.5 ± 7.1 , 58.7 ± 7.1 iken 5×10^{-4} M için ise 87.1 ± 12.5 , 57.3 ± 11.7 , 47.3 ± 10.3 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları kendi içinde karşılaştırıldığında ve CCh kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmedi (Şekil-19, $P < 0.05$, $n=5$).

4.10.2 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Glutatyonun Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama bir antioksidan ve tiyol depo modülatörü olan glutatyon (10^{-4} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3., ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 86.6 ± 14.9 , 83.4 ± 17.6 , 61.8 ± 9.2 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları CCh kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı bulundu (Şekil-19, $P < 0.05$, $n=5$).

4.10.3 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Etakrinik Asidin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama tiyol depolarını boşaltan bir kimyasal ajan olan etakrinik asit (10^{-4} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 143.8 ± 16.0 , 104.0 ± 21.1 , 115.4 ± 30.6 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları CCh kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü (Şekil-21, $P < 0.001$, $n=5$).

4.10.4 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Diamidin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama tiyol depolarını boşaltan bir kimyasal ajan olan diamid (10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 102.0 ± 13.5 , 87.9 ± 13.9 , 71.6 ± 11.6 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları CCh kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu görüldü (Şekil-21, $P < 0.05$, $n=5$).

4.11 Tiyol Metabolizması Üzerine Etkili Olan İlaçların ve Kadmiyumun Karbakol Kasılma Cevapları Üzerine Etkisi

4.11.1 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve L-Sisteinin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve l-sistein (10^{-4} , 5×10^{-4} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri 10^{-4} M için sırasıyla, 52.5 ± 16.7 , 41.6 ± 10.9 , 42.4 ± 13.1 iken 5×10^{-4} M için 58.2 ± 7.5 , 52.7 ± 19.5 , 48.8 ± 17.9 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında her iki konsantrasyonda da istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlendi. Her iki konsantrasyondaki kasılma cevapları l-sisteinli ortamdaki CCh cevaplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil-20, $P < 0.05$, $n=5$).

4.11.2 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Glutatyonun Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından sonra Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve glutatyon (10^{-4} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda,

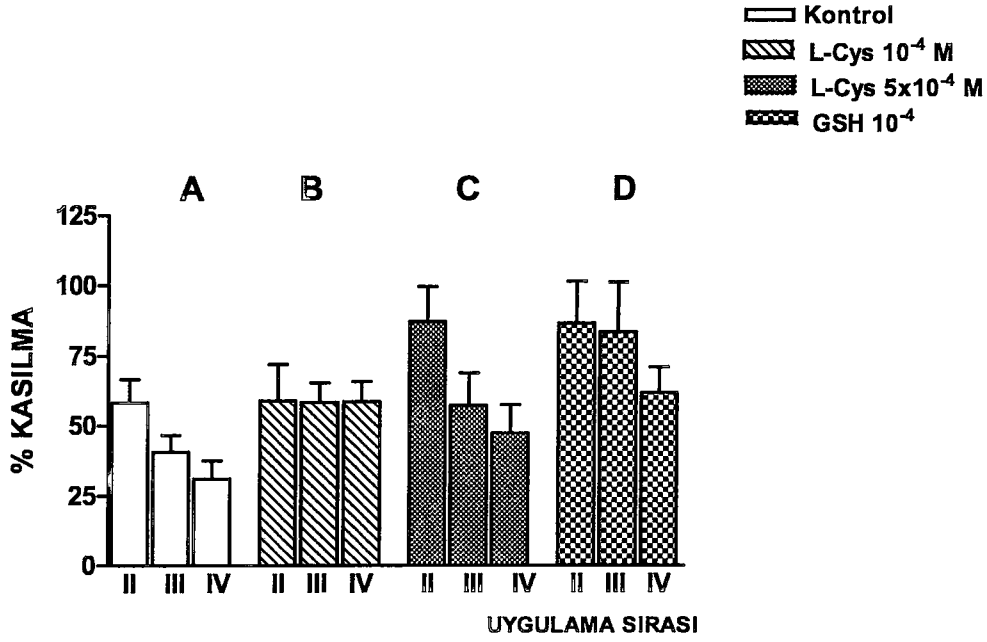
2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 140.5 ± 34.4 , 127.0 ± 36.5 , 82.3 ± 15.7 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında ikinci, üçüncü ve dördüncü cevaplarda anlamlı bir azalma olduğu ortaya kondu. Kasılma cevapları glutasyonlu ortamdaki CCh cevaplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi (Şekil-20, $P < 0.05$, $n=5$).

4.11.3 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Etakrinik Asidin Etkisi

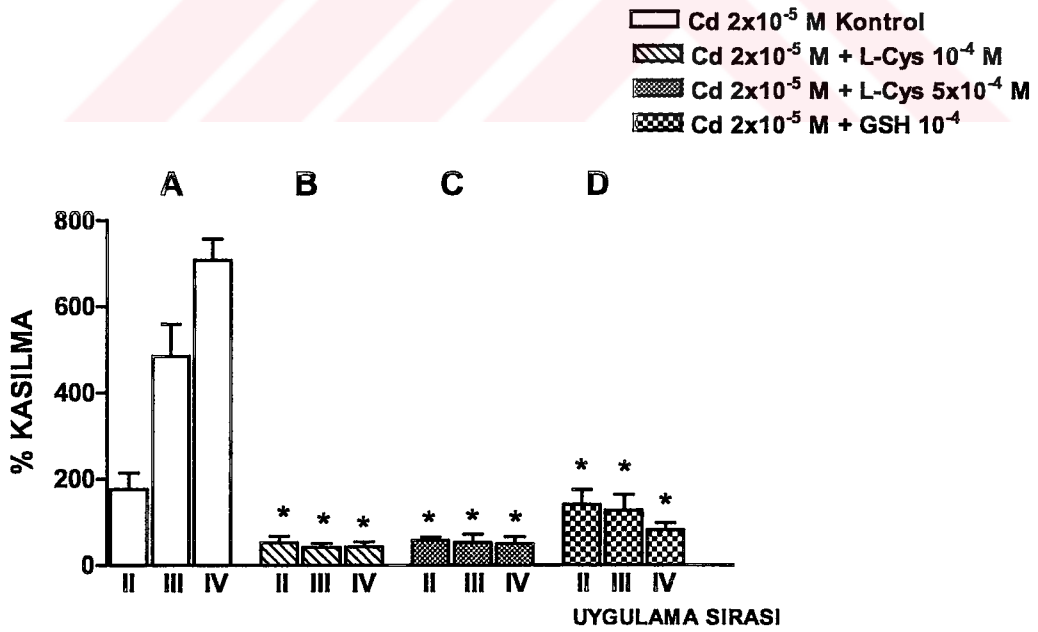
İlk CCh kasılma cevabından ardından Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve etakrinik asidin (10^{-4} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 151.4 ± 24.2 , 265.6 ± 44.6 , 360.6 ± 76.1 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında üçüncü ve dördüncü cevaplarda istatistiksel olarak anlamlı azalış olduğu görüldü. Kasılma cevapları etakrinik asitli ortamdaki CCh cevaplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu bulundu (Şekil-22, $P < 0.05$, $n=5$).

4.11.4 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Diamidin Etkisi

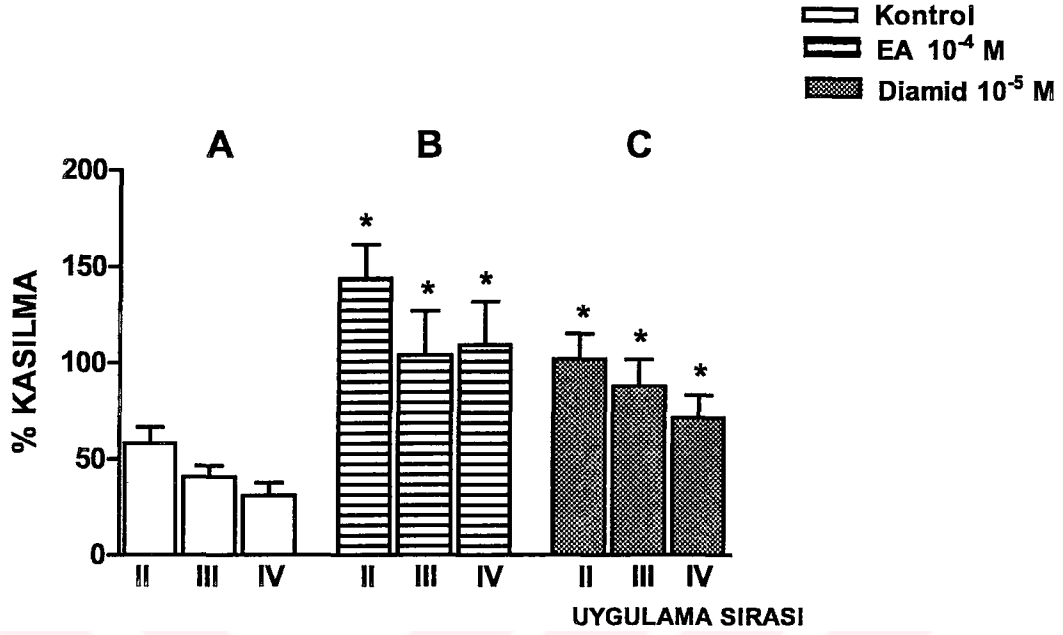
İlk CCh kasılma cevabından ardından Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve diamid (10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 534.9 ± 126.3 , 726.8 ± 186.0 , 990.4 ± 243.6 idi. Bu sonuçlara göre kasılma cevapları Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında ikinci cevapta istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu, üçüncü ve dördüncü cevaplarda bir fark olmadığı görüldü (Şekil-22, $P < 0.05$, $n=5$). Kasılma cevapları diamidli ortamdaki CCh cevaplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi (Şekil-22, $P < 0.05$, $n=5$).



