

KADMIYUMUN VE AĞIR METAL ANTAGONİSTİ
OLAN TPEN (N,N,N,N_-tetrakis 2-pridimetil –
etilendiamin)' İN OVA KURBAĞASI (*Rana ridibunda*)
İSKELET KASI UYARILMA KASILMA AKTİVİTESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZGE ASLAN

MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Ali AŞKIN

MERSİN
ARALIK-2012

Özge ASLAN tarafından Doç. Dr. Ali AŞKIN danışmanlığında hazırlanan "Kadmiumun ve Ağır Metal Antagonisti Olan TPEN(N,N,N,N -tetrakis 2-piridimetil -etilendiamin)'in Öva Kurbağası (*Rana ridibunda*) İskelet Kası Uyarılma-Kasılma Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi " başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU

Doç. Dr. Ali AŞKIN

Doç. Dr. Yusuf ÇAMLICA



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28.12.2012 tarih ve 2012/24/791 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Murat GİZİR
Enstitü Müdürü

Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizimler ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 3846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine uyarlıdır.

KADMIYUMUN VE AĞIR METAL ANTAGONİSTİ OLAN TPEN (N,N,N,N_-tetrakis 2-pridimetil –etilendiamin)' İN OVA KURBAĞASI (*Rana ridibunda*) İSKELET KASI UYARILMA KASILMA AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZGE ASLAN

ÖZ

Bu çalışmada, izole edilen kurbağa (*Rana ridibunda*) gastroknemius kası (iskelet kası) kasılması ve aksiyon potansiyeli üzerine kadmiyum ile bir ağır metal antagonisti olan TPEN'in etkileri araştırılmıştır. 30-40 gr ağırlığındaki kurbağalardan izole edilen gastroknemius kaslarından preparatlar hazırlanmıştır ve oluşturulan gruplarda eşit sayıda preparat kullanılmıştır (n=7). Üç farklı dozda ($10^{-3}M$, $5 \times 10^{-4}M$ ve $10^{-4}M$) kadmiyum uygulanmış ve her preparattan bir saat boyunca her 15 dakikada bir (0, 15, 30, 45, 60. dakikada) kayıt alınmıştır. Bunun sonucunda doza ve zamana bağlı olarak azalan kasılmalar elde edilmiştir. Kadmiyum, aksiyon potansiyeli genliğini düşürmüş, alanı azaltmış, latansı ve süreyi artırmıştır; ayrıca sarsı genliğini düşürürken kasılma ve gevşeme sürelerini artırmıştır. Daha sonra aynı yöntemle kasa, sırasıyla her üç dozdaki kadmiyumla birlikte TPEN ($10^{-4}M$) uygulanmış ve kadmiyumun etkisini engellediği görülmüştür. Bu sonuçlar kadmiyumun, hücre dışı veya hücre içi kalsiyum ile etkileşerek kalsiyum iyonunun yerine geçmesiyle kalsiyum kanallarının bloke olmasına, böylece iskelet kası kasılmasının ve aksiyon potansiyelinin azalmasına neden olabileceğini ve bu durumda bir kalsiyum şelatörü olan TPEN'in engelleyici etkisi olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İskelet kası, aksiyon potansiyeli, kadmiyum, TPEN

Danışman: Doç. Dr. Ali AŞKIN, Mersin Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

**THE EXAMINATION OF CADMIUM AND A HEAVY METAL
ANTAGONIST TPEN'S (N,N,N,N_-tetrakis 2-pridimetil –etilendiamin)
EFFECT ON THE ACTIVITY OF A MARSH FROG SKELETAL MUSCLE
EXCITATION AND CONTRACTION**

ÖZGE ASLAN

ABSTRACT

This research, responses of contraction and potency of action obtained from the implementation of cadmium over the gastrocnemius muscle of an isolated frog and over these responses the effects of TPEN, an antagonist of heavy metal, are studied. The preparations, which were prepared from the isolated skeletal muscles (gastrocnemius) of frogs weighing 30 – 40 gr, and used in the preparation an equal number of groups formed (n=7). In three different dosages ($10^{-3}M$, $5 \times 10^{-4}M$ and $10^{-4}M$) the heavy metal cadmium was applied and in every 15 minutes through an hour, a registiration from each preparation was noted (0, 15, 30, 45, 60). As a result of this, diminishing contractions were noticed in paralel with dosage and duration factors. Under the findings , 'cadmium' reduced the amplitude of action potential, lessened the area, however; raised the duration and latency, while reducing the amplitude of sars , the duration of contraction and laxation was increased. Following this, with the help of the same procedure, along with TPEN, cadmium in each dosage was applied to the muscle respectively ($10^{-4}M$) and it was observed that this hindered the effect of cadmium. These results show that, cadmium, interacting with the intracellular or ectocytic calcium, and by replacing the calcium ion, inhibits the calcium transitions which pave the way for diminution of skeletal contractions and also shows that TPEN is a calcium chelator may have a prohibitive effect on this.

Key Words: Skelatal muscle, action potential, cadmium, TPEN

Advisor: Assoc. Doç. Dr. Ali AŞKIN, Department of Biology, University of Mersin

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana olan yardımlarından dolayı danışmanım sayın Doç. Dr. Ali AŞKIN' a teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte fikir ve görüşleriyle desteğini eksik etmeyen ve her konuda bana yol gösteren sayın Prof. Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU' na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince dostluğu ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan değerli ablam Arş. Gör. Fatma SÖĞÜT'e ve yardımlarını esirgemeyen tüm Tıp Fakültesi Biyofizik Bölümü asistanlarına teşekkür ederim.

Yaşamımın her aşamasında olduğu gibi yüksek lisans eğitimim süresince her anlamda benden desteğini ve yardımlarını esirgemeyen sevgili babam Hüseyin ASLAN'a, annem Filiz ASLAN'a ve kardeşim Caner ASLAN'a teşekkür ederim. Deneylerimin en zor aşamasında bana büyük desteği olan sevgili Cihan KAYA'ya ve tezimde emeği geçen tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

ÖZGE ASLAN

MERSİN 2012

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. İSKELET KASI.	3
2.1.1. Aksiyon Potansiyeli	4
2.1.2. Kalsiyum Kanalları ve Kasılmadaki Rolü	6
2.2. AĞIR METALLER.....	9
2.2.1. Kadmiyumun Yapısı ve Özellikleri.	9
2.2.2. Kadmiyumun Etkileri.....	9
2.3. TPEN.....	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM	14
3.1. DENEY HAYVANLARI	14
3.2. DENEY HAYVANLARININ DİSEKSİYONU	14
3.3. AĞIR METALLER.....	14
3.4. ÇÖZELTİLER.....	15
3.5. DENEY GRUPLARININ BELİRLENMESİ	15
3.6. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYITLAR	15
3.7. KADMİYUM DENEYLERİ	16
3.7.1. Aksiyon Potansiyeli Deneyleri.....	16
3.7.2. Kasılma Kuvveti (sarsı) Deneyleri.....	17

3.8. KADMİYUM + TPEN DENEYLERİ	17
3.8.1. TPEN Kontrol Grubu Deneyleri	17
3.8.2. Aksiyon Potansiyeli Deneyleri.....	17
3.8.3. Kasılma Kuvveti (sarsı) Deneyleri.....	18
3.9. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİMESİ.....	18
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	19
4.1. BULGULAR.....	19
4.1.1. Kadmiyumlu Ortamda Yapılan Aksiyon Potansiyeli Deneyleri.....	19
4.1.1.1. 10^{-3} M Kadmiyumun Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi	19
4.1.1.2. 5×10^{-4} M Kadmiyumun Akaiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi.....	20
4.1.1.3. 10^{-4} M Kadmiyumun Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi.....	20
4.1.2. 10^{-4} M TPEN Kontrol Grubu Aksiyon Potansiyeli Deneyleri	21
4.1.2.1. 10^{-4} M TPEN'in Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi.....	21
4.1.3. Kadmiyum ve TPEN İçeren Ortamda Yapılan Aksiyon Potansiyeli Deneyleri	22
4.1.3.1. 10^{-3} M Cd+ 10^{-4} M TPEN'in Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi.....	22
4.1.3.2. 5×10^{-4} M Cd+ 10^{-4} M TPEN'in Akaiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi.....	23
4.1.3.3. 10^{-4} M Cd+ 10^{-4} M TPEN'in Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi.....	23
4.1.4. Kadmiyumlu Ortamda Yapılan Sarsı Deneyleri	26
4.1.4.1. 10^{-3} M Kadmiyumun Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi.....	26
4.1.4.2. 5×10^{-4} M Kadmiyumun Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi.....	27

4.1.4.3. 10^{-4} M Kadmiyumun Sarsı Parametreleri	
Üzerine Etkisi.....	28
4.1.5. 10^{-4} M TPEN Kontrol Grubu Sarsı Deneylei	28
4.1.5.1. 10^{-4} M TPEN'in Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi	28
4.1.6. Kadmiyum ve TPEN İçeren Ortamda Yapılan Sarsı Deneylei.....	29
4.1.6.1. 10^{-3} M Cd + 10^{-4} M TPEN'in Sarsı Parametreleri	
Üzerine Etkisi.....	29
4.1.6.2. 5×10^{-4} M Cd + TPEN'in Sarsı Parametreleri	
Üzerine Etkisi.....	30
4.1.6.3. 10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN'in Sarsı Parametreleri	
Üzerine Etkisi.....	30
4.2. TARTIŞMA	34
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	39
KAYNAKLAR	40
EKLER	
EK 1. Kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	48
EK 2. Kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde sarsı parametreleri üzerine etkileşimi	49
ÖZGEÇMİŞ.....	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. İskelet kası yapısında bulunan bantlar ve yerleşimi	4
Şekil 2.2. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları alt birimleri.....	7
Şekil 2.3. TPEN'in moleküler yapısı	13
Şekil 3.1. Kurbağa gastrokinemius kasının izolasyonu ve organ banyosuna yerleşimi	14
Şekil 3.2. Kayıtlayıcı sistem.....	16
Şekil 4.1. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	24
Şekil 4.2. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile birlikte kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi	25
Şekil 4.3. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi	25
Şekil 4.4. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi	26
Şekil 4.5. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası sarsı genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi	31
Şekil 4.6. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası toplam sarsı süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi	32
Şekil 4.7. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası sarsı kasılma süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi	32
Şekil 4.8. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde <i>Rana ridibunda</i> gastrokinemius kası sars gevşeme süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi	33

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

M	: Molar
mM	: Milimolar
μ M	: Mikromolar
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
m	: Metre
cm	: Santimetre
°C	: Santigrat derece
Cd	: Kadmiyum
Ca ⁺⁺	: Kalsiyum iyonu
Na ⁺	: Sodyum iyonu
K ⁺	: Potasyum iyonu
Fe	: Demir
Mn	: Mangan
Cu	: Bakır
Zn	: Çinko
Pb	: Kurşun
Hg	: Civa
ATP	: Adenozin trifostat
ATPaz	: Adenozin trifosfataz
ADP	: Adenozin difosfat
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
ACh	: Asetilkolin
IP3R	: İnositol trifosfat reseptörleri
RyR	: Ryanodin reseptörleri
PIP2	: Fosfoinositol difosfat
NaCl	: Sodyum Klorür
KCl	: Potasyum klorür
CaCl ₂	:Kalsiyum klorür

NaHCO₃ : Sodyum bikarbonat

V : Volt

mV : Mili volt

ms : Milisaniye

AP : Aksiyon potansiyeli

1.GİRİŞ

Metaller, organizmaların yaşamında büyük öneme sahiptir. Bir çok fonksiyona sahip olan bu metaller, üç grup altında toplanır. Birincisi; canlıların yaşamlarını devam ettirebilmek için mutlaka alınması gereken esansiyel elementlerdir. Bunlar Ca^+ , Mg^{++} , K^+ , Na^{++} metalleridir. İkincisi; canlıların biyolojik aktivitelerini sürdürebilmeleri için düşük konsantrasyonlarda vücuda alınması gereken ancak yüksek konsantrasyonları toksik etki yapabilen Fe, Mn, Cu, Zn, Cr, Ni, Se, Co gibi yan elementlerdir. Üçüncüsü ise; organizmaların yaşamında herhangi bir biyolojik işlevi olmayan, çok düşük miktarları bile toksik etki yapan Hg, Pb, Cd gibi ağır metallerdir [1]. Ağır metaller, özgül ağırlığı 5 gr/cm^3 ' ten büyük ve atom numarası 22'den 92'ye kadar olan metallerdir ve organizma için gerekli olan diğer metallerle benzer metabolik ve kimyasal özellik göstermeleri nedeni ile bu metallerin yerine geçerek metabolik olayları engellemekte ve toksik etkilerini göstermektedir [2]. Ağır metaller doğal ortamda kayaçların ve maden cevherlerinin yapısında bulunmaktadır ve bunların aşınması ile suya ya da toprağa karışarak canlı vücuduna taşınmaktadır. Ancak bu metallerin su ve toprağa karışmasındaki en büyük neden pek çok alanda kullanılıyor olmasıdır [3]. Pek çok sanayi kuruluşu, ham madde olarak ağır metalleri kullanmakta ve atıkların salınımını kontrol altına almadığı takdirde tehlikeli sonuçlara sebep olabilmektedir [1].

Ağır metaller solunum, sindirim veya deri yoluyla vücuda girerler. Sindirim yolundan genellikle su ve besinler aracılığı ile taşınmaktadır. Özellikle yoğun miktarda kurşun içeren egzoz gazları, atmosferdeki gazlar aracılığı ile solunarak vücuda alınırlar [4]. İçme suyunun da ağır metal zehirlenmelerinin önemli kaynaklarından biri olduğu bildirilmiştir [4]. Ağır metaller doğal sulara eser miktarda bulunurken insan faaliyetleri sonucu, özellikle endüstriyel atıkların içme sularına karışmasıyla veya ağır metalle kirlenmiş partiküllerin atmosfere, oradan da toprağa ve topraktan da yeraltı sularına geçmesiyle konsantrasyonları gittikçe artmaktadır. Ayrıca bu endüstriyel faaliyetler sonucunda kirlenen toprakta yetişen bitkilerin ya doğrudan yenmesi, ya da etinden faydalandığımız hayvanlar tarafından yenmesi de ağır metallere maruz kalınmasına neden olmaktadır. Böylece ağır metaller besin zinciri ile de kolayca taşınabilmektedir [5]. Ağır metaller birikme eğiliminde oldukları için canlı türleri tarafından biriktirilerek besin zincirinin üst

tabakalarına kadar taşınmaktadır. Özellikle sucul ortamdaki ağır metallerin kolaylıkla insanlara taşınabildiği bildirilmiştir [6].

Ağır metaller sucul organizmaların vücuduna üç aşamada alınmaktadır. Öncelikle metal ortamda bulunan organik ve inorganik maddelerle etkileşime girerler. Daha sonra hücre zarındaki glikoprotein tabakasına bağlanarak zar yüzeyinde dağılır ve son olarak hücre zarının dış yüzeyindeki bağlanma yerleri ile etkileşime girer ve hücre zarından iç ortama iyon kanalları aracılığı ile alınırlar [7].

Bilinen en toksik ağır metal olan kadmiyum (Cd) 1817 yılında Alman kimyager Friedrich Strohmeyer tarafından $ZnCO_3$ 'den elde edilmiştir. Yeryüzünde kadmiyum oksit, kadmiyum klorür ve kadmiyum sülfat tuzları halinde bulunmaktadır [8]. Cd, vücuda solunum ya da sindirim yolu ile alınır. Solunum ile alınan Cd'nin % 15-30 u absorbe edilmektedir. Bilinen en önemli Cd kaynaklarından birisi sigaradır. Bir sigarada 1-2 μg Cd bulunur ve bunun %10 u solunum yolu ile alınır [9]. Gıdalarda yüksek düzeylerde alınan Cd'nin de akut toksikasyonlara neden olduğu ve 16 mg/Lt Cd içeren suların içilmesi sonucu kas ve eklem ağrıları, bulantı, kusma gibi semptomların görüldüğü bildirilmiştir [10]. Cd organizmalardaki hedef organları böbrekler, karaciğer, akciğer, pankreas ve kemiktir [11]. Cd sindirim ve solunum yolu aracılığı ile emilerek kana geçer ve vücudun belli yerlerinde depolanır [12]. Cd'nin böbrek, karaciğer ve kas dokularında biriktiği birçok çalışmada rapor edilmiştir [10, 13].

Amfibiler su ve tarım ekosistemindeki önemli organizmalardandır. Bunlar birçok pestisitın yanı sıra ağır metallerin de etkisine maruz kalmaktadır. Bu nedenle kimyasalların etkilerini ölçmek için tipik test hayvanlarıdır.

Yapılan araştırmalarda Cd'nin İskelet kası aktivitesi üzerine etkilerini inceleyen elektrofizyolojik çalışmalar sınırlı sayıdadır. Bu çalışmanın amacı, kadmiyumun ve bir ağır metal antagonisti olan TPEN'in in vitro koşullarda, kurbağa *gastrokinemius* kasında aksiyon potansiyeli ve kasılma aktivitesi üzerine etkisini doza ve zamana bağlı olarak araştırmaktır.

