

Kadmiyum, Bakır ve Kurşunun *In Vitro* İnek Uterus Kasılmaları Üzerine Etkileri^[1]

Ebru YILDIRIM¹ Hasan Ceyhun MACUN² 

[1] Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2008/50)

¹ Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, TR-71451 Yahşihan, Kırıkkale - TÜRKİYE

² Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, TR-71451 Yahşihan, Kırıkkale - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2013-8805

Özet

Bu çalışma, *in vitro* koşullarda kadmiyum, bakır ve kurşunun folliküler ve luteal evredeki izole inek uterus kasılmaları üzerine olan etkilerinin belirlenmesi amacı ile yapıldı. Çalışmada; Kırıkkale mezbahasında kesilen sağlıklı Holstein ırkı ineklerin myometrial şeritleri kullanıldı. Bu şeritler, izole organ banyosuna 2 g ön gerimle asıldı. Spontan, 2.5 mIU/ml oksitosin ve 10⁻⁶ M prostaglandin F₂ alfa (PGF₂ alfa) ile oluşturulan kasılmalar üzerine 10⁻⁵ M kadmiyum, 10⁻⁴ M bakır ve 10⁻⁴ M kurşunun etkileri değerlendirildi. Kadmiyum, folliküler evrede oksitosin ve PGF₂ alfa'nın, luteal evrede ise spontan, oksitosin ve PGF₂ alfa'nın oluşturduğu kasılmaların tüm parametrelerini (maksimum ve ortalama amplitüd, frekans değerleri) anlamlı olarak azalttı. Bakır; folliküler evrede spontan kasılmaların ortalama ve maksimum amplitüd değerlerini, oksitosin kasılmalarının tüm parametrelerini, PGF₂ alfa kasılmalarının frekans ve maksimum amplitüd değerlerini düşürdü. Luteal evrede bakır, spontan kasılmaların maksimum amplitüdünü, oksitosin kasılmalarının frekans ve maksimum amplitüdünü, PGF₂ alfa kasılmalarının ortalama ve maksimum amplitüd değerlerini düşürdü. Kurşun, folliküler ve luteal evrede PGF₂ alfa ve oksitosin kasılmalarının frekans değerini azaltırken, luteal evrede spontan kasılmaların ortalama amplitüd değerini artırdı. Sonuç olarak; kadmiyum, bakır ve kurşunun inek uterusunun kasılma yanıtını değiştirdiği ve buna bağlı olarak fertilitiyi etkileyebileceği kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: İnek uterusu, *In vitro*, Kadmiyum, Bakır, Kurşun

The Effects of Cadmium, Copper and Lead on *In Vitro* Bovine Uterine Contractility

Summary

The aim of this study was to investigate *in vitro* effects of cadmium, copper and lead on isolated bovine uterus contractions at follicular and luteal stage. In this study myometrial strips obtained from healthy Holstein cows slaughtered in Kırıkkale slaughterhouse were used. The strips were mounted to isolated organ bath under a basal tension of 2 g. The effects of 10⁻⁵ M cadmium, 10⁻⁴ M copper and 10⁻⁴ M lead on the spontaneous, 2.5 mIU/ml oxytocin and 10⁻⁶ M PGF₂ alpha induced contractions were examined. At follicular stage, all contractility parameters (maximum and mean amplitudes and frequency) of uterine induced by oxytocin and prostaglandin F₂ alpha (PGF₂ alpha), and at the luteal stage all contractility parameters of spontaneous, oxytocin and PGF₂ alpha induced contractions were decreased significantly by cadmium. At follicular stage the maximum and mean amplitude of spontaneous contractions, all contractility parameters induced by oxytocin, the frequency and maximum amplitude caused by PGF₂ alpha and, at the luteal stage the maximum amplitude of spontaneous contractions, the frequency and maximum amplitude of uterine contractions induced by oxytocin, and maximum-mean amplitude of contractions induced by PGF₂ alpha were decreased by copper. While lead decreased the frequency of uterine contractions induced by PGF₂ alpha and oxytocin at follicular and luteal stage, at luteal stage it increased the mean amplitude of spontaneous contractions. It was suggested that cadmium, copper and lead changed the contractility of bovine uterine; therefore this may be effect the fertility in cattles.

Keywords: Bovine uterus, *In vitro*, Cadmium, Copper, Lead

GİRİŞ

Çiftleşme sırasında uyarılan serviks, uterus ve ovidukt kasılmaları; spermatozoaların fertilizasyon bölgesine ulaşmasına yardım eder^[1]. Ayrıca, uterus kasılmalarının doğum

ve östrus siklusu^[2] ile puerperal dönemde uterus involüsyonunda^[3] ve erken postpartum dönemde uterus lumenindeki fazla sıvı ve kalıntının atılmasında rol oynadığı^[4]



İletişim (Correspondence)



+90 318 3574242/6067



hceyhunmacun@yahoo.com

bildirilmiştir. Östrusta ve östrusun hemen ardından kasılmaların frekansının en yüksek seviyeye ulaştığı, luteal dönemde ise azaldığı kaydedilmiştir [5]. Folliküler ve luteal dönemler arasında hormonal farklar bulunmaktadır. Folliküler dönemde progesteron bazal seviyenin altına inerken östrojen seviyesi artar. Luteal dönemde ise progesteron seviyesi yüksektir [6].

Çiftlik hayvanlarında uterus kasılmaları üzerine yapılan çalışmaların, (1) östrus siklusu ile uterotonik etkinlik arasındaki ilişki, (2) doğum sırasındaki uterotonik etkinlik, (3) uterusu uyaran maddelerin etkisi üzerine odaklandığı belirtilmiştir [2]. Uterus kasılmaları, herhangi bir ilaç ya da yabancı maddeden etkilenebilmektedir [7]. Çevresel kirletici olarak bilinen kadmiyum, bakır ve kurşunun uterus kasılmaları üzerine etkisinin araştırılması bu açıdan önemlidir.

