

T. C. ANADOLU ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

99794

**PULSLU MAGNETİK ALANLARIN (PEMFs) KURBAĞA  
İSKELET KASI KASILMA AKTİVİTESİ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ.**

( Yüksek Lisans Tezi )

**Ferhan ESEN**

TEZ YÖNETİCİSİ

**Yrd. Doç. Dr. HAMZA ESEN**

ESKİŞEHİR, 1988

Anadolu Üniversitesi  
Eskişehir Kütüphanesi

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
I. GİRİŞ .....	1
II. GENEL BİLGİLER .....	4
I. Kas: Yapısı ve Fonksiyonu .....	4
2.1.1 Kasta Organizasyon .....	4
2.1.2 Kasılma Mekanizması : Kayan Flamentler Hipotezi .....	6
2.1.3 Gerilme-Uzunluk Eğrisi .....	8
2.1.4 Kalın ve İnce Flamentlerin Yapısı ....	9
2.1.5 Uyarı-Kasılma Çiftlenimi : Kas Aktivi- tesinin Regülasyonu .....	13
2.1.6 Kalsiyum İyonlarınca Aktive Edilen Sü- reçlerin Regülasyonunda Mekanizmalar .	16
2.2.1 İskelet Kası Kasılma Aktivitesinin Me- kanik Karakteristikleri .....	18
2.2.2 Kasın Mekanik Aktivitesinin Güçlenme- sinde Mekanizmalar .....	20
III. GEREÇLER ve YÖNTEM .....	21
3.1 Gereçler .....	21
3.2 Yöntem .....	21
3.2.1 Kası Elektriksel Yoldan Uyarmada İzle- nen Yöntemler .....	21
3.2.2 Magnetik Alan Kaynağı ve Karakteris- tikleri .....	22
3.2.3 Kasın Mekanik Aktivitesinin Kayıtlan- ması .....	24
3.2.4 Kas Sarsı Eğrilerinin Çeşitli Büyük- lüklerinin Saptanmasında İzlenen Yön- temler .....	25
IV. BULGULAR .....	26
V. TARTIŞMA .....	41
VI. SONUÇ .....	45
VII. ÖZET .....	46
KAYNAKLAR .....	50

## I. GİRİŞ

Elektromagnetik(EM) dalgalar ile ilgili araştırmalar biyo-medikal, biyo-mühendislik ve biyofizik araştırmalar olmak üzere temelde üç grupta toplanabilir. Biyo-medikal araştırmalar EM- alanların canlılar ve hücreler üzerindeki etkilerinin saptanmasına ve bu etkilerin klinik sonuçlarının bulunmasına yöneliktir. Biyo-mühendislikte, canlı dışında var olan EM- alanların vücut içinde yayılma şekli ve enerjinin nasıl soğurulduğu araştırılır. Bu konuda vücut dokularının elektriksel karakteristikleri konusunda bildiklerimiz önemli bir yer tutar. Biyofizik araştırmalar ise mikroskopik, hücrese ve makromoleküler yapıların EM- alanlar etkisindeki yanıtı, yani, biyolojik yanıtta sorumlu olan mekanizmaların saptanması ile ilişkilidir. Bu üç alan birbirini tamamlayıcı bilgiler verdiğinden bunlar arasındaki bilgi aktarımı çok önemlidir (Schwan, 1985).

Bir biyolojik yapının EM- alanlar etkisinde kalması sonucu ortaya çıkan olayların nedeni konusunda iki ayrı görüş vardır. Bu nedenler;

- 1- Dokuda enerji soğurulması sonucu açığa çıkan ısı,
  - 2- Isısal kökenli olmayan ve doğrudan elektrik alan ile biyolojik sistem arasındaki etkileşim
- şeklinde özetlenebilir(Schwan, 1985; Michaelson, 1985).

EM- alanların soğurulması sonucu açığa çıkan ısı vasküler ve termoregülatör sistemde çeşitli yanıtlar oluşturabilmektedir. Bölgesel sıcaklık artması durumunda hipotalamusun periferel kan akımını ayarlıyarak düzeltici etkinlik gösterdiği bilinen bir gerçektir. Sıcaklıktaki değişiklikler, aynı zamanda, hücre zarlarının geçirgenliğini ve böylece iyonların zardan taşınmasını etkileyebilmektedir. Isı etkisinden tedavi amacı ile de yararlanılmaktadır. Örneğin mikrodalgaların doku derinliklerinde soğurulma-

ları sonucu açığa çıkan ısı tümöral oluşumların tedavisi(diathermy) amacı ile kullanılmaktadır.

EM-dalgaların sağlık açısından zararlı etkileri de vücutta ısı artışına bağlanmakta ve tolere edilebilir güvenlik sınırı için alan şiddetinin değeri  $10\text{mW}/\text{cm}^2$  olarak verilmektedir. Şiddetin 1 ile  $10\text{mW}/\text{cm}^2$  aralığındaki değerleri için ise, gözlenen olayların ısısal kökenli olup olmadığının saptanmasının çok kolay olmadığı ifade edilmektedir(Schwan, 1985).

EM-alanların biyolojik açıdan ilginç çeşitli olaylara neden olabileceği ve bu olayların oluşumundaki eşik değerin ise pek çok olayda ısısal düzeyin altında kaldığı görüşü yaygındır. Bu tür olaylarda, EM-alan-hücre etkileşimi sonucu ortaya çıkan çeşitli kuvvetler(pondermotic) rol almaktadır. Bu kuvvetler hücrelerin biçiminde ve düzenleniminde değişiklikler meydana getirebilmekte, hücrede yapısal bozukluk oluşturabilmekte, hücrelerin birleşmelerine(fusion) ve protoplazmik akıntılara neden olabilmektedir. EM-alan aracılığı ile hücrelerin birleşmesinin sağlanması biyoteknoloji olarak adlandırılan alanın büyük öneme sahip tekniklerinden birini oluşturmaktadır(Schwan, 1985; Michaelson, 1985).

EM-alan etkisi sonucu gözlenen belirli biyolojik yanıtlar modülasyon frekansına bağımlılık göstermektedir. Memelilerin merkezi sinir sisteminin çok düşük frekanslı veya 10-100Hz frekans aralığında modülasyonlu EM-alanlar etkisinde kalması sonucu EEG güç spektrumu, reaksiyon zamanı ve  $\text{Ca}^{++}$  iyonlarının dışarı akısında gözlenen değişiklikler buna örnek olarak verilebilir(Schwan, 1985; Michaelson, 1985(b); Blackman, 1985).

Canlılardaki elektriksel olayların keşfi ile birlikte bu olayların canlı açısından önemi de anlaşılmaya başlanmıştır. Günümüzde ECG, EEG, EMG gibi pek çok elektriksel gözlem yöntemi çeşitli organların fonksiyonel durumunu saptamamıza olanak sağlamaktadır. Herhangi bir nedenle bu elektriksel olayların normal fizyolojik sınırlar dışına çıkması durumunda ise, dış kaynaklı elektriksel etkiler uygulayarak, doğal olarak oluşması beklenen olaylar dizisinin oluşumuna yardım edilebileceği gösterilmiştir(Hench, 1982). Bu konuda EM-alan uygulamasına örnek olarak pulslu EM-alanların(PEMFs) kaynamıyan(non-union) kemik kırıklarının tedavisinde kullanılması gösterilebilir(Basset, 1984; Seber ve ark., 1987). PEMF uygulanarak doku kültürleri üzerinde yapılan

deneyler, PEMF nin kolagen üretimini artırdığını, kemik dokunun yıkımından sorumlu enzim düzeylerini azalttığını ve kalsifikasyonu hızlandırdığını göstermektedir(Jackson, 1985).

Periferel sinir sistemi üzerinde yapılan çalışmalar bu sistemin magnetik yoldan(alan şiddeti 4T) uyarılmasının elektromyografik yanıtı artırdığını göstermektedir. Bu durumda, elektrik ve magnetik uyarıların birlikte uygulanması sinir hücresi düzeyinde bazı ilginç soruların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bunlardan biri, magnetik alanın sinir lifinde aksiyon potansiyelini başlatan sodyum kanalları üzerinde özel bir etkisinin olup olmadığıdır(Bickford ve ark., 1987). Elektriksel uyarılar etkisindeki iyonik hareket yaklaşık doğrusal iken magnetik alan uygulanması sonucu bu akım dairesel görünüm kazanır. Sabit bir magnetik alana dik doğrultudaki bir iyonik akım halinde Hall-olayının ortaya çıkacağı ve bunun bir potansiyel farkı oluşumuna yol açacağı çok iyi bilinmektedir. Bu nedenle, elektrik ve magnetik uyarıların birlikte uygulanmasının, Hall-olayı sonucu moleküler düzeyde iyonların yolunu değiştirerek Na kanallarını seçimli olarak aktive edip etmediği sorusu akla gelir. Merkezi sinir sisteminin magnetik yoldan uyarılmasının ilginç olduğu belirtilmekle birlikte, yeterli güvenlik sınırları saptanmamış olduğundan uygulamanın sakıncalı olabileceği ifade edilmektedir.

Günümüzde haberleşme sistemlerinin(radar, radyo, tv, vb.) yüksek gerilim hatlarının ve elektrik şebekelerinin oluşturduğu EM-alanların canlılar üzerindeki etkileri tam olarak incelenip yeterli güvenlik standartları oluşturulmamıştır(Grandolfo, 1985). Tedavi amacı ile kullanılan elektromagnetik alanların kullanılma amaçları dışındaki bilgi ise sınırlıdır(Blackman, 1985; Basset, 1984; Grandolfo, 1985).

Tezimizde;

Kemik dokunun kalsiyum metabolizması üzerindeki etkisi iyi bilinen ve tedavi amacı ile başarılı bir şekilde kullanılan PEMF nin kalsiyum iyonlarının anahtar rol oynadığı kas kasılma aktivitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi ve olası mekanizmaların açıklığa kavuşturulması amaçlanmıştır.

## II. GENEL BİLGİLER

### I. KAS : YAPISI ve FONKSİYONU

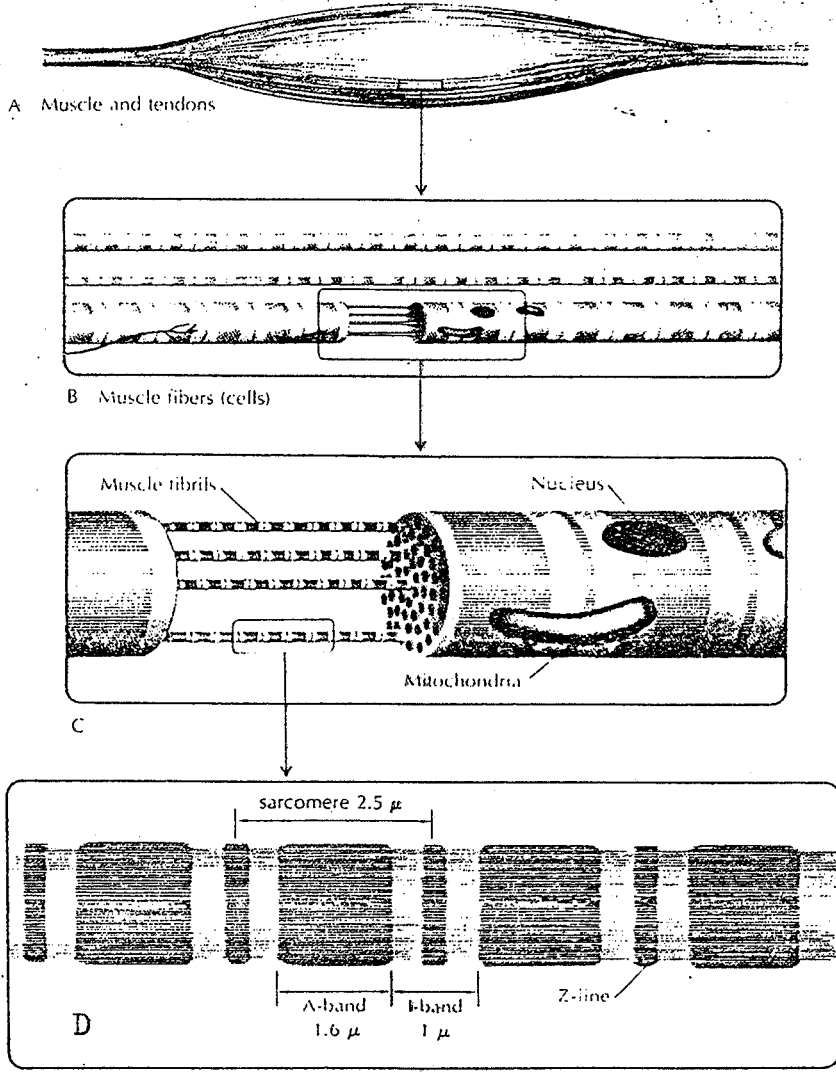
Kaslar, canlıların farklı türden hareketlerini yapmada kullandıkları sistemlerdir. Büyük çeşitliliğe sahip kasların biyofizik görüş açısından ilginç bir özelliği bu sistemlerde işleyen mekanizmaların yaygın benzerlikler göstermesidir. Örneğin, bütün kasların kasılabilen öğeleri sınırlı çeşitlilik gösteren proteinlerden oluşur ve temel bileşenler aktin ile myozindir. Kasın kasılabilmesi için gerekli enerji, ATP molekülünün yıkımı ile sağlanır. Bazı farklılıklarla aktivasyon mekanizmalarında da büyük benzerlikler vardır. Kasların iskelet sistemi üzerine uyguladıkları kuvvetler sadece çekme kuvvetidir. Gereksinim duyulan itme kuvveti ise birden fazla kasın oluşturduğu kuvvetdeki denge ile sağlanır.

İlgi alanımız olan iskelet kasları ışık mikroskobu altında incelendiğinde karakteristik bir çizgili desen gözlenir. Bu nedenle bu kaslar çizgili kaslar olarak adlandırılır. Deneysel araştırmalarda yaygın olarak kullanılan iskelet kaslarından biri kurbağanın sartorius ve gastrokinemius adlı bacak kaslarıdır.

#### 2.1.1 Kasta Organizasyon

Omurgalıların çizgili kaslarının farklı düzeylerdeki organizasyonu Şek.1(a)-(d) de görülmektedir.

Kas bir bütün olarak, Şek.1(b) de görüldüğü gibi çok sayıda bireysel kas liflerinden oluşur. Şek.1(c) de görülen myofibrillerin çapı 1-2  $\mu$ m olmakla birlikte liflerin çapı 20-100  $\mu$ m arasında değişir. Myofibriller faz-kontrast mikroskobunda incelendiklerinde ise Şek.1(d) de görülen karakteristik band deseni elde edilir. Myofibriller boyunca aynen tekrarlanan yapının temel birimi sarkomer olarak adlandırılır ve iki Z-çizgisi arasındaki bölgeye karşılık gelir. Sarkomerin merkezinde anizotropik olan A-bandı yer alır. İzotropik olan I-bandı ise Z-çizgisinin iki yanındaki bölgeyi kapsar.



