

12152

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

METAL İYONLARININ ERİTROSİTLERİN GLUKOZ KULLANIMLARI
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İN VİTRO İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Hasan EFE

Trabzon- 1991

Y. E.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

12132

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
Yüksek Lisans Programı

METAL İYONLARININ ERİTROSİTLERİN GLUKOZ KULLANIMLARI
ÜZERİNE OLAN ETKİLERİNİN İN VİTRO İNCELENMESİ

Hasan EFE

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 11 Ocak 1991
Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 04 Şubat 1991

Tez Danışmanı : Prof.Dr. E. Edip KEHA
Jüri Üyesi : Doç.Dr. Orhan DEĞER
Jüri Üyesi : Doç.Dr. Ekin ÖNDER

Enstitü Müdürü : Prof.Dr. Etem ALHAN

Trabzon - 1991

İ Ç İ N D E K İ L E R

1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Ağır metal iyonlarının genel biyolojik etkileri.....	2
2.1.1.Bakır ve biyolojik etkileri.....	3
2.1.2.Cıva ve biyolojik etkileri.....	4
2.1.3.Kurşun ve biyolojik etkileri.....	6
2.1.4.Kadmiyum ve biyolojik etkileri.....	7
2.1.5.Alüminyum ve biyolojik etkileri.....	8
2.1.6.Gümüş ve biyolojik etkileri.....	9
2.2.Eritrositlerin yapısı ve fonksiyonu.....	10
2.2.1.Eritrositlerin biyokimyasal özellikleri.....	12
2.2.2.Eritrositlerde glukoz transportu.....	14
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1.Kullanılan kimyasal maddeler.....	15
3.2.Kullanılan cihaz ve malzemeler.....	15
3.3.Kan örneklerinden eritrosit süspansiyonlarının hazırlanması.....	15
3.4.Eritrositlerin glukoz ve metal iyonları ile inkübasyonu.....	16
3.5.Eritrosit süspansiyonlarında glukoz tayini.....	17
4.BULGULAR.....	20
4.1.Cu ⁺² ile inkübasyon sonuçları.....	20
4.2.Hg ⁺² ile inkübasyon sonuçları.....	23
4.3.Cd ⁺² ile inkübasyon sonuçları.....	25
4.4.Pb ⁺² ile inkübasyon sonuçları.....	27
4.5.Al ⁺³ ile inkübasyon sonuçları.....	29
4.6.Ag ⁺¹ ile inkübasyon sonuçları.....	31

5.TARTIŞMA.....	33
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
7.ÖZET.....	38
8.SUMMARY.....	39
9.KAYNAKLAR.....	40
10.ÖZGEÇMİŞ.....	44



1. G İ R İ Ő

Ağır metallerin evre kirliliğine olan etkileri günümüzün önde gelen problemlerinden birini teşkil etmektedir. Birçok teknolojik ürünlerin metallerden üretilmesi, bazı zirai mcadle ilaçlarının metal ihtiva etmesi ve asit yağmurları sonucu topraktaki metal minerallerinin znmesiyle kullanılan sularda metal iyonu birikmesi neticesinde bu kirlilik oluŐmaktadır. Biyolojik sistemler söz konusu kirlilikten olumsuz yönde etkilenmektedir. Özellikle insan organizmasının bu açıdan karŐılaŐtıđı tehlikeler birçok yönden araştırma konusu olmuŐtur²².

Günümüzde toksik potansiyel yönünden cıva, kurşun ve kadmiyum iyonlarının çok önemli yer tuttuğu kabul edilmektedir. Alüminyum ise asit yağmurları sonucu sularda biriktiğinden canlılar üzerine etkileri inceleme konusu olmuŐtur. Ayrıca bakır iyonları kullanılan mutfak malzemeleri ve zirai ilaçlarda yer alması sebebiyle insan sağlığını etkileme potansiyeline sahiptir. Çok nadir de olsa bazı hallerde kiŐiler gümüş iyonlarının kirletici etkisine maruz kalabilmektedir^{8,11,15}.

İnsan aerob bir canlı olduğundan her hücresinin her an oksijene ihtiyacı vardır. Bu yüzden dokulara oksijen taşıyan eritrositlerle yukarıda sayılan metal iyonları arasındaki etkileŐmenin aydınlatılması büyük önem kazanmaktadır. Biz de çalışmamızda sözü edilen metal iyonlarının çeşitli konsantrasyonlarında in vitro olarak eritrositlerin glukoz kullanımlarını incelemeyi amaçladık. Bu konuda literatürlerde bütün bu metal iyonlarının eritrositlerin glukoz kullanımlarına etkilerini ortaya koyan bir çalıŐmaya raslanmadığından, bu çalıŐmanın ileride bu etkileŐme hakkında daha ayrıntılı araştırmalara başlangıç olmasını arzuladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ağır Metal İyonlarının Genel Biyolojik Etkileri

Ağır metallerin hepsi geçiş elementleridirler ve pek çoğunun erime noktası, kaynama noktası ve buharlaşma entalpisi çok yüksektir.

Krom, kobalt, nikel, bakır, çinko, kadmiyum, cıva, kurşun ve bizmut gibi ağır metal iyonları canlı organizmalar için toksiktirler ve diğer metallerle karşılaştırıldıklarında hayvanlarda daha çabuk konsantrasyon oldukları görülür. Ağır metaller vücuttan kısa sürede atılamazlar. Madenlerin çıkarıldıkları ocaklar ve işleme yerlerinin endüstriyel artıklarla kirlenmesi, bu metalleri ihtiva eden fosil yakıtların yanması neticesinde çevreye yayılan ağır metal iyonları ve bunların bileşikler kirlenmenin dozunu her geçen gün biraz daha artırmaktadır.⁸

Çevre kirliliğine sebep olan metal iyonları havada, suda ve toprakta organik maddelerle kompleks oluşturmuş halde veya suda daha fazla çözünebilen metal tuzları halinde bulunurlar²².

Vücutta çok önemli fonksiyonları olan proteinler söz konusu metal iyonlarından gerek yapısal ve gerekse fonksiyonel yönden etkilenmektedir. Proteinler kendi izoelektrik noktalarına kıyasla daha alkalik olan bir ortamda negatif yüklü olarak bulunurlar. Böyle alkali bir protein çözeltisi üzerine ağır metal iyonu ihtiva eden çözelti ilave edilecek olursa metal proteinden ibaret bir çökelek oluşur. Cıva, çinko, demir, kurşun, kadmiyum ve gümüş gibi ağır metallerin tuz çözeltileri bu etkiye sahiptirler.⁶

Metal iyonları serbest halde pozitif yüklüdürler ve bazıları enzimlerin aktivitelerinde gerekli olan sisteinlerin -SH gruplarına karşı yüksek affiniteye sahiptir. Bu gruplarla merkaptanlar oluşturacak şekilde birleşirler. Bu da enzimlerin yarışmasız inhibisyonuna sebep olur^{38,39}.

Şimdi biyokimyasal açıdan genel biyolojik etkilerine kısaca değindiğimiz ağır metal iyonlarından çalışmamıza konu olan bakır, cıva, kurşun, kadmiyum ve gümüş iyonları ile bir ağır metal iyonu olmayan alüminyumun biyolojik etkilerini tek tek özetle ele alalım.

2.1.1. Bakır ve Biyolojik etkileri

Cu^{+2} iyonu renklidir ve pekçok elektron vericisiyle reaksiyon vererek kompleks iyon oluşturur. Madeni, oksit, karbonat ve sülfid bileşikleri şeklinde endüstriyel alanda çok kullanılır¹⁵.

Eser element olarak vücudun bakıra ihtiyacı vardır. Normal serum düzeyi 120-145 $\mu\text{g/dL}$ dir. Yetersiz alındığında hemoglobinin sentezi bozukluğuna bağlı hipokromik mikrositer anemi gelişir. Seruloplazmin, sitokrom-c oksidaz, dopamin β -hidroksilaz gibi enzimlerin kofaktörüdür. Henüz fonksiyonu bilinmeyen ve buldukları dokuya göre adlandırılan serebrokuproin, eritrokuproin, hemokuproin, hepatokuproin gibi proteinlerin de bileşenidir¹¹.

Bakır eksikliği pek nadir görülmesine rağmen yetersizliği halinde anemi, saç ve deride pigmentasyon azlığı, myokardial fibrozis, gibi rahatsızlıklar ortaya çıkar. Kuzularda görülen Swayback hastalığında bakır eksikliğinin bir sonucudur. Bu hastalıkta omurilik motor yolların demiyelizasyonu sonucu ataksik semptomlar müşahade edilir. Pigmentasyon yetersizliği tirozinaz, fibrozis ise amino oksidaz aktivitelerindeki azalmadan dolayıdır^{7,15,18}.

Diyetle alınan aşırı bakırın önemli kısmı feçesle dışarı atılır. Bir miktar bakır ise barsakların üst kısmından emilir. Plazmadaki albümine bağlanarak karaciğere taşınır. Karaciğerde bir globin ile birleşerek seruloplazmin şekline dönüşür. Plazma bakırının % 95 i seruloplazmin halinde bulunur. Seruloplazminin genetik olarak sentezlenemediği Wilson hastalığında serbest bakır vücudun belli dokularında birikir. Tuzlarının ağız yoluyla alınması halinde kusma, abdominal ağrılar, diyare ve aşırı takatsızlığa sebep olur¹¹.

Eritrositlerdeki birçok fonksiyonel ve morfolojik anormallikler bakır zehirlenmesi ile ilişkili ise de bakıra bağlı hemolizin gerçek mekanizması henüz aydınlatılamamıştır. Toksik konsantrasyonlarda bakır oksidant özelliğinden dolayı sitotoksiteye sebep olabilir ve eritrosit enzimlerinin fonksiyonunu etkileyebilir. Hemoglobinin oksidasyonu, membran proteininin disülfid formasyonu ve redükte glutatyonun (GSH) hücre içi konsantrasyonundaki azalma bakır zehirlenmesinde tesbit edilen biyokimyasal değişikliklerdir. Bakırdan kaynaklanan hemolizin muhtemel sebeplerinden biri glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ve piruvat kinaz gibi enzimlerin inhibisyonu olabilir. Bakır iyonları membran proteinlerinin -SH gruplarına da bağlanabilir ve komşu sülfidlerin disülfid bağı teşekkülüne sebep olabilir. In vitro olarak tesbit edilen bakırın bu etkilerinin ortama albumin ilave edilmesiyle önemli ölçüde azaldığı görülmüştür^{2,28,33-34}.

2.1.2. Cıva ve Biyolojik etkileri

Önemli bileşikler cıva (II) klorür, Cıva (I) klorür, Cıva (II) nitrat, cıva (II) siyanür, organik cıvalı diüretikler ve organik cıvalı fungusitlerdir. Metalik cıva, oda sıcaklığında buharlaşır. II değerlikli cıva tuzları I değerlikli olanlara göre daha çok çözüldüğünden daha fazla toksiktirler.¹⁵ Cıva sıvı bir metal olup çalışma ortamına göre havada yeter miktarda buharı bulunabilir. Termometre, barometre, cıva buharlı lamba, diş dolguları, farmasötik ilaçlar ve boya endüstrisinde çalışanlar cıva buharlarına maruz kalırlar. Tohumların bu bileşiklerle muamelesi esnasında cıva solunması mümkündür. Plastik imal eden fabrikalardan Minomata körfezine karışan cıvanın bakterilerin etkisi ile çok toksik olan metil cıvaya dönüştüğü, bununda besin zincirine; metil cıva, akuatik bitkiler, algler, ilkel hayvanlar, balık ve kabuklu deniz hayvanları ve nihayet insan şeklinde girdiği, gerek insan ve gerekse deniz hayvanları için önemli bir toksik artık madde olduğu bildirilmiştir^{11,15,18,22,29}.

Cıva ve bileşikleri deri, ağız veya solunum yoluyla absorbe olurlar. Metalik cıva ve Hg^+ bileşiklerinin oksitlenerek Hg^{++} tuzlarına dönüştükten sonra kan ve vücut sıvılarındaki protein, NaCl veya alkali ile birleşerek çözünür bileşikler meydana getirdiği ileri sürülmektedir¹⁵.