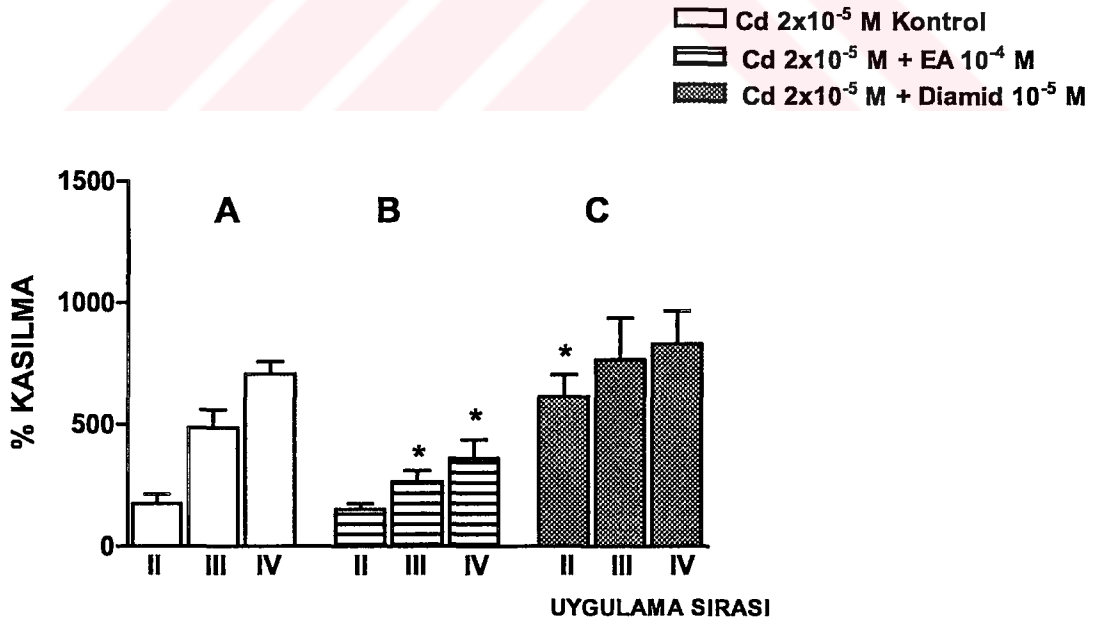
Şekil 19. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), L-sistein (L-Cys, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), L-sistein (L-Cys, 5×10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C), glutatyon (GSH, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (D). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 20. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M)+L-Cys(10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M)+L-Cys(5×10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C), Cd^{2+} (2×10^{-5} M)+GSH (10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (D). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 21. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), etakrinik asit (EA, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), diamid (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



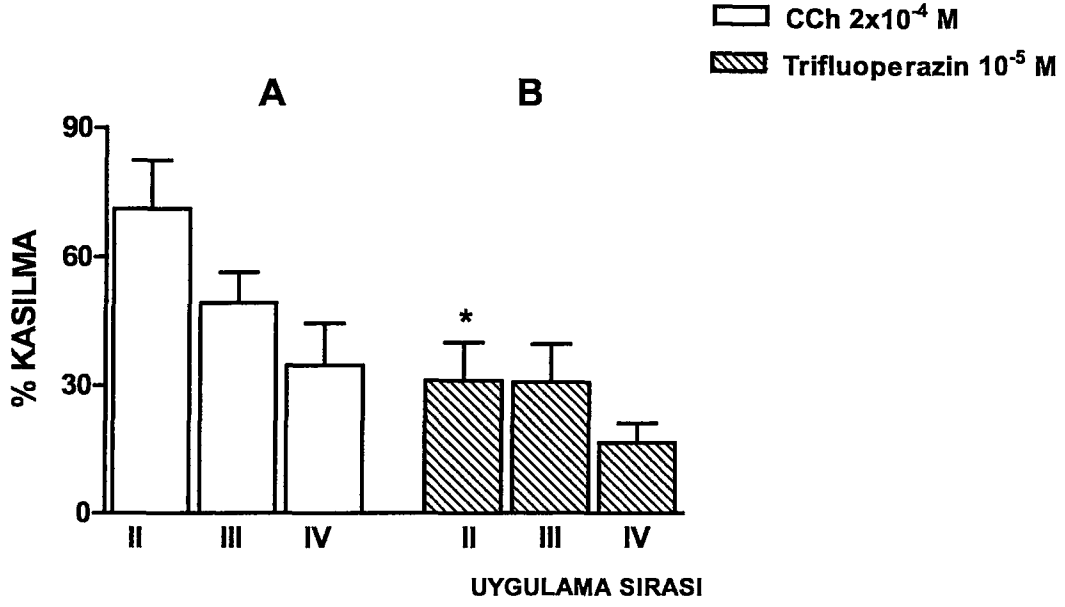
Şekil 22. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine kadmiyum (Cd^{2+} , 2×10^{-5} M) içeren ortamda karbakol (CCh, 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + etakrinik asit (EA, 10^{-4} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + diamid (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (C). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).

4.12 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Trifluoperazinin Etkisi

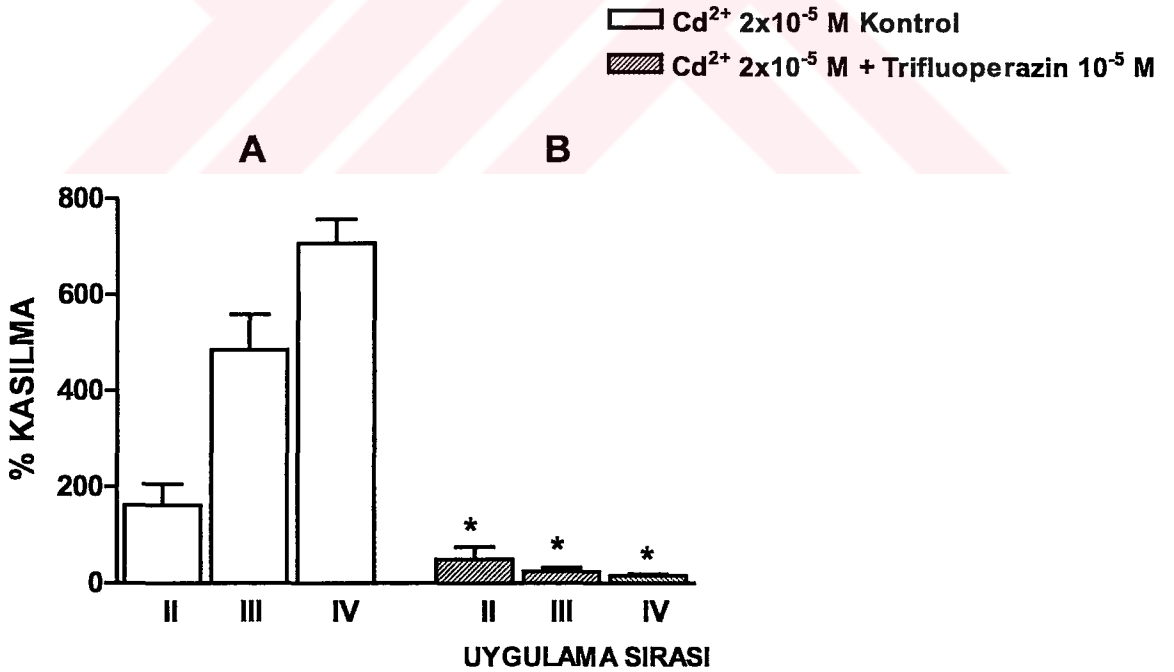
İlk CCh kasılma cevabından ardından Krebs'li ortama bir kalmodülün antagonisti olan trifluoperazinin (10^{-5} M) eklenmesinin ardından elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 46.5 ± 9.4 , 36.5 ± 6.1 , 18.2 ± 5.2 idi. Bu sonuçlara göre CCh kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında ikinci cevapta istatistiksel olarak anlamlı azalış tespit edilirken, üçüncü ve dördüncü cevaplarda fark olmadığı bulundu (Şekil-23, $P < 0.05$, $n=5$).