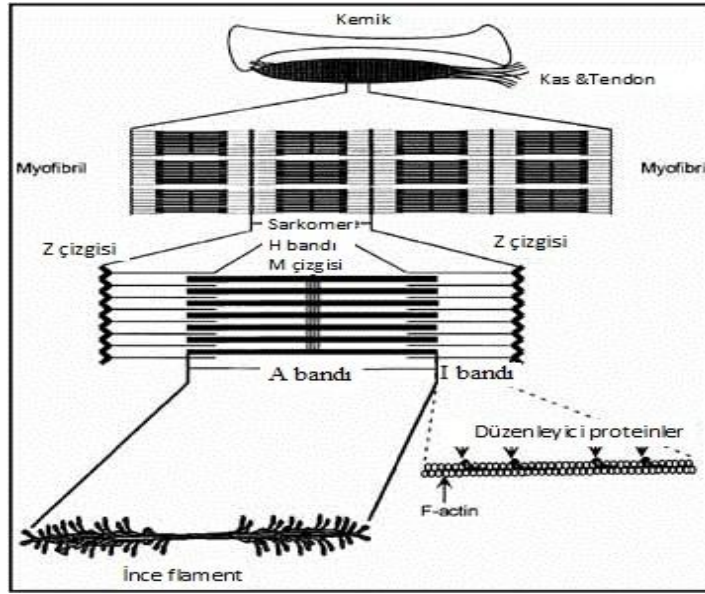
2.KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. İSKELET KASI

İskelet kasları, çapları 10-80 µm arasında değişen kas liflerinin bir araya gelip kas demetlerini oluşturması ile meydana gelir. Bu kas demetleri perimisyum denen bağ dokusu ile çevrilidir. Bu yapıda kan damarları ve sinirler bulunmaktadır [18]. Kas lifinin hücre membranı sarkolemma olarak adlandırılır. Bunun yapısı hücre membranı gibi protein, karbonhidrat, fosfolipit içeren polisakkarit bir tabakadan oluşmaktadır. Bu tabakanın en dışında kollajen iplikçikler bulunur. Kas liflerinin uçlarında sarkolemma'nın bu yüzey tabakası bir tendon lifiyle kaynaşır ve tendon lifleri de demetler halinde toplanarak kemiklere tutunur. Her kas lifi birkaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibril içerir ve bu miyofibriller sarkoplazma denilen bir matriks içinde asılı bulunurlar. Sarkoplazma sıvısı K, Mg, fosfat ve protein yapısındaki enzimleri içerir. Kas lifleri içinde sarkoplazmik retikulum adı verilen gelişmiş bir endoplazmik ağ sistemi bulunmaktadır. Bu yapı kas kasılmasının düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Kasılma için önemli olan Ca iyonlarına depo görevi yapmaktadır [19]. Sarkolemma'nın invaginasyonu sonucunda T-tübülü adı verilen yapı meydana gelmiştir. İçi sıvı ile dolu iki ayrı tübül sistemi olan bu yapı hücreyi dolanan bir ağ sistemi oluşturmaktadır. T-tübülü sarkoplazmik retikulumla birlikte sisterna denilen bir yapı oluşturur. Böylece merkezde T sistemi her iki yanda sarkoplazmik retikulum olmak üzere triad denen sistemi oluştururlar. Bu yapı bir Ca pompası görevi yapar [20].

Kas miyofibrilleri, yaklaşık 1500 miyozin filamentleri ve bunun iki katı kadar aktin filamentleri içerir. Aktin ve miyozin filamentleri kas kasılmasının işlevsel birimleridir. Kas lifinde sarkoplazma denilen bir matriks içinde asılı bulunurlar. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda miyozin kalın, aktin ise ince filament olarak görülmektedir. Bu filamentler birbirleri ile iç içe girdiği için koyu ve açık renkli bantlar şeklinde görülür (Şekil 2.1). Aktin filamentleri içeren kısım, polarlanmış ışığa karşı izotrop olduğundan I bandı adını alır. Miyozin filamentlerinin arasına giren aktin filamentlerinin uçlarındaki karanlık alan anizotrop olduğu için A bandı adını alır. Aktin filamentleri Z çizgisi adı verilen bir yapıyla birbirlerine bağlanmıştır. Bu Z çizgileri iskelet kasına çizgili bir görünüm kazandırır ve bu yapı

ile aktin ve miyozin filamentleri yan yana gelir. İki komşu Z çizgisi arasında kalan bölüm ise sarkomer olarak adlandırılır [20]. Sarkomerin ortalama boyu 2 µm. Bu uzunlukta iken aktin filamentleri, miyozin filamentlerini her iki yandan örtmüş durumdadır. Bir kas lifi çekilip gerildiğinde her sarkomerdeki aktin filamentlerinin uçları birbirinden uzaklaşmış olur. Bu durumda A bandının ortasında meydana gelen açık çizgi H bandı olarak adlandırılır [18,20]. Kas kasılması sırasında; A bandı kasılma süresince aynı kalırken, I bandı kısalır ve H bandı ise kaybolur [19].



Şekil 2.1. İskelet kası yapısında bulunan bantlar ve yerleşimi [70].

2.1.1. Aksiyon Potansiyeli

Kas kasılma mekanizması aksiyon potansiyeli (AP) ile başlar. İskelet kaslarında uyarılar, nöronlar tarafından oluşturulur. Kaslarda AP oluşturup kasılmayı başlatan nöronlar, motor nöronlardır. Kasın kasılması, kası innerve eden motor sinirlerin elektriksel aktivitesi ile kontrol edilir. Kas hücrelerinin uyarılmasıyla birlikte kas membranı dinlenme zar potansiyeli değişir ve depolarize olur ve böylece aksiyon potansiyeli gelişir. T-tübüller aracılığıyla AP kasın iç kısımlarına kadar taşınır. T-tübül membranındaki voltaja duyarlı proteinler, sarkoplazmik retikulumdaki Ca kanalları ile ilişki halindedir ve sarkoplazmik retikulumdan miyoplazma içerisine Ca^{++} bırakır. Bunun sonucunda intraselüler kalsiyum konsantrasyonu artar ve kas kontraksiyonu gerçekleşir. Aksiyon potansiyelinin pozitif potansiyellere doğru

değişim süreci depolarizasyon, yeniden dinlenme potansiyeline dönüş repolarizasyon, daha negatif potansiyele gidiş ise hiperpolarizasyon olarak adlandırılır. Uyarılabilir hücrelerdeki aksiyon potansiyeli yayılma hızı, dinlenme zar potansiyeli, aksiyon potansiyelinin tepe değeri ve süresi, hücre türüne göre değişir. Ancak, hücrede bir kez aksiyon potansiyeli ortaya çıkınca, büyüklüğünün ve zamanla değişim biçimi uyarının cinsi ve büyüklüğüne bağlı değildir. Fizyolojik olarak AP oluşumuna hormonlar, ısı, kimyasal faktörler ve elektromanyetik ışınlar da neden olabilir [21].

İki uyarılabilen doku (kas ve sinir) elemanlarının oluşturduğu uyarıların iletildiği bölgeye sinir kas kavşağı denir. Bir elektriksel uyarıyla birlikte sinir kas kavşağında asetilkolin salınımı gerçekleşir ve kas lifinde depolarizasyon gelişir [20]. Kas lifinin uyarılması ile oluşan AP sonucu meydana gelen kasılma ve bunu izleyen gevşemenin tümü kas sarsısı olarak adlandırılır. Kas kasılmasında, kas lifi membranındaki AP sonucunda depolarizasyon kas lifi içine doğru yayılır ve sarkoplazmik retikulumdan çok sayıda Ca iyonunun serbest kalmasına yol açar ve Ca iyonları aktin ve miyozin filamentleri arasındaki çekici güçleri başlatır. Kasılmadan önce çapraz köprü başları ATP ile bağlanır, miyozin başının ATPaz aktivitesiyle hemen parçalanır ancak, oluşan ADP ve Pi başa bağlı kalır. Bu safhada miyozin başı dik durumdadır ve aktin ile henüz bağlanmamıştır. Dinlenme halindeki kasta Troponin I aktinle bağlı durumdadır ve tropomiyozin, miyozin başlarının aktinle bağlanma noktalarını kapatır. Ca Troponin C ye bağlanınca troponin I'nin aktine olan bağlantısı zayıflar ve böylece tropomiyozin yatay olarak hareketlenir. Böylece miyozinin bağlanma noktaları açılır. Troponin, tropomiyozin kompleksi, Ca iyonuna bağlanır ve aktif bölgeleri açığa çıkarır. Çapraz köprü başı aktin filamentinin aktif bölgesine bağlanınca başta biçimsel bir değişiklik meydana gelerek çapraz köprünün kola doğru eğilmesine neden olur (güç vurumu). Bu şekil değişikliği, daha önce yıkılan ATP'den sağlanan enerjiyle gerçekleşir. Çapraz köprü başı eğilince, başa bağlı olan ADP ve Pi serbest kalır ve yeni bir ATP bağlanmasına neden olur. Baş aktinden ayrılınca yeni bir ATP molekülü yıkılır, açığa çıkan enerjiyle baş dikey pozisyona geri döner. Daha sonra yeni bir aktif aktin filamentine bağlanır ve olaylar zinciri devam eder. Bu işlem aktin filamentini Z membranını miyozin filamentinin uçlarına çekinceye kadar tekrar tekrar yenilenir [18, 21]. Kasılma gerçekleştikten sonra Ca iyonları tekrar sarkoplazmik retikulumda toplanır ve hücre içi Ca oranı bir

süre sonra azalmaya başlar ve miyozin ile aktin arasındaki etkileşim sona erer ve böylece kas gevşer [22].

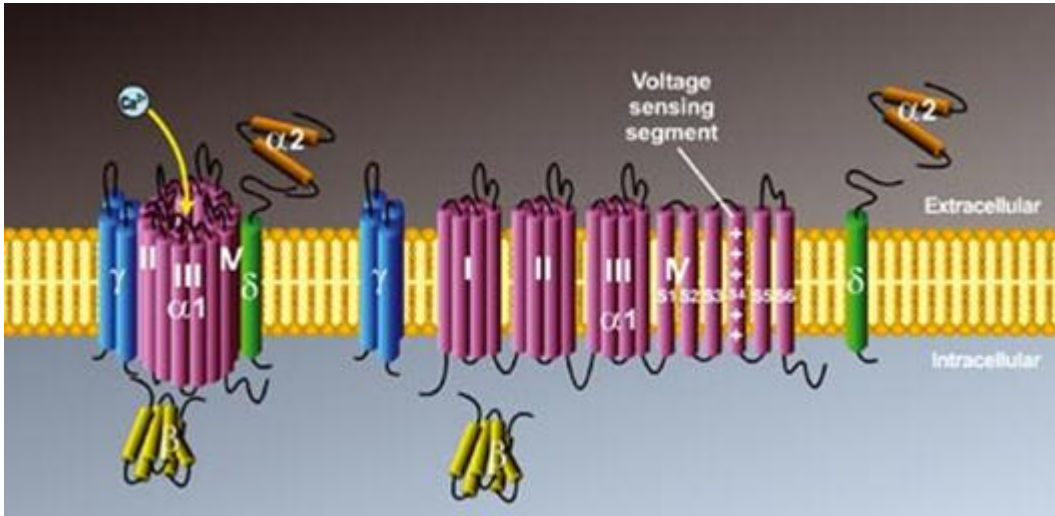
Kas kasılması yüksek enerji gerektiren bir biyolojik olaydır. Kas kasılıp gevşemesi için enerji kaynağı olarak ATP gereklidir. Kasılıp gevşeme döngüsü için gerekli ATP çeşitli yollardan sağlanır. Kas, aerob koşullar altında gerekli olan enerjiyi glikolizden sağlamaktadır. Ancak yeterli oksijenin sağlanmadığı ağır çalışmalar sonucunda kas kısa süreliğine anaerobik koşullarda da çalışabilir. Kas gerek solunum gerekse glikoliz olmadığı durumlarda da kasılabilir. Bu durumda enerji kreatin kinaz etkisi ile oluşan kreatin fosfattan elde edilir. Kreatin fosfatın hidrolizi sonucunda açığa çıkan enerji ADP nin ATP ye dönüştürülmesi için kullanılır. Yeterli kreatin fosfat olduğu sürece ATP içeriğinde bir azalma görülmez [21].

2.1.2. Kalsiyum Kanalları ve Kasılmadaki Rolü

Kas kasılmasında Ca kanalları büyük öneme sahiptir. Kas dinlenim halindeyken stoplazma içindeki Ca^{++} konsantrasyonu $0,1\mu M$ civarındadır. Uyarılma sonucunda hücre dışında serbest halde bulunan Ca^{++} , voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ile alınır [23]. Bunun yanı sıra Na-Ca değiş tokuş mekanizması da, Ca^{++} nın hücre içine alınmasını sağlar. Hücre depolarize olmuşsa, Ca^{++} kanallardan içeri girer, polarize olduğunda da tekrar dışarı çıkar. Ca^{++} hem hücre içi hem de hücreler arası etkileşimde önemli role sahiptir. Hücre içine giren Ca^{++} , sarkoplazmik retikulumda depo halinde bulunan Ca^{++} iyonunun salınımını sağlar. Stoplazmada artan Ca^{++} seviyesiyle kasılma mekanizması aktifleşir. Sonra hücre dinlenime geçerken Ca-ATP az pompası rol alır. İskelet kaslarında bu pompanın rolü önemlidir. Endoplazmik retikulum membranındaki Ca-ATPaz enzim aktivitesinin artması sonucu endoplazmik retikuluma tekrar Ca^{++} depo edilmesi gerçekleşir [24]. Ca kanalları üç farklı konumda bulunurlar; açık (aktive olmuş), kapalı (dinlenimde fakat aktive olabilir) ve açık ancak kalsiyumun geçişine elverişli olmayan inaktif konum [25]. Üç tip Ca kanalı vardır; Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları, ligant bağımlı kalsiyum kanalları ve depo boşalması ile aktive olan kalsiyum kanalları.

1-Voltaj Bağımlı Kalsiyum Kanalları: Hücre zarının içi ve dışı arasındaki elektrik yükü farklılığına bağlı olarak açılırlar. Hücre zarı depolarize olduğunda bu

kanallarda yavaşça açılırlar ve uzun süren yanıtlar verirler. Bu kanalların başlıca fonksiyonu, hücre yüzeyindeki elektriksel sinyalleri hücre içindeki fizyolojik olaylarla birleştirmektir. Voltaj bağımlı Ca kanalları, her biri altı transmembran segment içeren dört tane alt birimden oluşur [Şekil 1]. Bunlar alfa1 ($\alpha 1$), alfa2 ($\alpha 2$), beta (β) ve gama (γ) alt birimleridir [25]. $\alpha 1$ alt birimi, yaklaşık 2000 aminoasit rezidüsü içeren on alt birimden oluşur ($\alpha 1A$, $\alpha 1B$, $\alpha 1C$, $\alpha 1D$, $\alpha 1E$, $\alpha 1F$, $\alpha 1G$, $\alpha 1H$, $\alpha 1I$). Voltaj sensörü içeren $\alpha 1$ alt birimİ kasın uyarılması ve kasılması için önemlidir ayrıca $\alpha 2$ alt birimine sülfidril bağları ile bağlıdır. β alt birimi, yaklaşık 600 aminoasit dizilimine sahip dört alt birimden oluşur ($\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$). Kanalın aktivitesi ve inaktivitesinde rol alır, $\alpha 1$ alt birimi ile birlikte akımı önemli derecede artırabilir. δ alt biriminin ise 222 aminoasit dizilimine sahip olan üç alt birimi bulunmaktadır ($\delta 1$, $\delta 2$, $\delta 3$). İskelet kasında $\delta 1$ alt birimi daha çok bulunduğu bildirilmiştir ve fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber, α alt biriminin etkilerini artırdığı düşünülmektedir [26].



Şekil 2.2. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları alt birimleri [27].

Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları; aktive olması için gereken voltaj eşliğinin değeri ve inaktivasyon hızları gibi özelliklerine göre T-tipi, L-tipi, N-tipi, P-tipi, R-tipi ve Q-tipi olmak üzere altı gruba ayrılır [28]. T-tipi kalsiyum kanalları, düşük voltajla aktive olurlar ve kalp hücrelerinde bulunurlar, sinoatrial ve atrioventriküler düğümlerde depolarizasyonun başlatılmasında görev alırlar. En hızlı açılıp kapanan Ca kanallarıdır. L-tipi kanallar, kalp ve düz kas hücrelerinde bulunup yüksek voltajla aktive olan kanallardır. Yüksek iletkenlik ve uzun süreli akım verme özellikleri vardır. Bu kanallar T-tipi kanallarla birlikte damar düz kaslarının ve kalp kasının Ca

ile aktive edilmesini sağlar. N- tipi kanallar da yüksek voltajla aktive olurlar. Sinir terminallerinin depolarizasyonu ile nörotransmitter salınımına neden olurlar. N- tipi kanalların fonksiyonları G proteinleri gibi reseptöre bağlı ikinci haberci sistemler tarafından değiştirilebilir. N-tipi kanallar klasik Ca kanal blokerleri ile bloke olmamaktadır. Bu kanallar bir çeşit deniz salyangozundan elde edilen omega-konotoksin ile bloke edilmektedir. Kurbağa iskelet kasları motor sinir ucundaki Ca kanalları bu tip kanallardır [29]. P-tipi kanallar, yerleşme yeri ve fonksiyonu bakımından N-tipi kanallara benzerler. Memeli çizgili kaslarında ve motor sinir uçlarında bulunurlar. R-tipi ve Q-tipi kanallar da yüksek voltajla aktive olan kanallardır ve santral sinir sisteminde bulunurlar [30].

2- Ligant Bağımlı Kalsiyum Kanalları: Hücre dışından gelen reseptörlerin ya da ikincil habercilerin bağlanması ile aktive olurlar ve Ca^{++} iyonuna geçirgen hale gelirler [30]. Bu kanallar bir reseptöre kenetlenmiş durumdadır, ve reseptörün agonisti tarafından aktive olmasıyla açılırlar bu nedenle ligant kapılı kanallar aynı zamanda birer reseptördür. Voltaj bağımlı kanalları kolayca bloke eden Ca kanal antagonistleri bu kanalları bloke edemezler. Ayrıca bu kanallar G proteini, protein kinaz ve IP3 gibi ikinci haberciler ile de aktive olurlar [25]. Ligant bağımlı kanallara örnek olarak P2X pürinerjik reseptörleri veya nikotik asetilkolin reseptörleri (nAChR) verilebilir. Bu kanalların bazıları Ca dışındaki katyonlara da geçirgendir. Bu nedenle bu kanallar seçici olmayan katyon kanalları olarak da adlandırılırlar [31].