Kadmiyum, bakır ve kurşuna maruziyet birçok yolla olmaktadır. Bu yollar; hatalı olarak yeme katılmaları, bu metalleri fazla miktarda ihtiva eden bitkilerin alınması, meraların ya da hayvan yemi olarak kullanılacak bitki ve yemlerin herbisid, insektisid ve funguside maruz kalması şeklinde sıralanabilir. Endüstriyel atıkların kazara çevreye bulaşması da sebepler arasında yer alır [8].

Kadmiyum, bakır ve kurşunun farklı dokular üzerine etkilerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [9-17]. Kadmiyum, insan myometriyumunda kalsiyum kanallarını inhibe etmektedir [9]. Sıçan, kedi ve gebe siğir uterusunda kasılmaları tamamen engellendiği saptanmıştır [10]. İnsan ve değişik hayvan türlerinde bakırın uterus üzerine etkisi çalışılmış [11-14] ve bakırın *in vivo* ve *in vitro* olarak uterusun etkinliğini değiştirebileceği ortaya konmuştur. Schild [11], depolarize rat uterusunda, S-S polipeptidlerin kasılma potensini bakır (II) sülfat için sıfır olarak bildirmiştir. Bakır klorür tavşan myometriyumunun kasılmalarını derişime bağlı bir şekilde artırmıştır [12]. Kurşun asetatın ise derişime bağlı olarak sıçan trakea halkalarında [15] ve tavşan aortasında [16] kasılma oluşturduğu gözlemlenmiştir. Santos ve ark.[17] kurşun asetat verilen sıçanların izole gastrik fundusunda, kurşunun adrenerjik ve kolinerjik olmayan gevşemeleri önlediğini ortaya koymuşlardır. Ancak; yapılan literatür taramalarında, hem folliküler hem de luteal evrede bu metallerin izole inek uterusu üzerine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı; hayvanlarda doğrudan veya çevre ve besin kirliliği şeklinde akut, subakut, kronik zehirlenmelere yol açabilen kadmiyum, bakır ve kurşunun, folliküler ve luteal dönemde inek uterus kasılmaları üzerine etkilerini araştırmaktır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Çalışma materyali olarak folliküler ve luteal evredeki ineklerden alınan uterusu ait myometrial şeritler kullanıldı.

Bu şeritler, Kırıkkale Belediyesi'ne ait mezbahada veteriner hekim kontrolünde kesilen sağlıklı Holstein ırkı ineklerden elde edildi. Hasta ve postpartum dönemdeki inekler çalışmada kullanılmadı. Her bir metal ve dönem için farklı uterus myometriumu kullanıldı.

Cihazlar

Çalışmada elde edilen veriler force displacement transducer (FDT 05 MAY, Commat, Türkiye) ile ölçülüp, Biopac System (MP35, ABD) ile kayıt altına alındı.

Kimyasal Madde ve Çözeltiler

Tiroid çözeltisi her deneyde taze olarak, çözelti içeriğinde; mM cinsinden 136.9 NaCl, 2.68 KCl, 1.05 MgCl₂, 0.42 NaH₂PO₄, 5.5 glukoz, 1.8 CaCl₂, 11.9 NaHCO₃ ve pH: 7.4 olacak şekilde distile suda çözündürülerek hazırlandı. Kadmiyum klorür hemipenta hidrat, ACS reagent (Kodu: 239208) ve kurşun II klorür %98'lik (Kodu: 268690) Aldrich'den, bakır (II) klorür hidrat (Kodu: C3279), oksitosin liyofilize toz (Kodu: O3251) ve prostaglandin F₂ alfa tris tuzu %99 saflıkta (Kodu: P0424) Sigma'dan sağlandı. Tüm kimyasal maddeler distile suda çözündürülerek -20°C'de muhafaza edildi ve deneyler sırasında kullanıldı.

Deney Protokolü

Sağlıklı ineklerin öncelikle hangi evrede olduğu tespit edildi. Bu amaçla her iki ovaryumun makroskopik morfolojisi değerlendirildi. Regrese korpus luteum olsun veya olmasın 10 mm'den büyük follikülü olan hayvanların folliküler, aktif korpus luteumu olan hayvanların ise luteal dönemde oldukları kabul edildi. Aktif yapının bulunduğu taraftaki kornu uterin üst 1/3'lük kısmı kesilerek ayrıldı [18] ve ovaryum tarafının karıştırılmaması için cerrahi ipek iplikle dikiş atılarak işaret konuldu. Alınan bu kısmın çevre yapıları temizlendikten sonra, soğuk zincirde (+4°C), %95 oksijen %5 karbondioksit ile önceden gazlanmış Tiroid çözeltisi içerisinde, yaklaşık 15-20 dk'da laboratuvara getirildi. Uterus dokusundan yaklaşık 1.5-2 cm boyunda, 0.5 cm eninde şerit izole edildi ve cerrahi ipek iplikle ovaryuma bakan kısmı transdusere gelecek şekilde izole organ banyosuna asıldı. Deneyler boyunca dokular 10 ml Tiroid çözeltisi içinde devamlı olarak %95 oksijen %5 karbon dioksit ile gazlandı. Sıcaklık 37°C'de sabitlendi.

Her bir metal için uygulanan deney protokolü: Myometrial şeritlere 2 g ön gerim verildi. Kas bu gerime uyum sağlayana kadar en az 1 saat beklendi. Bu esnada dokular 15 dk aralıklarla spontan kasılmalar başlayana kadar taze Tiroid çözeltisi ile en az 4 kez yıkandı. Bekleme süresi sonunda dokuların canlılığına oksitosinle bakılarak, tekrar 5 dk. ara ile en az 3 kez yıkama yapıldı. Ardından kadmiyum (10⁻⁵ M), bakır (10⁻⁴ M) ve kurşun (10⁻⁴ M)'un hayvanların hem folliküler hem de luteal evrede spontan, oksitosin ve PGF₂ alfa'nın oluşturduğu uterus kasılmaları üzerine etkilerine bakıldı. Kadmiyum derişimi Kara ve ark.'nın [10], bakırın derişimi Laudanski ve ark.'nın [13], kurşunun derişimi