4.13 Karbakol Uygulaması ile Elde Edilen Kasılma Cevapları Üzerine Kadmiyum ve Trifluoperazinin Etkisi

İlk CCh kasılma cevabından ardından Krebs'li ortama Cd^{2+} (2×10^{-5} M) ve trifluoperazinin (10^{-5} M) eklenmesinden sonra elde edilen kasılma cevaplarının ölçümleri sonucunda, 2., 3. ve 4. kasılmaların 1. kasılmaya göre ortalama yüzde değerleri sırasıyla, 97.5 ± 17.0 , 85.1 ± 19.4 , 84.8 ± 26.4 idi. Bu sonuçlara göre Cd^{2+} kontrol cevaplarıyla sıralamaya uygun olarak karşılaştırıldığında üçüncü ve dördüncü cevaplarda istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü (Şekil-24, $P < 0.001$, $n=5$).



Şekil 23. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine karbakol (CCh 2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), trifluoperazin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.05$, $n=5$).



Şekil 24. İzole fare özofagus çizgili kası üzerine Cd^{2+} (2×10^{-5} M) içeren ortamda CCh (2×10^{-4} M) uygulaması ile elde edilen kasılma cevapları (kontrol) (A), Cd^{2+} (2×10^{-5} M) + trifluoperazin (10^{-5} M) içeren ortamda kasılma cevapları (B). * kontrole göre anlamlılığı belirtmektedir. Veriler ortalama \pm SEM olarak ifade edildi ($P < 0.001$, $n=5$).

5.TARTIŞMA

Çalışmamızda izole fare özofagus çizgili kas dokusunda nonspesifik nikotirik ve muskarinik reseptör agonisti olan CCh¹ uygulanmasıyla elde edilen kasılma cevaplarında, uygulama sayısına bağlı olarak gittikçe azalan yanıtlar elde edildi. Daha önce kurbağa rektus kası⁶⁵ ve bovine iris sfinkteri⁶⁶ üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer şekilde azalan karbakol kasılmaları elde edilmiş ve bu etkinin presinaptik nikotirik reseptörleri etkileyerek depolarizasyon gelişmesi ve bunun sonucu presinaptik uçtan asetilkolin salınımıyla postsinaptik nikotirik reseptörlerde desensitizasyon oluşmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Diğer çalışmalarda ise kurbağa nöromusküler kavşağında CCh'nin postsinaptik etkisinin uygulamaya bağlı olarak azaldığı bunun da CCh'nin aksiyon potansiyelinin presinaptik uca varış süresiyle, nörotransmitter sekresyonunun başlaması arasındaki süreyi uzatması sonucu asetilkolin salınımının azalmasına bağlı olduğu gösterilmiştir. Böylece CCh'nin presinaptik kolinomimetik reseptörleri etkileyerek nörotransmitterlerin sekresyonunu ve seviyesini kontrol ettiği ortaya konmuştur^{2,67}. Dolayısıyla elde ettiğimiz sonuçlar, CCh uygulamasına bağlı olarak ortaya çıkan kasılma cevaplarındaki azalmada yukarıdaki mekanizmalardan birinin rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Deneilerimizde ortama iki değerlikli bir ağır metal ve L-tipi kalsiyum kanal antagonisti olan, Cd²⁺'nin⁶⁸ ilave edilmesinden sonra CCh kasılma cevaplarında zamana bağlı olarak bir artış gözlemlendi. Bir başka iki değerlikli katyonun benzer etkiyi yapip yapamayacağını tespit edebilmek amacıyla Ca²⁺ kanal antagonisti ve aynı zamanda Na⁺/Ca²⁺ pompası inhibitörü olan nikel iyonu kullanıldı. Nikel iyonunun ortama ilavesinden sonra CCh kasılma cevaplarında anlamlı bir değişme görülmedi. Daha önce yapılan bir çalışmada, sıçan ventrikül miyositlerinde CCh uygulaması ile elde edilen kasılmaların ortama nikel iyonu eklenmesinden sonra azaldığı gösterilmiştir⁶⁹. Bu farklı durum, çalıştığımız dokuda CCh kasılma cevaplarının oluşmasında Ca²⁺ kanalları haricinde rol alan birtakım mekanizmaların (CCh'nin inositoltrifosfat seviyesini artırması⁷⁰ ya da Ca²⁺ girişine bağlı olarak SR'den, Ca²⁺ bağlı Ca²⁺ salınımını tetiklemesi⁷¹) söz konusu olabileceğini ve dolayısıyla nikelin etkisinin yetersiz kalabileceğini düşündürmektedir. Ni²⁺ ile ilgili bu bulgular sonucunda, Cd²⁺'nin CCh

kasılma cevaplarını artırmada, iki değerlikli bir metal ve kalsiyum kanal antagonisti olması haricinde farklı mekanizmaların rolü olduğunu telkin etmektedir. Sıçan nöromüsküler kavşağında Cd^{2+} 'nin etkisi araştırılırken, Cd^{2+} 'nin presinaptik asetilkolin salıverilmesini azalttığı ancak iki değerlikli birçok katyonun bu etkiyi oluşturmadığı gösterilmiş ve bu farklılığın Cd^{2+} 'nin membranda veya kontraktıl proteinlerde bulunan tiyol (-SH) gruplarına bağlanma özelliğinden kaynaklandığı tespit edilmiştir¹³. Bu sonuç, Ni^{2+} iyonu ile Cd^{2+} arasındaki farklılığın, Cd^{2+} 'nin -SH grubuna bağlanabilme özelliğinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Ortama presinaptik nikotirik reseptör antagonisti hegzametonyum konulduğunda CCh'nin ikinci ve üçüncü cevabında kontrole göre azalma tespit edildi. Benzer şekilde sıçan sinir terminalinde yapılan çalışmalarda hegzametonyumun presinaptik nikotirik reseptörleri etkileyerek, membran depolarizasyonunda azalmaya yol açtığı ve asetilkolin salınışını azalttığı gösterilmiştir⁷². Bu bulgular CCh'nin presinaptik ACh salınışını azaltması sonucu CCh kontrol cevaplarında uygulama sayısına bağlı olarak gözlenen azalmanın hegzametonyumlu ortamda biraz daha azalmasını açıklamaktadır. Ortama kolinesterez inhibitörü fizostigmin⁷³ ilave edildiğinde ise CCh cevaplarında anlamlı bir değişme gözlenmedi. Daha önce sığır iris sfinkterinde yapılan çalışmalarda CCh ile fizostigmin birlikte uygulandığında CCh cevaplarında artış olduğu gösterilmiştir⁷⁴. Ancak CCh'nin presinaptik etkisi nedeniyle asetilkolin salınışında azalmaya yol açtığı görüşü, çalışmamızda fizostigminli ortamda elde ettiğimiz cevapların değişmediği bulgusuyla örtüşmektedir. Fizostigminle birlikte Cd^{2+} ilave edildiğinde kasılma cevaplarında, CCh kontrole göre artış gözlenirken, Cd^{2+} 'li ortamda elde edilen cevaplara göre azalma olduğu tespit edildi. Daha önce fare diafragmında yapılan çalışmada Cd^{2+} 'nin kompetitif olarak Ca^{2+} 'la etkileşerek, 5×10^{-5} M da presinaptik asetilkolin salınışını uygulama süresine bağlı olarak artırdığı veya azalttığı gösterilmiştir^{16,75,76}. Benzer şekilde deneylerde ortama ilave ettiğimiz Cd^{2+} presinaptik asetilkolin salınışına neden olabileceği için ortama konan fizostigmin, nöromüsküler kavşaktaki asetilkolin miktarının artmasına böylece postsinaptik nikotirik reseptörlerde desensitizasyon gelişmesine ve Cd^{2+} 'li ortamda elde edilen kasılma cevaplarına göre daha az amplitüdü kasılmalar elde edilmesine neden olabilir. CCh kontrole göre cevapların yüksek olması ise Cd^{2+} 'nin postsinaptik hücre içi mekanizmalarla etkili olabileceğini telkin etmektedir. Tubokürarinin nikotirik reseptör

blokörü olduğu ve karbakol cevaplarını azalttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir^{77,78}. Çalışmamızda ortama eklenen d-tubokürarin CCh cevaplarını azaltırken, Cd²⁺le birlikte tubokürarin uygulandığında azalan karbakol cevaplarının kısmen arttığı görüldü. Fare diafragmasında yapılan bir çalışmada Cd²⁺'nin spontan kontraksiyonlar gelişimine neden olduğu ve ortama konan d-tubokürarinin Cd²⁺'ye bağlı spontan kontraksiyonları inhibe etmediği, böylece Cd²⁺'nin bu etkisinin miyojenik olduğu ortaya konmuştur¹⁴. Çalışmamızda da benzer şekilde d-tubokürarini ve Cd²⁺'li ortamda CCh kasılmalarının kısmen artması, Cd²⁺'nin bu etkisinin miyojenik olabileceğini düşündürmektedir.