Cıva, sülfür ile güçlü kovalent bağlar oluşturur. Sülfür eğer sülfidril grubu şeklinde bulunuyorsa merkaptid oluşturmak üzere cıva hidrojen atomu yerine yerleşir. $X-Hg-SR$ ve $Hg(SR)_2$ şeklinde formlar oluşturur. Burada X bir elektronegatif radikal ve R proteindir. Cıva iyonları çok düşük konsantrasyonlarda bile enzimlerin sülfidril gruplarını inaktive edip hücre metabolizma ve fonksiyonunu etkileyebilirler. Cıva fosforil, karboksil, amid ve amino gibi fizyolojik önemi olan gruplarla da birleşebilir^{18,31}.

Solunum yoluyla alınan cıvanın tamamı akciğerlerden absorbe edilir ve daha sonra katalaz tarafından iki değerlikli cıva katyonlarına okside edilir. Solunum yoluyla alındığında okside olmadan önce beyine gider¹⁸. Cıvanın hücre membranına bağlanması membranda şeker aktif transportunu inhibe ettiği gibi potasyuma karşı membran permeabilitesinin artmasına da sebep olur. Beyin hücrelerinde glukoz transportunun inhibe edilmesinden dolayı hücrede enerji eksikliği meydana gelir. Potasyum permeabilitesinin artması ise beyin sinir impulslarının transmisionuna etki eder. Bu fizyolojik tesirler metil cıva zehirlenmesinden zarar gören annelerin bebeklerinde niçin kalıcı merkezi sinir sistemi harabiyetinin (beyin felci, mental gecikme, konvulsiyonlar) görüldüğünü açıklayabilir. Aynı fizyolojik etkilere işitme bozukluğu, bilinçsiz konuşma gibi karakteristik semptomları da ekleyebiliriz. Metil cıvanın kromozom ayrılması, kromozom kırılması gibi bölünme durumundaki hücrelerde de etkili olduğu ve bölünmeyi durdurduğu bildirilmektedir. Birçok sülfidril grubu içeren enzim cıva tarafından inhibe edilebilir. Çünkü cıva iyonlarının bu gruba karşı affiniteleri çok yüksektir. Sülfidril grubu içeren hemoglobin ve serum albüminine de bağ-

lanır. 11,15,18,22 .

Tuz-glukoz çözeltisinde saf eritrositlere ilave edilen $HgCl_2$ ün membranı geçtiği ve 4 dakika içerisinde intraselüler moleküller arasında eşit şekilde dağıldığı bulunmuştur. İntraselüler bölgede cıvanın GSH ve hemoglobinle $GSH-Hg(II)$ -hemoglobin şeklinde bir kompleks teşkil ettiği bildirilmiştir³¹.

Cıvanın in vitro olarak bazı enzim sistemlerini de (mitokondrial oksidatif fosforilasyon, serin biyosentezi gibi) inhibe ettiği gösterilmiştir²².

Cıva iyonları böbreklerden atılışları esnasında glomerüller ve tübüler lezyonlara da sebep olurlar¹⁵.

2.1.3. Kurşun ve Biyolojik etkileri

Anorganik kurşun tuzları (karbonat, nitrat, asetat gibi suda çözünenler),organik bir kurşun bileşiği olan tetra etil kurşun (TEK) gibi bileşikler halinde bulunur.Boya,akümülatör,seramik,porse-len,vulkanize kauçuk endüstrisinde,su boruları,çocuk oyuncakları yapımında,insektisid olarak ve TEK ise benzinin katkı maddesi olarak (vuruntuyu önlemek için) kullanılmaktadır¹⁵.

Yakıt olarak kullanılan petroldeki kurşun alkil bileşiklери otomobil eksozlarından havaya verilirken kurşun oksit yada kurşun karbonata dönüşür. Son 50 yılda bu yüzden atmosferdeki kurşun oranı önemli ölçüde artmıştır.Özellikle büyük şehirlerde bu kirlilik tehlikeli boyutlara ulaşmıştır²². Kurşun alkiler lipidde kolay çözüldüklerinden çok daha toksiktirler. Çünkü kemik dokusunda birikmek yerine direk sinirsel dokuya giderler. Değişik kaynaklar çocukların normal değerlerin üstündeki atmosferik kurşundan fiziksel ve ruhsal gelişmelerini geciktirici yönde etkilendiğini bildirmektedir²².

Absopsiyondan sonra kurşun yumuşak dokulara dağılır. Özellikle böbreklerin tübüler epiteline ve karaciğere gider. Zamanla kurşun kemikte, dişte ve saçta birikir.Dolaşım halindeki kurşunun hemen hepsi eritrositlerle ilişkilidir. Fosfat alımı kurşunun kemikte depo-

lanma oranını artırır. Aşırı kurşun alımının sonucu diyare, kaslarda güçsüzlük, akut hemolitik kriz, anemi ve hemoglobüri gelişir. Motonöronlarda dejeneratif değişimler tanımlanmaktadır. Serebral ödem, nekroz ve intrakranial basınçta artma görülür¹¹.

Kan kurşun konsantrasyonu $80 \mu\text{g/dL}$ 'yi geçtiğinde kemik iliğinde eritrositleri oluşturacak olan hücrelerde nükleik asit agregasyonu meydana gelir. Kurşun, pirimidin-5-nükleotidaz enzimini inhibe ederek çok düşük konsantrasyonlarda bile hem sentezini etkiler.

δ -aminolevulinat dehidrataz ve ferroselatazı da inhibe eder ve hem biyosentezini birkaç basamakta engeller. Hem; hemoglobin, miyogloblin, sitokromlar ve katlaz gibi proteinlerin yapısına girer¹⁸.

Kurşun merkezi ve çevresel sinir sistemini de etkiler. Kurşun ensefalopatisi kurşun ihtiva eden boyaları yiyen çocuklarda sık görülen bir akut hastalıktır¹⁵.

2.1.4. Kadmiyum ve Biyolojik etkileri

Kadmiyum tabiiatta CdS halinde bulunur⁸. Deniz suyu ortamında Cd^{+2} bir kısmında CdCl^{+} iyon çifti halinde bulunur. Metalik kadmiyum korozyona dayanıklı olduğundan geniş kullanım alanına sahiptir. Alaşımlarda, kadmiyum buharlı lambalarda, boya maddeleri yapımında, fotoelektrik hücreler, akümülatörler, dişçilikte amalgam ve hekimlikte kadmiyum oksit antihelmintik olarak kullanılmaktadır¹⁵.

Endüstride kadmiyum zehirlenmesi en fazla kadmiyum buharı ve tozlarının solunmasından kaynaklanır. Akut zehirlenmelerde gözde irritasyon, mide bulantısı, baş dönmesi, göğüste ağrı ve dispne görülür. Kronik zehirlenmelerde bronşial anfiyem, kronik rinit ve böbrekte harabiyet genelde gözlenen klinik tablodur^{15,18}.

Fosil yakacaklarda ve sigarada kadmiyum vardır. Solunum yoluyla sigarada bulunan kadmiyumun %10-40'ı absorbe edilebilir. Absorbe edildikten sonra kanda taşınır. Dağıtım yapıldıktan sonra vücut-

taki mevcut kadmiyumun %5'i karaciğer ve böbreklerde birikir. Bu organlar kadmiyum ve çinko gibi metallere karşı yüksek affinitesi olan düşük molekül ağırlıklı bir proteini, metallothionein'i ihtiva eder ki bu proteinin üçüncü amino asidi sisteindir. Metallothioneinin kadmiyum iyonlarını tutması onun diğer fonksiyonel gruplarla etkileşmesini önler ve böylece koruyuculuk görevi yapar. Böbreklerde kadmiyum konsantrasyonu 200 µg/g böbrek dokusu seviyesine ulaştığında harabiyet başlar. Filtrasyon azalır, aminoasidüri, glukozüri ve proteinüri gözlenir^{15,18,27}.

Kadmiyum dumanının ve tozlarının aşırı solunması akciğerlerin havalandırma kapasitesinin kaybına sebep olur. Kadmiyumdan kaynaklanan rahatsızlıklarda dispne görülür. Kadmiyum kaynaklı anfiyem ve pulmoner fibrozisin patolojisi iyi anlaşılamamıştır. Bununla birlikte kadmiyum spesifik olarak α_1 -antitripsin sentezini inhibe eder ve insanda α_1 -antitripsin eksikliğinin genetik veya anfiyem orijinliliği arasında ciddi bir benzerlik vardır. Tutarlı olmamakla birlikte kadmiyumun insanlarda hipertansif etkisinin olduğu da ileri sürülmektedir^{18,27}.

2.1.5. Alüminyum ve Biyolojik etkileri

Alüminyum tuzları ile tehlikeli endüstriyel zehirlenmeler görülmemesine rağmen, maden cevheri boksit (alüminyum oksit), kaplamacılıkta, seramik maddeleri ve elektrik malzemesi yapımında, dişçilikte, laboratuvarlarda, tedavide v.b. çok kullanılmaktadır¹¹.

Tıpta bazı uygulama alanları bulur. Hidroksit, glisinat ve fosfat bileşikleri midedeki asiditeyi gidermede ve peptik ülser tedavisinde uygulama alanı bulur. Yakıcı etkiye sahip olmasından dolayı ülserlerin lokal tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca kanamayı durdurucu olarak ta kullanılır. Mide asiditesini giderici ve tedavi edici ilaçların yapısında bulunan alüminyum vücuttan fosfat kaybına

sebebiyet verir. Alüminyum hidroksit mide muhtevasını tamamiyle nötralize etmez ama pH'yı 3,5-4'e yükseltmek suretiyle pepsinin proteolitik etkisini inhibe eder. Bazı endüstriyel kurumlarda çalışan işçilerde alüminyum tozu içeren havayı solurlarsa alüminozis riskine maruz kalırlar^{11,15,18}.

2.1.6. Gümüş ve Biyolojik etkileri

Gümüş nitrat teropatik olarak kullanılan bir gümüş tuzudur. Yakıcı etkisinin yanında doku ve damarları büzücü etkisi de vardır. Bu yüzden ülser ve yaraları dağlama suretiyle tedavide kullanılır. Katı formu irrite edicidir ve doku harabiyetine sebep olabilir. Çok dilue çözeltilisi kaşıntı ve kızarıklığa sebep olur. Akut zehirlenme belirtileri diğer ağır metallerde olduğu gibidir. Çeşitli tipleri anti-septik olarak kullanılmaktadır¹¹.

Kronik gümüş zehirlenmesi uzun süre gümüşün absorplanmasından kaynaklanır. Bu durumda klinik tablo gümüşün deride, mukozada ve konnektif dokuda birikmesi neticesinde ortaya çıkan karanlık mavimsi gri pigmentasyonla karakterize edilir. Burun damlaları gümüş ihtiva eder ve uzun süre kullanılması bu duruma yol açabilir. Ayrıca gümüşün böbreklerde depo edilmesi bu organların zarar görmesine sebep olabilir.

Ag^{+1} iyonları ile in vitro olarak inkübe edilen eritrositlerde glutatyon redüktaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimlerinin aktiviteleri önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca 10^{-5} M'in üzerindeki konsantrasyonları hemolitik etkiye sahiptir³³.

Gümüş iyonları sülfidril, amino, fosfat ve karboksil gruplarıyla da kombine olur. Böyle gruplara sahip proteinlerle etkileşmesi sonucu denatürasyona sebep olur. Bu, büzücü ve yakıcı etkisinin temel açıklamasıdır¹⁸.

2.2. Eritrositlerin Yapısı ve Fonksiyonu

Eritrositler oksijen taşıyan özelleşmiş hücrelerdir. Kan dokusunda hücresel kısmın en büyük branını teşkil ederler. Memelilerdeki normal olgun eritrositlerin çekirdekleri yoktur. Ayrıca mitokondri, endoplazmik retikulum, Golgi cismi gibi hücre organellerinden de yoksundur. Bu durum eritrositlere daha fazla hemoglobin taşıyabilme avantajı sağlar.

