

T. C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**SIÇANLARDA DEĞİŞİK ŞEKİLLERDE OLUŞTURULAN
ÖLÜM SONRASI KASLARINDA ATP ADP AMP LAKTİK ASİT VE
NİTRİK OKSİT KONSANTRASYONLARI**

Dr. Halime Hanım PENÇE

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ebubekir BAKAN

Doktora Tezi

ERZURUM - 1999

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA DEĞİŞİK ŞEKİLLERDE OLUŞTURULAN
ÖLÜM SONRASI KASLARINDA ATP ADP AMP LAKTİK ASİT VE
NİTRİK OKSİT KONSANTRASYONLARI

Dr. Halime Hanım PENÇE

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Ebubekir BAKAN

Doktora Tezi

Erzurum - 1999

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No:
TEŞEKKÜR	II
ÖZET	III
SUMMARY	IV
1-GİRİŞ VE AMAÇ	1
2-GENEL BİLGİLER	3
2.1. Biyokimyasal Reaksiyonlarda Enerji	3
2.2. İskelet Kasında Kontraksiyon ve ATP Harcanması	10
2.3. Laktik Asit	22
2.4. Rigor Mortis	25
2.5. Elektrik Çarpması	30
2.6. Suda Boğulma	34
2.7. Nitrik Oksit	37
3-MATERYAL VE METOD	45
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar	45
3.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı	47
3.3. Yapılan Analizler	48
4- BULGULAR	57
4.1. Çalışılan Beş Parametreye Ait Bulgular	61
4.2. Üç Ayrı Grupta ATP, ADP, AMP, Laktik Asit ve Nitrik Oksit Konsantrasyonları Arası Korelasyon	71
4.3. ATP nin % Değişim Oranı	73
4.4. Kontrol Ve Elektrik Çarpması Karşılaştırılması	73
4.5. Kontrol ve Suda Boğma Karşılaştırılması	74
4.6. Elektrik Çarpması Ve Suda Boğma Gruplarının Karşılaştırılması	75
5- TARTIŞMA	76
6- SONUÇ	94
7- KAYNAKLAR	96

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve tez çalıőmam sırasında da yardımını esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Ebubekir BAKAN, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Kızıltunç, Üniversitemiz Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim dalının diğer öğretim üyelerine, eőim Dr. Sadrettin Pençe' ye ve Adli Tıp Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. A. Nezih Kök'e sonsuz őükranlarımı sunarım.

Dr. Halime Hanım Pençe

ÖZET

Bu çalışmada boyun dislokasyonu, elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen sprague-dawley türü sıçanlarda hemen ölüm sonrası sağ taraf ve ölümden 120 dakika sonrası sol taraf masseter, triceps ve quadriseps kaslarında ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonları tayin edildi.

Yapılan çalışmada, boynu kopararak, elektrik çarpması ve suda boğarak öldürülen sıçanlarda masseter, triceps ve quadriseps kaslarında; ölümden 120 dakika sonra ölçülen ATP ve nitrik oksit konsantrasyonları, hemen ölüm sonrası ATP ve nitrik oksit konsantrasyonlarından daha düşük bulundu. ADP, AMP, laktik asit konsantrasyonları ise ölümden 120 dakika sonrası, hemen ölüm sonrasına göre daha yüksekti.

Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarla elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların karşılaştırılmasında, ölümden hemen sonra ve ölümden 120 dakika sonra ATP, ADP, AMP ve nitrik oksit konsantrasyonları elektrik çarpması grubunda daha düşük bulundu. Laktik asit konsantrasyonları ise elektrik çarpmasında ölümden hemen sonra kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.

Suda boğarak öldürülen sıçanların hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası ATP, ADP, AMP ve nitrik oksit değerleri, boynu kırılarak öldürülenlerden daha düşüktü. Laktik asit değerleri hemen ölüm sonrası suda boğarak öldürülen sıçanlarda boynu kırılarak öldürülenlere göre daha yüksekti.

Kontrol grubundaki sıçanların üç farklı kasında ki ATP düşüş oranları her kas için farklı bulundu. En fazla masseter kasında sonra quadriseps kaslarında ATP seviyesi düştü. Elektrik çarpması grubunda her bir kasta ki ATP düşüş oranı farklı bulundu. En çok düşüş quadriseps kasındaydı. Suda boğma grubunda ise ATP düşüş oranında anlamlı fark yoktu.

Sonuç olarak ölüm sonrası çizgili kaslarda ATP, ADP, AMP, laktik asit, nitrik oksit konsantrasyonları kasların yapısına, ölüm şekline ve ölüm zamanına göre değişmektedir. İnsanların çizgili kaslarında ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonlarının bilinmesi; ölümün, ölüm zamanının ve ölüm şeklinin tespitinde önemli rol oynayabilir.

SUMMARY

In this study we determined the ATP, ADP, AMP, lactic acid and nitric oxide levels of the right masseter, triceps, quadriceps muscles just after death and those of same muscles on the left 120 minutes later in the sprague-dawley type rats, being sacrificed by way of cervical dislocation, electricution and drowning.

As a result, the levels of ATP and nitric oxide at 120 minutes was found less than those just after they had been sacrificed, but ADP, AMP and lactic acid levels were higher at 120 minutes as compared to those just after they had been sacrificed.

The levels of ATP, ADP, AMP and nitric oxide of the rats sacrificed by cervical dislocation were less than the those of others sacrificed by electricution 120 minutes and just after death, but the lactic acid levels of the electricuted group just after they had been sacrificed were higher as compared to those of the control group.

The ATP, ADP, AMP and nitric oxide levels of rats at 120 minutes and just after drowning less than the others sacrificed by cervical dislocation, but the lactic acid levels just after death were higher in drowned rats than sacrificed by cervical dislocation.

The ATP levels of three different muscles were different in control group. The ATP level was primarily low in masseter muscle. In electricuted group the ATP level was low in all three muscles. The most apparent decrease in ATP was in quadriceps muscle. In the drowned group the decrease in ATP level was not statistically significant.

As a result, the levels of ATP, ADP, AMP, lactic acid and nitric oxide in striated muscles change according to how the rats were sacrificed, to the time of death and the type of muscle. Having known the concentration of ATP, ADP, AMP, lactic acid and nitric oxide in striated muscles of man plays an important role in determining the death, time of death, and cause of death.

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Ölü katılığı (rigor mortis) ölümden sonra ortaya çıkan istemli ve istemsiz kasların tümünde gözlenen sertleşmedir. Ölümün, ölüm şeklinin ve ölüm zamanının belirlenmesinde yardımcı olan önemli erken postmortem değişikliktir¹⁻⁵.

Kastaki ana kasılma maddelerinin aktin ve miyozin proteinlerinin olduğu bilinmektedir⁶. Kas kasılması için gerekli enerji, miyozinin baş kısmında bulunan ATP'az aktivitesiyle, ATP hidrolizi sonunda açığa çıkan enerjiden sağlanır. Oluşan her kasılma ile ATP yeniden miyozinin baş kısmına bağlanır ve kasılma işlemi tekrarlanır. Yeni ATP kaynağı bulunmadığında aktin ve myozin geri dönüşümsüz olarak birleşir ve kas kasılmış durumda kalır bunun sonucu olarak ölüm sonrası kas katılığı (Rigor mortis) oluşur^{2,7,8}.

Erdös tarafından ilk kez ATP kaybının ölüm katılığına sebep olduğu bulundu, bu bulgu bir çok araştırmacı tarafından da teyid edildi⁹⁻¹². Ölü katılığı oluşmasının nedeni; ölüm sonrası hipoksiye bağlı olarak, mitokondride oluşan oksidatif fosforilasyonla ATP sentezinin durmasıdır. ATP sadece anaerobik glikolizle glukoz ve glikojenden sentez edilir. Anaerobik glikolizin son ürünü olan laktik asit birikir. Canlı dokuda ATP'nin yıkımı ve sentezi arasında dinamik bir denge vardır. Ölüm sonrası bu denge bozulur. ATP'nin tüketimi üretimden fazladır, sonuçta ATP konsantrasyonu azalır. ATP konsantrasyonu sınır seviyeye düştüğünde aktin miyozin filamentleri geri dönüşümsüz olarak birleşir ve ölü katılığı oluşur^{2,3,13}. Rigor mortis ATP konsantrasyonunun normalin %85'ine düştüğünde başlar ve %15 olduğunda maksimum düzeye ulaşır^{14,15}.

Çoğu araştırmacı ölü katılığının alt çeneden başladığını, buradan üst ekstremitelere sonra da alt ekstremitelere yayıldığını kabul ederler; buna inici ölü katılığı denir. Çoğu yayınlarda parmakların en son etkilenen bölgeler olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte bu sıranın oluşumu tamamen açıklanamamıştır. Bazı Japon araştırmacılar ölü katılığının nadiren alt ekstremitelerden başlayarak üst ekstremitelere ve çeneye yayıldığını ileri sürdüler; buna da çıkıcı ölü katılığı denir¹⁶.

Çoğu araştırıcılar ölü katılığının başlaması ve gelişiminin, sıcaklık, kasdaki pH, ölüm öncesi egzersiz, ölüm sebebi gibi değişik faktörlere bağlı olduğunu gösterdiler^{15,17-22}.

Elektriğin kaslar üzerindeki önemli bir etkisi kaslarda spazma neden olmasıdır. 50 Htz ve 10 - 40 miliamper arasındaki akımlar iskelet kasında tetanik spazma neden olur²³. Bu spazmlar sonucu kaslarda ki mevcut ATP, fosfokreatin ve glikojen depolarının tükenmesinden dolayı, bu gibi olgularda rigor mortis daha çabuk gelişir²².

Suda boğulma, anoksik kökenli bir ölüm türüdür. Ölü katılığı suyun sıcaklığına ve mağdurun boğulma esnasında yaptığı efora bağlı kas aktivitesinin bir sonucu olarak erken gelişir²⁴.

Bu çalışmada ölümün, ölüm şeklinin ve ölüm zamanının tespitine bir yaklaşım olarak; boyun dislokasyonu, elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen spraque-dawley türü sıçanlarda, hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası ayrı ayrı sağ ve sol masseter, triseps ve quadriseps kaslarında ATP, ADP, AMP, laktik asit, nitrik oksit konsantrasyonları araştırıldı.

2-GENEL BİLGİLER

2.1. Biyokimyasal Reaksiyonlarda Enerji

Bütün hücreler ve mikroorganizmalar yaşayabilmek için enerjiye ihtiyaç duyarlar. Hücreler devamlı olarak yeni moleküller sentez ederler. Hareket edebilmek için mekanik iş yaparlar ve bir yandan molekülleri transport ettikleri gibi bir yandan da sıcaklık meydana getirirler²⁵.

Biyolojik olmayan sistemler iş yapmada ısı enerjisini kullanmaktadırlar. Biyolojik sistemler ise izotermiktirler ve yaşamlarını sürdürebilmek için kimyasal enerji kullanırlar. Isı hücre için sadece optimum yaşam koşullarını sağlamada yardımcı olmaktadır. Hücreler sabit sıcaklıkta ve sabit basınçta iş yapabilen serbest enerjiyi kullanırlar. Heteretrof hücreler kendi serbest enerjilerini enerjice zengin besin moleküllerinden, fotosentetik hücreler ise kendi serbest enerjilerini güneş ışınlarını absorbe ederek temin etmektedirler. Her iki tip hücrede aldıkları bu enerjiyi genel olarak kimyasal enerjiye dönüştürürler, önemli bir sıcaklık farkı olmadan işlerini bu enerji ile yaparlar. Hücre basit olarak sabit sıcaklıkta ve basınçta çalışan bir makinaya benzetilebilir. Hücreler enerjiyi insanların ürettiği makinalardan daha verimli, daha etkili ve daha ekonomik olarak kullanmaktadır²⁵.

Bir kimyasal tepkimenin gerçekleştiği hücre veya bütün organizma, termodinamik bir sistem olarak düşünülmektedir. Sistemin dışında kalan kısım çevre olarak kabul edilir. Moleküler değişikliklerin gerçekleştiği olaylar ile ilgili kimyasal tepkimeler, enerji akışının düzenlenmesiyle kontrol edilmektedir. Değişik türden enerjilerin birbirine dönüşümü ile ilgili olarak yapılan işlemler sonunda termodinamiğin iki önemli kanunu ortaya konmuştur²⁶.

Termodinamiğin birinci kanununa göre; herhangi bir fiziksel ve kimyasal değişiklikte enerjinin şekli değişebilmesine rağmen, sistem ve çevresinin total enerjisi sabit kalmaktadır. Buna enerjinin korunumu kanunu denir. Bir enerji yoktan var edilemez, varolan enerji yok edilemez, ancak bir şekilden başka şekile dönüşür. Bunun matematiksel yoldan ifadesi; $\Delta E = E_B - E_A = q - w$ şeklindedir. Burada ΔE sistemin enerjisindeki değişiklik E_A sistemin

başlangıcında E_B ise değişim sonundaki enerjisidir. q sistem tarafından absorbe edilen ısı, w de sistem tarafından yapılan iştir.

Termodinamiğin ikinci kanununa göre; bir işlemin kendiliğinden oluşabilmesi için sistemin total entropisinin artması gerekir. Entropi sistemdeki düzensizliğin ve gelişi güzelliğin bir ölçüsüdür ve S ile gösterilir. Sistem daha düzensiz bir hale geçtiğinde entropisi artar ve ΔS pozitif olur.

Sabit sıcaklık ve basınç altında reaksiyondaki bir sistemin serbest enerji değişimi ΔG ve entropi değişimi ΔS arasındaki ilişki şöyledir:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S; \Delta H: \text{Entalpi (ısı değişikliği)} \quad T: \text{mutlak sıcaklık}$$

$$\text{Entalpi değişimi: } \Delta H = \Delta E + P\Delta V$$

Biyokimyasal reaksiyonlarda ΔV (hacim değişimi), çok küçük olduğundan yaklaşık olarak ΔE 'ye eşit alınabilir. Yukarıdaki eşitlik şu şekilde ifade edilir:

$\Delta G = \Delta E - T\Delta S$; ΔG =Sistemin sabit basınç ve sıcaklıkta serbest enerjisinde ki değişme; ΔE = Sistemin iç enerji değişimi ²⁶.

$A+B \rightleftharpoons C+D$ şeklinde bir kimyasal tepkimede serbest enerji değişimi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmaktadır ²⁵.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Burada ΔG° standart serbest enerji değişimi olup 25 °C de A,B,C ve D'nin konsantrasyonları 1.0 M iken ölçülen değerdir. R gaz sabiti, T mutlak sıcaklıktır. Bu denklemde de görüldüğü gibi bir reaksiyonun serbest enerji değişimi reaksiyona katılanların özelliklerine ve konsantrasyonlarına bağlı bir değerdir.

Denge durumunda $\Delta G=0$ olacağından

$$\Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \text{ ifadesinden} \quad K \text{ denge sabiti} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Yukarıdaki eşitlikte K denge sabiti yerine yazıldığı zaman aşağıdaki eşitlik elde edilir.

$$\Delta G^{\circ} = -RT \ln K_d \text{ denkleminin logaritması 10 tabanına göre alınmasıyla}$$

$$\Delta G^{\circ} = -2.303 RT \log K_d$$

ΔG° standart şartlar altında, reaktantların standart serbest enerji değişimiyle, ürünlerin standart serbest enerji değişimi arasındaki farktır. $\Delta G^{\circ} < 0$ olduğunda ürünlerin serbest enerjisi, reaktantlarından daha küçüktür. Bu yüzden reaksiyon standart şartlar altında ürün vermek üzere kendiliğinden yürüyebilir. Çünkü bütün kimyasal reaksiyonlar sistemin serbest enerjisinde azalma ile sonuçlanacak yönde yürüme eğilimindedir. Bu tür reaksiyonlara ekzergonik reaksiyonlar denir. $\Delta G^{\circ} > 0$ olması ürünlerin reaktanlardan daha fazla serbest enerjiye sahip olması demektir. $\Delta G^{\circ} > 0$ ise reaksiyon kendiliğinden ilerleyemez. Bu reaksiyonun belirtilen yönde yürütülmesi için dışardan serbest enerji verilmesi gerekir. Bu tür reaksiyon endergonik reaksiyondur. $\Delta G^{\circ} = 0$ ise sistem dengede olup hiç bir net değişim olmaz ^{25,27}.

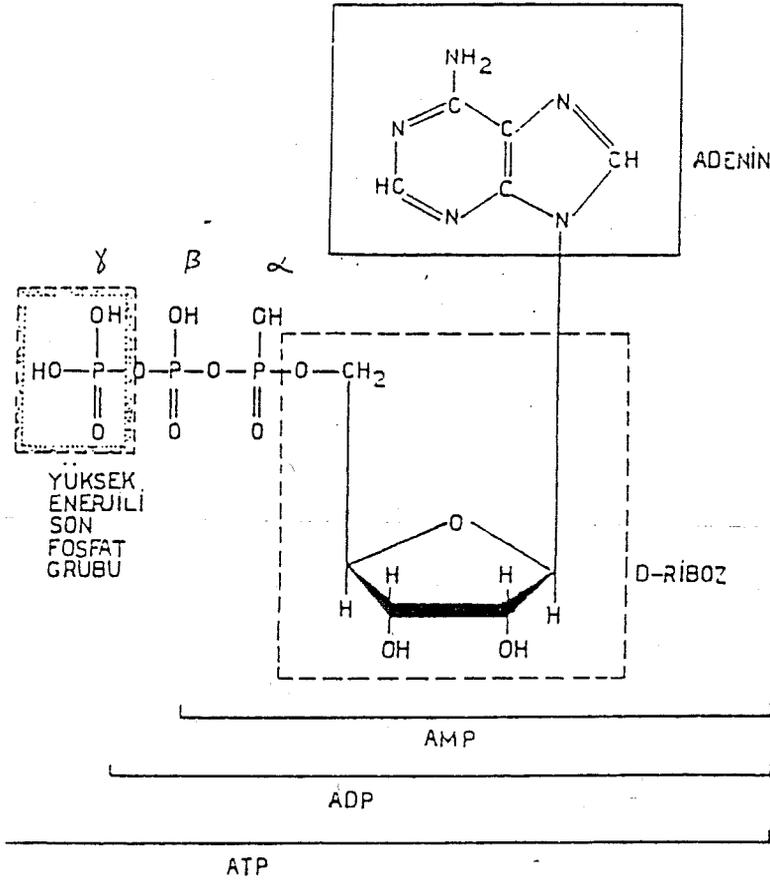
Endergonik reaksiyonlar (Sentez reaksiyonları, kas kasılması, sinir iletimi, aktif transport gibi) ekzergonik reaksiyonlarla eşleşerek ilerler. Ekzergonik bir olayın endergonik bir olayla eşleşmesi için ekzergonik reaksiyonda yüksek enerji potansiyeline sahip bir bileşik sentezlenmeli, bu bileşik endergonik reaksiyona katılarak ekzergonik yoldan endergonik yola bir serbest enerji transferi sağlamalıdır. Canlı hücrede başlıca yüksek enerjili ara madde veya taşıyıcı bileşik adenozin trifosfattır (ATP). ATP ekzergonik olaylardan endergonik olaylara serbest enerji transferinde önemli bir rol oynar ²⁸.

Normal fonksiyonlarını sürdüren hücreler, dokular veya organizmalar enerji gereksinmelerini besin maddelerinden özellikle karbonhidratlar, lipidler ve proteinlerin oksidasyonu ile sağlarlar. Açlık-tokluk döngüsü bulunan insanların enerji gereksinimleri sürekli olmaktadır ⁸.

Gıdaların oksidasyonundan üretilen serbest enerjinin bir kısmı kas kasılması, aktif transport, sinir iletimi, biyosentez gibi endergonik reaksiyonlarda kullanılmadan önce özel bir şekilde sokulur. Bu özel şekil serbest enerji taşıyıcısı ATP'dir. ATP'nin biyolojik sistemlerin enerji değişimindeki anahtar rolü ilk defa 1941 yılında Fritz Libmann ve Herman Calcal tarafından ortaya konuldu. ATP

1929 yıllarında Almanya'da Karl Lohmann ve Amerika'da ise Cyrus Fiske ve Yellapragada Subbarow tarafından iskelet kasından ekstrakte edildi. Önceleri ATP'nin yalnızca kas faaliyeti ile ilgili olduğu zannedilirken daha sonraları hayvan, bitki ve mikroorganizma tüm hücrelerinde de bulunduğu anlaşıldı. Sonraki yıllarda ATP'nin kas kontraksiyonundan başka diğer hücresel faaliyetlere de karıştığı tesbit edildi. Fritz Lipmann, 1941 yıllarında ATP'nin bütün hücreler için genel ve hayati bir madde olduğunu ileri sürdü²⁹.

ATP, adenin, riboz ve trifosfat birimi ihtiva eden bir birleşiktir. Şekil 2.1 de ATP, ADP ve AMP'nin yapısı görülmektedir³⁰.



Şekil 2.1. ATP, ADP ve AMP'nin yapısı

ATP'nin hidroliz ürünleri ADP ve AMP dir. Adenin-riboz-fosfat-fosfat grubuna adenosin difosfat (ADP) denilmektedir. Adenin - riboz ve tek fosfat grubuna adenosin monofosfat (AMP) adı verilir²⁸.

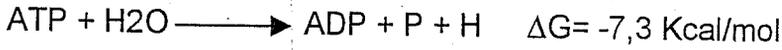
ATP'nin aktif şekli mg^{2+} iyonları ile kompleks teşkil eden yapısıdır. Magnezyum, ATP ve ADP üzerindeki negatif yükleri azaltarak enzimin aktif yerine dönüşümlü bağlanmasını kolaylaştırır. ATP'nin enerji taşıyıcısı olma özelliği trifosfat biriminden gelir. Çünkü molekülün bir kısmında hidrolizlendiği zaman yüksek oranda serbest enerjinin açığa çıktığı iki adet fosfaanhidrit bağı mevcuttur. Yüksek enerjili fosfat bağının varlığını göstermek için Libmann, $\sim(P)$ sembolini önerdi ²⁸.

ATP \longrightarrow Adenozin $-P\sim P\sim P$ iki adet yüksek enerjili bağ grubu içerir.

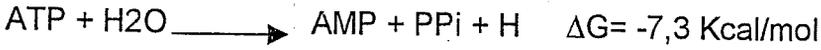
ADP \longrightarrow Adenozin $-P\sim P$ bir adet yüksek enerjili bağ vardır.

AMP \longrightarrow Adenozin $-P$ yüksek enerjili bağı yoktur. Normal ester bulunur.

Bir molekül ATP'nin standart şartlar altında terminal fosfatının hidrolizi sonunda $-7,3$ Kcal/mol; vücut temperaturü ve reaktanların konsantrasyonunda ise -12 Kcal/mol serbest enerji açığa çıkmaktadır ²⁵.

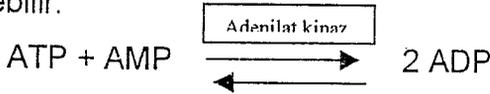


Bazı ATP kullanılan reaksiyonlarda ATP, AMP ve PPi ye parçalanmaktadır. Bu durum uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunda kullanılmaktadır.



Bu iki reaksiyonun $\Delta G = -13,9$ Kcal/mol

Adenilat kinaz (Miyokinaz) enzimi tarafından ATP, ADP ve AMP birbirine çevrilebilir.



Bu reaksiyon ADP içinde ki yüksek enerjili fosfatın ATP sentezinde kullanılmasına olanak sağlar. AMP'nin ADP'ye tekrar fosforilasyonu ile geri kazanılmasını sağlar. ATP tükenirken, konsantrasyonu artan AMP'nin katabolik reaksiyonların hızını artırıcı bir metabolik (allosterik) işaret olarak hareket etmesine izin verir. Bu da daha fazla ATP'nin oluşumuna yol açar. Başka bir deyişle, hücrede AMP konsantrasyonunun artması ATP nin ileri derecede azaldığını gösterir ²⁸.

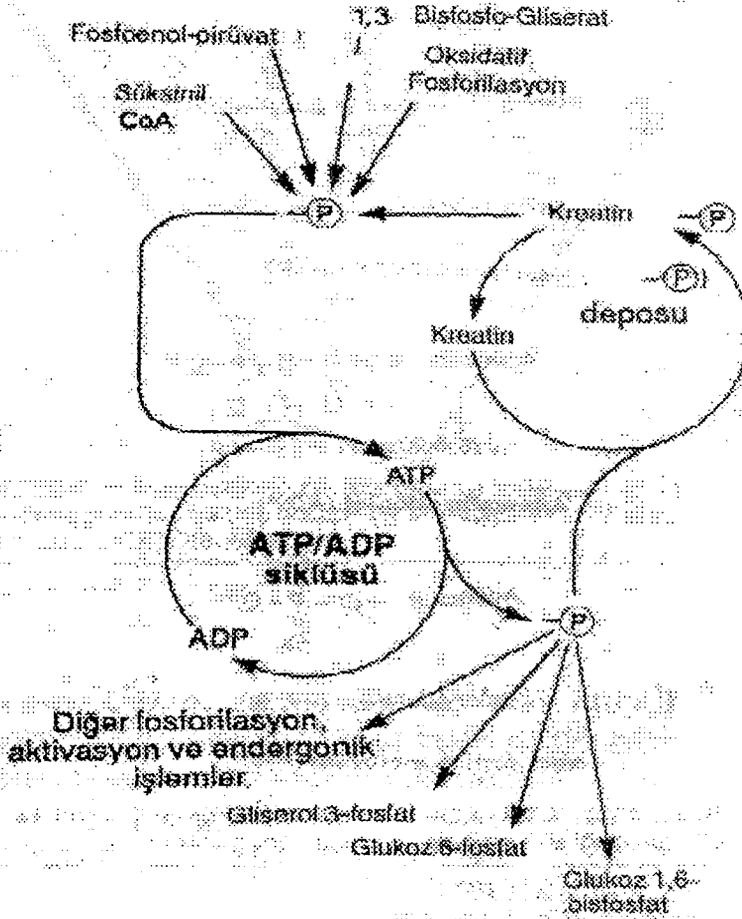
Biyolojik sistemlerde yüksek enerjili fosfat bağı ihtiva eden başka bileşikler de vardır. Enerji yönünden zengin organik fosfat birleşiklerinin standart serbest enerjileri -2 ile -14 Kcal/mol arasında değişmektedir²⁸.

Tablo 2.1. Biyokimyasal bakımdan önemli olan bazı organik fosfatların hidrolizinden açığa çıkan standart serbest enerji

Bileşik	ΔG^0	
	Kj/mol	Kcal/ mol
Fosfoenolpirüvat	-61.9	-14.8
Kalbamoil Fosfat	-51.4	-12.3
1,3 Bisfosfogliserat	-49.3	-11.8
Kreatin Fosfat	-43.1	-10.3
ATP \rightarrow ADP + Pi	-30.5	-7.3
ADP \rightarrow AMP + Pi	-27.6	-6.6
Pirofosfat	-27.6	-6.6
Glikoz-1- fosfat	-20.9	-5.0
Fruktoz-6-fosfat	-15.9	-3.8
AMP	-14.2	-3.4
Glukoz 6-fosfat	-13.8	-3.3
Gliserol 3-fosfat	-9.2	-2.2

Tablo 2.1. de görüldüğü gibi ATP'nin terminal fosfatının hidroliz değeri olan $-7,3$ Kcal/mol listeyi ikiye böler. ATP'de daha yüksek ΔG değerine sahip bileşikler yüksek enerjili fosfatlar olarak isimlendirilir. ATP'den daha düşük ΔG değerine sahip bileşikler ise düşük enerjili fosfatlar olarak adlandırılır. Bilinen en yüksek enerjili fosfat bileşiği fosfoenol pirüvat olup bunun hidrolizi ile elde edilen enerji konsantrasyonu $-14,8$ Kcal/mol dür. ATP'nin bu aracı konumu, enerji transferinde önemli rol oynamasına olanak verir. ATP kendisinden daha düşük enerjili fosfat bileşiklerine karşı yüksek enerjili fosfat vericisi olarak rol oynar.

Kendisinden daha yüksek enerjili fosfat bileşikleri ise ATP'ye yüksek enerjili fosfat verir. ATP/ADP siklusu $\sim(P)$ sağlayan ve onu kullanan işlemler arasında bağlantı sağlar²⁶.



Şekil 2.2. Yüksek enerjili fosfat transferinde ATP/ADP siklusunun rolü

Bu nedenle ATP devamlı olarak kullanılır ve üretilir.

ATP bütün hücrelerin her kompartmanında bulunur. Enerji gerektiren bütün fizyolojik mekanizmalar enerjiyi ATP'den elde ederler. Hücreler tarafından elde edilen enerji, şu endergonik reaksiyonları eşleşeyerek kullanılır²⁹.

- 1- Biyomoleküllerin sentezi
- 2- Kas kontraksiyonu
- 3- Biyomolekülleri ve iyonları membranlardan aktif transport ile geçirmek
- 4- Bezlerin sekresyonu
- 5- Sinir iletimi

Kinetik açıdan dengeli bir bileşik olan ATP, serbest enerjinin gerektiğinde hemen kullanılmasını sağlar. Bu nedenle ATP enerji açısından zengin bir bileşiktir. ATP, biyolojik sistemlerde serbest enerjinin depolanma şekli olarak daha çok ihtiyaç olduğu anda enerjinin acil kaynağı olarak vazife görür. Herhangi bir hücrede ATP, teşekkülünden sonra bir dakika içinde kullanılır. ADP ve ATP arasındaki devir çok hızlıdır. İstirahat halinde bir insan 24 saat içerisinde 40 kg ATP kullanır. Egzersiz halinde ise, dakikada 0,5 kg kadar ATP harcar. Canlılardaki hareket, aktif transport, sinir iletimi ve biyosentez ancak ATP'nin devamlı olarak tekrar ve tekrar üretilmesiyle mümkündür ²⁶.

ATP'nin üç temel kaynağı vardır

1. Glikoliz' de bir molekül glukozdan laktat oluşumu sırasında iki tane ATP sentezlenmektedir. Bunlar fosfogliserat kinaz, pirüvat kinaz tarafından katalizlenen reaksiyonlarda oluşur.

2. Oksitatif fosforilasyon ATP'nin en büyük kaynağıdır.

3. Sitrik Asit Siklusu: Süksinil tiyokinaz basamağında GTP olarak üretilir ²⁸.

2.2. İskelet Kasında Kontraksiyon ve ATP Harcanması

Vücudun yaklaşık %40'ını iskelet kası %10'unu da kalp kası oluşturmaktadır. Kas dokusu potansiyel (kimyasal) enerjii kinetik (mekanik) enerjiye çeviren biyokimyasal bir sistemdir. Omurgalılarda organizmaların spesifik gereksinimlerini karşılayan iskelet kası, kalp kası ve düz kas olmak üzere başlıca üç tür kas bulunur. İskelet kası ve kalp kası mikroskopik gözlemlerde çizgilenmeler göstermekte, düz kasta ise bu çizgilenmeler görülmemektedir. İskelet kası istemli sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Kalp kasının ve düz kasın kontrolü istemsiz olarak gerçekleşir ²⁹.

2.2.1. Kas yapısı

İskelet kası, çapları 10-80 mikron arasında değişen çok sayıda liflerden oluşur (Şekil 2.3). Liflerin her birinde birbirinden daha küçük alt üniteler bulunur. Kas dokusunun temel yapısını oluşturan kas lifleri enine ve boyuna çizgilenmeler gösterir. Lifin bir çok fibrillerden (miyofibril) oluşması, boyuna

çizgilenmelerin, miyofibrilin kimyasal bileşiminin uzunluğu boyunca tekrarlanması ise enine çizgilenmenin ortaya çıkmasına neden olur²⁹.

Kas liflerinin her biri, birkaç yüzden birkaç bine kadar miyofibril içerir. Her miyofibrilde yanyana dizilmiş 1500 miyozin filamenti ile 3000 aktin filamenti bulunur. Bu filamentler kas kasılmasından sorumludur. Kalın filamentler miyozin ince filamentler aktindir. Kısmen birbirinin arasına giren aktin ve miyozin filamentleri miyofibrillerde birbirini izleyen aydınlık ve karanlık bantlar yapar. Aktin filamentlerini içeren aydınlık bantlar polarize ışıkta izotropik görünüm verdiği için I bantları adını alır. Miyozin filamentleri ile birlikte onların arasına giren aktin filamentlerinde uçlarını içeren karanlık bantlara polarize ışıkta anizotropik görünüşleri nedeniyle A bantları adı verilir. Bu bantın orta bölgesi, H bölgesi, H bölgesinin ortasında ise M çizgisi bulunur. Aktin filamentlerin Z disklerine bağlandığı ve bu filamentlerin Z disklerinin her iki tarafında miyozin filamentleri arasında uzandığı görülür. Z diskleri bir miyofibrilden diğerine uzanarak kas lifinin içindeki miyofibrilleri birbirine bağlar. Böylece her bir miyofibrilde olduğu gibi tüm kas lifinde aydınlık ve karanlık bantlar görülür. Bu bantlar iskelet ve kalp kaslarına çizgili görünüm kazandırır. Birbirini izleyen her iki Z diski arasındaki miyofibril bölümüne bir sarkomer denir. Kas lifi istirahatte, tam gerilmiş durumda iken, sarkomer boyu yaklaşık 2.0 mikron uzunluğundadır. Bu uzunlukta aktin filamentleri miyozin filamentlerinin üstünü örterler ve karşılıklı olarak birbirinin üzerine gelirler. Miyofibrillerin yapısını oluşturan kalın ve ince filamentlerin düzenli bir şekilde sıralanması ışık mikroskobunda görülen bantları meydana getirir²⁹.

Sarkolenma kas lifinin hücre membranıdır. Düzgün bir membran yapısında olmayan sarkolenmada bulunan delikler, kas lifine besin maddelerinin taşınmasında pinositoz sistemini oluşturur²⁹. Kas hücresinin stoplazması olan sarkoplazmada gömülü olan miyofibrillerin yanısıra miyogloblin, miyoalbumin, miyojen, triaçilgliserol damlacıkları ve glikojen bulunur²⁹.

İskelet kasında kırmızı lifler ve beyaz lifler olmak üzere iki tür lif bulunmaktadır. Kırmızı liflerde çok miktarda sarkoplazma, çekirdek, mitokondri, miyoglobin, stokrom ve lipid damlacıkları yer alır. Daha uzun süre kasılı olan kırmızı lifler daha kolay tetani'e girmekte ve daha yavaş kasılmaktadır⁸.

Metabolik ve fizyolojik karakteristiklerine göre üç çeşit iskelet kasi bulunur. Hızlı kasılan beyaz kas liflerinin, solunum kapasitesi düşük, glikojenolitik kapasiteleri ve ATP'az aktiviteleri yüksektir. Hızlı kasılan kırmızı kas lifleri yüksek solunum kapasitesi, yüksek glikojenolitik kapasite ve miyozin ATP'az aktivitesi gösterir. Yavaş kasılan kırmızı liflerin yüksek solunum kapasitesi, düşük glikojenolitik kapasitesi ve düşük miyozin ATP'az aktivitesi bulunmaktadır⁸.

2.2.2. Kasın Yapısında Bulunan Proteinler:

Miyozin: Total iskelet kas proteininin %60-%70'ini oluşturur. Bir miyozin filamenti her biri yaklaşık 480.000 mol ağırlığında olan çok sayıda miyozin molekülünden ibarettir. Miyozin molekülü 6 polipeptit zincirinden oluşur. Bunlardan ikisi herbirinin molekül ağırlığı 200.000 olan iki ağır zincir ve molekül ağırlığı 20.000 olan dört hafif zincirden oluşmaktadır. İki ağır zincir birbirine sarılarak bir çift sarmal yaparlar. Bu zincirlerin ucu katlanarak miyozin başı adı verilen iki serbest baştan oluşan globuler protein kütesini oluşturur. Çift sarmalın öteki ucunda da kuyruk bulunur^{8,29}.

Miyozin filamenti yaklaşık 200 miyozin molekülünden oluşur. miyozin moleküllerinin kuyrukları demet halinde toplanarak filamentin gövdesini oluşturur. Bu moleküllerin çok sayıdaki başlarında gövdenin etrafından dışarı doğru asılmıştır. Her miyozin molekülünün sarmal bölümünde başla beraber yana doğru uzanır. Bu dışarıya doğru uzanan kollarla başlara çapraz köprüler adı verilir. Miyozin başının ATP'az aktivitesi, ATP'yi parçalayarak yüksek enerjili fosfat bağlarından açığa çıkan enerjiyi kas kontraksiyonunda kullanma olanağı verir^{29,30}.