CCh'nin düz kas ve iskelet kasındaki kastırıcı etkisini açıklamaya yönelik birçok araştırma yapılmıştır. Bunun sonucunda CCh'nin düz kas yapılarında muskarinik reseptörlere bağlanarak membran polarizasyonunda değişiklik oluşturduğu⁷⁹ ve L-tipi Ca²⁺ kanallarını aktive ederek hücre içine Ca²⁺ akışını artırdığı⁶⁹, ayrıca bazı dokularda hücre içine Na⁺ girişini artırdığı ve Na⁺/Ca²⁺ pompasını aktive ederek hücre içi Ca²⁺ seviyesini değiştirdiği gösterilmiştir⁸⁰. Bir başka çalışmada ise domuz detrisör kasına karbakol uygulaması ile elde edilen kasılma cevaplarının, nifedipin, verapamil, diltiazem ve nimodipin gibi L-tipi kalsiyum kanal antagonistleri tarafından azaltıldığı bulunmuştur. Nifedipinin kasılma cevapları üzerindeki azaltıcı etkisinin daha belirgin olduğu görülmüştür⁸¹. Böylece CCh kasılmalarında hücre dışı Ca²⁺'nin yanı sıra hücre içi Ca²⁺'nin da rolü olduğu ortaya konmuştur. Çalışmamızda verapamil, doza bağlı olarak CCh kasılma cevaplarında değişikliklere neden oldu; 10⁻⁶ M da fark oluşmazken, 10⁻⁵ M da kasılmalarda azalma belirlendi. Benzer şekilde nifedipin de CCh kasılma cevaplarında 10⁻⁶ M da fark oluşturmazken, 10⁻⁵ M de azalmaya neden oldu. Bu bulgular, CCh'le oluşan kasılma cevaplarının belirli bir düzeyde gerçekleşebilmesi için ekstraselüler Ca²⁺'nin hücre içine kalsiyum kanalları aracılığıyla girmesi gerektiğini ortaya koymuş ve benzer çalışmalarla örtüşme sağlamıştır. Voltaja duyarlı kalsiyum kanal antagonisti olan Cd²⁺'nin, benzer etkiye sahip olan verapamil ve nifedipin gibi CCh kontraksiyonlarını azaltması beklenirken, CCh kasılmalarını arttırması, Cd²⁺'nin farklı mekanizmalar üzerinden kasılmayı etkilediğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda Cd²⁺'nin Na⁺/Ca²⁺ pompasını blokladığı⁸², SR Ca²⁺-ATPaz pompasını inhibe ettiği⁸³ ve IP₃ yıkılışını önleyerek hücre içi Ca²⁺ miktarını arttırdığı⁸⁴ gösterilmiştir. Dolayısıyla L-tipi kalsiyum kanal antagonisti olan Cd²⁺ hücre içine

kalsiyum girişini bloke etse bile diğer etki mekanizmalarıyla hücre içi Ca^{2+} miktarını artırarak kasılmanın ortaya çıkmasına veya artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Sıçan soleus kasında yapılan çalışmada nifedipinin Cd^{2+} 'ye bağlı gelişen kasılma cevaplarını azalttığı gösterilmiştir. Nifedipinin bu etkiyi, Cd^{2+} 'nin Na^+/Ca^{2+} pompasına ve Ca^{2+} -ATPaz'a bağlanmasını inhibe etmesi sonucu hücre içi Ca^{2+} miktarının artışı önleyerek gerçekleştirdiği bulunmuştur⁸⁵. Benzer şekilde, deneylerimizde de nifedipin ve verapamilli ortama Cd^{2+} 'nin ilave edilmesinden sonra CCh cevaplarında görülen azalmada aynı mekanizmaların rol oynayabileceği düşünülmektedir.

CCh'nin iskelet kasında postsinaptik nikotik reseptörleri etkileyerek hücre içi Ca^{2+} depolarından Ca^{2+} salınışına neden olduğu ve Ca^{2+} seviyesini artırdığı bilinmektedir. Ca^{2+} sız ortamda kasılma cevaplarının kaybolduğu ve hücre içi Ca^{2+} 'nin osilasyonunun devam edebilmesi için depoların yeniden dolması gerektiği gösterilmiştir⁸. Deneylerde ekstraselüler kalsiyum oranlarını azaltığımızda; 1.875 mM ve 1.25 mM kalsiyum içeren ortamda elde edilen karbakol kasılmalarının değişmediği görüldü. Ca^{2+} sız, 2×10^{-3} M ve 10^{-2} M EGTA'lı ortamda karbakol kasılmalarının ortaya çıkmaması ise CCh kasılmalarının meydana gelebilmesi için ekstraselüler ortamda bir miktar Ca^{2+} bulunması ve depoların Ca^{2+} ile yeniden dolması gerektiği görüşünü desteklemektedir. Cd^{2+} ile Ca^{2+} arasında kompetitif antagonizma⁷⁶ olduğu için, ortamdaki Ca^{2+} konsantrasyonu azaltıldıkça, Cd^{2+} 'ye bağlı etkiler artacaktır. Fare diafragmasında yapılan çalışmada ise 0.25 mM Ca^{2+} 'lı ortamda Cd^{2+} 'ye bağlı spontan kontraksiyonların meydana geldiği gösterilmiştir. Bu kontraksiyonların oluşmasında Cd^{2+} 'nin membranda depolarizasyona ve yüksek frekanslı aksiyon potansiyeline yol açmasının rolü olduğu bulunmuştur¹⁴. Bir başka çalışmada ise fare diafragmasında Cd^{2+} 'ye bağlı kasılmaların, ekstraselüler Ca^{2+} konsantrasyonunun 0 mM olması durumunda, tamamen engellendiği ortaya konmuştur. Böylece Cd^{2+} 'nin etkisinin ortaya çıkmasının ekstraselüler kalsiyumla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Deneylerimizde de 1.25 mM Ca^{2+} 'lı ve Cd^{2+} 'li ortamda elde edilen CCh kasılmalarının amplitüdünün, Cd^{2+} kontrol kasılmalarından fazla olduğu gözlemlendi. Ca^{2+} sız, EGTA'lı ve Cd^{2+} 'li ortamda ki CCh kasılmalarının çok düşük konsantrasyonda oluştuğu ve Cd^{2+} 'nin potansiyalize edici etkisinin oluşmadığı tespit edildi. Bu bulgular, daha önceki çalışmalarda gösterilen mekanizmaların kasılma cevaplarında gözlenen değişikliklerin oluşmasında, rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Sıçan ventrikül miyositinde yapılan çalışmalarda hücre içi Ca^{2+} seviyesinin CCh'ye bağlı dalgalanmalar gösterdiği bulunmuştur. CCh'nın hücre içi kalsiyum amplitüdünü artırdığı ve Ca^{2+} akışının azalma süresini uzattığı belirlenmiştir. Ancak diğer çalışmalarda ekstraselüler yüksek kalsiyumun CCh'nın hücre içindeki kalsiyumla ilgili bu etkilerini tersine çevirdiği gösterilmiştir⁸⁶. Deneylede yüksek Ca^{2+} 'nın CCh kasılmalarında oluşturduğu azalmanın literatürdekine benzer şekilde ya hücre içi Ca^{2+} 'nın artmasına bağlı (-) feedbackden dolayı depolardan Ca^{2+} salınmasının azalmasına ya da CCh'nın hücre içi Ca^{2+} 'yı artırıcı etkisinin önlenmesine bağlı olduğunu telkin etmektedir. Deneylelerimizde yüksek Ca^{2+} 'lı ortama Cd^{2+} eklendiğinde, Cd^{2+} 'nin CCh kasılmalarını artırıcı etkisinin, Ca^{2+} konsantrasyonundaki artışa paralel olarak azaldığı gözlenmiştir. Ca^{2+} konsantrasyonu 5 mM iken ortama Cd^{2+} eklendiği zaman CCh kasılmaları, kontrol CCh kasılmalarına göre artmışken, Ca^{2+} konsantrasyonu 7.5 mM olduğunda Cd^{2+} 'nin etkisinin baskılandığı, kasılmaların artırmadığı CCh kontrole benzer yanıtlar elde edildiği görüldü. Ca^{2+} 'nın bu etkisinde; Cd^{2+} 'le arasındaki kompetitif antagonizmanın¹⁴, Cd^{2+} 'nin -SH gruplarına bağlanmasının Ca^{2+} tarafından engellenmesinin⁷⁶, Cd^{2+} 'nin Ca^{2+} 'ya benzer iyonik davranış sergilemesinin ve Ca^{2+} 'dan daha yavaş hareket etmesinin rolü olduğu düşünülmektedir¹⁰. Cd^{2+} 'nin intraselüler SR Ca^{2+} -ATPaz'ı inhibe ettiği dolayısıyla intraselüler kalsiyum seviyesini artırdığı gösterilmiştir⁸³. Benzer etkiye sahip olan bir ilaç ortama eklendiğinde, CCh kasılma boylarında bir artış olup olmayacağını anlamak amacıyla ortama siklopiyazonik asit ilave edildi. Sıçan iskelet kasında, kas aktivasyonu sırasında SR membranında bulunan kalsiyum iyon kanalından Ca^{2+} 'nın hücre içine salındığı, bu salınmayı uyaran birçok faktörden birinin de Ca^{2+} iyonu olduğu görülmüştür. Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun artmasının (-) feedback mekanizmayla SR'den Ca^{2+} salınmasını ayarladığı tespit edilmiştir⁸⁷. Farklı bir araştırmada ise iskelet kasında yapılan çalışmalarda, hücre içi Ca^{2+} 'nın SR'ye geri alınmasının kasılma gevşeme kenetinin değerlendirilmesinde önemli bir faktör olduğu bulunmuştur⁸⁸. Siklopiyazonik asit'in iskelet kasında⁸⁸, ince barsak düz kasında⁸⁹, sıçan özofagus çizgili kasında⁹⁰ ve sıçan soleus kasında⁹¹ SR Ca^{2+} ATPaz enzimini inhibe ederek Ca^{2+} 'nın SR'ye geri alınımını engellediği ve kasılmaları artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca siklopiyazonik asit'in kasılmaları artırıcı etkisini, kontraktıl proteinlerin kalsiyuma duyarlılığını artırarak ya da hücre içine giren Ca^{2+} miktarına bağlı olarak, depolardan