3- Depo Boşalması ile Aktive Olan Kalsiyum Kanalları: Bu kanalların aktivasyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir ancak hücre içi Ca^{++} depoları Ca sinyali sonucunda boşaldığı zaman, hücre dışından stoplazmaya doğru bu kanallardan Ca girişi olur. Bu şekilde Ca girişi kapasitif Ca girişi olarak adlandırılır. Bu kanallar hem Ca sinyalini hem hücre içi Ca dengesini düzenlerler. Ayrıca bu kanallar +3 değerlikli katyonlarla inhibe olmaktadır [32]. Hücre içi Ca depolarından Ca çıkışını sağlayan iki tip reseptör vardır. Bunlar; ryanodin ve inositol 1,4,5 trifosfat reseptörleridir (IP3R). Ryanodin reseptörleri (RyR), kas hücrelerindeki sarkoplazmik retikulumlardan Ca salınımını sağlar. RyR'ler, voltaj bağımlı Ca kanallarından hücre içine giren Ca tarafından aktive olur. Bu durum Ca etkili Ca salınımı olarak isimlendirilir. Bu durum kas kasılmasını sağlayan temel olaylardan biridir [33]. IP3R'ler de endoplazmik retikulumdan Ca salınımına neden olurlar ve

IP3 tarafından aktive olurlar ve yüksek derişimdeki Ca ile inaktif hale gelmektedir [34]. IP3 oluşumu; fosfolipaz C (PLC) tarafından, fosfaditil inositol 4,5-bifosfat (PIP2)'ın IP3 ve diaçilgliserole (DAG) parçalanması sonucunda gerçekleşmektedir [33].

2.2. AĞIR METALLER

Günümüzde pek çok alanda kullanılan ağır metaller canlıların sağlığını tehdit etmektedir. Özellikle endüstriyel faaliyetlerde kullanılan ağır metal atıklarının çevreye yayılması ciddi sorunlar yaratmaktadır [1]. Bu alanda yaygın olarak kullanılan ve ciddi toksik etkileri olan ağır metallere birisi de kadmiyumdur.

2.2.1. Kadmiyumun Yapısı ve Özellikleri

Cd, atom numarası 48 değeriği +2 dir. Atom ağırlığı 112,4 g/mol, erime noktası 321 °C, kaynama noktası 767 °C' dir. Gümüş renkli, yumuşak, eğilip bükülebilen toksik bir metaldir [35]. Cd toprakta hareketli bir elementtir ve bitkiler tarafından kolaylıkla alınır. Bitkiler tarafından alınmasıyla besin zincirine katılması ya da topraktan suya karışmasıyla önemli bir çevre ve sağlık sorunu oluşmaktadır [36]. Endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılan Cd'nin kullanımı 50 yıl öncesine dayanmaktadır. Genellikle kaplama ve galvanizasyon sanayinde kullanılmakla birlikte, kömür üretiminde, plastik yapımında, boya ve pil sanayinde, gübre sanayinde yaygın olarak kullanılmaktadır [37]. Bu endüstriyel faaliyetler sonucu ortaya çıkan atık sular yüksek konsantrasyonlarda ağır metal içermektedir. Bu suların arıtma işlemi yapılmadan akarsu, göl veya barajlara bırakılması hem ekolojik dengeyi bozmakta hem de canlıların sağlığını tehdit etmektedir [38]. Kadmiyumun yarılanma ömrünün 15-1100 yıl gibi uzun bir süre olduğu düşünülecek olursa Cd kirliliğinin önlenmesinin büyük önem teşkil ettiği anlaşılmaktadır [39].

2.2.2. Kadmiyumun Etkileri

Cd, canlılar için oldukça tehlikeli bir metaldir. İnsanlar Cd'ye çoğunlukla iki yoldan maruz kalır. Bunlar sindirim ve solunum yollarıdır. Deri yolu ile uzun süre maruz kalındığında çok az bir miktarı absorbe olmaktadır ve kadmiyumun deriden bu şekilde absorpsiyonu önemsizdir [40]. Gıdalar Cd maruziyeti açısından önemli kaynaklardır. Atık suların zirai amaçlı kullanılması sonucunda Cd toprağa geçer ve

besin zinciri ile insan ve hayvanlara taşınır. En çok yeşil yapraklı bitkiler, ay çiçeği, buğday, meyveler ve patates Cd biriktirir [41]. İçme suyu yada besin yolu ile alınan kadmiyum vücut tarafından kolayca emilerek kana karışmaktadır. Cd'nin suda en çok çözünen formu olan kadmiyum klorür (CdCl) oral yolla alınır ve vücudun belli bölgelerinde depolanır. Solunum yolu ile de kadmiyum mono oksit (CdO) formu vücuda alınmaktadır. Sigara kullanan insanlar büyük oranda CdO' ya maruz kalmaktadır. Sigara ile solunan Cd'nin %40-60 ı pulmoner epitelden geçerek direk sistemik dolaşıma katılmaktadır [42].

Yüksek dozlarda alınan Cd, insanlarda yüksek tansiyon, abdominal ağrı, bulantı, kusma, kemik kırılma hızında artma, merkezi sinir sistemi bozuklukları, böbrek rahatsızlıkları ve solunum yolu hastalıklarına neden olmaktadır [43]. Belçika'da Cd'ye maruz kalmış olan 1700 kişi üzerinde yapılan çalışmada idrardaki kadmiyum miktarının arttığı ve renal fonksiyon kaybına neden olduğu görülmüştür [44]. Yapılan çalışmalarda Cd'nin karsinojenik etkisinin de olduğu tespit edilmiştir. Uluslar arası kanser araştırma merkezlerine göre Cd kanser yapıcı kimyasal ajanlar arasında birinci sırada yer almaktadır [45]. Cd'nin akciğer kanseri, kan kanseri ve prostat kanserine neden olduğu rapor edilmiştir [46]. Uzun yıllar mesleki Cd' ye maruz kalan insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda akciğer hastalıklarına bağlı ölüm oranının arttığı rapor edilmiştir [41]. 1965 te İngiltere'de pil sanayinde çalışan işçilerde prostat kanserlerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar sonucunda karsinojenik etkisi gösterilmiştir [47]. Hücre kültürleriyle yapılan çalışmalarda ise Cd'nin mutasyonları tetiklediği, DNA zincirlerini kırdığı ve kromozomal defektlere neden olduğu görülmüştür [48]. Ayrıca deney hayvanları ve insanlar üzerine yapılan çalışmalara göre Cd'nin plasentada biriktiği ve plasental bozukluklara yol açarak doğum ağırlığını düşürdüğü, fetal büyümenin yavaşladığı görülmüştür [49]. Cd'nin en önemli kronik zehirlenmesi 1946 da Japonya'da görülmüştür. İtai-itai olarak adlandırılan hastalık maden atıkları ile kontamine olmuş nehir sularıyla sulanan pirinçlerin yenmesi sonucunda ortaya çıkmıştır. Hastalığın belirtileri bel ve kas ağrıları şeklinde başlamış ve ilerleyen safhalarda şiddetli romatizmal ağrılar, kemik yumuşaması, kemik kırılmaları ve kilo kaybı şeklinde belirtiler görülmüştür. 35 yıl içinde yaklaşık 100 kişinin bu hastalık nedeniyle öldüğü bildirilmiştir [50].

Dünya sağlık örgütüne göre, 60 kg bir insan için haftalık 0,4-0,5 mg tolere edilebilir olarak kabul edilmektedir. Düşük dozlarda hücre içine alınan Cd, dört farklı formu bulunan ve metal bağlayıcı bir protein olan metallothiyonein (MT) tarafından tutulur. MT bütün hücrelerde bulunan sistein bakımından zengin ve düşük molekül ağırlığına sahip bir proteindir [51]. Yapılan çalışmalar MT'in düşük dozdaki ağır metallerin detoksifikasyonuna neden olduğunu göstermektedir. MT, Zn gibi eser elementlere düşük afinite ile bağlıdır ancak hücre içine Cd gibi bir ağır metal girdiğinde MT, çinkodan ayrılarak daha yüksek afinite ile Cd'ye bağlanır ve böylece hücre içinde serbest kalmasını engeller [52]. Vücuda yüksek dozda alınan kadmiyumun %3-8'i akciğer ve böbreklerde birikmektedir. Bu miktar tüm vücuttakinin % 50'si kadardır. Cd'nin biyolojik yarılanma ömrü oldukça uzun olduğu için biriken Cd yaşa bağlı olarak artmaktadır [53].

Toksik metaller, hedef hücre içine moleküler ya da iyonik benzerlik yolu ile girmektedir. Bu metaller yapısal proteinlerin ya da enzimlerin yapısına katılarak hücre içine alınırlar. Cd'nin sindirim kanalından emilimi büyük oranda duodenum ve jejunum ile gerçekleşmektedir. Vücuda alındıktan sonra kana absorbe olmakta ve plazmada albümin aracılığı ile taşınmaktadır. Cd, organizmada Zn, Fe, Cu gibi esansiyel elementlerle etkileşime girerek bu elementlerin homeostasisini değiştirmektedir. Bu elementlerin fonksiyonunun bozulması ile Cd toksisitesi oluşmaktadır [54]. Cd toksisitesi öncesinde, Zn karaciğer hasarına karşı koruyucudur ancak Cd etkisiyle azalan Zn aktivitesi sonucunda renal hasarın arttığı bildirilmiştir [55]. Cd maruziyeti ile dokulardaki Cu miktarı da değişmektedir. Cu; kemik gelişimi, immün sistem ve nörotransmitter salınımı için önemli bir esansiyel elementtir [56]. Ayrıca kan hücreleri ve hemoglobinin üretimi için gereklidir ve eksikliği durumunda anemiye neden olabilmektedir. Bu nedenle Cd'ye bağlı Cu eksikliği önemli fizyolojik sorunlar doğurabilmektedir [57]. Cd, dokulara oksijen taşıyan hemoglobinin yapısında bulunan Fe'in ince bağırsaktan emilimini azaltarak dokulardaki Fe miktarının düşmesine ve Fe eksikliği anemisine neden olmaktadır [58].

Katyonic özelliğe sahip olan Cd, Ca kanallarıyla hücre içine girmektedir [54]. Ayrıca Cd; kalsiyum, demir ve çinko gibi esansiyel elementler ile iyonik benzerliğe sahiptir ve bu elementlerin taşınmasında rol alan membran proteinleri ile etkileşerek

hücre içine geçmektedir [59]. Cd, Ca⁺⁺ ile benzer bir metabolizmaya sahiptir. Ca⁺⁺ iyonu kas kasılmasında ve aksiyon potansiyeli oluşumu için oldukça önemli bir iyondur. Ca⁺⁺, iskelet kası sarkoplazmik retikulumunda depo edilmiş halde bulunur ve sarkoplazmik retikulumda bulunan ryanodin reseptörleri (RyR) ve inositol trifosfat reseptörlerinin (IP3R) uyarılması ile depo halindeki Ca⁺⁺ iyonları salınır ve aksiyon potansiyelinin oluşması ile kas kasılması gerçekleşir. Cd ağır metali, bu reseptörlerin uyarılmasına engel olmaktadır ve böylece Ca⁺⁺ iyonu salınımına da engellemektedir. Böylece kasılma mekanizması olumsuz etkilenmektedir [60, 61].

Yapılan çalışmalarda Cd'nin, D vitamini mekanizmasını bozarak kemik yapımını da olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Böylece D vitamini eksikliğine bağlı olarak Ca⁺⁺ ve P emilimi azalmakta, kemik çatısı zayıflamaktadır. Bu durum da kemik kırılabilirliğinde artma ve kemiklerde yumuşamaya neden olmaktadır [62].

Shepherd ve ark.[14] kadmiyumun arter kaslarına etkileri üzerine yaptıkları çalışmada, kurbağa arter kasının Cd tarafından bloke edildiğini göstermişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada Cd'nin kedi, sığır ve rat uterus kaslarında birikmesiyle birlikte uterus kasılmalarını engellediği görülmüştür [15].

Garcia ve ark. [16] kurbağa iskelet kası üzerinde yaptıkları çalışmada, sarkoplazmik retikulumdaki Ca kanallarının Cd tarafından bloke edilerek kasılma mekanizmasında değişikliklere neden olduğunu tespit etmişlerdir.

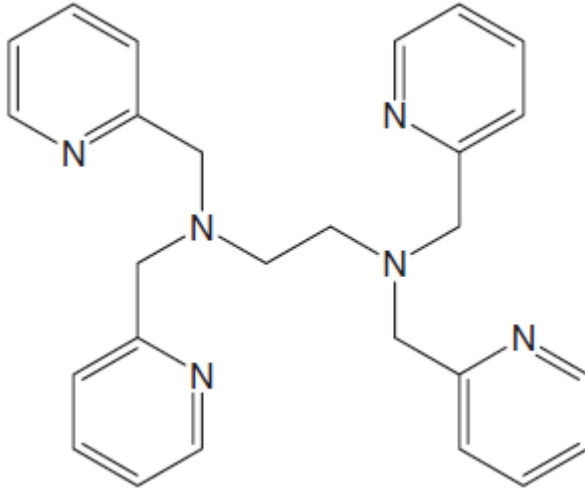
Koç ve ark. [17] Rat, onikiparmak bağırsak kasları üzerinde yaptıkları çalışmada Cd'nin, Ca⁺⁺ mekanizmasını olumsuz yönde etkilediğini ve kas aktivitesini baskıladığını rapor etmişlerdir. Cd toksisitesi sonucunda kalsiyum metabolizması da olumsuz etkilenmektedir. Cd, bazolateral Ca-ATPaz ları inhibe etmekte ve böylece Ca akışı azalmaktadır [12].

2.3. TPEN

Ağır metaller vücuda girdiğinde, vücutla daha fazla etkileşmeden atılmaları için ağır metal antagonistleri kullanılmaktadır. Bu işleme şelasyon terapisi denmektedir [63]. Şelasyon işlemi kısaca; minerallerin, aminoasit ve karbonhidratlarla bağlanması işlemidir [64]. Metal iyonu ile reaksiyona giren bileşikte iki veya daha fazla donör (verici) özelliğe sahip gruplar varsa bu durumda reaksiyon sonucunda bir veya daha fazla halka meydana gelir. Meydana gelen

molekül, şelat bileşiği ya da metal şelat bileşiği olarak adlandırılır. TPEN, yağda eriyen ya da hücre içine girebilen iki değerlikli katyonlar için kullanılan bir şelatördür [65].

TPEN'den ilk kez 1967 yılında Anderegg ve Wenk tarafından yapılan bir kimyasal çalışmada bahsedilmiştir. Ancak daha sonra Arslan ve ark. tarafından ilk kez 1985 yılında biyolojik sistemlerde yapılan çalışmalarda TPEN' in hücre zarından geçebilen bir ağır metal şelatörü olduğu rapor edilmiştir [86]. TPEN, geçiş metallerine yüksek afinite ile bağlanabilen bir şelatördür. Moleküler yapısı, altı azot donör ile hegzadental liganttan oluşmaktadır. Moleküler formülü $C_{26}H_{28}N_6$ 'dır [66] (Şekil 2). TPEN' in +2 değerlikli katyonlara yüksek ilgisi olduğu rapor edilmiştir. Özellikle TPEN, +2 değerlikli kadmiyum iyonuna daha yüksek afinite ile bağlanmaktadır [67]. Cd ile birleşen TPEN, Cd' u bloke ederek Ca^{++} metabolizması bozukluğuna engel olmaktadır. Hücre içine giren TPEN, Hücre içi Cd miktarının azalmasına ve böylece Ca^{++} akışını artırmasına neden olmaktadır [68]. Ayrıca TPEN' in sarkoplazmik retikulumdan Ca^{++} salınımını da düzenlediği bilinmektedir [87].



Şekil 2.3. TPEN'in Moleküler Yapısı [69].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. DENEY HAYVANLARI

Deneyleerde Sasu, Adana Su ve Tarım Ürünleri çiftliğinden temin edilen 30-40 gr ağırlığındaki, *Rana ridibunda* (Pallas 1771) cinsi kurbağalar kullanıldı. Kurbağalar laboratuarda, içerisinde dinlendirilmiş su bulunan akvaryum içinde adaptasyon sağlamaları için muhafaza edildi. Akvaryum suyu belirli aralıklarla değiştirildi ve sıcaklık 25-27 °C arasında tutuldu.

3.2. DENEY HAYVANLARININ DİSEKSİYONU

Kurbağalar kulak arkasından kesilerek spinal hale getirildi ve olası refleksleri önlemek için ince bir tel ile vertebral kolona girilerek omurilik (medulla spinalis) tahribatı gerçekleştirildi. Daha sonra kurbağaların sağ ve sol arka bacağındaki gastrokinemius kası izole edildi. İzole kaslar Ringer çözeltisi içine alındı ve sonra organ banyosuna asıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kurbağa gastrokinemius kasının izolasyonu ve organ banyosuna yerleşimi.

3.3. AĞIR METALLER

Deneyleerde etkin madde olarak Cd ağır metali kullanılmıştır. Ayrıca Cd'nin etki mekanizmasını açıklayabilmek için ağır metal antagonisti olan TPEN kullanılmıştır.

3.4. ÇÖZELTİLER

Deneyleerde kullanılan kadmiyum çözeltileri 100 mg Cd (CdCl₂ in H₂O) [109960,Merck 2012] stok kadmiyum klorür çözeltilisinden hazırlandı. Fizyolojik ortamın sağlanmasında Ringer çözeltilisi kullanıldı. Ringer çözeltilisi NaCl, 111,87 mM; KCl, 2,47 mM; CaCl₂, 1,08 mM; NaHCO₃, 2,38 mM (Ph= 7,2). Kadmiyuma antagonist olarak kullanılan TPEN çözeltileri, TPEN(N,N,N',N' -tetrakis-2-Pyridylmethyl ethylenediamine)' in [616394, Merck 2012] Ringer solüsyonunda çözülmesiyle elde edildi.