ise Sopi ve ark'nın [19] çalışmalarından seçildi. Her bir metal için ayrı uterus dokusu kullanıldı. Kontrol olarak 10 dk. boyunca spontan kasılmalar alındı, ardından yıkama yapılmadan metal uygulanarak, 10 dk. boyunca beklendi. Doku 5 dk. aralıklarla Tirod çözeltisi ile en az 3 kez, normale dönene kadar yıkandı ve kontrol olarak 2.5 mIU/ml oksitosin uygulandı. On dk. bekleme periyodunun ardından metal uygulandı, aynı protokol 10^{-6} M PGF_2 alfa için de tekrarlandı. Oksitosin ve PGF_2 alfa'nın inek myometriyumunda kasılma oluşturan derişimleri seçildi [20]. Deneyler sırasında uterusun spontan, oksitosin ve PGF_2 alfa ile oluşturulan kasılmalarının frekansları, ortalama amplitüdüleri ve maksimum amplitüdüleri değerlendirildi. Bütün uygulamalarda 10 dk.'lık zaman periyodu içinde şekillenen değişimler dikkate alındı. Bazal çizgiye göre oluşan kasılmaların amplitüdüleri ölçülerek ortalamaları ve ulaşılan en yüksek kasılma maksimum amplitüd değerleri mg cinsinden belirlendi. Ayrıca bu süre içinde oluşan kasılmaların tepe noktaları sayılarak frekans değerleri adet cinsinden tespit edildi.

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel hesaplamalarda SPSS 15 for Windows paket programı kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerde eşli gruplar t testi, normal dağılmayanlarda Wilcoxon Signed Ranks non parametrik testi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verildi.

BULGULAR

Kadmiyumun inek uterusuna etkileri *Tablo 1* ve *2'de*

verilmiştir. Folliküler evrede kadmiyum uygulaması ile spontan kasılmaların frekansının uygulama öncesine göre istatistiksel olarak daha düşük çıkma eğiliminde olduğu bulundu ($P=0.054$). Oksitosin ve prostaglandinin oluşturduğu kasılmaların ise tüm parametrelerini (ortalama amplitüd ($P < 0.05$), frekans, maksimum amplitüd ($P \leq 0.01$) anlamlı olarak düşürdü. Luteal evredeki inek uterusunda kadmiyum spontan kasılmaların ortalama amplitüd ve frekansını ($P \leq 0.01$), maksimum amplitüdünü ($P \leq 0.001$), oksitosin ve prostaglandinin oluşturduğu kasılmaların tüm parametrelerini ($P \leq 0.001$) anlamlı olarak azalttı (*Şekil 1*).

Bakırın inek uterusuna etkileri *Tablo 3* ve *4'te* özetlenmiştir. Folliküler evredeki inek uterusunda bakır; oksitosin yanıtlarının tüm parametrelerini (ortalama amplitüd ve frekans ($P \leq 0.01$), maksimum amplitüd ($P < 0.05$)), prostaglandin yanıtlarının frekans ve maksimum amplitüd yanıtlarını ($P < 0.05$) azalttı. Spontan kasılmaların amplitüd yanıtları bakır tarafından düşürüldü ($P \leq 0.01$). Luteal evredeki inek uterusunda bakır oksitosin yanıtlarının ise frekans ve maksimum amplitüdünü ($P \leq 0.01$) düşürdü. Prostaglandin yanıtlarının ise ortalama ($P < 0.05$) ve maksimum amplitüd ($P \leq 0.01$) değerlerini azalttı (*Şekil 2*).

Kurşunun inek uterusu üzerindeki etkileri *Tablo 5* ve *6'da* sunulmuştur. Folliküler evredeki inek uterusunda kurşun, oksitosin ve prostaglandin kasılmalarında frekansları (sırasıyla $P < 0.05$, $P \leq 0.01$) azalttı. Luteal evredeki inek uterusunda kurşun spontan kasılmaların ortalama amplitüd değerini artırırken ($P \leq 0.01$), oksitosin ve PGF_2 alfa ile oluşturulan kasılmaların ise frekansını (sırasıyla $P \leq 0.01$, $P < 0.05$) azalttı (*Şekil 3*).

Tablo 1. Folliküler evredeki inek uterusunda kadmiyumun spontan, oksitosin ve PGF_2 alfa ile oluşturulmuş kasılmalar üzerine etkisi

Table 1. The effect of cadmium on the spontaneous, oxytocin and PGF_2 alpha induced contractions on bovine uterus at follicular stage

Parametreler	n	Kontrol	10^{-5} M Kadmiyum	P	2.5 mIU/ml Oksitosin	10^{-5} M Kadmiyum	P	10^{-6} M $PGF_2\alpha$	10^{-5} M Kadmiyum	P
Ortalama Amplitüd (mg)	11	989.00 \pm 194.41	617.18 \pm 214.44	AD	1160.73 \pm 152.92	816.91 \pm 153.52	*	1176.55 \pm 128.47	791.82 \pm 207.73	*
Frekans (adet)	11	5.55 \pm 0.94	3.55 \pm 0.94	AD	17.82 \pm 2.75	7.73 \pm 1.26	**	12.91 \pm 2.59	5.00 \pm 0.93	**
Maksimum amplitüd (mg)	11	1355.27 \pm 283.11	984.55 \pm 371.37	AD	2023.45 \pm 267.04	1266.45 \pm 246.39	**	1816.82 \pm 210.31	1097.82 \pm 248.22	**