Ca^{2+} salınışını artırarak yaptığı da ortaya konmuştur. Deneylelerimizde siklopiyazonik asit, Cd^{2+} 'ye benzer şekilde karbakol kasılma cevaplarında artışa neden oldu. Bu bulguların ışığında hem Cd^{2+} 'nin hem de siklopiyazonik asitin CCh kasılma cevaplarını arttırmalarında benzer mekanizmaların rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Glutasyon ve l-sistein, hücreyi koruyucu, intraselüler antioksidan ve tiyol indirgeyici ilaçlardandır. Kas dokusunda gelişen oksidatif stres olaylarında ve hücre içi enzimlerin fonksiyonunu sürdürmesi üzerinde yapılan çalışmalarda bu iki maddenin koruyucu rolü ortaya konmuştur^{92,93}. Çalışmamızda değişik konsantrasyonlarda ortama ilave edilen glutasyon ve l-sisteinin karbakol kasılma cevapları üzerinde anlamlı bir değişiklik yapmaması, CCh kasılma mekanizması üzerine oksidatif strese neden olan ajanların veya tiyol metabolizmasının bir rolü olmadığını düşündürmektedir. Ancak Cd^{2+} bulunan ortama l-sistein veya glutasyon eklendikten sonra, bu iki ilaç Cd^{2+} 'nin CCh kasılmalarını artırıcı etkisini önlemiş, CCh kontrole yakın kasılmaların oluşmasına neden olmuşlardır. Yapılan çalışmalarda Cd^{2+} 'nin tiyol içeren komplekslere (glutasyon, sistein, metalotiyonein gibi) bağlanarak hücre içine girdiği ya da iki katyonlu metal bağlayan proteinlerle (DMT1) hücre içine taşındığı gösterilmiştir. Hücre içine giren Cd^{2+} 'nin glutasyon, l-sistein ya da $-SH$ içeren proteinlerle kompleks oluşturduğu bulunmuştur. Böylece hücre için koruyucu rolü önemli olan bu maddelerin miktarının azalmasına veya fonksiyon görememesine neden olduğu ortaya konmuştur⁵⁴. Cd^{2+} 'nin hücre içi glutasyon transferaz enzimini bloklayarak, konjugat halinde bulunan GSH'ın serbest hale gelmesini inhibe ettiği ve hücre içi GSH düzeyinin azalmasına neden olduğu görülmüştür. Ayrıca hücre içi serbest oksijen radikallerini de arttırdığı tespit edilmiştir⁹⁴. Dolayısıyla ortama konan GSH Cd^{2+} 'le bağlanarak, Cd^{2+} 'nin kasılma cevaplarını artırıcı etkisini önleyebilir. Benzer şekilde farelerde ve civcivlerde yapılan çalışmalarda Cd^{2+} 'nin l-sisteinle şelasyon yapması sonucu etkisinin engellendiği gösterilmiştir⁹⁵. GSH ve l-sistein içeren deney gruplarında Cd^{2+} 'nin etkisinin görülmemesinde benzer mekanizmaların rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Cd^{2+} 'nin hücre içi tiyol depolarını boşaltarak kasılmaların artışına neden olduğunu telkin etmektedir. Çünkü deneylelerimizde Cd^{2+} ortamdan uzaklaştırılsa bile CCh kasılmalarındaki artış devam etmiştir (bulgular gösterilmemiştir). Dolayısıyla Cd^{2+} sadece $-SH$ gruplarıyla şelasyon yapsaydı, Cd^{2+} ortamdan uzaklaştırıldığı halde kasılmalarda ki artışın devam etmesi gerekecekti. Ancak ortama l-sistein ilave edilince

Cd^{2+} 'nin etkinliğinde belirgin azalma olması, Cd^{2+} 'nin hücre içi tiyol depolarını boşalttığı ve bu depoların l-sistein tarafından yeniden doldurulmuş olabileceğini düşündürmektedir. Hücre içi tiyolleri tüketen ilaçların Cd^{2+} gibi kasılma cevaplarını artırıp artıramayacağını gözlemek amacıyla etakrinik asit ve diamid uygulandı. Sülfidril grup inaktivatörü, glutasyon transferaz enzim inhibitörü olan etakrinik asit⁹⁶ ve tiyolleri okside eden diamid⁹⁵ CCh kasılma cevaplarında anlamlı bir artışa neden oldu. Bu bulgular Cd^{2+} , etakrinik asit ve diamid'in CCh kasılmalarında meydana getirdiği artışta benzer mekanizmaların rolü olabileceğini göstermektedir. Etakrinik asit ve diamidle birlikte Cd^{2+} uygulanan deneylerde kasımlarda potansiyalizasyon gözlenmedi. Cd^{2+} ve etakrinik asit içeren ortamdan elde edilen kasımların, Cd^{2+} kontrol kasımlarına göre daha az olması ise Cd^{2+} ile etakrinik asit arasında bir yarış olabileceğini düşündürmektedir.

Hücre içi antioksidan özelliği olan askorbik asit⁹⁷'le birlikte Cd^{2+} uygulandığında cevaplarda herhangi bir değişiklik gözlenmemesi, CCh kasılmalarının Cd^{2+} tarafından potansiyalize edilmesinde oksidan etkisinin olmadığını düşündürmektedir (bulgular gösterilmedi).