3.5. DENEY GRUPLARININ BELİRLENMESİ

Deneyleer üç grup halinde yürütüldü. Birinci grupta yalnızca kadmiyum, ikinci grupta yalnızca TPEN ve üçüncü grupta ise kadmiyumla birlikte TPEN uygulandı. Deneyle hayvanları her dozdaki deneyle için yedişerli gruplara ayrıldı. Kadmiyumun doza ve zamana bağılı etkilerini belirleyebilmek için 10⁻³, 5x10⁻⁴ ve 10⁻⁴ olmak üzere organ banyosu içinde üç dozda, 0.,15.,30.,45.,60. dakikalarda ölçümler alındı. Uygulanan dozlar ön denemeler sonucunda belirlendi. Sıfırncı dakikada alınan kayıtlar Ringer çözeltilisi içerisinde alındı ve bu kayıtlar her bir kas preparatında kontrol değeri olarak kabul edildi. Kontrol kayıtları alındıktan sonra organ banyosu tankına sırasıyla kadmiyum ve kadmiyum + TPEN dozları eklendi ve bir saat boyunca 15.,30.,45.,60. kayıtlar alındı. Tüm kayıtlar 25± 2 °C' de gerçekleştirildi.

3.6. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYITLAR

Kayıtlarda BİOPAC MP 100 kayıtlayıcı sistem kullanıldı. İzole kasların bir ucu sabitlenip diğere ucu ise izometrik kuvvet transducerine asıldı. Her kurbağanın bir bacağından AP kaydı alınırken diğere bacağından sarsı kaydı alındı. AP kayıtlarında her kas Ag/AgCl elektrotlar ile supramaksimal uyarı şiddetinde uyarıldı. Aksiyon potansiyeli kayıtları 16 bit A/D çevirici ile sayısal sinyallere çevrilerek bilgisayara aktarıldı. Kasılma (sarsı) kayıtları alınırken ise her kas için uygun ön gerim ayarlandıktan sonra, Ag/AgCl elektrotlar ile uyarıldı ve kayıt alındı. Elde edilen kasılma eğrileri BİOPAC acknowledge 100 W5.7 analiz programı ile analiz edilerek genlik (kasılma kuvveti) ile kasılma ve gevşeme süreleri ölçüldü.



Şekil 3.2. Kayıtlayıcı sistem

3.7. KADMİYUM DENEYLERİ

3.7.1. Aksiyon Potansiyeli Deneyleri

Kadmiyum stok çözeltisinden ($\text{CdCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 10^{-4}M Cd, $5 \times 10^{-4}\text{M}$ Cd, 10^{-3}M Cd olmak üzere Ringer ile üç farklı dozda Cd çözeltileri hazırlandı. Aksiyon potansiyeli deneyleri üç grup şeklinde yürütüldü. Her üç doz için yedi preparat hazırlandı ve AP kayıtları alındı. Önce 10^{-3}M Cd çözeltisi hazırlandı ve sırasıyla yedi prepatan 0., 15., 30., 45., 60. dakikalarda kayıtlar alındı. 0. dakikada alınan kayıtlar Ringer çözeltisi içinde kontrol kaydı olarak alındı. 15., 30., 45., 60. dakika kayıtları kas 10^{-3}M Cd çözeltisi içindeyken alındı. Daha sonra bu işlemler $5 \times 10^{-4}\text{M}$ Cd ve 10^{-4}M Cd çözeltileri için de aynen tekrarlandı. Böylece her doz için yedi tane olmak üzere AP yanıtları alındı. Bu deneyler sonucunda kaydedilen her doz için genlik, süre, area (alan) ve latans parametreleri ölçüldü.

Genlik (mV): Dinlenim membran potansiyeli ile aksiyon potansiyelinin maksimum değeri arasındaki potansiyel değer.

Süre (ms): Aksiyon potansiyeli başlangıcından membran zar potansiyeline kadar geçen süre.

Area (alan-mV.ms): Aksiyon potansiyelinin altında kalan bölüm.

Latans (ms): uyarı verildikten sonra aksiyon potansiyeli oluşumuna kadar geçen süre.

3.7.2. Kasılma Kuvveti (Sarsı) Deneyleri

Aksiyon potansiyeli deneylerinde olduğu gibi yine üç grup kullanıldı. Bu grupları da 10^{-3} M Cd, 5×10^{-4} M Cd, 10^{-4} M Cd çözeltileri oluşturdu. Her üç dozda yedişer preparata Ag/AgCl elektrotlar yardımı ile uyarı verildi ve transduser ile sarsı kayıtları elde edildi. Sıfıncı dakikalar kontrol kayıtları olup kas Ringer içerisindeyken alındı ve diğer sürelerdeki kayıtlar her on beş dakikada bir sırasıyla farklı dozlardaki kadmiyum çözeltileri içindeyken alındı. Kaydedilen her dozun gruplarından genlik, kasılma süresi ve gevşeme süresi parametreleri ölçüldü.

3.8. KADMIYUM + TPEN DENEYLERİ

3.8.1. TPEN Kontrol Grubu Deneyleri

TPEN, deneylerde kadmiyuma antagonist olarak kullanıldı. Kas üzerinde TPEN'in tek başına etkisini görebilmek için öncelikle TPEN'in kontrol grubu oluşturuldu. Kontrol grubu için 10^{-4} M TPEN çözeltisi hazırlandı. Bu çözelti 100 mg TPEN (616394, Merck 2012)' in Ringer içinde çözülmesi ile oluşturuldu. Daha sonra izole edilen kaslar AP ve sarsı grubu olmak üzere iki grup halinde çalışıldı. Yedi adet kurbağanın bir bacağından AP kaydı alınırken diğer bacağından sarsı kaydı alındı. Her kayıt yine 0., 15., 30., 45., 60. dakikalarda olmak üzere bir saat boyunca tekrarlandı. Sıfıncı dakikalar sadece Ringer içinde alınırken diğer sürelerdeki kayıtlar Ringer ile hazırlanmış 10^{-4} M TPEN çözeltisi içinde alındı. Daha sonra kadmiyum deneylerinde olduğu gibi AP ve sarsı parametreleri ölçüldü.

3.8.2. Aksiyon Potansiyeli Deneyleri

Bu aşamada TPEN' in kadmiyumla birlikte uygulandığında nasıl bir etki göstereceğini görmek için 10^{-4} M TPEN çözeltisi, 10^{-3} M Cd, 5×10^{-4} M Cd ve 10^{-4} M Cd çözeltileri ile hazırlandı. Bu aşamada da üç farklı grup oluşturuldu (Tablo 1). Birinci grup; 10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN, ikinci grup; 5×10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN, üçüncü grup ise 10^{-3} M Cd + 10^{-4} M TPEN ile oluşturuldu. Her grupta yedi preparattan alınan kayıtlarda AP' nin genlik, süre, area ve latans parametreleri ölçüldü.

3.8.3. Kasılma Kuvveti (sarsı) Deneyleri

Deneylerin bu aşamasında ise bir önceki aşamada olduğu gibi Cd + TPEN grupları kullanıldı (10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN, 5×10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN, 10^{-3} M Cd + 10^{-4} M TPEN). Her grupta yedi preparattan alınan sarsı kayıtlarının genlik, kasılma süresi ve gevşeme süresi parametreleri ölçüldü

3.9. SONUÇLARIN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMESİ

Veriler istatistiksel olarak SPSS 11.5 paket programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı kolmogorov- Smirnov testi ile kontrol edildi. Ölçümler aynı kas üzerinden farklı sürelerde alındığı için Cd ve TPEN' in zamana bağlı etkileri tekrarlayan ölçümlü varyans analizi yöntemi kullanılarak belirlendi. Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için ise Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılığın sınırı $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. BULGULAR

4.1.1. Kadmiyumlu Ortamda Yapılan Aksiyon Potansiyeli Deneyleri

Aksiyon potansiyeli deneylerinde; Cd'nin üç farklı dozunun (10^{-3} M Cd, 5×10^{-4} M Cd, 10^{-4} M Cd) genlik, süre, alan ve latans parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan her ölçümde 0. dakika Ringer Çözeltisi içinde alındığı için kontrol olarak kabul edilmiştir. Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

4.1.1.1. 10^{-3} M Kadmiyumun Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; 0. dakikada alınan ilk kasılma kaydından sonra 10^{-3} M Cd uygulanmış ve 15., 30., 45., 60. dakika kayıtları alınmıştır. Yapılan zamansal ölçümlerde genliğin %23 azaldığı görülmüştür (Şekil 4.1). Buradaki azalış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Zamanlar arası karşılaştırma yapıldığında ise 15. ve 30. dakikalar arasındaki azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$).

Süre; AP süre ölçümleri 0. dakika ile karşılaştırıldığında 15., 30., 45., 60. dakikalarda sürenin uzadığı görülmüştür. 60. dakikada 0.dakikaya göre süre %7 uzamıştır (Şekil 4.2). Ölçümler 0. dakika ile karşılaştırıldığında süredeki artışın anlamlı olduğu görülmüştür($p < 0,001$, $n=7$). Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 15. ve 30. dakikalar arasındaki artış anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$).

Alan; 15., 30., 45., 60. dakikalarda yapılan alan ölçümleri 0.dakika ile karşılaştırıldığında 10^{-3} M Cd'nin alanı küçülttüğü görülmüştür. 60. Dakikada alan, kontrole göre %16 azalmıştır (Şekil 4.3). Zamansal ölçümler kontrol ile karşılaştırıldığında alandaki küçülmenin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,001$, $n=7$). Kendi aralarında yapılan karşılaştırmada ise istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır.

Latans; AP latansı zaman bağlı olarak 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında, 15., 30., 45., 60. dakikalarda anlamlı bir şekilde artış olduğu görülmüştür ($p < 0,01$, $n=7$). 60. dakikada, 0. dakikaya göre latans %7 artmıştır (Şekil 4.4). Zamansal ölçümlerin kendi aralarında yapılan karşılaştırmada ise 15. ile 30.

dakikalar ve 30. ile 45. dakikalar arasındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

4.1.1.2. 5×10^{-4} M Kadmiyumun Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; ilk kasılma kaydı (0. dakika) ile birlikte 5×10^{-4} M Cd uygulaması ile alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından 15., 30., 45., ve 60. dakikalarda genlik değerleri ölçülmüştür. Bu değerler 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında genlikte istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış olduğu görülmüştür. ($p < 0,05$, $n=7$). 60. dakikada, 0. dakikaya göre genlikte %19 düşüş meydana gelmiştir (Şekil 4.1). Zamansal ölçümlerin kendi aralarında yapılan değerlendirmesinde istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.

Süre; 5×10^{-4} M Cd uygulaması ile alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından 0.,15., 30., 45., ve 60. dakikalardaki süre ölçümlerinde artış olduğu görülmüştür (Şekil 4.2). Zamansal ölçümler 0. dakika ile karşılaştırıldığında artışın anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$).

Alan; 5×10^{-4} M Cd AP alanını zamana bağlı olarak 15., 30., dakikalarda azaltmış; 45., ve 60. dakikalarda yeniden artırmıştır (Şekil 4.3). 0. Dakika ile yapılan zamansal karşılaştırmalarda aralarındaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür. Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 30. ve 45. dakikalar arasındaki artışın anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$).

Latans; AP latansı zaman bağlı olarak 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında, 15., 30., 45., 60. dakikalarda artış görülmüştür. Ancak değerlerin hem kontrol kaydı ile hem de kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark görülmemiştir.

4.1.1.3. 10^{-4} M Kadmiyumun Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; 0. dakika sadece Ringer çözeltisi içinde, kontrol olmak suretiyle 15., 30., 45., ve 60. dakikalarda ise kasa 10^{-4} M Cd içeren Ringer uygulaması sonrasında alınan kayıtlardaki aksiyon potansiyeli değişkenlerinden genlik değerleri ölçülmüştür. Ek 1.'de görüldüğü gibi, AP genliği ölçümleri 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında genlikte anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür ($p < 0,001$, $n=7$).

10^{-4} M Cd AP genliğini 60. dakikada 0.dakikaya göre % 10 düşürmüştür (Şekil 4.1). Zamanlar arası karşılaştırmada istatistiksel bir anlamlılık görülmemiştir.

Süre; AP süre ölçümleri 0. dakika ile karşılaştırıldığında 15., 30., 45., 60. dakikalarda artmıştır (Şekil 4.2). Ancak 0. ve 15. dakika ile 0. ve 30. dakika ölçümleri arasında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$). Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise azalış anlamlı bulunmamıştır.

Alan; 10^{-4} M Cd AP alanını zamana bağlı olarak 15., 30., 45., 60. dakikalarda azaltmıştır. Bu azalış 0. dakika ile 60. dakika arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$). 10^{-4} M Cd AP alanını 60. dakikada 0.dakikaya göre %10 küçültmüştür (Şekil 4.3). Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.

Latans; AP latansı zaman bağlı olarak 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında, 15., 30., 45., 60. dakikalarda artış görülmüştür (Şekil 4.4). Burada 0. ve 15. dakika ölçümleri arasındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$). 10^{-4} M Cd AP latansında %8'lik bir artışa neden olmuştur.

4.1.2. 10^{-4} M TPEN Kontrol Grubu Aksiyon Potansiyeli Deneylemleri

Bu grupta kasa 10^{-4} M TPEN uygulaması ile TPEN' in tek başına AP parametreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

4.1.2.1. 10^{-4} M TPEN'in Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; ilk kayıt kas Ringer içinde iken, sonraki kayıtlar ise kas 10^{-4} M TPEN içindeyken alınmıştır. 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan genlik ölçümleri 0. Dakika ölçümleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Süre; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan süre ölçümlerinin 0. dakika ile ve kendi aralarında yapılan karşılaştırmada istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.

Alan; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan alan ölçümlerinin 0. dakika ile ve kendi aralarında yapılan karşılaştırmada istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.

Latans; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan latans ölçümlerinin 0. dakika ile ve kendi aralarında yapılan karşılaştırmada istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.

4.1.3. Kadmiyum ve TPEN İçeren Ortamda Yapılan Aksiyon Potansiyeli Deneyleri

Bu aşamada TPEN'in Cd üzerindeki etkisini görebilmek için üç farklı dozdaki Cd grubu (10^{-3} M Cd, 5×10^{-4} M Cd, 10^{-4} M Cd), ayrı ayrı 10^{-4} M TPEN ile birlikte uygulanmış ve her 15 dakikada bir alınan AP kayıtlarından genlik, süre, alan ve latans ölçümleri değerlendirilmiştir.

4.1.3.1. 10^{-3} M Cd+ 10^{-4} M TPEN'in Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; 0. dakika AP kaydı sadece Ringer'li ortamda, sonraki kayıtlar 10^{-3} M Cd+ TPEN' li ortamda alınmak suretiyle 0., 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan genlik ölçümlerinin karşılaştırılmasında genliğin kontrole göre anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür ($p < 0,001$, $n=7$). 60. dakikada genlik, 0. dakikaya göre %20 azalmıştır (Şekil 4.1). Zamanlar arası karşılaştırma yapıldığında ise 15. ve 30. dakika ölçümleri arasındaki azalışın anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

Süre; AP süre ölçümleri 0. dakika ile karşılaştırıldığında 15., 30., 45., 60. dakikalarda artmıştır. 60. Dakikada süre, kontrole göre %7 artmıştır (Şekil 4.2). AP süresindeki bu uzama istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$, $n=7$). Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Alan; 0., 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan alan ölçümlerinde kontrole göre küçülme olduğu görülmüştür (Şekil 4.3). Alandaki bu küçülme istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$). Zamansal ölçümlerin kendi aralarında yapılan karşılaştırmasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Latans; AP latansı zaman bağılı olarak 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında, 15., 30., 45., 60. dakikalarda artış görülmüştür (Şekil 4.4). Zamansal ölçümler kontrol ile karşılaştırıldığında latans artışının anlamlı olduğu

görülmüştür. ($p < 0,05$, $n=7$). Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

4.1.3.2. 5×10^{-4} M Cd+ 10-4M TPEN'in Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; ilk aksiyon potansiyeli kaydı sadece Ringer'li ortamda, sonraki kayıtlar 5×10^{-4} M Cd + TPEN' li ortamda alınmak suretiyle 0., 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan genlik ölçümlerinde kontrole göre azalış olduğu görülmüştür (Şekil 4.1). Zamansal ölçümler 0. dakika ile karşılaştırıldığında 60. dakikada, genlikteki %20'lik azalış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$). Kendi aralarında yapılan karşılaştırmada ise anlamlı bir fark görülmemiştir.

Süre; AP süre ölçümleri 0. dakika ile karşılaştırıldığında 15., 30., 45., 60. dakikalarda artmıştır (Şekil 4.2). Ölçümler 0.dakika ölçümü ile karşılaştırıldığında aralarındaki artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$). Kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.

Alan; 0., 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan alan ölçümlerinde kontrole göre alanın anlamlı bir şekilde küçüldüğü görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$). 60. dakikada, 0. dakikaya göre alan %23 küçülmüştür (Şekil 4.3). Zamansal ölçümlerin kendi aralarında yapılan karşılaştırmada istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.