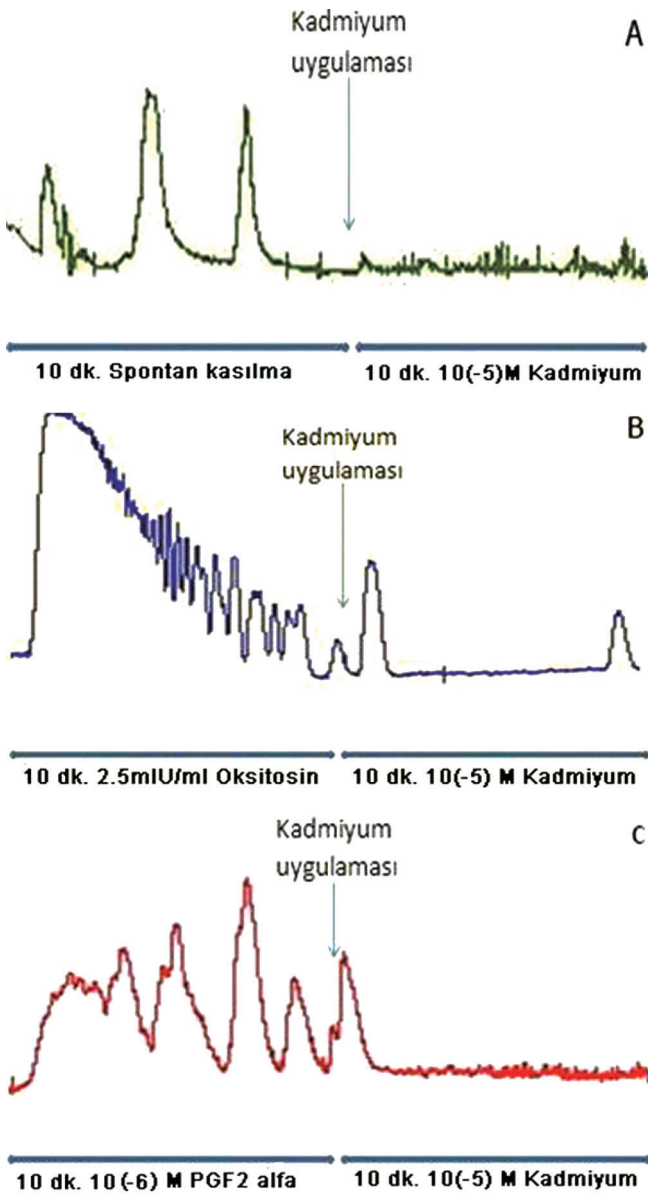
* $P < 0.05$, ** $P \leq 0.01$, n: izole inek uterusu sayısı, AD: Anlamlı değil

Tablo 2. Luteal evredeki inek uterusunda kadmiyumun spontan, oksitosin ve PGF_2 alfa ile oluşturulmuş kasılmalar üzerine etkisi

Table 2. The effect of cadmium on the spontaneous, oxytocin and PGF_2 alpha induced contractions on bovine uterus at luteal stage

Parametreler	n	Kontrol	10^{-5} M Kadmiyum	P	2.5 mIU/ml Oksitosin	10^{-5} M Kadmiyum	P	10^{-6} M $PGF_2\alpha$	10^{-5} M Kadmiyum	P
Ortalama Amplitüd (mg)	21	630.81 \pm 218.24	444.14 \pm 212.55	**	881.19 \pm 123.24	561.19 \pm 106.89	***	981.57 \pm 194.51	595.76 \pm 110.24	***
Frekans (adet)	21	5.29 \pm 1.31	3.57 \pm 1.35	**	9.43 \pm 1.39	5.52 \pm 0.79	***	8.67 \pm 1.22	5.14 \pm 0.98	***
Maksimum amplitüd (mg)	21	1020.52 \pm 281.14	546.00 \pm 217.54	***	1325.86 \pm 157.14	742.19 \pm 132.04	***	1480.57 \pm 215.19	730.05 \pm 121.19	***

** $P < 0.01$, *** $P \leq 0.001$, n: izole inek uterusu sayısı

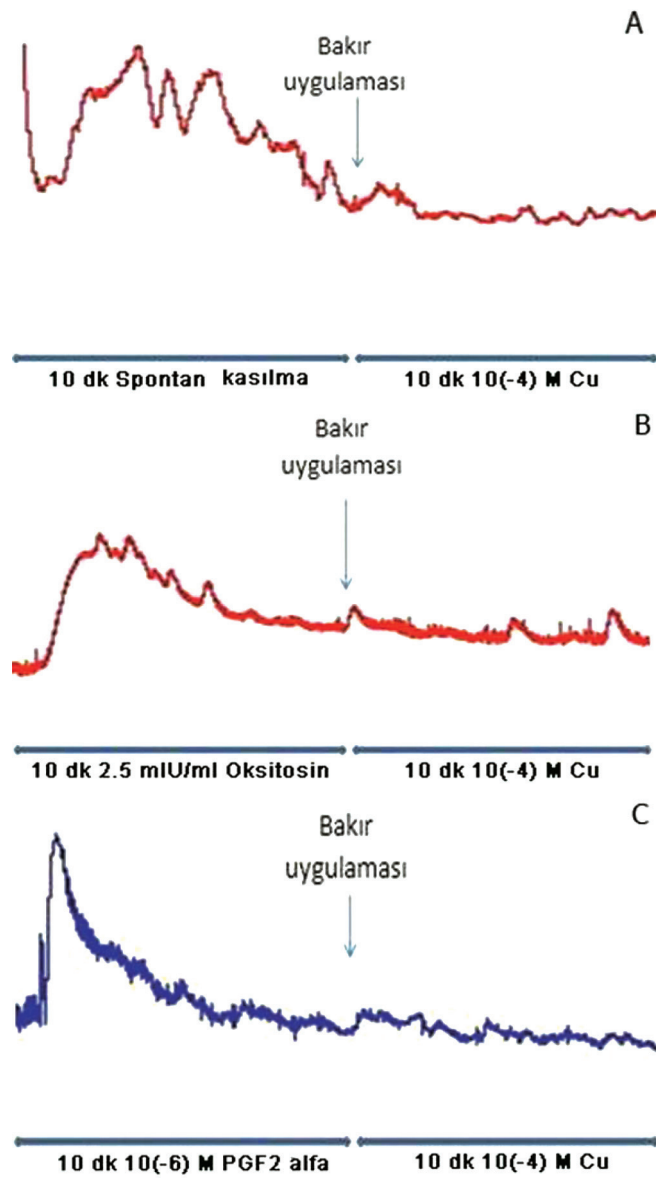


Şekil 1. Kadmiyum klorürün izole inek uterus kasılmaları üzerine etkileri. (A) Kadmiyumun luteal evrede spontan kasılmalar üzerine etkisi, (B) Kadmiyumun folliküler evrede oksitosin ile başlatılan kasılmalar üzerine etkisi, (C) Kadmiyumun luteal evrede PGF₂ alfa ile başlatılan kasılmalar üzerine etkisi