Şek.1. Çizgili kasta organizasyon:

A: çeşitli liflerden oluşan bir kas

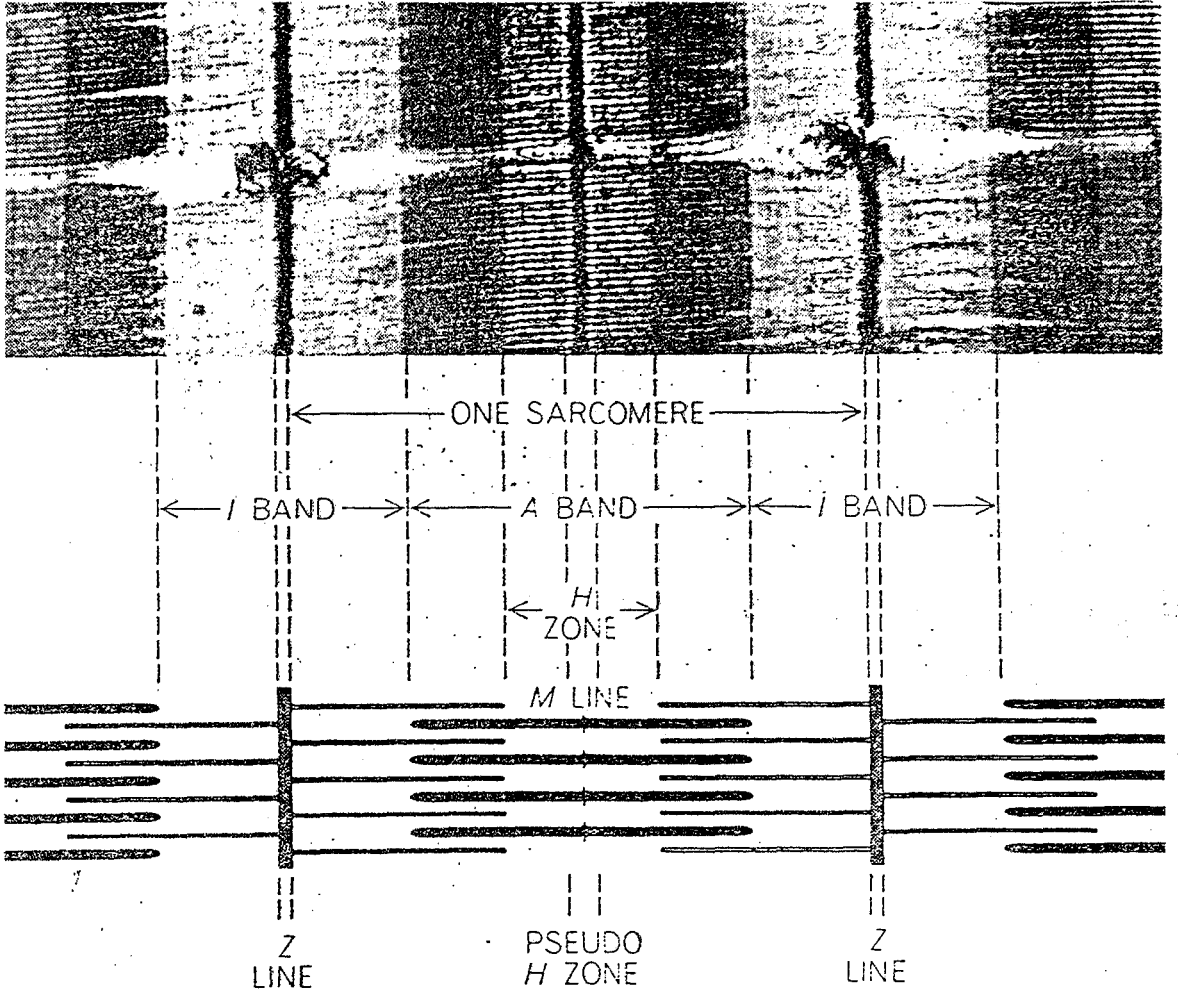
B: Lifler çeşitli kasılabilir öğelerden, yani myofibrillerden oluşmuştur.

C: Myofibrillerin daha ayrıntılı görünümü.

D: Faz-kontrast mikroskobu ile sarkomerin görünümü.

Aynı band yapısı elektron mikroskobu ile daha ayrıntılı bir şekilde görülür.

Myofibrillerin elektron mikroskopunda daha yüksek çözme gücü altında incelenmesi sonucu, band yapısının birbiri içine giren iki farklı protein filamentinden(kalın ve ince) oluştuğu bulunmuştur. İnce filamentler 50-70 Å çapındadır ve Z-çizgisine bağlanmışlardır. Kalın filamentler ise 100-120 Å çapındadır ve A-bandı boyunca yerleşmişlerdir. Yüksek çözme gücü altında görülen bu band yapısı Şek.2 de verilmiştir(Mannherz-Holmes, 1983).



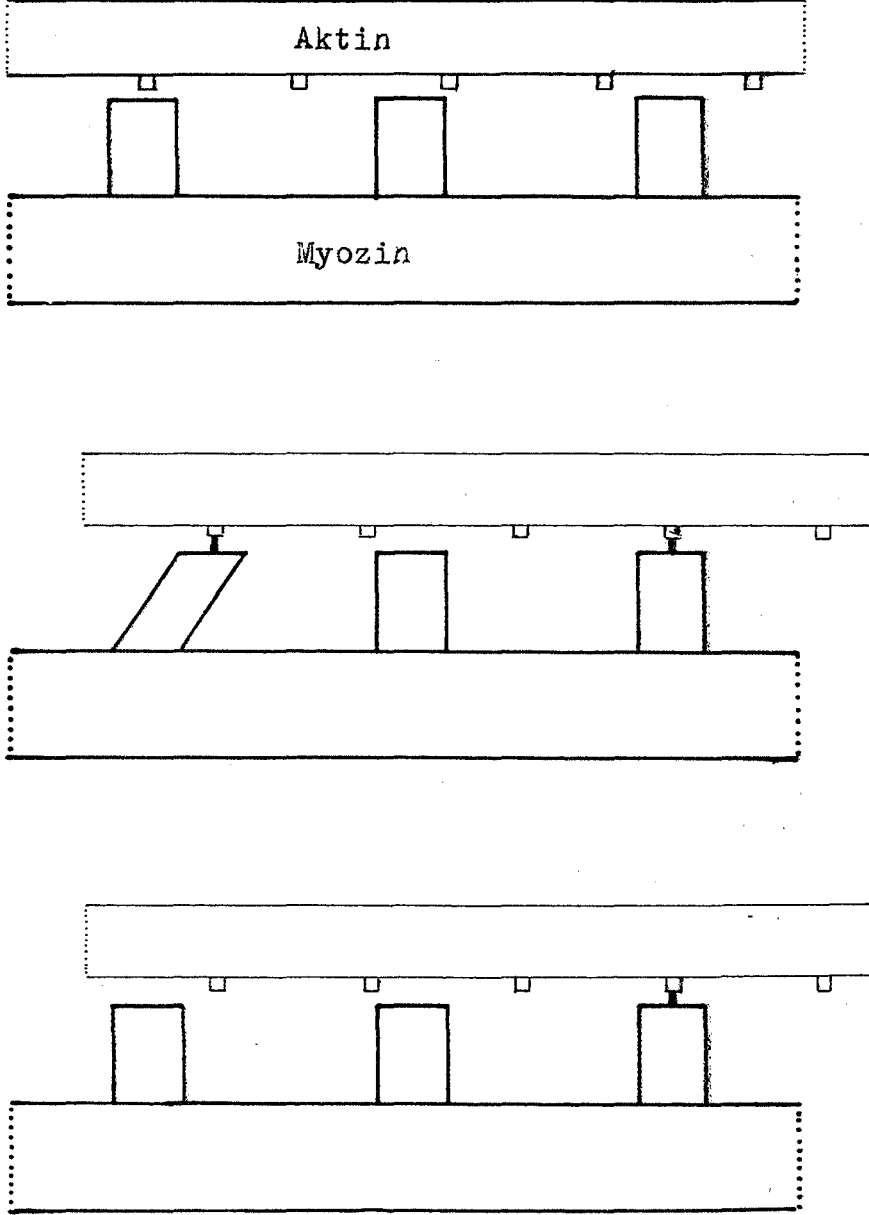
Şek.2. Band yapısının elektron mikroskopunda yüksek çözme gücü altında görünümü.

### 2.1.2 Kasılma Mekanizması : Kayan Filamentler Hipotezi.

Kasların kasılma aktivitelerini açıklamaya yönelik kayan filamentler teorisi, kasılma sonucu kuvvet oluşumunu, ince ve ka-



lın filamentlerin birbirlerine göre bağıl kayma hareketleri ile ilişkilendirir(Şek.3). Bu teoriye göre, kasılma sırasında ince



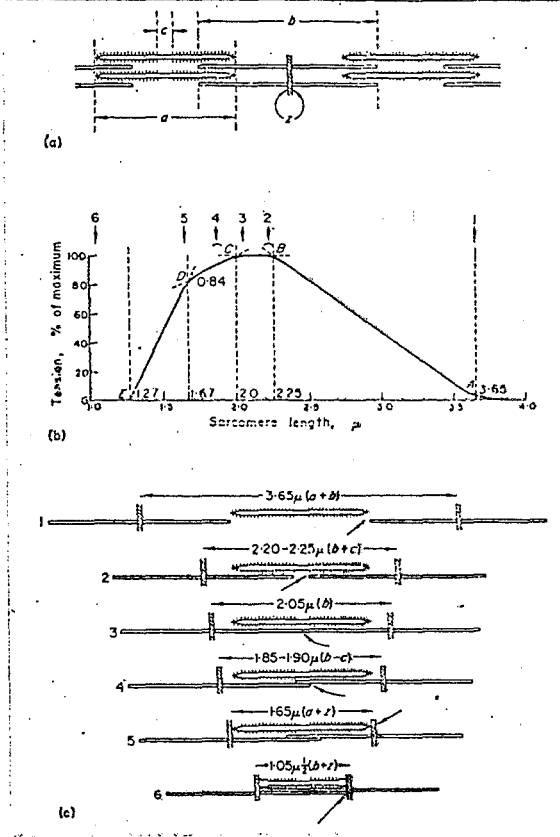
Şek.3. Çapraz-köprülerin oluşumu sonucu filamentlerin bir-biri içinden kayması.

ve kalın filamentlerin uzunlukları aynı kalır. Fakat, bu iki filamentin üst üste geldikleri A-bandında myozin çapraz köprülerini içeren bir mekanizma sonucu, ince filamentler sarkomeri kısaltacak(iki Z-çizgisini birbirine yaklaştıracak) yönde harekete zorlanırlar. Herbir myofibril birbiri ile seri bağlı binlerce sarkomer içerdiğinden bu mikroskopik hareket kasın makroskopik kısaltmasına dönüşür. Maksimum kısalma halinde filamentler tamamen birbirlerinin üzerini örterler ve I-bandı ortadan kalkar. Bu durumdaki makroskopik kısalma kasın % 37 si dolayındadır. Böylece, bu kısalma bağ dokusu ile iskelet sistemi üzerine uygulanan kuvveti oluşturur.

Kasların x-ışınları kırınım yöntemi ile incelenmesinden çapraz-köprü mekanizmasının Şek.3. deki gibi şematize edilebileceği ileri sürülmüştür. Buna göre, çapraz köprülerin aktin üzerindeki spesifik bağlanma bölgeleri ile fiziksel değme haline gelmelerinin ardından ortaya çıkan konformasyonel değişimler(şekilde basitçe eğilme ile gösterilmiştir) aktin filamentinin bir yönde itilmesini sağlar. Daha sonra, çapraz köprü aktinden ayrılır ve filamentin ileri doğru hareketi devam ederken yeni aktin bölgeleri ile bağlanabilecek duruma geçer. Çapraz köprünün hareket edebildiği bölge yaklaşık 100 Å dolayında iken kalın ve ince filamentlerin bağıl hareketi 10 000 Å dan daha büyüktür. Bu nedenle, çapraz köprülerin pek çok kez tekrarlanan etkileşim yapacağı postülatlanmıştır. Ayrıca, çapraz köprülerin etkinliği eş-zamanlı değildir ve bu durum kasta kararlı kuvvet oluşumuna yardımcı olur.

### 2.1.3 Gerilme-Uzunluk eğrisi

Kayan filamentler teorisinin öngördüğü en önemli sonuçlardan birisi kasta oluşan kuvvetin kalın ve ince filamentlerin üst üste gelme miktarı ile orantılı olması gerektiğidir. Filamentlerin üst üste gelmelerinin bütün kas boyunca aynı kaldığından emin olmadığımız ve bunu doğrulukla ölçemediğimiz için, yukardaki sonucun deneysel kanıtını elde etmemiz çok güçtür. Yapılan araştırmalar filamentlerin birbirleri üzerine doğru yerdeğiştirmelerinin artması ile gerilmenin arttığını fakat üst üste gelmenin azalmaya başladığı belirli bir gerilme değerinden sonra gerilmenin de küçüldüğünü ortaya koymuştur(Şek.4).



Şek.4. (a): Standart filament uzunlukları  $a = 1,60$  ,  
 $b = 2,05$  ,  $c = 0,15 - 2$  ,  $z = 0,05$   
(b): Tek bir kas lifinden elde edilen gerilme-uzunluk eğrisi. Eğri üzerindeki oklar, filamentlerin üst üste gelmelerinin (c) de resimlenen kritik basamaklarını göstermektedir.  
(c): Sarkomerin kısalması sırasında ince ve kalın filamentlerin üst üste gelmelerindeki artışın kritik basamakları.

#### 2.1.4 Kalın ve İnce Filamentlerin Yapısı

Yukarda da ifade edildiği gibi, kasların kasılabilen öğeleri ince ve kalın olmak üzere iki tip filamentten oluşur. Kalın filamentler büyük oranda myozin proteininden oluşmuştur. İnce filamentler ise başlıca aktin proteinini içermek üzere az miktarda tropomyozin ve troponin proteinlerinden oluşur. Bu son iki proteinin kasılma aktivitesinde regülatör rol oynadığı bilinmektedir.

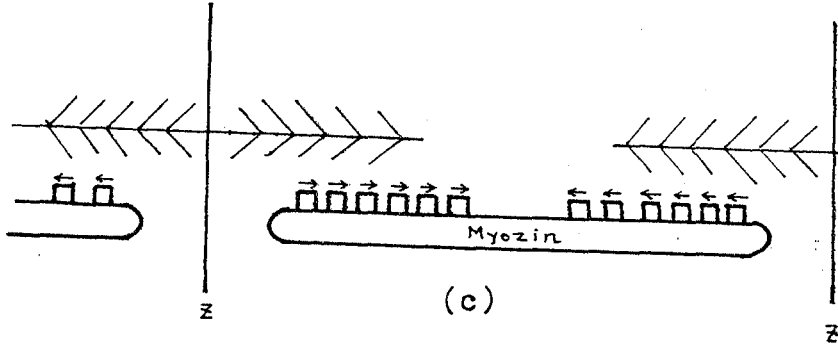
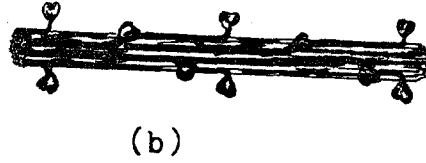
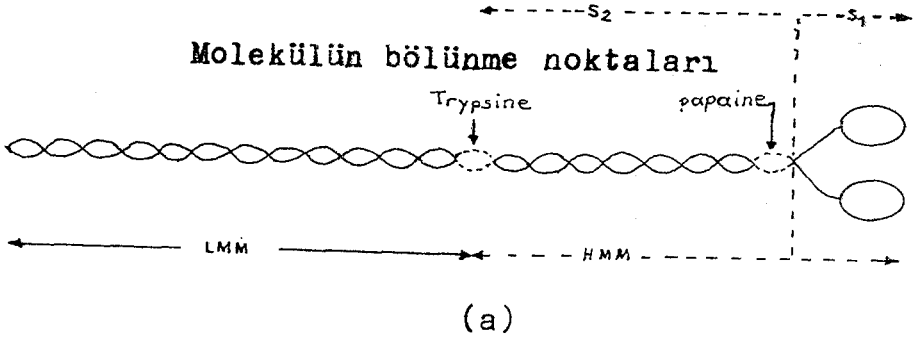
## Myozin Molekülü

Myozin, globüler uca sahip uzun çubuk şeklinde bir moleküldür. Bu molekül birbirinden ayrı düşünülebilen üç bölümden(LMM, HMM-S2 ve HMM-S1) oluşur. Çubuk şeklindeki kısım molekül ağırlığı küçük olan meromyozindir(LMM). Bu bölüm trypsin ve papain enzimleri ile molekülün diğer bölümlerinden bölünerek ayrılabilir (Şek.5(a)). Molekülün bu bölünme noktası, myozinin bu bölgesinin esnek bağlanmaya sahip olmasını gerektiren kasılma teorilerinde özel bir öneme sahiptir. Trypsin ve papain enzimleri, myozin molekülünün çubuk şeklindeki kısmını ikinci bir noktadan daha böler. Bu bölünme noktası ise molekülün globüler(HMM-S1) kısmını molekül ağırlığı büyük olan meromyozinden(HMM-S2) ayırır.

Molekülün globüler bölümü, kasılma aktivitesi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere ATP yi hidroliz edebilme yeteneğine sahiptir. Bu bölüm, aynı zamanda, aktini bağlama özelliğine de sahiptir. Aktin ile myozinin etkileşimindeki önemli rolü nedeni ile myozin başının şekli yoğun araştırmalara konu olmuştur. Çeşitli tekniklerle gözlenen biçim ise Şek.5(b) de görülmektedir.

Myozin moleküllerinin uzun eksenleri boyunca bir araya gelerek düzenli bir biçimde kümelenmeleri ile kalın filamentler oluşur. Bu oluşumda, molekülün çubuk şeklindeki kısmı(LMM) filamentin iskeletini oluştururken globüler bölüm dışarı doğru serbest kalır(Şek.5(b)). Böylece, komşu ince filamentlerdeki aktin ile kolayca etkileşebilir. Kalın filamentlerin, myozin moleküllerinin baş kısımları zıt yönlere yönelecek şekilde çiftler halinde bir araya gelmeleri ve ardışık çiftlerin belirli bir dönme yaparak bu düzeni takibetmeleri sonucu oluştuğu görüşü yaygındır. Myozin moleküllerinin kümelenmesinin, ortada boş bölge kalacak şekilde, filamentin bir yarısında aynı yönetime diğer yarısında ise buna zıt yönetime sahip olduğu ileri sürülmektedir.