Latans; AP latansı zaman bağılı olarak 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında, 15., 30., 45., 60. dakikalarda artış görülmüştür (Şekil 4.4). Ölçümlerin kendi aralarında ve kontrol ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

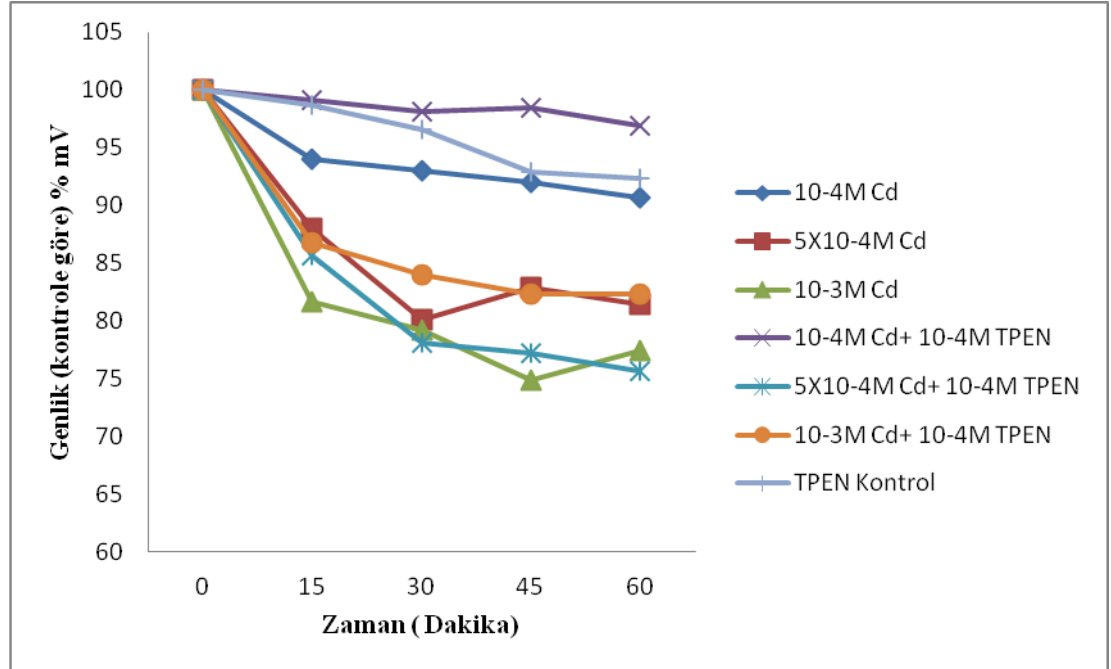
4.1.3.3. 10^{-4} M Cd+ 10^{-4} M TPEN'in Aksiyon Potansiyeli Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; Sadece Ringer Çözeltisi içinde alınmış olan 0. dakika ile birlikte Cd ve TPEN uygulaması ile alınan 15., 30., 45., 60. dakikalarda ölçümler alınmıştır. Zamansal ölçümlerde azalış olduğu görülmüştür ancak ölçümler, kendi aralarında ve 0. dakika ölçümü ile karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlılık görülmemiştir.

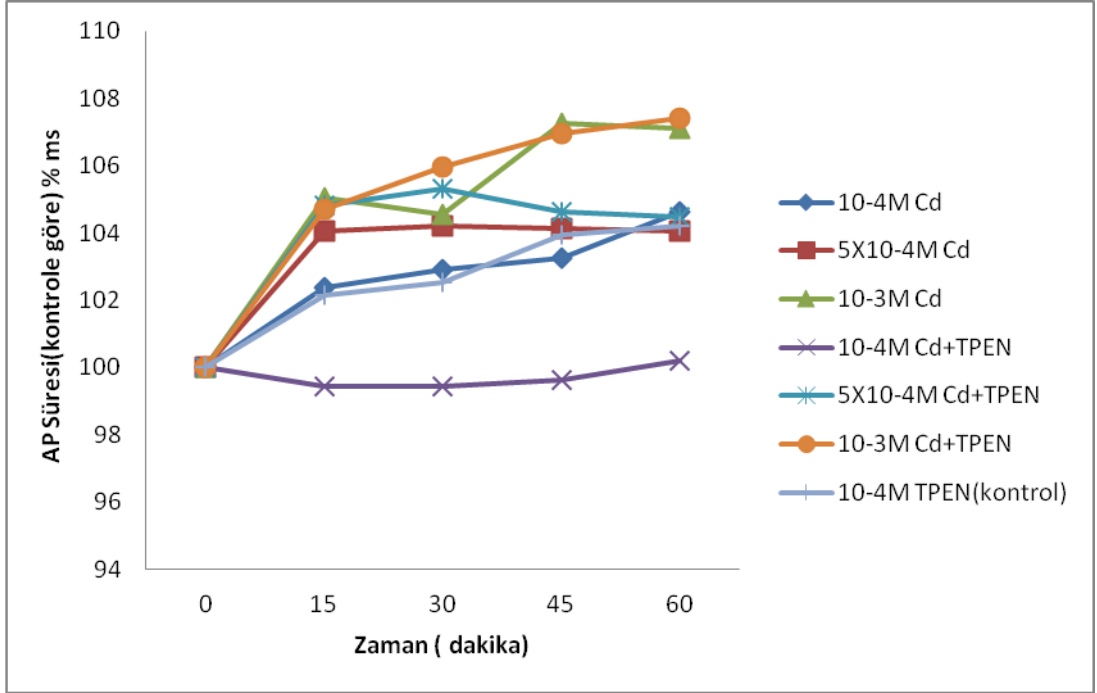
Süre; 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan süre ölçümlerinde 0. dakikaya göre azalış görülmüştür. Yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Alan; 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan alan ölçümlerinde 0. dakikaya göre anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür.

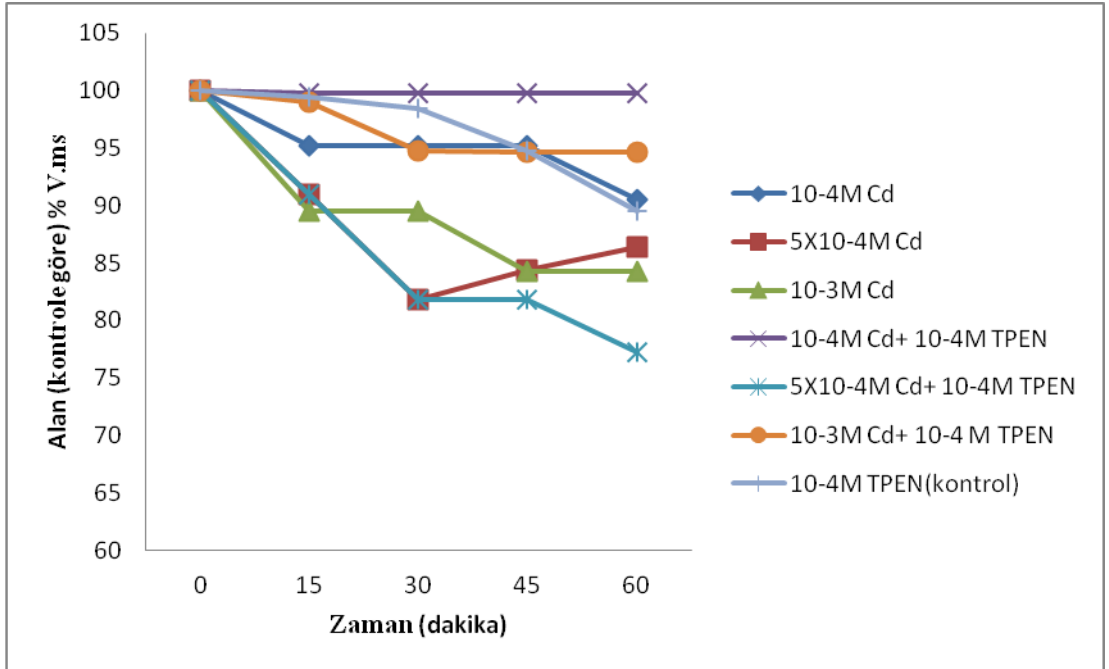
Latans; 0., 15., 30., 45. ve 60. dakikalarda alınan aksiyon potansiyeli kayıtlarından yapılan latans ölçümlerinin hem kontrol grubu ile hem de kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür.



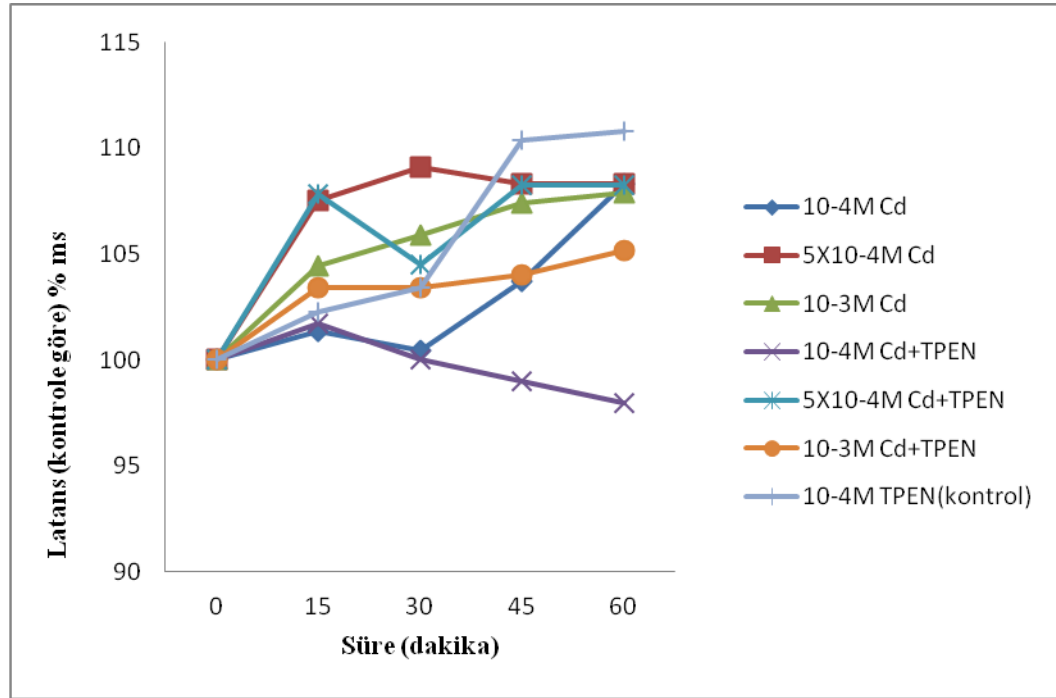
Şekil 4.1. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.2. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

4.1.4. Kadmiyumlu Ortamda Yapılan Sarsı DeneYleri

Sarsı deneylerinde kastan elde edilen kasılma yanıtından genlik, kasılma süresi gevşeme süresi ve toplam süre olmak üzere dört parametre ölçülmüştür. Aksiyon potansiyeli deneylerinde olduğu gibi her parametre üç farklı doz için değerlendirilmiştir. Ringer Çözeltisi içinde alınan 0. dakika kayıtları kontrol olarak kabul edilmiştir.

4.1.4.1. 10^{-3} M Kadmiyumun Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; Diğer dozlarda olduğu gibi 0. dakika kontrol olmak üzere 15., 30., 45., 60. dakikalarda 10^{-3} M Cd uygulaması ile alınan kayıtlardan ölçülen genliklerde azalış görülmüştür. 60. dakika sonunda 10^{-3} M Cd, sarsı genliğini kontrole göre %49 düşürmüştür (Şekil 4.5). Buradaki azalış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında da aralarındaki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$).

Kasılma Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda yapılan ölçümlerin 0. dakika ile karşılaştırılması sonucunda kasılma sürelerinin azaldığı görülmüştür (Şekil 4.7).

Ölçümler kontrol ölçümüyle ve kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık olmadığı görülmüştür.

Gevşeme Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan gevşeme süresi ölçümlerinin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda 0. ve 15. dakika arasındaki azalışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$).

Toplam Süre; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan toplam sarsı süresi ölçümlerinin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda sarsı süresinin uzadığı görülmüştür (Şekil 4.6). Buradaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$). Zamansal ölçümler arası karşılaştırmalarda istatistiksel anlamlılık görülmemiştir

4.1.4.2. 5×10^{-4} M Kadmiyumun Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; 15., 30., 45., 60. dakikalarda yapılan genlik ölçümlerinin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılmasında genliğin azaldığı görülmüştür. 60. dakika sonunda 5×10^{-4} M Cd, sarsı genliğini kontrole göre %17 azaltmıştır (Şekil 4.5). Buradaki azalış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Ölçümler hem 0. dakika değeri ile hem de kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$).

Kasılma Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan kayıtlardan yapılan kasılma süresi ölçümlerinde kasılma süresinin kontrole göre kısaldığı görülmüştür (Şekil 4.7). Zamansal ölçümlerin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılmasında 0. ve 15. İle 0. ve 30. dakikalar arasındaki azalış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$). Ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Gevşeme Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda yapılan ölçümler 0. dakika ölçümü ile karşılaştırıldığında gevşeme süresinin uzadığı görülmüştür (Şekil 4.8) ancak ölçümlerin 0. dakika ile ve kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Toplam Süre; Zamansal ölçümlerin 0. dakika ile karşılaştırılması sonucunda 5×10^{-4} M Cd'nin toplam sarsı süresini arttırdığı görülmüştür (Şekil 4.6). 0., 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan kayıtlardan yapılan gevşeme süresi ölçümlerinin kendi

aralarında yapılan karşılaştırmasında 30. ve 45. dakikalar arasındaki artışın anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$).

4.1.4.3. 10^{-4} M Kadmiyumun Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; 0. dakikadaki kayıt, kas sadece Ringer içindeyken alınmış sonra 15., 30., 45., 60. dakika kayıtları kas 10^{-4} M Cd içeren Ringer içinde alınmıştır. Zamansal ölçümlerin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılmasında, sarsı genliğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış olduğu görülmüştür ($p < 0,001$). 10^{-4} M Cd, sarsı genliğini 60. dakikada kontrole göre %26 azaltmıştır (Şekil 4.5). Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında aralarındaki azalış anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Kasılma süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda yapılan ölçümlerin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılmasında ilk 15 dakikada kasılma süresinin arttığı sonraki zaman dilimlerinde azaldığı görülmüştür. Zamansal ölçümler 0. dakika ile karşılaştırıldığında kasılma süresindeki uzamanın anlamlı olduğu görülmüştür (Şekil 4.7). Ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise 15. ve 30. dakikalardaki ölçümler arasındaki artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$).

Gevşeme süresi; Gevşeme süresinde yapılan zamansal ölçümlerin kendi aralarında ve 0. dakika ile yapılan karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Toplam süre; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan kayıtlardan yapılan toplam süre ölçümlerinin, 0. dakika ve kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark görülmemiştir.

4.1.5. 10^{-4} M TPEN Kontrol Grubu Sarsı Deneyle

Bu grupta 10^{-4} M TPEN'in tek başına sarsı parametreleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

4.1.5.1. 10^{-4} M TPEN'in Sarsı Parametreleri üzerine etkileri

Genlik; 0. dakikadaki kayıt, kas sadece Ringer içindeyken alınmış sonra 15., 30., 45., 60. dakika kayıtları kas 10^{-4} M TPEN içeren Ringer içinde alınmıştır. Zamansal ölçümlerin 0. dakika ölçümü ile ve kendi aralarında yapılan

karşılaştırmada sarsı genliğinde istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Kasılma Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda yapılan kasılma süresi ölçümleri, 0. dakika ölçümü ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Gevşeme Süresi; Zamansal ölçümler 0. dakika ile karşılaştırıldığında gevşeme süresinde artış görülmüştür ve bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.8). Ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 15. ve 30. dakika arasındaki artış anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Toplam Süre; 15., 30., 45., 60. dakikalarda yapılan toplam süre ölçümlerinin kendi aralarında ve 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır.

4.1.6. Kadmiyum ve TPEN İçeren Ortamda Yapılan Sarsı Deneyleleri

4.1.6.1. 10^{-3} M Cd + 10^{-4} M TPEN'in Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; ilk sarsı kaydı kas, Ringer Çözeltisi içindeyken alınmış ve daha sonraki kayıtlar kas, 10^{-3} M Cd + 10^{-4} M TPEN çözeltisi içindeyken alınmıştır. Böylece 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı genliklerinin ölçümleri 0. dakika ölçümü ile karşılaştırıldığında genliğin düştüğü görülmüştür. 60. dakika sonunda genlik, kontrole göre %21 azalmıştır (Şekil 4.5). Zamansal ölçümler kendi aralarında ve 0. dakika ölçümleri ile karşılaştırıldığında aralarındaki azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p< 0,05$, $n=7$).

Kasılma Süresi; 0., 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan kasılma süresi ölçümlerinin hem kendi aralarında hem de 0. dakika ile yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Gevşeme Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan gevşeme süresi ölçümlerinin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda istatistiksel anlamlılık görülmemiştir.

Toplam Süre; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan toplam süre ölçümlerinin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda toplam sarsı süresinin azaldığı görülmüştür (Şekil 4.6). Bu azalış istatistiksel açıdan anlamlı

bulunmuştur. Kendi aralarında yapılan karşılaştırmada ise 15. ve 30. dakikalar arasındaki azalışın anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$)

4.1.6.2. 5×10^{-4} M Cd + TPEN'in Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi

Genlik; ilk sarsı kaydı kas, Ringer Çözeltisi içindeyken daha sonraki kayıtlar da kas, 5×10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN çözeltisi içindeyken alınmıştır. 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan genlik ölçümlerinin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda genliğin anlamlı bir şekilde azaldığı görülmüştür ($p < 0,05$). 60. Dakika sonunda genlik kontrole göre %19 azalmıştır (Şekil 4.5). Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 15. ve 30. dakikalar ile 30. ve 45. dakikalardaki ölçümler arasındaki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$).

Kasılma Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan kasılma süresi ölçümlerinin 0. dakikayla ve kendi aralarında yapılan karşılaştırma sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Gevşeme süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan gevşeme süresi ölçümlerinin 0. dakika ölçümü ile karşılaştırılması sonucunda sürenin kısaldığı görülmüştür ancak burada istatistiksel bir anlamlılık bulunmamıştır.