Kasılma mekanizmasında önemli rolü olduğu bilinen Ca^{2+} -kalmodülin kenetinin, Cd^{2+} tarafından etkilendiği bilinmektedir. Cd^{2+} 'nin Ca^{2+} gibi davranarak kalmodüline bağlandığı ve protein fosforilasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Trifluoperazinin de kalmodüline bağlanarak bu fosforilasyonu engellediği tespit edilmiştir⁹⁸. Cd^{2+} 'nin çizgili kas yapısında Ca^{2+} gibi davranarak kalmodüline bağlanıp kasılma mekanizmasını tetikleyebileceği düşünülmektedir, bunu belirlemek amacıyla ortama trifluoperazin ilave edildi. Kalmodülin antagonisti olan⁹⁹ trifluoperazin karbakol kasılma cevaplarında anlamlı bir fark oluşturmadı. Daha önce yapılan çalışmalarda trifluoperazinin kalmodülin ve Troponin-C'nin Ca^{2+} afinitesini artırdığı, düşük dozlarda kasılmayı uyarırken, yüksek dozlarda inhibe ettiği gösterilmiştir¹⁰⁰. Çalışmamızda trifluoperazin CCh kasılma cevaplarında anlamlı bir değişiklik yapmadığı için, CCh kasılmalarının oluşmasında rol alan mekanizmalar üzerinde pek etkili olmadığı düşünülmektedir. Trifluoperazin ve Cd^{2+} 'li ortamda CCh kasılma cevaplarının, Cd^{2+} 'li ortamda elde edilen yanıtlardan daha düşük boyuta sahip olması ise yukarıdaki bulguların ışığında trifluoperazinin kalmodüline bağlanarak, Cd^{2+} 'nin bağlanmasını engellediği ve böylece CCh kasılmalarındaki artışın ortaya çıkmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak izole fare özofagus çizgili kası üzerine uygulanan karbakol kasılmalarının kadmiyum tarafından zamana bağlı olarak artırılmasında kadmiyum iyonunun birçok özelliğinin rolü olduğu belirlendi. Çalışmamız kadmiyumun;

- 1- Nöromüsküler kavşak blokörü ile aynı ortama ilave edildiğinde CCh kasılmalarını kısmen ortaya çıkarması, etkisinin miyojenik olabileceğini
- 2- Kasılmayı potansiyalize edici etkisinin oluşmasında hücre dışı kalsiyum konsantrasyonunun yanı sıra hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun önemi olduğunu
- 3- SR de Ca^{2+} ATPaz'ı inhibe ederek hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonun artışına neden olduğunu
- 4- -SH gruplarına bağlanarak veya hücre içi tiyol depolarını tüketerek kasılma kompleksini uyarmış olabileceğini
- 5- Ca^{2+} gibi davranıp kalmodüline bağlanarak kasılmayı uyardığını göstermektedir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İzole fare özofagus çizgili kasında CCh uygulamasıyla kasılma boylarında uygulama sayısına bağlı olarak azalan yanıtlar elde edildi. Hekzametonyumun kasılma cevaplarını kısmen azaltması ve fizostigminin CCh kasılmalarında anlamlı bir değişmeye neden olmaması, CCh'nin bu etkisinin oluşmasında presinaptik asetilkolin salınımını azaltmasının rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ortama ilave edilen kadmiyumun CCh kasılmalarını zamana bağlı olarak artırması, ancak benzer şekilde kalsiyum kanal antagonisti ve iki değerlikli bir katyon olan nikelin böyle bir etki oluşturmaması kadmiyumun farklı mekanizmalar üzerinden etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Kadmiyumun fizostigminle birlikte ilave edildiği deneylerde kasılma boyutlarının Cd^{2+} kontrol kasılmalarına göre azalması, Cd^{2+} 'nin presinaptik asetilkolin salınımını etkilemiş olabileceğini düşündürmektedir. Tubokürarin'le postsinaptik nikotinik reseptörlerin bloke edilmesi kontrol cevaplarında anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. Cd^{2+} tubokürarinli ortamdaki kasımlarda da Cd^{2+} 'li kasılma cevaplarına göre azalma gözlenmiş ancak kontrol cevaplarına göre kısmi artış olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular kadmiyum'un etkisinin miyojenik olduğunu göstermektedir.

Kadmiyumla birlikte voltaja duyarlı kalsiyum kanal antagonistleri (nifedipin ve verapamil) uygulandığında ya da hücre dışı ortamdaki Ca^{2+} iyonu çıkarıldığında kasılma cevaplarının azalması kadmiyum iyonunun etkisinin oluşmasında Ca^{2+} iyonunun rolü olduğunu göstermektedir. Ayrıca hücre dışı Ca^{2+} iyonunun konsantrasyonu artırıldığında kadmiyumlu ortamdaki kasılma cevaplarının azalması Ca^{2+} 'la arasında kompetitif antagonizmanın olduğunu düşündürmektedir. Cd^{2+} 'li ve 1.25 mM Ca^{2+} içeren ortamda kasılma cevaplarının artması ise Ca^{2+} 'nin belirli konsantrasyonunda Cd^{2+} 'nin spontan kasılmalar oluşturduğunu ve bunun da kasılmaları potansiyalize edebileceğini düşündürmektedir. CPA'nın da CCh kasılmalarını Cd^{2+} 'ye benzer şekilde artırması, Cd^{2+} 'nin kasılma cevaplarını arttırmasında SR Ca^{2+} ATPaz enzimini inhibe etmiş olabileceğini göstermektedir.

Ortama tiyol modülatörü ilaçlar olan, glutatyon ve l-sistein eklendiğinde Cd^{2+} kontrol kasılma cevaplarının azalması ve tiyol oksitleyici ilaçlar olan diamid, etakrinik

asit ilave edildiğinde CCh kontrol cevaplarının Cd^{2+} 'li ortamdaki gibi artması, Cd^{2+} 'nin hücre içi tiyollerini bağlayarak ya da hücre içi tiyol depolarını tüketerek kasılmaları artırmış olabileceğini ortaya koymaktadır.

Trifluoperazin'le birlikte Cd^{2+} ilave edilen deneylerde kasılma boyutlarının azalması ise Cd^{2+} 'nin Ca^{2+} gibi kalmodülin'e bağlanarak kasılmayı artırmış olabileceğini düşündürmektedir.

Bütün bu bulgular izole fare özofagus dokusunda CCh kasılmalarının Cd^{2+} tarafından artırılmasında, Cd^{2+} 'nin birçok mekanizmayı etkilemesinin rolü bulunduğunu göstermektedir. Hücre içi farklı mekanizmaların bu kasılmanın artmasında rolü olup olmadığının araştırılması gerekmektedir.



KAYNAKLAR

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/Carbachol> (Electronic Encyclopedia). Erişim tarihi: 15.1.2006
2. **Nikolsky EE, Vyskocil F, Bukharaeva EA, Samigullin D, Magazanik LG.** Cholinergic regulation of the evoked quantal release at frog neuromuscular junction. *J. Physio*, 2004; 1(560):77-88.
3. **Uchida W, Masuda N, Shirai Y, Shibasaki K, Satoh N, Takenada T.** The role of extracellular Ca²⁺ in carbachol-induced tonic contraction of the pig detrusor smooth muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol*, 1994; 350(4):398-
4. **Kajioka S, Nakayama S, McMurray G, Abe K., Brading A F .** Ca²⁺ channel properties in smooth muscle cells of the urinary bladder from pig and human. *Eur. J. of Pharmacol*, 2002; 443 (1-3):19-29.
5. **Parekh AB, Brading AF.** The sources of calcium for carbachol-induced contraction in the circular smooth muscle of guinea-pig stomach. *Br J Pharmacol*, 1991;104(2):412-8.
6. **McCarron JG, Craig JW, Bradley KN, Muir TC.** Agonist-induced phasic and tonic responses in smooth muscle are mediated by InsP(3). *J Cell Sci*, 2002;15(115):2207-18.
7. **Protas L, Shen JB, Pappano AJ.** Carbachol increases contractions and intracellular Ca⁺⁺ transients in guinea pig ventricular myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 1998;284(1):66-74.
8. **Henning RH, Duin M, van Popta JP, Nelemans A, den Hertog A.** Different mechanisms of Ca²⁺(+)-handling following nicotinic acetylcholine receptor stimulation, P2U-purinoceptor stimulation and K(+)-induced depolarization in C2C12 myotub. *Br.J. Pharmacol*,1996 ;117(8):1785-91.
9. <http://en.wikipedia.org/wiki/Cadmium> (Electronic Encyclopedia). Erişim tarihi: 1.2.2005
10. **Zalups RK, Ahmad S,** Moleküler handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2003;186:163-188.
11. **Diamond GL, Zalups RK.** Understanding renal toxicity of heavy metals. *Toxicol. Pathol*, 1998; 26(1):92-103.
12. **Oteiza PI, Adonaylo VN, Keen CL.** Cadmium-induced testes oxidative damage in rats can be influenced by dietary zinc intake. *Toxicology*, 1999;10;137(1):13-22.
13. **Forshaw PJ.** The inhibitory effect of cadmium on neuromuscular transmission in the rat. *Eur. J. Pharmacol*, 1977;21; 42(4):371-7.