Flamentlerin kaymasına neden olan kuvvetler ise çapraz köprülerin terslenmiş polariteye sahip olmaları ile açıklanmaktadır. Bu durum Şek.5(c) de şematik olarak verilmiştir. Kalın filamentin iki yarısındaki çapraz köprüler A bandının merkezine doğru, zıt yönlerde, çekme etkisine sahiptirler(Faruqı, 1982).



Şek.5. (a) : Myozin molekülünün yapısı.

(b) : Myozin molekülünün kalın filamentini oluşturmak üzere bir araya gelmeleri.

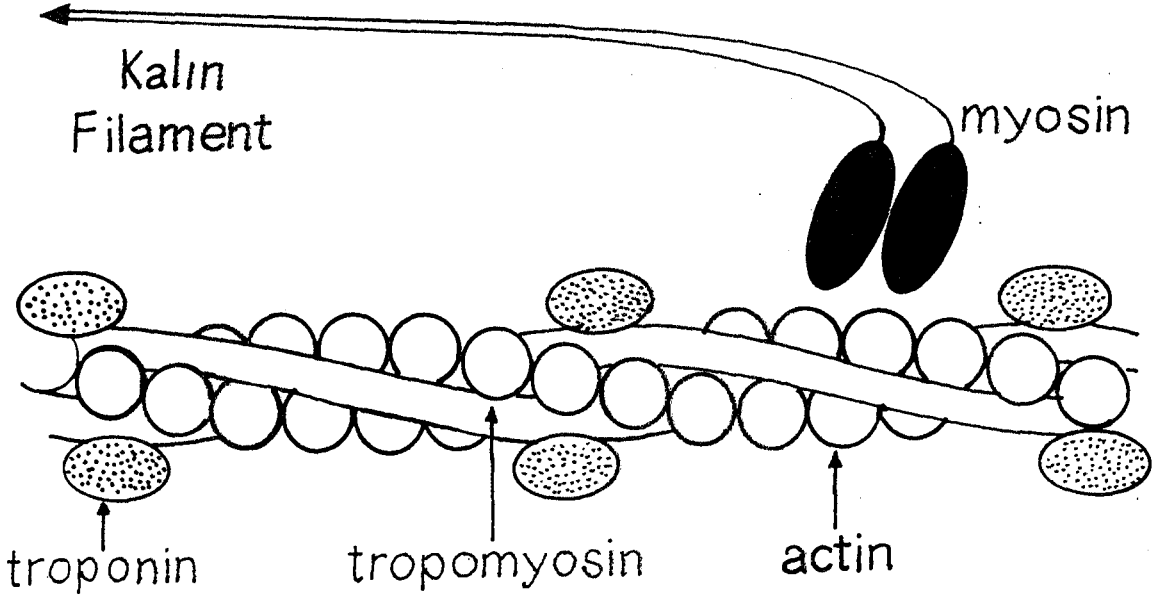
(c) : Filamentlerin birbirleri içinden kaymaları sırasında çapraz köprülerin polaritesindeki terslenme.

Kasın moleküler kuvvet jeneratörü olan myozin çapraz-köprüsünün açıklığa kavuşturulması, biyolojik sistemdeki kimyasal-mekanik enerji dönüşümü mekanizmasının anlaşılmasındaki en önemli basamaklardan biridir. Bununla birlikte, bu mekanizma günümüzde de anlaşılma-ş değildir. Bunun için, öncelikle, ATP nin hidrolizindeki her bir basamağın çok net bilinmesi gerekir. Bundan da ötede

bu reaksiyonun enerjetiklerinin ve myozin çapraz köprüsünün aktine bağlanması sırasındaki konformasyonel değişimlerin bilinmesi gerekir. Yukarıda da belirtildiği gibi HMM-S1 alt biriminin enzimolojik aktivitesi hakkında çok şey bilinmektedir. Bu alt birim aktomyozin kompleksi oluşturabilme yeteneğine ve ATP-az aktivitesine sahiptir. Böylece ATP de depolanan enerjiyi mekanik işe dönüştürme görevini üstlenir.

#### İnce Flamentlerin Yapısı

İnce flamentlerin temel bileşeni bir çift sarmal yapısı şeklinde dizilen aktindir. Aktin monomer formunda globüler bir proteindir fakat uygun koşullarda uzun lifler oluşturacak şekilde polimerize olabilmektedir. Bu flamentin genel görünümü Şek.6. da verilmiştir. Bu flamentin boşlukları arasında uzun çubuk şeklinde



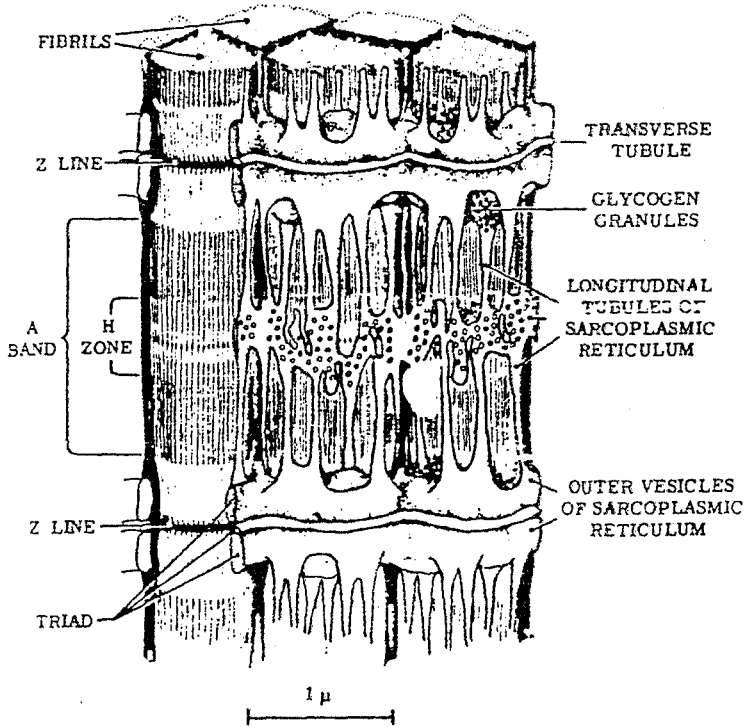
Şek.6. : İnce flamentin yapısı.

bir molekül olan tropomyozin bulunur. Buna ek olarak, troponin proteini belirli bir periyodik düzen içinde tropomyozin üzerindeki özel bağlanma yerlerine tutunmuştur.

Daha önce de ifade edildiği gibi, kuvvet oluşumu için, myozinin S1 alt biriminin aktine tutunmasını S1 in yönelimindeki konformasyonel değişimler izler. Bu nedenle, aktin monomerlerinin sarkomerin herbir yarısında doğru polariteye sahip olması çok önemlidir(Şek.5(c)).

#### 2.1.5 Uyarı-Kasılma Çiftlenimi : Kas Aktivitesinin Regülasyonu

Kas hücresi zarının depolarizasyonu ile kasılmanın oluşumu arasında ortaya çıkan olaylar dizisi uyarı-kasılma çiftlenimi (excitation-contraction coupling) kavramı ile ifade edilmektedir (Woodbury ve ark., 1960). Hücre zarının depolarizasyonu sonucu oluşan aksiyon potansiyeli tübül sistemi ve sarkoplazmik retikulum(SR) aracılığı ile hücre içlerine kadar taşınır(Şek.7).



Şek.7. : İskelet kasının iç membran sistemi.

SR yaklaşık 1000:1 oranındaki konsantrasyon gradyentine rağmen

kalsiyum iyonlarını terminal sarnıçlarda (TS) depolama görevini üstlenir. SR bu işlevini yerine getirirken aktif ATP harcayan  $Ca^{++}$  iyonu pompasından yararlanır. Depolarizasyonun ardından, TS lar- da depolanmış olan  $Ca^{++}$  iyonları bir çığ gibi sarkoplazmaya salı- nır. Kalsiyum iyonu konsantrasyonundaki bu artış kasılabilir pro- teinlerin aktivasyonuna neden olarak kasılmayı başlatır. Kalsiyum iyonu konsantrasyonundaki bu artışa yanıtta bulunan moleküller, aktin filamenti üzerinde konumlanmış olan tropomyozin-troponin kompleksidir.

Biyokimyasal ve x-ışını kırınımı çalışmaları bu olaylarla ilişkili moleküler mekanizmaların anlaşılmasını sağlamıştır. Bu çalışmaların sonuçlarına göre troponin, TnC, TnI ve TnT olmak üzere üç alt birime sahiptir. TnC dört tane kalsiyum iyonunu ter- sinir olarak bağlayabilmektedir. Kalsiyum iyonu konsantrasyonunun düşük değerleri için, TnI aktin filamentine bağlanarak tropomyozi- nin hareketini engelliyebilmektedir. TnT ise kalsiyum iyonu kon- santrasyonundan bağımsız olarak troponin kompleksini tropomyozin üzerine bağlar (Damask, 1978 ; Mannherz, 1983).

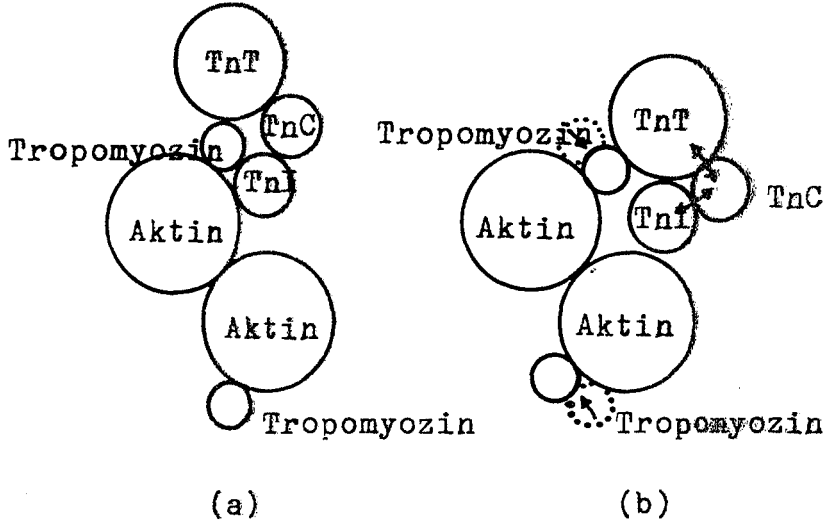
Troponin kompleksinin TnI ve TnC alt birimleri arasındaki etkileşim serbest kalsiyum iyonu konsantrasyonuna bağımlı iken TnC ile TnT arasındaki etkileşim kalsiyum konsantrasyonundan ba- ğımsızdır. Kalsiyum iyonu konsantrasyonunun artması ile TnC, TnI ya bağlanarak onu aktin filamentinden ayırır. Böylece, tropomyozin molekülünün aktin sarmalları arasındaki boşlukta daha derinlere hareketi sağlanır. Bu durumda çapraz köprülerin bağlanması gerçek- leşir. Hücre içi kalsiyum iyonu konsantrasyonunun küçülmesi ile TnC nin TnI ya bağlanması sürdürülemez ve TnI yüksek afinite ile yeniden aktin filamentine bağlanır. Böylece tropomyozin molekülü tekrar aktin filamentinin yüzeyine hareket eder. Tropomyozinin bu hareketi aktin filamenti üzerindeki bir dizi serbest bağlanma böl- gesinin regülasyonunu sağlar. Bu sonuçlara uygun olarak, aktin- myozin çapraz bağının oluşumunda serbest kalsiyum iyonu konsant- rasyonu ve proteinlerin etkisini karakterize eden bir model Şek.8 de görülmektedir.

İnce filamentlerin myozinin ATP-az aktivitesi üzerindeki et- kinliği kalsiyum iyonu konsantrasyonuna bağımlıdır. Konsantrasyo-



nun  $10^{-7}$  M dan daha düşük değerleri için hiçbir etki gözlenmezken  $10^{-5}$  M civarında myozinin aktin filamentlerince aktivasyonu maksimuma ulaşmaktadır (Mannherz, 1983).

Ardışık depolarizasyonlar söz konusu değilse depolarizasyonun hemen ardından serbest kalsiyum iyonları SR tarafından TS larda depolanmak üzere yeniden toplanır. Serbest kalsiyum iyonu konsantrasyonundaki bu dşye troponin-tropomyozin sisteminin yanıtı ise, yukarda da ifade edildiği gibi, aktin üzerindeki myozin-bağlanma bölgelerini kapama şeklinindedir.



şek.8. Aktin filamentinin troponin kümesinin bulunduğu noktadaki etki-kesiti.

- (a): Troponin alt birimlerinin ortamda kalsiyum iyonu konsantrasyonu kk iken konumları.
- (b): Aynı alt birimlerin kalsiyum iyonu konsantrasyonunun artması sonucu konumlarındaki değişme. Tropomyozin aktin-myozin çapraz bağını engellediği konumdan uzaklaşmaktadır.

## 2.1.6 Kalsiyum İyonlarının Aktive Edilen Süreçlerin Regülasyonunda Mekanizmalar

Kabaca bütün canlı hücrelerinin dinlenme durumu için hücre içi serbest kalsiyum iyonu konsantrasyonu,  $Ca_i^{++} = 10^{-7} M$  dolayındadır ve bu değer hücre dışındakine ( $Ca_d^{++} = 10^{-3} M$ ) göre yaklaşık  $10^4$  kez daha küçüktür. Bunun yanı sıra, potansiyel gradyentinin hücre zarı boyunca içeri yönelmiş olması nedeniyle  $Ca^{++}$  iyonlarını hücre içine harekete zorlayan elektrokimyasal gradyent oldukça büyüktür. Hücre içi kalsiyum iyonu konsantrasyonunun küçük olması çok önemlidir. Böylece, oldukça az miktardaki kalsiyum iyonunun içeri girmesi hücre içi konsantrasyonda önemli artış oluşturabilir. Bu artış  $\Delta Ca_i^{++}$  ile gösterildiğinde, konsantrasyondaki bağıl artış,

$$R = \frac{\Delta Ca_i^{++}}{Ca_i^{++}}$$

eşitliği ile ifade edilebilir. Hücresel aktivite sırasında bağıl artış 10 ile 50 kat dolayında değişebilmektedir. Bu durum, çeşitli fizyolojik süreçlerin regülasyonunda kalsiyum iyonlarının mesaj taşıyıcı olarak görev aldığını gösterir.

Açık bir şekilde, hücrelerin  $Ca_i^{++}$  değerini kontrol etme ve değiştirme mekanizmalarını bilmek için bu iyonlarca aktive edilen süreçlerin regülasyonunun nasıl sağlandığını bilmek gerekir. Bu açıdan bakıldığında, genel olarak dört ayrı mekanizmanın varlığı öne sürülmektedir (Blaustein, 1984). Bu mekanizmalar aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

### a- Stoplazmik Kalsiyum tamponları:

Bu tamponlar kalsiyuma afinitesi yüksek olan  $Ca^{++}$ -bağlayıcı proteinlerdir. Kalsiyum ile aktive olan süreçlerin regülasyonuna katılan ve kalsiyuma duyarlı olan calmodulin, troponin-C gibi proteinler buna örnek olarak verilebilir. Kalsiyumun bu proteinlere bağlanması genellikle çok hızlıdır ve zaman sabiti milisaniyeler mertebesinde.

### b- Kalsiyum Depolayıcı Organeller

Bu organellere örnek olarak SR, mitokondri ve diğer veziküller yapılar gösterilebilir. Bu sistemler hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasının ardından, kalsiyumun stoplazmadan alınmasında yardımcı olurlar. Aynı zamanda kalsiyumu yavaşca stoplazma içine salırlar. Örneğin omurgalıların iskelet kaslarındaki SR da olduğu gibi, kalsiyumun aktive ettiği süreçleri başlatmak(kalsiyumun stoplazma içine salınmasını sağlamak) üzere tetiklenebilirler.