Fig 1. The effects of cadmium chloride on isolated bovine uterus contractility (A) The effect of cadmium on spontaneous contractions at luteal stage, (B) The effect of cadmium on oxytocin induced contractions at follicular stage, (C) The effect of cadmium on PGF₂ alpha induced contractions at luteal stage

TARTIŞMA ve SONUÇ

Myometriyel kasılmalar, *in vivo* olarak hormonal değişikliklerden etkilenmektedir. Östrus siklusunun çeşitli dönemlerinde, farklı hormonlar baskın durumdadır. Folliküler dönemde östrojen, luteal dönemde progesteron hormonu yüksek seviyede salgılanmaktadır. Östrojenler, östrojen ve progesteron reseptörlerini up regüle ederek, oksitosin reseptör sayısında artışa sebep olur. Progesteron yeni östrojen reseptörlerinin oluşmasını bloke eder ve



Şekil 2. Bakır klorürün izole inek uterus kasılmaları üzerine etkileri. (A) Bakırın luteal evrede spontan kasılmalar üzerine etkisi, (B) Bakırın folliküler evrede oksitosin ile başlatılan kasılmalar üzerine etkisi, (C) Bakırın folliküler evrede PGF₂ alfa ile başlatılan kasılmalar üzerine etkisi

Fig 2. The effects of copper chloride on isolated bovine uterus contractility (A) The effect of copper on spontaneous contractions at luteal stage, (B) The effect of copper on oxytocin induced contractions at follicular stage, (C) The effect of copper on PGF₂ alpha induced contractions at follicular stage

östrojen seviyesinin düşmesine neden olur. Böylece progesteron oksitosin reseptörlerini down regüle eder. Sonuç olarak, östrojenler oksitosinin myometriyum üzerine etkisini artırırken, progesteron önler^[21]. Çalışmada dönemsel olarak uterusun reseptör seviyelerinde farklılık olabileceği göz önüne alınarak, kadmiyum, bakır ve kurşunun etkileri folliküler ve luteal dönemde kendi içlerinde değerlendirilmiştir.

Kadmiyum, hem folliküler hem de luteal evredeki inek uterusunda oksitosin ve prostaglandinin oluşturduğu kasılmaların tüm parametrelerini (frekans, ortalama amplitüd

Tablo 3. Folliküler evredeki inek uterusunda bakırın spontan, oksitosin ve PGF₂ alfa ile oluşturulmuş kasılmalar üzerine etkisi**Table 3.** The effect of copper on the spontaneous, oxytocin and PGF₂ alpha induced contractions on bovine uterus at follicular stage

Parametreler	n	Kontrol	10 ⁻⁴ M Bakır	P	2.5 mIU/ml Oksitosin	10 ⁻⁴ M Bakır	P	10 ⁻⁶ M PGF2α	10 ⁻⁴ M Bakır	P
Ortalama Amplitüd (mg)	11	1023.64±232.60	507.55±217.32	**	1117.91±398.93	796.82±281.98	**	422.72±86.36	270.64±95.08	AD
Frekans (adet)	11	7.82±1.72	5.64±1.85	AD	10.55±1.97	5.73±1.07	**	6.18±1.29	4.64±1.03	*
Maksimum amplitüd (mg)	11	1536.64±415.45	659.82±273.76	**	1639.18±527.52	1128.27±384.14	*	679.73±151.19	361.28±119.58	*

* P<0.05, ** P≤0.01, n: izole inek uterusu sayısı, AD: Anlamli değil

Tablo 4. Luteal evredeki inek uterusunda bakırın spontan, oksitosin ve PGF₂ alfa ile oluşturulmuş kasılmalar üzerine etkisi**Table 4.** The effect of copper on the spontaneous, oxytocin and PGF₂ alpha induced contractions on bovine uterus at luteal stage

Parametreler	n	Kontrol	10 ⁻⁴ M Bakır	P	2.5 mIU/ml Oksitosin	10 ⁻⁴ M Bakır	P	n	10 ⁻⁶ M PGF2α	10 ⁻⁴ M Bakır	P
Ortalama Amplitüd (mg)	14	445.14±119.08	286.29±120.38	AD	576.57±88.67	404.79±96.74	AD	13	544.46±95.68	350.08±169.26	*
Frekans (adet)	14	4.21±0.72	3.43±0.63	AD	6.29±0.56	4.36±0.46	**	13	3.69±0.51	3.08±0.72	AD
Maksimum amplitüd (mg)	14	661.00±162.83	358.79±141.06	*	1069.00±149.51	560.43±118.20	**	13	868.69±157.28	418.85±183.85	**

* P<0.05, ** P≤0.01, n: izole inek uterusu sayısı, AD: Anlamli değil

Tablo 5. Folliküler evredeki inek uterusunda kurşunun spontan, oksitosin ve PGF₂ alfa ile oluşturulmuş kasılmalar üzerine etkisi**Table 5.** The effect of lead on the spontaneous, oxytocin and PGF₂ alpha induced contractions on bovine uterus at follicular stage

Parametreler	n	Kontrol	10 ⁻⁴ M Kurşun	P	2.5 mIU/ml Oksitosin	10 ⁻⁴ M Kurşun	P	10 ⁻⁶ M PGF2α	10 ⁻⁴ M Kurşun	P
Ortalama Amplitüd (mg)	9	1901.11±484.20	1933±602.11	AD	2437.56±584.58	2092.89±507.74	AD	2354.67±521.28	1664.11±441.73	AD
Frekans (adet)	9	7.67±2.27	6.56±1.94	AD	11.89±2.21	7.67±1.19	*	8±1.35	6.33±1.29	**
Maksimum amplitüd (mg)	9	2877.00±750.39	2773.00±877.05	AD	3249.78±781.29	3297.11±798.41	AD	3385.00±781.46	2480.67±686.42	AD