Eritrositler bikonkav disk şeklinde olup çapları ortalama 8 mikron kadardır. En kalın olan kenar kısımları 2 mikron, basık olan orta kısmı ise yaklaşık 1 mikron kalınlıktadır. Eritrositlerin bu şekilde olması onlara hacimlerine göre çok daha geniş bir membran yüzeyi sağlar. Bu durum hücrelerin kılcal damarlardan geçerken mekanik sıkışmalardan zarar görmemesini sağlar. Membran gerime uğramaz ve diğer hücrelerde olduğu gibi kolayca yırtılmaz.

Kanın hematokrit değeri %40-45 arasındadır. Eritrosit sayısı ortalama olarak erkeklerde 1 mm^3 kanda 5.200.000 (± 300.000) ve kadınlarda 4.700.000 (± 300.000) kadardır. Bunun haricinde kişinin yaşadığı yerin denizden yüksekliği de eritrosit sayısını etkiler. Hemoglobin sentezinin normal olduğu bir erkekte 100 ml kanda 16 g ve kadında ise 14 g hemoglobin bulunur. Bir gram hemoglobin $1,39 \text{ ml O}_2$ taşıma kapasitesine sahiptir.

Eritrositlerin ömrü yaklaşık 120 gün kadardır. Yaşlanıp görev yapamaz duruma gelen eritrositler karaciğerin kupfer hücreleri, dalak ve kemik iliği makrofajları tarafından fagosite edilerek dolaşımdan uzaklaştırılır. Eksilen eritrositlerin yerine yenileri yapılır. Embriyonik gelişmenin ilk birkaç haftasında vitellus kesesinde çekirdekli eritrositler oluşmaya başlar. Daha sonra karaciğer, dalak, lenf düğümleri ve olgunlaşmadan sonrada kemik iliğinde üretim devam eder. Kemik iliğindeki eritropoez dıştan gelen çeşitli uyarılara bir

cevap olarak böbrekler tarafından sentezlenen eritropoietin hormonu tarafından düzenlenir.

Eritrositler kemik iliğinde multipotansiyel stem hücrelerinden orijinlenir. Bu hücreler unipotansiyel stem hücrelere dönüşerek eritrosit yada lökosit gibi belirli tip hücreleri oluştururlar. Sonuçta eritrositlere dönüşecek olan proeritroblast hücreleri birkaç kez bölünmek suretiyle 8-16 olgun eritrosit meydana getirir. Eritrositler olgunlaşmaya kadar hücreler birtakım morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler geçirirler. Polikromatik normoblastlardan sonra bölünme durur. Fakat farklılaşma devam eder ve ortokromatik normoblastlar oluşur. Bu safhada çekirdek dışarı atılır. Normoblastlar retikülositlere, bunlar da olgun eritrositlere dönüşür. Retikülositlerde RNA kalıntıları hâla vardır. Eritrosit gelişmesi süresince organelleri azalır. Hemoglobın sentezi ise artar.^{12,14}

Eritrosit membranlarında çeşitli periferik ve integral proteinler yerleşmiştir. Bu proteinler SDS - poliakrilamid - jel elektroforezinde oluşturdukları bantların sıralanışına göre isimlendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda spektrin (band 1 ve 2), ankirin (band 2.1), band 4.1 proteini ve aktin (band 5) proteinlerinin membranın iç yüzünde yerleşerek protein ağından oluşan bir iç iskelet oluşturup eritrositlerin bikonkav disk şekillerini muhafaza ettikleri; band 3 proteininin ise integral protein olduğu ve HCO_3^- iyonları için bir anyon kanalı olarak görev yaptığı anlaşılmıştır. Glikoforin membran yapısında en fazla bulunan bir integral proteindir ve dış yüzeyine kan grubu antijenleri bağlanmıştır. Band 6 proteini ise gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz enzimidir.^{32,38,39}

Eritrositlerin dokulara O_2 taşımak ve metabolizma sonucu dokularda birikmiş olan CO_2 ' i dışarı atmak gibi iki önemli fonksiyon-

nu vardır. Oksijen taşıma görevini hemoglobin, karbondioksitin uzaklaştırılması işlemi ise karbonik anhidraz enzimi tarafından yerine getirilir. Karbonik anhidraz enzimi eritrositlerde bol miktarda vardır ve aşağıdaki reaksiyonu katalizleyerek dokulardan CO₂ in uzaklaştırılmasını sağlar.



Enzim sayesinde eritrositler dokulardan CO₂ bikarbonat iyonları halinde alırlar ve akciğerlerde dokulardakine zıt bir reaksiyonla CO₂ i serbestleştirirler. Ayrıca bikarbonat ve hemoglobin kanın en önemli tampon sistemi olarak kan pH sınırının 7,4 değerinde kalmasını temin ederler^{14,32,39}.

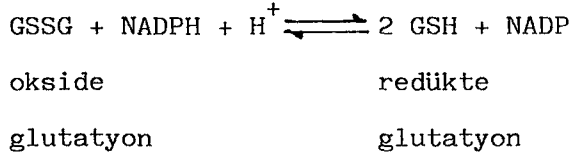
2.2.1. Eritrositlerin Biyokimyasal Özellikleri

Eritrositlerdeki metabolik olayların en önemli amacı hemoglobinin O₂ taşıma fonksiyonunu yerine getirebileceği ortamı idame ettirmektir. Söz konusu ortamın idamesi için; Na⁺ - K⁺ pompasının çalışması, hemoglobindeki demir atomunun Fe⁺² formunda korunması, hemoglobin ve eritrositlerdeki diğer fonksiyonel proteinlerin -SH gruplarının indirgenmiş halde tutulması ve membran bütünlüğünün oksitleyici etkenlere karşı korunması gibi bir takım metabolik fonksiyonların yerine getirilmesi gerekmektedir^{14,24}.

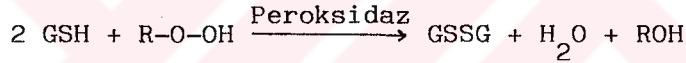
Na⁺ - K⁺ pompasının gerekli enerji kaynağı ATP dir. ATP ise eritrositlerde glukozun piruvik asit veya laktata kadar yıkıldığı anaerobik glikoliz reaksiyonları neticesinde sentezlenmektedir. Glikoliz ile bir mol glukozdan 2 mol ATP ve 2 mol NADH meydana gelir. Müteakip glikoliz basamakları için gerekli NAD⁺ nin rejenerasyonu ise piruvatın laktata NADH aracılığı ile indirgenmesi sonucu gerçekleşir^{39,40}.

Hemoglobin ve eritrositlerdeki diğer proteinlerin -SH

gruplarının indirgenmiş formda kalması ise bir tripeptid (γ -glutamil-sisteinil-glisin) olan glutatyon tarafından sağlanır. Glutatyonun bu görevini yerine getirebilmesi için indirgenmiş halde olması gerekir. Okside glutatyon aşağıdaki reaksiyonla indirgenir.

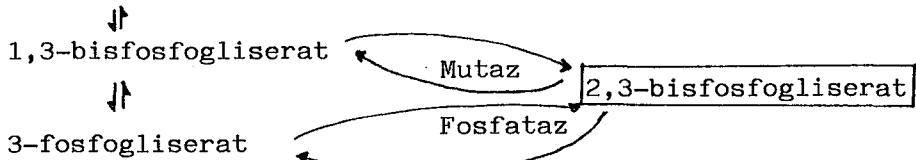


Reaksiyon glutatyon redüktaz enzimi tarafından katalizlenir ve reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH' a ihtiyaç vardır. NADPH ise pentoz fosfat yoluyla sentezlenir. Pentoz fosfat yolu NADPH ın üretildiği glikoliz yolundan ayrı bir metabolik yoldur. İndirgenmiş glutatyon glutatyon peroksidaz enziminin katalizlediği reaksiyonlarda organik peroksitler ve hidrojen peroksidin indirgenmesinde kullanılır³².



Böylece glutatyon kendisi oksitlenmek suretiyle hücre içi bileşenlerini diğer oksidan ajanlara karşı korumaktadır. Bununla birlikte glutatyon bu görevini yerine getirebilmesi için daima indirgenmiş halde bulunmalıdır^{24,39}.

Eritrositlerde 2,3-bisfosfogliserat konsantrasyonu da 4mM gibi yüksek bir seviyede tutulmuştur. Aşağıda gösterildiği gibi bu fosfat esteri glikoliz yolundan farklı iki enzim tarafından sentezlenir ve hemoglobinin O₂ ne karşı affinitesini azaltarak dokulara daha fazla oksijen bırakmasını sağlar¹⁷.



Eritrositler fruktoz, mannoz ve galaktozu da enerji kaynağı olarak kullanabilirler. Protein sentezleyemezler. Fakat glutatyon ve NAD⁺, FAD, NADP gibi koenzimleri sentezleyebilirler³.

2.2.2. Eritrositlerde Glukoz Transportu

Şekerler çok hidrofilik molekülüdür ve bu yüzden hidrofobik maddelerin kolaylıkla geçebildiği hücre membranlarının temel yapısını teşkil eden bimoleküler lipid tabakasını geçmeleri mümkün değildir. Bununla birlikte memeliler için hayati önemi olan glukoz hücrelere metabolizmanın bir substratı olarak girmesi gerekir. Yapılan çalışmalar glukozun sadece membranın bir bileşeni olan ve onunla birleşebilen bir taşıyıcı vasıtasıyla hücre içerisine girebileceğini göstermektedir⁴³.

Bazı hücrelerde (barsak mukozası ve böbrek tubulus hücrelerinde olduğu gibi) glukozun hücreye girişi aktif transport mekanizması ile gerçekleşmesine rağmen eritrositlerde bu olay pasif transportun bir çeşidi olan kolaylaştırılmış diffüzyonla olmaktadır^{19,38}. Bu sistemde bir taşıyıcıya ihtiyaç vardır ancak aktif transportta olduğu gibi enerji harcanmaz. Glukozun bu şekilde hücre içine ve dışına taşınması onun dışta ve içteki konsantrasyonuna göredir. Bu özel mekanizmanın karakteristiği ve araştırılması en fazla insan eritrositlerinde yapılmıştır. Sebebi ise insan eritrositlerinin membranlarının kolaylaştırılması ve glukozun çok hızlı transfer etmelerinden dolayı bu amaç için en uygun deneysel materyal olmalarındandır^{13,43}.

Henüz transportun mekanizması tam aydınlatılmış değildir. Eritrosit membran yapısında bulunan band 4.5 proteininin şeker taşıyıcı proteinlerin bir bileşeni olduğu bildirilmektedir^{4,13,32}. Eritrositlerde glukoz transportu dört eşit alt birimden oluşan yaklaşık 200.000 dalton molekül ağırlığında bir protein tarafından gerçekleştirilir ve bu mekanizma insülinin artırıcı tesirinden etkilenmez³⁸. Glukoz transportunu inhibe eden sitokalsin B ile yapılan bir çalışmada her bir eritrosit membranı başına 1.5×10^5 adet heksoz taşıyıcısı kopyasının olduğu bildirilmektedir¹³.