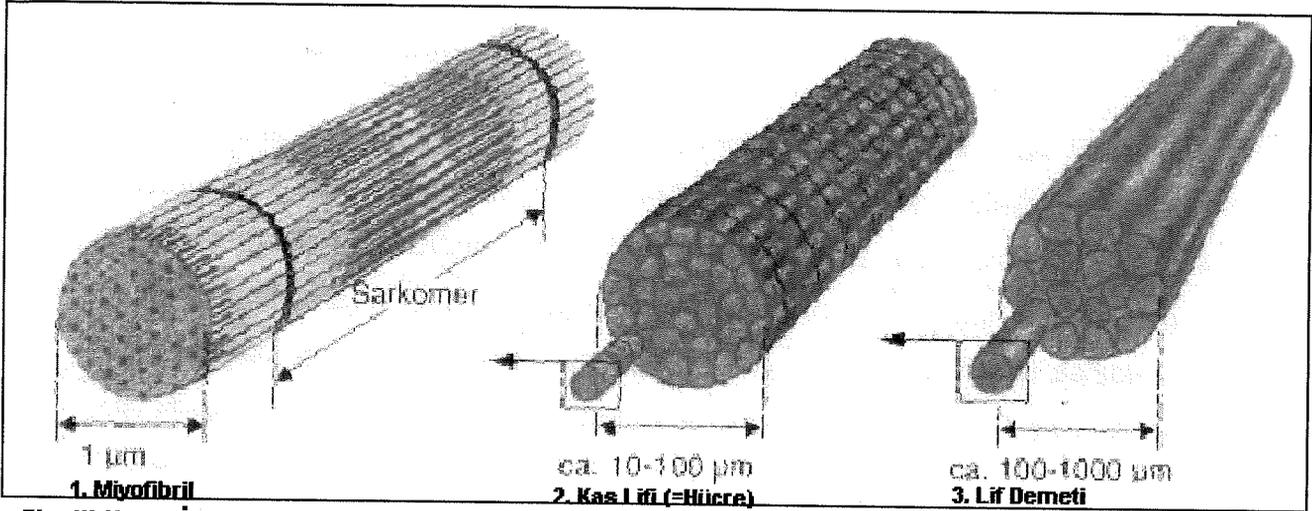
Aktin : Aktin filamentinin temelini F-aktin protein molekülünün bir çift sarmalı oluşturur. Çift sarmaldaki zincirlerin her biri 42.000 mol ağırlığındaki

polarize G aktin moleküllerinden oluşur. Bu sarmal her 70 nm'de tam bir dönüş yapmaktadır. G aktin moleküllerinden her birine bir molekül ADP bağlanır. Bu ADP moleküllerinin aktin filamentinin üzerinde aktif bölgeler oluşturdukları ve miyozin molekülleri üzerinde bulunan çapraz köprülerle etkileşmelerinin kas kontraksiyonunu meydana getirdiği düşünülmektedir. Çift sarmalın 2F aktin zinciri üzerinde ki aktif bölgeleri aktin filamenti boyunca herbiri 2,7 nm'de bir aktif bölge bulunacak şekilde yerleşmiştir^{8,29}.

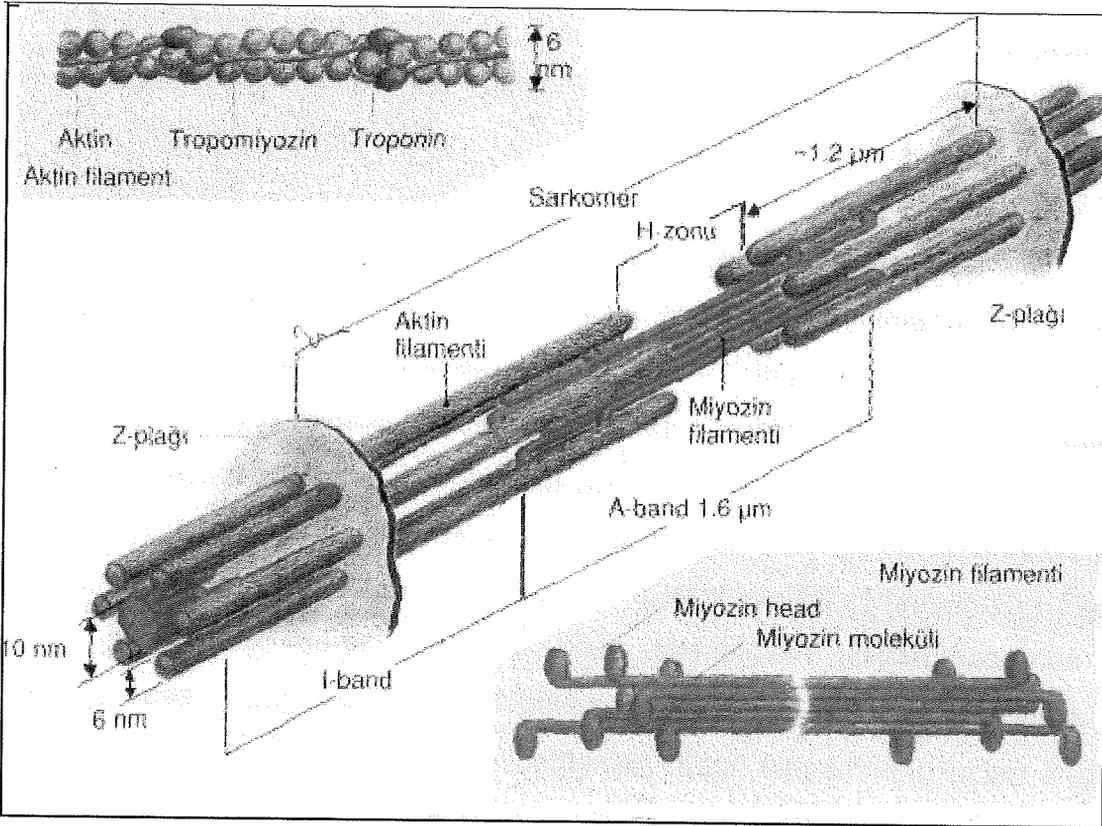
Tropomiyozin : 70.000 mol ağırlığında 40 nm uzunluğunda molekulardır. F-aktin zincirlerine kovalent olmayan bağlarla bağlanmıştır. İstirahat durumunda aktin zincirlerinin aktif bölgelerini kapatarak, aktinle miyozin arasında kontraksiyon meydana getirecek etkileşmeyi önlerler^{8,29}.

Troponin : Diğer proteinlerle birlikte ince filament yapısında yer alan ve molekül ağırlığı 76 kDa olan troponin üç değişik alt birimden oluşmaktadır. Bunlar, troponin I aktine, troponin T tropomiyozine ve troponin C kalsiyum iyonlarına kuvvetli bir ilgi gösterir.⁸

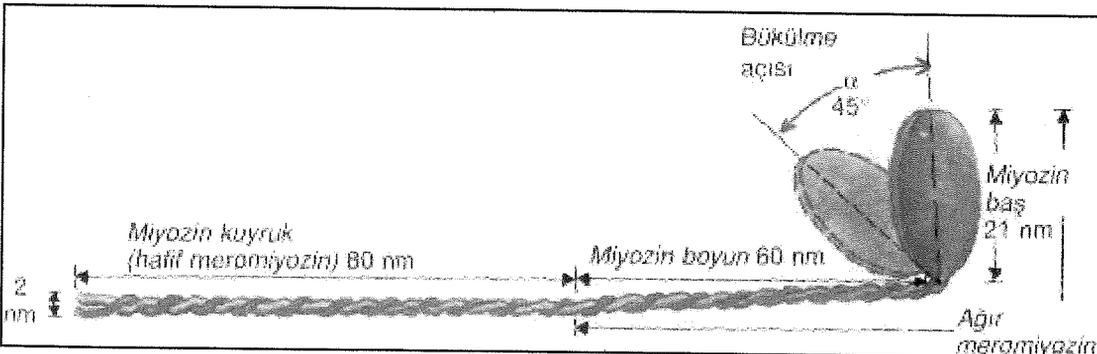
Bir saf aktin, tropomiyozin kompleksi bulunmadığı zaman, magnezyum iyonları ve ATP'nin varlığında kuvvetle miyozin moleküllerine bağlanır. Eğer aktin filamentlerine troponin, tropomiyozin kompleksi katılırsa bu bağlanma olmaz. İlk defa Szent Gyorgy, sentetik aktin miyozini sulu jel halinde hazırladıktan sonra az konsantrasyonda ATP katılmasıyla jelin kasılarak, su içeriğinin azaldığını gösterdi. Normal koşullarda ise aktin ve miyozin filamentlerinin birbirine bağlanması magnezyum ve ATP'ye ihtiyaç gerektirir. Magnezyum ve ATP miyofibrillerde bol konsantrasyonlarda bulunduğu halde filamentlerde troponin-tropomiyozin kompleksi aktin filamentlerinin aktif bölgelerini inhibisyona uğratarak bu birleşmeyi engellemektedir. Bu inhibisyon ortamda 10^{-5} mol/lit'nin üzerinde kalsiyum bulunduğu zaman kalkar. Kalsiyum iyonlarına karşı ilgisi çok fazla olan troponin C ortamda 10^{-5} mol/lit kalsiyum bulununca, kalsiyum iyonlarıyla hemen birleşerek aktin molekülünde bir biçim değişmesi meydana getirir. Bu değişme ile tropomiyozin sarmalı aktin sarmal içine gömülür ve aktin aktif bölgeleri açığa çıkar. Miyozin filamentlerinin baş bölümlerinin aktin filamentlerinin aktif bölgelerine bağlanması sonucu kontraksiyon başlanmaktadır³¹.



Çizgili Kasın İnce Yapısı



Sarkomerin Yapısı



Miyozin Molekülü

Şekil 2.3. Çizgili kasın ince yapısı, sarkomerin yapısı ve miyozin molekülü

2.2.3. Kas Kasılması

İskelet kasının motor üniteleri normalde motor nöronları aracılığıyla uyarılır. Nöronal aksiyon potansiyelleri, motor son plakta asetilkolin serbestleşerek, elektrotonik olarak sınırlı bir yayılma alanı olan bir son plak akımı oluşturur. Eğer eşik aşılsa bir aksiyon potansiyeli oluşur ve sarkolemma boyunca tüm miyofibrille (kas hücrelerine) yayılır. Bir çok bölgede sarkolemma kas lifi içinde dikey olarak derin invajinasyonlar gösterir. Bunlar T sistemi olarak bilinen transvers tübülleri oluşturur³¹.

Kas hücrelerinin endoplazmik retikulumu olan sarkoplazmik retikulum miyofibrillere paralel olarak uzanan ve ekstrasellüler sıvı ya da sarkoplazmayla bağlantısı olmayan kör uçlar şeklinde organize olmuştur. Bu yapılarla longitudinal sistem denir. Longitudinal sistem Ca^{2+} iyonları için bir depo oluşturur³¹.

Aksiyon potansiyeli ekstrasellüler boşluğun bir parçası olan T sistemi boyunca hızla yayılır. Böylece kas lifinin en ortadaki bölgelerine bile hızla ulaşır. İntrasellüler Ca^{2+} konsantrasyonunun dinlenme değeri olan $0.01 \mu\text{mol/l}$ 'den $1-10 \mu\text{mol/l}$ 'ye yükselmesi kas kontraksiyonunu başlatan bir dizi olayı tetikler, bu olaya elektromekanik eşleşme adı verilir³¹.

Sarkomerin aktin ve miyozin filamentleri, biri diğeri üzerinden kayarak kasın boyunu kısaltabilecek biçimde düzenlenmiştir. Buna kayan filamentler mekanizması denir. İnce ve kalın filamentlerin birbiri üzerinde kayma derecesine bağlı olarak iki Z tabakası birbirine yaklaşır. I ve H bölgeleri kısalır. Ancak herbir filamentin boyu değişmez. Kalın filamentlerin uçları Z çizgisine değdiği zaman maksimum kontraksiyon gerçekleşir. Bu aşamada ince filamentlerin uçları sarkomerin merkezinde üstüste gelmiş durumdadır. Filamentlerin birbiri üzerinde kayabilmesi için (kasın kasılması için) ATP kullanımı gereklidir. Miyozin başları ATP'yi yakan ATP az aktivitesine sahiptir. Kalsiyum troponin etkileşiminden sonra miyozin başları belli bir açıyla ince filamentlere bağlanır. Miyozinin yapısındaki bir değişiklikten sonra baş ince filamentleri de kendisiyle birlikte sürükleyerek farklı bir açı yapar. Miyozin filamentinin iki ucu arasında zıt yönde gerçekleşen bu çekme Z çizgilerinin her

iki yanında da aktin ve miyozinin örtüştükleri bölgelerin artmasına neden olur. Böylece miyozin demetin her iki tarafında da sarkomerin boyu kısalır ³¹.

Tek bir kayma döngüsü sarkomerin boyunu 2x8 nanometre kadar kısaltır. Bu, 2 mikrometre boyundaki sarkomerin yaklaşık %1'i dir. Birbiri ucuna eklenmiş sarkomerlerden oluşan 20 cm'lik tüm bir kas lifinin de %1 oranında kısalacağı anlamına gelir. Bir kasın %50 oranında kısalabilmesi için kayma döngüsünün defalarca tekrarlanması gerekir. Bu döngüde miyozin başları bağlanır, bükülür, kayar, ayrılır, başların açısı eski biçimini alır, aktin filamentindeki yeni bir bölgeye bağlanır ve döngü böylece devam eder ³¹.

Sinir uyarımının durması sarkolemma ve transver tubulusun eski polarize durumuna geçmesi ile kas gevşemektedir. Bu sırada sodyum hücre dışına çıkmakta, potasyum hücre içine girmektedir. Taşınma için gerekli enerji $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATP}^{\text{az}}$ tarafından sağlanmaktadır. Sarkoplazmik retikulumun kalsiyum geçirgenliğinin azalmasına bağlı olarak, kalsiyum sarkoplazmadan hızla sarkoplazmik retikuluma ATP'ye bağımlı kalsiyum pompası ile geri çekilmekte ve troponin C eski haline dönmektedir ⁸.

2.2.4. Kas Kasılmasında Moleküller Olaylar

Kasın kasılabilmesi için aktin ve miyozinin yanısıra Ca^{+2} , Mg^{+2} , ATP ve ATP' az gereklidir . Kalsiyum, sarkoplazmik retikulumun longitudinal tubullerinde yüksek konsantrasyonda depolanır. Gelen aksiyon potansiyeli, T sistemi aracılığıyla kas lifine dağılır ve longitudinal tubulusların geçici bir süre için Ca^{+2} 'a geçirgen hale gelmesine neden olur. Sonuç olarak kas hücresi içindeki Ca^{+2} konsantrasyonu 1000 kat artar. Bu kalsiyum, troponine bağlanır ve tropomiyozinin aktin-miyozin kompleksi oluşmasını engelleyen etkisini ortadan kaldırır. Serbestleyen kalsiyum iyonları, hızla longitudinal tubuluslara geri pompalanır. Bu iş sırasında iki Ca^{+2} iyonunun taşınması için bir molekül ATP harcanır ²⁹.

Miyozin molekülündeki iki baştan her biri bir ATP bağlar. Miyozinin ATP ile kompleks oluşturmuş biçiminde, başları boyunla 90 derecelik açı yaparlar. Yüksek intraseitüler kalsiyum konsantrasyonunda miyozin başları aktine bağlanır. Aktin miyozin kompleks oluşturmuş durumdaki ATP, ADP ve inorganik

fosfata ayrıştırılır. Bu işlem için 3 milimol/l Mg^{+2} iyonu gerekir. Sonuçta aktin-miyozin-ADP-Pi kompleksi oluşur³¹.

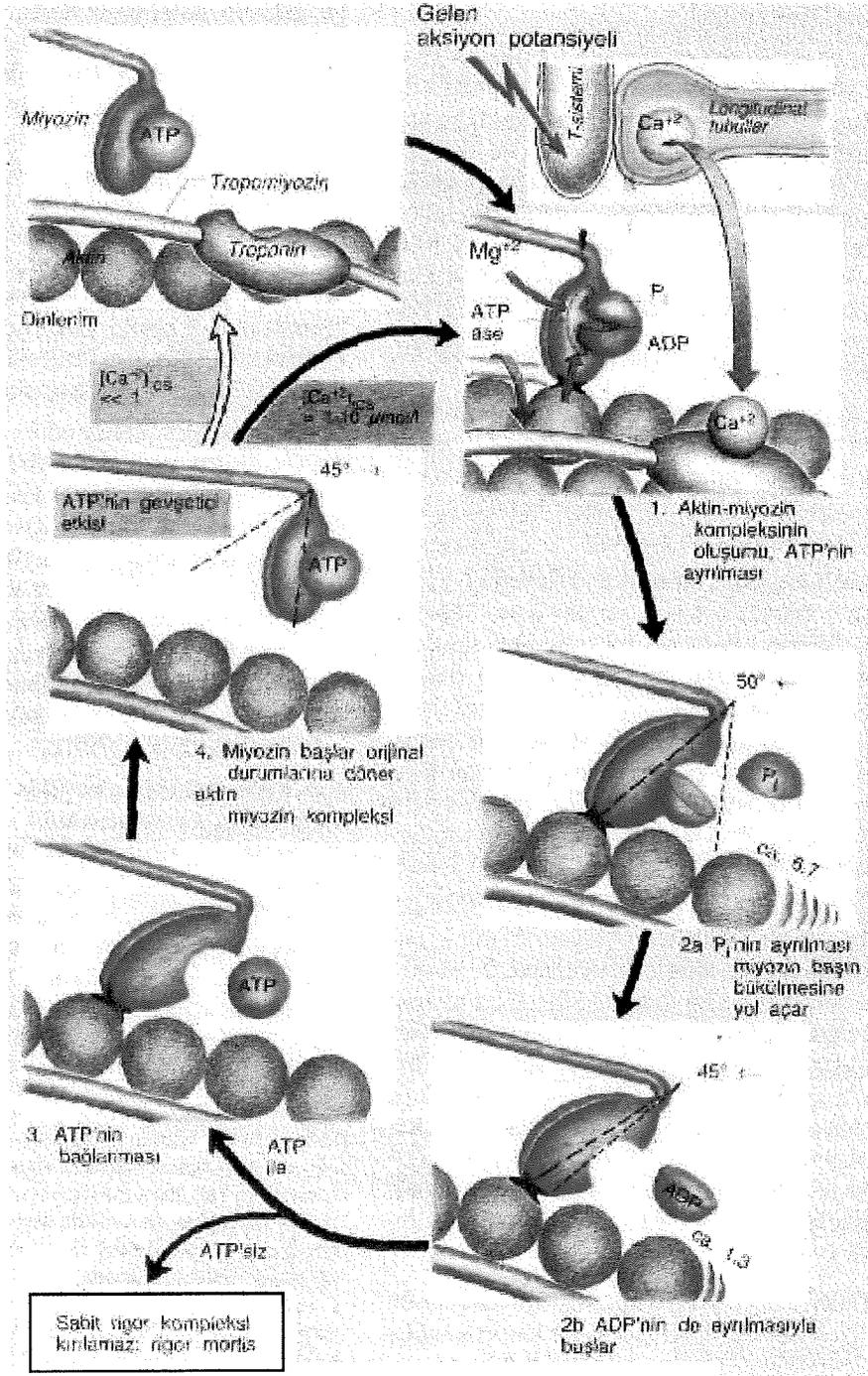
Pi bu kompleksden ayrıldığı zaman, miyozin başın boyunla yaptığı açı 90 dereceden 50 dereceye düşer. Böylece aktin ve miyozin filamentleri birbiri üzerinde kayar. Miyozin başdan ADP'nin de ayrılmasıyla, miyozin başları boyunla 45 derece açı yapmış durumdayken, kaydırma işlemi sonlanır. Bu şekliyle aktin miyozin kompleksi, yeni bir ATP, miyozin başa bağlanıncaya kadar değişmeden kalır (rigor kompleksi). Buna ATP'nin gevşetici ya da yumuşatıcı etkisi denir³¹.

Dinlenme durumunda kasın uzayabilmesi, (aktin ve miyozin lifleri geriye doğru serbestçe kayabilir) kalbin pasif diyastolik dolumu ya da hareketler sırasında önemlidir. Çünkü bir taraftaki kas grubunun kasılması sırasında karşı taraftaki (antagonist) kas grubunun eş zamanlı olarak uzaması gerekir. Ölü bir organizmada ATP oluşmaz. Kalsiyum longitudinal tubuluslara geri pompalanamaz, aktin miyozin kompleksi birbirinden ayıramaz. Bu, rigor mortisin nedenini açıklar. Aktin ve miyozin molekülleri yıkılıncaya kadar rigor mortis devam eder.

Ortamda ATP varsa, miyozin başları, aktinden ayrılarak 90 derecelik açı durumuna geri döner. Eğer gelen aksiyon potansiyelinin frekansına bağlı olarak intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu yeterince yüksekse döngü bir kez daha yinelenir. Bir kasın tam olarak kısalabilmesi için bu döngünün yaklaşık 50 kez yinelenmesi gerekir. Bu döngü, tüm miyozin başlarında eş zamanlı olarak gerçekleşmez. Eğer böyle olsaydı kas kasılması kesintili bir biçimde gerçekleşirdi. Kasılmanın herhangi bir anında miyozin başların yalnızca bir bölümü bükülü durumdadır. Fakat toplam miyozin baş sayısı sabittir, böylece düzgün, kesintisiz kas kasılması sağlanmış olur. Intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu kabaca 1 mikromol/l'nin altına düştüğü zaman kayma döngüsü durur.

2.2.5. Kas Kasılması İçin Enerji Kaynağı

ATP hidroliz edilerek kas kasılması için gerekli enerji sağlanır. Bu enerjinin büyük kısmı çapraz köprülerin aktin filamentlerini çekmesini sağlayan yürüme olayını gerçekleştirmek için gerekir. Ayrıca az miktarda enerjide

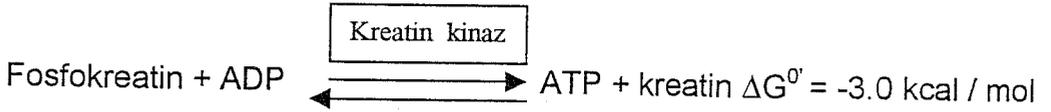


Şekil 2.4. Aktin ve miyozin filamentlerinin kaymasında yer alan moleküler mekanizmalar

kalsiyumu sarkoplazmadan sarkoplazmik redikuluma pompalamak ve sodyum, potasyum iyonlarını kas lifi membranından pompalıyarak aksiyon potansiyelinin yayılması ve uygun iyon ortamını sürdürmek için tüketilir²⁹.

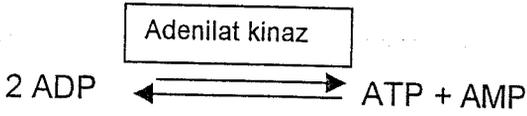
Kas lifinde bulunan ATP konsantrasyonu yaklaşık 5 μ M/g olduğundan tam bir kontraksiyonu en çok yarım saniye devam ettirmeye yeterlidir. Bundan dolayı kas kasılması için gerekli ATP çeşitli kaynaklardan sağlanır^{29,31}.

ATP'nin tekrar yapımı için kullanılan birinci enerji kaynağı ATP'ye benzer yüksek enerjili fosfatları taşıyan fosfokreatindir. Fosfokreatin kas kasılması için yedek enerji deposu olarak kullanılır. Enerji yönünden zengin metabolik olan fosfokreatin, guanidino fosfat grubunun fosforil transfer potansiyeli -10,3 kcal/mol kadardır. ATP'nin fosforil gurubunun transfer potansiyeli ise -7,3 kcal/mol olarak saptanmıştır. Bu nedenle fosfokreatinden ADP yapısına fosforil gurubunun aktarılması termodinamik yönden desteklenmektedir³².



Bununla beraber fosfokreatinin total konsantrasyonu da çok küçüktür ve ATP'nin ancak 5 katı kadardır. Bu nedenle ATP ve fosfokreatinde depo edilen total enerji maksimal kas kontraksiyonunu bir kaç saniyeden daha fazla sürdürmeye yetmez³⁰. Bir kilogram kas kütlesi içinde yaklaşık 5 mmol ve 15 mmol kreatin fosfat depolanır. 70 kg ağırlığında, 30 kg'lık kas kütlesine sahip bir insanda depolanan yüksek enerjili fosfat konsantrasyonu 570-690 mmol arasındadır. Egzersiz sırasında 20 kg'lık bir kas kütlesinin aktive olduğu varsayılırsa depolanan fosfat konsantrasyonunun 20-30 saniyelik kros koşusu veya 6 saniyelik supramaksimal bir egzersiz için yeterli olduğu görülür. ATP ve fosfokreatin yüksek şiddette bir egzersizde ancak 6 saniye süreyle enerji sağlayabilir³³.

Adenilat kinazın katalizlediği bir diğer tepkime, kas kontraksiyonu esnasında ATP üretiminde kullanılır. Adenilat kinaz enzimi 2 ADP molekülünden 1 ATP ve 1 AMP nin oluşumunu katalize eder. Bu reaksiyon kas kontraksiyonu esnasında miyozin ATP' az tarafından ATP nin hidrolizi ile eşleşir³².



ATP'yi tekrar oluşturmak için kullanılan diğer enerji kaynağı karbonhidratlar, yağlar ve proteinlerden serbestleşen enerjidir³¹.

Kandan veya kasın kendi glikojen kaynağının yıkımından sağlanan glukoz hızlı kas kasılması döneminde temel enerji kaynağıdır. İskelet kasının sarkoplazması, I bantlarına yakın granüllerde büyük glikojen depoları içerir. Glikojen yıkımından elde edilen glukoz - 6 - fosfat glikolize dahil edilir. Glikolizin önemi oksitatif mekanizmaya göre 2.5 kat daha hızlı çalışmasıdır. Glikolitik mekanizma, kas hücrelerinde hızla glikolitik metabolizma artıkları oluşturduğu için kas kontraksiyonunu ancak bir kaç dakika kadar sürdürür. Kas kasılması sırasında oluşan laktik asit ve alanin kaslardan karaciğere gönderilerek glukoneogenez yoluyla glukozla döndürülür²⁹.

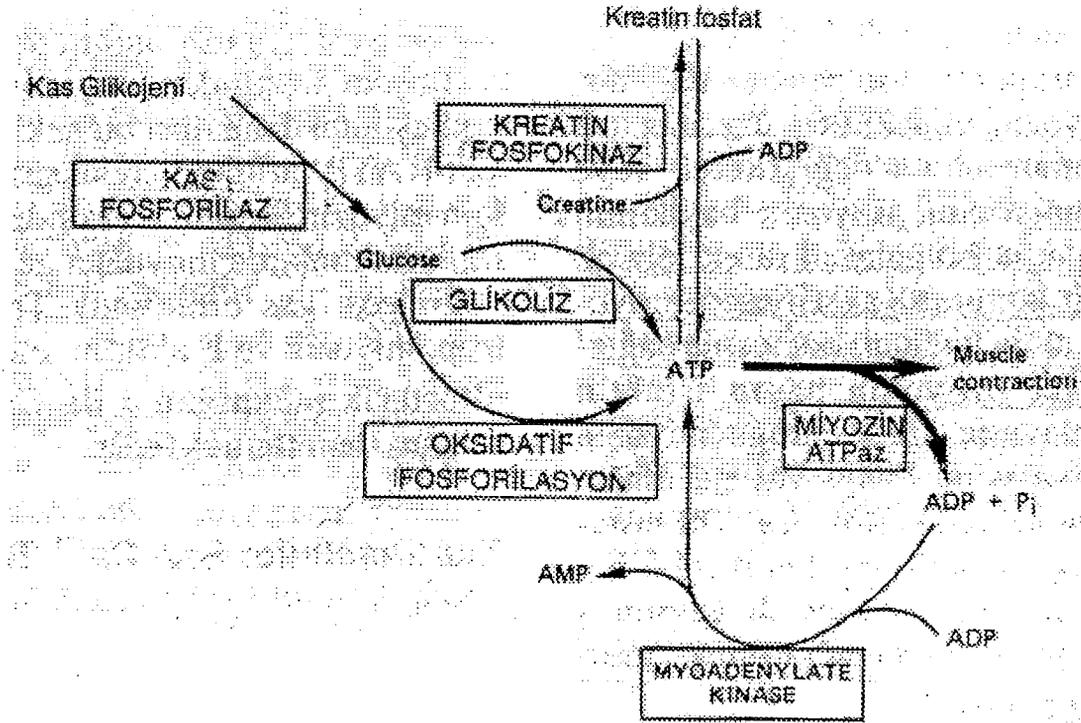
Kas kasılması için gerekli olan enerjinin %95'i ise besin maddelerinin karbondioksit ve H₂O'ya kadar tam oksidasyonu sonucu ortaya çıkan enerjiden elde edilmektedir. Bir mol glukozun anerobik yolla yıkılması sonucu 2 mol ATP elde edilmesine karşın aerobik yolla CO₂ ve H₂O'ya kadar yıkılması sonucu 38 ATP sentez edilir⁸.

İskelet kası aynı zamanda kandan serbest yağ asitleri alarak CO₂ ve H₂O'ya kadar oksitler. Serbest yağ asitleri istirahat halinde kasılmadan sonraki iyileşme sırasında başta gelen enerji kaynağıdır. 1 mol serbest yağ asitinin oksitlenmesi sırasında oluşan ATP miktarı serbest yağ asitinin molekülünün büyüklüğü ile değişir⁸.

Yemek sonrasında olduğu gibi kan glukoz düzeyinin yüksek olduğu durumlarda glukoz; kas ve kalp dokusu tarafından tüketilir. İstirahat halindeki kasta glikolitik yol ve krebs döngüsünün kapasitelerinin % 5-10 kadarı kullanılır. Genelde glikolizin laktat ile sonlanmadığı durumlarda istirahat halindeki kasta çok az laktat kana verilir. Glikoliz ürünleri krebs döngüsüne girerek tam olarak oksitlenir. Fosfofrukto kinaz, pirüvat kinaz, gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz enzimlerinin aktive olduğu anoksik koşullarda kas hücresine glukoz alınımı ve iskelet kasında laktat oluşumu artar. Bu 3 enzimi inhibe eden ATP ve

fosfokreatin, anoksik kasta düşük düzeylerde bulunur. Kan glukoz düzeyi arttığında serbest hale geçen insülin, glukozun kas dokusuna girmesini sağlar. Kan glukoz düzeyinin azalmasına bağlı olarak yavaşlayan insülin salgılanması daha az glukozun kas dokusuna girmesine yol açar. Bu durumda yağ asitleri ve keton cisimleri karaciğerden kas dokusuna taşınarak kas dokusunda yakıt olarak kullanılır⁸.

Yemekten sonra iskelet kasının metabolik yakıtı glukozdur. Açlığın ilk dönemlerinde iskelet kasında adipoz dokudan mobilize olan yağ asitleri metabolik yakıt olarak tüketilir. İstirahat ve kasılma sırasında iskelet kasının enerji gereksiniminin % 50-60 kadarının yağ asitleri tarafından karşılandığı düşünülmektedir⁸.



Şekil 2.5. Kasta ATP'nin değişik kaynakları

Açlığın daha ileri dönemlerinde, iskelet kası metabolik yakıt olarak karaciğer tarafından sentezlenen asetoasetat ve β hidroksibütirat gibi keton cisimlerini kullanılır. Anoksi durumunda kas, yağ asitlerini veya keton cisimlerini enerji kaynağı olarak kullanamaz. Açlık sırasında özellikle iskelet ve kalp

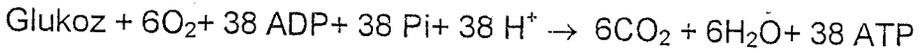
kasında enerji elde etmek üzere izolösin, lösin, valin dallı zincirli amino asitleri yıkar. Yağ asitleri ve adrenalin, iskelet kası tarafından dallı zincirli amino asitlerin yıkımını uyarır⁸.

Yavaş iskelet kasında ATP kaynağı oksidatif fosforasyondur. Hızlı iskelet kasında ise glikolizdir. İskelet kası sarkoplazması büyük miktarda glikojen depoları taşır. Anokside ve tetani esnasında kastaki glikojen kullanılır. Bu glikojenden glukoz oluşumu kas glikojen fosforilaz enzimine ihtiyaç duyar. Bu da kalsiyumu gerektirir. Böylece hem kas kontraksiyonu hem de ATP üretimi sağlanır⁸.

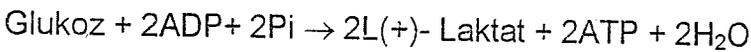
2.3. Laktik Asit

Süt asiti veya 2-hidroksipropanoyik asit olarak bilinen laktik asit karboksilli asitler sınıfından organik bir bileşiktir. İlk kez 1780'de İsveçli kimyacı Carl Wilhelm Scheele tarafından elde edildi³⁴. Laktik asit yoğun egzersizin bir ürünü olarak ilk kez 1841'de tanımlandı. Bir çok hastalıkta olduğu gibi sağlam şahıslarda da egzersiz esnasında belirli bir metabolik yüke ulaşıldığı zaman, kasılan kaslarda laktik asitin toplanmaya başladığı görüldü. Laktik asit kolayca diffüze olabilen bir madde olmamasına rağmen kandaki konsantrasyonu vücudun total laktat muhtevası hakkında bilgi verir³⁵.

Laktik asit anaerobik metabolizma esnasında glukozun glikolitik yoldan parçalanması sonucu meydana gelir. Aerobik organizmalarda glikoliz, glukozun tümü ile karbondioksit ve suya yıkılmasında ilk aşamayı oluşturur. Glukozun oksijenli metabolizmaya girebilmesi için önce glikoliz ile pirüvata çevrilmesi gerekir. İkinci aşamada pirüvattan oluşan asetil KoA, sitrik asit döngüsünde, karbondioksit ve suya oksitlenir. Bu yolla 1 mol glukozdan 38 mol ATP üretilir²⁸

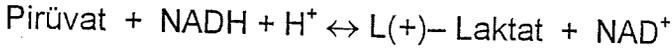


Glikolizde ise 2 ATP lik net enerji kazanımı olur.



Glukoz standart koşullarda karbondioksit ve suya kadar parçalandığında 678,78 Kcal/mol enerji oluşur. 2 ATP'nin hidroliz enerjisi 14,58 Kcal/mol olduğunda glukozun sahip olduğu enerjinin büyük bir kısmı laktat yapısında veya oksijenli koşullarda oluşan piruvatta saklı kalır. Oksijenli koşullarda glikoliz

pirüvat oluşumu ile sonlanır. Oksijensiz koşullarda ise pirüvat laktat dehidrogenaz ile laktik aside indirgenir. Bu tepkimede gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz aşamasında indirgenen NADH tekrar kullanılmak üzere oksitlenir. Bu suretle oksijenin bulunmadığı durumda glikolizin devamına olanak sağlanır²⁸.



Glikoliz oksijen eksikliğinde ATP sağlama yeteneğine sahiptir. Aerobik oksidasyonun yetersiz olduğu durumlarda iskelet kasının yüksek düzeylerde çalışabilmesi ve yine anoksik koşullarda önemli glikolitik yeteneğe sahip dokuların hayatta kalabilmelerine olanak verir ⁸. Son ürün olarak laktatın oluştuğu glikoliz diğer bütün dokular tarafından da kullanılır. Eritrositlerde mitokondri bulunmadığı için pirüvat karbondioksit ve suya çevrilemez. Sınırlı kan dolaşimleri olan ve mitokondrileri bulunmayan kornea, lens ve retina glikolizi ATP üretimi için kullanırlar. Böbrek medullası, testis, lökositler ve beyaz kas lifleri çok az mitokondri taşıdıkları için ATP kaynağı olarak glikolize bağlıdır. İskelet Kası ve eritrositlerin yanı sıra beyin, gasrointestinal sistem böbrek medullası, retina ve deriyi kapsayan diğer dokular normal olarak enerjilerinin çoğunu glikolizden sağlar ve laktat meydana getirir. Bunun aksine aerobik işleyişe göre çalışan kalp kası oldukça zayıf glikolitik yeteneğe sahip ve iskemi koşullarına dayanma gücü de zayıftır ^{8,28}.