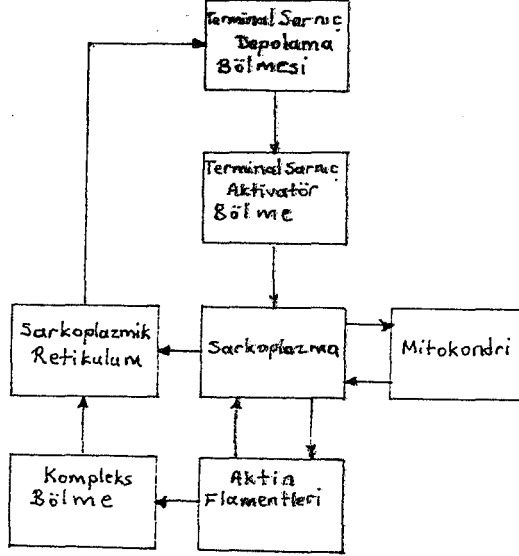
### c- Kalsiyum Kanallarından İçeri Girme

Bu mekanizma elektriksel(voltaj) veya kimyasal(iki değerlikli katyonları seçen) açıdan duyarlı kanalların dış ortamdaki kalsiyumu stoplazma içine almalarıyla ilişkilidir.

### d- Kalsiyumu Dışarı Atma Mekanizmaları

Bu mekanizmalar hücreyi kararlı durum kalsiyum dengesi içinde tutmaya çalışırlar. Bilinen iki mekanizmadan biri ATP yi doğrudan enerji kaynağı(kalsiyuma bağlı ATP-az ları içerir) olarak kullanırken diğeri Na elektrokimyasal gradyentinde depolanan enerjiyi kullanır. İkinci durumda sodyum iyonlarının kalsiyum iyonları ile değişimi sözkonusudur. Na-Ca değişim sistemi, baskın olan Na elektrokimyasal gradyentine bağlı olarak, Ca iyonlarının hücre dışına atılmasına veya içeri alınmasına neden olabilmektedir. Eğer Ca dışarı akışı Na içeri akışı ile dengedeysse, pek çok hücre türünde(kalb kası, midye kası, squid aksonu) hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun korunabilmesinin  $1Ca^{++} \leftarrow \text{---} \rightarrow 3Na^{+}$  değişimi ile mümkün olabileceği ifade edilmektedir(Blaustein, 1984).

Kasılma sırasında serbest kalsiyum iyonu değişiminde rol aldığı düşünülen çeşitli hücre içi bileşenler Şek.9 da görülmektedir(Kothiyal, 1986).



Şek.9. Hücre içi kalsiyum iyonik hareketinin şematik gösterimi.

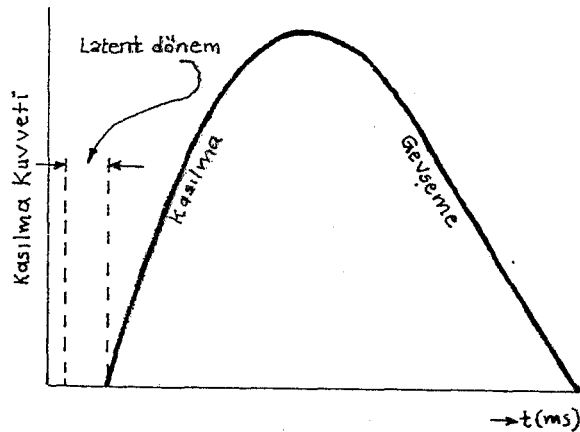
### 2.2.1 İskelet Kası Kasılma Aktivitesinin Mekanik Karakteristikleri

Kasta kasılma kavramı iki anlamda kullanılmaktadır. Bunlardan biri, kasın boyu sabit tutulurken oluşan gerilmenin ölçüldüğü izometrik kasılma, diğeri ise sabit bir yük altında kasın boyundaki kısalmanın gözleendiği izotonik kasılmadır. İkinci durumda kasa uygulanan yükün de hareketi söz konusu olduğundan bir iş yapılmış olmaktadır (Volkenstein, 1983).

Kasın uygun ve bir tek uyaran etkisinde kalması durumunda sadece bir kasılma (twitch) gözlenir. Bu durumda gözlenen kas sarsı eğrisi latent dönem, kasılma fazı ve gevşeme fazı olarak adlandırılan üç bölümden oluşur (Şek.10). Latent dönem, uyarının uygulanması ile kasılmanın başlaması arasında geçen çok kısa bir zaman aralığıdır. Vücut kaslarının pek çoğunda bu dönem 10 ms dolayındadır. Kasılma fazında, daha önce tartışılan biyokimyasal

değişiklikler sonucu kas boyunun kısılması sözkonusudur. Kasılma fazının süresi değişik kaslar için birbirinden farklıdır. Bu açıdan değerlendirildiğinde, iskelet kasları beyaz ve kırmızı kaslar olmak üzere iki grupta incelenebilir. Beyaz kaslar (tip II) karakteristik renklerini çok miktarda içerdikleri glikojenden alırlar. Bu tür kaslar çok hızlı kısılabildiklerinden fazik kaslar olarak da adlandırılırlar. Depolanan glikojen, aerobik glikoliz sonucu oksijen harcanmasına gerek kalmadan fazladan enerjiye (ATP) hızla dönüşebilmektedir. Böylece bu kaslar oksijen azlığında da kısılabilmek yeteneğine sahiptir. Diğer yandan kırmızı ya da tonik kaslar (tip I) uzun süre kısılabilirler. Bu kaslar karakteristik renklerini hücre içi oksijen deposu olarak kullandıkları myoglobinden alırlar. Bu tür kasların aktivitelerini uzun süre sürdürebilmeleri ATP nin sürekli sağlanmasına, yani, oksidatif fosforilasyona bağlıdır. Tonik kasların maksimum kısıalma hızı fazik kaslarınkinden yaklaşık üç kez daha küçüktür. Bundan başka, ATP hidroliz hızı maksimum kısıalma hızı ile ilişkili olduğundan, aynı yükü aynı uzaklığa hareket ettirmede fazik kaslar tonik kaslardan üç kat daha fazla enerjiye gereksinim duyarlar (Mannherz, 1983).

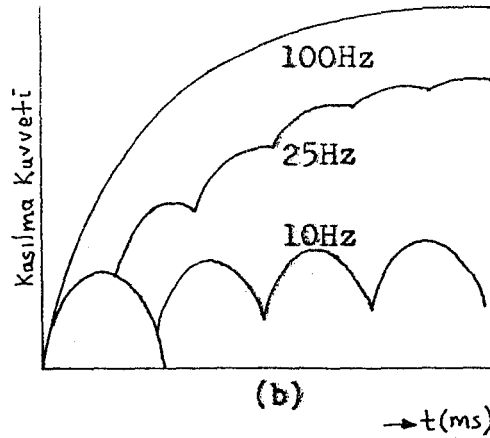
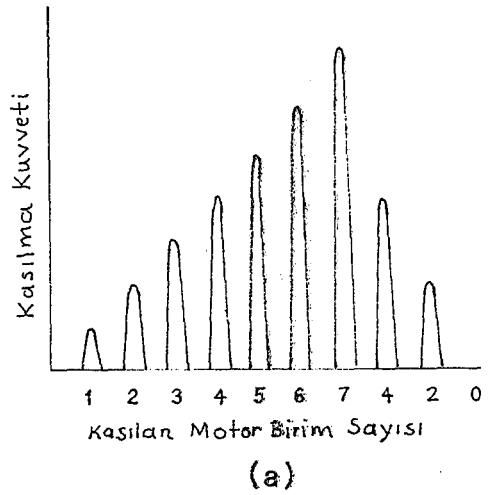
Kasılmanın maksimum değere ulaşmasının ardından kas ilk dinlenim durumuna geri döner. Bu faz gevşeme fazı olarak adlandırılır.



Şek.10. İskelet kası sarsı eğrisinde gözlenen çeşitli dönemler.

## 2.2.2 Kasın Mekanik Aktivitesinin Güçlenmesinde Mekanizmalar

Kasların farklı büyüklüklerde kuvvet oluşturabilme yeteneği birikim(summation) olarak adlandırılan olaylarla ilişkilidir. Bilinen iki tür birikim, çoklu motor birim birikimi ve dalga birikimi olarak adlandırılmaktadır. Çoklu motor birim birikimi, kasılmaya katılan motor birim sayısının artması ile kasta oluşan kuvvetin artmasıdır. Dalga birikimi sonucu kuvvette gözlenen artma ise uyaran frekansındaki artma ile ilişkilidir(Şek.11). Frekansın 100 Hz ve daha büyük değeri için, tek tek gözlenebilen sarsı eğrilerinin birbirleri ile kaynaşması durumu tetani olarak adlandırılır. Tetani durumunun uzun süre sürdürülmesi kasta oluşan kuvvetin küçülmesine neden olur. Kasın kuvvet oluşturabilme yeteneğindeki bu azalma ise yorulma kavramı ile ifade edilmektedir(Fung, 1984 ; Benson ve ark., 1983).



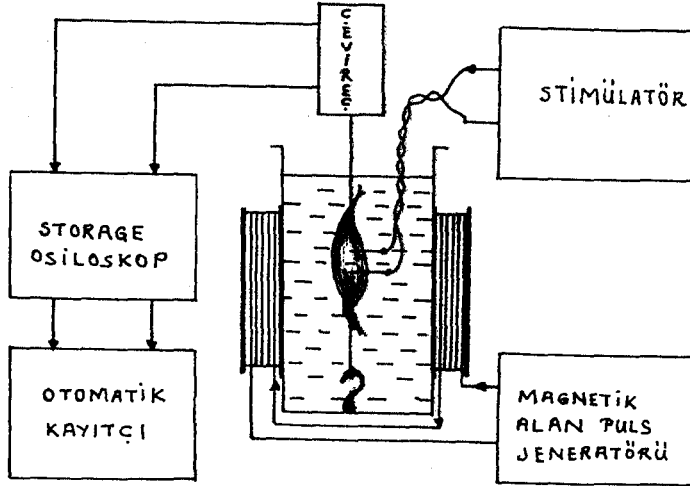
Şek.11. (a) çoklu motor birim birikimi ; (b) dalga birikimi

### III. GEREÇLER ve YÖNTEM

#### 3.1 Gereçler

Tezimizde sağlıklı kurbağalardan izole edilen gastrokinemius kası kullanılmıştır. Kas tendonlarından ipek iplikle bağlandıktan sonra dinlendirilmek üzere 150ml Ringer(111 mM NaCl, 2mM NaHCO<sub>3</sub>, 1,9mM KCl, 0,08mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,8mM CaCl<sub>2</sub>, 11mM Glukoz, pH = 7,3, T = 20°C ) çözeltisine konmuştur. Çözeltiye sinir-kas kavşağını bloke etmek üzere 0,04 mg/lt oranında pankuronyum bromür eklenmiştir.

Kasın kasılma aktivitesini oluşturma ve gözlemede kullanılan çeşitli elektronik sistemlerin blok diyagramı Şek.12 de görülmektedir.



Şek.12. Deney sistemi blok şeması.

#### 3.2 Yöntem

3.2.1 Kası Elektriksel Yoldan Uyardırma İzlenen Yöntemler  
Deneylerde, izole kas platin iğne elektrodlar kullanılarak

supramaksimal(20V , 5ms) kare pulslar ile uyarılmıştır. Her kurbağanın kaslarından birine, elektriksel uyarı sırasında magnetik alan uygulanırken diğer kasa sadece elektriksel uyarı uygulanmıştır. Elektriksel uyarıların uygulanmasında ise aşağıdaki seçenekler kullanılmıştır.

- 1- Tek kare puls uyarıyı uygulanarak kas sarsı(twitch) eğrileri kayıtlanmıştır.
- 2- Uyarı frekansı 100 Hz seçilerek 2 saniye(200 puls) süre ile tetanik kasılma oluşturulmuş ve bunu izleyen anlarda kasılmanın birikiminin azalması incelenmiştir.

Bu amaçla;

- a) Tetanik uyarının kesilmesinden 30s ve 2 dk sonra uygulanan tek puls uyarılarına karşılık kas sarsı eğrileri,
  - b) Tetanik uyarının kesilmesinin hemen ardından uygulanan tek puls trenine(4 Hz ) karşılık kas sarsı eğrileri kayıtlanmıştır.
- 3- Tetanik uyarı sürekli uygulanarak kasın yorulma durumu incelenmiştir.

### 3.2.2 Magnetik alan Kaynağı ve Karakteristikleri

Magnetik alan puls jeneratörü Anabilim dalımızda geliştirilmiştir ve kırık tedavisinde başarı ile kullanılmaktadır(Esen-Yıldırım, 1986 ; Seber ve ark., 1987). Sistemin ürettiği ve çeşitli parametreleri Şek.13 de verilen pulslar, kas üzerine etkiyen magnetik alanı oluşturmak üzere, bir çift Helmholtz bobinine uygulanmıştır. Böyle bir bobinin arasındaki bölgede oluşan magnetik alan düzgündür ve alan şiddetinin değeri,

$$B = \frac{NI}{a} \left(\frac{4}{5}\right)^{3/2} \quad (3.1)$$

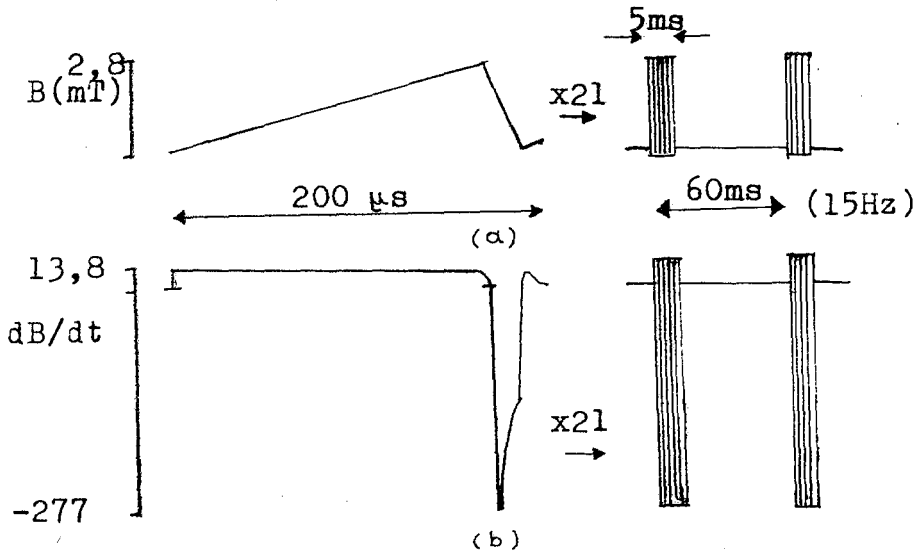
eşitliği ile tanımlıdır. Burada a bobin yarıçapı ve bobinler arası uzaklık, N herbir bobindeki sarım sayısı, I ise herbir bobinden geçen akım şiddetidir. Bağlantıda verilen büyüklüklerin sayısal değerlerini kullanarak Helmholtz çifti arasında oluşan alan şiddetinin değerini hesaplamak mümkündür. Bununla birlikte



pratikte, alan şiddetini yukardaki bağıntıdan hesaplamak yerine, bir dedeksiyon bobini kullanarak ölçmek daha uygun bir yoldur. Yarıçapı  $r$  ve sarım sayısı  $N'$  olan böyle bir dedeksiyon bobini uçlarından gözlenen voltaj( $V$ ), alan şiddeti değişim hızına( $dB/dt$ ),

$$\frac{dB}{dt} = - \frac{V}{\pi r^2 N'} \quad (3.2)$$

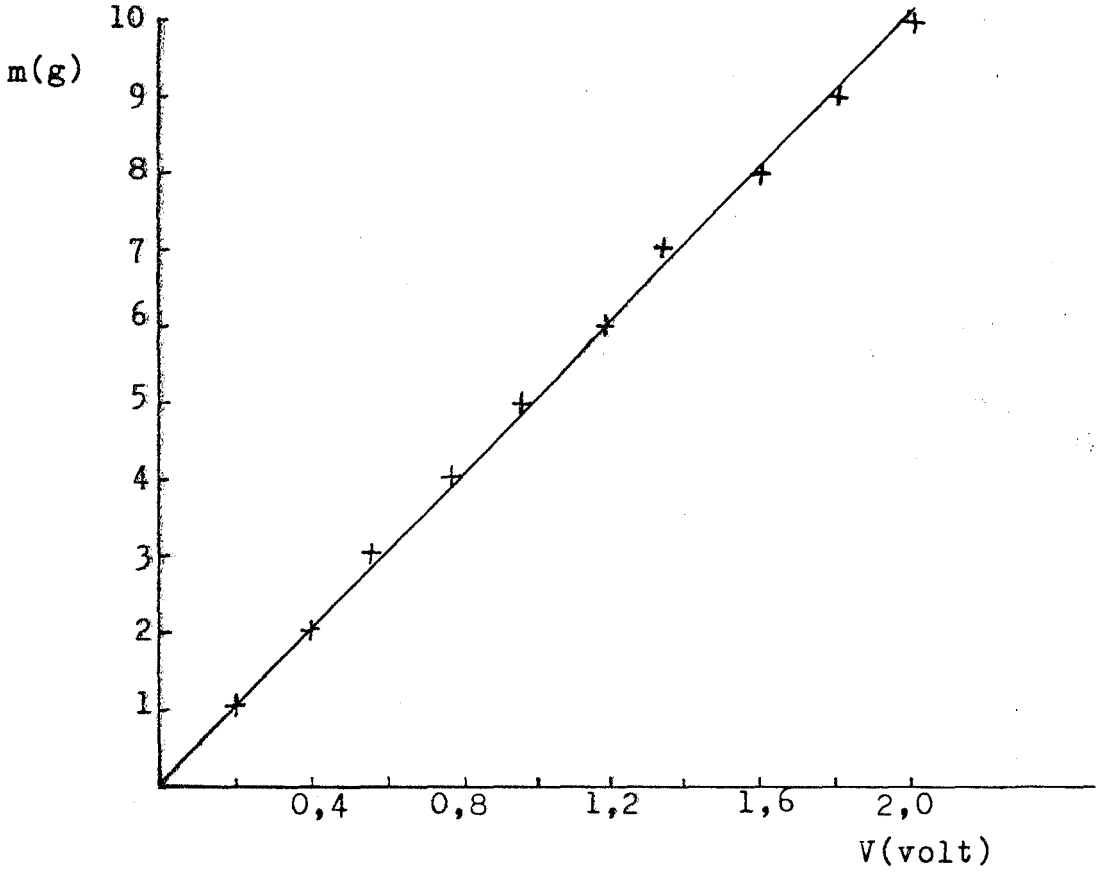
ilişkisi ile bağlıdır. Buna göre, alan şiddetinin değeri dedeksiyon bobini çıkışının integralinin alınması ile bulunabilir(Esen-Yıldırım, 1986 ; Marsland, 1985). Şek.13 de verilen alan parametreleri bu şekilde bulunmuştur. Magnetik alanın zamanla değişiminin ortamda bir elektrik alan kurulmasına neden olacağı ve bu elektrik alanın biçiminin de alan şiddeti değişim hızına(Şek.13(b)) benziyeceği açıktır.



