

İZOLE KURBAĞA KASLARINDA KALSİYUM İYONUNUN İZOMETRİK SARSICI KARAKTERLERİ VE YORGUNLUK OLUŞUMA ETKİSİ

Recep ÖZMERDİVENLİ *
Cem SÜER**

ÖZET

İskelet kaslarının kasılmasında ekstraselüler kalsiyumun rolünün önemli olmadığı görüşü, son yıllarda yapılan çalışmalarda aksi bulgular elde edilmesi ile değişikliğe uğramıştır. Bu bulguların ışığı altında bu çalışmada; ekstraselüler Ca^{2+} 'un iskelet kası kasılmasındaki rolü ve bu amaçla izole kurbağa kasında zamansal sarsıcı parametrelerine ekstraselüler kalsiyum iyonunun etkisinin araştırılması planlandı. Araştırmamızda ağırlıkları 60-75 gr arasında değişen her iki cinsten Rana Ridibunda türü kurbağalardan elde edilen izole iskelet kas preparatları kullanıldı. Elektriksel uyarım modelleri ile oluşturulan izometrik kas sarsıcı poligrafik sistem ile kaydedildi ve zamansal sarsıcı parametreleri (CT, RT, 1/2 RT, TT) hesaplandı.

Yorgunluk öncesi zamansal sarsıcı parametreleri gastroknemius ve ekstensor digitorum longus kaslarında farklılık gösterdi. Her iki kas grubunun da kalsiyumlu ekstraselüler solüsyon mevcudiyetinde kalsiyumsuz solüsyon kullanımına göre daha uzun sarsıcı sürelerine sahip olduğu bulundu. Gastroknemius kası hem kalsiyumlu hem de kalsiyumsuz ortamda 1-5 Hz arasındaki uyarımlarla yorulabilirken, ekstensor digitorum longus kası kalsiyumlu ortamda yorulmadı. Gastroknemius kasının kalsiyumlu ve kalsiyumsuz ortamlarda 1-5 Hz arasında özellikle gevşeme parametreleri diğer kastan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde uzun bulundu ($p < 0.05$).

Çalışmamızda sarsıcı parametrelerinin iki kas grubu arasında farklılık göstermesi, iki kas grubunun metabolizmalarının farklılığı, hızlı/yavaş lif oranlarının birbirinden farklı olması ile izah edilebilir. Bu çalışmada; ekstraselüler kalsiyum iyonlarının kalsiyum tetiklemeli kalsiyum salıverilmesi mekanizması ile sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesinin regülasyonunda rolü olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum, İskelet kası, Kasılma

* Fırat Üniversitesi Beden Eğitimi Spor Yüksek Okulu, ELAZIĞ

** Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, KAYSERİ

THE EFFECTS OF CALSIUM ION ON ISOMETRIC CONTRACTION PROPERTIES OF AND FATİQUE IN ISLOLATED FROG SKELETAL MUSCLES.

SUMMARY

Although it has been known that the role of extracellular Ca^{2+} on the contraction of the skeletal muscle is negligible, recent investigations found out contrary data. Owing to these current facts, the goal of this study is to search for the impact of the extracellular calcium ions on the periodical twitch parameters of the isolated frog muscles. In our research we used isolated skeletal muscle preparations obtained from both sexes of Rana Ridibunda frogs weighing 60-70 g. The isometric muscle twitches, produced by electrical stimulus models are recorded using polygraph and calculation of twitch parameters (CT, RT, 1/2 RT, TT) was performed.

There was statistical differences between the pre and post fatigue twitch properties of gastrecnemius and extensor digitorum longus muscles. It was found that in both muscle groups the twitch period in the recording solution containing calcium was longer than calcium-free. While gastrecnemius muscle developed fatigue by stimuli between 1-5 Hz. under both media with or without calcium, extensor digitorum longus muscle did not developed fatigue when calcium containing recording solution was used. It was also discovered that the isometric twich properties of the extensor digitorum and gastrecnemius muscles towards 1-5 Hz electrical stimuli models do not vary according to media with/without calcium.

In our study the difference of twitch parameters between two muscle groups may be depend upon their metabolism as well as differences in their fast and slow twitch fibre proportion and content. In conclusion, the results of this study indicates that extracellular calcium ions regulates calcium release from sarcoplasmic reticulum in a calcium-induced calcium release mechanism dependent manner.