3. G E R E Ç V E Y Ö N T E M

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullanılan sodyum klörür, bakır sülfat, kadmiyum nitrat, cıva -II- klörür, kurşun asetat, alüminyum sülfat, gümüş nitrat, sodyum siyanür, potasyum ferrisiyanür, ve D(+)-glukoz-monohidrat "E.G.Merck";; enzim reaktifi, ampiren reaktifi, fenolik reaktif ve glukoz standardı (100 mg/dL) "Lancer"; sukroz ise "Sigma" firmalarından temin edildi.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Santrifüj : RC-3B Sorval instruments (Kore)

" : IEC Model Centra -4 (U.S.A)

Spektrofotometre : LKB Biochrom Ultrospec K 4053

Hassas terazi : Chyo MP-300 (Japonya)

Çeşitli tipte ve büyüklükte cam malzemeler

3.3. Kan Örneklerinden Eritrosit Süspansiyonlarının Hazırlanması

Çalışmada kullanılan kan örnekleri kan bankasından sağlıklı kişilerden taze olarak temin edildi. Kan içerisinde antikoagulan bulunan hazır kan torbalarına 450 ml kadar alındı ve eritrositlerin yıkama işlemi aynı kan torbası kullanılarak yapıldı. Bu iş için hematolojik amaçlara uygun yapılmış soğutmalı santrifüj (RC-3B) kullanıldı. Eritrosit süspansiyonlarının hazırlanması işlemleri 4 °C, 10 dakika ve 1800 rpm'de gerçekleştirildi^{4,20}. İlk santrifüjlemede kan torbasının üst kısmında ayrılan plazma ile ince bir tabaka oluşturan lökositler ile trombositler kan ayırıcı sistem yardımıyla dikkatlice eritrositlerden ayrıldı. Sonra kan torbasına total hacim 450 ml olacak şekilde % 0,9' luk NaCl çözeltisi (serum fizyolojik) yavaşça ilâve edildi. İyice homojenize edildikten sonra tekrar aynı şartlarda

santrifüj edildi ve bu işlem üç kez tekrarlandı. Böylece eritrositler plazma bileşenlerinden temizlenmiş olarak elde edildi. Son santrifüjlemeden sonra serum fizyolojik ilâvesiyle eritrosit süspansiyonları hazırlanmış oldu. Yalnız Ag^{+1} iyonları ile inkübe edilecek eritrosit süspansiyonu hazırlanırken yıkama işlemi 0,3 M sukroz çözeltisi ile yapıldı³³. Böylece ortamda NaCl olmadığından Ag^{+} iyonlarının Cl^{-} iyonları ile reaksiyona girip AgCl tuzu şeklinde çökmesi önlenmiş oldu. Bu şekilde hazırlanan eritrosit süspansiyonu iki eşit hacme taksim edilerek glukoz ilavesinden evvel 25 ve 37 °C olmak üzere iki ayrı sıcaklıkta ikişer saat müddetle bekletildi. Daha sonra glukoz ilavesi ve ağır metal iyonları ile inkübasyon işlemine geçildi.

3.4. Eritrositlerin Glukoz ve Metal İyonları İle İnkübasyonu

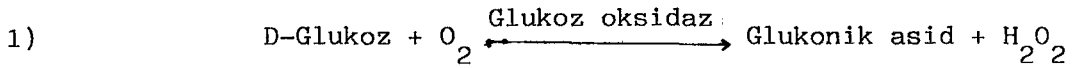
İki saat bekletildikten sonra eritrosit süspansiyonuna nihai konsantrasyonu 120 mg/dL olacak şekilde bir miktar serum fizyolojikle birlikte glukoz ilave edildi. Sonra bir miktar kan santrifüj edilerek glukoz miktarı glukoz oksidaz yöntemiyle tayin edildi. Glukoz seviyesi 120 ($\pm 0,02$) mg/dL olanlar deney için uygun kabul edilerek metal iyonları ile inkübasyon işlemine geçildi. Metal iyonu ilâve edilmeden tayin edilen bu değer glukozun başlangıç konsantrasyonu olarak alındı.

Farklı konsantrasyonda metal iyonu ile inkübasyon ise şu şekilde yapıldı : Önce 0,1 M konsantrasyonlarda bakır sülfat, kadmiyum nitrat, cıva -II- klörür, kurşun asetat, alüminyum sülfat, gümüş nitrat çözeltileri hazırlandı. 0,1 M Cu^{+2} , Cd^{+2} , Hg^{+2} , Pb^{+2} , Al^{+3} ve Ag^{+1} iyonu ihtiva eden bu konsantre çözeltilerden 10^{-2} ve 10^{-3} M lık dilüsyonlar yapıldı. Böylece herbir iyona ait 10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3} M lık üç ayrı konsantrasyon elde edilmiş oldu ve herbir metal iyonu için işaretlenen bir seri tüpe 10 μ l sırasıyla otomatik pipetle pipetlendi.

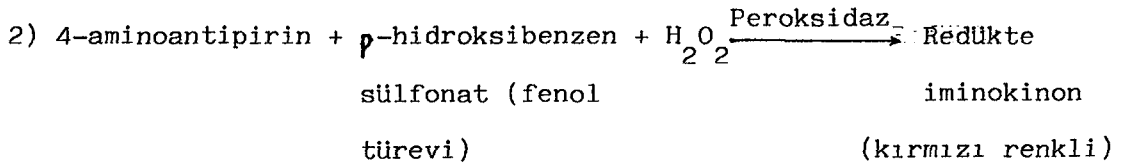
Öyleki üzerlerine 10 ml eritrosit süspansiyonu konulduğunda ilgili metal iyonunun konsantrasyonu 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} M olsun. 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} M konsantrasyonları elde etmek için sırasıyla 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} M lik metal iyonu çözeltilerinden üç ayrı tüpe alınıp üzerlerine 10'ar ml eritrosit süspansiyonu eklendi. Böylece istenilen konsantrasyonlar elde edilmiş oldu. Aynı şahıstan hazırlanan kan örneği tüplere yukarıda anlatıldığı şekilde 10 ml hacim olarak taksim edildi. Tüpler, birisi 25°C , diğeri 37°C de inkübe edilmek üzere iki ayrı seri halinde hazırlandı. İnkübasyon işlemi 12 saat süreyle sıcak su banyosunda yapıldı.

3.5. Eritrosit Süspansiyonlarında Glukoz Tayini

İnkübasyon süresince belli zaman aralıklarında glukoz tayini yapıldı. Bunun için herbir inkübasyon tüpünden 2'şer ml eritrosit süspansiyonu ayrı bir tüpe aktarılarak santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantta glukoz miktarı enzimatik metodla tayin edildi. Bu maksatla reaktiflerini kolay temin edebildiğimiz hasas bir test olan glukoz oksidaz metodu uygulandı. Bu metodla glukoz tayininin prensibi şöyledir: Glukoz oksidaz enzimi glukozu yükseltgeyerek glukonik aside çevirir ve bu sırada hidrojen peroksit teşekkül eder.



Bu reaksiyonda açığa çıkan H_2O_2 peroksidaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyonla redükte iminokinon bileşiğinin teşekkülüne sebep olur.



Sonuçta çözeltide oluşan kırmızı renkli bileşiğin konsantrasyonu ortamda mevcut glukoz miktarıyla doğru orantılıdır.

Testin yapılışı:

	Kör	Standart (100mg/dl)	Numuneler (N_1, N_2, \dots)
*Çalışma reaktifi	4 ml	4 ml	4 ml
Distile su	0,01 ml	-	-
Standart	-	0,01 ml	-
Süpernatant (S_1, S_2, \dots)	-	-	0,01 ml

1. Numune, kör ve standart tüpleri tabloda gösterilen miktarlarda reaktifler ilâve edilerek hazırlanır.
2. Numune, kör ve standart tüpleri tüp sporuyla birlikte 15 dakika 37°C'de inkübasyon işlemine tabi tutulur.
3. Spektrofotometre 515 nm dalga boyuna ayarlanır.
4. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra spektrofotometre köre karşı sıfırlanarak standart ve numunelerin absorbanları okunur.
5. Numunelerdeki glukoz miktarı aşağıdaki gibi hesaplanır:

$$\frac{\text{Numunenin absorbanı}}{\text{Standartın absorbanı}} \times 100 = \text{mg glukoz/dL}$$

*Çalışma reaktifi; 20 ml ampiren reaktifi (4-aminoantipirin), 4 ml fenolik reaktif (p-hidroksibenzen sülfonat), 0,6 ml enzim reaktifi (glukoz oksidaz ve peroksidaz) alınıp total hacim distile su ile 200 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

Ayrıca süpernatantta metal iyonlarının mevcudiyeti de gözönüne alınarak bu metallerin test sonuçlarını etkileyip etkilemedikleri de denendi. Her metal için çalışmamızda kullandığımız en yüksek konsantrasyon olan 10^{-4} M'da yapılan denemelerin sonuçları glukoz tayini için seçtiğimiz enzimatik metodun söz konusu metallerden etkilenmediğini göstermektedir.

Testin sonuçları sadece absorbans değerleri olarak aşağıda verilmiştir.

Metal iyonu konsantrasyonu (10^{-4} M)	Glukoz standartları		
	50 mg/dL	100 mg/dL	150 mg/dL
Cd ⁺²	0,144	0,297	0,437
Cu ⁺²	0,131	0,251	0,424
Pb ⁺²	0,126	0,256	0,435
Al ⁺³	0,130	0,255	0,418
Hg ⁺²	0,135	0,295	0,425
Ag ⁺¹	0,129	0,279	0,437
Kontrol ₁	0,129	0,279	0,437
Kontrol ₂	0,138	0,297	0,435

Hemoliz miktarları ise süpernatantta açığa çıkan hemoglobinin 540 nm de absorbans değerlerinin okunmasıyla tayin edilmiştir. Bunun için 1 ml süpernatant 1 ml *Drabkin's çözeltisi ile karıştırarak meydana gelen kırmızı renkli siyanmethemoglobinin absorbansı spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür³⁴.

*Drabkin's çözeltisi, 100 mg NaCN ve 300 mg $K_2Fe(CN)_6$ alınarak üzeri distile su ile 1 litreye tamamlanarak hazırlanmıştır.

4. B U L G U L A R

Metal iyonlarının eritrositlerin glukoz kullanımına olan etkilerinin incelendiği bu çalışmada çeşitli konsantrasyonlarda metal iyonlarıyla farklı sıcaklıklarda inkübe edilen eritrosit süspansiyonlarının süpernatantlarındaki glukoz miktarları 4 saatte bir ölçüldü. Her metal iyonu için tesbit edilen sonuçlar birer tablo halinde sunulurken (tablo 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12) ayrıca grafikleri çizildi (şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, 4.12). Bir fikir edinilmesi açısından ölçülen hemoliz değerleri de aynı tabloda parantez içerisinde verildi. Aşırı hemolizin görüldüğü deneyler tabloya alınmadı.

4.1. Cu^{+2} İle İnkübasyon Sonuçları

Bakır iyonu ile inkübasyon sonuçları tablo 4.1 ve 4.2'de verilmiştir. Tablolarda tesbit edilen değerler kullanılarak şekil 4.1 ve 4.2'deki grafikler çizilmiştir.

Bakır iyonunun eritrositlerin glukoz kullanımını üzerine olan etkileri tablo 4.1, 4.2 ve şekil 4.1, 4.2'den incelendiğinde $25^{\circ}C$ 'da glukoz kullanımının kontrol değerlerine paralellik arzettiği, $37^{\circ}C$ 'da da 10^{-4} M'lık Cu^{+2} konsantrasyonunda aşırı hemoliz gözlemlendiği ve 10^{-5} M'lık Cu^{+2} konsantrasyonunda ise glukoz kullanımının metal iyonuz kontrol değerlerine göre daha az olduğu anlaşılmaktadır.