* P<0.05, ** P≤0.01, n: izole inek uterusu sayısı, AD: Anlamli değil

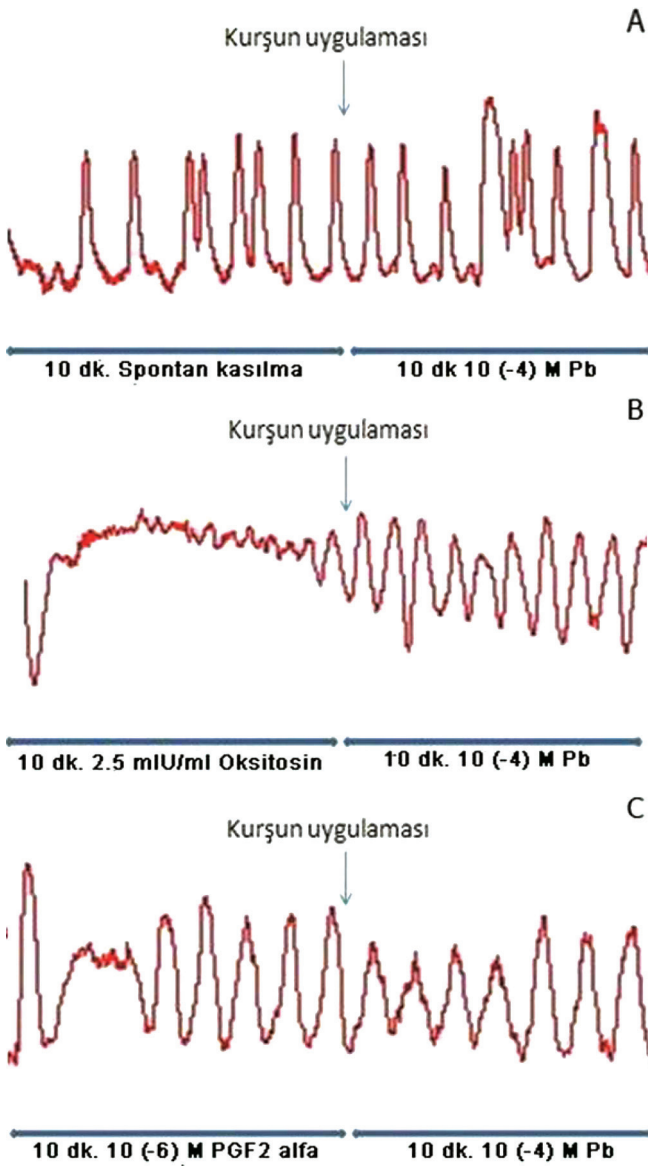
Tablo 6. Luteal evredeki inek uterusunda kurşunun spontan, oksitosin ve PGF₂ alfa ile oluşturulmuş kasılmalar üzerine etkisi**Table 6.** The effect of lead on the spontaneous, oxytocin and PGF₂ alpha induced contractions on bovine uterus at luteal stage

Parametreler	n	Kontrol	10 ⁻⁴ M Kurşun	P	2.5 mIU/ml Oksitosin	10 ⁻⁴ M Kurşun	P	10 ⁻⁶ M PGF2α	10 ⁻⁴ M Kurşun	P
Ortalama Amplitüd (mg)	12	1393.92±400.23	1566.17±404.75	**	2337.92±298.84	2362.50±290.40	AD	2026.83±332.61	1919.33±342.31	AD
Frekans (adet)	12	10.75±1.70	10.17±1.54	AD	13.75±1.29	10.50±0.66	**	12.42±1.03	10.17±0.99	*
Maksimum amplitüd (mg)	12	2162.67±371.10	2056.08±389.03	AD	2984.33±337.22	3009.42±331.67	AD	3123.58±412.43	2863.75±357.33	AD

* P<0.05, ** P≤0.01, n: izole inek uterusu sayısı, AD: Anlamli değil

ve maksimum amplitüd) azaltmıştır. Benzer şekilde Kara ve ark.^[10] da yaptıkları araştırmada, 0.01 mM kadmiyumun gebe sığır, gebe olmayan sığır ve kedi uterusunda 0.01 mM oksitosin ile oluşturulan kasılmaların hem maksimum amplitüd hem de frekans yanıtlarının azaldığını göstermişlerdir. Spowicz ve ark.^[9], gebe insan myometriyumunda kadmiyumun 10⁻⁹-10⁻³ M derişimlerde spontan kasılmaları bloke ettiğini, düşük derişimlerde (10⁻⁹ ve 10⁻⁸ M) ise kalsiyum ve oksitosin yanıtlarını artırırken, daha yüksek derişimlerde azalttığını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada

kadmiyumun *in vitro* sıçan ekstraoküler kas kasılmasında da azalmalara sebep olduğu belirtilmiştir ^[22]. İçme suyuna 1 ve 2 ay boyunca günlük 15 ppm kadmiyum verilen sıçanlardan izole edilen duodenum şeritlerinde, asetilkolinin kasılma yanıtlarının azaldığı tespit edilmiştir ^[23]. Beyazıt ve ark.^[24], 3 ay boyunca kadmiyum verilen sıçanlarda, idrar kesesinin detrusor kasında hem nörojenik hem de myojenik kasılmaların bozulduğunu göstermişlerdir. Kadmiyumun bu etkisi, dokularda kalsiyum kanallarını bloke etmesi ve hücre içi uyarılma-kasılma mekanizmalarıyla ilişkili olmasından



Şekil 3. Kurşun klorürün izole inek uterus kasılmaları üzerine etkileri. (A) Kurşunun folliküler evrede spontan kasılmalar üzerine etkisi, (B) Kurşunun luteal evrede oksitosin ile başlatılan kasılmalar üzerine etkisi, (C) Kurşunun luteal evrede PGF₂ alfa ile başlatılan kasılmalar üzerine etkisi

Fig 3. The effect of lead chloride on isolated bovine uterus contractility (A) The effect of lead on spontaneous contractions at follicular stage, (B) The effect of lead on oxytocin induced contractions at luteal stage, (C) The effect of lead on PGF₂ alpha induced contractions at luteal stage

kaynaklanmaktadır. Kadmium doğrudan ya da dolaylı yoldan hücrel kalsiyum girişini azaltır^[9,23].