Key words: Calcium, Skeletal muscles, Contraction

GİRİŞ

İskelet kaslarının bugün kabul edilen "ince filamentlerin kalın filamentler üzerinden kayması" teorisi ile kasılabilmesi, birbirinden farklı iki mekanizmanın Ca^{2+} iyonu tarafından ilişkilendirilmesi ile olur ^(6,10). Bunlardan birincisi yani eksitasyon, sinir aksiyon potansiyelinin sarkolemma-da oluşması ve T tübül sistemi ile kas lifindeki bütün birimlere yayılmasıdır.

Bu olay; kendisini ikinci mekanizma olan kontraksiyonla ilişkilendirecek Ca^{2+} iyonlarının sarkoplazmadaki düzeyinin artışına neden olur ^(2,12,13). Bahsedilen olayın tümü eksitasyon-kontraksiyon keneti olarak bilinir. Böylece Ca^{2+} iyonları bu keneti sağlayarak kasılmada önemli bir rol oynarlar ^(6,10).

Kas hücresi için teorik olarak sonsuz büyüklükte bir Ca^{2+} kaynağı oluşturan ekstraselüler sıvının iskelet kasının kasılma mekanizmasına katkısının araştırılması önemli görülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda alt ekstremite kasları olan; yüksek kasılma hızı ve miyozin ATP az enzim aktivitesine sahip gastrokcnemius kası ile düşük kasılma hızı ve miyozin ATP az enzim aktivitesine sahip ekstensor digitorum longus kasları kullanıldı ⁽⁹⁾. Lif yapısı ve miyozin ATP az aktivitesine bağlı olarak ekstraselüler kalsiyumun etkisini araştırmak için; iki izole kurbağa kası zamansal kasılma parametreleri ve yorgunluk yönünden Ca^{2+} lu ve Ca^{2+} suz ortamlarda çalışıldı ve sonuçları istatistiksel olarak karşılaştırılarak tartışıldı.

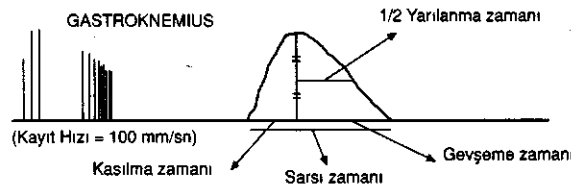
GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız ağırlıkları 60-75 gram arasında değişen her iki cinsten Rana Ridibunda türü kurbağalardan hazırlanan izole iskelet kas preparatlarından yapıldı. Deneyleerde 29'ar adet gast-roknemius ve ekstensor digitorum longus kası kullanıldı.

İzole Kas Preparatlarının Hazırlanması: Kurbağa uygun bir makasla dekapite edilerek beyrin Medulla spinalisten ayrılması sağlandı. Kurbağa derisi elle sıyırıldıktan sonra Medulla Spi-nalis haraplanarak refleks faaliyetler ortadan kaldırıldı. Achille tendonu kesildi ve bu tendon pensle tutularak gastrokknemius ve ekstensor digitorum longus kasları tibiadan ayrıldı. Elde edi-len preparatlar kurbağa ringer solusyonu ile dolu olan bir petri kutusu içinde deney zamanına kadar bırakıldı ⁽⁶⁾.

Kurbağa Ringer Solusyonunun Hazırlanması: Kalsiyumlu kurbağa Ringer solusyonunun birleşimi; 13 gr NaCl, 0,4 gr KCl, 0,4 gr CaCl₂, 0,2 gr NaCHO₃ ve 2 litre distile su ile ta-mamlandı. Ortamdan Ca²⁺ çekilerek Ca²⁺suz ringer solusyonu hazırlandı ⁽⁷⁾.

Deney Sistemi ve Uygulanışı: Araştırmamızda kullanılan izole organ banyosu, izometrik transduser (TB- 611 T), amplifikatör (AP- 6016), kaydedici ve stimulatörden oluşan deney sis-temi kullanılmıştır. Deney süresince banyo ısı 15°C derecede tutulmuştur. Deneyleerimizde kul-landığımız gerim transduseri 50 mg⁻¹ kgr. arasındaki gerimleri elektrik sinyallerine dönüştürme özelliğindedir. Çalışmamızda izometrik ölçüm yapılmıştır. Deneyleerde kaslara stimulatör elle te-tiklenerek her 30 sn'de bir 50 msn süreli bir uyarım verildi. Elektriksel uyarımın voltajı eşik de-ğerden başlayarak maksimum cevabı elde edinceye kadar 0.1 V aralıkla artırıldı. Maksimum ce-vabın elde edildiği kas boyunda kas 5 dakika dinlenmeye bırakıldı. Ardından optimal boyda bu-lunan kasa, belirlenen değerdeki voltaj uygulanarak, birer dakika arayla 3 sarsı cevabı kaydedil-di. Bu sarsıların zamansal parametreleri hesaplandı ve her birinin ortalama değeri elde edildi. İkinci kısım deneyleerde ise 1, 2, 3..., ve 5 Hz frekansında elektriksel uyarımlar otomatik olarak verildi. Uyarım, gerim, başlangıçtaki değerin yansına inene kadar sürdürüldü. Ayrıca, gerimin ne kadar sürede yarı değerine düştüğü de saptandı.