Şek.13. : Dedeksiyon bobini ile gözlenen alanın çeşitli parametreleri(a) ve zaman değişim desenleri(a) ve (b).

### 3.2.3 Kasın Mekanik Aktivitesinin Kayıtlanması

Kasın izotonik kasılmaları Anabilim dalımızda geliştirilen bir çevireç(Güner ve ark., 1975) ile KIKUSUI DSS 6520A model hafızalı osiloskoba kaydedilmiştir. Çevireç ve osiloskobun birlikte kullanılması ile kasın başlangıç gerginliğinin ayarlanması olanaklıdır. Bu gerginlik bütün deneylerde aynı ve 15 g olarak seçilmiştir. Seçilen bu gerginlik değerinden daha büyük etkiler için, çevireç yanıt karakteristiği Şek.14 de görülmektedir.



Şek.14. : Kuvvet-yerdeğiştirme çevireci yanıt-karakteristiği. Açıkça görülebileceği gibi ilişki doğrusaldır ( $m = 5V + 0,1$  ;  $r = 0,999$  ;  $p < 0,001$  ).

Osiloskop ekranındaki bilgi analog formda bir otomatik kayıtcıya(LINEAR 1202 model Pen Recorder) aktarılabilmektedir. Ayrıca, kayıtlanan bilginin istenilen noktaları arasında genlik ve zamanın sayısal olarak ölçülmesi olanaklıdır.

### 3.2.4 Kas Sarsı Eğrilerinin Çeşitli Büyüklüklerinin Saptanmasında İzlenen Yöntemler

Tezimizde, kas sarsı eğrilerinin maksimumlarına karşılık gelen maksimum kasılma kuvveti(F), kasılma zamanı( $T_K$ ) ve yarı-gevşeme zamanı(half relaxation time,  $T_{1/2}$ , ) osiloskoptan sayısal olarak ölçülmüştür.

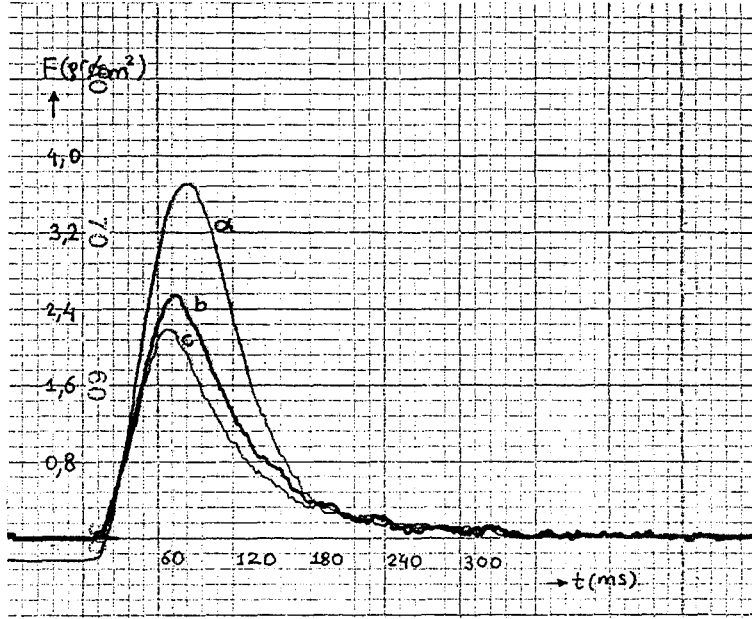
Aynı ağırlık ve boya sahip olan canlılarda bile kas kütlesinin bireyden bireye değiştiği bilinen bir gerçektir. Bir kasın mekanik aktivitesi ise kısmen kasın kütlesi ve boyutlarına, kısmen de birbiri ile ilişkilendirdiği eklemün konumuna bağlıdır(Brand ve ark., 1986). Bundan başka, aynı bir kasta lif kompozisyonuna bağlı olarak da mekanik aktivite değişmektedir(Bosco ve ark., 1983) Tüm bu güçlükler rağmen, mekanik aktivitenin bireysel farklılıklardan arındırılmış ölçüsünün saptanmasında izlenen yol, kasın fizyolojik etki-kesit yüzeyinin saptanmasıdır. Bu büyüklüğün saptanmasında ise, kas kütlesinin kasın boyuna oranı kullanılmaktadır(Brand ve ark., 1986). Bu nedenle, tezimizde de fizyolojik etki-kesit yüzeyi saptanmış ve birim yüzey başına oluşan kuvvet farklı kasları karşılaştırma amacı ile kullanılmıştır. Şek.14 de verilen kalibrasyon eğrisi dikkate alındığında, kayıtlanan eğri-lerde herhangi bir noktadaki kuvvet büyüklüğünün,

$$F = \frac{5V + 0,1}{M/L} \text{ (g/cm}^2\text{)} \quad (3.3)$$

eşitliğinden hesaplanabileceği kolaylıkla görülebilir. Burada V çevireç çıkışında gözlenen(osiloskoptan ölçülen) potansiyel farkı, M kasın kütlesi, L ise kasın uzunluğudur.

#### IV. BULGULAR

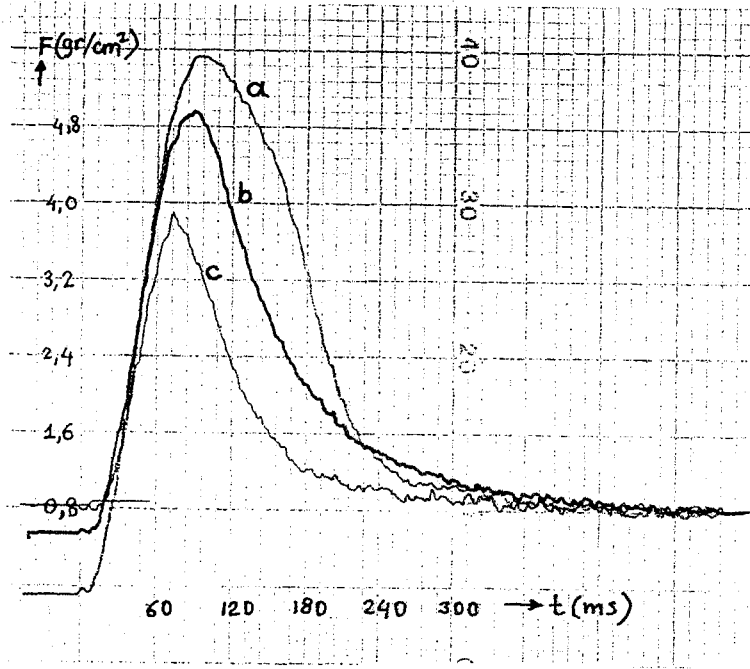
Sadece elektriksel uyarının uygulandığı durum için elde edilen kas sarsı eğrileri Şek.15 de verilmiştir. Denk.(3.3) kullanılarak şekildeki düşey eşel kasılma kuvveti( $g/cm^2$ ) cinsinden ifade edilmiştir. Açıkça görülebileceği gibi , tetanik uyarının ardından, kuvvet zamanla küçülmektedir.



Şek.15. : Elektriksel uyarı sonucu elde edilen kas sarsı eğrileri. (a): ilk uyarana, (b): tetaniden 30s sonra ve (c): tetaniden 2dk sonra uygulanan tek puls uyarılarına yanıtları göstermektedir.

Elektriksel uyarıların magnetik alan ile birlikte uygulanması durumunda ise, yukarıda verilen sonuçlara göre önemli artışlar ortaya çıkmaktadır(Şek.16).

Magnetik alan uygulamasının kasılma aktivitesinde oluşturduğu farklılıkları saptamak için, yirmi kurbağa üzerinde yukarıda belirtilen şekilde deney yapılmış ve kasılma kuvvetleri, kasılma zamanları, yarı-gevşeme zamanları hesaplanmıştır/ölçülmüştür. Bu sonuçlar Tablo.I , Tablo.II ve Tablo.III de verilmiştir.



Şek.16. : PEMP uygulaması sırasında elde edilen kas sarsı eğrileri. (a) : tetaniden önce uygulanan ilk elekt-riksel puls uyaranaına, (b) : tetaninin kesilmesin-den 30s sonra ve (c) 2dk sonra uygulanan tek elekt-riksel puls uyaranaına yanıtlar görölmektedir.

Tablo.I , Tablo.II ve Tablo.III de verilen herbir büyüklü-ğün ortalama değeri hesaplanmış, PEMP uygulaması sonucu ortaya çıkan farkın anlamlılığı t-testi<sup>x</sup> uygulanarak analizlenmiştir. Bu analiz sonuçları ise Tablo.IV , Tablo.V , ve Tablo.VI da verilmiştir.

<sup>x</sup> : t-testi analizinde, Texas Instruments Home Computer Statis-tics Application Software, 1980 kullanılmıştır.

Tablo.I. : Tek puls uyarısına karşılık ölçülen/hesaplanan maksimum kasılma kuvveti(F), kasılma zamanı( $T_K$ ) ve yarı-gevşeme zamanı( $T_{1/2}$ ) değerleri. M alt indisi PEMF uygulandığı durumda bulunan değerleri göstermektedir.

Örnek	F (g/cm <sup>2</sup> )	T <sub>K</sub> (ms)	T <sub>1/2</sub> (ms)	F <sub>M</sub> (g/cm <sup>2</sup> )	T <sub>KM</sub> (ms)	T <sub>1/2M</sub> (ms)
1	3,74	70	56	5,15	90	51
2	3,85	71	50	5,54	96	75
3	4,11	72	51	5,62	99	54
4	4,52	74	62	6,15	109	66
5	3,92	72	54	5,21	99	62
6	3,98	71	55	5,32	95	56
7	3,71	68	48	5,02	80	64
8	3,81	68	54	5,41	85	70
9	4,01	75	51	5,48	93	60
10	4,43	74	64	5,87	105	61
11	4,20	71	56	5,80	87	58
12	4,36	72	61	4,98	86	58
13	4,75	78	59	6,51	112	68
14	4,34	74	53	6,12	100	63
15	3,68	69	48	5,14	89	55
16	3,46	66	50	5,71	101	64
17	3,75	70	48	4,87	78	56
18	3,68	63	47	4,52	75	51
19	4,51	73	58	5,19	92	73
20	4,96	80	62	6,53	115	72

Tablo.II. : Tetanik uyarının(100Hz, 2s) kesilmesinden 30s sonra uygulanan tek puls uyarani için ölçülen/hesaplanan maksimum kasılma kuvveti( $F'$ ), kasılma zamanı( $T'_K$ ) ve yarı-gevşeme zamanı( $T'_{1/2}$ ) değerleri. M alt indisi PEMF uygulandığı durumdaki değerleri göstermektedir.

Örnek	$F'$ (g/cm <sup>2</sup> )	$T'_K$ (ms)	$T'_{1/2}$ (ms)	$F'_M$ (g/cm <sup>2</sup> )	$T'_{KM}$ (ms)	$T'_{1/2M}$ (ms)
1	2,75	55	52	3,91	89	61
2	2,22	53	49	3,94	85	56
3	2,80	71	58	4,05	80	62
4	2,95	72	60	4,15	82	63
5	2,12	56	52	3,89	81	58
6	2,15	62	53	4,02	86	51
7	1,95	54	46	3,61	79	58
8	2,25	58	48	3,56	78	48
9	2,52	66	55	3,99	82	56
10	3,15	72	62	4,38	83	59
11	2,86	62	53	4,16	79	55
12	2,98	69	58	4,42	82	59
13	3,06	68	59	4,32	88	58
14	3,12	68	61	4,25	85	55
15	2,28	61	48	3,36	72	46
16	2,48	67	56	3,42	78	48
17	2,66	66	58	3,68	85	50
18	1,92	55	45	3,23	75	52
19	2,85	71	55	4,28	86	60
20	3,05	76	60	4,75	91	62

Tablo.III. : Tetanik uyarının(100Hz, 2s) kesilmesinden 2dk sonra uygulanan tek puls uyarani için ölçülen/hesaplanan maksimum kasılma kuvveti( $F''$ ), kasılma zamanı( $T''_K$ ) ve yarı-gevşeme zamanı ( $T''_{1/2}$ ) değerleri. M alt indisi PEMF uygulandığı durumdaki değerleri göstermektedir.

Örnek	$F''$ (g/cm <sup>2</sup> )	$T''_K$ (ms)	$T''_{1/2}$ (ms)	$F''_M$ (g/cm <sup>2</sup> )	$T''_{KM}$ (ms)	$T''_{1/2M}$ (ms)
1	2,05	58	45	2,82	76	58
2	2,71	56	52	2,95	69	32
3	2,56	66	51	3,15	75	48
4	2,72	65	48	3,55	78	51
5	1,91	61	42	3,05	71	49
6	2,21	59	61	3,27	79	73
7	2,76	62	52	3,20	78	42
8	2,25	54	58	3,18	68	36
9	2,28	52	56	3,52	76	45
10	2,58	60	61	3,41	74	46
11	2,88	69	55	2,88	66	42
12	2,66	66	51	3,28	68	52
13	2,75	61	49	3,32	77	58
14	2,62	52	48	3,81	73	72
15	1,95	58	59	1,98	63	45
16	1,82	51	38	2,01	62	68
17	1,99	52	46	2,11	65	58
18	1,92	50	41	1,90	61	56
19	2,68	56	52	3,45	71	68
20	2,82	68	55	3,62	75	71



Tablo.IV. : PEMF nin maksimum kasılma kuvveti üzerine etkisi

Kasılma kuvveti (g/cm <sup>2</sup> )	ort $\pm$ S	t	p
F	4,09 $\pm$ 0,40	-16,5	< 0,001 ***
F <sub>M</sub>	5,51 $\pm$ 0,53		
F'	2,61 $\pm$ 0,41	-23	< 0,001 ***
F' <sub>M</sub>	3,97 $\pm$ 0,40		
F''	2,41 $\pm$ 0,36	-6,73	< 0,001 ***
F'' <sub>M</sub>	3,02 $\pm$ 0,58		

Tablo.V. : PEMF nin kasılma zamanı üzerine etkisi.