Toplam Süre; ; 0., 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan toplam süre ölçümlerinin hem kendi aralarında hem de 0. dakika ile yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

4.1.6.3. 10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN'in Sarsı Parametreleri Üzerine Etkisi

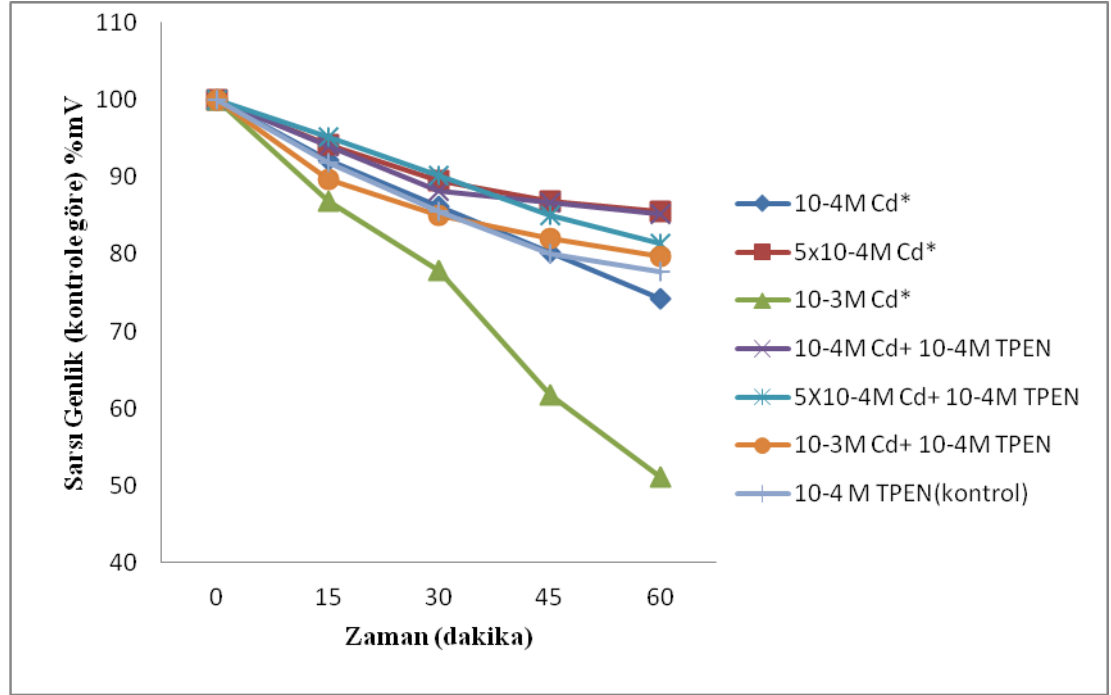
Genlik; ilk sarsı kaydı kas, Ringer Çözeltisi içindeyken; sonraki kayıtlar da kas, 10^{-4} M Cd + 10^{-4} M TPEN çözeltisi içindeyken alınmıştır. 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan genlik ölçümleri 0. dakika ölçümü ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir azalış olduğu görülmüştür (Şekil 4.5). Zamansal ölçümlerin de kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda aralarındaki azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$, $n=7$).

Kasılma Süresi; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan sarsı kayıtlarından yapılan kasılma süresi ölçümleri 0. dakika ölçümü ile karşılaştırıldığında kasılma süresinin kısaldığı ve buradaki azalışın anlamlı olduğu görülmüştür (Şekil 4.6).

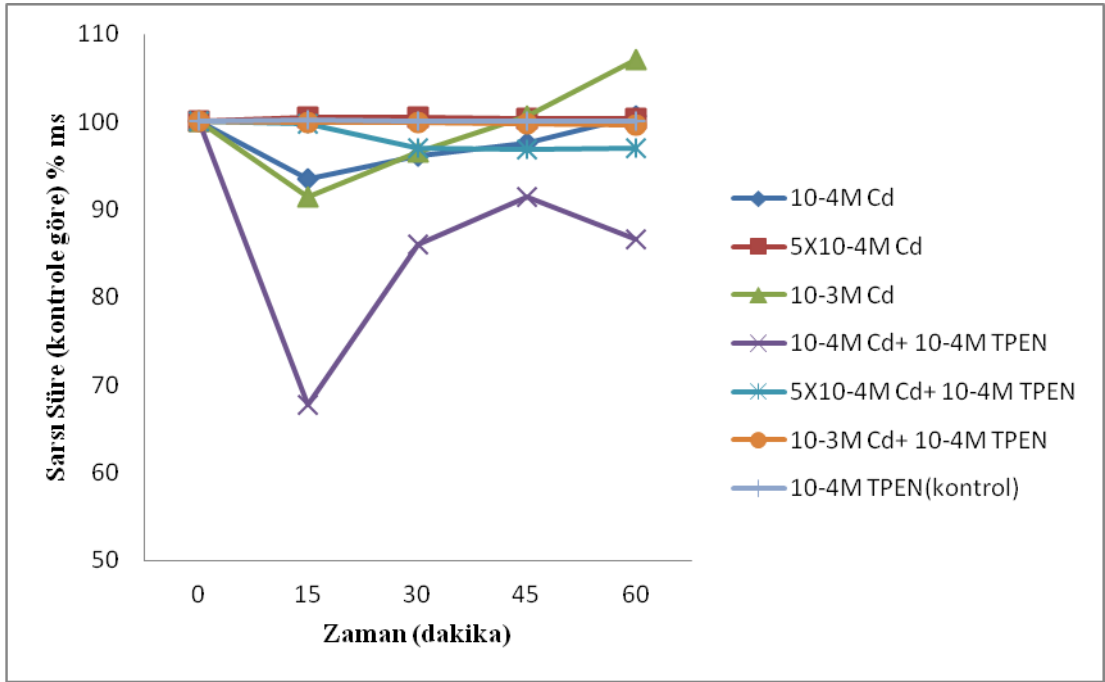
Zamansal ölçümler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise 15. ve 30. dakikalardaki azalışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$, $n=7$).

Gevşeme Süresi; Zamansal ölçümler ayrı ayrı 0. dakika ölçümüyle ve kendi aralarında karşılaştırıldıktan sonra istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

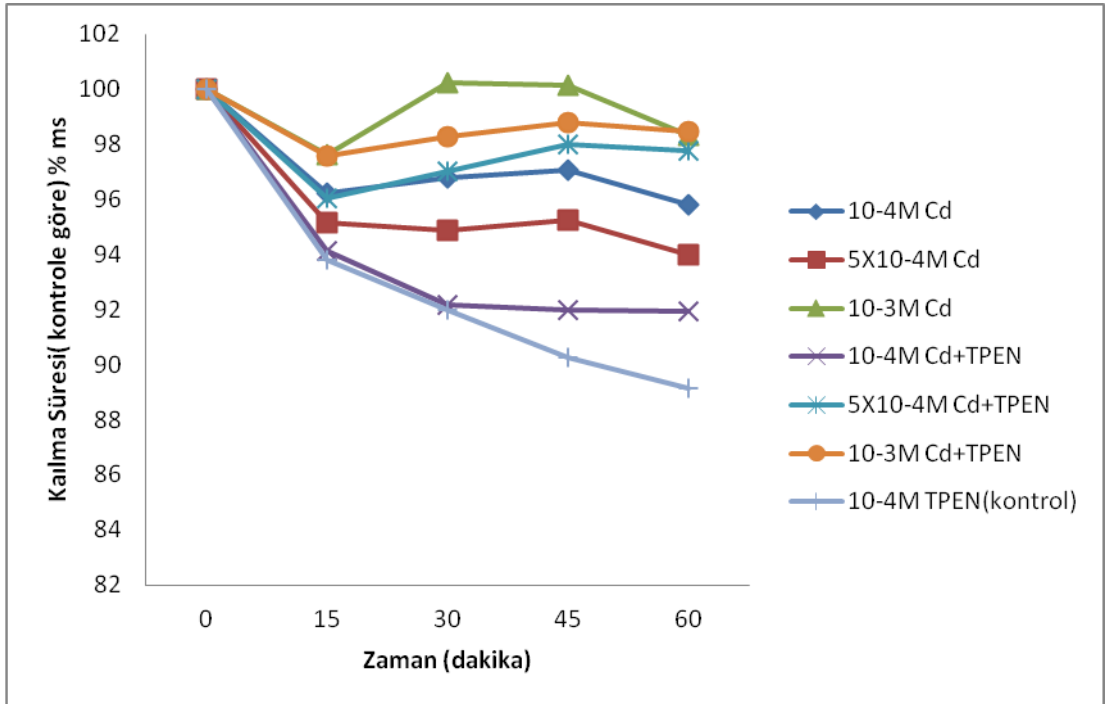
Toplam Süre; 15., 30., 45., 60. dakikalarda alınan kayıtlardan yapılan toplam süre ölçümlerinin, 0. dakika ve kendi aralarında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir fark görülmemiştir.



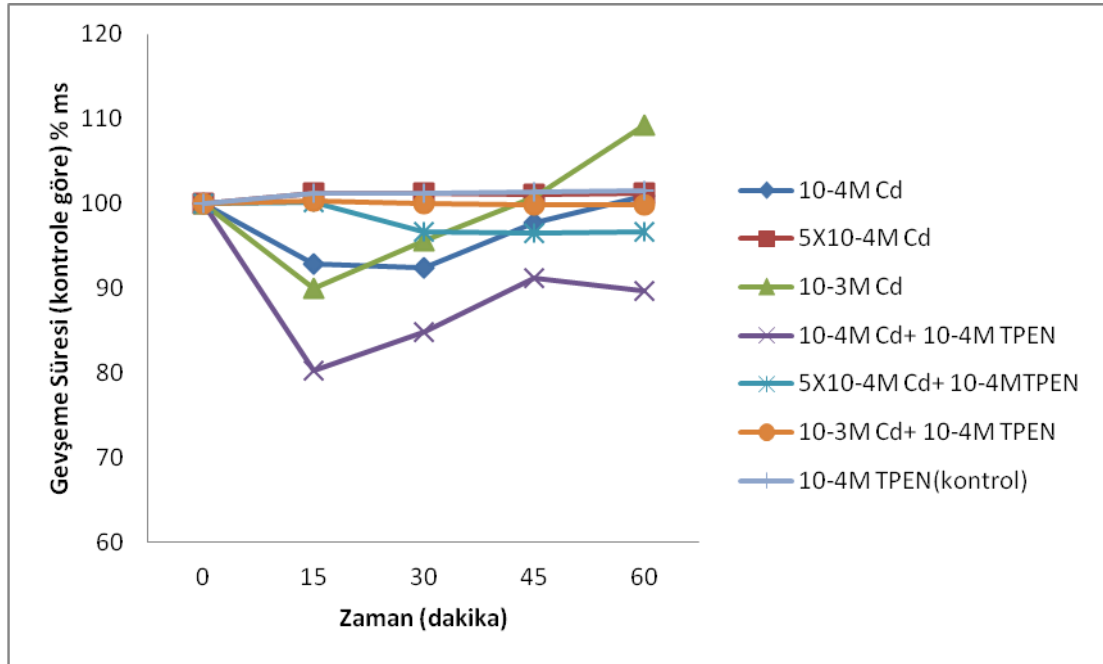
.Şekil 4.5. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası sarsı genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.6. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası toplam sarsı süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.7. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası sarsı kasılma süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.8. Farklı dozlarda kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde *Rana ridibunda* gastrokinemius kası gevşeme süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi; Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

4.2. TARTIŞMA

Bu çalışmada, farklı doz ve sürelerde bir ağır metal olan kadmiyumun ve ağır metal antagonisti olan TPEN'in *Rana ridibunda* gastrokinemius kası (iskelet kası) aksiyon potansiyeli ve sarsı parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. İzole kurbağa gastrokinemius çizgili kasına Cd uygulaması ile alınan kayıtların, kontrol grupları ile karşılaştırılması sonucunda aksiyon potansiyeli ve sarsı parametrelerini etkilediği görülmüştür. Özellikle aksiyon potansiyeli ve sarsı genliklerinde doza ve zamana bağlı olarak azalan yanıtlar elde edilmiştir. İskelet kasının kasılması için bir dizi moleküler mekanizma bulunmaktadır [19, 20, 21] ve bu çalışmada Cd'un kasılma kuvveti üzerine etkisinin bu mekanizmanın hangi aşamasında ortaya çıkabileceği yorumlanmaya çalışılmıştır. Cd'nin etkisini ortadan kaldırabilmek ve etki mekanizmasının Ca kanalları aracılığıyla olup olmadığını anlamak için, Ca kanallarına etki edebilen bir ağır metal antagonisti olan TPEN kullanılmıştır ve TPEN' in bu konuda bloke edici etkisi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu antagonistin tek başına kasılma üzerine etkisi olup olmadığı da araştırılmıştır.

Cd'nin 10^{-3} M, 5×10^{-4} M ve 10^{-4} M'lık dozlarının zamana bağlı olarak aksiyon potansiyeli genliğini düşürdüğü, alanı küçülttüğü, latans ve kasılma sürelerini uzattığı görülmüştür. Sarsı parametrelerinde ise; sarsı genliğini azalttığı, kasılma ve gevşeme sürelerini artırdığı görülmüştür. Her üç dozun bu etkileri genellikle uygulamanın 15. dakikasından itibaren ortaya çıkmıştır. Cd'nin 10^{-3} M, 5×10^{-4} M ve 10^{-4} M'lık dozlarının ayrı ayrı 10^{-4} M TPEN ile birlikte uygulanması sonucunda, TPEN'in 10^{-4} M Cd üzerine engelleyici bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Burada, TPEN Cd'nin inhibe edici etkisini ortadan kaldırmıştır. TPEN, diğer dozlarla birlikte uygulandığında Cd'nin inhibisyon etkisini engelleyememiş fakat kontrol değerlerine daha yakın değerler elde edilmiştir. Buradan yola çıkılarak 10^{-4} M TPEN, çalışılan en düşük doz olan 10^{-4} M Cd üzerinde antagonistik etkiyi gösterdiği için uygulanan Cd dozuna bağlı olarak TPEN'in de dozunun artırılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Literatürde Cd'un TPEN ile birlikte kurbağa iskelet kası aksiyon potansiyeli ve sarsı parametreleri üzerine etkileri ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle bulguları doğrudan karşılaştırma olanağı olmamıştır.

Garcia ve ark. *Rana montezumae*' den izole edilen iskelet kası üzerinde voltaj- klamp tekniği ile kadmiyumun etkilerini araştırmışlardır. 1mM Cd ile yapılan

deneylerde aksiyon potansiyeli üzerinde geri dönüşümlü etkisini göstermişlerdir. Cd, Ca kanallarının DHPR bölgelerine bağlanarak bu kısmı bloke etmiş bu da Ca^{++} salınımını olumsuz etkilemiştir. Bu çalışmadaki Cd' yi iskelet kası üzerine etkisi tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla örtüşmektedir [16].

Kara ve ark. in vitro koşullarda rat, sığır ve kedi uteruslarında oksitosinle kasılma gerçekleştirdikten sonra 0,01 mM Cd uygulamış ve kasılma amplitüdü ile frekansının azaldığını göstermişlerdir. Kadmiyumun hücre içi uyarılma mekanizmalarını bozduğu ya da miyometriyumdaki Ca kanallarını bloke ettiği kanısına varmışlardır [15] . Benzer şekilde Francini ve ark. rat iskelet kasında voltaj klamp tekniği ile yaptıkları çalışmada Cd'un Ca kanallarını bloke ettiğini göstermişlerdir [71]. Dulhunty ve ark. ise rat soleus kası ile yaptıkları çalışmada 3mM Cd'un aksiyon potansiyeli amplitüdünü düşürdüğünü bildirmişlerdir [72].

Başka bir çalışmada Wang ve ark. farelere oral yolla 25 ppm kadmiyum verilmesi sonucunda, kadmiyumun bağırsaklardan Ca^{++} emilimini azalttığı, Ca^{++} iç dengesinin bozulması sonucunda kemikten Ca^{++} ayrılması meydana geldiği böylece kemiklerde zayıflama olduğunu göstermişlerdir [73]. Önceki çalışmalarda Cd'un Ca-ATPaz aktivitesini etkileyebileceğini gösterilmektedir [74]. Bu çalışmadaki Cd etkisi ile azalan Ca akışı Ca- ATPaz ların inhibe olmuş olabileceği şeklinde açıklanabilir.

Diğer bir çalışmada Mould ve ark. 10mM Cd' nin sıçan soleus kası kasılma mekanizmasındaki etkilerini incelemiş ve kasılma miktarını artırdığını rapor etmiştir. Bu sonuç tez çalışmasındaki bulgularla farklılık göstermektedir. Bu durum yüksek dozdaki Cd' nin sarkoplazmik retikulum Ca-ATP az pompasını inhibe ettiği böylece hücre içi Ca^{++} miktarını artırdığı, dolayısıyla kasılmada da artışa neden olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Bu durumu açıklamak için kasa nifedipin ile muamele edilmiş bunun sonucunda kasılmanın yeniden azaldığı görülmüştür [75]. Sıçan diyaframında yapılan başka bir çalışmada ise 0,25mM Ca^{++} içeren ortama 0,1mM Cd eklenmesi ile Cd' ye bağlı spontan kasılmalar geliştiği gösterilmiştir. Bu durumun Cd'nin hücre membranında depolarizasyona neden olduğu böylece aksiyon potansiyeli frekansının yükseldiği rapor edilmiştir [76]. Cd'nin kasılmayı artırıcı etkisinin ekstraselüler Ca^{++} ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçların sunulan tez çalışmasındaki sonuçlarla farklılık göstermesi de ekstraselüler Ca^{++} miktarı ile

ilişkilidir. Hücre içindeki Ca^{++} miktarı az olduğu durumlarda düşük dozlardaki Cd kasılmayı artırmaktadır, çünkü bu durumlarda Cd, Ca^{++} gibi davranmaktadır. Yapı benzerliğinden dolayı Cd'un Ca^{++} u taklit ettiği, ayrıca Cd'un Ca^{++} a göre daha yavaş hareket ettiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [11]. Dolayısı ile hücre içi Ca^{++} miktarı fazla olduğunda Cd, Ca^{++} a antagonist olarak davranmakta ve kasılma amplitüdünü azaltmaktadır. Araştırmacılar düşük dozlardaki Cd ile engellenen kasılmaların Ca^{++} ilavesi ile yeniden başlayabildiğini ancak yüksek dozlardaki Cd ile engellenen kasılmaların Ca^{++} ilavesi ile değişmediğini ileri sürmüşlerdir [15].