Yoğun egzersizin başlangıcında solunum-dolaşım sisteminin kasların oksijen ihtiyacını karşılamadığı safhada kanda laktik asit artar. Egzersizin şiddetine bağlı olarak kanda ve kasda laktik asit artışı görülür. Normal şartlarda 100 ml kanda laktik asit düzeyi 5-10 mg (0.5-1.1 mmol/l) arasında değişir. Kan laktik asit düzeyi anaerobik metabolizmanın göstergesidir. Oksijenin yetersiz kaldığı kısa süreli maksimal şiddette ki egzersizlerde egzersizi mükakiben 5. dakikada kan laktik asit seviyesi 200 mg'a (22 mmol/l) kadar yükselebilir. Egzersizin başında organizmanın aldığı oksijen miktarı ihtiyacın altındadır. Laktik asidin yüksek seviyelere ulaşması kişide metabolik asidoz meydana getirebilir ³⁶.

Egzersizde, kan laktik asit düzeyi hangi enerji sisteminin kullanıldığını gösteren önemli bir göstergedir. Laktik asit düzeyi düşük ise sistem aerobik, yüksek ise anaerobik olarak kabul edilir ³⁷. İki dakikadan az süreli, yoğun

egzersizler için enerji ihtiyacı anaerobik enerji üretimine, çok uzun süreli egzersizler de enerji ihtiyacının %99 dan fazlası aerobik reaksiyonlara bağlıdır. Yürüme gibi daha uzun bir zaman periyodunda yapılan faaliyetler de, enerji üretimi için oksijen kullandığında aerobik yolla enerji üretilir. Basketbol, futbol, tenis ve kısa mesafe koşuları gibi faaliyetlerde ise anaerobik yolla enerji üretimi önemli yer tutar. İzometrik kasılma esnasında kas anoksik olduğu durumlarda laktat üretiminin ATP oluşumuna katkısı % 60 olarak hesaplandı ³⁸.

Kan laktik asit düzeyinin artmaya başladığı noktaya anaerobik eşik veya laktat eşiği adı verilir. Kasın bir bölümünün yeterli oksijen alamaması durumunda enerji ihtiyacının bir bölümü anerobik yoldan karşılanırken laktat üretilmektedir. Laktat birikimi egzersizin şiddeti arttıkça artar. Laktat doku komponentleri arasında sürekli bir şekilde değişim içindedir. Düşük moleküler ağırlıklı olan laktat taşınmak için insüline ihtiyaç göstermez ve kolaylaştırılmış transportla hücre zarından geçer³⁹.

Yaklaşık 40 saniye süren şiddetli egzersizlerde (200–400 m koşu v.b.) için; enerji önce ATP-fosfokreatin sisteminden daha sonra ise laktik asit sisteminden karşılanır. Kas hücrelerinde karaciğerde depolanmış olan glikojen parçalanır. Anaerobik glikoizle laktat oluşur. Laktik asit sisteminin kullanımı 40-60 saniye süreyi geçmez. Yüksek orandaki şiddetli egzersizlere devam edildiği takdirde kasta ve kanda laktat birikimi artar, bu durum önce yorgunluk daha sonra egzersizin sona erdirilmesine neden olur ³⁹.

Anaerobik kapasite anaerobik enerjinin daha çok laktat komponenti ile ilgilidir. 5-10 saniyeden fazla süren özellikle 3 dakikaya kadar yapılan sporlarda maksimal yüklenmelerde laktat komponentinin devreye girmesi ile enerji üretilir ve kanda laktat yükselmeye başlar. Egzersizin 3. dakikasından sonra aerobik güç kullanılmaya başlanır. Uzaltılmış egzersizlerde enerji ihtiyacının %99'undan fazlası aerobik reaksiyonlara bağlıdır ⁴⁰. Fox ve arkadaşları çeşitli spor dallarına ait geliştirdikleri enerji tablosuna göre güreşçilerin % 90 ATP- fosfokreatin + laktik asit sistemi ve %10' u aerobik sistem yoluyla enerji üretimi sağladıklarını ifade ettiler⁴¹.

Egzersiz endojen yakıtları büyük miktarda harekete geçirir. Egzersiz yapan kas tarafından kullanılan 3 ayrı enerji kaynağı vardır. Bunlar plazma

glukozu, yağ asitleri ve kasın endojen glikojenidir. Egzersizin erken safhasında (5-10 dakikaya kadar) sarfedilen başlıca enerji kaynağı kas glikojenidir. Sonra yaklaşık 30 dakikada ise, artmış kan akımı ile kasa getirilen, plazma glukozu ve yağ asitleri daha fazla kullanılır. Daha sonra ise glukozun kullanımı azalır ve yağ asitlerinin rolü artar ⁴².

Anaerobik kapasite anerobik yolla yapılan egzersizler esnasında maksimal enerji üretebilme yeteneği olarak tanımlanır. Yoğun şiddetli aktivitelerden sonra ATP kaynaklarının azalması istirahat seviyesinin ancak %40'ı kadardır. Fosfokreatin kaynakları ise tamamen tüketilir. Bu nedenle fosfokreatin miktarı kısa süreli ağır egzersizleri sınırlayan bir faktördür. ATP-fosfokreatin yüksek şiddetteki bir egzersize ancak 6 saniye süre ile enerji sağlayabilir ⁴⁰.

2.4. Rigor Mortis

Ölü katılığı (rigor mortis) ölümden sonra ortaya çıkan istemli ve istemsiz kasların tümünde gözlenen sertleşme olarak tanımlanır ¹⁻⁵. Rigor mortis normal şartlarda 3-6 saatte tüm kaslarda başlar, 6-12 saatte en yüksek düzeye ulaşır. Rigor mortisin tespitinde en yaygın olarak kullanılan metod kaslara fleksiyon ve ekstansiyon yaptırmaktır. Bunu uygulamak ölüm katılığında zordur. Ölüm ile birlikte sinir inervasyonunun ortadan kalkması sonucu kaslarda bir gevşeme olur; bu döneme primer gevşeme denir. Ortalama 3-4 saat kadar süren bu dönemi takiben ölü katılığı başlar. Kaslar kokuşmanın başlamasıyla tekrar gevşer; bu döneme sekonder gevşeme denir. Kasların otolize olmaya başlaması ile 18-36 saat içinde rigor mortis kaybolur. Burada verilen süreler ortalama sürelerdir. Bunları etkileyecek birçok faktör vardır ^{7,24}.

Szent-Gyorgi kastaki ana kasılma maddelerinin aktin ve miyozin proteinlerinin olduğunu saptadı ⁶. Kasılma için gerekli enerji ATP'den sağlanır ²⁹. Erdös tarafından ilk kez ATP kaybının ölüm katılığına sebep olduğu bulundu. Bu bulgu birçok araştırmacı tarafından da teyid edildi ⁹⁻¹². Ölüm katılığı şu şekilde açıklanmaktadır: Ölüm sonrası hipoksi sonucu, mitokondride meydana gelen oksidatif fosforilasyonla ATP sentezi aksar. ATP sadece anaerobik glikolizle glukoz ve glikojenden sentez edilir. Anaerobik glikolizin son ürünü olan laktik

asit birikir. Canlı dokuda ATP'nin yıkımı ve sentezi arasında dinamik bir denge vardır. Ölüm sonrası bu denge bozular. ATP'nin tüketimi üretiminden fazladır, sonuçta ATP konsantrasyonu azalır. ATP miktarı sınır seviyeye düştüğünde aktin miyozin filamentleri geri dönüşümsüz olarak birleşir ve ölü katılığı oluşur^{2,3,13}. Rigor mortis ATP konsantrasyonunun normalin %85'ine düştüğünde başlar; %15 olduğunda maksimum düzeye ulaşır^{14,15}.

Forster ayrıntılı deneyler yaptı; ölü katılığını plastik, elastik ve kontraktıl deformasyonun sonucu olarak tanımladı^{17,43-44}.

Ölü katılığının ortaya çıkış hızı ve süresi çok değişken olabilir. Yarım saat gibi çok kısa bir sürede başlayabilmekte veya çok geç bir sürede ortaya çıkabilmektedir. Genel bir kural olarak, ölü katılığının başlama süresi ne kadar azsa, katılık o kadar da kısa devam eder⁴⁵.

Ölü katılığının ortaya çıkış süresini, şiddetini ve çözülmesini etkileyen iki ana faktör vardır.

1. Bir çevre sıcaklığı: Sıcaklık arttıkça, ölüm katılığının ortaya çıkışı hızlanır ve çözünme süresi kısalır. Sıcaklık azaldıkça bu süreler de uzar. Donma durumuna yakın şartlarda rigor mortisin oluşumu ertelenir ve 10°C altında ise ölü katılığı genellikle geç gelişir. Bu olay donmuş cesetlerde belirgin olarak gözlenir. Sıcak hava ve tiropikal ortamlarda ise rigor mortis bir saat veya daha kısa sürede oluşur ve kısa bir süre sonra çürümeyle birlikte çözülür^{7,24}. Krompecher rigor mortisin gelişimine değişik sıcaklıkların etkisini inceledi ve şu sonuçları buldu: 1. 0 °C' de rigor mortisin tam gelişimi ölüm sonrası 48-60 saatte oldu çözülme ise 168 saatte meydana geldi. 2. 24 °C' de ise ölüm sonrası 5. saatte en yüksek dereceye ulaştı ve 16. saatte çözüldü. 3. 37 °C' de ise rigor mortis 3 saatte en yüksek dereceye ulaştı, ölüm sonrası 16. saatte çözüldü. 4. Rigor mortisin şiddeti sıcaklıkla artmaktadır²⁹.

2. Ölümünden Önceki Fizik Aktivite: Fiziksel egzersiz veya yorgunluk sırasında ya da sonrasında ölen kişilerde ölü katılığı daha çabuk gelişir ve çözülmesi kısa sürer. Bunun sebebi, kaslardaki mevcut glikojenin tüketiminin ölüm sonrası ATP'nin yeniden sentezlenmesini azaltmasıdır. Rigor mortisin oluşumunda kaslarda bulunan glikojen, fosfokreatin ve ATP'nin rolü vardır. Egzersiz esnasında glikojen, fosfokreatin ve ATP tüketimi olduğu için rigor

mortis hızlı gelişir. Ölümden önce konvüzyon, organik fosfor bileşikleri ve striks zehirlenmesi gibi durumlarda, kas metabolizmasındaki artış nedeniyle rigor mortis erken gelişir ve kısa sürer ^{7,24}.

Krompecher ve arkadaşları ölüm öncesi egzersiz yaptırılan sıçanlarda rigor mortisin gelişim ve derecesini incelediler. Bu sıçanlarda rigor mortisin yoğunluğu başlangıç safhasında arttı ve aynı zamanda en yüksek dereceye ulaştı. En yüksek seviyedeki değerler kontrol vakalarından 1.39 kez daha yüksek bulundu. Bu yükseklik 100 dakikadan 16 saate kadar sürdü, 16. saatten sonra çözülmeye başladı ¹⁸.

Krompecher ve arkadaşları striknin zehirlenmesiyle öldürülen sıçanların hemen ölüm sonrası iskelet kasında histokimyasal analizler yaptılar. Kontrol grubunda stokrom oksidaz enzim aktivitesinde artış vardı. Miyozin ATP'az aktivitesinde bir değişiklik yoktu. Glikojen konsantrasyonunda önemli bir azalma tesbit edilmedi. Striknin zehirlenmesinde ise stokrom oksidaz enzim aktivitesinde artış yoktu. Miyozin ATP'az aktivitesinde ise artış gözlemlendi. Glikojen konsantrasyonunda önemli derecede azalma görüldü ⁴⁶.

Krompecher ve arkadaşları farklı ölüm sebeplerinin rigor mortis gelişimine etkilerini incelediler. Rigor mortisin gelişimi nitrojen asfiksisi, boğulma, striknin, CO ve kürarijorm ilaçlara bağlı fatal entoksikasyonda modifiye metodlarla değerlendirildi. 1. Striknin intoksikasyonu rigor mortis başlangıcını ve geçişini hızlandırıyor. 2. CO intoksikasyonu rigor mortisin çözümlenmesini yavaşlatıyor. 3. Katılığın yoğunluğu ölüm sebebine göre değişebilir. 4. Ölüm zamanını tahmin etmek için katılığın seviyesinin derecesi bilinmesi gerekir ²¹.

Krompecher ve arkadaşları yaptıkları çalışmada rigor mortisin elektrığe bağlı ölümlerde hızlı geliştiğini ve hızlı kaybolduğunu tesbit ettiler ²².

Ölü katılığı ölümden hemen sonra gelişen ve ölüm zamanının belirlenmesinde yardımcı olan önemli erken ölüm sonrası değişikliktir ¹⁻⁵. Niderkorun 113 vakada yaptığı bir çalışmada rigor mortisin tamamlanması için geçen sürenin 2-13 saat olduğunu en önemli dağılımının 3-6 saat arasında olduğunu tesbit etti ⁴⁷. Rigor mortis ortalama sıcaklıkta şöyle tespit edilebilir: Vücut sıcak ve gevşek ise ölümün üzerinde 3 saatten daha az bir süre; sıcak

(ılık) ve sertse ölümün üzerinden 3 ile 8 saat; soğuk ve sertse ölümün üzerinden 8-36 saat geçmiştir. Vücut soğuk ve yumuşaksa ölümün üzerinden 36 saatten daha fazla bir süre geçtiği tahmin edilir²⁴.

Nistein'in 1811 yılında ölü katılığının yayılış sırasını ilk kez tartışmasından bu yana birçok araştırmacı bu konu ile ilgili yayınlar yaptılar. Bunlardan çoğu ölü katılığının alt çeneden başladığını, buradan üst ekstremitelere sonra da alt ekstremitelere yayıldığını kabul ettiler, buna inici ölüm katılığı denir. Çoğu yayınlarda parmakların en son etkilenen bölgeler olduğu belirtilir. Bununla birlikte bu sıranın oluşumu tamamen açıklanamadı. Bazı Japon araştırmacılar ölü katılığının nadiren alt ekstremitelerden başlayarak üst ekstremitelere ve çeneye yayıldığını ileri sürdüler buna çıkıcı ölüm katılığı denir¹⁶.

1950 yılında ise Shapiro ölü katılığının vücut üst uçlarından alt ucuna doğru her zaman aynı şekilde gelişmediğini, eğer rigor mortis ölen kasların hepsinde aynı zamanda gelişen fizikokimyasal bir olay olarak düşünülürse, küçük kaslarda büyük kaslardan çok daha hızlı gelişeceğinin beklenmesi gerektiğini ileri sürdü⁴⁸. Ölü katılığının ortaya çıkış süresi kasın kütlesiyle doğru orantılıdır. Kütle azaldıkça ortaya çıkış süresi azalır. Bu yüzden küçük eklemlerin çevresinde küçük hacimli kaslar olduğundan bu tür eklemlerde katılık daha erken gelişir. Bir grup kasın diğerlerinden daha fazla çalışması kas içindeki enerji depolarını bitireceğinden daha erken dönemde katılık meydana gelir^{7,24}. Shapiro'nun teorisinde ölü katılığının tüm kaslarda gelişen fizikokimyasal yöntem olduğu belirtilir^{48,49}.

Diğer dokularda rigor mortis; iskelet kasında olduğu gibi rigor tüm müsküler doku ve organlarda ortaya çıkar. İrisin etkilenmesine bağlı antemortem kontraksiyon ve dilatasyon tesbit edilir. Rigor her iki gözde eşit olmayabilir. Ölü katılığı iris kaslarında oluşunca pupillerde daralma düzensizlik ve eşitsizlik görülür.

Kalpde rigor ventriküllerin kontrakte olmasına neden olur. Bu da deneyimsiz patologlarca sol ventrikül hipertrofisi olarak değerlendirilebilir.

Skrotumun asıcı kaslarında oluşan rigor mortis testislere ve epididimlere bası yapar. Seminal vezikül ve prostattaki müsküler liflerin kontraksiyonu sonucu semenin ölüm sonrası atılmasına neden olur.

Müsküler erektor pilorumlarda l katılığının gelişmesi sonucu vücuttaki tüylerin ürpermesi veya diken diken olması ile citus anserina (kaz derisi görünümü) meydana gelir. Bu lezyon suda boğulma olgularında da oluşabilir. Aralarında herhangi bir şekilde ayırım yapmak mümkün değildir ²⁴.

Schoning ve arkadaşları köpeklerin vitreus sıvısında ölüm sonrası biyokimyasal değişiklikleri incelediler. Köpekler lm sonrası 4, 20, 37°C 'ye konuldu. Ölüm ncesi ve ölüm sonrası 3, 6, 12, 24, 48. saatlerde sodyum, klor, potasyum, glukoz, üre nitrojen, kreatinin konsantrasyonları lld. Potasyum konsantrasyonu sıcaklık ve zamanla arttı. Sodyum, klor ve üre nitrojen değerleri 4 °C'de 48 saat sabit kaldı. Yüksek sıcaklıklarda bunların konsantrasyonları gittikçe azaldı. Glukoz bütün derecelerde 3 saat içinde yarısından daha da az seviyeye düştü. Kreatinin değerlerinde ise tutarsızlık vardı ⁵⁰.

Schoning ve arkadaşları köpek kanında post mortem biyokimyasal değişimleri incelediler. Altmış köpekte ölüm öncesi ve ölüm sonrası kan örneklerinde Na⁺, Cl⁻, K⁺, re nitrojen, glukoz, kreatinin, kalsiyum, fosfor, total protein, albumin ve karbondioksit seviyelerine bakıldı. Ölümden sonra 3, 6, 12, 48 saat arayla değerlendirildi. Üre nitrojen, kalsiyum ve protein değerleri ölümden sonra stabil kaldı ve tanısal olarak anlamlıydı. Potasyum, kreatinin ve fosfor değerleri zamanla yükseldi. Glukoz, Na⁺, Cl⁻, total CO² seviyeleri zamanla düştü. Bundan dolayı bu kimyasal değerlerin tesbitiyle ölüm zamanı tahmin edilebilir ⁵¹.

Schoning ve arkadaşları köpekte serebrospinal sıvısında ölüm sonrası değişiklikleri incelediler. Altmış erişkin melez köpekten alınan BOS numunelerinde zaman ve ısının etkisi çalışıldı. Ölümden sonra köpekler 4, 20, 37 °C'lerde 3, 6, 12, 24, 48 saat arayla tutuldu. Ölüm ncesi ve sonrası Na⁺, Cl⁻, K⁺, re nitrojeni, glukoz, kreatinin, kalsiyum, fosfor, karbondioksit bakıldı. Sodyum ve üre nitrojeni değerleri stabil kaldı. Kalsiyum ve kreatinin konsantrasyonları çok az yükseldi. Karbondioksit ve glukoz miktarları düştü.

Ölüm sonrası Ca düzeyinin düşük olması, ölüm öncesi hipokalsemiyi, glukozun yüksek olması ölüm öncesi hiperglisemiye götürebilir⁵².

2.5. Elektrik Çarpması

Elektrik çarpması, elektrik akımının vücuttan geçecek şekilde canlının elektrik kaynağı ile teması sonucu yaralanması veya ölümdür. Elektrik akımının ölüme neden olabilmesi için öncelikle bir akım ve sonrada akım yolu üstünde hayati organlar olmalıdır. Elektrik akımı genellikle bir noktadan vücuda girer ve toprak ile veya nötr elektrik telleri ile temas eden diğer bir noktadan en kısa yolu takip ederek vücudu terk eder²⁴. Alternatif akımlar daha çok kardiyak aritmilere sebep olur. Kalp ve solunum merkezleri alternatif akımlara daha hassastır⁵³. Bir elektrik akımının vücut üzerinde etkili olabilmesi için elektrik akım devresinin tam olması gerekir. Eğer akım vücuda bir bölgeden girip bir başka bölgeden çıkamıyorsa dokularda hiçbir yaralanma ve sonuçta ölüm olmaz. Elektrik çarpmaları hem yüksek hem de alçak voltajlarda olur. Yüksek ve alçak voltajların 1000 volt düzeyinde yapılması önerilir⁵⁴. Her iki volttaki akımlarda tehlikelidir. Evlerdeki elektrik şebekesinde 220 voltluk akım kullanılır. 220 voltluk akımlar da ölümcül etki yapabilecek kapasitededir. Çok yüksek voltajlar enerji nakil hatlarında ve trafolarda kullanılır. Yüksek voltajlar kimi zaman daha güvenli olur. Akımın vücuttan geçmesi ile oluşan kas spazmları kişiyi olduğu yerden uzaklaştırır, böylece akım kaynağı ile olan temas süresi azalır ve kişi daha az ampere maruz kalır⁵⁵.

Elektrik akımına bağlı ölüm olgularının büyük çoğunluğunda orjin; genellikle evlerde ve sanayilerde kullanılan elektrikli aletler ile meydana gelen kazalar şeklindedir^{56,57}. Bu kazaların en sık rastlanılan sebepleri arasında, aletlerin kullanımı ve bakımı konusunda ihmal, yeterli güvenlik önlemlerinin alınmaması ve uygun olmayan izolasyon sayılabilir. Çalışma ortamının ıslak olması ve yapılan işe uygun giysilerin giyilmemiş olması kazaların meydana gelmesini kolaylaştırır⁵⁸.

Elektrik kullanımı ile intihar oldukça nadirdir. Daha çok erkekler tarafından kullanılan bir yöntemdir. Son yıllarda özellikle Almanya'da elektrik ile

intihar olgularında bir artış olduğu bildirildi. Ülkemizde nadirde olsa elektrik akımı ile intihar olguları meydana gelmektedir^{59,60}.

Elektrik ile cinayetlere de rastlanılır. Eşleri tarafından elektrik ile öldürülen kadınlar dünya literatüründe bulunmakta⁶¹. Fakat tüm dünyada elektrik ile cinayet ve cinayet girişimlerinin sayısının az olduğu konusunda görüş birliği vardır⁶¹.

İnsan vücudundan akım geçmesi sonucunda birkaç mekanizma ile ölüm meydana gelir. Bunlar: ventriküler fibrilasyon, solunum kasları spazmı, solunum ve kardiyak merkezlerin felci ve termal yanıklar.

Ventriküler Fibrilasyon: Elektrik çarpmaları sonucunda oluşan ölümlerin çoğunun nedeni kardiyak aritmilerdir. 110-220 volt alternatif akım elektrik çarpmalarında çoğunlukla ölüm; ventriküler fibrilasyon ile olur⁵³. Alternatif akım evlerde ve sanayide kullanılan şebeke akımlarıdır. Bu gibi akımlar doğru akımlardan daha tehlikelidir. 100 miliamper alternatif akım saniyenin beşte biri kadar kısa bir sürede ventriküler fibrilasyona ve kalp durmasına neden olabilir. Bununla birlikte 250 miliamper doğru akım aynı sürede genellikle ölüme neden olmaz²⁴.

Akım, miyokard sinsityumunda etkili olur ve ileti sistemi bozulur. Kardiyak disritmi ve bunu takibinde fibrilasyon görülür. Bu fibrilasyon da kardiyak arrestte sebep olur. Kalpte ventriküler fibrilasyon başlatan 40-150 herslik alternatif akımların en tehlikeli olduğu bildirildi. 70 miliamperlik akımın 5 saniye süre kalp üzerinden geçmesi fibrilasyona neden olur. Deri direncinin tamamen ortadan kalktığı durumlarda çok daha az amper fibrilasyona yol açabilir. Örneğin bir intrakardiyak kateter uygulamasında 100 mikroamperlik bir akımın kateter üzerinden kalpte etkili olması durumunda fibrilasyon görülebildiği bildirildi⁶².

Genel olarak 50 – 80 miliamperlik bir akımın birkaç saniye süre ile kalp üzerinden geçmesinin ölüme neden olacağı kabul edilir²⁴. Kişilerin istekli olarak elektrik akımına maruz kaldıkları deneylerde 30 miliampere dayanabildikleri görüldü. Bu amperdeki akım ağırlı kalp spazmlarına yol açar, 40 miliamperde şuur kapanır ve 50-80 miliamper düzeyinde ise ölüm tehlikesi başlar²⁴. 50 miliamperlik bir akım, öldürücü akımın sınırı olarak kabul edilir⁶³. Ventriküler fibrilasyona bağlı ölümlerde derideki giriş ve çıkış lezyonlarından başka vücutta

herhangi bir değişiklik bulunmayabilir. Bu tip kardiyak arrest sonucu ölümler, eksternal kardiyak masaja en iyi cevap veren ölüm tipleridir⁵³.

Solunum kasları spazmı: Elektrik akımının göğüs ve batından geçtiği durumlarda görülür. Bu vakalarda, diaphragma ve interkostal kaslardaki spazm solunum felcine neden olur. Solunum hareketleri yapılmadığı için konjestif-hipoksik bir ölüm meydana gelir. Bu olgularda asfiksiniin klasik bulguları olan yüzde, deride ve visseral organlarda aşırı konjesyon, plevra ve perikardiyumda peteşial kanamalar görülür⁶⁴.

Solunum ve kardiyak merkezlerin felci: Akım yolu üzerinde sinir uyarı merkezlerinin bulunması bu merkezlerin çalışmasını bozar. Akımın el ve baş arasında olduğu olgularda kardiyak anormalliklerden çok, beyin sapı bozuklukları beklenir⁶². Nadiren akımın baş bölgesinden girerek ve beyinden geçtiği olgularda medulladaki kardiyak ve solunum merkezinin çalışması bozulabilir. Akım bu merkezlerdeki hücrelerin ölümüne yol açar⁶¹.

Termal yanıklar: İnsan vücudunda elektrik akımına en fazla direnç gösteren doku deri ve kemiklerdir. Derinin yüksek direnci elektrik akımının bir kısmının ısı enerjisine dönüşümüne neden olur. Bu yüzden elektrik akımının giriş ve çıkışlarında genellikle sadece deride lezyonlar görülür. Elektrik akımı deriden geçtikten sonra hemen deri altındaki elektrolitten zengin, dolayısıyla elektriği iyi ileten kan ve diğer yumuşak dokular üzerinden kolayca akar. Bu sebepten dolayı deri dışındaki dokularda deriye oranla daha az şiddette lezyonlar görülür⁶⁵.

Akımın geçtiği bölgenin kesit yüzeyinin büyüklüğü termal yanıkların oluşumunu etkiler. Kesit alanı azaldıkça ısı üretimi çoğalır hasar da o oranda artar. Akımın elden girerek proksimale doğru aktığı olgularda el bileklerinde ve dirseklerde yanıkların şiddetli olarak görülmesi buna örnektir. Dirsekte direnci yüksek kemik dokusunun fazla olması akımın sadece dar kesit alanlı yumuşak dokulardan geçmesine neden olur. Bu bölgelerde diğer bölgelere göre daha şiddetli yanıklar görülür⁶⁶.

Dokuların direncinin, voltajın ve amperin arttığı oranda, termal yanıkların ortaya çıkması olasılığı da artar. Termal yanıklarda da diğer yanıklarda olduğu gibi etkilenen bölgeye göre ölüm olur. Ayrıca bu gibi olgularda hipovolemik şok,

septik şok ve böbrek yetmezliği komplikasyonlarına bağlı ölümlerde görülür. Ani ölümün oluşmadığı termal yanıkların tedavileri ise oldukça zordur⁶⁷.

Yüksek voltaj elektrik yaralanmalarında, ısı doku hasarı yapan ana etkidir⁶⁸. Akımın geçmesi sonucu bütünüyle ısınan dokular öncelikle en dış yüzeylerden soğumaya başlar. İç bölgelerdeki dokuların sıcaklığı daha uzun süre yüksek kalır buda dokuların daha fazla hasar görmesine neden olur. Yüksek voltaj yaralanmalarında nörovasküler yapılarda ve kas dokusunda ciddi hasarlar meydana gelir^{69,70}.

Elektrik akımının önemli bir etkiside hücre duvarı yıkımıdır. 800-1000 milivoltluk akım, insan hücrelerinin büyük çoğunluğunun membranlarını bozar. Kas ve sinir hücre membranlarının rüptüre eder. Neticede Çok miktarda miyoglobin kana salınır, stoplazma ATP miktarının azalması sonucu rigor hızlı gelişir, membran fosfolipidlerinden araşidonik asit türevleri yüksek seviyede bulunur ve termal yaralanmalarının bulunmadığı olgularda gecikmiş sinir paralizileri görülür⁷¹.

Elektirik akımının kaslar üzerine etkisi: Elektriğin kaslar üzerindeki önemli bir etkisi kaslarda spazma neden olmasıdır. 10-40 miliamper arasındaki akımlar iskelet kaslarında tetanik spazma neden olurlar. Bu etki akımın elden girmesi durumunda fleksör kas gruplarının daha güçlü olması nedeniyle elin kapanmasına ve avuç içindekinin sıkıca kavranmasına sebep olur. Elde tutulan alet veya tel istense de bırakılamaz, elektrik devresi kapalı kalır deri yanıkları ve kardiyak komplikasyon artan zamanla birlikte yükselir. Genel olarak 0.015 amper üstündeki bütün akımlar, akım yolunda bulunan kas gruplarında şiddetli spazmlara neden olurlar. Bu spazm eğer bir elden girip her iki bacadan çıkarsa vücudun geriye doğru savrulmasına neden olabilir. Bu savrulma özellikle yüksek voltajlı akımlarda belirgindir. Savrulmanın etkisi ile elektrik devresi açılır. Böylece çok kısa süren akım geçişi ölüme neden olmaz^{23,24}.

Elektrik çarpmalarında kaslarda meydana gelen kasılmalar kas içindeki enerji kaynaklarını kullandığı için kas içi ATP oranı düşer ve buna bağlı olarak rigor mortis erken dönemde gelişir²².

2.6. Suda Boğulma

Herhangi bir nedenle su ortamında bulunan kişinin, apne dönemi sonunda refleks olarak ilk solunumu ile üst ve alt solunum yollarına hava yerine su aspire etmesi sonucu anoksik kökenli bir ölüm oluşmasıdır⁶³.

Dünyada yılda yaklaşık 150.000 dolayında suda boğulma sonucu ölüm meydana gelir. Suda boğulma olgularının büyük çoğunluğunda orjinin sırayla kaza, intihar ve az sıklıkla cinayettir⁷³.

Suda boğulmalar, suyun aspire edilmesine göre kuru ve ıslak, suyun türüne göre de tatlı ve tuzlu suda boğulma olarak değişik şekillerde sınıflandırılır⁶³.

Kuru suda boğulma olgularında; kişiler suya düşer düşmez suyun larinks, farinks, batın cildi, burun mukozası ve kulak zarı gibi inhibisyon yapıcı bir bölgeye ansızın değmesi sonucu solunum ve dolaşımın hemen durması nedeniyle ölüm oluşur. Bu tür ölümlerde siyanoz yoktur, kişinin yüzü beyazdır. Su solunum yollarını doldurmaz, fakat solunum su etkisiyle durur. Bu tür suda boğulma olgularına beyaz suda boğulma da denir. Vakaların aşağı yukarı %10-20 si bu şekilde meydana gelir^{73,74}.

Sıvı aspirasyonunun olduğu vakalarda, ıslak suda boğulma meydana gelir. Suda boğulmanın doğru ve gerçek bulguları bu tür suda boğulmada görülür. Kişinin görünüşü mordur, mekanik asfiksinin bir belirtisidir. Suda boğulma vakalarının %90'ı bu şekildedir. Kişi suya düştükten sonra genellikle tekrar su yüzeyine çıkar. Eğer yüzme bilmiyorsa durumunu korumak ve su yüzeyinde kalabilmek için ekstremiteleriyle düzensiz hareketler yapar. Su içinde bir süre nefes tutulup kan karbondioksit konsantrasyonunda kritik seviye aşıldığında, zorunlu olarak inspirasyon yapılır ve su alveollere kadar girer. Suyu karşı geçirgenliği fazla olan alveol membranında, anoksi ve suyun travmatik etkisiyle olan değişiklikler, geçirgenliği daha da arttırarak membranı suya karşı bir bariyer olmaktan çıkarır. Böylece alveolere kadar ulaşan su kolaylıkla alveol kapillerlerine ve solunumun durmasından sonra da 4-5 dakika fonksiyonunu sürdürebilen, kalbe gelir sistemik dolaşım ile tüm vücut bölgelerine dağılır⁷.

Suda Boğulma Evreleri hayvanlar üzerinde tecrübe edilerek incelendi ve insanda da aynı olduğu kanısına varıldı. Brouardel köpekler üzerinde bir takım deneyler yaptı: Tahtadan yapılmış bir levhanın alt kısmına kurşun ağırlıklar bağladı ve köpeğin 4 ekstremitesi bu levhaya tesbit edildi. Kan basıncını ve kalp atışlarını kayıt etmek için kanül, solunum hareketlerini kaydetmek için epigastrium üzerine bir pnömograf yerleştirdi. Daha sonra köpek su dolu havuzcuk içine bırakıldı. Başını su yüzeyine çıkarmasına imkan vermeyecek şekilde su yüzeyinden 30 cm aşağıda tutuldu. Brouardel bu şekilde direk olarak suda boğulma olayını inceledi ve bunu beş safaya ayırdı: Birinci Devre: (Şaşkınlık dönemi); 5-10 saniye süren bu devrede hayvan bir iki inspirasyon yaptı ve ancak diğer yönden inaktifti. İkinci Devre: (Nefes tutma dönemi); köpek şiddetle ajite oldu, bağlarına karşı saldırıyor aşikar bir şekilde su yüzüne çıkmaya çalışıyordu. Ağız kapandı ve soluğunu tuttu. Bu dönem bir dakika sürdü. Üçüncü Devre: (Derin inspirasyon dönemi); Köpek bir kaç derin insprasyon yaptı ve ağızından beyaz köpükler çıkmaya başladı. Genel ajitasyon kesildi, gözler ve ağız açıktı. Birkaç yutkunma hareketi gözlemlendi. Soluğunu tutmuş olan canlıda kanda karbondioksit konsantrasyonu artarak solunum merkezini uyarır. Bunun sonucu olarak canlı elinde olmadan derin bir soluk alır. Bu dönemde bir dakika sürdü. Dördüncü Devre: (Şuur kaybı ve konvüzyon dönemi); Hiçbir solunum hareketi görülmedi. Korneal refleksin tamamen kaybolmasıyla hayvanın duyarlılığı kayboldu. Göz bebekleri belirgin olarak genişledi. Konvüzyonların görüldüğü bu dönem de yaklaşık bir dakika sürdü. Beşinci Devre: (Ölüm Devresi); Yaklaşık otuz saniye süren bu dönemde üç veya dört solunum hareketi yaşamın son belirtileri olarak tesbit edildi. Çene kasları ve dudaklarda fibriller kontraksiyonlar görüldü . Böylece köpeklerin tatlı suda boğulma olayı üç dört dakikada tamamlandı ^{63,74}.

Suda boğulmalarda ölüm genel olarak üç-beş dakika gibi kısa bir zamanda meydana gelir. Fakat suyun yüzeyine çıkıp tekrar dalmalar bu müddeti uzatabilir. Vücudun çok yorgun olması halinde bu süre kısalabilir. Ölüm akciğerlere suyun dolması ile meydana gelir. Canlı, suda boğulmanın üçüncü devresinde su çeker ve su akciğerlerden alveollere kadar ulaşır. Suda boğulmanın en tehlikeli dönemi üçüncü dönemdir. Bu devre bitmeden kişi sudan

çıkarılırsa kurtulma olasılığı vardır. Bununla beraber bu devrenin başlangıcında sudan çıkarılmış kişileri kurtarmak pek mümkün olmaz. Çünkü solunum yollarına su çok az miktarda girse bile mukozolardan hemen ifraz edilen yapışkan mukus ve hava ile karışarak köpük meydana getirir, bu da bronş ve bronşioelleri tıkayarak havanın akciğerlere girmesini önler. Yapılan gözlemlere göre beş devre göstererek dört dakika içinde boğulan şahıslarda inhale edilen su 450 cc kadardır. Bunun 352 cc 'si üçüncü devrede tenefüs edilir ve yutulur ⁷⁵.