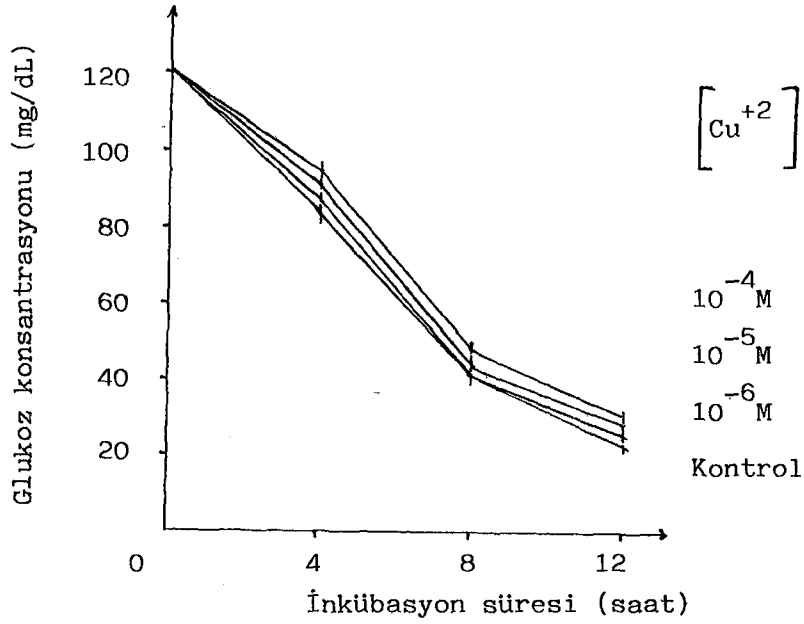
Tablo 4.1. 25°C sıcaklıkta farklı Cu^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Cu^{+2} miktarı		
		10^{-4} M	10^{-5} M	10^{-6} M
0	120 -	120 -	120 -	120 -
4	84 (0,080)	94 (1,000)	92 (0,250)	90 (0,040)
8	40 (0,102)	47 (1,320)	42 (0,460)	40 (0,070)
12	20 (0,260)	30 (1,429)	28 (0,876)	21 (0,102)

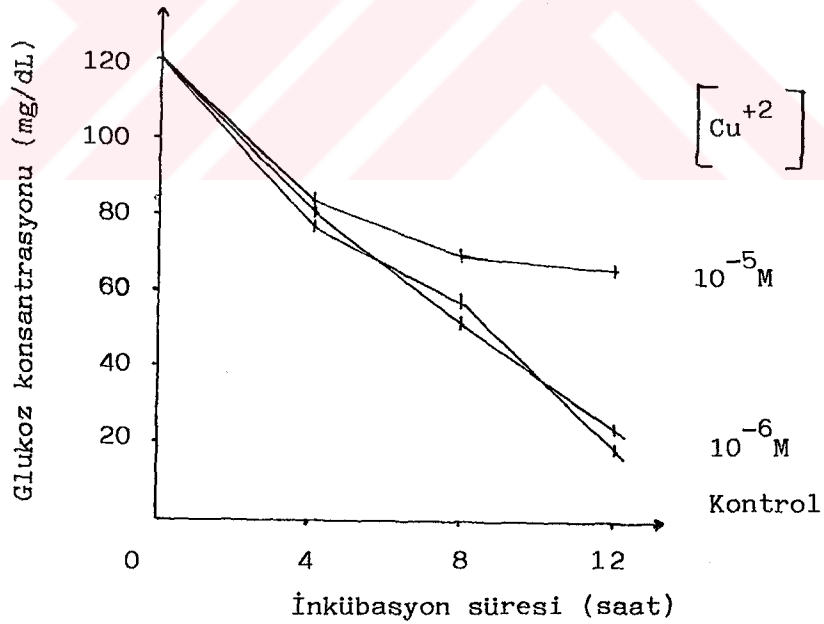
Tablo 4.2. 37°C sıcaklıkta farklı Cu^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Cu^{+2} miktarı		
		10^{-4} M	10^{-5} M	10^{-6} M
0	120 -	120 -	120 -	120 -
4	80 (0,080)	*	84 (1,667)	82 (0,077)
8	59 (0,202)	*	69 (1,896)	52 (0,200)
12	17 (0,348)	*	65 (2,330)	20 (0,301)

*Aşırı hemoliz görüldüğünden tabloya alınmamıştır.



Şekil 4.1. 25°C'de farklı Cu⁺² konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.



Şekil 4.2. 37°C'de farklı Cu⁺² konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.

4.2. Hg⁺² ile İnkübasyon Sonuçları

Farklı sıcaklıklarda ve değişik cıva konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyonlarının süpernatantlarında 4 saatte bir ölçülen glukoz miktarları ve bu esnada gözlenen hemoliz dereceleri Tablo 4.3 ve 4.4 te verilmiştir. Ayrıca bu tablodaki değerlerle Şekil 4.3 ve 4.4'deki grafikler çizilmiştir.

Bu tablo ve şekiller incelendiğinde her iki sıcaklıkta da glukoz kullanımının kontrollere göre daha az olduğu görülmektedir. Bu etki 25°C'de 10⁻⁵ M'lık cıva konsantrasyonunda daha barizdir.

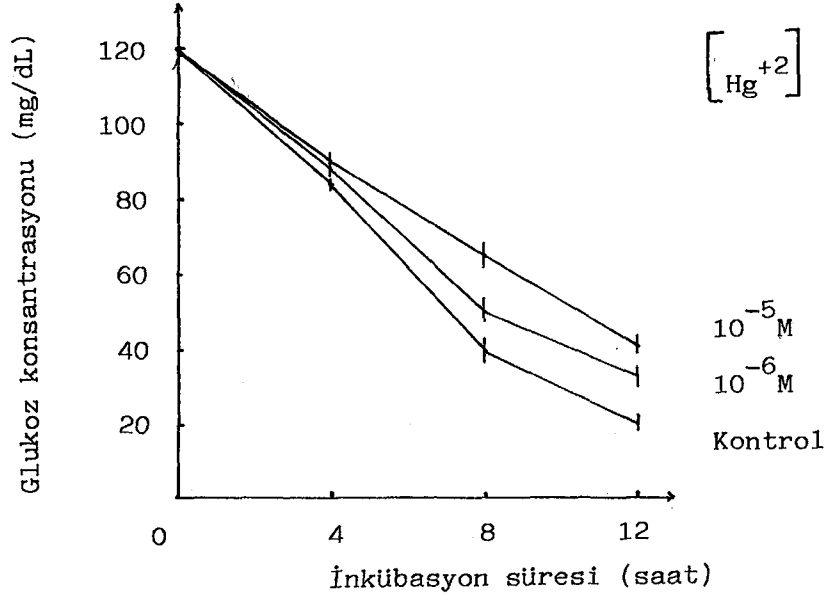
Tablo 4.3. 25°C sıcaklıkta farklı Hg⁺² konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Hg ⁺² miktarı		
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M
0	120 -	120 -	120 -	120 -
4	84 (0,080)	*	88 (1,300)	86 (0,080)
8	40 (0,102)	*	65 (1,800)	50 (0,460)
12	20 (0,260)	*	40 (2,100)	32 (1,000)

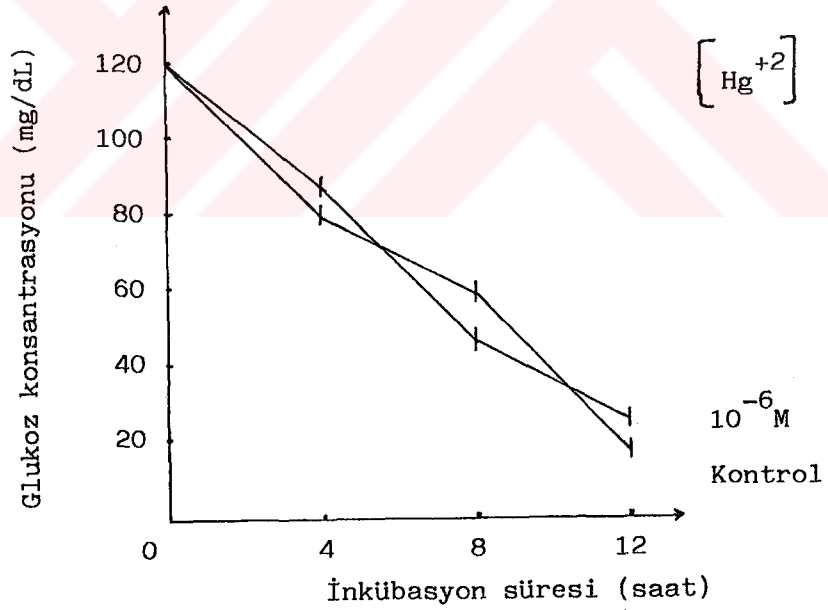
Tablo 4.4. 37°C sıcaklıkta farklı cıva konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Hg ⁺² miktarı		
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M
0	120 -	120 -	120 -	120 -
4	80 (0,080)	*	*	85 (0,677)
8	59 (0,202)	*	*	47 (1,666)
12	17 (0,348)	*	*	28 (2,100)

*Aşırı hemoliz görüldüğünden tabloya alınmamıştır.



Şekil 4.3. 25°C'de farklı Hg^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.



Şekil 4.4. 37°C'de farklı Hg^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.

4.3. Cd⁺² İle İnkübasyon Sonuçları

Farklı sıcaklıklarda ve değişik konsantrasyonlarda Cd⁺² ile inkübe edilen eritrosit süspansiyonlarının süpernatantlarında 4 saat ara ile ölçülen glukoz miktarları ve bu esnada gözlenen hemoliz dereceleri Tablo 4.5 ve 4.6'da gösterilmiştir. Ayrıca bu tablolardaki değerlerle Şekil 4.5 ve 4.6'daki grafikler çizilmiştir. Bu tablo ve şekillerden; 25°C'de 10⁻⁴ ve 10⁻⁵ M'lık konsantrasyonlarda, 37°C'de ise 10⁻⁵ ve 10⁻⁶ M'lık konsantrasyonlarda glukoz kullanımının önemli derecede engellendiği anlaşılmaktadır.

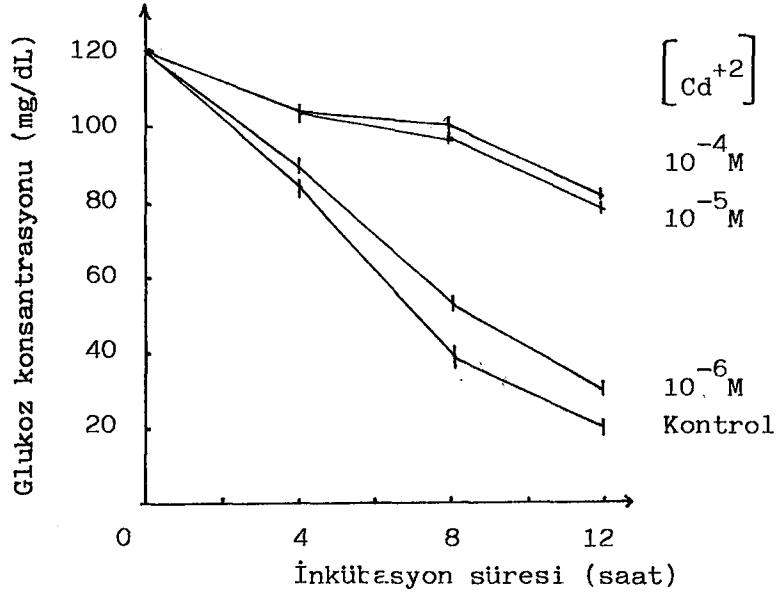
Tablo 4.5. 25°C sıcaklıkta farklı Cd⁺² konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Cd ⁺² miktarı		
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M
0	120 -	120 -	120 -	120 -
4	84 (0,080)	104 (1,161)	104 (0,060)	90 (0,070)
8	40 (0,1C2)	100 (2,117)	99 (0,110)	53 (0,265)
12	20 (0,260)	80 (2,635)	77 (0,150)	30 (0,310)

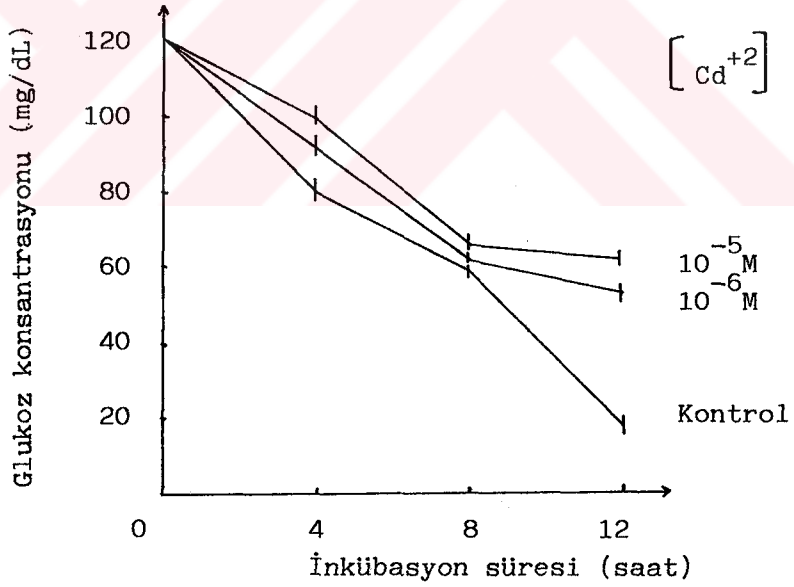
Tablo 4.6. 37°C sıcaklıkta farklı Cd⁺² konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Cd ⁺² miktarı		
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M
0	120 -	120 -	120 -	120 -
4	80 (0,080)	*	98 (0,010)	91 (0,060)
8	59 (0,202)	*	66 (0,210)	64 (0,130)
12	17 (0,348)	*	61 (0,304)	53 (0,322)

*Çok fazla hemoliz olduğundan değerlendirmeye alınmamıştır.