Ağır metaller, metalloiyonein gibi inaktif proteinlerle kompleks oluşturmaktadır ve böylece toksik etkileri ortadan kaldırılmaktadır [78]. Metalloiyoneinler, Cd'a yüksek afinite ile bağlanabilen proteinlerdir ve ilk defa atların böbreklerinde kadmiyum bağlayıcı protein olarak keşfedilmiştir [79]. Bu çalışmada 30-40 gr ağırlığındaki kurbağalar kullanılmıştır. Ön denemeler yapılırken çalışılan kurbağaların ağırlığı bu aralığın üstüne çıktığında, beklenenin tersine AP ve sarsı genliklerinde yükseliş gözlenmiştir. Bunun metalloiyonein proteini ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Çünkü yapılan çalışmalarda hayvanların yaşıyla birlikte plazmadaki metalloiyonein proteini miktarının da arttığı, böylece Cd'un toksik etkileri de ortadan kalktığı gösterilmiştir. [80]. Bu durumda büyük hayvanlarla çalışıldığında AP ve sarsı genliklerinde artış meydana gelmiştir.

Cd' un kasılma metabolizmasında bozukluklara neden olması, Ca^{++} kanallarının yanı sıra Na^{+} kanallarını da inhibe etmesinden kaynaklanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda Cd'un hücre içinde Na^{+} iyonu taşınma mekanizmasını inhibe edebildiği gösterilmiştir [81]. İskelet kasında AP oluşumu için önemli rol oynayan Na^{+} iyon kanallarından biri Na^{+} kanalıdır. Kas dinlenim halindeyken Na^{+} iyonu hücre dışında, hücre içine göre daha yüksek miktarda bulunmaktadır. Uyarılmayla birlikte açılan Na^{+} kanalı sayısı depolarizasyon başlayınca daha da artmaktadır. Böylece hücre içi Na^{+} konsantrasyonu yükselmektedir. Bu mekanizma AP oluşumu için oldukça önemlidir. Bu nedenle Na^{+} kanallarında meydana gelebilecek tahribat AP oluşumunu olumsuz etkileyebilmektedir [82].

Cd'un neden olduğu kasılma inhibisyonu, Na^{+} iyon kanalları aracılığı ile olabildiği gibi sinir yolu ile de olabilmektedir. Papp ve ark. tarafından Wistar sıçanlara gavaj yolu ile 3, 5, 7 ve 14 mg/kg Cd 4, 8 ve 12 hafta boyunca verilmiş ve 7

ile 14 mg/kg uygulanan sıçanların sinir ileti hızlarının 12 haftadan sonra anlamlı bir şekilde azaldığını göstermişlerdir [77]. Benzer şekilde Yargıçoğlu ve ark. sıçanları içme suyunda çözünmüş Cd'a maruz bırakmış, bunun sonucunda sinir ileti hızında ve birleşik asiyon potansiyeli amplitüdünde anlamlı bir azalma olduğunu göstermişlerdir [83]. Bizim çalışmamızdaki kasılma ve aksiyon potansiyeli genlik amplitüdüdeki düşüşün; Cd'nin aksonal bir hasar meydana getirmiş olabileceğinden dolayı sinirsel ileti hızındaki azalma ile alakalı olabileceğini düşündürmektedir. İş sahasında Cd' ye maruz kalan kişiler üzerinde yapılan bir araştırmada, kişilerin elektromiyografik incelemeleri sonucunda aksonal dejenerasyon bulguları olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuç bizim düşüncemizi destekleyecek niteliktedir [84]. Ayrıca AP genliği kasın lif sayısı ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Bu nedenle Cd'un Lif kayıplarına neden olmuş olabileceği düşünülmektedir

TPEN ile ilgili çalışmalara bakıldığında Cd üzerindeki antagonist etkisi ile ilgili çalışmalara rastlanmıştır. TPEN'in kadmiyuma yüksek afinite ile bağlandığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [85]. Smith ve ark. İnsan deri fibroblastları üzerinde yaptıkları çalışmada 50 µM TPEN'İN Cd'ye bağlanarak 50 µM Cd'u bloke ettiğini göstermişlerdir [68]. Sztretye ve ark. TPEN'in hücre içi Ca⁺⁺ homeostazını düzenlediğini bildirmişlerdir. 50 ile 500 mikro molarlık dozlardaki TPEN'in sıçan C2C12 kültürlerinde SR dan Ca⁺⁺ salınımını hızlandırdığını rapor etmişlerdir [86]. Bu tez çalışmasında Cd'nin engel olduğu Ca⁺⁺ salınımına bağlı olarak kasılmaların azalması ve TPEN'in bu kasılmayı tekrar artırıcı etki göstermesi bu sonuçlarla örtüşmektedir.

Bir başka çalışmada Jung ve ark. tavşan kalp kasında TPEN in SR'den Ca⁺⁺ salınımını artırdığını göstermişlerdir. Kalp kasına uygulanan TPEN'in dozu arttıkça SERCA aktivitesinin de azaldığını göstermişlerdir [87]. SERCA, sitoplazmada serbest haldeki Ca⁺⁺'nın tekrar SR'ye alınmasını sağlayan bir pompadır. Bu pompanın bozulmasıyla sitoplazmadaki serbest Ca⁺⁺ düzeyi yükselmesi ve kasılmada artışlar gözlenmesi muhtemeldir. Bu sonuçlar da bizim TPEN ile ilgili elde ettiğimiz sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Yapılan araştırmalarda, deney hayvanının türü, büyüklüğü, kullanılan dozlar ve elektrofizyolojik tekniklerin farklı olmasından dolayı sonuçlar arasında

benzerlikler ya da farklılıklar görülmektedir. Yapılan bütün bu çalışmalar değerlendirildiğinde Cd'nin kasılmayı inhibe ettiği ve bu etkinin büyük oranda iyon kanalları üzerinden gerçekleştiği görülmektedir. Kasılma kuvveti oluşumunda çok önemli olan Ca kanallarının Cd tarafından inhibe edilmesi sonucunda sarsı genliklerinde düşüş meydana gelmektedir. AP oluşumu için önemli olan Na kanallarının inhibe olması da AP genliklerinde azalmaya neden olmaktadır. AP genliğinde meydana gelen düşüşe bağlı olarak AP alan değerlerinde de azalma görülmektedir. Ayrıca kas liflerinde meydana gelmiş olası lif kayıplarının da AP genliklerinde düşüşe neden olabileceği düşünülmektedir. Cd, motor sinir üzerine de etki göstermektedir ve böylece latans ve AP sürelerinde uzama meydana gelmektedir. AP süresinin uzaması, kasın kasılma süresinin de uzamasına neden olmaktadır. Kasılma ve gevşeme mekanizmasında meydana gelen bozulma, kasılma ve gevşeme sürelerini de uzatmaktadır. Cd'un uygulanan farklı dozlarının neden olduğu bu değişimler üzerine TPEN'in etkisi değerlendirildiğinde Cd'un etkilerini azalttığı görülmektedir. Özellikle Cd konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonlardaki TPEN'in sonuçları anlamlı bir şekilde değiştirdiği görülmektedir.. Bu tez çalışmasında sunulan sonuçlar, Cd'un iskelet kasındaki inhibisyon etkisini ve etki mekanizmasını TPEN'in engelleyebileceği konusunda önemli bilgiler vermektedir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, kadmiyumun *Rana ridibunda* gastrokinemius kasının aksiyon potansiyeli ve sarsı parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileri incelenmiştir.

Elde edilen bulgular sonucunda:

1. Cd'nin; kasılmaları engellediği, iskelet kası AP ve sarsı parametreleri üzerine inhibe edici etki gösterdiği kanısına varılmıştır.
2. Cd uygulaması ile kasılma ve AP genlikleri düşerken kasılma ve gevşeme süreleri uzamıştır.
3. Cd'nin AP genliğini azaltmasının Na kanal inhibisyonuna, sarsı genliğini azaltmasının ise Ca kanal inhibisyonuna neden olmasından kaynaklandığını düşündürmektedir.
4. Cd'nin bloke edici etkileri uygulanan dozun artmasıyla birlikte artmıştır.
5. Cd'nin maksimum etkisi genellikle uygulamanın 15. dakikasında ortaya çıkmıştır.
6. Cd, TPEN ile birlikte uygulandığında kadmiyumun etkisinin azaldığına dair bulgular elde edilmiştir.
7. TPEN'in kadmiyuma karşı engelleyici etkisinin ortaya çıkması için, kadmiyumun dozuna bağlı olarak TPEN'in de dozunun arttırılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Elde edilen bu sonuçlar Cd'nin kas aktivitesi üzerinde engelleyici bir rolü olduğunu göstermektedir. Bu sonucun kadmiyumun kasılmada rol alan bir çok mekanizmayı etkilemesinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Bu etkilerin bir ağır metal antagonisti olan TPEN tarafından ortadan kaldırılması TPEN'in kadmiyuma yüksek afinite ile bağlanabilen ve etkisini kaldırabilen bir antagonist olduğu görüşlerini desteklemektedir. Ancak bu maddelerin kasılma aktivitesi üzerindeki etkilerinde hücre içindeki hangi mekanizmanın etkili olduğunun araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Çınar, Ö., “Çevre kirliliği ve kontrolü, 1. Basım” , Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 201s., (2008).
- [2] Rainbow, P. S., “ The biology of heavy metals in the sea” , Enviromental Studies, 25: 195-211,(1985).
- [3] Tumantozlu, H., “ Karacaören II baraj gölündeki su, sediment ve sazan (*Cyprinus caprio*) örneklerinde bazı ağır metal birikiminin incelenmesi ”, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 54s., (2010).
- [4] Kayhan, F. E., Muşlu, M. N., Koç, D. N., “ Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıtlar” Journal Of Fisheries Sciences, 3(2): 153-162, (2009).
- [5] Ağcauslu, Ö., “ Sakarya Nehri Çeltikçe Çayı'nda Yaşayan *Capoeta tinca*' nın dokularında ağır metal birikiminin incelenmesi” , Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 54s., (2007).
- [6] Tuncay, Y., “Kovada Gölü'nde yaşayan ıstakozlarda (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) ağır metal birikiminin incelenmesi.” Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 51s, (2007).
- [7] Blust, K. V. R., “ Uptake of cadmium and zinc by the muscle *Mytilus edulis* and inhibition by calcium channel and metabolic blockers” , Marine Biology, 135: 615-626, (1999).
- [8] Wikipedia, Electronic Ansiclopedia, <http://en.wikipedia.org/wiki/Cadmium> , (30.08.2012).
- [9] Nishida, H., Miyai, M., “Distribution function of heavy metals in river sediment” Bull. Environ. Toxicol., 32, 212-219, (1984).
- [10] Jaru, L., Berglund, M., Elinder, C. G., Nordberg, G., Vahter, M., “ Health effects of cadmium exposure, a review of the literature and a risk astimate” Scand J. Work Environ Health, 24: 1-52, (1998).
- [11] Zalups, R. K., Ahmad, S., “ Molecular handling of cadmium in transporting epithelia” , Toxicology and Applied Pharmacology, 186: 163-188, (2003).

- [12] Bharavi, K., Reddy, A.G., Rao, G.S., Kumar, P.R., Kumar, D.S., Prasadini, P.P. “Prevention of cadmium bioaccumulation by herbal adaptogens ”, Indian J Pharmacol., 43(1): 45-49, (2010).
- [13] Sağlamtürk, B., Cicik, B., “ Kısa süreli bakır- kadmiyum etkileşiminde tatlı su Çipurası (*Oreochromis niloticus* L. 1758) ’ nın karaciğer, böbrek, solungaç ve kas dokularındaki kadmiyum birikimi”, Ekoloji, 53: 33-38, (2004).
- [14] Shepherd, N., Kavalier, F., Spielman, W., “ Cadmium block of isomeric contractions isolated bulfrog atrial cells”, AmJ Physiol Cell Physiol, 260: (2) 249-258, (1991).
- [15] Kara, H., Servi, K., Akar, Y., “Farklı türlerde in vitro uterus kontraksiyonları üzerine kadmiyumun etkisi ”, Türk J. Vet. Anim. Sci, 27: 529-534, (2003).
- [16] Garcı’a, M.C., Farías, J.M , Escamilla, J., Sa’nchez-Armass S., Sa’nchez, J.A., “A long-term blockade of L-type calcium currents upregulates the number of Ca channels in skeletal muscle ”, J. Membrane Biology, 168: 141–148, (1999).
- [17] Koç, E., Koçak, M., Akçil, E., “Cadmium reduces contractile responses of rat duodenum, İin vitro ”, Biol. Trace. Elem. Res, 123:154–160, (2008).
- [18] Robert, M.Berne, Mattheww, N. Levy, Bruce M.Koeppen, Bruce A. Stanton, “ Physiology, 15 th ed.” Philadelphia, Elsevier Inc., 223-231, (2004).
- [19] Guyton A.,C. Hall, J.,E. “Membran fizyolojisi, sinir ve kas”, Çavuşoğlu H. *Tıbbi Fizyoloji*. 9. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti, 73-84. (1996).
- [20] Ganong ,W. F., “ Section II. Physiology of nevre & muscle cells” In Review of medical physiology. 21th edition, The McGraw-Hill COMPANİES,65-71, (2003).
- [21] İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Ders Notları, <http://www.istanbul.edu.tr/itf/biofizik/kitap.pdf> , (12.09.2012).
- [22] Macintosh, B.,R. “Role of calcium sensitivity modulation in skeletal muscle performance” News Physiol. Sci.,18: 222-225, (2003).
- [23] Pehlivan, F., “Biyofizik, 4.basım”, Hacettepe Taş, Ankara, 412 s., (2009).

- [24] Kuriyama, H. “Physiological feature of visceral smooth muscle cells with special reference to receptors and ion channels”, *Physiological Rev*, 78 (3): 811-890. (1998).
- [25] Kayaalp, S. O., “Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji 11. Baskı, 1. Cilt” Ankara: Feryal Matbaacılık san ve Tic. Ltd. Şti, 406-408, (2005).
- [26] Alexander, S. P. H., Peter, J. A., “Receptor and ion channel nomenclature supplement”, *Elsevier Trends Journals.UK*, 99-100 (1999).
- [27] Davies, S.L., Villacanas, O., Bozzo, J., “Targeting alpha 2-delta calcium channel subunit for pain therapeutics”, *Drugs Fut*, 31 (9): 837, (2006).
- [28] Alon Meir, P. D., “Voltage dependent Ca^{2+} (Cav) channels”, *Modulator*, No: 20, (2005).
- [29] Mooren, F. C., Kinne, R. K., “Cellular calcium in health and disease”, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1406(2):127-151,(1998).
- [30] Gerald, W. Z., Philippe, L., Edward, P. R., “ Role of voltage gated calcium channels in epilepsy”, *Pflugers Arch- Eur J Physiol*, 460: 395-403, (2010).
- [31] Mckay, B. E., Placzek A. N., Dani, J. A., “ Regulation of synaptic transmission and plasticity by neuronal nicotinic acetylcholine receptor”, *Biochem. Pharmacol.*, 74(8): 112033, (2007).
- [32] Puney, J. V., Broad, L. M., Braun, F. J., Lievremon, J. P., Bird, G. S., “ Mechanism of capacitative calcium entry”, *J. Cell Sci.*, 114(12): 22239, (2001).
- [33] Ozgür, E., “ Memeli kültür hücrelerinde hücre içi kalsiyum sinyalinde görev alan elemanların entegre bir sistem olarak incelenmesi”, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 64s., (2008).
- [34] Patel, S., Joseph, S. H., Thomas, A. P., “ Molecular properties of inositol 1,4,5 triphosphate receptors”, *Cell Calcium*, 25(3): 24764, (1999).
- [35] Türkoğlu, M., “ Van Gölü’nden alınan su sedimet ve İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas 1811) örneklerinde bazı ağır metal düzeylerinin araştırılması”, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 59s., (2008).

- [36] Köleli, N., Kantar, Ç., “ Fosfat kayası fosforik asit ve fosforlu gübrelerdeki toksik ağır metal (Cd, Pb, Ni, As) konsantrasyonu”, *Ekoloji Dergisi*, 14(55), (2005).
- [37] Aberhart, A. R., Larson, G. L., Mathews, J. R. “Heavy metals in surficial sediments of fontana lake” , North Carolina. 18 (13),:351-354. (1984).
- [38] Hussein K. H., Osama, A. Abu-Zinadah, Haddad, A. S. El Rabey, Mohammed, F. M., “ Enviromental assessment of ground water pollution residues in chicken tissues” *African Journal of Biotechnology Vol.*, 10(71): 16089-16100, (2011).
- [39] Kabata-Pendias, A., Pendias, H., “ Trace elements in soils and plants” , Crc Press, 2nd ed., Baton Rouge, (1992).
- [40] Wester, R. C., Maibach, H. I., Sedik, L., Melendres, J., Dizio, S., Wade, M., “In vitro percutaneous absorption of cadmium from water and soil into human skin” *Fundam. Appl. Toxicol*, 19(1):1-5, (1992).
- [41] Satur, S., Baker, J. R., Urbenjapol, S., Haswell, E. M., Reilly, P. E. B., Williams D. J., Moore, M. R., “ A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population” , *Toxicol. Lett.*, 137: 65-83, (2003).
- [42] Elinder, C. G., 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*, 90(4):700-6, (1977).
- [43] Baş, A. L., Demet, Ö., “ Çevresel toksikoloji yönünden bazı ağır metallar” , *Ekoloji*, 5: 42-46, (1992).
- [44] Buchet, J. P., Lauwerys, R., Roels, H., Bernard, A., Bruaux, P., Claeys, F., Ducoffre, G., Plaen, P., Staessen, J., Amery, A., “ Renal effect of cadmium body burden of the general population” , *Lancet*, 336: 699-702, (1990).
- [45] Joseph, P., Lei, Y. X., Whong, W. Z., Ong, T. M., “Oncogenic potential of mouse translation elongation factor-1 delta: a Novel Cadmium-Responsive Proto-oncogene” *J.Biol.Chem*, 277: 6131-6136, (2002).
- [46] Claudia, L. Y., Maria, C. C. G. M., “ Cadmium chloride-induced oxidative stress in skeletal muscle cells in vitro” , *Free Radical Biology & Medicine*, 39: 1378-1384, (2005).