Bakır, folliküler evredeki inek uterusunda oksitosin yanıtlarının hepsini azaltırken, PGF₂ alfa yanıtlarında frekans ve maksimum amplitüd, spontan kasılmaların ise amplitüd yanıtlarını azaltmıştır. Luteal evredeki inek uterusunda ise spontan kasılmaların ortalama amplitüd ve frekanslarını değiştirmemiş, oksitosin yanıtlarının frekans ve maksimum amplitüdünü düşürmüştür. Ayrıca PGF₂ alfa yanıtlarının frekans değerini değiştirmezken, ortalama ve maksimum amplitüd değerlerini azaltmıştır. Verdugo

ve ark.^[25], 2×10^{-5} M bakırın sıçan myometriyumunun kasılmasında artışa, 8×10^{-5} M derişimin üzerinde ise spazmodik kasılmaya yol açtığını ortaya koymuşlardır. Laudanski ve ark.^[12], bakırın tavşan myometriyumunun kasılmasında artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar, sunulan çalışmada elde edilen bulgulardan farklıdır. Farklılığın sebebi; çalışılan hayvanın türüne ya da kullanılan bakır derişimine (10^{-4} M) bağlanabilir. Nitekim Laudanski ve ark.^[13], 10^{-4} M bakır klorürün insan myometriyal kasılmalarını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu çalışmada da bakır klorür, myometriyumun PGF₂ alfa'ya verdiği yanıtları azaltmıştır. Bakır iyonları myometriyel etkinliği yüksek derişimlerde azaltırken, düşük derişimlerde oluşan uyarıcı etkisini endometriyel PG sentezi ve salınımına bağlı olarak gerçekleştirmektedir^[13].

Kurşunun dokular üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılan birçok çalışma olmasına rağmen uterusu yapılan bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Valencia-Hernandez ve ark.^[26], sıçan ve tavşan aortasında 0.1-3.1 mM kurşun asetatın derişime bağımlı kasılma yaptığını, bu kasılmaların tavşan aortasında çok daha güçlü olduğunu saptamışlardır. Sopi ve ark.^[19], kurşun asetatın trakea halkalarında kasılma yaptığını, epiteli alınmış halkalarda bu kasılmanın arttığını saptamışlardır. Gupta ve Fahim^[15], 10^{-12} M- 10^{-4} M kurşun asetatın derişime bağımlı olarak sıçan trakea halkalarında, Tomera ve Harakal^[16] ise tavşan aortasında kasılma oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Kurşun asetat (10^{-10} M- 10^{-3} M) mezenterik tavşan arterlerinde de kasılmalara neden olmuştur^[27]. Sunulan çalışmada kurşun, luteal evredeki uterusun spontan kasılmalarının ortalama amplitüd değerini artırmıştır. Santos ve ark.^[17], içme suyu ile 15, 30, 120 gün %0.0008 kurşun asetat alan sıçanların izole gastrik fundusunda, kurşunun adrenerjik ve kolinerjik olmayan gevşemeleri önlediğini ortaya koymuşlardır. Zhang ve ark.^[28], 24 ve 48 saat boyunca 1 ppm kurşun ile kültüre edilen sıçan aortasının serotonin yanıtlarını artırdığını saptamışlardır. Zhang ve ark.^[29], 24 saat boyunca 1 ppm kurşun ile birlikte edilen sıçan aortalarında asetilkolin gevşemelerinin de azaldığını saptamışlardır. Kurşun damar düz kasları üzerine etkisini doğrudan göstermektedir, bu etki hücre içi kalsiyum düzeyinin artmasına ve protein kinaz C ile etkileşimine bağlanmaktadır^[27,30]. Uterus kasılmalarında da kalsiyumun hücre dışından hücre içine girişi en önemli mekanizma olarak düşünülmektedir^[31]. Çalışmada spontan kasılmaların ortalama amplitüd değerinin artması hücre içi kalsiyum düzeyinin artması ile ilişkili olabilir.

İnelerde döl veriminin fertilitate parametreleri sınırlarında yer alması büyük önem arz etmektedir. Uterus kasılmaları; fertilizasyon, gebelik, doğum ve postpartum süreç için çok önemlidir ve ağır metallere etkilenmektedir. Hayvanlar kadmium, bakır ve kurşuna hatalı olarak yeme katılmaları, bu metallere fazla miktarda ihtiva eden bitkilerin alınması, meraların pestisidlerle ilaçlanması yoluyla maruz kalmaktadır. Sonuç olarak; kadmium, bakır ve kurşunun