Şekil 1: Zamansal Sarsı Parametrelerinin Hesaplandığı Şematik Bir Sarsı Örneği

İstatistiksel Değerlendirme: Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçların istatistiksel değeri-lendirilmesi tek yönlü ANOVA ve student t testi kullanılarak yapıldı. Anlamli etkinin bulunduğu durumlarda ANOVA sonrası karşılaştırma Fisher PLSD metodu ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi P < 0.05 olarak seçildi ⁽⁸⁾.

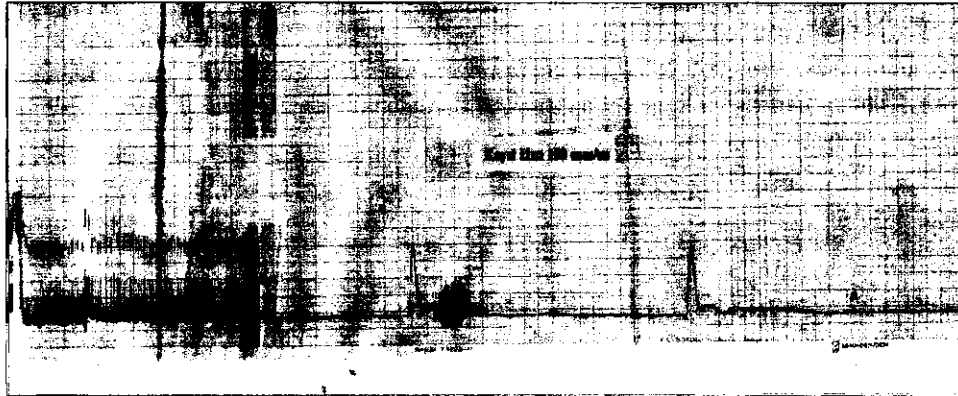
BULGULAR

Tablo 1'de izole edilmiş Gastroknemius ve Ekstensor Digitorum Longus kurbağa kaslarından Ca^{2+} 'lu ve Ca^{2+} 'suz ortamlarda elde edilen izometrik sarsı karakterlerinin ortalama değerleri ve istatistiksel analiz sonuçları sunuldu.

Tablo 1: İzole Kasların Ca^{2+} 'lu ve Ca^{2+} 'suz Ortamlardaki İzometrik Sarsı Parametreleri

		CT (msn) (Kasılma zamanı)	RT (msn) (Gevşeme zamanı)	TT (msn) (Sarsı zamanı)	1/2 RT (msn) (Yarılanma zamanı)
Ortam	Kas Adı				
Ca^{2+} (+)	M. EDL (A) N:29	0.059 ± 0.016	0.177 ± 0.087	0.235 ± 0.099	0.069 ± 0.045
	M. GKN (B) N:29	0.062 ± 0.016	0.191 ± 0.109	0.253 ± 0.122	0.063 ± 0.042
Ca^{2+} (-)	M. EDL (C) N:30	0.049 ± 0.011	0.092 ± 0.027	0.141 ± 0.035	0.0369 ± 0.010
	M. GKN (D) N:30	0.054 ± 0.012	0.096 ± 0.026	0.145 ± 0.033	0.032 ± 0.006
ANOVA		F:5.188 p<0.002	F:16.343 p<0.0001	F:15.269 p<0.0001	F:10.564 p<0.0001
Fisher PLSD		A-C B-D	A-C B-D	A-C B-D	A-C B-D

EDL kasının kasılma, gevşeme, yarı gevşeme ve total sarsı zamanı değerleri, Ca^{2+} 'lu ortamda, Ca^{2+} 'suz ortama göre anlamlı derecede uzun bulundu. Benzer bulgular Gastroknemius kası için de elde edildi (Tablo 1).