Suda boğulmanın fizyopatolojisinde tüm organ sistemleri etkilenebilir. Primer olarak akciğerdeki bozukluğa bağlı asfiksi diğer organ sistemlerindeki patolojilerin sebebidir. Canlının daha önceki fiziki durumu, suyun tuzluluğu ve diğer kimyasal içerikleri, akciğerlere inhale edilen sıvının miktarı canlıdaki fizyolojik ve anatomik özellikleri etkiler. Tatlı ve tuzlu suda boğulma, başlangıçları benzer olmasına rağmen fizyopatolojileriyle farklılıklar gösterirler. Hem tatlı suda hem de tuzlu suda alveoller zarar görür, sürfaktan tahrip olur ve nonkardiojenik pulmoner ödem meydana gelir. Anoksiye bağlı olarak her ikisinde de metabolik asidoz ortaya çıkar ⁷⁶.

Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar tatlı ve tuzlu suda boğulmalar arasında bir çok farklar olduğunu ortaya koydu ⁷⁷. Tatlı su hipotonik olması nedeniyle alveola kapiller bazal membranı geçer ve intravasküler boşluğa girer. Intravasküler hacimde bir artış olur. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar; hemodilüsyon, hemoliz, hipervolemi ve hiponatreminin bu sıvı geçişinin bir sonucu olduğunu gösterdi. Hipervolemi hem intravasküler boşluğa suyun geçmesi hem de hipotonisite ve hiponatremiye cevap olarak damar içinden alveol içine sodyumun taşınması nedeniyledir. Hayvanlarda yapılan deneylerde serum sodyum miktarının 56 meq / l serum kalsiyum miktarının 2 meq / l gibi fatal seviyelere düştüğü ve ağır bir hemolizin meydana geldiği görüldü. Hemoglobinin 6-8 g/100ml olduğu gözlemlendi. Ayrıca nefes alma hareketleri devam ederken ventriküler fibrilasyonun geliştiği, bunun hipoksi ve hemodilisyona bağlı olduğu ileri sürüldü. Hemodilisyon sonucu parçalanmış eritrositlerden serbestleşen potasyumun erken ventriküler fibrilasyon yapar. Swann ve arkadaşları ventriküler fibrilasyonun tatlı suda boğulma sırasında insanda da oluştuğu ve ölüme yardımcı bir faktör olduğu sonucuna vardı ⁷⁸.

Deniz suyu %3 sodyumklorür içeriği ile normal ekstrasellüler vücut sıvısının yaklaşık üç katı ozmolaritededir. Hipertonik tuzlu su alveolar boşluklara girdiği zaman bir hipoprotein olan sürfaktanı parçalar, alveolar bazal membranı bozar, alveolit yapar, intravasküler boşluktan alveol içine doğru su çeker. Çünkü çeşitli elektrolitlerin konsantrasyonları deniz suyunda normal vücut sıvılarına göre daha fazladır. Sodyum, klor, magnezyum intravasküler boşluğa geçer. Alveolar bazal membrandaki tahribat proteinli transüda sıvısının alveolar boşluğa geçmesine izin verir ^{79,80}.

Bir köpeğin vücut sıvısının aşağı yukarı 150 ml.sinin akciğer alveol boşluğuna geçtiği hesaplandı. Sülfat hariç deniz suyundaki iyonların kana diffüze olduğu, serum elektrolit konsantrasyonlarının oldukça arttığı, sodyumun 250 meq / lt. , magnezyum 30 meq / lt. , kalsiyumun 13 meq / lt. olduğu hesaplandı ⁸¹.

2.7. Nitrik Oksit (NO)

Nitrik oksit, önceleri belli bir konsantrasyonda (20-60 ppb) atmosferde bulunan ve kirli havanın bir kısım yan etkilerinden sorumlu tutulan bir gaz olarak bilinirdi. Günümüzde ise memeli canlılarda hücre, doku, organ ve sistemlerin fonksiyonlarını düzenlemede rol alan önemli bir sinyal molekül olarak tanımlanmaktadır ⁸²⁻⁸⁵.

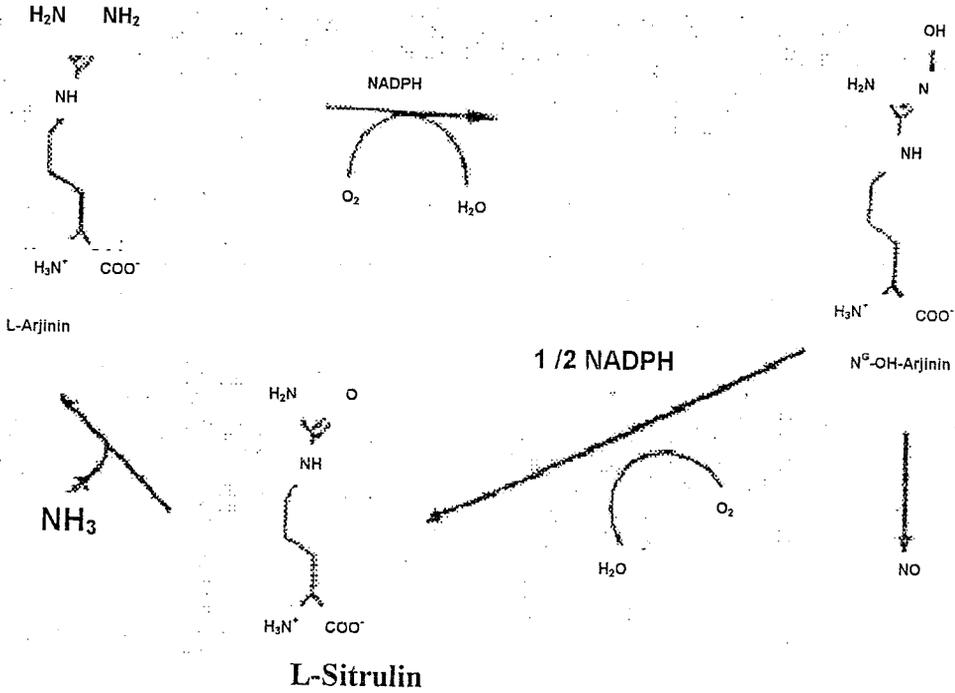
NO bir azot ve bir oksijen atomu içeren, küçük, yüksüz, lipofilik bir moleküldür. Bu özelliğinden dolayı biyolojik membranlardan kolayca diffüze olabilen ideal bir habercidir ^{86,87}. Nitrik oksit diğer mediatörlerden farklı olarak etkilediği moleküle kovalent olarak bağlanır ve diffüze olduktan sonra depolanmaz ⁸⁸. Sentezlenen NO' nun bir kısmı yüksek afinesinden dolayı hemoglobinle birleşerek methemoglobin oluşturur ve mitokondrial solunum zincirini etkilemek suretiyle oksitatif fosforilasyonu da inhibe eder. Hemoglobin nitrik oksitin güçlü bir inhibitörüdür ^{89,90}.

Nitrik oksit plazma membranının iç kısmındaki aktin polimerizasyonuna da etki eder, hücre adezyonu, hücre gücü ve fagositoz gibi stoiskelet fonksiyonlarını da düzenler ⁸⁸.

Nitrik oksit oksijenle reaksiyona girdiğinde nitrit (NO_2) ve peroksinitrit'i (ONOO); O_2^- (süper oksit anyonu) ile reaksiyona girdiğinde ise ONOO ve konjuge asidi olan ONOOH (peroksinitrozoksit)'i oluşturur. Oluşan bu bileşiklerin, bakterilerin öldürülmesinde ve endotial hücre toksisitesinde yer aldığı düşünülmektedir⁹¹.

2.7.1. NO'nun Biyosentezi

NO, L-argininden nitrik oksit sentaz (NOS) olarak bilinen enzim ailesi tarafından iki aşamada sentezlenir. Şekil 1.6. da görüldüğü gibi ilk aşamada L-arginin guanido grubundaki azotun hidroksilasyonu ile $\text{N}^G\text{-OH}$ -arjinin oluşur. Bu reaksiyon NOS tarafından katalizlenir. İkinci aşamada ise $\text{N}^G\text{-OH}$ arjininin oksidasyonu ile NO ve sitrülün oluşturulur. L-arginin oksidasyonunda moleküler oksijen NO ve sitrülün yapısına girer. Bu reaksiyonda piridin nükleotidleri, indirgenmiş biyopterinler, Ca ve kalmodulin gereklidir⁹²⁻⁹⁴.



Şekil 2.6 L-argininden NO biyosentezi ve L-sitrulin siklusu

NO sentezinin aktivitesi nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) kalsiyum ve kalmodiline bağlıdır. Bu enzimin aktivitesi tetrahydrobiopterin (H_4B) tarafından hızlandırılır. Nitrik oksit sentaz; N-nitro L-arginin (L-NNA), nitro arjinin

metin esteri (NAME) ve N-monometin L-arjinin (N-MMA) gibi arjininin yapısal analogları tarafından kompetitif olarak inhibe edilir. İnhibitörlerin uzun süreli tatbiki ise enzimi dönüştürsüz olarak inhibe eder⁹⁵. NOS'nin aktivitesi trifluoperazine ve deksametazon gibi kalmodilin inhibitörleri, interleukin -10 ve CO tarafından da inhibe edilir⁹⁴.

Normalde L-arjinin seviyesi sürekli salınan ve NO sentezi için yeterlidir. Bu reaksiyonun yan ürünü olan L-sitrülin bir azotla birleşerek L-arjinine dönüşür ve bu suretle L-arjinin temin edilmiş olur⁸⁸.

Nitrik oksit sentaz (NOS) olarak tanınan enzim ailesi regülasyon ve aktivitelere göre iki gruba ayrılır.

1.Yapısal İzofomlar: Nöronal ve endotelial hücrelerde her zaman mevcuttur. İntrasellüler kalsiyum düzeyi normal ya da normale yakın olduğunda kalsiyum bağlayan protein kalsiyumu bağlar ve kalsiyum kalmodilin kompleksi oluşur. Bu kompleks nitrik oksit sentaza bağlanarak onu aktive eder. Aktive olan NOS, kalsiyum seviyesi düşüncüye kadar az miktarda devamlı NO sentez edilmesini sağlar. NO'nun fizyolojik oluşumu ve rol aldığı fizyolojik sinyalleri iletimi bu yolla olur. Yapısal NOS izoformu kalsiyum ve kalmodilin tarafından regüle edilir.

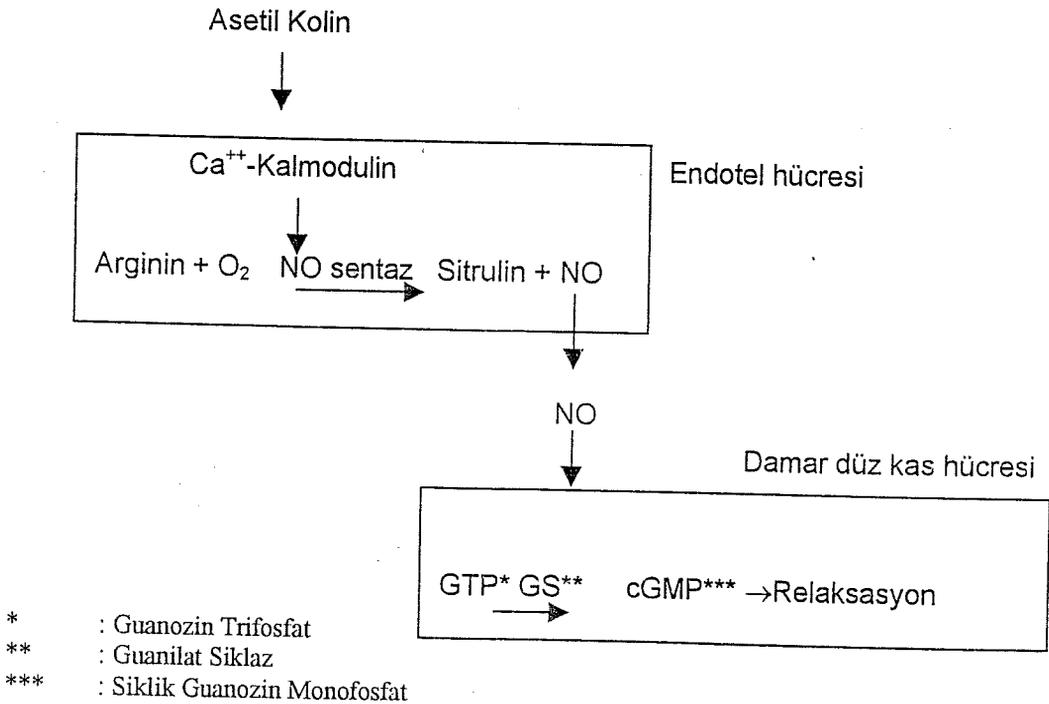
2.İndüklenebilir İzofomlar: NO'nun patolojik düzeyde salınımı bu yolla olur. Bu formların normalde salınımı yoktur. Makrofaj, hepatosit, kondrosit, vasküler düz kas hücreleri, akciğer epiteli ve kupper hücrelerinde bulunan bu enzimler, sitokinler, endetoksinler tarafından uyarılınca indüklenebilir NOS izoformu üretilir. Bu enzim bir kere salınırsa devamlı olarak büyük oranda NO sentezler⁹⁶⁻⁹⁹.

2.7.2. Nitrik Oksitin Foksiyonları

Kardiovasküler Sistem : NO'nun pulmoner ve sistemik vasküler tonusun idamesinde büyük bir role sahip olduğu ifade edildi. NO, vasküler düz kas hücrelerine difüze olarak relaksiyona rol açar. Bu sebeple "endothelium derived relaxing factor" (endotel kaynaklı gevşetici faktör) ismi verildi. Vasküler endotel hücreleri tarafından az miktarda ancak devamlı olarak NO salgılandığı saptandı. Salgılanan NO'nun bazal seviyede damar düz kasının gevşemesini

sağlamak suretiyle vasküler tonusu ve kan basıncını düzenlediği belirlendi^{82,83,100,101}

Şekil 2.7. de görüldüğü gibi NO normal endotel hücrelerinden asetil kolin, noradrenalin, yağ asitleri, iyonoforlar ve fiziksel güçlerin uyarılmasıyla salınır. Normal endoteldeki muskarinik, histaminergik, vasopresinerjik ve oksitosinerjik, alfa 2- adeno prinerjik ve seretonerjik reseptörlerin uyarılmasıyla intraselüler kalsiyumda geçici bir artış meydana gelir ve kalsiyum-kalmodilin kompleksi oluşur. Oluşan bu kompleks endotelial NOS'yi aktive ederek NO oluşumunu sağlar. NO endotel hücrelerinden çıkıp komşu düz kas hücrelerine girer ve orada guanilat siklazı (S-GS) aktive ederek GTP'den cGMP oluşumuna yol açar. Oluşan cGMP sarkoplazmik retikulumdaki Ca^{++} - ATP az'ı etkileyerek intraselüler Ca^{++} konsantrasyonunun azalmasına yol açarak damar düz kasında relaksasyona sebep olur. Bu relaksasyon NO'nun hemoglobine bağlanarak inaktive olması sebebiyle lokal kalır. Zaten NO'nun etkisinin uygulandığı bölge ile sınırlı kalması (sistemik etki göstermemesi) hemoglobine olan yüksek afinitesinden kaynaklanmaktadır. NO'nun yarılanma süresi 2-30 saniye kadardır ve başka NO üretilmezse etkisi kaybolur^{84,99,100,102}.



Şekil 2.7. Asetil kolin tarafından uyarılan NO salınımı yoluyla, damar düz kasında relaksasyon meydana gelmesi

NO'nun bazal seviyesi beyin, kalp, akciğerler ve böbrek kan akımını regüle eder. Bir dokuda iskemi meydana gelirse NO salınarak o dokuyu besleyen damarlarda vazodilatasyon meydana gelir. NO salınımının koroner kan akımının düzenlenmesinde de etkin rol oynadığı kabul edilir. Epikardial arterlerin önemli bir özelliği egzersiz sırasında genişliyebilmesi ve O₂ ihtiyacı olan miyokarda daha çok kanın taşınmasına imkan sağlamasıdır. Bu akıma bağlı vazodilatasyonun endotel bağımlı olduğu ve NO salınımdaki artışla gerçekleştirildiği anlaşıldı^{82,103}.

Bazal durumda NO oluşumu, istirahat arterial tonusunda anlamlı bir rol oynar. Arterden geçen kan akımının artması, endotel üzerine "shear stres" oluşturulur. Bu NO'nin serbestleşmesini artırır ve sonuçta kan akımı artar. NO'in yokluğu veya endotelde yıkımı "shear stres"e bu cevabı ortadan kaldırır. Bradikinin, histamin, substans P, inflamatuvar mediatörler de NO'in serbestleşmesini artırarak lokal kan akımını artırır⁹².

Nitrik oksit oluşumunu önleyici inhibitörleri kullanılırsa arterial basınçta %10 total periferik vasküler dirençte % 40 artma meydana geldiği gösterildi. Bunun sonucunda da renal kan akımında azalma meydana gelir. Renal damarlarda diğer damarlara nazaran daha çok nitrik oksit üretildiği bildirildi. NO renal ekskretuar fonksiyonun uzun vadeli regülasyonunda da önemli rol oynar. Natri üretiler etkisi vardır. NO yokluğunda Na dengesinin yeniden düzenlenmesi, Anjiotensin II'de artış ve vasküler tonüsün artışı ile hipertansiyon oluşur^{101,104}.

NO'nun normalden fazla salındığı durumlarda hipotansiyon meydana gelir. Ortostatik hipotansiyonlu hastalarda sepsis de ve karaciğer sirozlu hastalarda görülen hipotansiyonda NO düzeyinin normalden fazla olduğu belirlendi^{83,84,92}.

NO'in vazodilatatör etkisinin yanı sıra prostosiklinlerle sinerjik etki göstererek trombosit adezyon ve agregasyonunu inhibe ettiği gösterildi. Trombositler, endotel sağlam değilse potent vazokonstriktörlerdir. Fakat endotel sağlamısa serbestleşen NO'in etkisiyle indirek vasodilatör etki gösterirler^{83,84,95}.

NO'in salınımı hipertansiyon ve hiperkolesterolimide bozulur. Normal genç bireylerde de asetil kolinin intrakoroner infüzyonuna cevap olarak, NO salınımı olur ve koroner dilatasyon gelişir. Buna karşılık atherosklerotik koroner

arterlerde veya koroner arterlerin minor düzensizlik durumlarında, kalp transplantasyonu sonrası ve normal koroner arter görünümü bulunan yaşlı bireylerde intrakoroner asetelkoline konstrüktör cevap alınması endotelin anormal fonksiyonunu akla getirir⁹⁹.

Yapılan çalışmalar atherosklerozda NO seviyesinin belirgin olarak azaldığını gösterdi^{84,105,106}. Bu hastalara L-arjinin desteği verildiğinde endotel bağımlı vasodilatasyonda anlamlı iyileşme olduğu görüldü. NO'in normalden az sentezlendiği yada salındığı durumlarda hem trombosit adhezivitesinde ve agregasyonunda hemde lokosit adhezivitesindeki artışla birlikte damar düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve subintimal migrasyonunun da arttığı ve böylece atherosklerozun oluşumunda önemli yeri olan olayların meydana geldiği anlaşıldı^{83,84,104}.

Sinir Sistemi: Beynin bütün hücrelerinde sentezlendiği belirlenen NO, nörotransmitter olarak fonksiyon yapar. Squarteret ve arkadaşları sıçanlarda NO'in seretonerjik sistem üzerinde gıda alınımını etkilediğini gösterdiler¹⁰⁷. NO diğer nörotransmitterler gibi depo edilmez, ihtiyaç anında sentezlenip salınır. NO beyin gelişiminde ve yetişkin beyin fonksiyonlarının düzenlenmesinde de rol oynar. NO'in hafızanın oluşumunda da rol oynadığı belirtildi⁹⁹.

Gastrointestinal Sistem: İnce bağırsak miyenterik fleksüsundan nörotransmitter olarak sentezlenip salınan NO adrenalinin salınımı kontrol edip, barsak peristaltizmini düzenler¹⁰⁸. Gastro intestinal kanalın kan akışının sağlanmasında da önemli bir role sahip olduğu anlaşıldı¹⁰⁹.

Pulmoner Sistem: NO, pulmoner sirkülasyonun ve bronkodilatasyonun sağlanmasında da önemli bir yeri vardır. Terminal dönem kronik akciğer hastalığı olan ve pulmoner hipertansiyon gelişen hastalarda elde edilen izole pulmoner arterlerde NO'nun az sentezlendiği tespit edildi¹¹⁰.

Bağışıklık Sistemi: NO'in pıhtılaşmayı önleyici fonksiyonları ve lökositler içerisinde bulunarak bakteri ve tümör hücrelerinin öldürülmesinde önemli role sahip olduğu bildirildi. Makrofaj ve nötrofiller tarafından sentezlenen NO'in tümör hücreleri ve bir çok mikroorganizmaya karşı oluşturulan savunma sisteminin önemli bir parçası olduğu ifade edildi¹⁰⁸.

NO' nun İskelet Kası Üzerine Etkisi: Nitrik oksit ve derivasyonları iskelet kasında da sentez edilmekte ve bir çok kas fonksiyonunu etkilemektedir. Kas fibrilleri nitrik oksit sentaz izoformlarından birkaç tanesini içerirler. Tip I nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) hızlı liflerin sarkolemmasında, tip II nNOS (endotelial) olanı ise mitokondri ile ilişkilidir. İzole iskelet kası dinlenme konumunda düşük miktarda, tekrarlayıcı kontraksiyonda yüksek miktarda nitrik oksit üretir. Nitrik oksitin hücreler arası etkileşimi kas dokusunda vasodilatasyon ve lokosit adezyonlarını önleyerek oluşur. Nitrik oksit aynı zamanda direk olarak kas fibrillerinin hücre fonksiyonlarını değiştirerek etki yapar. Kas metabolizmasının nitrik oksite duyarlılığı; glukoz alınımı, glukozun mitokondriyal oksijen harcanımı ve kreatin kinaz aktivitesini etkiler. Nitrik oksit eksitasyon ve kontraksiyon çiftini değiştirerek kas kasılmasını da düzenler. Nitrik oksit etki mekanizması redoks sensitif regulator proteinlerin, endojen reaktif oksijen moleküllerinin ve ikincil mesajcı cGMP nin etkileşimi ile oluşur. Bugünkü bulgular iskelet kasının nitrik oksit ürettiğini ve endojen nitrik oksitin kas fonksiyonunu düzenlediğini göstermektedir. Bununla beraber nitrik oksitle ilgili bilinmeyen daha çok şey bulunur¹¹¹. İskelet kasında intraselüler NO düzeyi cGMP yoluyla düzenlenir¹¹². İskelet kasında NOS nitrik oksit oluşumunu katalize eder. NO glukoz metabolizmasını da düzenler¹¹³. Sıçan iskelet kasında NOS I kostamerik enzimdir. Çizgili kas liflerinde, farklı NO konsantrasyonları NO fonksiyonlarının göstergesidir¹¹⁴.

2.7.3. NO'in Metabolizması

NO, endotel hücrelerinden yarı ömrü 2 - 30 saniye olan kararsız bir bileşik olarak salınır^{94,107}. Salınan NO'in büyük bir bölümünün damar düs kas tabakasına diffüze olduğu, az bir miktarın ise damar lümenine doğru serbestleştiği düşünülür. Damar lümenine geçen NO, bir yandan trombositlerle etkileşirken diğer yandan çözünmüş oksijen ve oksijen radikalleri tarafından hızla inaktive edilir^{82,103}.

NO oksijen yokluğunda suda çözünen renksiz bir gazdır ve bu durumda oldukça karardır. NO havada doku harabiyeti oluşturan kahverengi bir gaz olan

nitrojen dioksiti oluşturmak üzere süratle O_2 ile reaksiyona girer. Sentezlenen NO' in bir kısmı yüksek afinitesinden dolayı hemoglobinle birleşerek methemoglobin oluşturur. NO'in hemoglobine olan afinitesi oksijenin hemoglobine olan afinitesinin yaklaşık 300 katıdır. Bu hemoglobine olan yüksek afinitesi O_2 'den önce hemoglobine bağlanmasına neden olur. Bu NO'in tedavi amaçlı inhiyasyon yoluyla verilmesine olanak sağlar⁹³.

NO damar düz kas hücrelerinde ve trombositlerde çözülmüş GS'i aktive ettikten sonra NO_2 'ye dönüştürülerek plazmaya verilir. Plazmaya verilen NO_2 ve kan içine difüze olan NO_2 alyuvarlar tarafından alınarak NO_3 'e oksitlenir. Oluşan NO_3 tekrar plazmaya verilerek böbrekler yoluyla atılır. Kanda bazal NO_2 konsantrasyonu düşük olup NO_3 konsantrasyonundan daha yüksektir. NO'nun yıkım ürünü olarak yaklaşık %90 NO_3 ve %10 NO_2 oluşur. NO_2 ve NO_3 'ün plazma ve idrardaki miktarları ölçülerek biyolojik sistemler tarafından sentezlenen NO miktarı tayin edilir⁸³.

3-MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Çalışmada Spraque-dawley türü sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar aynı tür besinden eşit miktarda verilerek beslendi. 185-270 g ağırlıklarında 12 dişi, 12 erkek sıçan kullanıldı. Sıçanların vücut ağırlıkları hassas elektronik terazi ile tartıldı. Dietilerle verilerek hafif anestezi yapıldı. Boyun dislokasyonu, suda boğarak ve alternatif şehir elektriği verilerek sıçanların hayatlarına son verildi. Boyun dislokasyonu ile öldürülen hayvanlarda, sıçanın boynu sert bir cisimle sıkıştırıldı, kuyruğundan çekilerek boynu koparıldı ve hemen ölüm oluştu. Elektrikle öldürmek için kablonun bir ucu şehir elektriğine diğer ucu sıçanın kuyruk ve sol ön bacağına bağlandı. 3-4 dakika sonra ölüm gerçekleşti. Suda boğup öldürmek için hayvan su dolu bir kabın içerisine konuldu ve su yüzeyine çıkması engellendi. Neticede 4-6 dakika içinde öldürüldü. Ölümden hemen sonra sağ taraf masseter, triceps ve quadriceps kasları çıkartılıp fascia ve tendonlar ayrıldı. Çıkartılan kaslar hassas elektronik terazide tartıldı. Hemen serum fizyolojikli buz içerisine konuldu. Cesetler supine pozisyonunda 21-22 °C de ölümden 120 dakika sonraya kadar tutuldu. Daha sonra sol taraf aynı kas örnekleri alınarak, aynı yöntemle donduruldu.

Alınan kas örnekleri bistüri ile parçalandı. Her bir örnek 6 ml 0.6N perklorik asitle homojenizatörde homojenize edildi. Elde edilen homojenat 3000 X g de 15 dk santrifuj edildi. Daha sonra elde edilen 5 ml süpernatant 5N KOH ile pH 4 den pH 6'ya nötralize edildi. Nötralize edilmiş süpernatantlar ayrı ayrı tüplere doldurularak deep freez'e konuldu.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Cihazlar

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddelerin adları ve temin edildikleri yerler aşağıda verilmiştir.

<u>Maddenin Adı</u>	<u>Temin Edildiği Firma</u>
Trietenolamin hidroklorid TEA. HCl	Boehringer Mannheim, Germany
Magnezyum sülfat MgSO ₄	Merck

Sodyum karbonat NaCO_3	Merck
Gliserat-3-fosfat trisikloheksil amonyumtuzugriserat-3-P(CHA) ₃	BoehringerMannheim, Germany
Redükte β -nikotin amit adenin dinükleotid NADH- Na_2	Boehringer Mannheim, Germany
Sodyum bikarbonat NaHCO_3	Merck
Gliseraldehid-3-fosfatdehidrogenaz GAP-DH	Boehringer Mannheim, Germany
3-fosfogliserad kinaz PGK	Boehringer Mannheim, Germany
Gliserol-3-Fosfat dehidrogenaz GDH	Boehringer Mannheim, Germany
Triosephosphale izomeraz	Boehringer Mannheim, Germany
Amonyum sülfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Merck
Potasyum Karbonat K_2CO_3	Fisher
Fosfoenol piruvat PEP	Boehringer Mannheim, Germany
Potasyum klorid KCl	Merck
Laktat Dehidrogenaz LDH	Boehringer Mannheim, Germany
Pirivat kinaz PK	Boehringer Mannheim, Germany
Miyokinaz MK	Boehringer Mannheim, Germany
Adenozun-5-Trifosfat Sodyum tuzu ATP- Na_2H_2	Boehringer Mannheim, Germany
D-Laktik asid /L-Laktik asid Enzymatic BioAnalysis (Kit)	Boehringer Mannheim, Germany
Nitrat-redüktaz	Boehringer Mannheim, Germany
Sülfanilamit	Boehringer Mannheim, Germany
N-(1-Naftil)-etilendiamin dihidroklorid	Sigma
Fosforik asid	Sigma
Flavin adenin dinükleotid(FAD)	Sigma
Redükte nikotin amid adenin dinükleotit fosfat(NADPH)	Sigma

Kullanılan Cihazlar	Marka, Firma ,Numarası
Hassas terazi	Mettler-HSI Gallenkomp
Karıştırıcı (vortex)	Vortex-Genie,Model K-550-GE
Magnetik karıştırıcı	Labincol-32-Made in Nedherlands
Elektronik terazi	Sartorius Basic Type BA 3105 made in Germany
Homojenizator	3480 Fisher Scienti made in U.S.A.
Spektrofotometre	UV-1208 UV/VIS Shimadzu
Spektrofotometre	UV-120-01 Shimadzu
Otomatik pipetler	Fisher,Oxford
Derin dondurucu	General Elektrik CB15 DEB 4.3 USA
Santrifüj	Internationa EquipmentCo. A.Divisionof Domon
Model EXD serial no:01717	
PH metre	Jenway 320 PH meter made in the U.K

3.2.Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışı

1. ATP analizi için tampon çözeltisi: (PH7,6, trietenolamin 0,5 mmol/L, magnezyum sülfat 4 mmol/L, Gliserat 3- fosfat 6 mmol/L) 0,32 gr gliserat-3-P (CHA)₃ alınıp 80 ml distile suda manetik karıştırıcı ile çözüldü. Sonra sırasıyla 7,88 gr TEA, 85 mg MgSO₄ ve 1,68 gr Na₂ CO₃ karıştırılarak eklendi ve toplam hacim redistile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2.Redükte β nikotinamid adenin dinükleotid çözeltisi: (NADH yaklaşık 2,5 mmol/L) 17,7 mg β -NADH, Na₂ ve 20,6 mg NaHCO₃ bir miktar redistile suda çözüldü ve toplam hacim redistile su ile 10 ml 'ye tamamlandı.

3.Enzim süspansiyonu: (GAP-DH 0.7 mg/ml; PGK 1,4 mg/ml, GDH 0.67 mg/ml ,TIM 0.13 mg/ml) 0,7 ml GAP-DH , 0,14 ml PGK, 70 μ l GDH ve 15 μ l TIM , 35 mg amonyüm sülfat alınıp bir miktar redistile suda çözüldü ve hacim 1 ml'ye tamamlandı.

4. ADP ve AMP analizi için tampon çözeltisi: (K_2CO_3 2 mol/lit, TEA .HCl 0.5 mol/lit) 9,3 g TEA.HCl ve 27,6 g K_2CO_3 alınıp bir miktar redistile suda çözüldü toplam hacim 100 ml 'ye tamamlandı.

5.Trietelanomin tamponu: (trietelanomin 0,1 mol/ml PH 7,5) 1,82 g TEA .HCl ve 0,25 g susuz $NaCO_3$ 'ü alınıp bir miktar redistile suda çözüldü hacim redistile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

6.Adenozin 5' trifosfat çözeltisi: (ATP, 1 mmol/lit) 12 mg ATP, 20 ml trietelanomin tamponunda çözüldü.

7.PEP/MgSO₄/KCL çözeltisi: (PEP-(CHA)₃) 10 mmol/l; KCl 1,3 mol/l; MgSO₄.7H₂O (0.4 mol/l). 46,5 mg PEP-(CHA)₃ 970 mg KCl ve 990 mg MgSO₄ .7H₂O alınıp bir miktar redistile suda çözüldü toplam hacim redistile su ile 10 ml tamamlandı.

8.NADH çözeltisi: (2,5 mmol/lit) 17,7 mg NADH-Na₂ tuzu 10 ml redistile suda çözümlenerek hazırlandı.

9. 0,6 N Perklorik asit çözeltisi: 25, 78 ml perklorik asit bir miktar redistile su ilave edilerek hacim 500 ml'ye tamamlandı.

10. 5 molar Patasyum Hidroksid Çözeltisi: 140 gr KOH alınıp bir miktar redistile suda çözüldü ve toplam hacim 500 ml'ye tamamlandı.

11. Gries Reaktifi: 0.25 gr sülfanilamid ,6.25 gr fosforik asid ve 0.025 gr N-(1-naftil)-etilendiamin alınarak bir beherde bir miktar redistile suda çözüldükten sonra balon jöjeye konularak hacim 250 ml 'ye tamamlandı.

12. Koenzim Solüsyonu: (50 μ mol NADPH, 5 μ mol FAD) 7.4 mgr NADPH 0.83 gr FAD bir miktar redistile suda çözüldü ve toplam hacim redistile su ile 200 ml' ye tamamlandı.

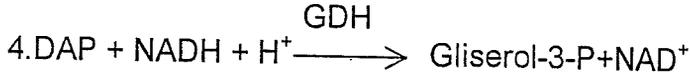
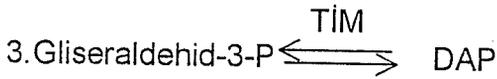
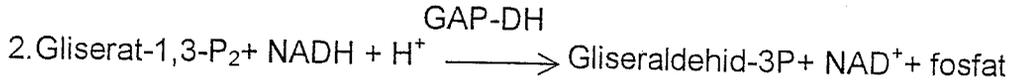
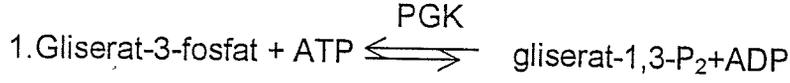
3.3.Yapılan Analizler

3.3.1. ATP Analizi

Örneklerdeki ATP konsantrasyonu spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Prensibi: 3-fosfogliserat kinazın varlığında gliserat-3-fosfatın fosforilasyonu için ATP kullanılır. Bu reaksiyonda oluşan gliserat-1,3-P₂ NADH varlığında gliseraldehit-3-fosfatdehidrogenaz'ın katalizlediği reaksiyonla

gliseraldehid-3-fosfata oksitlenir. Reaksiyon hızını ve sensibilesini artırmak için gliseraldehit-3-P trifosfat izomerazla dihidroaseton fosfata dönüştürülür. Bu da daha sonra NADH varlığında, gliserol-3-P dehidrogenazın katalizlediği reaksiyonla gliserol-3-fosfat'a indirgenir.



1. ve 4. Reaksiyolarda tüketilen NADH 'ların konsantrasyonu numunede bulunan ATP 'nin konsantrasyonunun 2 katına eşittir. NADH ölçülen bir parametredir ve 340 nm'de absoransı tespit edilir.

Deneyin yapılışı:

	Kör	Numune
Tampon çözeltisi (1)	2.00 ml	2.00 ml
NADH çözeltisi	0.20 ml	0.20 ml
Süpernatant	-	0.20 ml
Redistile su	0.20 ml	-

Karıştırılır ve 2-3 dakika sonra 339 nm absoransı okunur (A_1). Enzim süspansiyonunun eklenmesi ile reaksiyon başlar.

Enzim süspansiyonu	0.02 ml	0.02 ml
--------------------	---------	---------

Karıştırılır, oda sıcaklığında 10 dk inkübasyondan sonra 339 nm'de absoransı okunur (A_2).