uterusunun kasılma yanıtını değiştirdiği ve bu değişimin fertilitiyi etkileyebileceği kanısına varılmıştır. Bu bulguların *in vivo* çalışmaların değerlendirilmesinde de göz önüne alınmasının uygun olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Bearden HJ, Fuquay JW:** Ovigenesis and fertilization. In, Bearden HJ, Fuguy JW (Eds): Applied Animal Reproduction. p.82-92, Prentice-Hall, Inc New Jersey, 2000.
2. **Toriumi H, Kuwahara Y, Ichikawa Y, Takagi K, Tsumagari S, Takeishi M:** Uterine contraction in sows during oestrus and puerperium, and in sows with multiple follicular cysts. *J Reprod Dev*, 46 (1): 9-14, 2000.
3. **Gier HT, Marion GB:** Uterus of the cow after parturition: Involutional changes. *Am J Vet Res*, 29 (1): 83-96, 1968.
4. **Bajcsy AC, Szenci O, Doornenbal A, van der Weijden GC, Csorba C, Kocsis L, Szucs I, Ostgard S, Taverne MAM:** Characteristic of bovine early puerperal uterine contractility recorded under farm conditions. *Theriogenology*, 64 (1): 99-111, 2005.
5. **Hafez ESE:** Anatomy of female reproduction. In, Hafez ESE (Ed): Reproduction in Farm Animals. p.20-55, Lea and Febiger, USA, 1993.
6. **Kalkan C, Öcal H:** Üreme fiziolojisi. In, Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rıışvanlı A, Köker A (Eds): Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji. s.15-57, Medipres, Malatya, 2012.
7. **Adebiyi A, Adaikan G, Prasad RNV:** Effect of benzyl isothiocyanate on spontaneous and induced force of rat uterine contractions. *Pharm Res*, 49, 415-422, 2004.
8. **Reis LSL, Pardo PE, Camargos AS, Oba E:** Mineral element and heavy metal poisoning in animals. *JMMS*, 1 (12): 560-579, 2010.
9. **Sipowicz M, Kostrzewska A, Laudanski T, Akerlund M:** Effects of cadmium on myometrial activity of the nonpregnant human. Interactions with calcium and oxytocin. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 74 (2): 93-96, 1995.
10. **Kara H, Servi K, Akar Y:** Farklı türlerde *in vitro* uterus kontraksiyonları üzerine kadmiyum etkisi. *Turk J Vet Anim Sci*, 27, 529-534, 2003.
11. **Schild HO:** The effect of metals on the S-S polypeptide receptor in depolarized rat uterus. *Br J Pharmacol*, 36, 329-349, 1969.
12. **Laundanski T, Kobylec E, Akerlund M:** Influence of copper ion on uterine activity. *Contraception*, 24 (2): 195-202, 1981.
13. **Laudanski T, Kostrzewska A, Akerlund M:** Involvement of prostaglandins in the effect of cupric ions on the human uterus. *Prostaglandins*, 32 (1): 33-41, 1986.
14. **Kleszczewski T, Modzelewska B, Bal W, Sipowicz M, Kostrzewska A:** Cu (II) complexation potentiates arginine vasopressin action on nonpregnant human myometrium *in vitro*. *Contraception*, 67 (6): 477-483, 2003.
15. **Gupta N, Fahim M:** Lead acetate induced contraction in rat tracheal smooth muscle is independent epithelium. *Indian J Physiol Pharmacol*, 51 (1): 49-54, 2007.
16. **Tomera JF, Harakal C:** Mercury and lead induced contractions of aortic smooth muscle *in vitro*. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 283 (2): 295-302, 1986.
17. **Santos MR, Marchioro M, Antonioli AR:** Lead effects on non-adrenergic, non-cholinergic relaxations in rat gastric fundus. *Toxicol In Vitro*, 20 (1): 38-42, 2006.
18. **Ko JCH, Hsu WH, Evans LE:** The effects of xylazine and alpha adrenoreceptor antagonists on bovine uterine contractility *in vitro*. *Theriogenology*, 33 (3): 601-611, 1990.
19. **Sopi RB, Bislimi K, Halili F, Sopjani M, Neziri B, Jakupi M:** Lead acetate induces epithelium-dependent contraction of airway smooth muscle. *J Int Environ Appl & Sci*, 4 (2): 146-151, 2009.
20. **Öcal H, Yüksel M, Ayar A:** Effects of gentamicin sulfate on the contractility of myometrium isolated from non-pregnant cows. *Anim Reprod Sci*, 84, 269-277, 2004.
21. **Bearden HJ, Fuquay JW:** Neuroendocrine regulators of reproduction. In, Bearden HJ, Fuguy JW (Eds): Applied Animal Reproduction. p.35-52, Prentice-Hall, Inc New Jersey, 2000.
22. **Breinin GM, Sadovnikoff N, Pfeffer R, Davidowitz J, Chiarandini DJ:** Cadmium reduces extraocular muscle contractility *in vitro* and *in vivo*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 26, 1639-1642, 1985.
23. **Koç E, Koçak M, Akçil E:** Cadmium reduces contractile responses of rat duodenum *in vitro*. *Biol Trace Elem Res*, 123 (1-3): 154-160, 2008.
24. **Beyazıt Y, Ertuğ PU, Ürünsak M, Göçmen C, Arıdoğan IA, Turunç T, Singirik E:** Effects of chronic cadmium exposure on contractility of the rat detrusor. *Urol Res*, 30 (1): 21-25, 2002.
25. **Verdugo P, Latorre R, Alvarez O, Medel M, Benos D:** Effects of copper and zinc on rat uterine muscle contraction and rabbit blastocyst fluid accumulation. *Biol Reprod*, 25, 502-510, 1981.
26. **Valencia-Hernandez I, Bobadilla-Lugo RA, Castillo-Henkel C:** Differences of lead induced contraction in rat and rabbit aorta. *Pros West Pharmacol Soc*, 44, 167-168, 2001.
27. **Watts SW, Chai S, Webb RC:** Lead acetate- induced contraction in rabbit mesenteric artery: interaction with calcium and protein kinase C. *Toxicology*. 99 (1-2): 55-65, 1995.
28. **Zhang LF, Peng SQ, Wang S:** Influence of lead (Pb²⁺) on the reactions of *in vitro* cultured rat aorta to 5-hydroxytryptamine. *Toxicol Lett*, 159 (1): 71-82, 2005.
29. **Zhang LF, Peng SQ, Wang S, Li BL, Han G, Dong YS:** Direct effects of lead (Pb²⁺) on the relaxation of *in vitro* cultured rat aorta to acetylcholine. *Toxicol Lett*, 170 (2): 104-110, 2007.
30. **Hwang KY, Schwartz BS, Lee BK, Strickland PT, Todd AC, Bressler JP:** Associations of lead exposure and dose measures with erythrocyte protein kinase C activity in 212 current Korean lead workers. *Toxicol Sci*, 62 (2): 280-288, 2001.
31. **Matthew A, Shmygol A, Wray S:** Ca²⁺ entry, efflux and release in smooth muscle. *Biol Res*, 37 (4): 617-624, 2004.