14. Fu WM, Lin-Shiau SY. Mode of stimulatory actions of cadmium ion on the mouse diaphragm. *Br. J. Pharmacol*, 1985;85(2):471-9.
15. Braga MF, Rowan EG. The pharmacological effects of cadmium on skeletal neuromuscular transmission. *Gen. Pharmacol*, 1994;25(8):1729-39.
16. Asai F, Nishimura M, Satoh E, Urakawa N. Mechanism of cadmium-induced contraction in ileal longitudinal muscle of guinea-pig. *Br. J. Pharmacol*, 1982;75(4):561-7.
17. Sakurada K, Wakabayashi I. Cadmium accumulation augments contraction and phosphoinositide hydrolysis of vascular smooth muscles. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol*, 1999;106(3):212-20.
18. Asgrimsson H, Johannsson M, Arnardottir SA. Excitation and contraction in atrial and ventricular myocardium of the guinea-pig. *Acta Physiol. Scand*, 1995;153(2):133-41.
19. Gocmen C, Kumcu EK, Secilmis A, Ucar P, Dikmen A, Baysal F. Restorative effects of zinc and selenium on nitregeric relaxations impaired by cadmium in the mouse corpus cavernosum. *Toxicol. Lett*, 2000;5;111(3):229-34.
20. Bayazit Y, Ertug PU, Urunsak M, Gocmen C, Aridogan IA, Turunc T, Singirik E. Effects of chronic cadmium exposure on contractility of the rat detrusor. *Urol. Res*, 2002;30(1):21-5.
21. Dere F. *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*. 5. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri LTD.Şti., 1999; 873-877.
22. Cunningham ET Jr, Sawchenko PE. Central neural control of esophageal motility. *Dysphagia*, 1990;5(1):35-51.
23. Gartner PL, Hiatt LJ. *Color Textbook of Histology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1997; 313-314.
24. Lesson TS, Lesson R, Paparo AA. *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1988;420-421.
25. İnce S. *Sindirim Kanalı* In; Junqueira LC, Carneiro J, Kelly OR, *Temel Histoloji*. İstanbul: Barış Kitabevi, 1993;346-348.
26. Wise LJ, Murray AJ ve Conklin LJ, Regional differences in oesophageal motor function. *Neurogastroenterol. Motil*, 2004;16:31-37
27. Diamont NE. Physiology of esophageal motor function. *Gastroenterol. Clin. Am*, 1989;18(2):179-194.

28. **Storr M, Geisler F, Neuhuber WL, Schusdziarra V, Allescher HD.** Characterization of vagal input to the rat esophageal muscle. *Auton. Neurosci*, **2001**;13;91(1-2):1-9.
29. **Richards WG, Sugarbaker DJ.** Neuronal control of esophageal function. *Chest. Surg. Clin. N. Am*, **1995**;5(1):157-71.
30. **Guyton CA ve Hall EJ.** *Tıbbi Fizyoloji*. 9. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti, **1996**;805.
31. **Park H, Conklin JL.** Neuromuscular control of esophageal peristalsis. *Curr. Gastroenterol Rep*, **1999**;1(3):186-97.
32. **Diamant NE.** Neuromuscular mechanisms of primary peristalsis. *Am. J. Med*, **1997**;103(5A):40S-43S.
33. **Diamant NE and El-Sharkawy TY.** Neuronal control of esophageal peristalsis: A conceptual analysis. *Gastroenterology*, **1977**;72: 546-556.
34. **Christensen J, Fang S, Rick GA.** NADPH-diaphorase-positive nerve fibers in smooth muscle layers of opossum esophagus: gradients in density. *J. Auton. Nerv. Syst.* **1995**;52(2-3):99-105.
35. **Morikawa S, Komuro T.** Distribution of myenteric NO neurons along the guinea-pig esophagus. *J. Auton. Nerv. Syst*, **1998**;74(2-3):91.
36. **Vittoria A, Costagliola A, Carrese E, Mayer B, Cecio A.** Nitric oxide-containing neurons in the bovine gut, with special reference to their relationship with VIP and galanin. *Arch. Histol. Cytol*, **2000**;63(4):357-68.
37. **Morikawa S, Komuro T.** Distribution of myenteric NO neurons along the guinea-pig esophagus. *J. Auton. Nerv. Syst*, **1998**;74(2-3):91-9.
38. **Hannibal J, Ekblad E, Mulder H, Sundler F, Fahrenkrug J.** Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) in the gastrointestinal tract of the rat: distribution and effects of capsaicin or denervation. *Cell Tissue Res*, **1998**;291(1):65-79.
39. **Singaram C, Sengupta A, Sweet MA, Sugarbaker DJ, Goyal RK.** Nitrinergic and peptidergic innervation of the human oesophagus. *Gut*, **1994**;35(12):1690-6.
40. **Singaram C, Sengupta A, Sugarbaker DJ, Goyal RK.** Peptidergic innervation of the human esophageal smooth muscle. *Gastroenterology*. **1991**;101(5):1256-63.
41. **James M.Watras, Muscle, Robert M.Berne Mattheww N.Levy Bruce M.Koeppen Bruce A.Stanton,** *Physiology*, 15th edition, Philadelphia, Elsevier Inc, **2004**,(223-231).

42. **Guyton AC, Hall JE.** Membran Fizyolojisi, Sinir ve Kas, Çavuşoğlu H. *Tıbbi Fizyoloji*. 9. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti,1996;73-84.
43. **Ganong WF.** Section II. Physiology of nevre & muscle cells. *In Review of medical physiology*. 21th edition, The McGraw-Hill COMPANIES, 2003;65-71.
44. **Lange S, Ehler E, Gaute M.** From A to Z and back?Multicompartment proteins in the sarcomere. *Cell Biology*, 2006;16:1.
45. **Joanna Moraczewska.** Structural determinants of cooperativity in acto-myosin interactions. *Acta Biochimica. Polonica*, 2002;49(4):805-812.
46. **MacIntosh BR.** Role of Calcium Sensitivity Modulation in Skeletal Muscle Performance. *News Physiol. Sci*, 2003;18:222-225.
47. **Kayaalp SO.** *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 11. Baskı, 1. Cilt, Ankara: Feryal Matbaacılık san veTic. Ltd. Şti, 2005;406-408.
48. **Goodman and Gilman's.** *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Eleventh edition, USA: .McGraw Hill Companies,. 2006. 150.
49. **Kayaalp SO.** *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 11. Baskı 2. Cilt., Ankara: Feryal Matbaacılık san veTic. Ltd. Şti, 2005; 925-928.
50. **Miller RJ.** Receptor-mediated regulation of calcium channels and neurotransmitter release. *FASEB J*, 1990; 4:3291-3299.
51. **Lumber S..** *Biochemistry*. 4th edition, New-York: W. H. Freeman and Company, 1995;291-309.
52. **Nelson LD, Cox MM.** *Principle of Biochemistry*. 3th, New-York: Worth Publishers, 2000;426-433.
53. **Kayaalp SO.** *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* 11. Baskı 1. Cilt., Ankara: Feryal Matbaacılık san veTic. Ltd. Şti, 2005;694-695.
54. **Bridges CC, Zalups RK.** Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2005;204(3):274-308.
55. **Wester RC, Maibach HI, Sedik L, Melendres J, DiZio S, Wade M.** In vitro percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin. *Fundam. Appl. Toxicol*, 1992;19(1):1-5.
56. **Elinder CG, Lind B, Kjellstrom T, Linnman L, Friberg L.** Effects of iron deficiency on the absorption and distribution of lead and cadmium in rats. *J. Lab. Clin. Med*, 1977;90(4):700-6.

57. **Elinder CG, Lind B, Kjellstrom T, Linnman L, Friberg L.** Cadmium in kidney cortex, liver, and pancreas from Swedish autopsies. Estimation of biological half time in kidney cortex, considering calorie intake and smoking habits. *Arch. Environ. Health.*, **1976**;31(6):292-302.
58. **Joseph P, Lei YX, Whong WZ, Ong TM.** Oncogenic potential of Mouse translation elongation factor-1 delta: a novel cadmium-responsive proto-oncogene. *J.Biol.Chem.*, **2002**;277: 6131-6136.
59. **Alexander SPH, Peter JA.** Receptor and I on Channel Nomenclature Supplement. *Elsevier Trends Journals.UK.* **1999**;99-100.
60. **Kuriyama H.** Physiological Feature of Visceral Smooth Muscle Cells with Special Reference to Receptors and Ion Channels. *Physiological Rev*, **1998**; 78 (3): 811-890.
61. **Paoletti R. and Spedding M.** Classification of Calcium Channels and Sites of Action of Drugs Modifying Channel Function. *Pharmacol. Rev*, **1992**;44(3):363-376.
62. **Mooren FC, Kinne RK.** Cellular calcium in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta.* **1998**;1406(2):127-51
63. **Kayaalp SO.** *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji.* 6. baskı, 2. Cilt, Ankara: Feryal Matbaacılık, **1992**;P:1180-1219
64. **Büyükaşar K.** İzole Fare Özofagus Longitudinal Segmentinin Elektriksel Uyariya Verdiği Kontraktıl Cevapların Bazı Özellikleri. Doktora tezi, *Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Adana, **1996**.
65. **Ramaswamy S, Geetha VS, Nazimudeen SK, Kameswaran L.** Carbachol-induced sensitivity changes in skeletal muscle and their mechanism of action. *Eur. J. Pharmacol.*, **1978**;52(2):197-200.
66. **Suzuki R, Kobayashi S.** Possible mechanisms related to contraction of the bovine iris sphincter in the presence of acetylcholine and carbachol. *Doc. Ophthalmol.*, **1988**;70(4):293-300
67. **Giniatullin RA, Samigullin DV, Grishin SN, Bukharaeva EA.** The effects of carbachol on the proximal and distal parts of frog motor nerve endings. *Neurosci. Behav. Physiol.*, **2002**;32(6):589-93
68. **De Lorenzo S, Veggetti M, Muchnik S, Losavio A.** Presynaptic inhibition of spontaneous acetylcholine release induced by adenosine at the mouse neuromuscular junction. *Br. J. Pharmacol.*, **2004**;142(1):113-24.
69. **Wang HX, Zhang WM, Sheng JZ, Wong TM.** High carbachol increases the electrically induced [Ca²⁺]_i transient in the single isolated ventricular myocyte of rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **1997**;319(1):91-9
70. **Foskett JK, Roifman CM, Wong D.** Activation of calcium oscillations by thapsigargin in parotid acinar cells. *J. Biol. Chem.*, **1991**;266(5):2778-82.