- [47] Castaing, P., Assor, R., Jouanneau, J. M., Weber, O., “Heavy metal origin and concentration in the sediments of the pointe a pitre bay (Guadeloupe-Lesser Antilles)”, Environ. Geol. Water Sci., (4): 175-184, (1986).
- [48] Misra, R. R., Smith, G. T., Waalkes, M. P., “ Evaluation of the direct genotoxic potential of cadmium in four different rodent cell lines”, Toxicology, 126: 103-114, (1998).
- [49] Kuhnerd, B. R., Kuhnerd, T. M., Debanne, S., Williams, T. G., “ The relationship between placental cadmium, zinc and birth weight in pregnant women who smoke” , Am. J. Obstet. Gynecol., 157: 1247-1251, (1987).
- [50] Vural, H., “ Ağır metal iyonlarının gıdalarda oluşturdukları kirlilikler” , Çevre Dergisi, 8: 3-8, (1993).
- [51] Katakai, K., Liu, J., Nakajima, K., Keefer, L. K., Waalkes, M. P., “ Nitric oxide induces metallothionein (MT) gene expression apparently by displacing zinc bound to MT”, Toxicol. Lett., 119: 103-108, (2001).
- [52] Satoh, M., Koyama, H., Kaji, T., Kito, H., Tohyama, C., “ Perspectives on cadmium toxicity research”, Thoku. J. Exp. Med., 196: 23-32, (2002).
- [53] Özbek, H., Kaya, Z., Gök, M ve Kaptan, H., Toprak Bilimi, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak., Genel Yayın No: 73, Ders Kitapları Yayın No:16, Adana,(1995).
- [54] Bridges, C. C., Zalups, R. K., “ Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals”, (Review), Toxicol. Appl. Pharmacol., 204(3): 274-308, (2005).
- [55] Goering, P. R., Klaassen C. D., “ Zinc induced tolerance to cadmium hepatotoxicity”, Toxicol. Appl. Pharmacol., 74: 299-307, (1984).
- [56] Solomons, N. W., “ Biochemical, metabolic and clinical role of copper in human nutrition” J. Am. Coll. Nutr., 4: 83-105, (1985).
- [57] Dunalp, W. M., James, G. I., Hume, D. M., “ Anemia and neutropenia caused by copper deficiency”, 80: 470-476, (1974).
- [58] Hamilton, D., Valberg, L., “ Relationship between cadmium and iron absorption”, Am. J. Physiol., 227: 1033-1037, (1974).

- [59] Kırıkoglu, O., “İzole fare özofagus çizgili kasının karbokole verdiği cevaplar üzerinde kadmiyumun etkisi”, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 78s, (2006).
- [60] Jorgen, M., Angela, F. Dulhunty, “Cadmium withdrawal contractures in rat soleus muscle fibres”, Pflügers Arch – Eur J Physiol., 440: 68–74, (2000).
- [61] Jorgen, M., Angela, F. Dulhunty, “Effects of external cadmium ions on excitation–contraction coupling in rat soleus fibres”, Pflügers Arch – Eur J Physiol., 437:197–203, (1999).
- [62] Çömelekoğlu, Ü., Yalın, S., Bağış, S., Ögenler, O., Şahin, N. O., Yıldız, A., Coşkun, B., Hatungil, R., Turaç, A., “Low exposure cadmium is more toxic on osteoporotic rat femoral bone: mechanical biochemical and histopathological evaluation” Ecotoxicology and Environmental Safety, 66: 267-271 (2007).
- [63] U. S. Centers for Disease Control, “Deaths associated with hypocalcemia from chelation therapy”, (March 3, 2006), <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5508a3.htm>, (20.09.2012).
- [64] Us, Ş., “Çok dişli ligantların yeni koordinasyon bileşiklerinin sentezi, yapılarının aydınlatılması ve bazı fiziksel özelliklerinin incelenmesi”, Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 52s, (2006).
- [65] Yelena, A. S., Roman, K., Gal, O., Alex, K., Viladimi, S., Yori, J. A., Asher, S., “TPEN improves myocardial protection against ischemia by modulation of intracellular Ca²⁺ homeostasis”, DOI:10.1124/jpet.104.081281, (2005).
- [66] Yusuke, I., Atsunori, M., Kenji, T., “Thermo-responsive extraction of cadmium(II) ion with poly(TPEN-NIPA) gel”, Bull. Res. Lab. Nucl. Reactor, 35: 43-45, (2011).
- [67] Hinkle, P. M., Shanshala, E. D., Nelson, E. J., “Measurement of intracellular cadmium with fluorescent dyes”, The Journal of Biological Chemistry, 267(35): 25553-25559, (1992).
- [68] Smith, J. B., Dwyer, S. D., Smith, L., “Cadmium evokes inositol polyphosphate formation and calcium mobilization”, The Journal of Biological Chemistry, 264(13): 7115-7118, (1989).

- [69] Mirvaliev, R., Watanabe, M., Tachimori, S., Takeshita, T., “Selective separation of am(III) from ln(III) with a novel synergistic extraction system, N,N,N,N-tetrakis(2-methylpyridyl)- ethylenediamine (TPEN) and carboxylic acid in 1-Octanol”, Journal of Nuclear Science and Technology, 41(11): 1122-1124, (2004).
- [70] Wick, M., Marriott, N. G., “The relationship of the sarcomeric architecture to meat tenderness”, The Ohio State University Department of Animal Sciences, 172-199, (1999).
- [71] Francini, F., Bencini, C., Piperio, C., Squecco, R., “Separation of charge movement components in mammalian skeletal muscle fibres”, Journal of Physiology, 537: 45-56, (2001).
- [72] Dulhunty, A. F., Gage, P. W., “Effects of cobalt, magnesium and cadmium on contraction of rat soleus muscle”, Biophysical Journal, 56: 1-14, (1989).
- [73] Wang, C., Bhattacharyya, M.H., “Effect of cadmium on bone calcium and ^{45}Ca in nonpregnant mice on a calcium-deficient diet: Evidence of Direct Effect on Cadmium on Bone”. Toxicol.Appl. Pharmacol., 120: 228-239, (1993).
- [74] Bansal, S.K., Murthy, R.C., Chandra, S.V., “The effects of some divalent metals on cardiac and branchial Ca^{2+} -ATPase in a freshwater fish *Saccobranchus fossilis*”, Ecotoxicology and Environmental Safety, 9: 373-377, (1985).
- [75] Mould, J., Dulhunty, A. F., “Delayed contractures induced by external cadmium ions in rat soleus muscle fibres”, Eur. J. Physiol., 439: 263-270, (200).
- [76] Fu, W.M., Lin-Shiau, S.Y., “Mode of stimulatory actions of cadmium ion on the mouse diaphragm”, Br. J. Pharmac., 85: 471-479, (1985).
- [77] Papp, A., Nagymajtanyi, L., Desi, İ., “ A study on electrophysiological effects of subchronic cadmium treatment in rats” , (13): 181-186, (2003).
- [78] Winner, R.W., Gauss, J.D., “Relationship between chronic toxicity and bioaccumulation of copper, cadmium and zinc affected by water hardness and humic acid”, Aquatic Toxicology, 8: 149-161, (1986).

- [79] Şimşek, N., Alabay, B., “Metallotiyoninlerin histofizyolojik önemi”, Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2(2): 75-81, (2007).
- [80] Erken, G., Genç, O., Erken, H.A., Turgut, S., Turgut, G., “Kadmiyum maruziyeti spinal refleks yanıtlarının amplitüdünü artırır”, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg., 18(2): 60-63, (2011).
- [81] De La Torre F.R., Salibian, A., Ferrari, R., “Biomarkers assessment in Juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium”, Enviromental Pollution, 109:277-282, (2000).
- [82] Frank, H.Y., Catteral, W.A., “Oveview of the voltage- gated sodium channel family”, Genome Biology, 4:207, (2003).
- [83] Yargıçoğlu, P., Ağar, A., Şentürk, Ü.K., Uysal, N.İ., Kılıç, D., “The effect of pre-and postnatal Cd exposure on conduction velocity in sciatic nerve”, Tr. J. Of Medical Sciences, 28:75-51, (1998).
- [84] Sayın, R., Tombul, T., Milanlıoğlu, A., “Kadmiyum intoksikasyonu sonrası motor nöron bulguları gelişen vakalarımız”, Van Tıp Dergisi, 17(4): 160-163, (2010).
- [85] Gerbino, A., Debellis, L., Caroppo, R., Curci, S., Colella, M., “Cadmium inhibits acid secretion in stimulated frog gastric mucoza”, Toxicology and Applied Pharmacology, 245:264-271, (2010).
- [86] Sztretye, M., Deli, T., Szentesi, P., Szigeti, G., Csernoch, L., “Effect of TPEN on the calcium release of cultured C2C12 mouse myotubes”, J. Muscle Res. Cell. Motil, 28:421-428,(2007).
- [87] Jung, C., Zima, A.V., Szentesi P., Jona, I. Blatter, L.A., Niggli, E., “Ca²⁺ Release from the sarcoplasmic reticulum activated by the low affinity Ca²⁺ chelator TPEN in ventricular myocytes”, Cell Calcium, 41(2):187-194, (2007).

EK 1. Kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde AP parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi

Zaman (Dakika)		10 ⁻⁴ M TPEN	10 ⁻⁴ M Cd	10 ⁻⁴ Cd+TPEN	5x10 ⁻⁴ M Cd	5x 10 ⁻⁴ Cd+TPEN	10 ⁻³ M Cd	10 ⁻³ Cd+TPEN
0	Genlik	1,895± 0,072	1,820± 0,136	1,847±0,037	1,812± 0,167	1,858± 0,145	1,782 ± 0,097	1,908±0,092
	Süre	8,488± 0,423	8,832± 0,776	8,350± 0,260	9,457± 0,209	9,350± 0,137	8,688 ± 0,51	8,312±0,175
	Alan	0,0186±0,0008	0,0209±0,0014	0,0184±0,0005	0,0223±0,0018	0,0224±0,0017	0,019 ± 0,002	0,0196±0,0011
	Latans	1,74± 0,109	2,16± 0,49	1,73± 0,04	2,53± 0,30	2,43±0,383	2,03 ± 0,39	1,75± 0,052
15	Genlik	1,87± 0,119	1,712± 0,141*	1,830± 0,065	1,594± 0,087*	1,592±0,09	1,455 ± 0,081*	1,655± 0,076*
	Süre	8,671± 0,579	9,041± 0,700	8,304±0,265	9,840±0,143*	9,800±0,180	9,127 ± 0,567*	8,702± 0,189*
	Alan	0,190± 0,0008	0,0203± 0,0017	0,0180±0,0004	0,0203± 0,0008	0,0200±0,0013	0,0168 ± 0,002*	0,0180±0,0005
	Latans	1,78± 0,213	2,19± 0,48	1,76± 0,05	2,72± 0,04	2,62±0,29	2,12 ± 0,44*	1,81± 0,053
30	Genlik	1,83± 0,125	1,700± 0,173*	1,812± 0,077	1,452± 0,247*	1,440±0,245	1,411 ± 0,121*	1,602± 0,083*
	Süre	8,702± 0,630	9,09± 0,706	8,304± 0,243	9,854± 0,220*	9,847±0,276	9,257 ± 0,497*	8,808± 0,188*
	Alan	0,187± 0,0008	0,0203±0,0025	0,0179±0,0004	0,0184±0,0034	0,0180±0,0033	0,0166 ± 0,002*	0,0177±0,0012
	Latans	1,80± 0,183	2,17± 0,46	1,73± 0,04	2,76±0,06	2,54±0,38	2,15 ± 0,42	1,81± 0,053
45	Genlik	1,76± 0,289	1,691± 0,181*	1,795± 0,105	1,501± 0,288*	1,431±0,269	1,335 ± 0,139*	1,57±0,139*
	Süre	8,824± 0,867	9,12± 0,646	8,328± 0,262	9,847± 0,231*	9,782±0,340	9,320 ± 0,433*	8,891± 0,122*
	Alan	0,0179±0,0015	0,0202±0,0023	0,0179± 0,0003	0,0191± 0,0035	0,0179±0,0035	0,0162±0,0023*	0,0177±0,018
	Latans	1,920± 0,435	2,24± 0,46	1,72± 0,04	2,74± 0,05	2,63±0,32	2,18 ± 0,40*	1,82± 0,074
60	Genlik	1,75± 0,341	1,605± 0,180*	1,790± 0,106	1,475± 0,313*	1,405±0,298	1,38 ± 0,119*	1,57± 0,127*
	Süre	8,847± 0,801	9,240± 0,674	8,368± 0,278	9,840± 0,230*	9,768±0,367	9,304 ± 0,396*	8,928± 0,189*
	Alan	0,0173±0,0023	0,0194±0,0023	0,0179±0,0004	0,0188± 0,0038	0,0175±0,0040	0,0164 ± 0,0021	0,0178±0,0017
	Latans	1,928± 0,429	2,34± 0,50	1,72± 0,04	2,74± 0,04	2,63±0,32	2,19 ± 0,40*	1,84± 0,085*

*P<0,05 . Karşılaştırmalar zamana bağlı olarak 0. dakikaya göre yapılmıştır.

EK 2. Kadmiyumun tek başına ve TPEN ile kombinasyon halinde sarsı parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi

Zaman (Dakika)		10 ⁻⁴ M TPEN	10 ⁻⁴ M Cd	10 ⁻⁴ Cd+TPEN	5x10 ⁻⁴ M Cd	5x 10 ⁻⁴ Cd+TPEN	10 ⁻³ M Cd	10 ⁻³ Cd+TPEN
0	Genlik	50,38± 5,11	42,25± 6,55	47,98± 5,11	45,54± 5,34	51,57± 7,21	37,51± 13,16	52,62± 6,64
	Süre	228,16± 0,58	164,95± 60,40	202,40± 46,09	226,29± 3,82	214,01± 37,70	132,52± 63,20	227,49± 0,64
	K.Süre	27,03± 3,81	24,55± 4,09	26,77± 3,11	26,43± 2,75	29,07± 3,11	24,20± 4,68	27,87± 3,70
	G.Süre	201,11± 4,06	140,39± 61,08	175,68± 45,84	199,86± 3,84	185,16± 36,02	108,31± 59,10	199,69± 3,61
15	Genlik	46,25± 5,09	38,95± 7,68*	45,08± 3,35*	42,89± 4,98*	49,09± 5,63*	32,96± 12,91*	47,21± 6,70*
	Süre	228,52± 0,73	154,12± 71,12	137,16± 73,79	227,35± 2,55	213,46± 40,02	121,12± 62,64*	227,38± 0,43*
	K.Süre	25,36± 2,66*	23,62± 3,57	25,20± 3,15*	25,15± 2,03	27,92± 3,08	23,63± 3,69	27,19± 2,97
	G.Süre	203,16± 2,66*	130,49± 72,07	141,09± 60,22	202,19± 3,84	185,43± 38,74	97,46± 59,62*	200,25± 3,25
30	Genlik	43,05± 5,91	36,40± 6,80*	42,33± 4,64*	40,74± 4,71*	46,55± 6,19*	29,22± 13,54*	44,73± 6,42*
	Süre	228,48± 0,58	158,46± 67,03	174,12± 57,22	227,45± 2,49	207,62± 55,25	127,87± 63,13*	227,19± 0,22*
	K.Süre	24,87± 2,22*	23,76± 3,81	24,89± 3,12*	25,06± 2,11	56,78± 75,03	24,26± 3,72	27,39± 2,49
	G.Süre	203,61± 2,34*	132,56± 70,18	149,05± 57,13	202,39± 3,60	179,12± 53,52	103,61± 60,07*	199,86± 2,53
45	Genlik	40,30± 5,83	33,86± 6,39*	41,61± 4,73*	39,53± 4,51*	43,89± 5,28*	23,17± 12,20*	43,19± 6,63*
	Süre	228,29± 0,46	161,05± 65,05	184,98± 54,39	227,25± 2,50	207,36± 55,43	133,44± 64,73*	226,96± 0,45*
	K.Süre	24,40± 2,41*	23,83± 3,75	24,62± 3,20*	25,17± 2,43	28,49± 3,24	24,23± 3,98	27,54± 2,37
	GSüre	203,88± 2,45*	137,22± 66,52	160,20± 54,19	202,08± 3,92	178,72± 53,83	109,20± 61,39*	199,40± 2,55
60	Genlik	39,19± 5,59	31,39± 5,35*	40,88± 4,81*	38,08± 4,05*	42,13± 5,78*	19,19± 12,22*	41,97± 6,97*
	Süre	228,32± 0,35	165,23± 62,49	175,24± 60,75	227,25± 2,48	207,62± 55,48	141,87± 61,32*	226,71± 0,51*
	K.Süre	24,10± 2,12*	23,52± 4,07	24,61± 2,68*	24,84± 2,41	28,42± 3,38	23,79± 4,62	27,44± 2,22
	G.Süre	204,21± 2,28*	141,70± 64,00	150,50± 59,73	202,42± 3,90	179,11± 52,39	118,01± 58,30*	199,33± 2,61

*P<0,05 . Karşılaştırmalar zamana bağlı olarak 0. dakikaya göre yapılmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: ÖZGE ASLAN

Doğum Tarihi: 31/08/1986

Doğum Yeri: GAZİANTEP

Eğitim:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	Fen Bilimleri	Gaziantep Lisesi	200-2003
Lisans	Biyoloji	Dicle Üniversitesi	2005-2009
Yüksek Lisans	Biyoloji	Mersin Üniversitesi	2009-2012

Medeni Durumu: Bekar

Yabancı Dil: İngilizce