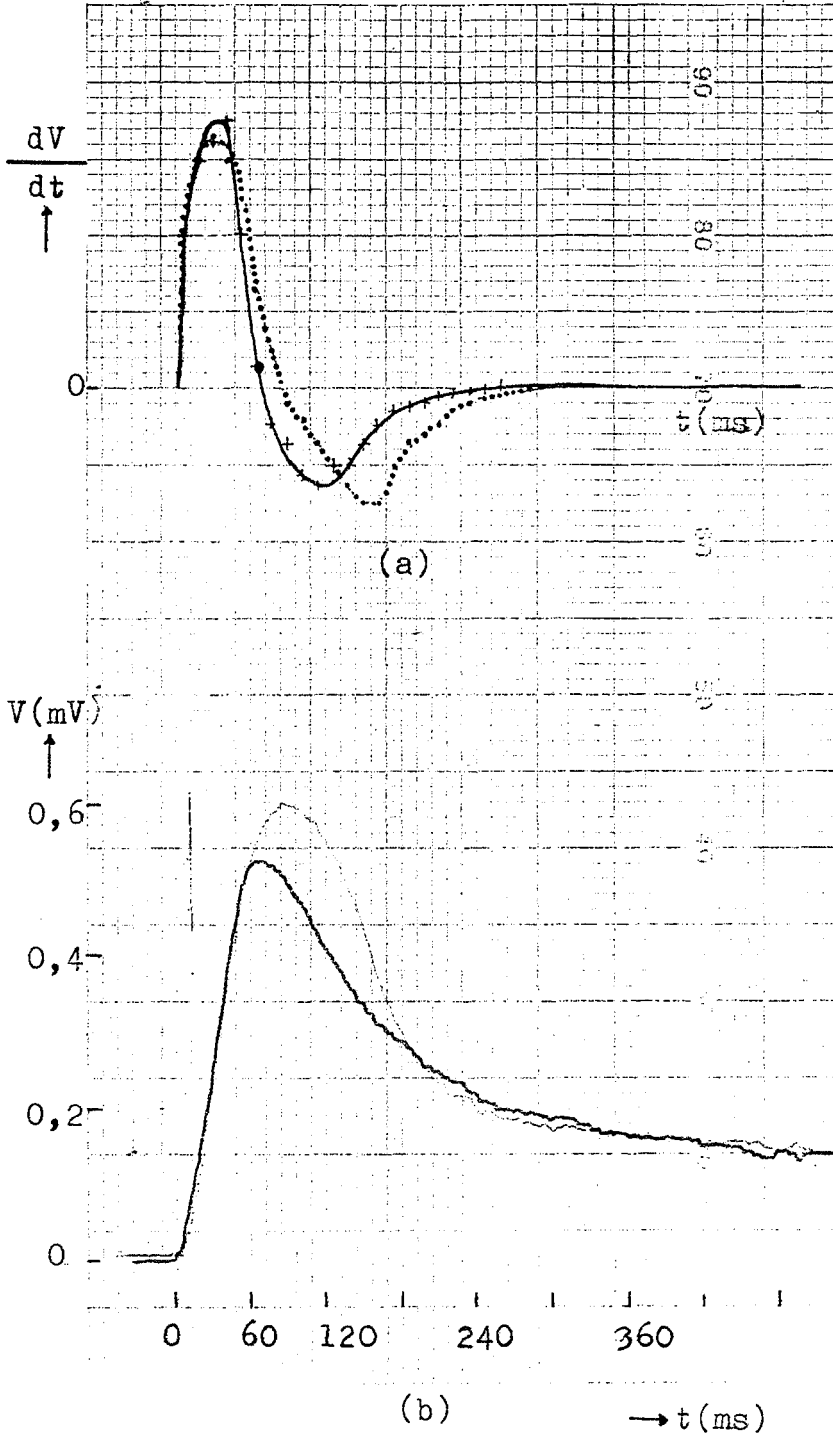
Kasılma zamanı (ms)	ort $\pm$ S	t	p
T <sub>K</sub>	72 $\pm$ 4	-11,3	< 0,001 ***
T <sub>KM</sub>	94 $\pm$ 11		
T' <sub>K</sub>	64 $\pm$ 7	-10,8	< 0,001 ***
T' <sub>KM</sub>	82 $\pm$ 5		
T'' <sub>K</sub>	59 $\pm$ 6	-7,5	< 0,001 ***
T'' <sub>KM</sub>	71 $\pm$ 6		

Tablo.VI. : PEMF nin yarı-gevşeme zamanı üzerine etkisi.

Yarı-gevşeme zamanı (ms)	ort $\pm$ S	t	p
$T_{1/2}$	54 $\pm$ 5	-3,8	<0,001 ***
$T_{1/2M}$	61 $\pm$ 7		
$T'_{1/2}$	54 $\pm$ 5	-1,2	>0,3 n.s.
$T'_{1/2M}$	56 $\pm$ 5		
$T''_{1/2}$	51 $\pm$ 7	-0,85	>0,4 n.s.
$T''_{1/2M}$	54 $\pm$ 12		

Tablo.IV ve Tablo.V in verilerinden de açıkça görülebileceği gibi pulslu magnetik alan(PEMF) kasılma zamanı ve kasılma kuvvetini anlamlı bir şekilde artırmaktadır. PEMF nin ilk kasılmadaki yarı-gevşeme zamanı üzerinde etkili olmasına karşın tetanik kasılmadan sonraki aynı parametre üzerinde etkili olmadığı gözlenmektedir(tablo.VI).

Kasılma aktivitesinin matematiksel analiz yöntemleri ile incelenmesi deneysel sonuçlardan kolaylıkla göremeyeceğimiz bazı ek bilgileri elde etmemizi sağlar. Örneğin bunlardan birisi zamana göre değişimi bilinen bir eğrinin türev analizi yöntemi ile incelenmesidir. Böyle bir analizleme, yukarıda ifade edilen maksimum noktaya karşılık zamanın doğrulukla hesaplanmasının yanı sıra değişim çabukluğu hakkında da bilgi verir. Böylece, kasılma kuvvetinin kasılma sırasında en hızlı artış ve gevşeme sırasında en hızlı düşüş gösterdiği zaman değerleri ölçülebilir. Kasın tek puls uyarısına yanıtlarının türev eğrileri Şek.17 de verilmiştir. Bu şekilden de kolayca görülebileceği gibi PEMF kasta kuvvet oluşumunu çabuklaştırırken(maksimum nokta) gevşeme sonucu kuvvetin



Şek.17. : (a); Şeklin (b) kısmında görülen kas sarsı eğri-  
lerinin türev analizi yöntemi ile incelenmesi.  
Noktalı türev eğrisi ve alttaki büyük genlikli  
eğri PEMF nin uygulandığı duruma karşılıktır.  
Türev eğrisinin zaman eşeli alttaki eğriler ile  
aynı seçilmiştir. Türev değerleri(düşey eksen)  
keyfi birim(bölme/zaman) cinsinden verilmiştir.

küçülmesini (minimum nokta) yavaşlatmaktadır. Ayrıca, türev eğrisinin sıfır eksenini kestiği zaman değerleri (sarsı eğrilerinin maksimum noktalarına karşılık kasılma zamanları) PEMF uygulandığı durumda daha büyüktür. Bu sonuç daha önce tartışılan bulgularla da tutarlıdır.

Tetanik uyarı sonucu oluşturulan kasılma birikimi üssel fonksiyonla ifade edilebilen bir azalma göstermektedir (Close, 1968). Kasılmanın birikimindeki bu azalma, tetanik uyarının belirli bir süre uygulanıp kesilmesinin ardından, kasın tek puls uyarana yanıtı gözlenerek incelenebilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalar bu azalmanın iki tane üssel azalan fonksiyonla tanımlanabileceğini göstermiştir. Fonksiyonlardan biri ilk 10s dolayındaki zaman aralığında diğeri ise 10-300s aralığında tanımlanmaktadır (Krarup, 1981).

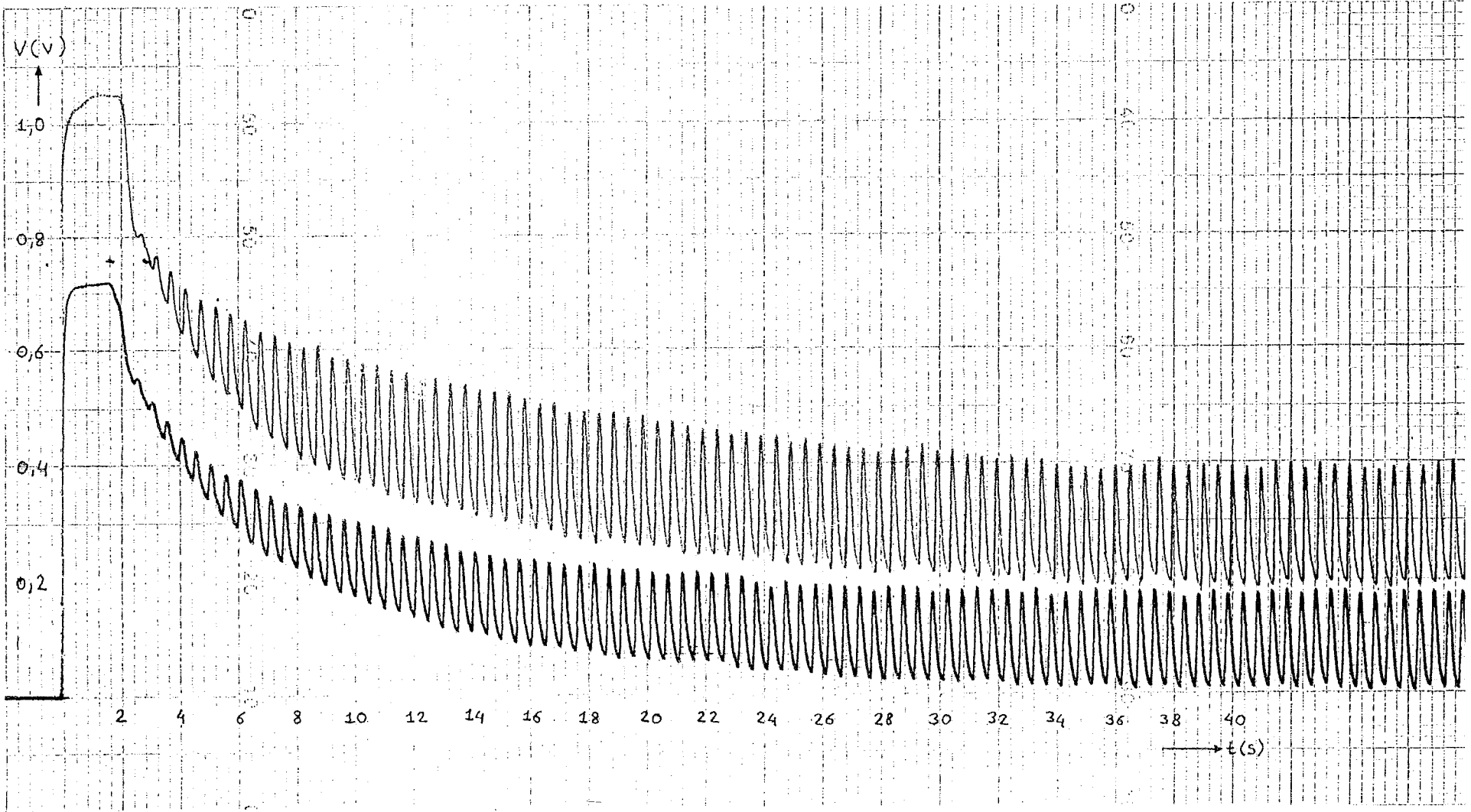
Yaptığımız deneyler sonucunda da kasılmanın birikimindeki bu azalmanın üssel fonksiyonla ifade edilebildiği görülmüştür. Bu matematik fonksiyonları bulabilmek için, herbir uyarana karşılık maksimum kasılma kuvveti (kontrol grubu için  $F_0$ , PEMF uygulandığı durum için  $F_M$ ) değerleri Şek.18 den ölçülmüştür. Kontrol grubunda ve magnetik alanda gözlenen minimum kasılma kuvvetleri sırasıyla  $F_0$  ve  $F_{M0}$  olmak üzere,

$$\frac{F - F_0}{F_0} \times 100 \quad (4.1)$$

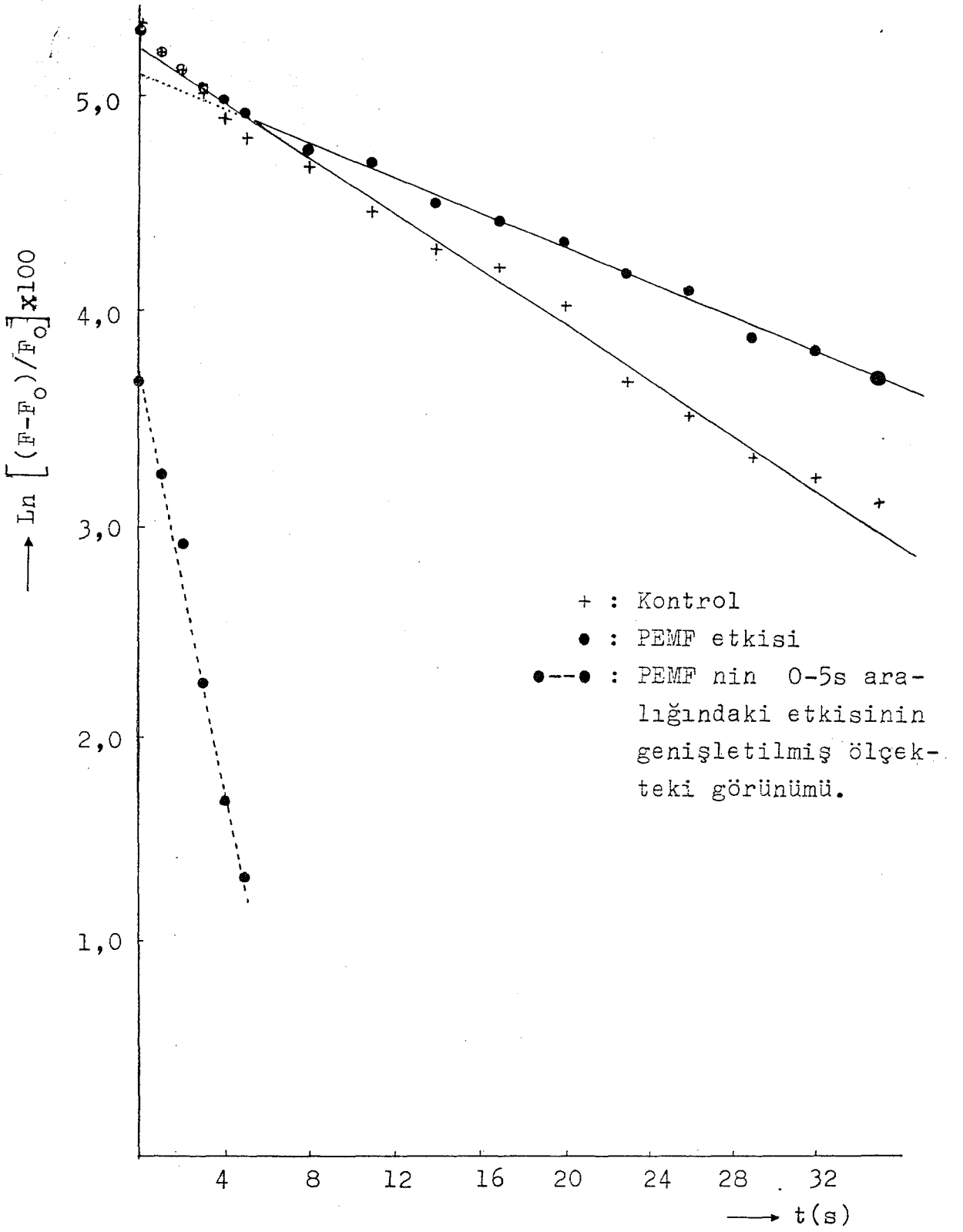
ve

$$\frac{F_M - F_{M0}}{F_{M0}} \times 100 \quad (4.2)$$

eşitlikleri kullanılarak herbir kasılma kuvveti değerinin minimum değere göre bağıl büyüklükleri hesaplanmıştır. Hesaplanan bu değerlerin e tabanına göre logaritmalarının zamana göre değişimi çizildiğinde Şek.19 da görülen doğrular elde edilir. Bu işlem



Şek. 18. : PEMP nin, kasılmada, tetani(100 Hz, 2s ) sonrası gözlenen birikimin azalması üzerindeki etkisi. Büyük genlikli eğri PEMP uygulandığı duruma karşılıktır.



Şek.19. : Şek.18 de görülen deneysel sonuçlardan ölçülen genlik değerleri kullanılarak Denk.(4.1) ve Denk.(4.2) den hesaplanan büyüklüklerin logaritmasının zamana göre değişimi.

bir niceliğin(burada kasılma kuvveti) üssel azalan bir fonksiyon ile ifade edilip edilemeyeceğinin anlaşılmasında standart bir yoldur ve sonucun doğrusal olması üssel azalma için bir ölçüttür.