71. **Shmigol AV, Eisner DA, Wray S.** Simultaneous measurements of changes in sarcoplasmic reticulum and cytosolic $[Ca^{2+}]$ in rat uterine smooth muscle cells. *Physio*, **2001**;531(Pt 3):707-13.
72. **Tian L, Prior C, Dempster J, Marshall IG.** Hexamethonium- and methyllycaconitine-induced changes in acetylcholine release from rat motor nerve terminals. *Br. J. Pharmacol*, **1997**;122(6):1025-34.
73. <http://en.wikipedia.org/wiki/Physostigmine>(Electronic Encyclopedia). Erişim tarihi:15.1.2006
74. **Suzuki R, Kobayashi S.** Possible mechanisms related to contraction of the bovine iris sphincter in the presence of acetylcholine and carbachol. *Doc. Ophthalmol*, **1988**;70(4):293-300.
75. **Nishimura M, Tsutsui I, Yagasaki O, Yanagiya I.** Transmitter release at the Mouse neuromuscular junction stimulated by cadmium ions. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther*, **1984**;271(1):106-21.
76. **Cooper GP, Manalis RS.** Cadmium: effects on transmitter release at the frog neuromuscular junction. *Eur. J. Pharmacol*, **1984**;99(4):251-6.
77. **Le Dain AC, Madsen BW, Edeson RO.** Kinetics of (+)-tubocurarine blockade at the neuromuscular junction. *Br. J. Pharmacol.*, **1991**;103(2):1607-13.
78. **Brazil OV, Fontana MD, Heluany NF.** Nature of the postsynaptic action of crotoxin at guinea-pig diaphragm end-plates. *J. Nat. Toxins*, **2000**;9(1):33-42.
79. **Uchida W, Masuda N, Shirai Y, Shibasaki K, Satoh N, Takenada T.** The role of extracellular Ca^{2+} in carbachol-induced tonic contraction of the pig detrusor smooth muscle. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol*, **1994**;350(4):398-
80. **Protas L, Shen JB, Pappano AJ.** Carbachol increases contractions and intracellular Ca^{++} transients in guinea pig ventricular myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, **1998**;284(1):66-74.
81. **Badawi JK, Li H, Langbein S, Kamp S, Guzman S, Bross S.** Inhibitory effects of various L-type and T-type calcium antagonists on electrically generated, potassium-induced and carbachol-induced contractions of porcine detrusor muscle. *J. Comp. Physiol* **2006**;20:1-1.
82. **Trosper TL, Philipson KD.** Effects of divalent and trivalent cations on Na^{+} - Ca^{2+} exchange in cardiac sarcolemmal vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, **1983**;731(1):63-8.
83. **Hechtenberg S, Beyersmann D.** Inhibition of sarcoplasmic reticulum $Ca(2+)$ -ATPase activity by cadmium, lead and mercury. *Enzyme*, **1991**;45(3):109-15.
84. **Vergara J, Tsien RY, Delay M.** Inositol 1,4,5-trisphosphate: a possible chemical link in excitation-contraction coupling in muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci*, **1985**;82(18):6352-6.

85. Mould J, Dulhunty AF. Delayed contractures induced by external cadmium ions in rat soleus muscle fibres. *Pflugers. Arch*, 2000;439(3):263-70.
86. Wang HX, Ouyang M, Zhang WM, Sheng JZ, Wong TM. Different mechanisms for $[Ca^{2+}]_i$ oscillations induced by carbachol and high concentrations of $[Ca^{2+}]_o$ in the rat ventricular myocyte. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*, 1998;25(3-4):257-65.
87. Wang J, Best PM. Inactivation of the sarcoplasmic reticulum calcium channel by protein kinase. *Nature*. 1992;359(6397):739-41.
88. Seidler NW, Jona I, Vegh M, Martonosi A. Cyclopiazonic acid is a specific inhibitor of the Ca^{2+} -ATPase of sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* 1989;264(30):17816-23.
89. Uyama Y, Imaizumi Y, Watanabe M. Effects of cyclopiazonic acid, a novel Ca^{2+} -ATPase inhibitor, on contractile responses in skinned ileal smooth muscle. *Br. J. Pharmacol*, 1992;106(1):208-14.
90. Sekiguchi F, Shimamura K, Kawata K, Nakazawa Y, Saitoh R, Yanagitani Y, Sunano S. Effects of cyclopiazonic acid on contraction and intracellular Ca^{2+} in oesophageal striated muscle of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Br. J. Pharmacol*, 1999;128(5):961-8.
91. Watt MJ, Steinberg GR, Heigenhauser GJ, Spriet LL, Dyck DJ. Hormone-sensitive lipase activity and triacylglycerol hydrolysis are decreased in rat soleus muscle by cyclopiazonic acid. *Am. J. Physiol, Endocrinol Metab*, 2003;285(2):E412-9.
92. Lands LC, Grey VL, Smountas AA. Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance. *J. Appl. Physiol*, 1999;87(4):1381-5.
93. Viner RI, Williams TD, Schoneich C. Peroxynitrite modification of protein thiols: oxidation, nitrosylation, and S-glutathiolation of functionally important cysteine residue(s) in the sarcoplasmic reticulum Ca -ATPase. *Biochemistry*, 1999;38(38):12408-15.
94. Almazan G, Liu H, Khorchid A, Sundararajan S, Martinez-Bermudez AK, and Chemtob S. Exposure Of Developing Oligodendrocytes To Cadmium Causes Hsp72 Induction, Free Radical Generation, Reduction In Glutathione Levels, And Cell Death. *Free Radical Biology & Medicine*, 2000;29(9):858-869.
95. Braga MF, Rowan EG Reversal by cysteine of the cadmium-induced block of skeletal neuromuscular transmission in vitro. *Br. J. Pharmacol.*, 1992;107(1):95-100.
96. Resim S, Buyuknacar HS, Gocmen C, Onder S, Dikmen A. A possible effect of sulfhydryl reagents on the contractile activity of the rat detrusor muscle. *Eur. J. Pharmacol*, 2002;442(3):295-9.
97. Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *J. Biol. Chem*, 1994;269(13):9397-400.

98. **Behra R, Gall R.** Calcium/calmodulin-dependent phosphorylation and the effect of cadmium in cultured fish cells. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 1991;100(1-2):191-5.
99. **Geguchadze RN, Krylatov AV, Gusev NB.** Drug interaction with cardiac and skeletal muscle troponin C. *Biomed Sci*, 1990;1(1):37-42.
100. **Kurebayashi N, Ogawa Y.** Increase by trifluoperazine in calcium sensitivity of myofibrils in a skinned fibre from frog skeletal muscle. *J. Physiol*, 1988;403:407-24.



ÖZGEÇMİŞ

Olçay Ergürhan Kıroğlu 18.04.1965 yılında Erzurum'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara'da tamamladı. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesinden 1989 yılında mezun oldu. 1989-1991 yılları arasında Ankara Zübeyde Hanım Doğumevinde, 1991-1993 yılları arasında Ankara Yüksek İhtisas Hastanesinde, 1993-2000 yılları arasında Adana Karşıyaka Devlet Hastanesinde doktor olarak görev yaptı. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalında 2000 yılında 'Doktora' eğitimine başladı. Halen aynı anabilim dalında öğretim görevlisi olarak çalışmakta olan Olçay Ergürhan Kıroğlu, evli ve iki çocuk annesidir.