Sonuçların hesaplanması ;

Numune ve kör için ($A_1 - A_2$) farkı hesaplandı.

$$\Delta A_{\text{numune}} = A_1 - A_2$$

$$\Delta A_{\text{kör}} = A_1 - A_2$$

$$\Delta A = \Delta A_{\text{numune}} - \Delta A_{\text{kör}}$$

ATP nin belirlenmesinde kullanılan reaksiyon dizelerinde bir mol ATP harcanırken iki mol NADH harcandı. Bundan dolayı tüketilen NADH'ın konsantrasyonu substrat miktarının yarısına eşittir.

$$C = \frac{V \times MW \times F}{\epsilon \times d \times v \times 2} \times \Delta A \text{ mg/l}$$

v= Numune hacmi (ml)

V= Test hacmi (ml)

MW=Molekül ağırlığı (g/mol.)

d= Işık yolu (cm)

ϵ = NADH'ın absorpsiyon katsayısı 339 nm'de $6.3 [l \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}]$

F= Dilüsyon faktörü

$$(1.0 \times 1.06 \times 0.8) + 4.0$$

$$F = \frac{(1.0 \times 1.06 \times 0.8) + 4.0}{1.0} = 4.848$$

$$C = \frac{2.42 \times 507.2 \times 4.848}{\epsilon \times 1 \times 0.2 \times 2} \times \Delta A = \frac{14876}{\epsilon} \times \Delta A$$

$$C_{\text{ATP}}(\text{mg/ g yaş kas dokusu}) = 2361 \times \Delta A$$

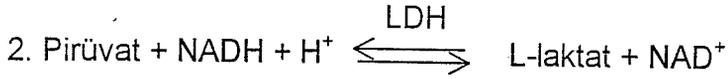
3.3.2. ADP ve AMP Analizi:

Örneklerdeki ADP ve AMP konsantrasyonu spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Prensibi: Pirüvat kinazın katalizlediği reaksiyonla ADP, fosfoenol pirüvatla fosforillenerek ATP elde edilir.

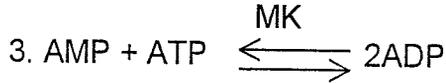


Bu reaksiyonda pirüvat miktarının ADP konsantrasyonuna eşit olduğu kabul edilir. Pirüvat LDH'in katalizlediği reaksiyonla NADH+H⁺ varlığında laktata indirgenir.



İkinci reaksiyonda kullanılan NADH'in miktarı pirüvat konsantrasyonuna buradan da ADP konsantrasyonuna eşittir.

AMP aynı reaksiyon karışımı kullanılarak tayin edilir. ATP varlığında, miyokinazın katalizlediği bir reaksiyonla AMP ADP'ye dönüştürülür.



Reaksiyon ürünü olan iki ADP birinci ve ikinci reaksiyonlara göre çevrilir. NADH seviyesi 339 nm'de ölçülerek miktar tayini yapılır.

Deneyin Yapılışı:

Süpernatant	2.00 ml
PEP/MgSO ₄ /KCl çözeltisi	0.20 ml
NADH çözeltisi	0.20 ml
LDH süspansiyonu	0.02 ml

Karıştırılır. 5 dk oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 339 nm'de absorbans ölçülür (A₁). Aşağıdaki eklemeye reaksiyon başlatılır.

Pirüvat kinaz reaksiyonu	0.02 ml
--------------------------	---------

Karıştırılır. 5 dk beklenir. 339 nm'de absorbans ölçülür (A₂). Sonra aşağıdaki ekleme yapılır.

Miyokinaz süspansiyonu	0.02 ml
------------------------	---------

Karıştırılır. Oda sıcaklığında 10 dk inkübasyondan sonra 339 nm'de absorbans ölçülür (A_3).

Kör olarak hazırlanan tüpe numune olarak kullanılan süpernatant yerine 1,9 ml trietonolamin ve 0,1 ATP çözeltisi kullanıldı. Diğer işlemler aynen uygulandı.

Sonuçların hesaplaması:

$$\Delta A_{ADP} = (A_1 - A_2)_{\text{numune}} - (A_1 - A_2)_{\text{kör}}$$

$$\Delta A_{AMP} = (A_2 - A_3)_{\text{numune}} - (A_2 - A_3)_{\text{kör}}$$

$$C = \frac{V \times MW \times F}{\epsilon \times d \times v} \Delta A \text{ mg / l}$$

V = Test hacmi (ml) v = Numune hacmi (ml)

MW = Molekül ağırlığı (g/mol.) d = Işık yolu (cm)

ϵ = NADH'in absorbans katsayısı 339 nm'de $6.3 [l \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}]$

F = Dilüsyon faktörü

$$F = \frac{(5.0 \times 1.06 \times 0.8) + 5.0}{5.0} \times \frac{6}{5} = 2.22$$

$$C_{ADP} = \frac{2.44 \times 427.2 \times 2.22}{\epsilon \times 1 \times 2.0} \times \Delta A_{ADP} = \frac{1157}{\epsilon} \times \Delta A_{ADP}$$

$$C_{ADP}(\text{mg/ g yaş kas dokusu}) = 183.7 \times \Delta A$$

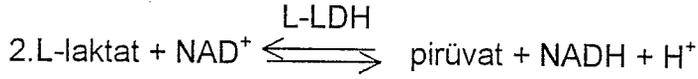
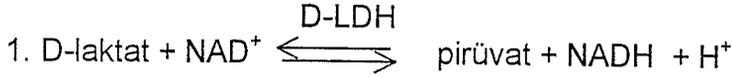
$$C_{AMP} = \frac{2.46 \times 347.2 \times 2.22}{\epsilon \times 1 \times 2.0 \times 2} \times \Delta A_{AMP} = \frac{474.0}{\epsilon} \times \Delta A_{AMP}$$

$$C_{AMP}(\text{mg/ g yaş kas dokusu}) = 75.24 \times \Delta A$$

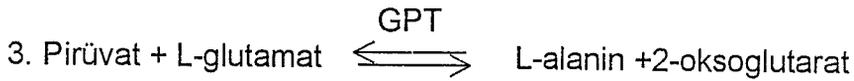
3.3.3. Laktik Asit Analizi:

Numunelerdeki laktik asit konsantrasyonu spektrofotometri olarak belirlendi. Hazır ticari kit kullanıldı. (Boehringer Mannheim, Enzymatic bioanalysis, cat no.1112821).

Prensibi: Laktat dehidrogenaz enzimi ile D-laktat ve L-laktat NAD^+ varlığında pirüvata oksitlenir.



Bu reaksiyonların yönü laktat lehinedir. Fakat daha sonraki bir reaksiyonda L-glutamat 'ın varlığında glutamat - pirüvat transaminaz enzimi tarafından katalizlenen bir reaksiyonla pirüvat, L-alanin ve 2-oksoglutarat 'a dönüştürülür. Böylece yukardaki denge pirüvat + NADH lehine kayar.



Yukardaki reaksiyonlarda oluşan NADH 'ın miktara D-laktik, L-laktik asit miktarına eşittir. NADH'daki artış 340 nm ışık absorbansı vasıtasıyla ölçüldü.

Deneyin Yapılışı:

	Kör	Numune
L-glutamik asid çözeltisi	1.000 ml	1.000 ml
NAD çözeltisi	0.200 ml	0.200 ml
Glutamat pirüvat transaminaz süspansiyonu	0.020 ml	0.020 ml
Süpernatant	-	0.100 ml
Redistile su	1.000 ml	0.900 ml

Karıştırılır. Oda sıcaklığında 5 dk bekletilir. 340 nm'de absorbans okunur (A_1).

	Kör	Numune
D-laktat dehidrogenaz çözeltisi	0.020 ml	0.020 ml

Karıştırılır. Oda sıcaklığında 30 dk inkübe edilir. 340 nm'de absorban okunur (A_2).

	Kör	Numune
L-laktat dehidrogenaz çözeltisi	0.020 ml	0.020 ml

Karıştırılır ve oda sıcaklığında 30 dk inkübe edilir. 340 nm'de absorban okunur (A_3).

Sonuçların Hesaplanması:

Numune ve kör için hesaplamalar aşağıdaki şekilde yapıldı.

$$A_2 - A_1 = \Delta A_{D\text{-Laktik asit}}$$

$$A_3 - A_2 = \Delta A_{L\text{-laktik asit}}$$

$$\Delta A_{\text{numune}} = \Delta A_{L\text{-laktik asit}} - \Delta A_{D\text{-laktik asit}}$$

$$\Delta A = \Delta A_{\text{numune}} - \Delta_{\text{kör}}$$

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ [g/l]}$$

V= Toplam hacim v= numune hacmi

MW= molekül ağırlığı (g/mol)

d= ışık yolu (cm)

ϵ = NADH'in absorban katsayısı 340 nm'de 6.3 [$l \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$]

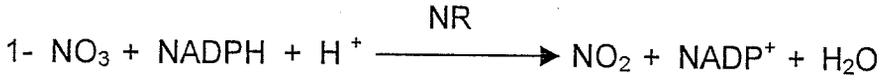
$$C = \frac{2.240 \times 90.1}{\epsilon \times 1.00 \times 0.100 \times 1000} \times \Delta A = \frac{2.018}{\epsilon} \times \Delta A \text{ [g L-laktik asid/g yaş kas dokuda]}$$

3.3.4. NO Analizi

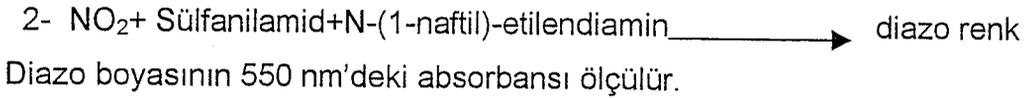
Çalışmamızda NO tayini kolorimetrik metod ile yapıldı.

Deneyin prensibi : Oldukça kısa ömürlü bir radikal olan NO hızla NO_2 ve NO_3 'a okside olmaktadır. Bu nedenle NO miktarı belirlenirken NO_2 ve NO_3 miktarı ölçülmektedir. Özellikle NO_2 'in Griess reaktifiyle etkileşmesi sonucunda oluşan rengin absorbansının belirlenmesi oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Mevcut NO_3 'ta ya kadmiyum kolonu, yada nitrat redüktazla NO_2 'e indirgendikten sonra ölçülmektedir.

Deneyin prensibi ,nitrit üzerinden NO miktarının belirlenmesi esasına dayanır. Numunede mevcut nitrat (NO_3), nitrat redüktaz (NR)'in varlığında $\text{NADPH} + \text{H}^+$ la NO_2 'e indirgenir (Reaksiyon 1).



Oluşan NO_2 , sülfanilamid, N-(1-naftil)-etilendiamin dihidroklorid (Griess reaktifi) ile reaksiyona girerek kırmızı-menekşe renkli diazo boyası oluşturur (Reaksiyon 2).



Deneyin Yapılışı :

İnkübasyon karışımının hazırlanması

	Kör	Numune	Standart
Süpernatant	-	500 μl	-
Standart Sol KNO_3	-	-	500 μl
Redistile su	500 μl	-	-
Koenzim Solüsyonu	50 μl	50 μl	50 μl
Karıştırılır ve 1 dakika beklenir.			
Nitrat Redüktaz	20 μl	20 μl	20 μl
Karıştırılır ve 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir.			

Ölçüm :

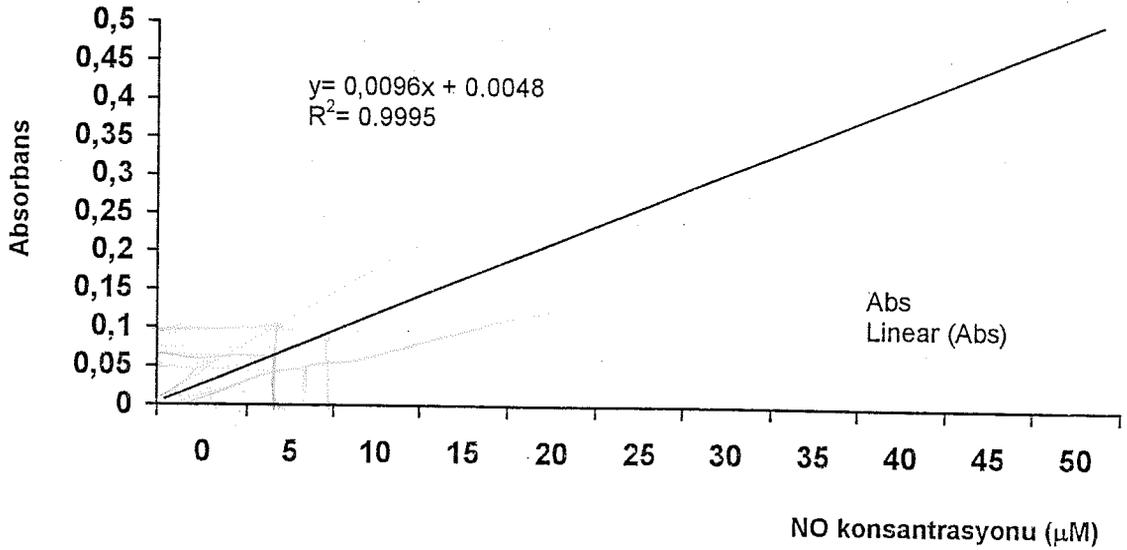
	Kör	Numune	Standart
İnkübasyon Karışımı	150 µl	150 µl	150 µl
Griess Reaktifi	150 µl	150 µl	150 µl
Karıştırılır ve 1 dakika beklenir.			

Sonuçların Hesaplaması :

$$\Delta A_{\text{Sample}} = \Delta A_{\text{Sample}} - \Delta A_{\text{Blank}}$$

$$\Delta A_{\text{Standart}} = \Delta A_{\text{Standart}} - \Delta A_{\text{Blank}}$$

6 adet standardın absorpsiyonları kullanılarak çizilen standart eğriden (Şekil:3.1) numunelerdeki NO konsantrasyonu tesbit edildi. Test 0,28-80 µM nitrat konsantrasyonlarında lineerdir.



Şekil 3.1. Nitrik oksit standart grafiği

4-BULGULAR

Bu çalışmada; Sprague-dawley türü (185-270 g ağırlıklarında 12 dişi, 12 erkek) sıçan kullanıldı. Sırasıyla sıçanlar boyun dislokasyonu (4 erkek, 4 dişi) , suda boğarak (4 erkek, 4 dişi) ve alternatif şehir elektriği verilerek (4 erkek, 4 dişi) hayatlarına son verildi. Boyun dislokasyonu ile öldürülen sıçanlar kontrol grubu (normal grup) kabul edildi. Ölümden hemen sonra sağ taraf masseter, triceps ve quadriceps kasları çıkartıldı. ölümden 120 dakika sonra sol taraf aynı kasları çıkartıldı. Çıkartılan her 2 kas grubunda ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonları tayin edildi. Elde edilen değerlerin ortalaması (\bar{X}) ve standart sapması (SD) hesaplandı. (Tablo 4.1.)

Kontrol grubu, elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen sıçanların hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) kaslarında ATP, ADP, AMP, laktik asit, nitrik oksit konsantrasyonlarının p ve t değerleri bulundu. (Tablo 4.2.)

Kontrol grubu ile elektrik çarpması, kontrol grubu ile suda boğma ve elektrik çarpması ile suda boğma arasında; ATP, ADP, AMP, laktik asit, nitrik oksit konsantrasyonlarının ayrı ayrı hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) p ve t değerleri tespit edildi. (Tablo 4.3.)

Tablo 4.1: Normal, elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen sıçanların kaslarında parametrelerin $\bar{X} \pm SD$ değerleri

	KONTROL (N=8)	ELEKTRİK ÇARPMASI (N=8)	SUDA BOĞMA (N=8)
ATP masseter 1	46.34±13.41	37.04 ± 14.21	27.83 ± 6.59
ATP masseter 2	23.12 ± 2.35	7.00 ± 2.65	14.37 ± 4.17
ATP triceps 1	70.74 ± 1.41	38.37 ± 17.76	27.30 ± 8.63
ATP triceps 2	52.56 ± 7.62	8.73 ± 4.74	12.57 ± 4.87
ATP quadriceps 1	53.91 ± 9.39	39.11 ± 14.64	27.98 ± 8.27
ATP quadriceps 2	34.08 ± 3.95	3.18 ± 1.77	12.51 ± 1.77
ADP masseter 1	20.61 ± 2.20	20.22 ± 7.46	17.34 ± 5.48
ADP masseter 2	16.65 ± 3.87	14.30 ± 5.18	10.05 ± 2.28
ADP triceps 1	20.48 ± 6.22	12.48 ± 3.00	8.47 ± 2.50
ADP triceps 2	24.89 ± 6.07	16.61 ± 4.16	12.35 ± 3.25
ADP quadriceps 1	18.43 ± 3.6	14.84 ± 3.39	9.73 ± 3.50
ADP quadriceps 2	24.01 ± 4.40	17.96 ± 5.61	11.02 ± 3.64
AMP masseter 1	45.00±10.55	29.55 ± 11.64	25.63 ± 7.03
AMP masseter 1	51.21±11.29	36.34 ± 12.74	31.90 ± 6.80
AMP triceps 1	45.93±11.08	25.70 ± 7.32	15.72 ± 3.39
AMP triceps 2	51.70±12.16	35.96 ± 10.94	21.00 ± 5.47
AMP quadriceps 1	33.71± 3.60	20.80 ± 5.25	23.10 ± 7.90
AMP quadriceps 2	47.16 ± 4.40	30.05 ± 9.16	28.27 ± 6.51
LAKTİKA massete1	43.44±12.34	293.75 ± 33.46	200.50±54.28
LAKTİKA massete2	423.5±55.87	339.63 ± 45.14	234.54±37.96
LAKTİKA. Triceps 1	46.22 ± 8.17	218.75 ± 30.33	183.30 ± 49.48
LAKTİKA. Triceps 2	375.0±37.12	257.50 ± 35.36	188.38 ± 51.08
LAKTİKAquaricep1	47.96 ± 7.27	171.50 ± 17.73	172.75 ± 24.70
LAKTİKAquaricep2	427.8±50.82	217.88 ± 31.47	239.88 ± 38.12
NİTRİKO. Masseter1	106.88±32.4	78.54 ± 26.52	105.4 ± 34.01
NİTRİKO. Masseter2	63.68 ± 0.63	45.30 ± 27.79	78.04 ± 36.51
NİTRİK O. Triceps 1	103.49±16.3	44.26 ± 19.29	48.40 ± 22.16
NİTRİK O. Triceps 2	57.76 ± 6.77	24.93 ± 7.09	31.07 ± 13.07
NİTRİKO. quadricep1	97.95±13.70	36.59 ± 20.94	71.95 ± 33.90
NİTRİKO. quadricep2	58.05±17.67	18.75 ± 14.43	38.80 ± 13.76

Tablo 4.2 : Kontrol, elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen sıçanlarda ölüm sonrası (1) ve 120 dakika sonrası (2) kaslarındaki parametrelerin 'p ve t' değerleri

		KONTROL (n=8)		ELEKTRİK ÇARPMASI (n=8)		SUDA BOĞMA (n=8)	
		p	t	p	t	P	t
ATP	Masseter ½	0,000	7,66	0,000	7,12	0,000	13,22
	Triceps ½	0,004	4,30	0,000	7,63	0,000	7,45
	Quadriceps ½	0,001	5,79	0,000	7,83	0,000	6,17
ADP	Masseter ½	0,004	4,15	0,017	3,13	0,003	4,57
	Triceps ½	0,000	6,76	0,007	3,76	0,000	6,93
	Quadriceps ½	0,000	8,56	0,097	1,91	0,007	3,82
AMP	Masseter ½	0,000	7,06	0,007	3,82	0,000	7,42
	Triceps ½	0,002	4,66	0,006	3,88	0,003	4,32
	Quadriceps ½	0,001	5,61	0,005	3,96	0,018	3,06
LAKTİK ASİT	Masseter ½	0,000	20,60	0,000	6,32	0,096	1,92
	Triceps ½	0,000	25,14	0,000	12,5	0,503	0,71
	Quadriceps ½	0,000	19,47	0,000	6,78	0,000	6,14
NİTRİK OKSİT	Masseter ½	0,000	6,96	0,000	15,4	0,016	3,14
	Triceps ½	0,000	12,89	0,008	3,63	0,011	3,41
	Quadriceps ½	0,000	9,12	0,000	7,08	0,003	4,32

Tablo 4.3 : Kontrol ,elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen sıçanların kaslarında ki parametrelerin p ve t değerleri

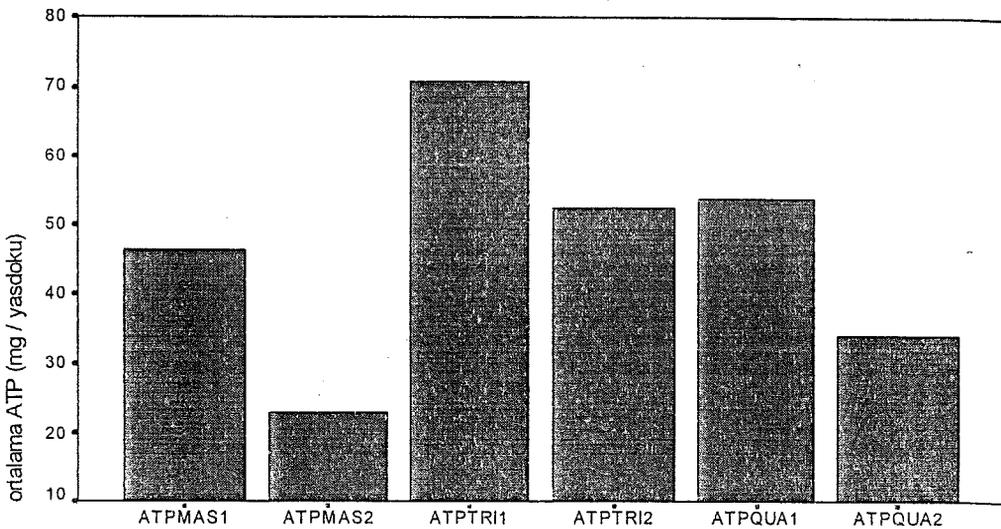
	KONTROL/ ELEKTRİK ÇARPMASI		KONTROL/ SUDA BOĞMA		ELEKTRİK ÇARPMASI/ SUDA BOĞMA	
	p	t	p	T	p	t
ATP masseter 1	0,2936	1,35	0,0087	3,50	0,1722	1,66
ATP masseter 2	0,0357	3,61	0,0925	1,90	0,0016	4,22
ATP triceps 1	0,0023	4,91	0,0008	8,59	0,0929	1,83
ATP triceps 2	0,0008	6,73	0,0008	6,19	0,1152	1,59
ATP quadriceps 1	0,0929	1,72	0,0087	3,48	0,0587	1,87
ATP quadriceps 2	0,0008	6,22	0,0023	4,34	0,0008	10,69
ADP masseter 1	0,5286	0,14	0,2480	1,57	0,4945	0,88
ADP masseter 2	0,2076	1,03	0,0045	4,16	0,0927	2,13
ADP triceps 1	0,0209	3,19	0,0011	4,98	0,0117	2,90
ADP triceps 2	0,0157	3,19	0,0016	5,15	0,0274	2,28
ADP quadriceps 1	0,0587	2,09	0,0023	4,94	0,0157	2,96
ADP quadriceps 2	0,0460	2,49	0,0011	6,43	0,0117	2,97
AMP masseter 1	0,0157	2,70	0,0023	4,32	0,3446	0,91
AMP masseter 1	0,0357	2,47	0,0016	4,14	0,2936	0,87
AMP triceps 1	0,0023	4,31	0,0008	7,37	0,0046	3,50
AMP triceps 2	0,0117	2,83	0,0008	6,51	0,0117	3,32
AMP quadriceps 1	0,0011	4,63	0,0086	3,05	0,8336	0,68
AMP quadriceps 2	0,0033	3,77	0,0016	4,82	0,9164	0,45
LAKTİKAmassete1	0,0008	19,85	0,0008	7,98	0,0074	4,14
LAKTİKAmassete2	0,0087	3,30	0,0008	8,04	0,0011	5,18
LAKTİKA. Triceps 1	0,0008	15,54	0,0008	7,73	0,0458	1,73
LAKTİKA. Triceps 2	0,0008	6,74	0,0008	8,57	0,0099	3,15
LAKTİKAquaricep1	0,0008	18,39	0,0008	13,71	0,9160	0,002
LAKTİKAquaricep2	0,0008	9,93	0,0008	8,97	0,0729	1,26
NİTRİKO. Masseter1	0,1415	1,92	0,7527	0,09	0,2076	1,76
NİTRİKO. Masseter2	0,4008	1,29	0,5632	1,14	0,1152	2,02
NİTRİK O. Triceps 1	0,0011	6,63	0,0011	5,66	0,5992	0,40
NİTRİK O. Triceps 2	0,0008	9,47	0,0008	5,13	0,3446	1,17
NİTRİKO.quadricep1	0,0011	6,91	0,0929	2,00	0,0357	2,51
NİTRİKO.quadricep2	0,0023	4,87	0,0742	2,05	0,0357	2,32

4.1. Çalışılan Beş Parametreye Ait Bulgular

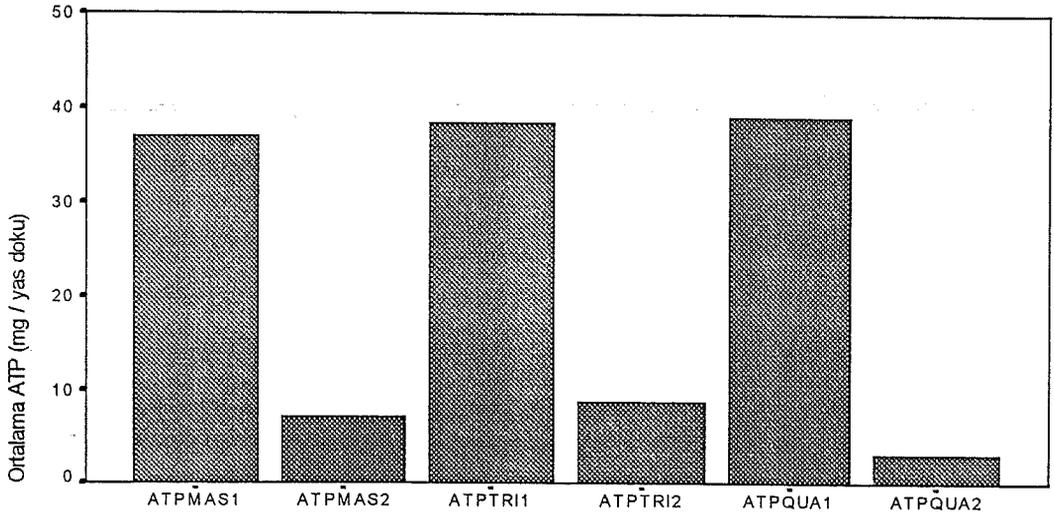
4.1.1. ATP : Kontrol grubundaki masseter, triseps ve quadriseps kaslarının ölümden 120 dakika sonra ölçülen ATP konsantrasyonları, hemen sonra ölçülen ATP konsantrasyonundan daha düşüktü ve her bir kas için anlamlıydı ($p<0.05$). Ölümden hemen sonra ve ölümden 120 dakika sonra ATP değerleri her kas grubunda farklı bulundu. Ölümden 120 dakika sonra masseter kasında ATP seviyesi triseps ve quadriseps kaslarına göre daha fazla düşük bulundu. (Şekil 4.1)

Elektrik çarpması sonucu öldürülen sıçanların ölümden 120 dakika sonra ATP konsantrasyonları, hemen sonraki ATP konsantrasyonuna göre daha düşüktü ve düşüş her bir kas için anlamlı bulundu ($p<0.05$). Bu üç grup kasın ölümden hemen sonraki ATP konsantrasyonları eşitti. Fakat ölümden 120 dakika sonraki ATP konsantrasyonlarında düşüş her bir kas için farklı bulundu. En fazla düşüş quadriseps kasındaydı. (Şekil 4.2.)

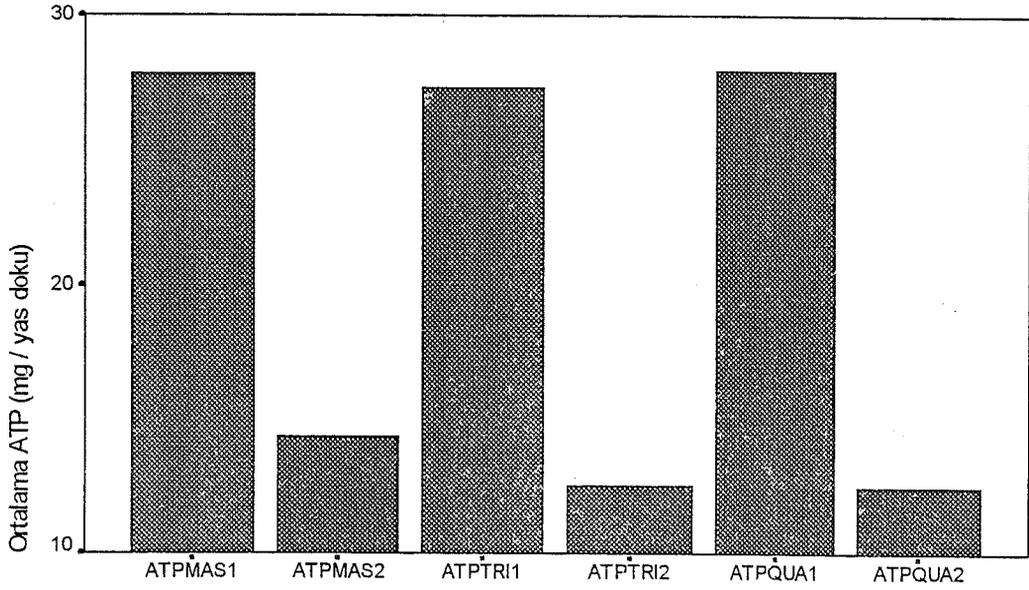
Suda boğarak öldürülen sıçanlarda üç farklı kasta ölümden 120 dakika ölçülen ATP konsantrasyonları ölümden hemen sonraki ATP seviyelerinden düşüktü ve aralarındaki fark anlamlı idi ($p<0.05$). Bu kasların ölümden hemen sonraki ATP seviyeleri eşitti. Ölümden 120 dakika sonraki ATP seviyelerindeki düşüş her bir kasta yaklaşık olarak aynı idi. (Şekil 4.3.)



Şekil 4.1. Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki ATP değerlerinin grafiği



Şekil 4.2. Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki ATP değerlerinin grafiği

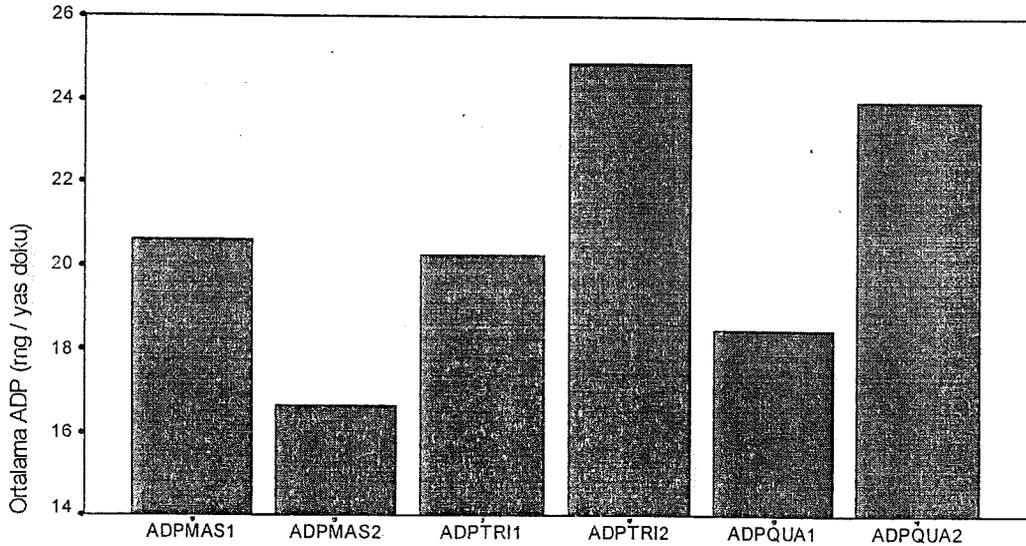


Şekil 4.3. Suda boğma ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki ATP değerlerinin grafiği

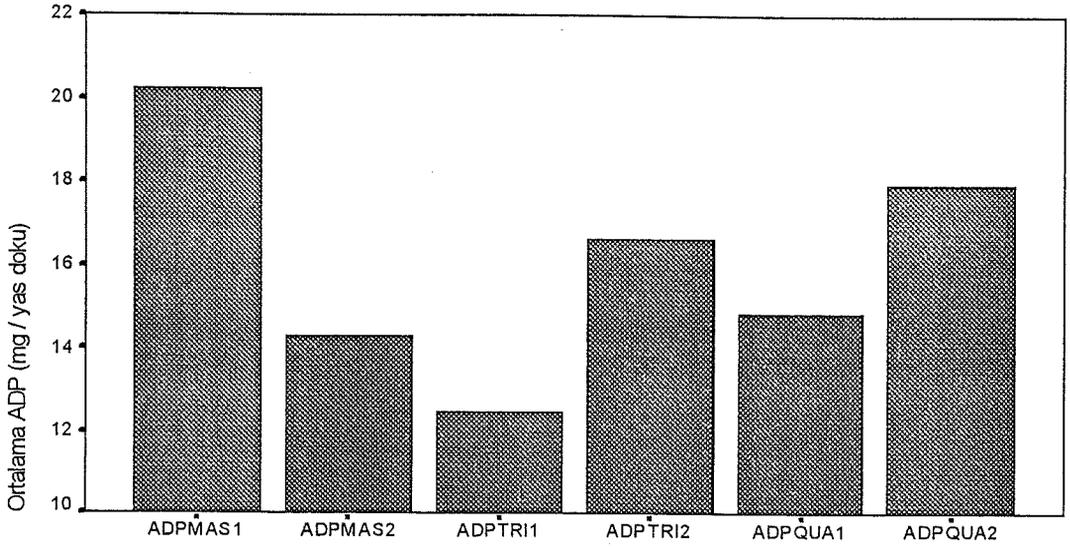
4.1.2. ADP: Kontrol grubunda triseps ve quadriseps kaslarının ölümden 120 dakika sonrası, ölümden hemen sonraya göre ADP konsantrasyonları arttı; yükseklik anlamlı idi ($p<0.05$). Kontrol grubu ADP konsantrasyonu triseps ve quadriseps kaslarında ölümden 120 dakika sonra, ölümden hemen sonraya göre yüksekti. Masseter kasında ise ölümden 120 dakika sonra ADP konsantrasyonunda düşüş oldu. (Şekil 4.4.)

Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların ölümden 120 dakika sonra ölçülen ADP konsantrasyonları ölümden hemen sonraki değerlere göre triseps ve quadriseps kasında arttı. Yalnızca triseps kasında artış anlamlı idi ($p<0.05$). ADP en yüksek masseter kasında ölçüldü ve bu kas da ölümden 120 dakika sonra ADP konsantrasyonu düştü. (Şekil 4.5.)

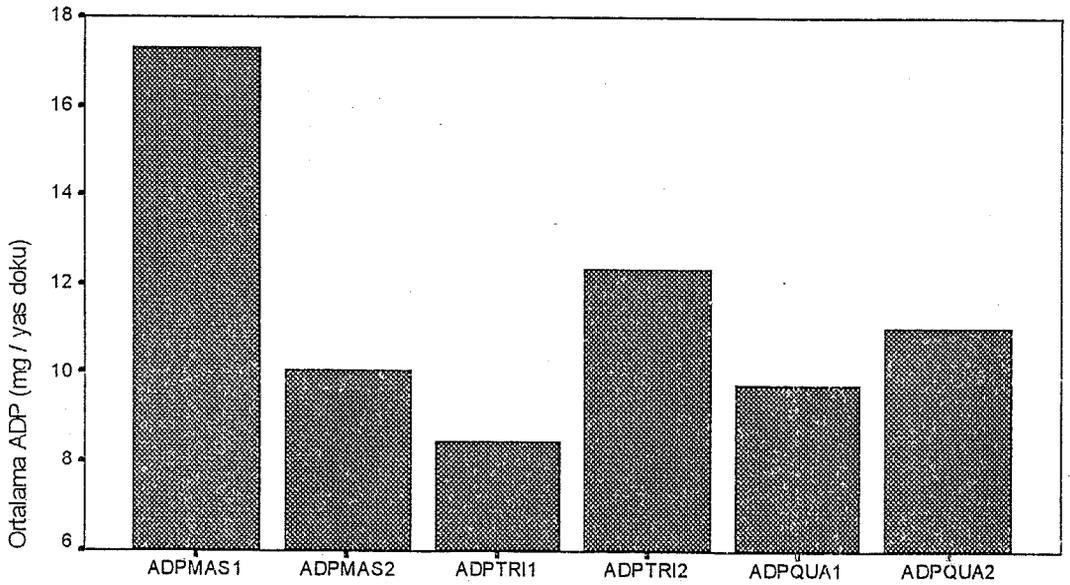
Suda boğarak öldürülen sıçanların triseps ve quadriseps kaslarının ölümden hemen sonra ile ölümden 120 dakika sonra ölçülen ADP konsantrasyonlarında ki artış anlamlı idi ($p<0.05$). ADP konsantrasyonu en yüksek masseter kasında bulundu. Ölümden 120 dakika sonra triseps ve quadriseps kaslarında ADP konsantrasyonunda artış, masseter kasında ise düşüş gözlemlendi. (Şekil 4.6.)