Şekil 4.5. 25°C'de farklı Cd^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.



Şekil 4.6. 37°C'de farklı Cd^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.

4.4. Pb⁺² İle İnkübasyon Sonuçları

Farklı sıcaklıklarda ve değişik Pb⁺² konsantrasyonlarda inkübe edilen eritrosit süspansiyonlarının süpernatantlarında 4 saat ara ile ölçülen glukoz miktarları ve bu esnada gözlenen hemoliz dereceleri Tablo 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Ayrıca bu tablolardaki değerlerle Şekil 4.7 ve 4.8'deki grafikler çizilmiştir. Bu tablo ve şekillerden kontrollere göre glukoz kullanımının fazla değişmediği ancak 25°C'da 10⁻⁴ M'lık, 37°C'da ise 10⁻⁴ ve 10⁻⁵ M'lık konsantrasyonların her ikisinde de aşırı hemoliz görüldüğü anlaşılmaktadır.

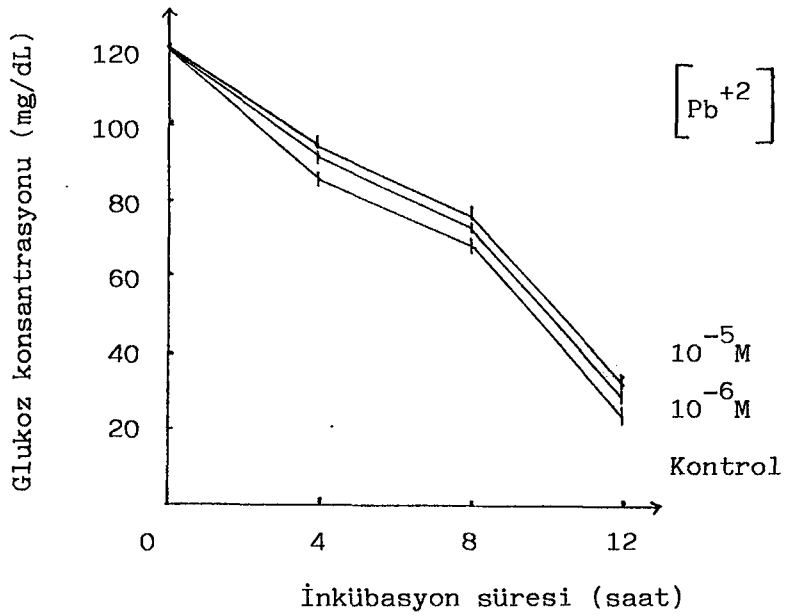
Tablo 4.7. 25°C sıcaklıkta farklı Pb⁺² konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Pb ⁺² miktarı			
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M	
0	120 -	120 -	120 -	120 -	
4	86 (0,080)	*	94 (0,200)	93 (0,090)	
8	67 (0,112)	*	74 (0,970)	70 (0,300)	
12	21 (0,228)	*	24 (1,661)	23 (0,540)	

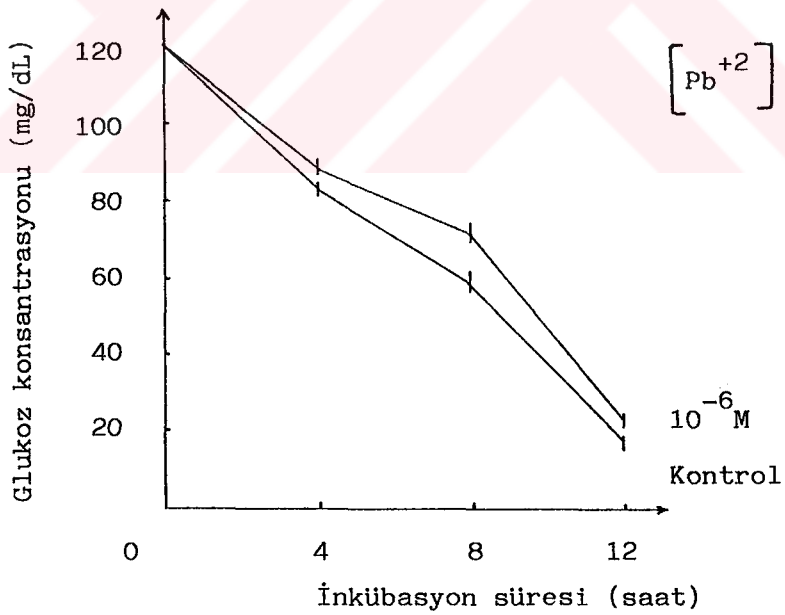
Tablo 4.8. 37°C sıcaklıkta farklı Pb⁺² konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Pb ⁺² miktarı			
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M	
0	120 -	120 -	120 -	120 -	
4	82 (0,080)	*	*	88 (0,408)	
8	58 (0,202)	*	*	72 (1,210)	
12	16 (0,341)	*	*	21 (1,610)	

*Fazla hemoliz olduğundan tablodan çıkarılmıştır.



Şekil 4.7. 25°C'de farklı Pb^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.



Şekil 4.8. 37°C'de farklı Pb^{+2} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.

4.5. Al⁺³ İle İnkübasyon Sonuçları

Alüminyum iyonlarının eritrositlerinin glukoz kullanımı üzerine olan tesirleri Tablo 4.9, 4.10 ve Şekil 4.9, 4.10'dan incelendiğinde özellikle 37°C'da 10⁻⁵ ve 10⁻⁶ M'lık konsantrasyonlarda glukoz kullanımının kontrolle karşılaştırıldığında arttığı görülmektedir.

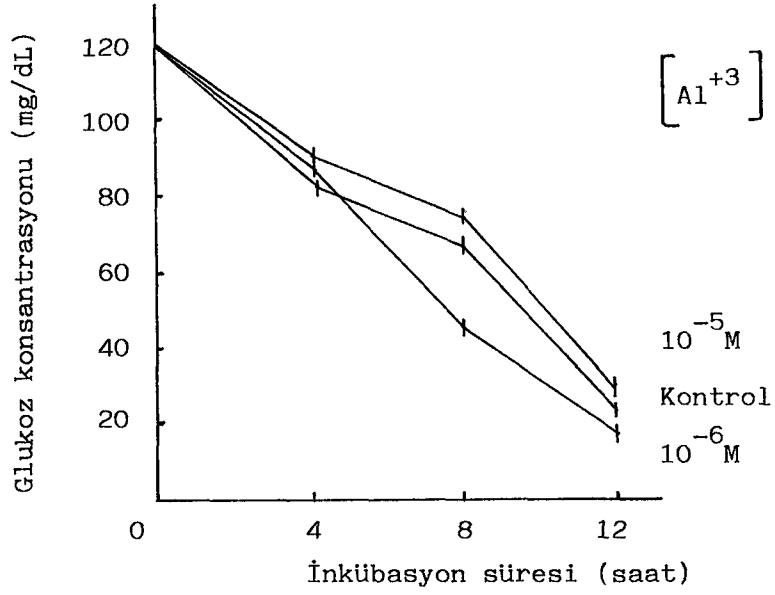
Tablo 4.9. 25°C sıcaklıkta farklı Al⁺³ konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Al ⁺³ miktarı			
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M	
0	120 -	120 -	120 -	120 -	
4	86 (0,080)	*	88 (0,120)	87 (0,096)	
8	167 (0,112)	*	74 (1,168)	46 (0,476)	
12	21 (0,228)	*	24 (1,570)	17 (1,070)	

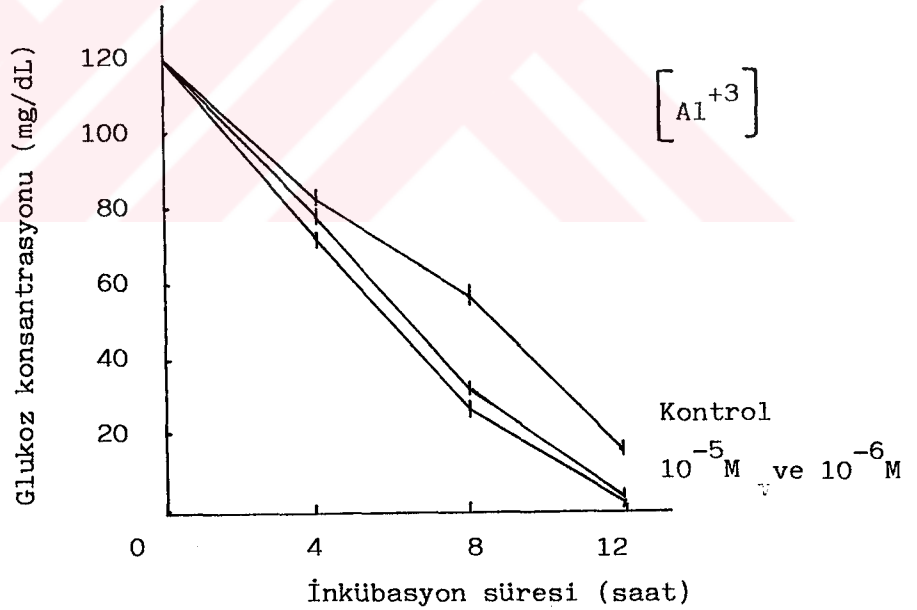
Tablo 4.10. 37°C sıcaklıkta farklı Al⁺³ konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Al ⁺³ miktarı			
		10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ M	
0	120 -	120 -	120 -	120 -	
4	82 (0,080)	*	81 (0,800)	76 (0,090)	
8	58 (0,202)	*	32 (1,177)	29 (0,305)	
12	16 (0,341)	*	3 (1,666)	2 (0,800)	

*Aşırı hemoliz olduğundan tabloya alınmamıştır.



Şekil 4.9. 25°C'de farklı Al⁺³ konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.



Şekil 4.10. 37°C'de farklı Al⁺³ konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.

4.6. Ag^{+1} ile İnkübasyon Sonuçları

Ag^{+1} ile inkübasyondan elde edilen sonuçlar Tablo 4.11 ve 4.12'de sunulmuştur. Bu tablolaradaki değerlerle Şekil 4.11 ve 4.12'deki grafikler çizilmiştir. Bu tablo ve şekillerden gümüş iyonlarının her iki sıcaklıkta da eritrositlerin glukoz kullanımı üzerine olan etkilerinin kontrol değerleriyle paralellik arzettiği anlaşılmaktadır.