Yapılan istatistiksel analizler, magnetik alanda gözlenen sonuçların 0-5s ve 5-35s aralıklarında tanımlı iki doğru ile ifade edilebileceğini göstermektedir. Bu doğruların denklemleri, 0 - 5s zaman aralığı için;

$$\ln\left(\frac{F_M - F_{Mo}}{F_{Mo}} \times 100\right) = -0,491T + 3,73 \quad (4.3)$$

$$r = -0,994 \quad ; \quad p < 0,001 \quad \text{***}$$

5- 35s zaman aralığı için ise;

$$\ln\left(\frac{F_M - F_{Mo}}{F_{Mo}} \times 100\right) = -0,0407T + 5,1 \quad (4.4)$$

$$r = -0,997 \quad ; \quad p < 0,001 \quad \text{***}$$

olarak hesaplanmıştır. Bu iki denklemin kullanılması ile magnetik alanda gözlenen deneysel sonuçların,

$$\frac{F_M - F_{Mo}}{F_{Mo}} \times 100 = 41,7e^{-0,491T} + 164e^{-0,0407T} \quad (4.5)$$

eşitliği ile ifade edilebileceği kolayca görülebilir. Gerçekten de bu denklemden hesaplanan değerler deneysel sonuçlar ile büyük bir uyum içindedir(Şek.20).

Kontrol grubu ile ilgili istatistik analizler ise, deneysel sonuçların,

$$\ln\left(\frac{F-F_0}{F_0} \times 100\right) = -0,0647T + 5,2 \quad (4.6)$$

$$r = -0,996 \quad ; \quad p < 0,001 \quad \text{***}$$

veya

$$\frac{F-F_0}{F_0} \times 100 = 185e^{-0,0647T} \quad (4.7)$$

eşitliği ile tanımlanabileceğini göstermektedir. Burada, magnetik alanda olduğu gibi, 0 - 5s ve 5 - 35s aralıklarında tanımlı iki doğrunun istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı görülmüştür. Denk.(4.7) den hesaplanan değerlerin de deneysel sonuçlar ile uyum içinde olduğu Şek.20 den görülebilir.

Denk.(4.5) ile verilen eşitliğin Denk.(4.7) ile karşılaştırılmasından kasılma kuvvetinin küçülme hızının, magnetik alanda daha küçük olduğu görülür. Bunun yanısıra, hız sabitleri birbirinden farklı iki terimin olması, küçülme hızı üzerinde etkili birbirinden farklı iki mekanizmanın varlığını düşündürür. Oysa kontrol grubunda bu mekanizma tektir.

Kasılma kuvvetindeki küçülmenin karakteristik ölçüsü olan zaman-sabiti(relaxation-time) değerleri ise, PEMF uygulaması için Denk.(4.3) ve Denk.(4.4) den

$$\tau_{M1} = 2,04 \text{ s} \quad (4.8)$$

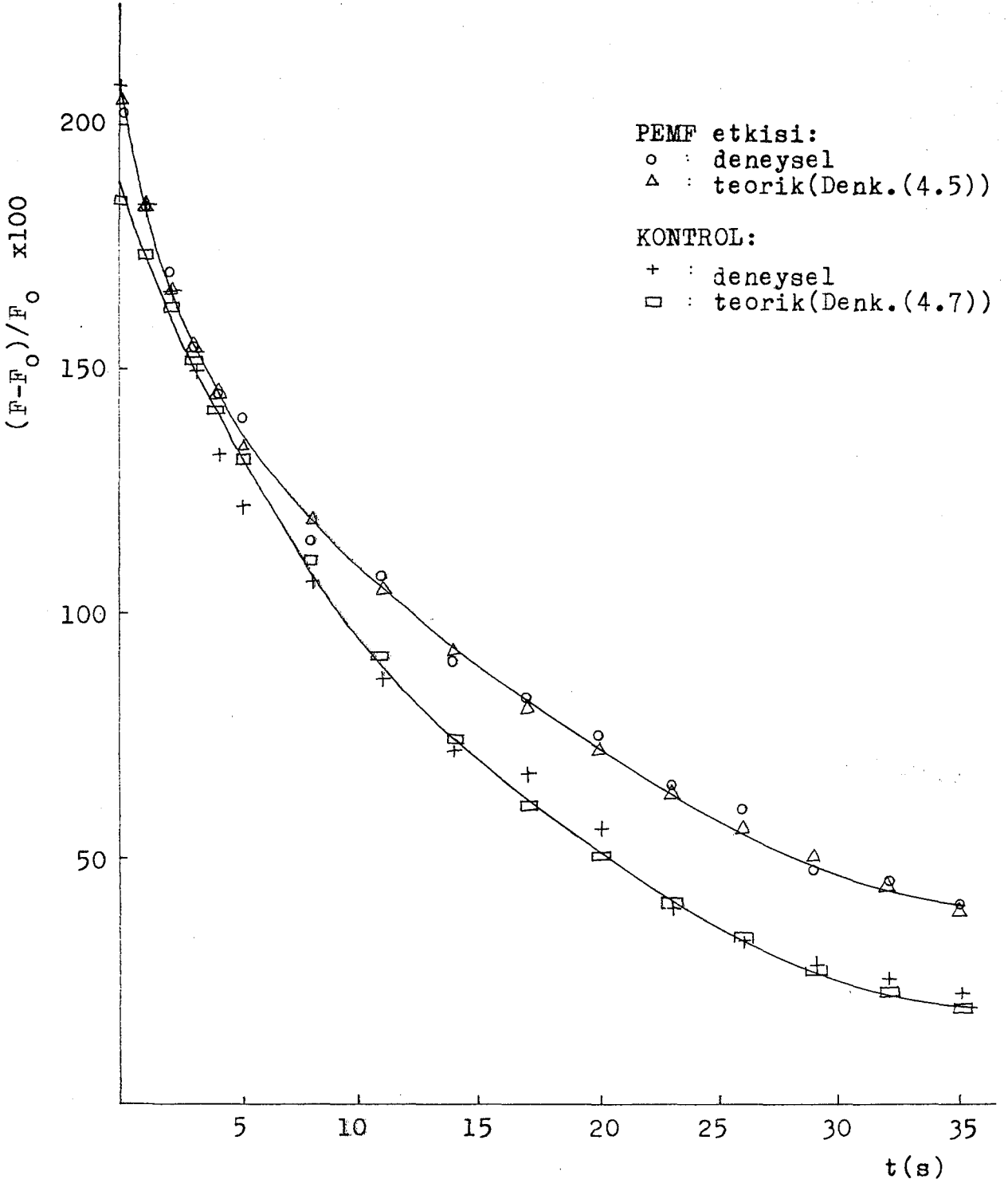
$$\tau_{M2} = 24,6 \text{ s} \quad (4.9)$$

kontrol grubu için Denk.(4.6) dan

$$\tau = 15,5 \text{ s} \quad (4.10)$$

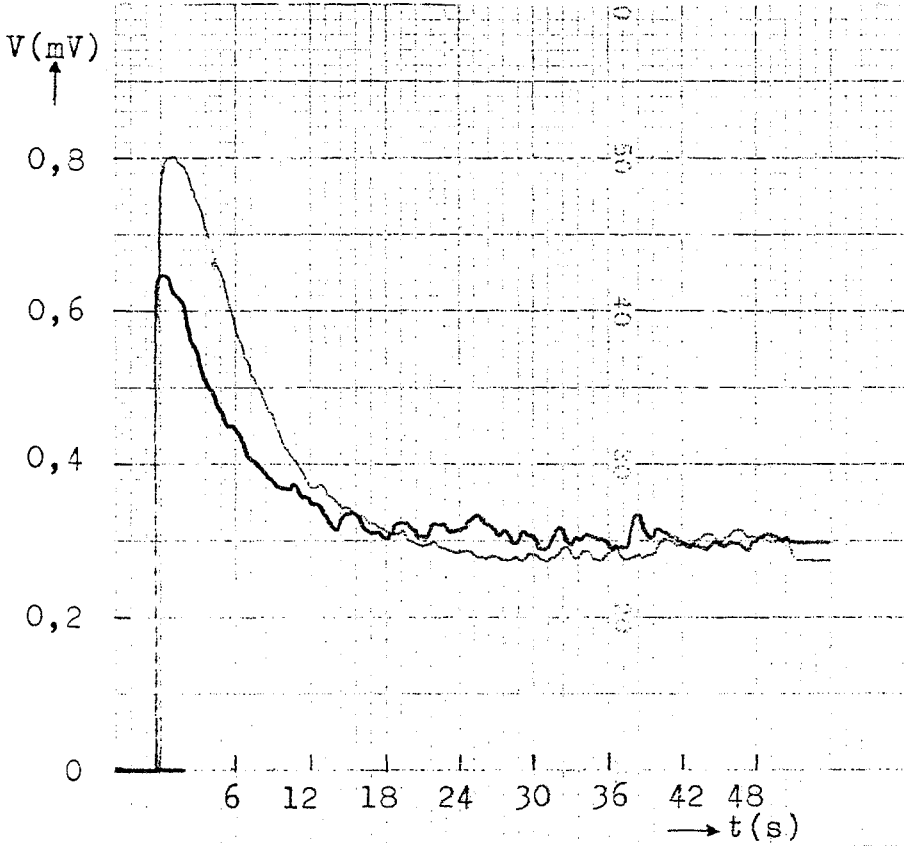


olarak bulunur.



Şek.20. : Denk.(4.5) ve Denk.(4.7) den hesaplanan değerlerin Şek.18 den hesaplanan değerler ile birarada gösterilişi. Açıkça görüldüğü gibi deneysel ve teorik sonuçlar büyük bir uyum içindedir.

Tetanic kasılma durumunun sürdürülmesi halinde PEMF hala etkili olmakla birlikte, kuvvet oluşumunda gözlenen artış kısa sürede ortadan kalkmaktadır(Şek.21).



Şek.21. : Sürekli tetanic uyaran etkisinde kalan bir kasta, kasın kuvvet oluşturma yeteneğinin zamanla azalması(yorulma). Büyük genlikli eğri PEMF nin etkisini yansıtmaktadır.

## V. TARTIŞMA

İskelet kasında kuvvet oluşumu, terminal sarnıçlarda(TS) depolanmış kalsiyumun salınmasını ve sarkomer boyunca troponin bağlanma bölgelerine difüzyonunu içerir. Bilindiği gibi kalsiyum, myozin çapraz köprülerinin aktive olmuş aktin bölgeleri ile etkileşimini olanaklı kılarak kasılmayı sağlar. Bundan başka, kasılma için gerekli enerjinin ATP nin hidrolizinden elde edilmesinde ve ardışık kasılmalar için glikojenden ATP üretmek üzere glikogenolizin başlatılması ve regülasyonunda kalsiyum iyonlarının varlığı gereklidir(Kothiyal ve ark., 1986). Gevşeme durumu ise, kalsiyumun yeniden sarkoplazmik retikulum(SR) a dönmesi ve muhtemelen myoplazmik kalsiyum tamponları tarafından alınması ile gerçekleşir. İskelet kasında kalsiyumu bağlayan proteinlerin bazıları troponin, parvalbumin ve calsequestrindir. Parvalbumin bazı kasların myoplazmasında yüksek konsantrasyonda bulunabilen bir proteindir. Bu proteinin fonksiyonu çok net bilinmemekle birlikte kasın gevşemesinde rol aldığı ileri sürülmektedir. Calsequestrin ise kalsiyum bağlama kapasitesi yüksek fakat kalsiyuma karşı afinitesi küçük olan bir proteindir. TS'larda bulunan bu protein kalsiyumun büyük oranda bu bölge içinde depolanmasını sağlamaktadır (Cannel ve ark., 1984).

Kalsiyumun serbestleşme bölgelerinden bağlanma bölgelerine hareketi ve yeniden depolanma bölgelerine dönüşü, bu iyonun sarkoplazma boyuncaki gradyentine bağlıdır. İskelet kasının kasılması sırasında kalsiyumun hücre içi bölmeler arasındaki bu hareketi çeşitli yöntemler ile izlenebilmektedir(Cannel ve ark., 1984 ; Baylor ve ark., 1983 ; Eusebi ve ark., 1983). Bunlardan biri bir fotoprotein olan aequorin'in kalsiyum indikatörü olarak kullanılmasıdır. Bu fotoproteinin biyo-lüminesans özelliğinden yararlanılarak elde edilen deneysel sonuçlar kontraktıl aktivite ile paralellik göstermektedir(Cannel ve ark., 1984).

McCleskey(1985), stoplazmaya enjekte edilen kalsiyum kanal blokerlerinin(nifedipine, methoxyverapamil) kasılma üzerinde bir etkisinin olmadığını gözlemiştir. Bunun sonucunda, SR dan kalsi-

yum salınmasında kalsiyum kanallarının tetikleyici rolünün gerekli olmadığını ifade ederek SR dan kalsiyum salınması ile kalsiyum kanallarının farmakolojik olarak farklı olduğunu ileri sürmüştür. Bununla birlikte, kalsiyum kanal blokerlerinin etkisinin sıcaklığa bağımlı olduğu gösterilmiştir(Eisenberg ve ark., 1983). Kurbağa iskelet kası üzerinde 7°C sıcaklıkta yapılan deneylerde kalsiyum antagonisti etkisiyle kas lifi paraliz olurken, sıcaklığın 22°C ye yükseltilmesi ile kontraktıl aktivitenin eski durumunu kazandığı gözlenmiştir. Bu sonucun, farklı kalsiyum kanallarının ya da aracı proteinlerin varlığı ile ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir.

Kalsiyum iyonlarının dışarı akışı üzerinde, hücre dışı iyonik kompozisyonun da önemi büyüktür. Sodyum iyonlarından arındırılmış ortamda, kurbağa iskelet kasının kalsiyum alımında artma gözlenmiş ve kalsiyum iyonlarının dışarı akısındaki bu azalma Na-Ca değişim mekanizmasına bağlanmıştır(Caputo ve ark., 1978).

Farmakolojik ajanların hücresel ve metabolik olaylardaki etkinliği, elektromagnetik dalgaların kullanılması ile de başarılabilir. Günümüzde tedaviye yönelik olarak kullanılan nöro-musküler ve elektromagnetik stimülatörler gibi sistemler bunun en güzel kanıtıdır(Hench ve ark., 1982 ; Basset, 1984 ; Seber ve ark., 1987). Magnetik alanların biyolojik etkileri konusundaki çalışmaların sonuçları, kontrol edilmesi gerekli pek çok parametre(alan şiddeti, alan değişim biçimi, frekans, modülasyon vb.) olması nedeni ile birbirleriyle çelişkili gözükmektedir(Blackman, 1985 ; Chiabrera, 1985). İlgilenilen hücre türüne ve EM-alan parametrelerine bağlı olarak kalsiyum iyonlarının hücre içine ve dışına net akısının olduğunu gösteren pek çok çalışma vardır(Chiabrera, 1985). Düşük frekanslı(15 Hz) pulslu magnetik alanların(PEMFs) kolagen üretimini artırdığı, kemik dokunun yıkımından sorumlu enzim düzeylerini azalttığı, kalsiyum metabolizması üzerine etkiyerek kalsifikasyonu hızlandırdığı, doku kültürleri üzerinde yapılan deneylerle gösterilmiştir(Jackson, 1985).

Kalsiyum iyonlarının;

— Uyarılabilir zarların stabilizasyonu

- Zarların iyonlara karşı geçirgenliğinin düzenlenmesi
- Kasta uyarı-kasılma çiftlenimi
- Termoregülasyon
- Nörotransmitter salınması

gibi çeşitli fizyolojik olaylarda anahtar rol oynadığı dikkate alındığında, PEMP nin bu iyon üzerindeki etkinliği büyük önem taşır.

Tezimizde, PEMP nin kontraktıl aktiviteyi güçlendirerek kasta kuvvet oluşumunu artırdığı bulunmuştur. Kasılma sonucu oluşan kuvvetin büyüklüğünü belirleyen önemli parametrelerden biri sarkoplazmadaki serbest kalsiyum iyonu konsantrasyonudur. Kalsiyum iyonunun bu rolü nedeni ile, kasılmanın sürekliliğinin korunması, bu iyonun konsantrasyonunun belli bir düzeyde tutulmasını gerektirir. Buna göre, kasılma ve gevşeme zamanlarında artış beklenir. Gerçekten de deneysel sonuçlarımız (Tablo.V , Tablo.VI ve Şek.16) bu görüşü desteklemektedir. Kalsiyum iyonunun hücre içi bölmeler arasındaki hareketini gözleyecek deney düzeneğine sahip olmamakla birlikte, deneysel sonuçlar, PEMP nin SR ve diğer tampon sistemler tarafından kalsiyum alınmasını inhibe ederek serbest kalsiyum iyonu düzeyinin korunmasını uzattığını ve TS lardan ise kalsiyum salınmasını artırdığını düşündürür. Kalsiyum iyonik hareketi ile ilgili pek çok mekanizma olduğundan, magnetik alanın ayrıntılı etki mekanizmasının açıklığa kavuşturulması (spesifik kanal blokerleri kullanılması gibi) çok çeşitli araştırmaları gerektirir.