Şekil 4.4. Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki ADP değerlerinin grafiği



Şekil 4.5. Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki ADP değerlerinin grafiği

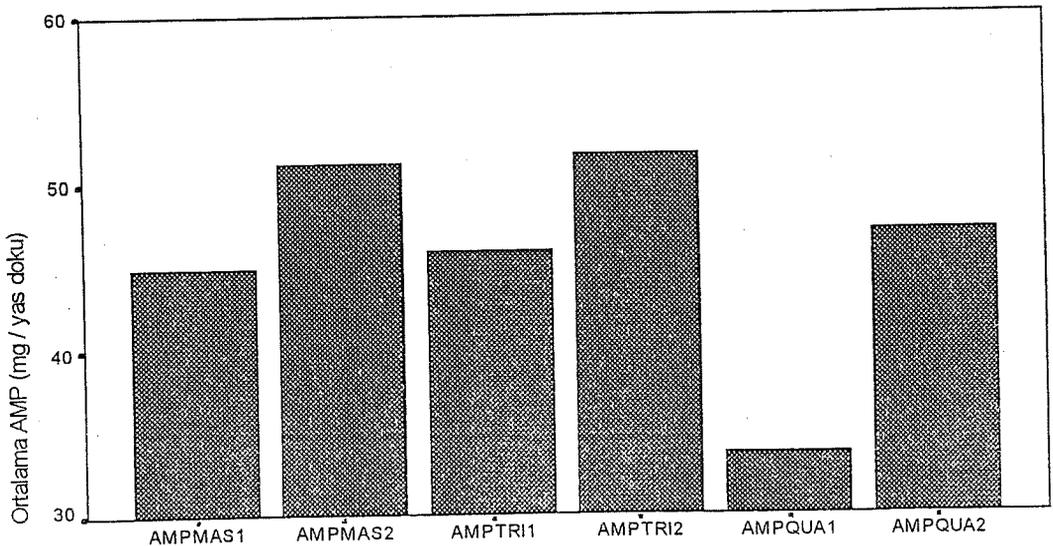


Şekil 4.6. Suda boğma ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki ADP değerlerinin grafiği

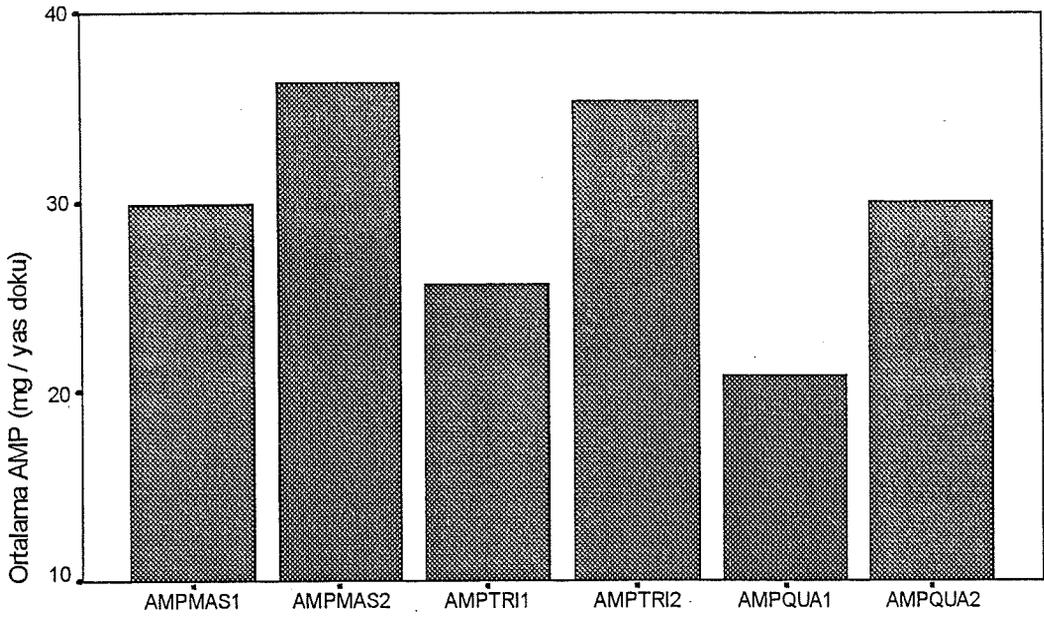
4.1.3. AMP: Kontrol grubunda masseter ve quadriseps kaslarının ölümden hemen sonra ile ölümden 120 dakika sonra ölçülen AMP konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında artış anlamlı bulundu. ($p < 0.05$) Ölümden hemen sonra üç farklı kasta ölçülen AMP seviyesi en düşük quadriseps kasındaydı. Ölümden 120 dakika sonra AMP konsantrasyonları ölümden hemen sonraya göre her 3 kasta arttı. En çok artış masseter kasında tespit edildi. (Şekil 4.7.)

Elektrik çarpması sonucu öldürülen sıçanların her 3 kasında ölümden hemen sonra ile ölümden 120 dakika sonraki AMP konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında artış anlamlı idi ($p < 0.05$). Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların ölümden hemen sonra AMP konsantrasyonu en yüksek masseter en düşük quadriseps kasında tespit edildi. Ölümden 120 dakika sonra AMP miktarları arttı. (Şekil 4.8.)

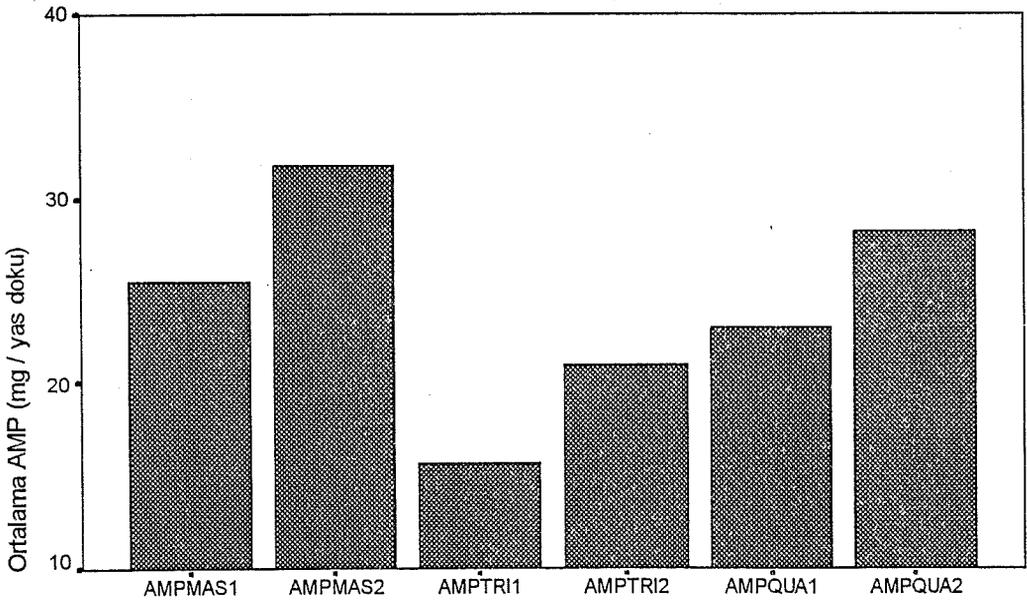
Suda boğarak öldürülen sıçanların her üç kasında ölümden hemen sonra ile ölümden 120 dakika sonraki AMP konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında artış anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Suda boğarak öldürülen sıçanların ölümden hemen sonra ölçülen AMP konsantrasyonları her bir kasta farklı bulundu. AMP konsantrasyonu en yüksek masseter kasında idi. Ölümden 120 dakika sonra ise her bir kasta AMP miktarları farklı seviyelerde artış gösterdi. (Şekil 4.9.)



Şekil 4.7. Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki AMP değerlerinin grafiği



Şekil 4.8. Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki AMP değerlerinin grafiği

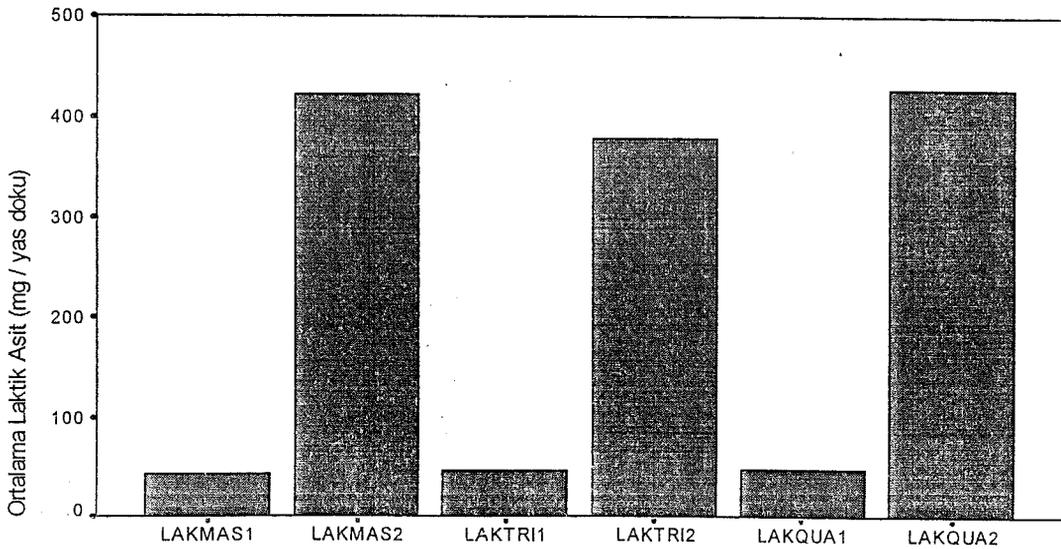


Şekil 4.9. Suda boğma ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden sonra 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki AMP değerlerinin grafiği

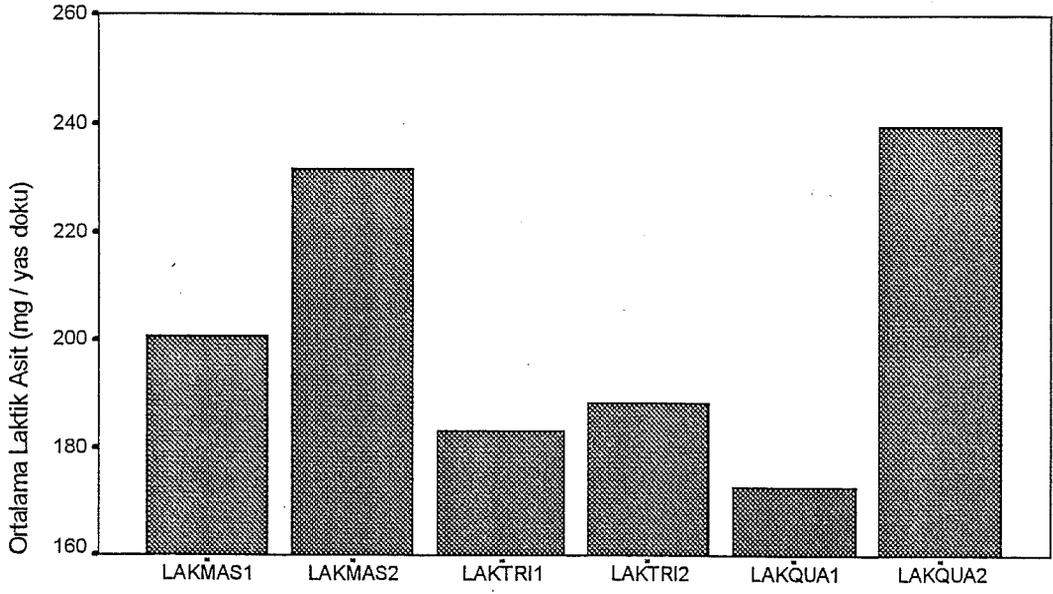
4.1.4. Laktik Asit: Kontrol grubunda her üç kasın ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonları ölümden hemen sonraki laktik asit konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu. Bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Kontrol grubunda bulunan kasların ölümden hemen sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonları eşitti. Ölümden 120 dakika sonra laktik asit konsantrasyonları her üç kas grubunda yüksek tespit edildi. (Şekil 4.10)

Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların her 3 kasında ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonları ölümden hemen sonraki laktik asit konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu. Bu yükseklik her üç kas grubunda da anlamlıydı ($p < 0.05$). Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların ölümden hemen sonraki laktik asit konsantrasyonları her kas grubu için farklı bulundu. Ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonu en yüksek masseter kasında idi. (Şekil 4.11.)

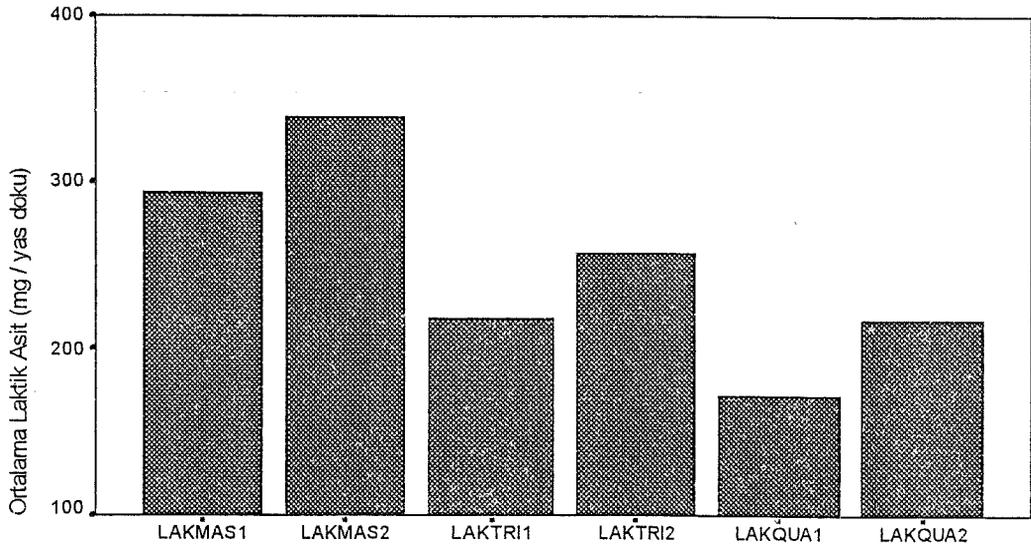
Suda boğma ile öldürülen sıçanların her 3 kasında ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonları ölümden hemen sonraki laktik asit konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu. Ancak bu yükseklik sadece quadriseps kasında istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Suda boğma ile öldürülen sıçanların ölümden hemen sonraki laktik asit konsantrasyonları her kas grubu için farklı bulundu. Ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonu en düşük triseps kasında idi. (Şekil 4.12.)



Şekil 4.10. Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki laktik asit değerlerinin grafiği



Şekil 4.11. Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki laktik asit değerlerinin grafiği

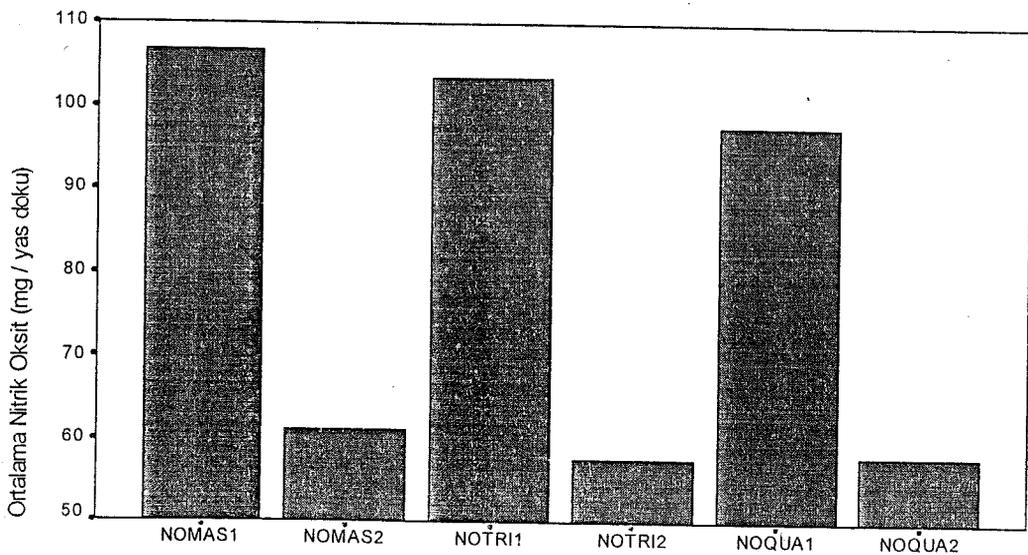


Şekil 4.12. Suda boğma ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki laktik asit değerlerinin grafiği

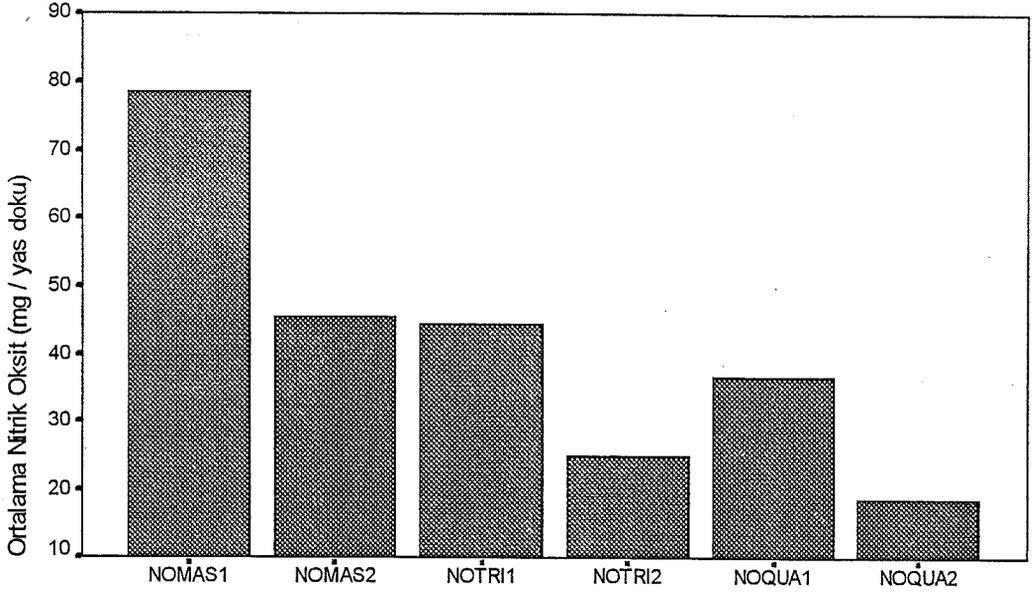
4.1.5. Nitrik Oksit: Boynu koparılarak öldürülen sıçanların her üç kasında ölümden hemen sonra ile ölümden 120 dakika sonraki nitrik oksit konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında düşüş olup; bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Üç ayrı kasta ölümden hemen sonra ölçülen nitrik oksit konsantrasyonları yaklaşık olarak aynı idi. Ölümden 120 dakika sonraki nitrik oksit konsantrasyonları da aynı olup; ölümden hemen sonrasına göre daha düşük bulundu. (Şekil 4.13.)

Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda, ölümden hemen sonra ve ölümden 120 dakika sonra ölçülen nitrik oksit konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında her 3 kas grubunda azalma istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p<0.05$). Ölümden hemen sonra ölçülen nitrik oksit konsantrasyonları her bir kas için farklı bulundu. En yüksek masseter kasındaydı. Ölümden 120 dakika sonra nitrik oksit seviyelerinde düşüş gözlemlendi. (Şekil 4.14.)

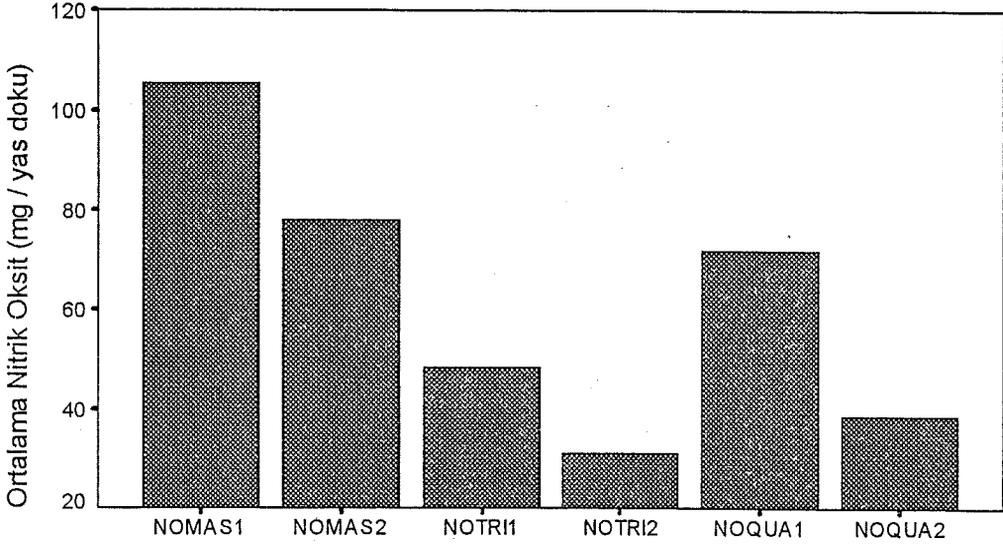
Suda boğarak öldürülen sıçanların her üç kasında ölümden hemen sonra ile ölümden 120 dakika sonraki nitrik oksit konsantrasyonlarının karşılaştırılmasında düşüş olup; bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Üç ayrı kasta ölümden hemen sonra ölçülen nitrik oksit konsantrasyonu, en yüksek masseter kasında idi. Ölümden 120 dakika sonraki nitrik oksit konsantrasyonları; ölümden hemen sonrasına göre daha düşük olup; konsantrasyonu en az olan kas triseps idi. (Şekil 4.15.)



Şekil 4.13. Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki nitrik oksit değerlerinin grafiği



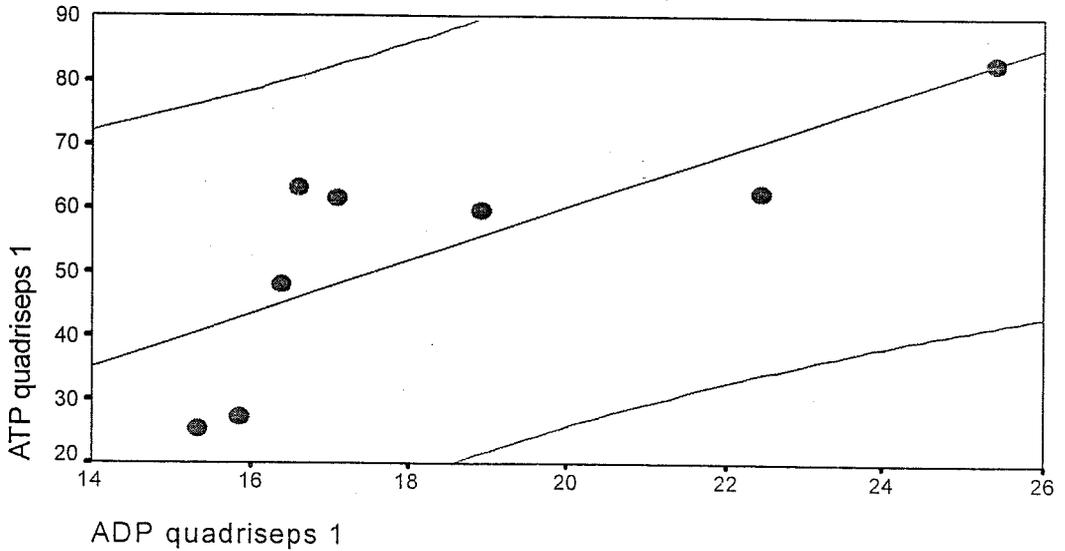
Şekil 4.14. Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki nitrik oksit değerlerinin grafiği



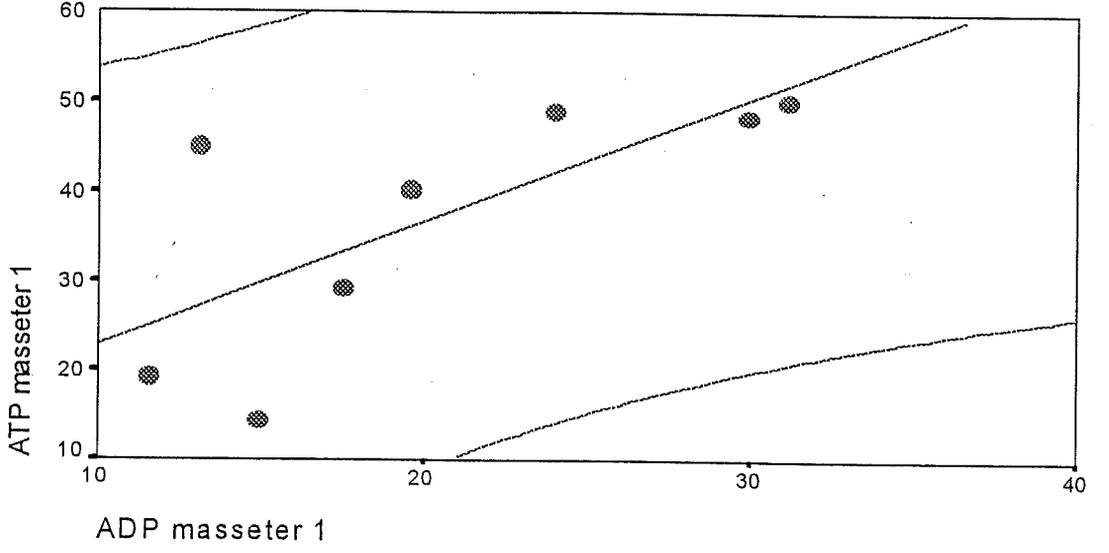
Şekil 4.15. Suda boğarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası (1) ve ölümden 120 dakika sonrası (2) masseter, triseps ve quadriseps kaslarındaki nitrik oksit değerlerinin grafiği

4.2. Üç Ayrı Grupta ATP, ADP, AMP, Laktik Asit Ve Nitrik Oksit Konsantrasyonları Arası Korelasyon

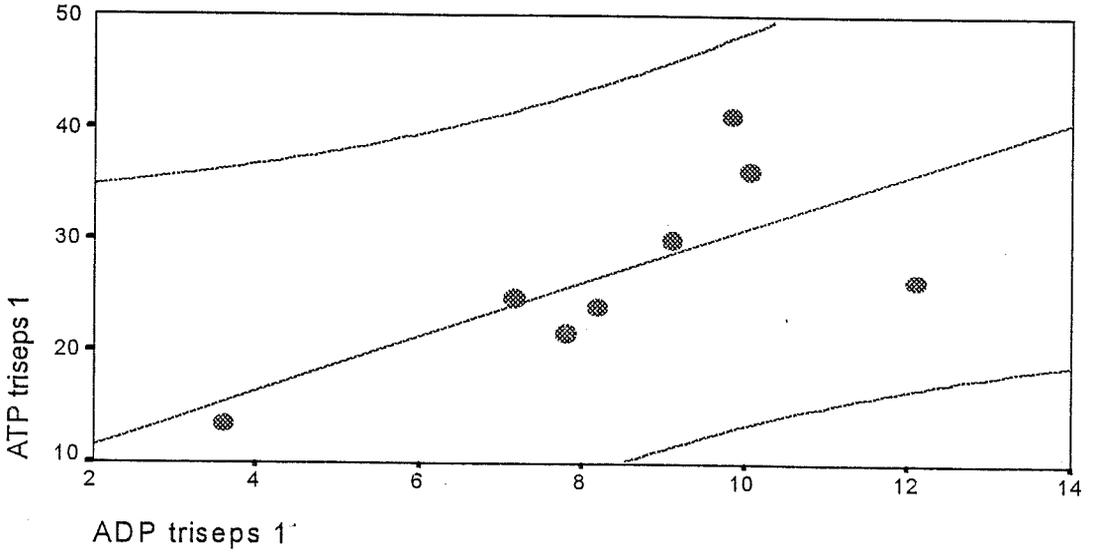
Boynu kırılarak, elektrik çarpması ve suda boğarak öldürülen sıçanların; hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası masseter, triceps ve quadriseps kaslarında ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonları arasında korelasyon bakıldı. Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası quadriseps kasında, elektrik çarpması ile öldürülenlerde masseter kasında; suda boğarak öldürülenlerde triceps kasında ATP ve ADP konsantrasyonları arasında pozitif lineer korelasyon bulundu. Diğer parametreler arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi.



Şekil 4.16: Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda, hemen ölüm sonrası quadriseps kaslarında ATP ve ADP arasında korelasyon ($p=0.022$, $r=0.7809$)



Şekil 4.17. Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda, hemen ölüm sonrası masseter kaslarında ATP ve ADP arasında korelasyon ($p=0.044$, $r=0.7197$)



Şekil 4.18. Suda boğma ile öldürülen sıçanlarda, hemen ölüm sonrası triseps kaslarında ATP ve ADP arasında korelasyon ($p=0.050$, $r=0.7051$)

4.3. ATP nin % Değişim Oranı

Rigor mortisin kaslara göre oluşum zamanında farklılık olup olmadığını tespit etmek için ATP nin yüzde değişim oranı hesaplandı. Bunun için, şu formül kullanıldı:

"ATP değişim yüzdesi = Ölümünden 120 dakika sonraki ATP seviyesi - ölümünden hemen sonrası ATP seviyesi /ölümünden hemen sonraki ATP seviyesi "

Kontrol grubunda ATP değişim yüzdesi her bir kas grubunda farklı olup; en fazla masseter kasında idi. Elektrik çarpmasında ATP seviyesi en fazla quadriseps kasında düştü. Suda boğma da ise ATP deki düşüş değerleri birbirine yakın olmakla birlikte; en fazla düşüş triseps kasında idi. (Tablo 4.4.)

Tablo 4.4.Üç farklı şekilde öldürülen, üç farklı kasta ATP nin değişim oranları (%)

	KONTROL	ELEKTRİK ÇARPMASI	SUDA BOĞMA
Masseter kası	-50.01	-81.10	-48.30
Triseps kası	-25.69	-77.30	-53.90
Quadriseps kası	-36.78	-91.80	-53.20

4.4. Kontrol ve Elektrik Çarpması Karşılaştırılması

ATP: Boynu koparılarak öldürülen sıçanlarla elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların karşılaştırılmasında ölümünden hemen sonraki ATP konsantrasyonu triseps kasında elektrik çarpmasıyla öldürülen sıçanlarda daha düşük bulundu. Masseter ve quadriseps kaslarında ise önemli bir fark bulunmadı. Ölümünden 120 dakika sonra ölçülen ATP konsantrasyonları her üç kas grubunda elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda daha düşük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlıydı.

ADP: Elektrik çarpması sonucu öldürülen sıçanların kontrol grubu ile karşılaştırılmasında ölümünden hemen sonraki masseter ,quadriseps ölümünden 120 dakika sonraki masseter kasında ADP konsantrasyonları arasında anlamlı

fark bulunmadı. Diğer kaslar karşılaştırıldığında elektrik çarpması grubunda ADP konsantrasyonları anlamlı derece de düşük bulundu.

AMP: AMP konsantrasyonları her iki grubun karşılaştırılmasında anlamlı derecede farklı bulundu. Kontrol grubunun ölümden hemen sonra ve ölümden 120 dakika sonraki AMP seviyeleri daha yüksekti. Bu istatistiksel olarak anlamlıydı.

Laktik Asit: Elektrik çarpması sonucu öldürülen hayvanların ölümden hemen sonraki laktat konsantrasyonları kontrol grubuna göre daha yüksekti ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ölümden 120 dakika sonra kontrol grubundaki laktik asit konsantrasyonları daha yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Nitrik Oksit: Ölümden hemen sonraki ve ölümden 120 dakika sonra massetar kasında ölçülen nitrik oksit seviyelerinde anlamlı derecede fark yoktu, diğer kaslarda ise anlamlı derecede fark vardı. Kontrol grubunun ölümden hemen sonraki ve ölümden 120 dakika sonraki nitrik oksit seviyeleri daha yüksekti.

4.5. Kontrol ve Suda Boğma Karşılaştırılması

ATP : Suda boğularak öldüren sıçanların ölümden hemen sonra ve 120 dakika sonraki ATP konsantrasyonları her üç grubun kasında ölümden 120 dakika sonraki masseter kası hariç diğerlerinde kontrol grubuna göre daha düşüktü ve bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

ADP: Ölümden hemen sonra ölçülen masseter kası hariç diğer kasların hepsindeki ADP konsantrasyonları suda boğarak öldürülen grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük tespit edildi .

AMP: Ölümden hemen sonrası ve ölümden 120 dakika sonra ölçülen AMP konsantrasyonları suda boğarak öldürülen sıçanların her üç grubun kasında daha düşük bulundu ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı.

Laktik Asit: Suda boğarak öldürülen sıçanların ölümden hemen sonraki laktat konsantrasyonları kontrol grubuna göre daha yüksekti ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ölümden 120 dakika sonra kontrol grubundaki laktik asit konsantrasyonları daha yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Nitrik Oksit: Ölümden hemen sonraki ve ölümden 120 dakika sonraki triseps kaslarında nitrik oksit değerleri suda boğarak öldürülen grupta daha düşük bulundu ve bu istatistiksel olarak anlamlıydı.

4.6. Elektrik Çarpması Ve Suda Boğma Gruplarının Karşılaştırılması

ATP: Elektrik çarpması ile suda boğma grubunun karşılaştırılmasında, 120. dakikada ATP konsantrasyonları elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların kaslarında suda boğarak öldürülenlere göre daha düşük bulundu. Yalnızca masseter ve quadriseps kaslarında ATP konsantrasyonları arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0.05$). Diğer gruplar arasında ise fark anlamlı değildi.

ADP, AMP, nitrik oksit: Elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen sıçanlar karşılaştırıldığında; ADP, AMP ve nitrik oksit konsantrasyonları arasında ki fark anlamlı değildi.

Laktik asit: Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların hemen ölüm sonrası masseter, triseps ve ölümden 120 dakika sonrası masseter kasında laktik asit konsantrasyonları, suda boğarak öldürülen gruptan daha yüksek bulundu.

5-TARTIŞMA

Ölüm sonrası kas katılığı (Rigor mortis), ölümden sonra ortaya çıkan istemli ve istemsiz kasların tümünde gözlenen sertleşmedir. Ölümün, ölüm zamanının ve ölüm şeklinin belirlenmesinde yardımcı olan önemli erken posmortem değişikliktir. Rigor mortis normal şartlarda 3-6 saatte tüm kaslarda başlar, 6-12 saatte en yüksek düzeye ulaşır. Rigor mortisin tespitinde en yaygın olarak kullanılan metod kaslara fleksiyon ve ekstansiyon yaptırmaktır. Bunu uygulamak ölü katılığında zordur. Ölüm ile birlikte sinir inervasyonunun ortadan kalkması sonucu kaslarda bir gevşeme olur, bu döneme primer gevşeme denir. Ortalama 3-4 saat kadar süren bu dönemi takiben ölü katılığı başlar. Kaslar kokuşmanın başlamasıyla tekrar gevşer, bu döneme sekonder gevşeme denir. Kasların otolize olmaya başlaması ile 18-36 saat içinde rigor mortis kaybolur. Bu süreleri etkileyen bir çok faktör vardır^{7,24}.