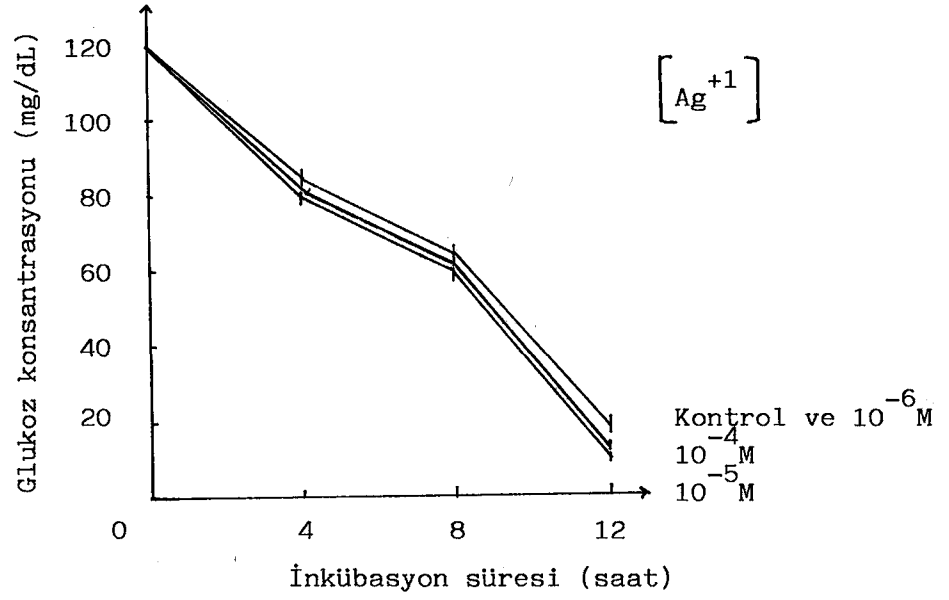
Tablo 4.11. 25°C sıcaklıkta farklı Ag^{+1} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Ag^{+1} miktarı			
		10^{-4} M	10^{-5} M	10^{-6} M	
0	120 -	120 -	120 -	120 -	
4	86 (0,080)	84 (1,112)	85 (0,180)	86 (0,102)	
8	67 (0,112)	65 (1,670)	66 (0,337)	67 (0,146)	
12	21 (0,228)	18 (2,100)	19 (0,600)	21 (0,310)	

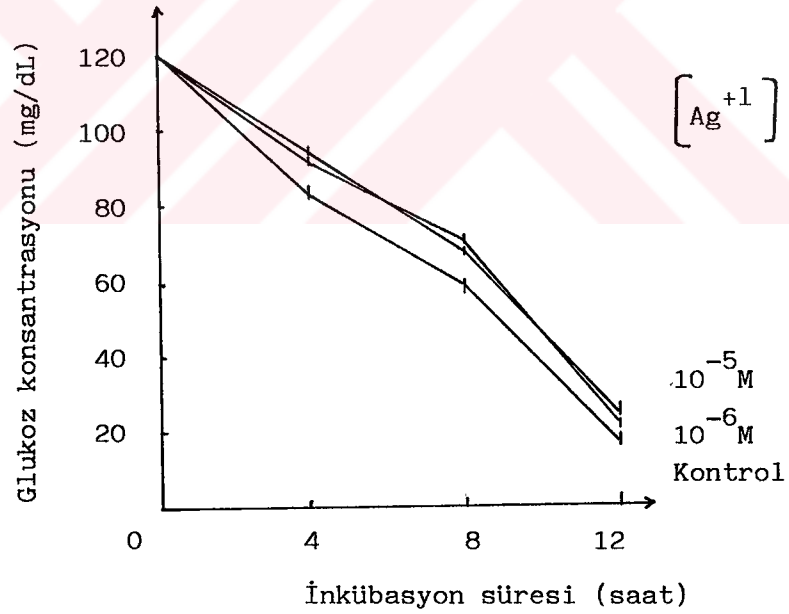
Tablo 4.12. 37°C sıcaklıkta farklı Ag^{+1} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarları (mg/dL) ve hemoliz değerleri (absorbans).

Süre (saat)	Metal iyonsuz (kontrol)	Ortamda bulunan Ag^{+1} miktarı			
		10^{-4} M	10^{-5} M	10^{-6} M	
0	120 -	120 -	120 -	120 -	
4	82 (0,080)	*	94 (0,490)	92 (0,157)	
8	58 (0,202)	*	68 (0,614)	61 (0,411)	
12	16 (0,341)	*	21 (0,880)	18 (0,711)	

*Aşırı hemoliz olduğundan tabloya alınmamıştır.



Şekil 4.11. 25°C'de farklı Ag^{+1} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.



Şekil 4.12. 37°C'de farklı Ag^{+1} konsantrasyonlarında inkübe edilen eritrosit süspansiyon süpernatantlarındaki glukoz miktarlarının zamanla değişimi.

5. T A R T I Ő M A

Bu çalışmada eritrositlerin in vitro olarak bazı metal iyonlarının beraberliğinde glukoz kullanımlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmanın başlangıcında sığır eritrositleri ile bir çalışma dūřınılmūőse de, belirli mektarda glukoz kullanımı tesbit edilemediğinden metal iyonlarının bu yōndeki etkisini incelemek mōm-kōn olmamıřtır⁴³.

Kan bankasından temin edilen taze kan ۆrneklerindeki eritrositler, gōmūő iyonu dışındaki uygulamalarda, % 0,9 luk NaCl ōzeltisi ile yıkanarak kanın diğer bileşenlerinden ayrılmıştır. Eritrositler daha sonra aynı ōzeltide sōspansiyon halinde uygulanacak sıcaklığa gōre 25°C ve 37°C deki sıcaklıklarda 2 saat bekletilerek hem sıcaklığa adaptasyon, hem de bir glukoz açlığı sağlanmıştır. Ag⁺¹ uygulaması için yıka ve adaptasyon işlemleri 0,3M'lık sukroz ōzeltisi ile yapılmıřtır³³. Bōtōn bu işlemlerde minimum hemolize sonuç verecek maniplasyonlar birçok denemelerle tesbit edilmiştir. Yani serum fizyolojik hazırlanması, santrifōjleme, ōzelti ilavesi, karıştırmak gibi hemolizi artırıcı basamaklarda dikkat edilecek hususlar belirlenmiştir.

Araştırmamızda metal iyonları olarak Hg⁺², Cd⁺², Cu⁺², Pb⁺², Al⁺³ ve Ag⁺¹ ile denemeler gerçekleştirilmiştir. Bōlōn 1'de de belirtildiği gibi bu iyonlardan Hg⁺², Cd⁺² ve Pb⁺² ۆnde gelen evre kirleticisi ağır metaller grubundan olup, Cu⁺² kirliliği daha ender vuku bulmaktadır. ۆzellikle kalaysız bakır mutfak malzemelerinden dolayı insan için bu iyon da gōz ۆnōne alınmalıdır. Al⁺³ ise asit yağmurlarının topraktaki alōminyum minerallerini çözmesi neticesinde yeraltı sularında ve gōller gibi durgun sularda birikerek canlı organizmasına gittikçe daha fazla geçmeye bařlamıřtır²². Ag⁺¹ iyonlarına ise çok nadir de olsa bazı durumlarda maruz kalınmakla birlikte bu iyonun etkisi de teorik yōnden incelenmeye değer bulunmuştur.

Başlangıçta her iyonun 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} M konsantrasyonlarında etkilerinin incelenmesine çalışılmış, Al^{+3} dışında diğer metallerin 10^{-2} ve 10^{-3} M'lık miktarlarında yüksek oranda hemoliz görüldüğünden bu konsantrasyonlarda daha ileri denemeler yapılmamıştır. Al^{+3} te ise 10^{-2} ve 10^{-3} M'lık konsantrasyonlarda eritrositlerin aglutine oldukları gözlenmiştir. Hernekadar inkübasyon çözeltisinin ozmolalitesi ilave edilen iyonlara göre ozmotik değerlere ayarlanmaya çalışılmışsa da, yüksek konsantrasyonlarda bunu tam sağlamak mümkün olmamıştır. Hemolizin bir derecede buradan kaynaklandığı söylenebilir.

Eritrositlerin O_2 taşıma fonksiyonlarını en iyi şekilde yerine getirebilmeleri için hücre içi ortamının indirgen bir özelliğe sahip olması gerekir. Böylece hemoglobindeki demirin +2 yükseltgenme basamağında kalması sağlanır, hem de hücre membranının yapısı ve diğer proteinler oksijenin yükseltgeyici etkisinden korunmuş olur. Ayrıca bazı iyonların membran transportu için ATP ye ihtiyaç duyulmaktadır. Söz konusu bu fonksiyonların yerine getirilebilmesi için eritrositin enerji sağlayabileceği tek kaynak glukozdur. Bundan dolayı herhangi bir dış etkenin eritrositler üzerindeki tesirini inceleyen en başta glukoz transportu ve kullanımının araştırılması gerekmektedir. Çalışmamızda bu yüzden eritrosit süspansiyonu süpernatantında belirli zaman aralıklarında glukoz miktarını tayin ederek sözü edilen metal iyonlarının etkilerinin anlaşılmasına gayret gösterilmiştir. Glukozun eritrositlerdeki yıkımının son ürünü olan laktat konsantrasyonu da süpernatantta ölçülerek aynı amaca hizmet edebilecek bir sonuç sağlanabilirdi. Ancak mevcut imkânlar birinci yolun uygulanmasına çalışmamızı yönlendirmiştir.

Bu araştırmada her bir iyon için 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonlarında, $25^{\circ}C$ ve $37^{\circ}C$ sıcaklıklarda olmak üzere kontrolle birlikte yedi deneme yapılmıştır. Her bir deneme kontrol grubu da

dahil olmak üzere birbirine paralel üç defa gerçekleştirilmiştir. Tablolardaki verilen sonuçlar bunların ortalamalarıdır. Her iyon için denemeler aynı anda yapılmıştır. Tek bir şahıstan alınan kanın bütün denemeler için yeterli olmaması her iyon için aynı kan numinesinin kullanılmasını engellemiştir. Ön çalışmalarımızda herbir iyon için enaz üç farklı kan numinesinde eritrosit glukoz kullanımları belirlenmiş ve bulunan değerlerin manipulasyon farklılıklarından dolayı değişik olmasına rağmen glukoz kullanımının zamana bağlı değişiminin benzer olduğu belirlenmiştir. Bu yüzden elde edilen sonuçların miktar olarak değerlerinden daha ziyade kontrol gruplarına göre zaman içinde glukoz kullanımındaki değişme eğilimleri gözönüne alınmıştır.

Çalışmamızda glukoz miktarları glukoz oksidaz enzimatik yöntemiyle belirlenmiştir. Bu yöntem mevcutları içerisinde hem en hassas, hem de reaktifleri kolay temin edilebilir olmasından dolayı tercih edilmiştir. Glukoz tayini yapılan ortamda metal iyonlarının mevcudiyeti bu iyonların glukoz oksidaz testine etkili olabileceği ihtimalini akla getirdiğinden, yine ön çalışmalarımızda bu husus araştırılmış ve Bölüm 3.5'te belirtildiği şekilde önemli bir etkinin olmadığı anlaşılmıştır.

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar 4.Bölümdeki tablolarda verilmiştir. Ayrıca her tablodaki değerler grafik üzerinde de gösterilerek değişimlerin daha iyi anlaşılması sağlanmıştır. Tablo ve grafiklerde hemolizin yüksek olduğu durumlar değerlendirilememiştir.

Elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiği zaman Cu^{+2} nin 37°C de, Hg^{+2} nin 25°C de, Cd^{+2} nin ise her iki sıcaklıkta glukoz kullanımını değişik oranlarda engellediği gözlenmektedir. Bu husus özellikle Cd^{+2} için çok belirgindir. Fakat literatürde kadmiyumun bu özelliğini ortaya koyan bir bilgiye raslanmamakla beraber

ağır metal iyonlarının eritrosit içinde glutatyon redüktaz, glukoz-6- fosfat dehidrogenaz enzimlerini inhibe etmenin yanısıra özellikle Hg^{+2} nin glukoz transport proteinine bağlanarak transportu azalttığı bildirilmektedir^{1,4,13,20,30,31,43}.