Kas kasılmasında tetanik uyararla birlikte ortaya çıkan kontraksiyon şiddetindeki artma sinir-kas sisteminin bir özelliği olarak düşünülmektedir. Bununla birlikte, ayrıntılı çalışmalar biri motor sinir terminalinde diğeri ise kasta gerçekleşen iki ayrı güçlenme (potentiation) mekanizmasının varlığını ortaya koymuştur (Krämer, 1931). Deneylelerimizde sinir-kas kavşağı bloke edildiğinden bu mekanizmanın sadece kasla ilişkili olacağı ifade edilebilir. Tetanik uyarın sonucu gözlenen kontraksiyon şiddetindeki artma, bu uyarının kesilmesi ile birlikte zamanla azalmaktadır. Azalmanın zamanla değişimi ise bir üssel fonksiyonla ifade edilebilmektedir. (Close ve ark., 1968). Bu azalmanın, biri başlangıçta ve

hızlı diğeri ise daha sonra ve yavaş olmak üzere iki bölümden oluştuğu gözlemlendiğinden, kontraksiyon şiddetindeki artma birbirinden farklı iki mekanizmaya bağlanmaktadır. Çalışmamızda da PEMF nin uygulandığı durumda, kasılma gücündeki artış biri hızlı(Denk.(4.3)) diğeri ise yavaş(Denk.(4.4)) sönümlenen iki üssel fonksiyonla(Denk.(4.5)) ifade edilebilmektedir. Kontrol grubunda gözlenen sonuçlar ise bir tek üssel fonksiyonla(Denk.(4.7)) tanımlıdır. Bu sonuçlar, tek puls uyaranlarına karşı gözlenen yanıtların farklı oluşu da dikkate alındığında, PEMF nin normal aktivitedekinden farklı mekanizmaları harekete geçirdiğini düşündürür.

Tetanik uyaranın uzun süre uygulanması sonucu kasın kuvvet oluşturma yeteneğinin azalması(yorulma), kastaki,

- ATP düzeyine
- Fosfokeratin düzeyine
- Oksijen kaynağına
- Kan akımına
- Glikojen düzeyine

vb. faktörlere bağlı olarak açıklanmaya çalışılmıştır. Bu faktörlere dayalı modellerin yorulmayı açıklamadaki başarısızlığı ise kasın kuvvet oluşturma sırasında oluşan hücre ve hücre altı süreçlerin rolünün dikkate alınmaması ile ilişkilendirilmektedir (Kothiyal ve ark., 1986). Kasın kuvvet oluşturma yeteneğinin belirlenmesindeki en önemli hücresel süreçlerden biri ise hücre içi kalsiyum iyonik hareketidir. Yorulma durumunun PEMF uygulanması sonucu gecikmesi(Şek.21) bu görüşü destekler niteliktedir.

## VI. SONUÇ

Magnetik alanın zamanla değişiminin, indüksiyonla ortamda bir elektrik alan oluşturacağı ve bunun da bir potansiyel farkı oluşumuna yol açacağı çok iyi bilinmektedir. Bu nedenle, elektrik ve magnetik alanların birlikte uygulanması sonucu iyonik hareketlerin seçimli olarak aktive edilip edilmediği sorusu ortaya çıkar. Hücre içi kalsiyum iyonik hareketinin çok çeşitli ve karmaşık mekanizmalara bağlı olması nedeni ile oldukça çok sayıda soru cevap beklemektedir. Bundan da ötede bu mekanizmaların çoğu normal fizyolojik koşullar için bile tam anlaşılmış değildir.

Etki mekanizması ne olursa olsun PEMF kasılma kuvvetini artırıcı özelliğe sahiptir. Bu kuvvetin hücre içi serbest kalsiyum iyonu konsantrasyonuna bağımlı olması, PEMF nin etkisinin de bu iyon üzerinde odaklandığını düşündürür. Kalsiyum iyonlarının çeşitli fizyolojik olaylarda anahtar rol üstlenmesi nedeni ile, PEMF nin varsa bu olayları düzenleyici etkilerinin açıklığa kavuşturulması büyük önem taşır. Elektrik ve magnetik alanlar üretebilen çeşitli elektronik sistemlerin tedavi amacı ile yaygın bir şekilde kullanılmaya başlandığı da dikkate alındığında bu önem bir kat daha artar. Böylece, bu tür uygulamalar için yeterli güvenlik standartlarının saptanması olanaklı olacaktır.

## VII. ÖZET

Bu çalışmada, pulslu magnetik alanların(PEMFs) kurbağa izole gastrokinemius kasının yorulma, tetaniden önce ve sonra uygulanan uyaranlara karşı yanıtları üzerindeki etkileri incelenmiştir.

PEMF tek puls uyarana karşılık izotonik kasılmada, maksimum kasılma kuvvetini, kasılma zamanını ve yarı-gevşeme zamanını artırmaktadır. Bu sonuçlar, dolaylı olarak, PEMF nin kasılma aktivitesi üzerindeki güçlendirici etkisinin sarkoplazmik retikulumun terminal sarnıçlarından kalsiyum salınmasını artırması ve bu iyonların sarkoplazmik retikulum ile tampon sistemleri tarafından alınmasını geciktirmesi ile açıklanabileceğini düşündürür.

Magnetik ve elektriksel uyarınların eş-zamanlı olarak uygulandığı tetani( 100Hz, 200 puls) durumunun ardından, kasılmadaki güçlenme başlangıçta hızlı daha sonra yavaş bir şekilde azalma göstermektedir. Kasılma gücündeki azalma sırası ile  $\tau_{M1} \cong 2$  s ve  $\tau_{M2} \cong 25$  s zaman sabitlerine sahiptir. Sadece elektriksel uyarınların uygulandığı durumda ise, kasılma gücünün azalması bir zaman sabiti  $\tau \cong 16$  s ile tanımlıdır. Bu ikinci durum için yapılan istatistiksel analizler iki zaman sabitinin anlamlı olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlara göre, kasta uyarıkasılma çiftleniminde etkin olan iki bölmenin varlığı öne sürülebilir. Magnetik ve elektriksel uyarınların birlikte uygulandığı durum için her iki bölme de aktif iken, sadece elektriksel uyarın uygulandığında küçük sönümlenme hızına sahip bölme aktiftir. Bundan başka, küçük sönümlenme hızına karşılık gelen zaman sabiti, elektrik ve magnetik uyarınların birlikte uygulandıkları durumda daha büyüktür.

Elektrik ve magnetik uyarınların birlikte uygulandığı durumda elde edilen denysel sonuçlar, uzun süre devam eden kasılma sonucu kuvvette gözlenen küçülmenin(yorulma), sadece elektriksel uyarın uygulandığı durumda gözlenenden daha yavaş olduğunu gös-



termektedir. Böylece, uyaranların birlikte uygulanması sonucu gözlenen artışın, kısmen, kalsiyum iyonik hareketini seçimli olarak aktive eden indüksiyon elektrik alanı nedeni ile oluşup oluşmadığı sorusu sorulabilir.

PEMF nin kasta kuvvet oluşumunu artırıcı etkisinin altında yatan mekanizmaları belirlemek için daha, çok deney yapmak gerekecektir.

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF PULSED MAGNETIC FIELDS (PEMFs)  
ON CONTRACTILE PROPERTIES OF FROG SKELETAL MUSCLE

In this study, effects of pulsed magnetic fields (PEMFs) on fatigue and isotonic twitch tension before and after tetanic stimuli was investigated on the isolated gastrocnemius muscle of frog.

PEMF increased the isotonic twitch tension, the duration of contraction and of half relaxation time. These results indirectly suggest that the potentiating effect of PEMF on contractile activity can be explained by its effect that increases the calcium efflux from terminal cisternae of sarcoplasmic reticulum (SR) and decreases the rate of uptake of calcium by SR and myoplasmic calcium buffers.

After a tetanus of 200 stimuli (100Hz), tetanic potentiation showed an initial rapid and a later slower phase of decay when electric and magnetic stimuli applied simultaneously. The rates of decay had time constants of  $\tau_{M1} \cong 2$  s and  $\tau_{M2} \cong 25$  s respectively. The rates of decay had only one time constant of  $\tau \cong 16$  s when electrical stimuli applied alone. In the later case statistical analysis showed that the two time constants are insignificant.

It is speculated that the two compartments are related to the excitation-contraction coupling. Both compartments were activated during combined electric and magnetic stimuli whereas only the compartment with a slow rate of decay was activated by the electrical stimulus alone. Furthermore, slow rate of decay for combined stimuli had longer time constant compared with the electrical stimulus.

Experimental results show that the loss of force generated by the muscle for sustained contraction of long duration is slower during the combined electric and magnetic stimulation than the electrical stimulation alone. Thus, it may be questioned whether the enhancement of the combined stimuli may be due in part some induced electric field effect that in some way preferentially activating the calcium ion movement.

Much more experimentation is needed to determine the mechanisms underlying the effects of PEMF on the enhancement of muscle force generation.

KAYNAKLAR

- BASSET, C.A.L.(1984) : The development and application of pulsed electromagnetic fields(PEMPs) for ununited fractures and arthrodeses. Orthop.Clin.North Am. 15(1), 61 - 87.
- BAYLOR, S.M., CHANDLER, W.K., MARSHALL, M.W. (1983): Sarco-plasmic reticulum calcium release in frog skeletal muscle fibres estimated from arsenazo III calcium transients. J.Physiol. 344, 625-666.
- BENSON, J.B., GUNSTREAM, S.E., TALARO, A., TALARO, K.P. (1983) : Anatomy and physiology laboratory textbook. s: 120-138. Wm.C.Brown Comp. Pub.,Iowa.
- BICKFORD, R.G., GUIDI, M., FORTESQUE, P. et al. (1987) : Mag-netic stimulation of human peripheral nerve and brain : Response enhancement by combined magnetolect-ric technique. Neurosurgery, 20(1), 110-115.
- BLACKMAN, C.F. (1985) : The biological influences of low-fre-quency sinusoidal electromagnetic signals alone and superimposed on RF carrier waves, in: " Interaction between electromagnetic fields and cells" A.Chiabrera, C. Nicolini and H.P. Schwan eds. s: 521-535. Plenum, NewYork.
- BLAUSTEIN, M.P. (1984) : The energetics and kinetics of sodi-um-calcium exchange in barnacle muscles, squid axons and mammalian heart: The role of ATP in "Electrogenic tranport" M.P. Blaustein, M. Lieberman, eds. s:129-147. Raven Press.
- BOSCO, C., KOMI, P.V., TIHANYI, J., FEKETE, G., APOR, P.(1983): Mechanical power test and fiber composition of human leg extensor muscles. Eur.J.Appl.Physiol. 51, 129-135.
- BRAND, A.R., PEDERSEN, R.D., FRIEDERICH, J.A. (1986) : The sensitivity of muscle force predictions to changes in physiological cross-sectional area. J.Biomech. 19(8), 589-596.

- CANNEL, M.B., ALLEN, D.G. (1984) : Model of calcium movements during activation in the sarcomere of frog skeletal muscle. *Biophys.J.* 45, 913-925.
- CAPUTO, C., BOLANOS, P. (1978) : Effect of external sodium and calcium on calcium efflux in frog striated muscle. *J. Membrane Biol.* 41, 1-14.
- CHIABRERA, A. (1985) : Electric and magnetic field effects on ligand binding to the cell membrane, in: " Interaction between electromagnetic fields and cells " A. Chiabrera, C. Nicolini, H.P. Schwan eds., s: 253-280 Plenum, New York.
- CLOSE, R., HOH, J.F.Y. (1968) : The after-effects of repetitive stimulation on the isometric twitch contraction of rat fast skeletal muscle. *J. Physiol.* 197, 461-477.
- DAMASK, A.C. (1978) : *Medical Physics Vol. I* s: 95-119. Acad. Press, New York.
- EISENBERG, R.S., MCCARTHY, R.T., MILTON, R.L. (1983) : Paralysis of frog skeletal muscle fibres by the calcium antagonist D-600. *J. Physiol.* 341, 495-505.
- ESEN, H., YILDIRIM, H. (1986) : Pulsu magnetik alanların biyolojik etkilerinin incelenmesinde kullanılabilecek bir uyarıcı sistemin yapımı. *Anad. Tıp Der.* 8, 71-76.
- EUSEBI, F., MILEDI, R., TAKAHASHI, T. (1983) : Aequorin-calcium transients in frog twitch muscle fibres. *J. Physiol.* 340, 91-106.
- FARUQUI, A.R. (1982) : *Muscle : Structure and function. Lecture notes, Summer College in Biophysics (2-27 August) Trieste, Italy.*
- FUNG, Y.C. (1984) : *Biomechanics*, s: 302-379. Springer-Verlag, New York.
- GRANDOLFO, M. (1985) : What data bases for electromagnetic fields exposure standards? in: " Interaction between electromagnetic fields and cells " A. Chiabrera, C. Nicolini and H.P. Schwan eds., s: 603-630. Plenum, New York.

- GÜNER, Z., YALTKAYA, K., PEHLİVAN, F. (1975) : Uzunluk ve uzanım ölçülerinde yüksek Q rezonans tekniği. A.Ü. Tıp Fak.Mec. XXVIII, III-IV, 491-502.
- HENCH, L.L., ETHRIDGE, E.C. (1982) : Biomaterials : An Interfacial Approach, s: 177-201, Acad.Press, NewYork.
- JACKSON, S.F. (1985) : Biophysical studies of pulsed magnetic field interactions, in: " Interaction between electromagnetic fields and cells" A.Chiabrera, C.Nicolini, and H.P.Schwan eds., s:537-545, Plenum, NewYork.
- KOTHIYAL, K.P., IBRAMSHA, M. (1986) : Fatigue in isometric contraction in a single muscle fibre: Compartmental calcium ion flow model., J.Biomech. 19(11): 943-950.
- KRARUP, C. (1981) : Enhancement and diminution of mechanical tension evoked by staircase and by tetanus in rat muscle. J.Physiol., 311 , 355-372.
- MANNHERZ, H.G., HOLMES, K.C. (1983) : The molecular physiology of contractivity and motility, in : "Biophysics" W. Hoppe, W.Lohmann, H. Marki, H. Ziegler eds. s:566-577. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- MARSLAND, T.P. (1985) : Biophysical studies of pulsed magnetic field interaction with biological systems : Part II Physical Aspects, in : " Interaction between electromagnetic fields and cells " A.Chiabrera, C.Nicolini, H.P. Schwan, eds., s: 547-555. Plenum, NewYork.
- MCCLESKEY, E.W. (1985) : Calcium channels and intracellular calcium release are pharmacologically different in frog skeletal muscle. J.Physiol. 361, 231-249.
- MICHAELSON, S.M. (1985) : Subtle effects of radio-frequency energy absorption and their physiological implications, in : " Interactions between electromagnetic fields and cells" A.Chiabrera, C.Nicolini, H.P.Schwan eds., s: 581-602. Plenum, NewYork.
- MICHAELSON, S.M. (1985-b) : Perspective on window and calcium efflux studies, in: "Interactions between electromagnetic fields and cells " A.Chiabrera, C.Nicolini, H.P. Schwan eds., s: 499-519. Plenum, NewYork.

- SCHWAN, H.P. (1985) : Historical review, state of the art, open problems, in: " Interactions between electromagnetic fields and cells" A.Chiabrera, C.Nicolini, H. P.Schwan eds., s: 1-18. Plenum, NewYork.
- SEBER, S., ESEN, H., ÖZAKÇE, H., ve ark. (1987) : Kırık iyileşmesinde elektromagnetik alan uygulaması. Anad. Tıp Der. Cilt:9, Sayı:1, 345-355.
- VOLKENSTEIN, M.V. (1983) : General Biophysics, Vol.I s: 237. Acad.Press., NewYork.
- WOODBURY, J.W., GORDON, A.M., CONRAD, J.T. (1960) : Muscle, in: "Physiology and Biophysics" T.C. Rush, H.D. Patton eds., s: 113-152. W.B. Saunders, Philadelphia.