Szent-Gyorgi kastaki ana kasılma maddelerinin aktin ve miyozin proteinlerinin olduğunu saptadı⁶. Kas kasılması için gerekli enerji, miyozinin baş kısmında bulunan ATP'az aktivitesiyle, ATP hidrolizi ile açığa çıkan enerjiden sağlanır²⁹. Oluşan her kasılma ile ATP yeniden miyozinin baş kısmına bağlanır ve kasılma işlemi tekrarlanır. Yeni ATP kaynağı bulunmadığında aktin ve myozin geri dönüşümsüz olarak birleşir ve kas kasılmış durumda kalır bunun sonucu olarak ölüm sonrası kas katılığı (Rigor mortis) oluşur^{2,7,8}. Erdöz ilk kez ATP kaybının ölüm katılığına sebep olduğunu buldu. Bu bulgu bir çok araştırmacı tarafından teyit edildi⁹⁻¹².

Yapılan çalışmada, boynu koparılarak, elektrik çarpması ve suda boğarak öldürülen sıçanlarda masseter, triceps ve quadriceps kaslarında; ölümden 120 dakika sonra ölçülen ATP konsantrasyonları, hemen ölüm sonrası ATP konsantrasyonlarından daha düşük bulundu ve aralarındaki fark ($p<0,05$) anlamlı idi.

Masahiko Kobayashi ve arkadaşları yaptığı çalışmada, 7 adet sıçanın, 5 farklı kas grubunda, ölümden hemen sonrasında, ölümden 120 dakika sonra ölçtükleri ATP değerlerindeki düşüşü anlamlı buldular¹¹⁵. Langille SM ve arkadaşları mürekkep balığının mantle kasında, rigorla ilişkili olarak yaptıkları

çalışmada, rigor gelişimi boyunca arjinin fosfat seviyelerinin değişmediğini, ATP ve glikojen konsantrasyonlarının azaldığını tespit ettiler. ATP nin postmortem katabolizması sonucu ADP, AMP ve inozin monofosfatın arttığını belirlediler¹¹⁶.

Stapleton MT ve arkadaşları sıçan kardiyomiyositlerinde myozin ATP' az aktivitesi ve rigor mortisin modülasyonunu incelediler. pH 7,1 de 37 °C de rigor mortis ve miyozin ATP' az 3-1000 µmol arasındaki ATP konsantrasyonlarında çan şeklinde düzenli bir grafik gösterdi. Rigor mortis kontraktrünün miyozin ATP' az aktivitesini artırdığından dolayı ATP nin azalmasında artış olmaktadır¹¹⁷.

Bizim yapmışımız çalışmanın sonuçları ile Kobayashi ve arkadaşlarının, Langille ve arkadaşlarının ve Stapleton ve arkadaşlarının çalışmalarının sonuçları arasında uyumluluk görüldü.

Ölümden sonra meydana gelen hipoksi sonucu, mitokondrideki oksidatif fosforilasyonla ATP sentezi aksar. ATP ölüm sonrası sadece fosfo-kreatininden ve anaerobik glikolizle glikojenden sentez edilir ve laktik asit birikir. Canlı dokuda ATP nin sentezi ile tüketimi arasında denge vardır. Ölüm sonrası bu denge bozulur. ATP' nin tüketimi üretiminden fazla olur; sonuçta ATP konsantrasyonu azalır. ATP seviyesi sınır düzeye düştüğünde aktin, miyozin filamentleri geri dönüşümsüz olarak birleşir. Sonuçta rigor mortis oluşur^{2,3,13}. Yapılan araştırmalara göre ATP konsantrasyonu normalin %85'inin altına düştüğünde katılık başlar ve %15 olduğunda ölü katılığı maksimum olur^{14,15}. Forster ayrıntılı deneyler yaparak ölü katılığının; kasın elastik ve kontraktif deformasyonu sonucu ortaya çıktığını rapor etti^{17,43,44}.

Çalışmamızda 3 ayrı şekilde öldürülen sıçanların ölümden 120 dakika sonra ölçülen ADP konsantrasyonları elektrik çarpması ile öldürülenlerde quadriceps kası, hariç hemen ölüm sonrası ADP konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu ve fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Ölümden 120 dakika sonra ölçülen AMP konsantrasyonları, her bir kas grubunda, hemen ölüm sonrası ölçülen AMP konsantrasyonlarından daha yüksek idi. Bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Masahiko Kobayashi ve arkadaşları 7 adet sıçanda yaptıkları çalışmada, 5 farklı kas grubunda ölümden 120 dakika sonra ölçülen ADP değerlerini, ölümden hemen sonra ölçtükleri ADP değerlerinden daha yüksek buldular.

Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Aynı şekilde AMP değerlerindeki yüksek buldular, Ancak aralarındaki fark anlamlı değildi¹¹⁵.

ADP ve AMP, ATP'nin metabolik dönüşüm formudur. Yaptığımız çalışmada ölümden 120 dakika sonra ölçülen ATP değerleri azalmakta, ADP ve AMP bununla ilişkili olarak artmaktadır. ADP ve AMP nin ölümden 120 dakika sonra konsantrasyonlarının artması ATP' nin postmortem katabolizmasının bir göstergesidir^{115,116}.

Bu çalışmada boynu koparılarak ve elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların, her üç kasında, ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonları ölümden hemen sonra ölçülen konsantrasyonlarına göre daha yüksekti. Bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Suda boğarak öldürülen sıçanlarda ise her üç kasında, ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit konsantrasyonları, hemen ölüm sonraki değerlerden daha yüksek idi. Ancak qadriseps kasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$).

Laktik asit yoğun egzersizin bir ürünü olarak ilk kez 1841'de tanımlandı. Bir çok hastalıkta olduğu gibi sağlam şahıslarda da egzersiz esnasında belirli bir metabolik yüke ulaşıldığı zaman kasılan kaslarda laktik asidin birikmeye başladığı belirlenmiştir³⁵.

Laktik asit, anaerobik metabolizma esnasında glukozun glikolitik yoldan parçalanması sonucu oluşur. Aerobik organizmalarda glikoliz, glukozun tümü ile karbondioksit ve suya yıkılmasında ilk aşamayı oluşturur. Glukozun oksijenli metabolizmaya girebilmesi için önce glikoliz ile pirüvata çevrilmesi gerekir. İkinci aşamada pirüvattan oluşan asetil KoA, sitrik asit döngüsünde, karbondioksit ve suya oksitlenir. Bu yolla 1 mol glukozdan 38 mol ATP üretilir. Oksijensiz koşullarda ise pirüvat laktat dehidrogenaz ile laktik aside indirgenir. Bu tepkimede gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz aşamasında oluşan NADH tekrar kullanılmak üzere oksitlenir. Bu suretle oksijenin bulunmadığı durumda glikolizin devamına olanak sağlanır. Glikolizde ise 2 ATP lik net enerji kazanımı olur²⁸.

Glikoliz oksijen eksikliğinde ATP sağlama yeteneğine sahiptir. Aerobik oksidasyonun yetersiz olduğu durumlarda iskelet kasının yüksek düzeylerde çalışabilmesi ve yine anoksik koşullarda önemli glikolitik yeteneğe sahip

dokuların hayatta kalabilmelerine olanak verir ⁸. Son ürün olarak laktatın oluştuğu glikoliz diğer bütün dokular tarafından da kullanılır. Eritrositlerde mitokondri bulunmadığı için pirüvat karbondioksit ve suya çevrilemez. Sınırlı kan dolaşimleri olan ve mitokondrileri bulunmayan kornea, lens ve retina glikolizi ATP üretimi için kullanırlar. Böbrek medullası, testis, lökositler ve beyaz kas lifleri çok az mitokondri taşıdıkları için ATP kaynağı olarak glikolize bağlıdır. İskelet Kası ve eritrositlerin yanı sıra beyin, gastrointestinal sistem böbrek medullası, retina ve deri gibi diğer dokular normal olarak enerjilerinin çoğunu glikolizden sağlar ve laktat meydana getirir. Bunun aksine aerobik işleyişe göre çalışan kalp kası oldukça zayıf glikolitik yeteneğe sahip ve iskemi koşullarına dayanma gücü de zayıftır ^{8,28}.

Masahiko Kobayashi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 7 sıçanın 5 değişik kas grubunda ölümden hemen sonra ve ölümden 120 dakika sonra laktik asit konsantrasyonları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Ölümden 120 dakika sonra kaslardaki laktik asit seviyelerinde anlamlı derecede artış mevcuttu ¹¹⁵. Doering ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tavşanların postrakineus kaslarında ölüm sonrası ATP değişikliğinin yanısıra kastaki laktik asit ve glikojenin de değiştiğini saptadılar. Deneylerinde ölüm sonrası glikojen yıkımı ve glikoliz sonucu ATP oluşumunu gösterdiler. Bu çalışmada ölümden sonra birinci 60 dakika için ATP üretimi tüketiminden fazla oldu ¹¹. Langille ve arkadaşları ölüm sonrası kas glikojen konsantrasyonunun azaldığını tespit ettiler ¹¹⁶. Mercier B ve arkadaşları tavşan biceps braki kasında postmortem değişiklikleri incelediler. Laktat ve pH arasında lineer bir ilişki saptadılar. Ölüm sonrası fosfokreatin konsantrasyonunda azalma, laktat konsantrasyonunda artma tespit edildi ¹¹⁸.

Schoning ve arkadaşları köpeklerin vitreus sıvısında, kanlarında ve beyin omurilik sıvısında ölüm sonrası biyokimyasal değişiklikleri incelediler. Köpekler ölüm sonrası 4, 20, 37°C 'ye konuldu. Ölüm öncesi ve ölüm sonrası 3, 6, 12, 24, 48. Saatlerde, vitreus sıvısında sodyum, klorür, potasyum, glukoz, üre azotu ve kreatinin konsantrasyonları ölçüldü. Potasyum konsantrasyonu sıcaklık ve zamanla arttı. Sodyum, klorür ve üre azotu değerleri 4 °C'de 48 saat sabit kaldı. Yüksek sıcaklıklarda bunların konsantrasyonları gittikçe azaldı. Glukoz

bütün derecelerde 3 saat içinde yarısından daha da az seviyeye düştü. Kreatinin değerlerinde ise tutarsızlık vardı⁵⁰. Köpeklerin kanları, ölümden sonra 3, 6, 12, 48 saat arayla değerlendirildi. Üre azotu, Ca^{2+} ve protein değerleri ölümden sonra stabil kaldı ve tanısız olarak anlamlıydı. Potasyum, kreatinin ve fosfor değerleri zamanla yükseldi. Glukoz, Na^+ , Cl^- , total CO_2 seviyeleri zamanla düştü. Bundan dolayı bu kimyasal değerlerin tesbitiyle ölüm zamanı tahmin edilebilir⁵¹. Köpeklerin beyin omurilik sıvıları, ölümden sonra 4, 20, 37 °C'lerde 3, 6, 12, 24, 48 saat arayla değerlendirildi. Ölüm öncesi ve sonrası Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{2+} , CO_2 , fosfor, üre azotu, glukoz, kreatinin bakıldı. Na^+ ve üre azotu değerleri stabil kaldı. Ca^{2+} ve kreatinin konsantrasyonları çok az yükseldi. CO_2 ve glukoz konsantrasyonları düştü. Ölüm sonrası Ca^{2+} düzeyinin düşük olması, ölüm öncesi hipokalsemiyi, glukozun yüksek olması ölüm öncesi hiperglisemiye götürebilir⁵².

Bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları ile yukarıda bahsedilen çalışmaların sonuçları paralellik gösterdi. Ölümle birlikte solunum sistemi ve dolaşım sistemi durduğu için oksidatif fosforilasyonla enerji elde edilemez. ATP ölüm sonrası anaerobik glikolizle kasta depo edilen glikojenden sağlanır. Böylece anaerobik glikolizin son ürünü olan laktik asit konsantrasyonu artar^{2,3,115}.

Çalışmamızda nitrik oksit' in üç ayrı grupta üç farklı kasta ölümden 120 dakika sonrası ölçülen değerleri hemen ölüm sonrasına göre düşük bulundu; aralarındaki fark anlamlıydı ($p < 0.05$).

Nitrik oksit, önceleri belli bir konsantrasyonda (20-60 ppb) atmosferde bulunan ve kirli havanın bir kısım yan etkilerinden sorumlu tutulan bir gaz olarak bilinirdi. Günümüzde ise memeli canlılarda hücre, doku, organ ve sistemlerin fonksiyonlarını düzenlemede rol alan önemli bir sinyal molekül olarak tanımlanmaktadır⁸²⁻⁸⁵.

NO bir azot ve bir oksijen atomu içeren, küçük, yüksüz, lipofilik bir moleküldür. Bu özelliğinden dolayı biyolojik membranlardan kolayca difüze olabilen ideal bir habercidir^{86,87}. Nitrik oksit diğer mediatörlerden farklı olarak etkilediği moleküle kovalent olarak bağlanır ve difüze olduktan sonra depolanmaz⁸⁸. Sentezlenen NO ' nun bir kısmı yüksek afinitesinden dolayı

hemoglobinle birleşerek methemoglobin oluşturmakta ve mitokondrial solunum zincirini etkilemek suretiyle oksitatif fosforilasyonda inhibe etmektedir. Hemoglobin nitrik oksitin güçlü bir inhibitörüdür^{89,90}.

Nitrik oksit plazma membranının iç kısmındaki aktin polimerizasyonuna da etki eder, hücre adezyonu, hücre göçü ve fagositoz gibi stoplazmik iskelet fonksiyonlarını da düzenler⁸⁸.

Son 20 yıl içerisinde nitrik oksit vasküler kontrolden uzun süre hafızaya, doku inflamasyonundan penil ereksiyona kadar bir çok biyolojik işlemin ana mediatörü olarak belirlendi. Nitrik oksit ve türevleri iskelet kasında da sentez edilmekte ve bir çok kas fonksiyonunu etkilemektedir. Kas lifleri nitrik oksit sentaz izoformlarından birkaçını içerirler. Tip I nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) hızlı liflerin sarkolemmasında, tip II nNOS (endotelial) alanı ise mitokondri ile ilişkilidir. İzole iskelet kası dinlenme konumunda düşük miktarda, tekrarlayıcı kontraksiyonda yüksek miktarda nitrik oksit üretir. Nitrik oksitin hücreler arası etkileşimi kas dokusunda vasodilatasyon ve lökosit adezyonlarını önleyerek oluşur. Nitrik oksit aynı zamanda direk olarak kas fibrillerinin hücre fonksiyonlarını değiştirerek etki yapar. Kas metabolizmasının nitrik oksite duyarlılığı; glukoz alınımı, glukozun mitokondriyal oksijen harcanımı ve kreatin kinaz aktivitesini etkiler. Nitrik oksit eksitasyon ve kontraksiyon çiftini değiştirerek kas kasılmasında düzenler. Nitrik oksit etki mekanizması redoks sensitif regulator proteinlerin, endojen reaktif oksijen moleküllerinin ve ikincil mesajcı cGMP nin etkileşimi ile oluşur. Bugünkü bulgular iskelet kasının nitrik oksit ürettiğini ve endojen nitrik oksitin kas fonksiyonunu düzenlediğini gösterir¹¹¹. İskelet kasında intraselüler NO düzeyi cGMP yoluyla düzenlenir¹¹². İskelet kasında NOS, nitrik oksit oluşumunu katalize eder. NO glukoz metabolizmasını da düzenler¹¹³. Çizgili kas liflerinde, farklı NO konsantrasyonları NO fonksiyonlarının göstergesidir¹¹⁴.

Yapılan çalışmada ölümden 120 dakika sonraki nitrik oksit değerleri ölümden hemen sonraki değerlerine göre azaldı. Nitrik oksit L-arjinin amino asitinden sentez edilir⁹²⁻⁹⁴. Ölüm sonrası amino asit taşınması ATP yokluğu nedeniyle olamaz. Hücre membranında aktif transport, hormonlar, reseptör etkileşimleri tamamen durur. Hücre içinde Ca konsantrasyonunu artıran

fosfoinozitol mekanizması çalışmaz ve Ca konsantrasyonu nitrik oksit sentezini aktive edecek kadar birikemez. Dolayısıyla nitrik oksit sentezi azalır. L-arjinin oksidasyonunda, moleküler oksijen, NO ve sitrülün yapısına girer⁹²⁻⁹⁴. Ölümle kardiyo-pulmoner sistem durduğu için, kasta oksijen olmaz. Nitrik oksit sentezi yapılamayabilir.

Nitrik oksit konsantrasyonu ölümden hemen sonra ve 120 dakika sonra yapılan ölçümde, elektrik çarpması ve suda boğarak öldürülen sıçanlarda kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. Oysa ki, İzole iskelet kası dinlenme konumunda düşük miktarda, tekrarlayıcı kontraksiyonda yüksek miktarda nitrik oksit üretir¹¹¹. Ancak bizim çalışmamız ölü kas dokusunda olduğu için, L-arjinin amino asiti, Ca ve moleküler oksijen azaldığından nitrik oksit konsantrasyonları düşmüş olabilir.

Boynu kırılarak, elektrik çarpması ve suda boğarak öldürülen sıçanların; hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası masseter, triceps ve quadriseps kaslarında ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonları arasında korelasyon bakıldı. Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarda hemen ölüm sonrası, quadriseps kasında, elektrik çarpması ile öldürülenlerde masseter kasında; suda boğarak öldürülenlerde triceps kasında, ATP ve ADP konsantrasyonları arasında pozitif lineer korelasyon bulundu. Hücreden ATP nin sabit konsantrasyonu ADP nin kullanılabilirliği ile kontrol edilir. Enerji gerektiren olaylardan açığa çıkan ADP nin tekrar ATP ye dönebilmesi solunum zincirinde ve substrat düzeyinde gerçekleşir. Bütün olaylarda ATP/ADP siklusu döngüsel olduğundan ATP nin artması ADP nin artmış konsantrasyonuna bağlıdır. Adenilat kinaz enziminin katalizlediği reaksiyon denge reaksiyonu olduğundan hücrede ATP ve ADP konsantrasyonları birbirleri ile koordineli olarak artar veya azalır.

Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarla elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların karşılaştırılmasında, ölümden 120 dakika sonra masseter kaslarında, ölümden hemen sonra triceps kasında, yine ölümden 120 dakika sonra masseter kası, ölümden 120 dakika sonra quadriseps kasındaki ATP değerleri; elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda, boynu kırılarak öldürülenlere göre daha düşüktü ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$).

Elektrik çarpması, elektrik akımının vücuttan geçecek şekilde canlının elektrik kaynağı ile teması sonucu yaralanması veya ölümüdür. Elektrik akımının ölüme neden olabilmesi için öncelikle bir akım olmalı ve sonrada akım yolu üstünde hayati organlar olmalıdır. Elektrik akımı genellikle bir noktadan vücuda girer ve toprak ile veya nötr elektrik telleri ile temas eden diğer bir noktadan en kısa yolu takip ederek vücudu terk eder²⁴. Bir elektrik akımının vücut üzerinde etkili olabilmesi için elektrik akım devresinin tamam olması gerekir Eğer akım vücuda bir bölgeden girip bir başka bölgeden çıkamıyorsa dokularda hiçbir yaralanma ve sonuçta ölüm olamaz⁵⁴.

Elektrik akımına bağlı ölüm olgularının büyük çoğunluğunda orjin; genellikle evlerde ve sanayilerde kullanılan elektrikli aletler ile meydana gelen kazalar şeklindedir^{56,57}. Bu kazaların en sık rastlanılan sebepleri arasında, aletlerin kullanımı ve bakımı konusunda ihmal, yeterli güvenlik önlemlerinin alınmaması ve uygun olmayan izolasyon sayılabilir. Çalışma ortamının ıslak olması ve yapılan işe uygun giysilerin giyilmemiş olması kazaların meydana gelmesini kolaylaştırır⁵⁸.

Elektrik kullanımı ile intihar oldukça nadirdir. Daha çok erkekler tarafından kullanılan bir yöntemdir. Son yıllarda özellikle Almanya'da elektrik ile intihar olgularında bir artış olduğu bildirildi. Ülkemizde nadirde olsa elektrik akımı ile intihar olguları meydana gelmektedir^{59,60}.

Elektrik ile cinayetlere de rastlanılır. Eşleri tarafından elektrik ile öldürülen kadınlar dünya literatüründe bulunmakta⁶¹. Fakat tüm dünyada elektrik ile cinayet ve cinayet girişimlerinin sayısının az olduğu konusunda görüş birliği vardır⁶¹.

Elektriğin kaslar üzerindeki önemli bir etkisi kaslarda spazma neden olmasıdır. 50 Htz ile 10-40 miliamper arasındaki akımlar iskelet kasında tetanik spazma neden olur. Bu spazmlar sonucu mevcut ATP fosfokreatinin ve glikojen depolarının tükenmesinden dolayı bu gibi olgularda rigormortis daha çabuk gelişir²²⁻²⁴.

Hücre membran yıkımının elektrik akımının önemli bir özelliği olduğu saptandı. 800-1000 milivoltluk akım, insan hücrelerinin büyük çoğunluğunun

membranlarını bozar. Kas hücrelerinde membranların rüptüre olması sonucu stoplazma ATP konsantrasyonu azalır ve rigor mortis hızlı gelişir⁷¹.

Krompecher ve arkadaşları ölüm öncesi ve sonrası elektiriğe maruz kalmanın rigor mortis üzerindeki etkisini 10 adet sıçanda çalıştılar ve şu sonuçları buldular. Elektiriğe maruz kalma rigor mortisin ortaya çıkışını hızlandırır. 90 saniye elektrik çarpmasına maruz kalınıp ölüm olunca rigor mortis 1 saatte tamamlandı. Kontrol grubunda ise 5 saatte rigor motis tamamlandı. Rigor mortisin kaybolma süresi kontrol grubunda 8 saat iken, elektiriğe maruz kalan sıçanlarda da 3 saate indi. Bu etkiler akıma maruz kalmamış ekstremelerde daha az belirgindir. Ölüm sonrası elektrik çarpmalarında bu değişiklikler daha azdır²².

Vukubulan bir olayın kaza, intihar ya da cinayet olduğunu tespit etmek oldukça zordur. Bunun içinde ölüm zamanının bilinmesi gerekir. Ölüm zamanının hesaplanmasında da rigor mortis rol oynar. Rigor mortisle ilgili yapılan çalışmalarda; vücudun ölümden 2-3 saat sonra sertleşmeye başladığı, tamamen sertleşmesinde genellikle 6-12 saat içinde geliştiği bildirildi²². Schneider, elektrik çarpması ile ölen insanlarda rigor mortis gelişimini incedi. Tanıttığı üç bulguda elektrik çarpması ile ölen insanlarda ölü katılığı sırasıyla 1 saat 40 dakika, 1 saat 45 dakika, 2 saat 5 dakikada gelişti¹¹⁹. Bate-Smith ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, kaslarda ATP nin azalmasının rigorun başlangıç zamanı ile yakından ilgili olduğunu, ölümden önceki ani sert hareketlerin rigor mortisin ortaya çıkışını hızlandırdığını buldular¹⁵. Elektrik çarpması ile oluşan ani kramplar enerji kaynaklarının azalmasına sebep olur. ATP konsantrasyonunun ani düşmesi rigor mortisin erken gelişmesini sağlar²².

Bizim çalışmamızda da elektrik çarpması sonucu öldürülen sıçanların kaslarında ATP konsantrasyonları kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. Dolayısıyla rigor mortisin elektrik çarpması sonucu öldürülen sıçanlarda daha hızlı gelişebileceği düşünüldü .

Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların ölümden hemen sonra triseps, quadriseps ölümden 120 dakika sonra triseps ve quadriseps kaslarındaki ADP değerleri, boynu kırılarak öldürülen sıçanlara göre daha düşüktü ve aralarındaki fark anlamlıydı ($p < 0.05$). Elektrik çarpması sonucu öldürülen sıçanların her 3

kasında ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası ölçülen AMP değerleri, boynu kırılarak öldürülenlere göre daha düşüktü ve aralarındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.05$). Elektrik çarpmasına maruz kalan hayvanlarda, elektrik kaslarda tetanik spazma neden olur. Bu tetanik spazmlar için enerji ATP den sağlanır. ATP nin yıkımı sonucu ADP oluşur. Oluşan ADP ler tekrar ATP sentezinde kullanılır. Kastaki mevcut ADP'ler ATP sentezinde kullanıldığı için elektrik çarpması grubunda ADP seviyelerinin düşük olması beklenir. Yaptığımız çalışmada ADP konsantrasyonları düşük bulundu.

Boynu kırılarak ve elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların 3 ayri kasında hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonra ölçülen laktik asit değerleri arasında fark mevcuttu ($p<0.05$). Ölümden hemen sonra elektrik çarpmasında, kontrol grubundan; ölümden 120 dakika sonra ise kontrol grubunda, elektrik çarpmasından laktik asit konsantrasyonları daha yüksek bulundu.

Kas kasılması esnasında enerji ihtiyacı, alınan besinlerin yüksek enerjili bileşiğe çevrilmesiyle elde edilir. Bu yüksek enerjili birleşik ATP dir. ATP bütün hücrelerin stoplazma ve nükleuslarında bulunur. Bütün fizyolojik reaksiyonlar enerjilerini direk olarak ATP den sağlar. ATP'nin parçalanmasıyla bir fosfat bağı yıkılır, ADP+Pi dönüşümü ile 7.3 Kcal enerji açığa çıkar. Devamlı enerji üretimi için ATP'nin sürekli sağlanması gerekir. ATP'nin yenilenmesi şu üç sistemden biriyle mümkündür. ATP–fosfokreatin sistemi, anaerobik glikoliz, aerobik glikoliz. ATP+Fosfokreatin sistemine fosfojen sistemide denir. Hücrede fazla ATP bulunduğu zaman enerjinin büyük bölümü acil kullanılabilir enerji formu olan fosfokreatin sentezinde kullanılır. ATP kullanılmaya başlandığı zaman fosfokreatindeki enerji hızla tekrar ATP ye, oradan da hücrelerin fonksiyon sistemlerine geri döner. Fosfokreatindeki yüksek enerjili fosfat bağındaki enerji düzeyinin daha yüksek olması, fosfokreatinle ATP arasındaki reaksiyonun denge durumunda ATP'nin yaklaşık 25 katı daha fazla olmasını sağlar. Bu nedenle hücredeki ATP'nin çok az tüketilmelerinde bile fosfokreatindeki enerji, ATP sentezi için kullanılır. Böylece fosfokreatin buldukça ATP konsantrasyonu sabit kalır. ATP-fosfokreatin sistemine ATP tampon sistemi de denir. Vücutta ATP konsantrasyonu sabit tutulmalıdır. Çünkü vücuttaki bütün

reaksiyonların hızı bu sabitliğe bağlıdır. ATP ve kreatinfosfatın kaslarda konsantrasyonu sınırlıdır. Fosfojenler diğer enerji kaynaklarına oranla organizmada çok az bulunmalarına rağmen çok hızlı enerji verirler. Depolanmış ATP'nin tamamı yarım saniyeden kısa zamanda tüketilir²⁹.

Bir kilogram kas kütlesi içinde yaklaşık 5-15 mmol kreatin fosfat depolanır. 70 kg ağırlığında 30 kg'lık kas kütlesine sahip bir insanda depolanan yüksek enerjili fosfat konsantrasyonu 570-690 mmol arasındadır. Egzersiz sırasında 20 kg'lık bir kas kütlesinin aktive olduğu kabul edilirse, depolanan fosfat konsantrasyonunun 20-30 saniyelik kros koşusu veya 6 saniyelik supra maksimal bir egzersiz için yeterli olduğu görülür. ATP-fosfokreatin yüksek şiddette bir egzersize ancak 6 saniye süreyle enerji sağlayabilir. Jacobs ve arkadaşları maksimal faaliyetin ilk 8 saniyesinde bütün fosfojenlerin parçalandığı ve kullanılan fosfojenlerin yerine konulması için ise 22 saniyeye ihtiyaç olduğunu tespit ettiler¹²⁰.

Egzersizin ilk dakikasında ve kas eforunun yoğunluğu yüksek olduğunda, vücut gereksinimi olan ATP'yi üretmek için yeterli oksijen sağlayamaz. Kasta depo edilen glikojen glukoza parçalanır ve anaerobik glikolizle enerji elde edilir. Bu yolla enerji elde edilmesi, oksidatif mekanizmadan 2,5 kat daha hızlıdır. Bunun sonucu birkaç saniyeden daha fazla, fakat bir iki dakikadan daha kısa süreli ağır aktivitelerde enerji anaerobik glikozden sağlanır. Ağır egzersizde kasta glikojen azalırken, kanda laktik asit konsantrasyonu artar. Yaklaşık 40 saniye süren şiddetli egzersizlerde, enerji önce ATP-fosfokreatin sisteminden daha sonra ise laktik asit sisteminden karşılanır. Laktik asit sisteminin kullanımı 40-60 saniyeyi geçmez. Yüksek orandaki egzersize devam edildiğinde kasta ve kanda laktik asit birikimi artar³⁹. Fox ve arkadaşları çeşitli spor dallarına ait geliştirdikleri enerji tablosuna göre güreşçilerin %90'ı ATP-fosfokreatin+laktik asit sisteminden ve %10'u laktik asit+aerobik sistem yoluyla enerji üretimi sağladıklarını ifade ettiler⁴¹. İki dakikadan az süreli yoğun egzersizler için enerji ihtiyacı anaerobik yolla enerji üretimine bağlıdır. Çok uzun süreli egzersizlerde enerji ihtiyacının % 90'dan fazlası aerobik reaksiyonlarla üretilir³⁸.

Conley KE ve arkadaşları *invivo* olarak 10 insanın bilek fleksör kasında glikoliz aktivasyonunu incelediler. İnsan ön kolu iskemik hale getirildi. Ulnar ve

median sınırlar maksimal ani stimülasyonla uyarıldı. Glikoliz stimülasyonlarla aktive oldu. Glikolitik ATP ve H⁺ üretimi 0.5-3 herslik stimülasyonla 6 kat arttı. Bu glikolitik hızın kas aktivasyon frekansını gösterir¹²¹.

Mercier B ve arkadaşları yaşları ortalama 25.1 olan egzersiz ve rahatlama periyotları arasında yedi insanın soleus kasında laktik asit konsantrasyonlarını araştırdı. Maximal egzersizde, istirahat durumuna göre laktik asitin arttığını tespit etti¹¹⁷.

Hesselink MK ve arkadaşları sıçan tibialis anterior kasında yaptıkları çalışmada izometrik ve izotonik kas kasılmasında yüksek enerjili fosfat ve glikojen metabolizmasını incelediler. Her iki kasılmada glikojen ve adenin nükleotit konsantrasyonları azaldı, inozin monofosfat konsantrasyonu arttı. Ancak bu artış izotonik kasılmada daha fazla idi¹²².

Bizim yaptığımız çalışmada sıçanlar 220 voltluk elektriğe maruz bırakıldılar. Elektrik çarpmasına bağlı olarak elektrik akımının şiddetiyle kaslarda kas kontraksiyonları meydana geldi. Bunun sonucu kasta ATP ihtiyacı arttı. İhtiyaç hızlı kas kontraksiyonlarında olduğu gibi, ATP-fosfokreatin sisteminden ve anaerobik sistemden karşılandı. Buna bağlı olarak hemen ölüm sonrası laktik asit konsantrasyonu elektrik çarpmasıyla öldürülen sıçanlarda kontrol grubuna göre daha yüksek ölçüldü. Ölümden 120 dakika sonra ise kontrol grubunda laktik asit konsantrasyonu daha fazla idi. Elektriğe maruz kalan sıçanlarda ölüm öncesi kas glikojen depoları yoğun egzersizin sonucu azaldığı için, ölümden sonra anaerobik glikolizle ATP elde edilmesi daha az olacağından laktik asit artışı normal gruba göre daha düşük bulundu.

Suda boğarak öldürülen sıçanların ölümden 120 dakika sonrası masseter kası hariç diğer kaslardaki ATP değerleri, boynu kırılarak öldürülenlerden daha düşüktü ve aralarındaki fark anlamlı idi(p<0.05).

Suda boğulma, herhangi bir nedenle su ortamında bulunan kişinin, apne dönemi sonunda refleks olarak ilk solunumu ile üst ve alt solunum yollarına hava yerine su aspire etmesi sonucu anoksik kökenli ölüm oluşmasıdır⁶³. Suda boğulmanın fizyopatolojisinde tüm organ sistemleri etkilenir. Primer olarak, akciğerlerdeki bozukluğa bağlı asfiksi diğer organ sistemlerindeki patolojilerin sebebidir. Canlının daha önceki fiziki durumu, suyun tuzluluğu ve diğer kimyasal

içerikleri, akciğerlere inhale edilen sıvının konsantrasyonu, canlıdaki fizyolojik ve anatomik özellikleri etkiler. Tatlı ve tuzlu suda boğulma, başlangıçları benzer olmasına rağmen fizyopatolojileriyle farklılıklar gösterirler. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar tatlı ve tuzlu suda boğulmalar arasında bir çok farklar olduğunu ortaya koymuştur. Swann ve arkadaşlarının, köpekler üzerinde yaptıkları bir seri deneysel çalışmada; alveolekapiller bazal membranın yarı geçirgen bir zar gibi davrandığını, su geçişinin bu zar vasıtasıyla olduğunu ve bu geçişin kan ile su arasındaki ozmotik basınç farkına bağlı bulunduğunu tesbit ettiler⁷⁶.

Tuzlu suda boğulmada, intravasküler kompartımandan, alveol boşluklarına geçen su ağır bir hemokonsantrasyona yol açar. Bir köpeğin vücut sıvısının yaklaşık 150 mililitresinin akciğer alveol boşluğuna geçtiği tespit edildi. Sülfat hariç deniz suyundaki iyonların kana diffüze olduğu, serum elektrolit konsantrasyonlarının oldukça arttığı, sodyumun 250 meq/lt, magnezyumun 30 meq/lt, kalsiyumun 13 meq/lt olduğu hesaplandı⁸¹.

Suda boğulma, anoksik kökenli bir ölüm türüdür. Ölü katılığı kural olarak suyun soğukluğuna ve canlının boğulma esnasında yaptığı efora bağlı kas aktivitesinin bir sonucu olarak erken gelişir²⁴. Çoğu araştırmacı ölü katılığının başlaması ve gelişiminin sıcaklık, kastaki pH, ölüm öncesi egzersiz ölüm sebebi gibi değişik faktörlere bağlı olduğunu gösterdiler. Fiziksel egzersiz veya yorgunluk sırasında yada sonrasında ölen kişilerde ölü katılığı daha çabuk gelişir ve çözünmesi kısa sürer. Egzersiz esnasında kastaki glikojen ve ATP tüketildiği için ölümden sonra kastaki mevcut ATP konsantrasyonu ve glikojen depoları da azaldığından dolayı üretim az olacağından rigor mortis hızlı gelişir^{15,17-22}.

Krompecher ve arkadaşları ölüm öncesi egzersiz yaptırılan sıçanlarda rigor mortisin gelişim ve derecesini incelediler. Bu sıçanlarda rigor mortisin yoğunluğu başlangıç safhasında arttı ve aynı zamanda en yüksek dereceye ulaştı. En yüksek seviyedeki değerler kontrol vakalarından 1,39 kez daha yüksek bulundu. Bu yükseklik 100 dakikadan 16 saate kadar sürdü, 16. saatten sonra çözülmeye başladı¹⁸.

Krompecher ve arkadaşları striknin zehirlenmesiyle öldürülen sıçanların hemen ölüm sonrası iskelet kasında histokimyasal analizler yaptılar. Kontrol grubunda stokrom oksidaz enzim aktivitesinde artış vardı. Miyozin ATP'az aktivitesinde bir değişiklik yoktu. Glikojen konsantrasyonunda önemli bir azalma tesbit edilmedi. Striknin zehirlenmesinde ise stokrom oksidaz enzim aktivitesinde artış yoktu. Miyozin ATP'az aktivitesinde ise artış gözlemlendi. Glikojen konsantrasyonunda önemli derecede azalma görüldü⁴⁶.

Krompecher ve arkadaşları farklı ölüm sebeplerinin rigor mortis gelişimine etkilerini incelediler. Rigor mortisin gelişimi nitrojen asfiksisi, boğulma, striknin, CO ve kürarijorm ilaçlara bağlı fatal entoksikasyonda modifiye metodlarla değerlendirildi. 1. Striknin intoksikasyonu rigor mortis başlangıcını ve geçişini hızlandırıyor. 2. CO intoksikasyonu rigor mortisin çözülmesini yavaşlatıyor. 3. Katılığın yoğunluğu ölüm sebebine göre değişebilir. 4. Ölüm zamanını tahmin etmek için katılığın seviyesinin derecesi bilinmesi gerekir²¹.