Alüminyum ve gümüşle ilgili elde edilen sonuçlar bazı yönleriyle diğer metal iyonlarından farklılık arz etmektedir. Al^{+3} ile inkübe edilen eritrositlerin her iki sıcaklıkta da (özellikle 37°C de) glukoz kullanımını artırdığı gözlenmektedir (Tablo 4.9 ve 4.10, Şekil 4.9, ve 4.10). Literatürde bu hususu açıklayıcı herhangi bir bilgiye raslanmamıştır. Al^{+3} ün küçük bir yarıçapa ve +3 gibi büyük bir yüke sahip olması bunlara bağlı olarak asidik bir özellik sergilemesi incelenen diğer metal iyonlarından glukoz kullanımına farklı bir tesiri olmasını mümkün kılmaktadır. Bu tesirin mekanizması üzerinde spekülasyon yapmak elimizdeki verilerle mümkün değildir. Ayrıca Ag^{+1} in çalışılan metal iyonları arasında kontrol değerleri ile hemen hemen çakışan bir sonuç vermesi nazâri dikkati çeken bir başka husustur.

Bu çalışma ile ileride metal iyonlarının eritrosit glukoz kullanımları ile ilgili daha ayrıntılı araştırmalara bir başlangıç yapılması arzulanmıştır. Elde edilen sonuçlar gözlenen etkilerin mekanizmasını açıklayacak verileri bize tam sunmadığından, genel bilgiler bölümünde ağır metal iyonları-canlı materyal etkileşmeleri hakkında verilen bilgilere yukarıda sıraladığımız birkaç sonucu ilâve edebiliriz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Cd^{+2} iyonu in vitro olarak hem 25°C 'da hem de 37°C da 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonlarda insan eritrositlerinin glukoz kullanımını engellemektedir.
2. Cu^{+2} 37°C 'da, Hg^{+2} ise 25°C 'da yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda engelleme yapmaktadır.
3. Pb^{+2} ise önemli bir engelleme yapmamaktadır.
4. Al^{+3} ise 10^{-5} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonlarda glukoz kullanımını artırmaktadır.
5. Ag^{+1} iyonu insan eritrositlerinin glukoz kullanımını kontrol denemeleriyle karşılaştırıldığında hiç değiştirmemektedir.
6. Bu denemelerin eritrosit süspansiyonu süpernatantında laktat ölçümleriyle de irdelenmesi yapılabilir.
7. İnsan eritrositlerinin söz konusu metal iyonları mevcudiyetinde glukoz kullanımlarındaki değişmelerin bazı sebepleri eritrosit enzimlerinin aktivitelerinin ölçümleriyle ortaya çıkarılabilir.

7. Ö Z E T

Bu çalışmada bazı metal iyonlarının in vitro olarak insan eritrositlerinin glukoz kullanımına etkileri incelenmiştir. Analizlerde hemolize ve eritrosit aglutinasyonuna sebep olmayan 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} M'lık konsantrasyonlardaki Cu^{+2} , Hg^{+2} , Pb^{+2} , Cd^{+2} , Al^{+3} ve Ag^{+1} iyonları kullanılmıştır. Eritrosit süspansiyonları 25° ve 37°C sıcaklıklarda 4, 8 ve 12 saat metal iyonlarının mevcudiyetinde inkübe edildikten sonra süpernatantta glukoz oksidaz enzimatik yöntemiyle glukoz seviyeleri tayin edilmiştir.

Glukoz kullanımı en belirgin şekilde Cd^{+2} tarafından engellenmiştir. Cu^{+2} ve Hg^{+2} iyonları da kullanımı sırasıyla 25° ve 37°C 'da azaltmıştır. Al^{+3} 'ün ise glukoz kullanımını artırdığı gözlenmiştir. Pb^{+2} ile önemli değişme olmamakla beraber Ag^{+1} iyonunun kontrol değerleri ile çakışan glukoz kullanım profili sergilediği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Glukoz kullanımı, eritrositler,
in vitro, metal iyonları.

8. S U M M A R Y

In this study, in vitro effects of some metal ions on glucose utilization of human erythrocytes were investigated. For this purpose, Cu^{+2} , Hg^{+2} , Pb^{+2} , Cd^{+2} , Al^{+3} and Ag^{+1} ions with the molar concentrations of 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} which do not cause hemolysis and agglutination were used. Glucose was quantitatively determined by glucose oxidase enzymatic method in the supernatants of the erythrocyte suspensions which were incubated in the presence of these ions for 4, 8 and 12 hours at 25°C and 37°C.

Glucose utilization was obviously decreased by Cd^{+2} at all concentrations and temperatures. The presence of Cu^{+2} and Hg^{+2} reduced the glucose uptake at 37°C and 25°C respectively. Al^{+3} surprisingly increased the utilization. Ag^{+1} ions exhibited a utilization profile which coincided with the control values. No significant change was observed in the presence of Pb^{+2} .

Key Words : Glucose utilization, erythrocytes, in vitro ,
metal ions.

10. K A Y N A K L A R

1. Arkwitz R, Gersonde : Effect of cadmium ions on dioxygen affinity and polyphosphate activity of human red blood cells. Blut,56:185-190, 1988.
2. Asano R, Hokari S : The effect of copper on intact cattle erythrocytes. J vet Pharmacol Therap, 8:157-164, 1985.
3. Beutler E : Red cel metabolism. Grune & Stratton,Inc.,New York and London, 1975. s. 1-8, 70-73.
4. Bilan PJ, Klip A : Glycation of the human erythrocyte glucose transporter in vitro and its functional consequences. Biochem J, 268:661-667, 1990.
5. Özgönül H : Kan fizyolojisi. Ege Üniversitesi Yayını, İzmir, 1975 s. 11.
6. Bingöl G : Biyokimya. Güven Matbaası,Ankara, 1983, s. 170-390.
7. Boyd L.O Dell : Bakır biyokimyası. Bruch RE, Sulvian JF (ed), Dahiliye Klinikleri. Güven Kitabevi Yayını, Ankara, 1976, s. 643-660
8. Bryan GW : Heavy metal contamination in the sea. Johnston R (ed), Marine Pollution, Academic Press Inc.Ltd,London, 1976, s. 185-302.
9. Caraway WT, Watts NB : Carbohydrates. Tietz NW (ed), Textbook of Clinical Chemistry, W.B.Saunders Co.,Philadelphia, 1986, s.775-828.
- 10.Davies A, et al. : Site-specific antibodies as probes of the topology and function of the human erythrocyte glucose transporter. Biochem J, 266:799-808, 1990.

11. Dökmeci İ : Toksikoloji. Nobel Tıp Kitabevi Yayını, İstanbul, 1988 s. 319-362.
12. Fairbants VF, Klee GG : Biochemical aspects of hematology. Tietz NW (ed), Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, s. 1495-1589.
13. Goldin SM, Rhoden V : Reconstitution and "transport specificity fraction" of the human erythrocyte glucose transport system. J Biol Chem, 253:2575-83, 1978.
14. Guyton AC : Textbook of Medical Physiology. W.B. Saunders Co., 1987, s. 1-149.
15. Güley M, Vural N : Toksikoloji. A.Ü. Eczacılık Fakültesi Yayını, Ankara, 1978, s. 146-200.
16. Kasahara M, Hinkle PC : Reconstitution of D-glucose transport catalyzed by a protein fraction from human erythrocytes in sonicated liposomes. Biochemistry. 173:396-400, 1976.
17. Keha EE, Küfrevioğlu Öİ : Biyokimya-1, Fen-Edebiyat Fakültesi Yayını, Erzurum, 1990.
18. Klaasen CD : Heavy metals and heavy-metal antagonists. Gilman AG, et al.(ed), Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Collier Macmillan Canada, Inc.1985, s. 1605-1627.
19. Kırac F : Normal kişilerde %5 dekstroz ve %5 dekstroz'da hazırlanmış çeşitli NaCl, KCl, MgCl₂ ve CaCl₂ konsantrasyonlarının eritrosit glukoz transportuna etkileri. Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, 1988.

20. Kuminoto M, et al : Changes in membrane properties of rat red blood cells induced by cadmium accumulating in the membrane fraction. J Biochem. 99:397-406, 1984.
21. Lachant NA, et al. : Inhibition of the pentose phosphate shunt by lead: A potantiel mechanism for hemolysis in lead poisoning. Blood, 63:518-524, 1984.
22. Manahan SE :Environmental Chemistry. Williard Grant Press. USA,1979. s. 443-475.
23. May MJ : Interaction of permeant maleimide derivative of cysteine with the erythrocyte glucose carrier. Biochem J, 263:875-881, 1989.
24. Murray RK, et al. : Harper's Biochemistry. Appleton & Lange, USA, 1988.
25. Noyan A : Fizyoloji. Anadolu Üniversitesi Yayını.Ankara, s. 431.
26. Özgönül H : Kan Fizyolojisi. Ege Üniversitesi Yayını,İzmir, 1975, s. 11.
27. Perry HM, et al. : Kadmiyum biyolojisi.Bruch RE, Sullivan JF (ed), Dahiliye Klinikleri, Güven Kitabevi Yayını, Ankara, 1976, s. 715-27.
28. Portman JE : Toxicity-testing with particular referance to oil-re-moving materials and heavy metals. Ruivo M (ed),Marine Pollution and sea life, FAO, 1972, s. 217-22.
29. Portman JE : Posible dangers of marine pollution as a result of mining operations for metal ores. Ruivo M (ed), Marine pollution and sea life, FAO, 1972, s. 343-47.
30. Rabenstein DL, et al. : A proton nuclear magnetic resonance study of the interaction of cadmium with human erythrocytes. Biochim Biophys Acta, 762:531-41, 1983.

31. Rabenstein DL, Isab A : A proton nuclear magnetic resonance study of the interaction of mercury with intact human erythrocytes. *Biochemica and Biophysica Acta*, 721:374-84, 1982.
32. Rawn JD : *Biochemistry*. Caroline Biological Supply Co. USA, 1989.
33. Ribarov S, Benov L : Glutation reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in erythrocytes treated with heavy metals. *Acta Physiologica et Pharmacologica, Bulgarica*, 11:51-5,1985.
34. Ribarov S, et al. : Hemolysis and peroxidation in heavy metal treated erythrocytes: GSH content and activities of some protecting enzymes. *Experientia*, 38:1354-56, 1982.
35. Rotts JR, et al. : Exchange of fluorinated glucose across the red cell membrane by ^{19}F -n.m.r. magnetization transfer. *Biochem J*, 266:925-28, 1990.
36. Simons TJB : Active transport of lead by human red blood cell. *FEBS Lett*, 172:250-54, 1984.
37. Simons TJB : The role of anion transport in passive movement of lead across the human red cell membrane. *J Physiol*, 378:287-312, 1986.
38. Smith EL, et al. : *Principles of biochemistry*. McGraw-Hill, Inc. 1983, s. 285-428.
39. Stryer L : *Biochemistry*. W.H. Freeman and Company, New York, 1988.
40. Telefoncu A : *Tıp ve Fen Bilimleri için Biyokimya*. Sermet matbaası, İstanbul, 1988.

41. Terzioğlu M : Fizyoloji Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi yayını, Cilt II, İstanbul, 1978, s. 32.
42. Wheeler TJ, Hinkle PC : Kinetic properties of the reconstituted glucose transporter from human erythrocytes. J Biol Chem, 256:8907-14, 1981.
43. Widdas WF : Sugar transport in red blood cells. Methods Enzymol, 173:231-50, 1989.



Ö Z G E Ç M İ Ş

Hasan EFE, 1965 yılında Artvin'in Ardanuç ilçesinde doğdu. İlk ve orta okuldan sonra lise öğrenimini Samsun Veteriner Sağlık teknisyenliği okulunda tamamladı. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı bünyesinde bir süre veteriner teknisyeni olarak çalıştı (1982-1983). 1982'de girdiği Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden 1987 yılında mezun oldu. İki yıl kadar Milli Eğitim Bakanlığına bağlı orta dereceli bir okulda öğretmenlik yaptı (1988-1990).

Öğretmenlik görevini sürdürürken aynı zamanda 1988 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim dalında yüksek lisans öğrenimine başlayan Hasan EFE, 1990 tarihinden itibaren aynı enstitüde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.