Schuback K ve arkadaşları yaptıkları çalışmada maksimal egzersize tabi tutulan gluteus kasında ATP, ADP, AMP, IMP ve laktik asit konsantrasyonlarını analiz ettiler. Egzersiz sonrası glikojen, kreatin fosfat ve ATP de anlamlı düşüş, IMP ve laktik anlamlı artış bulundu. Bu metabolitlerin hiç biri egzersizden 15 dakika sonra istirahattaki düzeylerine geri dönmedi. Plazma laktatında egzersiz boyunca anlamlı artış oldu ve egzersiz sonrası 5. dakikada en yüksek konsantrasyona ulaştı. Plazma ürik asit konsantrasyonu egzersiz boyunca artmadı. Fakat egzersizin hemen sonrasında anlamlı olarak arttı ve 20-30 dakika arasında en yüksek düzeye ulaştı. Egzersiz sonrası ürik asit konsantrasyonunun artması, maksimal egzersiz boyunca adenin nükleotid azalmasının markırı olduğunu gösterdi¹²³.

Knull HR ve arkadaşları, düz kaslarda mekanik ve biyokimyasal değişimlerin oksijen eksikliğinin nedeni olduğunu buldular. Dokularda oksijen azlığı, glukoz bulunduğu halde ATP azalmasına neden olur¹²⁴.

İskelet kasında, yüksek yoğunluklu egzersizde ATP devri yüz kattan daha fazla artabilir. ATP nin yeniden oluşumu fosfokreatin azalmasına neden olur. Sonra glikojen kastan glikolize doğru ilerler¹²⁵.

Sunulan çalışmada suda boğarak öldürülen sıçanlar yaklaşık 4-6 dakikada öldüler. Bu esnada çok fazla fiziksel aktivite gösterdiler. Fiziksel aktivite sonucu ATP ihtiyacı arttı. Bu nedenle suda boğarak öldürülen sıçanlarda, hemen ölüm sonrası ATP seviyesi düşük bulundu. Ölümden 120 dakika sonra ise; ölüm öncesi fiziksel aktivite sonucu kas glikojen depolarının azalması sonucu ölüm sonrası anaerobik glikolizde ATP üretiminin az olacağından boynu koparılarak öldürülen sıçanlara göre suda boğarak öldürülen sıçanlar da ATP konsantrasyonu daha az bulundu. Böylece suda boğulma grubunda rigor mortisin daha hızlı geliştiği düşünülür.

Suda boğarak öldürülen sıçanların, hemen ölüm sonrası her üç kasında AMP konsantrasyonları, masseter kası hariç bütün kaslarda ADP konsantrasyonları 0. ve 120. dakikalar için kontrol grubuna göre daha düşüktü ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Bu sıçanların ATP'leri de kontrol grubuna göre daha düşük ölçüldü. ADP ve AMP, ATP'nin metabolik dönüşüm formudur. ATP konsantrasyonu düşük olduğundan dolayı ADP ve AMP konsantrasyonunda düşük olacaktır. Suda boğarak öldürülen sıçanlar, ölüm öncesi fiziksel aktivite gösterdikleri için ATP parçalanıp, ADP oluşmasından dolayı ölümden hemen sonra, ADP konsantrasyonları kontrol grubunun ATP'sininin ADP'ye oranına göre daha yüksek bulundu.

Çalışmamızda boynu kırılarak ve suda boğarak öldürülen sıçanların üç ayrı kasında 0. ve 120. dakikada ölçülen laktik asit değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Ölümden hemen sonra suda boğma, kontrol grubundan; ölümden 120 dakika sonra ise kontrol grubunda, suda boğmadan laktik asit konsantrasyonları daha yüksek bulundu.

Egzersiz yapan kas tarafından kullanılan 3 çeşit enerji kaynağı vardır. Bunlar plazma glukozu, yağ asitleri ve kasın endojen glikojenidir. Egzersizin ilk 5-10 dakikasında sarf edilen başlıca enerji kaynağı kas glikojenidir. Sonraki 30 dakika da ise artmış kan akımı ile kasa getirilen plazma glukozu ve yağ asitleri daha fazla kullanılır. Daha sonra ise glukoz kullanımı azalır ve yağ asitlerinin rolü artar. Eğer egzersiz yoğun değilse ATP aerobik metabolizma ile elde edilir ve oksijen kullanımında artma söz konusu olur. Aerobik yoldan yeterli miktarda ATP sentezlenemezse gerekli enerjinin, bir kısmı anerobik

metabolizma sonucu elde edilir. Anerobik sistemle elde edilen ATP konsantrasyonu son derece düşüktür. Fakat birim zaman da ortaya çıkardığı enerji çok fazladır. İki dakikadan az süreli yoğun egzersizler için enerji ihtiyacı anerobik yolla enerji üretimine bağlıdır. Çok uzun süreli egzersizlerde enerji ihtiyacının % 99'un dan fazlası aerobik reaksiyonlara dayandırılmıştır⁴².

Elektrik çarpması ve kontrol grubu karşılaştırılmasında olduğu gibi sıçanlar ölüm öncesi hızlı kas aktivitesine bağlı olarak anaerobik yolla enerji elde ettiği için ölüm öncesi laktik asit seviyesi suda boğarak öldürülen sıçanlarda arttı. Ölümden önceki fiziksel aktivite sonucu glikojen depolarının azalması sonucu ölüm sonrası anaerobik glikoliz az olduğundan dolayı laktik asit seviyesi suda boğma grubunda daha düşük ölçüldü.

Elektrik çarpması ile suda boğma grubunun karşılaştırılmasında, 120. dakikada ATP konsantrasyonları elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların kaslarında suda boğarak öldürülenlere göre daha düşük bulundu. Yalnızca masseter ve quadriseps kaslarında ATP konsantrasyonları arasındaki fark anlamlı idi ($p < 0.05$). Diğer gruplar arasında ise fark anlamlı değildi.

Elektrik çarpması ile kaslarda şiddetli tetanik spazmlar oluşur. ATP daha fazla harcanır. Anaerobik glikolizle ATP elde edilir. Bu da glikojen depolarının azalmasına neden olur. Suda boğma esnasında sıçanlar fiziksel aktivite gösterdiler. Ancak fiziksel aktivite sonucu oluşan ATP kaybı, tetanik spazmlarla oluşan ATP kaybından daha az olmaktadır. Dolayısıyla elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda, suda boğarak öldürülen sıçanlara göre ATP konsantrasyonları daha düşük bulundu.

Elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülen sıçanlar karşılaştırıldığında; ADP, AMP ve nitrik oksit konsantrasyonları arasındaki fark anlamlı değildi. Elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların hemen ölüm sonrası masseter, triseps ve ölümden 120 dakika sonrası masseter kasında laktik asit konsantrasyonları, suda boğarak öldürülen gruptan daha yüksek bulundu.

Tetanik spazmlarla daha fazla enerji açığa çıkar. Enerji ATP-fosfokreatin ve anaerobik sistemden karşılanır. Bu nedenle elektrik çarpması ile öldürülen sıçanlarda, suda boğarak öldürülen sıçanlara göre laktik asit konsantrasyonları daha fazla olmaktadır.

Nisten 1811 yılında ölü katılığının yayılış sırasını ilk kez tartışmasından bu yana bir çok araştırmacı bu konu ile ilgili yayınlar yaptılar. Bunlardan çoğu ölü katılığının alt çeneden başladığını buradan üst ekstremitelere ve sonuçta alt ekstremitelere yayıldığını kabul ettiler. Buna inici ölüm katılığı denir. Çoğu yayınlarda parmakların en son etkilenen bölgeler olduğu belirtilir. Bununla birlikte bu sıranın oluşumu tamamen açıklanamadı. Bazı Japon araştırmacılar ölü katılığının nadiren alt ekstremitelerden başlayarak üst ekstremitelere ve çeneye yayıldığını ileri sürdüler. Buna da çıkıcı ölüm katılığı denir¹⁶.

1950 yılında ise Shapiro ölü katılığının vücut üst uçlarından alt ucuna doğru her zaman aynı şekilde gelişmediğini, eğer rigor mortis ölen kasların hepsinde aynı zamanda gelişen fiziko-kimyasal bir olay olarak değerlendirilirse, küçük kaslarda büyük kaslardan daha hızlı gelişeceğini beklenmesi gerektiğini ileri sürdü⁴⁸. 1975 yılında Shapiro ve Gordon da aynı teoriyi savundular¹²⁶. Mant ise bu teorinin el ve ayak parmaklarının en son katılaştığını açıklayamadığını idda etti¹. Shapiro ise parmaklarda bulunan interrossei ve lumbricals kasların ölü katılığında önemli rol oynamadığını gösterdi. Shapironun teorisinde ölü katılığının tüm kaslarda eş zamanlı gelişen fiziko-kimyasal yöntem olduğu belirtildi⁴⁹.

Rigor mortis ölü kasların hepsinde aynı zamanda başladığı ve bu yüzden küçük kaslarda büyük kaslardan önce oluştuğu düşünülmekte. Masahiko Kobayashi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 7 adet sıçanın, masseter, pektoralis major, triseps braki, quadriseps femoris ve triseps surae kaslarının ATP, ADP, AMP, laktik asit konsantrasyonları ölümden hemen sonra ve 120 dakika sonra ölçüldü. Bu çalışmada ATP'nin düşüş oranı her bir kas grubu için farklı bulundu. ATP seviyesindeki düşüş en fazla masseter kasındaydı. Bu her farklı kasta ATP'nin üretiminin veya tüketiminin farklı olduğunu gösterir¹¹⁵.

Bizim çalışmamızda kontrol grubundaki sıçanların 3 farklı kasındaki ATP düşüş oranları farklı bulundu. En fazla masseter, sonra quadriseps kaslarında ATP seviyesi düştü. Elektrik çarpması grubunda her bir kastaki ATP düşüş oranı farklı bulundu. En çok düşüş quadriseps kasındaydı. Suda boğma grubunda ise ATP düşüş oranlarında fark yoktu.

Kontrol grubunun masseter kasında en fazla ATP düşüşü oldu. Bizim çalıştığımız 3 ayrı kasın en küçüğü masseter kasıydı. Küçüklüğüne bağlı olarak glikojen depolarıda az olabileceğinden ölüm sonrası anaerobik glikolizle glikojen hemen tüketildiği için ATP'nin yeniden oluşumu da durmaktadır. Bu nedenle ATP konsantrasyonu daha fazla düşmüş ve rigor mortis daha hızlı gelişmiş olabilir.

Elektrik çarpması durumunda ise en fazla düşüş quadriseps kasında görüldü. Elektrik akımının bir ucu kuyrukta bağlı olup; bu noktanın yakınında quadriseps kası bulunduğu için, tetanik spazmlara en fazla maruz kaldı, dolayısıyla ATP düşüş oranı daha fazla oldu.

Suda boğulma grubunda ise ATP seviyelerinde düşüş her bir kas için aynıydı. Suda boğulma esnasında yüksek derecede efor sarfedilmekte. Kol ve bacaklar hayvanın suda çırpınması sonucu fazla hareket etmekte masseter kası küçük olduğu, hem de fiziksel aktivite yaptığı için ATP düşüş oranlarında belirgin bir fark olmadı. Rigor mortisin yayılış sırasının ölüm şekline bağlı olarak değişebileceği düşünöldü.

6-SONUÇ

Bu çalışmada Spraque-Dawley türü sıçanlar; boyun kırılması, elektrik çarpması ve suda boğma ile öldürülerek; sağ ve sol taraf masseter, triceps ve quadriseps kaslarında hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonları araştırıldı.

1-Boynu kırılarak, elektrik çarpması ve suda boğarak öldürülen sıçanlarda masseter, triceps ve quadriseps kaslarında; ölümden 120 dakika sonra ölçülen ATP, hemen ölüm sonrası ATP konsantrasyonlarından daha düşük bulundu. Ölümden sonra meydana gelen hipoksi sonucu, mitokondrideki oksidatif fosforilasyonla ATP sentezi aksar. ATP ölüm sonrası sadece fosfo-kreatininden ve anaerobik glikolizle glikojenden sentez edilir. ATP nin tüketimi üretiminden fazla olur; sonuçta ATP konsantrasyonu azalır.

2-Her üç grupta ADP ve AMP konsantrasyonları ölümden 120 dakika sonrası, hemen ölüm sonrasına göre daha yüksekti. ADP ve AMP, ATP'nin metabolik dönüşüm formudur. Yaptığımız çalışmada ölümden 120 dakika sonra ölçülen ATP değerleri azalmakta, ADP ve AMP bununla ilişkili olarak artmaktadır. Bu ATP' nin postmortem katabolizmasının bir göstergesidir.

3-Çalışmamızdaki üç grubun laktik asit konsantrasyonları, ölümden 120 dakika sonrası, hemen ölüm sonrasına göre daha yüksekti. Ölümden sonra oksidatif fosforilasyonla enerji elde edilemez. ATP ölüm sonrası anaerobik glikolizle kasta depo edilen glikojenden sağlanır. Böylece anaerobik glikolizin son ürünü olan laktik asit konsantrasyonu artar.

4- Her üç grubun üç ayrı kasında; ölümden 120 dakika sonra ölçülen nitrik oksit, hemen ölüm sonrası nitrik oksit konsantrasyonlarından daha düşük bulundu. Nitrik oksit L-arjinin amino asitinden sentez edilir⁹²⁻⁹⁴. Ölüm sonrası amino asit taşınması ATP yokluğu nedeniyle olamaz. Kalsiyum konsantrasyonu nitrik oksit sentezini aktive edecek kadar birikemez. Ölümle kardiyopulmoner sistem durduğu için, kasta oksijen olmaz. Dolayısıyla nitrik oksit sentezi azalır.

5-Her üç gruptaki sıçanların; hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası üç ayrı kasında ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonları arasında korelasyon bakıldı. Boynu kırılarak öldürülen

sıçanlarda hemen ölüm sonrası quadriseps kasında, elektrik çarpması ile öldürülenlerde masseter kasında; suda boğarak öldürülenlerde triseps kasında ATP ve ADP konsantrasyonları arasında pozitif lineer korelasyon bulundu. Adenilat kinaz enziminin katalizlediği reaksiyon denge reaksiyonu olduğundan hücrede ATP ve ADP konsantrasyonları birbirleri ile koordineli olarak artar veya azalır. Diğer parametreler arasındaki korelasyon istatistiksel olarak anlamlı değildi.

6-Boynu kırılarak öldürülen sıçanlarla elektrik çarpması ile öldürülen sıçanların karşılaştırılmasında, ölümden hemen sonra ve ölümden 120 dakika sonra ATP, ADP, AMP ve nitrik oksit konsantrasyonları elektrik çarpması grubunda daha düşük bulundu. Laktik asit konsantrasyonları ise elektrik çarpmasında ölümden hemen sonra kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Elektrik çarpması ile oluşan ani kramplar enerji kaynaklarının azalmasına sebep olur, ATP çabuk düşer ve rigor mortis hızlı gelişebilir.

4-Suda boğarak öldürülen sıçanların hemen ölüm sonrası ve ölümden 120 dakika sonrası ATP, ADP, AMP ve nitrik oksit değerleri, boynu kırılarak öldürülenlerden daha düşüktü. Laktik asit değerleri hemen ölüm sonrası suda boğarak öldürülen sıçanlarda boynu kırılarak öldürülenlere göre daha yüksekti. Yaptığımız çalışmada sıçanları suda boğarak öldürürken, sıçanlar yüksek fiziksel aktivite gösterdiler. Egzersiz kasta glikojen ve ATP azalmasına neden olur. Bu nedenle rigor mortisin hızlı gelişebileceği düşünüldü.

6- Kontrol ve elektrik çarpması grubunda sıçanların üç farklı kasındaki ATP düşüş oranları her kas için farklı bulundu. Kontrolde en fazla masseter, elektrik çarpmasında ise quadriseps kasında ATP seviyesi düştü. Suda boğma grubunda ise ATP düşüş oranında fark yoktu. Kontrol grubunda masseter kası küçük, elektrik çarpma grubunda elektrot quadriseps kasına yakın olduğundan dolayı ATP düşüşü bu kaslarda diğer kaslara göre fazla oldu. Suda boğmada triseps ve quadriseps kası aşırı fiziksel aktivite, masseter kasıda küçük olduğu için ATP düşüş seviyelerinde belirgin fark olmadı.

Sonuç olarak ölüm sonrası çizgili kaslarda ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonları kasların yapısına, ölüm şekline ve ölüm zamanına göre değişmektedir. İnsanların çizgili kaslarında ATP, ADP, AMP, laktik asit ve nitrik oksit konsantrasyonlarının bilinmesi; ölümün, ölüm zamanının ve ölüm şeklinin tespitinde önemli rol oynayabilir.

7- KAYNAKLAR

- 1- Mant A K. Postmortem changes. In Mant A K, ed. Taylor's principles and practice of medical jurisprudence. 13th edition. New York: Churchill Livingstone, 1984: 140-145
- 2- Knight B. The pathophysiology of death. Knight B, ed. Forensic pathology, New York: Oxford University Press, 1991: 54-58
- 3- Di Maio D J, Di Maio V J M. Time of death. Di Maio D J, V J M Di Maio eds. Forensic pathology, Boca Raton: CRC Press, 1993: 26-28
- 4- Henssge C B, Madea and Gallenkemper E. Death time estimation in case work. II. Integration of different methods. Forensic Sci Int 1988; 39: 77-87
- 5- Vain A, Kauppila R, Humal L H, Vuori E. Grading rigor mortis with myotonometry a new possibility to estimate time of death. Forensic Sci Int 1992; 56: 147-150
- 6- Szent-Gyorgy A. Chemistry of muscular contraction. New York: Academic Press, 1947;
- 7- Polat O. Adli tip ders kitabı. Nobel Tıp Kitabevi: 1997: 13-17
- 8- Onat T, Emerk K. Temel biyokimya, Saray Medical Yayıncılık I-II Cilt 1996: 93-116, 884-903
- 9- Erdos T. Rigor, contracture and ATP. Stud Ins Med Chem University, Szeged 1943; 3: 51-62
- 10- Hoet J P, Marks H P. Observations on the onset of rigor mortis. Proc Roy Soc B 1926;100: 72-86
- 11- Doering G, Korinth E, Schmidt O. Post-mortem glycogenolysis in muscle. Its influence on ATP level and rigor mortis. J Forensic Med 1962; 9: 106-116
- 12- Bate-Smith E C, Bendall J R. Rigor mortis and adenosinetriphosphate. J Physiol 1947; 106: 177-185
- 13- Marshall T K. Changes after death. In Camps F E ed. Gradwohl's legal medicine, 2th edn. Bristol: John Wright and Sons Ltd, 1968: 80-107

- 14- Bendall J R. Postmortem changes in muscle. In Bourne G H ed. The structure and function of muscle, 2th edn. New York: Academic Press, 1973; 243-309
- 15- Bate-Smith E C, Bendall J R. Factors determining the time course of rigor mortis. *J Physiol* 1949; 110: 47-54
- 16- Tidy C M. Medicolegal contributions of historical interest. The signs of death, second stage (B), The period of adaveric rigidity (rigor mortis) In *Legal Medicine, Part I*, London: Smith Elder and Co, 1882; 58-74, *Forensic Sci* 1973; 2: 113-123
- 17- Forster B. The contractile deformation of skeletal muscle in rigor mortis. *J Forensic Med* 1963; 10: 133-147
- 18- Krompecher T, Fryc O. Experimental evaluation of rigor mortis. IV. Change in strength and evolution of rigor mortis in the case of physical exercise preceding death. *Forensic Sci Int* 1978; 12: 103-107.
- 19- Ota S, Furuya Y, Shintaku K. Studies on rigor mortis. *Forensic Sci* 1973; 207-219
- 20- Krompecher T. Experimental evaluation of rigor mortis. V. Effect of various temperatures on the evolution of rigor mortis. *Forensic Sci Int* 1981; 17: 19-26
- 21- Krompecher T, Bergerioux C, Brandt-Casadeval C, Gujer H-R. Experimental evaluation of rigor mortis. VI. Effect of various causes of death on the evolution of rigor mortis. *Forensic Sci Int* 1983; 22:1-9
- 22- Krompecher T, Bergerioux C. Experimental evaluation of rigor Mortis. VII. Effect of ante and post mortem electrocution on the evolution of rigor mortis. *Forensic Sci Int* 1988; 38: 27-35
- 23- Wilkinson C, Wood M D. High voltage electric injury. *Am J Surg* 1988; 136: 693-696
- 24- Knight B *Forensic pathology*. 2th New York :Oxford university press, 1997: 294-306 *Int J Sports Med* 6: 74-77
- 25- Lechninger A L, Nelson D L, Cox M M. *Principles of biochemistry*. New York :Worth Publishers 2th Edn, 1982: 364

- 26-Keha E E, Küfrevioğlu Ö İ. Biyokimya. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları, 1990: 233-250
- 27-ŞAHİN Y N. Biyokimya biyoenerjetik prensipler ve katabolizma. Erzurum: 1993: 9-40
- 28-Murray R K, Granner D K, Mayes P A, Rodwell V W. Harpers biochemistry. 24thEdn, California: Lange Medical Publications, 1993: 105-111/ 647-665
- 29-Guyton A C. Textbook of medical physiology. I-II 7th Edn, W B Saunders Company, 1986: 177-197/1459-1474
- 30-Rawn J D. Biochemistry. North Caroline Burlington: Neil Peterson Publishers, 1989: 265-287
- 31-Ganong W F. Rewiev of medical physiology.16th Edn, Prentice-Hall International Inc, 1991: 56-74
- 32-Mathews C K, Holde V, Oregan K H. Biochemistry. The Benjamin and Cummings Publishing Company Inc, 1983: 1035-1074
- 33-Ardle M C, Katch W D, Katch V L. Exercise physiology. Energy, nutrition and human performance. 2nd Edn, Philadelphia: 1986: 17-59
- 34-AKGÜN N, Egzersiz fizyolojisi. 3. Baskı, 1. Cilt, Ankara: G S G M Yayın No: 75, 1989: 89
- 35-Karlsson J. Muscle exercise, energy metabolism and blood lactate. Adv. Cardiol. 1986; 35: 35-46
- 36- Peters A M. Current concepts regarding lactace production, release and uptake in human skeletal muscle during and after exercise. Res Sports Physiol 1984: 7 1-80
- 37-Katz A, Sahlin K. Regulation of Lactic acid production during exercises. J Appl Physiol 1988; 65: 509 -518
- 38-Gladden L B. Lactace uptake by skeletal muscle. In "exercise and sport science rewiev" Ed Pandolf K B. Baltimore: Williams-Wilkins, 1989:115-155
- 39- Bompa T O. Theory and methodology of Training. Dubuque: 10 WA, 1986: 249 -255

- 40-Acobs I, Tesch P A, Bar-Or O, Karlsson J, Dotan R. Lactate in human skeletal muscle after 10 and 30 s of supramaximal exercise. *Exercise Physiol* 1983; 46: 27-34
- 41-Fox E I, Bowers R W, Foss ML. *The Physiological basis of physical education and athletics*. Philadelphia: Saunders College Publishing, 1988: 49-53
- 42-Vander A J, Sherman J H, Luciano D S. *Human physiology: the mechanism of body function*. 5th Edn, USA: Mc Graw-Hill Publishing Company, 1990: 146-230
- 43-Forster B. The plastic and elastic deformation of skeletal muscle in rigor mortis. *J Forensic Med* 1963;10: 91-110
- 44-Forster B. The plastic, elastic and contractile deformation of the heart muscle in rigor mortis. *J Forensic Med* 1964;11: 148-167
- 45-Night S B. *Adli tip*. Birgen N ed. 10. Baskı, 1993 :34-36
- 46-Kropecher T, Frite O. Experimental evaluation of rigor mortis. I. histochemical analysis of rat skeletal muscle in the early post-mortem period. *Forensic Sci Int* 1978; 12-2: 89-95
- 47-Niderkorn P F. Rigor mortis. *BMJ* 1974; 1: 303-4
- 48-Shapiro H A. Rigor mortis. *Brit Med J* 1950: 304
- 49-Shapiro H A. Medico-legal mythology, some popular forensic fallacies. *J Forensic Med* 1954; 1: 144-69
- 50-Schoning P, Strafuss A C. Postmortem biochemical changes in canine vitreous humor. *J Forensic Sci* 1980; 25-1: 153-59
- 51-Schoning P, Strafuss A C. Postmortem biochemical changes in canine blood. *J Forensic Sci* 1980; 25-2: 336-343
- 52- Schoning P, Strafuss A C. Postmortem biochemical changes in canine cerebrospinal fluid. *J Forensic Sci* 1980; 25-1: 60-66
- 53- Ku C S, Hsu T L, Song M. Myocardial damage associated with electrical injury. *Am Heart J* 1989;118-3: 623-31

- 54- Wright R K, Ganther G E. Electrical Injuries and lightning; handbook of forensic patholog, Froede R ed. College of American Pathologist U S A, 1990: 150-157
- 55-Moar J J, Hunt J B. Death from electrical flash burns. S A M J 1987; 7: 181-182
- 56-Jones J E, Armstrong C W, Woolard D, Miller G B. Fatal ouccupational electrical injuries in virginia. J Occup Med 1991; 33-1: 813-817
- 57-Cone J E, Daponte A, Reiter R, Becker C, Harrison R, Balmes J. Fatal incuries at work in california. J Occup Med 1991; 33-7: 1013-1018
- 58-Harvey P, Sutton M. Electrocution letter. Med J Aust 1993; 158: 435-44
- 59-Kirangil B, Okudan M, Soysal Z, Albek E. Elektrik akımı ile intihar. 7.Ulusal adli tıp günleri poster sunuları kitabı. Antalya: 1993: 385
- 60-İnce C H, Fincancı Ş K, Arıcan N, Akkay E. Elektrikle intihar. I. Adli bilimler kongresi kongre kitabı. Adana: 1994: 342
- 61-Al-Alousi L M. Homicide by electrocution. Med Sci Law 1990;30-3: 239-246
- 62-Jense P J, Thomsen P E B, Bagger J P, Norgaard A, Baandrup U. Electrical injury causing ventricular arrhythmias. Brit Heart J 1987; 57: 279-83
- 63-Gök Ş. Adli tıp ders kitabı. 6.Baskı. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1991:137
- 64-Gordon I, Shapiro H A, Berson S D. Forensic medicine a guide to principles. 4th Edn. New York: Churchill Livingstone, 1988: 146-149
- 65-Lee R C, Kolodney M S. Electrical injury mechanisms: Dynamics of the thermal response. Plast Reconstr Surg 1987; 80-5: 663-671
- 66-Zelt R G, Daniel K, Ballar P A, Brissette Y, Heroux P. High-voltage electrical injury: chronic wound evolution. Plast Reconstr Surg 1988; 83-6: 1027-1039
- 67-Danielsen L, Karsmark T, Thomsen H K, Thonsen J L, Balding L E. Diagnosis of electrical skin injuries. Am J Forensic Med pathol 1991; 12-3: 222-226
- 68-Koshima I, Moriguchi T, Soeda S, Murashita T. High-voltage electrial injury: Electron microscopic findings of injured vessel, nerve and muscle. Ann Plast Surg 1991; 26-6: 587-591

- 69-Luce E, Gottlieb S E. "True" high-tension electrical injuries. *Ann Plast Surg* 1984; 12- 4: 321-326
- 70-Whelan T R, Mc Carthy D I. High-voltage electrical injury. *Brit J Accid Surg* 1988; 19-5: 364-365
- 71-Lee R C, Klodney M S. Electrical breakdown of cell membranes. *Plast Reconstr Surg* 1987; 80-5: 672-679
- 72-Copeland A R. Homicidal drowning. *Forensic Sci Int* 1986; 31: 247-52
- 73-Polat O, Yılmaz A. Suda boğulma. *Sendrom Dergisi* 1991;12: 31-33
- 74-Tedeschi C G, Eckert W G, Tedeschi L G. *Forensic medicine*. Philadelphia London Toronto: W B Saunders Company, 1977-3: 1317-1333
- 75-Aykaç M. *Adli tıp ders kitabı*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları, 1987:143-155
- 76-Fatfeh A. *Handbook of forensic pathology*. Philadelphia Toronto: J B Lippincott Company, 1973: 161-163
- 77-Rose E F. *Forensic pathology in laboratory medicine*. Race G J ed. Hagerstown Maryland: Harper and Row Publishers, 1973-3:1-90
- 78-Bucklin R. *Scientific and expert evidence in criminal advocacy*. Juris G, Ceder B, Selma A ed. *Foresic pathology*. New York: Practising Law Institue 1981-39:
- 79-Gonzales R, Rathi J. Near drowning: consensus and contraversies in pulmonary and cerebral resuscitation. *Heart Lung* 1987; 86-1: 474 - 482
- 80-Morild I. Pleural effusion in drowning. *Am J Forensic Med Pathol* 1995;16-3: 253-56
- 81-Rose E F. *Forensic pathology, in labatatory medicine*. Race G J ed. Hagerstown Maryland: Harper and Row Publishers, 1973-3:112-187
- 82-Lowenstein C J, Dinerman J L, Synder S H. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med*. 1994; 120: 227-237
- 83-Joulou-Schaefer G, Gray G A, Fleming I, Scgott C, Parratt J R, Stoclet J L. Loss of vascular responsiveness induced by endotoxin involves the L-arginine pathway. *Am J Physiol* 1990; 259: 1038-45

- 84-Berisha H, Pakbaz H, Absood A, Foda H D, Said S I. Nitric oxide mediates oxidant tissue injury caused by paraquat and xanthine oxidase. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 17: 422-29
- 85-Moncada S. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand* 1992; 145: 201 - 227
- 86-Vallence P, Moncada S. Nitric oxide from mediator to medicines. *J R Gll Physiol* 1994; 28: 209-16
- 87-Crossin K L. Nitric oxide: a versatile second messenger in brain. *T I B S* 1991; 16:81-82
- 88-Anggard E. Nitric oxide mediator, murderer and medicine. *Lancet* 1994; 343 : 1199-1206
- 89-Yoshida K, Kasama K. Biotransformation of nitric oxide. *Environ Health Perspect* 1987;73: 201-5
- 90- Wennmalm A, Bentin G, Petersson A S. Dependence of the metabolism of nitric oxide (NO) in healthy human whole blood on the oxygenation of its red cell hemoglobin. *Pharmacol Br J* 1992;106: 507-11
- 91-Miles A M, Bohle D S, Glassbrenner P A. Modulation of superoxide dependent oxidation and hydroxylation reactions by nitric oxide. *Biol J Chem* 1996; 271 : 40-47
- 92-Moncada S, Palmer R M J, Higgs E A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43: 109-142
- 93-Moncada S, Higgs A. The L-arginine nitric oxide pathway. *N Eng J Med* 1993; 329: 2002 - 2012
- 94-Bredt D S, Snyder S H. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 175-195
- 95-Moncada S B, Higgs A. The L-arginine nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-237
- 96-Bredt D S, Hwang P M, Snyder S H. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* 1990; 347:768-770

- 97-Robbins R A, Barnes P J, Springel D R. Expression of inducible nitric oxide in human lung epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 203:209-218
- 98- Stark M E, Szurszewski J H. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology* 1992; 103: 1928-1949
- 99--Charles J, Lowenstein M D., Jay L D. Nitric oxide: a physiologic messenger *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-237
- 100-Busse R, Mülsch A, Fleming I. Mechanisms of nitric oxide release from the vascular endothelium. *Circulation* 1993; 87 (Suppl V):V-18-V-15
- 101-Rees D D, Palmer R M J, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci*. 1989; 86: 3375-3378
- 102- Önder M R, Nalbantgil İ. Endotel ve fonksiyonları. İzmir: Ege Üniv Tıp Fak Yay 1997: 7-31
- 103-Metha J L. Endothelium, coro vasodilation and organic nitrates. *Am Heart J* 1995;192- 2:382-391
- 104-Lerman A, Evan K, Fredric L. Inhibition of endothelium-derived relaxing factor enhances endothelin mediated vasoconstriction. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 85: 1894-1898
- 105-Flavahan N A, Vanhoutte P M. Endothelial cell signaling and endothelial dysfunction. *Am J Hypertens* 1995; 8: 285-415
- 106-Flavahan N A. Atherosclerosis or lipoprotein induced endothelial dysfunction. Potential mechanisms underlying reduction in EDRF/nitric oxide activity. *Circulation* 1992; 85 : 1927-1938
- 107-Squadrito F, Mazzaglia G, Arcoraci V, Sautebin L, Caputi A P, Calapai G, Altavilla D, Cucinotta D, Zingarelli B, Campo G M: Food deprivation inceases bran in nitric oxide synthase and depresses brain serotonin levels in rats. *Neuropharmacol* 1994; 33: 83-9
- 108-Milner A D. Nitric oxide. *Eur J Pediatr* 1994;153: 11-9
- 109-Stark M E, Szurszewski J H. Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterol* 1992; 103 : 1928 - 1949

- 110-Valiance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989; 997
- 111-Reid M B: Role of nitric oxide in skeletal muscle: synthesis, distribution and functional importance. *Acta Physiol Scand* 1998;162-3: 401-9
- 112-Marechal G, Beckers Bleukx G. Effect of nitric oxide on the maximal velocity of shortening of a mouse skeletal muscle. *Pflugers Arch* 1998; 436-6: 906-13
- 113- Kapur S, Bedard S, Marcotte B, Cote C H, Marette A. Expression of nitric oxide as a modulator of insulin action. *Diabetes* 1997; 46-11: 1691-700
- 114-Gossrau R. Nitric oxide synthase I (NOS I) is a costameric enzyme in rat skeletal muscle. *Acta Histochem*, 1998; 100-4: 451-62
- 115-Kobayashi M, Takatori T, Iwadate K, Nakajima M. Reconsideration of the sequence of rigor mortis through postmortem changes in adenosine nucleotides and lactic acid in different rat muscles. *Forensic Sci Int* 1996; 82: 243-53
- 116-Langille S M, Gill T A. Postmortem metabolism of short-finned squid muscle (*Illex illecebrosus*). *Comp Biochem Physiol* 1984;79-3:361-7
- 117-Stapleton M T, Allshire A P. Modulation of rigor and myosin ATPase activity in rat cardiomyocytes. *J Mol cell Cardiol* 1998; 30-7: 1349-58
- 118- Mercier B, Granier P, Mercier J, Foucat L, Bielicki G. Noninvasive skeletal muscle lactate detection between periods of intense exercise in humans. *Eur J appl physiol* 1998; 78-1: 20-7
- 119- Schneider V. Zum elektrotod in der badewanne. *Arch krim.* 1985;176:8-95
- 120- Jacobs I, Tesch P A, Baror O, Karlsson J, Dotan R. Lactate in human skeletal muscle after 10 and 30s of supramaximal exercise. *J Appl Physiol Respirat Environ Exercise Physiol* 1983; 55-2: 365-67
- 121- Conley K E, Blei M L, Richards T L, Kushmerick M J, Jubrias S A. Activation of glycolysis in human muscle in vivo. *Am J Physiol* 1997; 273-1: 306-15
- 122- Hesselink M K, Kuipers H, Keizer H A, Drost M R, Vusse G J. Acute and sustained effects of isometric and lengthening muscle contractions on high-

energy phosphates and glycogen metabolism in rat tibialis anterior muscle. *J Muscle Res Cell Motil* 1998;19-4: 373-80

123- Schuback K, Essen-Gustavson B. Muscle anaerobic response to a maximal treadmill exercise test in Standardbred trotters. *Equine Vet J* 1998; 30-6: 504-10

124- Knull H R, Bose D. Reversibility of mechanical and biochemical changes in smooth muscle due to anoxia and substrate depletion. *Am J Physiol* 1975; 229-2: 329-33

125- Krause U, Wegener G. Control of adenine nucleotide metabolism and glycolysis in vertebrate skeletal muscle during exercise. *Experientia* 1996;15;52-5: 396-403

126- Shapiro H A, Gordon I. Diagnosis and the early signs of death. In Shapiro H A, Gordon I eds. *Forensic Medicine*. New York: Churchill Livingstone, 1975: 10-16