Şekil 2: E.D.L Kasından Elde Edilen Sarsı Örneği

Yorgunluk sonrası değerlerin istatistiksel analizi, 1/2 yarılanma süresi EDL ile GKN kaslarında Ca^{2+} ilaveli ortamda, Ca^{2+} ilavesiz ortamdakine göre anlamlı derecede uzun bulundu ($P<0.05$).

Tablo 2: 2 Hz'lik Uyarımlarla Yorgunluk Oluşturulan Kasların Ca²⁺ 'lu ve Ca²⁺'suz Ortamlardaki Sarsı Parametreleri

Uyarım Hızı 2 Hz		CT (msn) (Kasılma zamanı)	RT (msn) (Gevşeme zamanı)	TT (msn) (Sarsı zamanı)	1/2 RT (msn) (Yarılanma zamanı)	Yorgunluk süresi (msn)
Ortam	Kas Adı					
Ca ²⁺ (+)	M. EDL (A)	0.056 ± 0.01	0.091 ± 0.049	0.247 ± 0.055	0.076 ± 0.025	11.1 ± 7.59
	M. GKN (B)	0.67 ± 0.007	0.250 ± 0.086	0.317 ± 0.089	0.103 ± 0.017	22.4 ± 22.1
Ca ²⁺ (-)	M. EDL (C)	0.55 ± 0.005	0.203 ± 0.082	0.258 ± 0.083	0.060 ± 0.019	6.4 ± 6.96
	M. GKN (D)	0.066 ± 0.007	0.309 ± 0.091	0.375 ± 0.096	0.107 ± 0.039	5.9 ± 7.53
ANOVA		F:7.546 p<0.001	F:4.63 p<0.05	F:5.185 p<0.02	F:7.15 p<0.001	F:3.685 p<0.02
Fisher PLSD		A-B C-D	C-D	C-D	A-B C-D	B-D

GKN kasında yorgunluk süresi Ca²⁺'suz ortamda anlamlı derecede kısaldı (P<0.05). M. GKN' da sadece kasılma zamanı ve yarı gevşeme zamanı kalsiyumlu ortamda diğer kasa göre daha uzun bulunurken, kalsiyumsuz ortamda ise tüm parametrelerin anlamlı derecede uzun olduğu saptanmıştır (P<0.05).

Tablo 3: 3 Hz'lik Uyarımlarla Yorgunluk Oluşturulan Kasların Ca²⁺ 'lu ve Ca²⁺'suz Ortamlardaki Sarsı Parametreleri

Uyarım Hızı 3 Hz		CT (msn) (Kasılma zamanı)	RT (msn) (Gevşeme zamanı)	TT (msn) (Sarsı zamanı)	1/2 RT (msn) (Yarılanma zamanı)	Yorgunluk süresi (msn)
Ortam	Kas Adı					
Ca ²⁺ (+)	M. EDL (A)	0.058 ± 0.010	0.200 ± 0.055	0.248 ± 0.076	0.081 ± 0.028	11.9 ± 1.12
	M. GKN (B)	0.065 ± 0.007	0.279 ± 0.094	0.345 ± 0.100	0.112 ± 0.029	6.80 ± 15.208
Ca ²⁺ (-)	M. EDL (C)	0.054 ± 0.008	0.180 ± 0.059	0.234 ± 0.065	0.066 ± 0.016	1.3 ± 0.675
	M. GKN (D)	0.066 ± 0.008	0.287 ± 0.091	0.353 ± 0.097	0.122 ± 0.062	1.6 ± 0.966
ANOVA		F:4.405 p<0.05	F:5.044 p<0.05	F:5.339 p<0.02	F:4.774 p<0.05	F:1.54 p<0.05
Fisher PLSD		C-D	A-B C-D	A-B C-D	C-D	

ANOVA testi sonuçları; yorgunluk süresi dışındaki tüm zamansal parametreler için anlamlı bir etkinin olduğunu gösterdi. Anlamlı F değerinin saptandığı parametreler için ANOVA sonrası Fisher PLSD metodu uygulandı. Bunun sonucuna göre kas grupları arası farklılıklar karşılaştırıldığı zaman kalsiyumlu ortamda gevşeme ve total sarsı zamanları GKN kasında M.EDL' dan anlamlı derecede uzun bulundu. Kalsiyumsuz ortamda ise, yorgunluk süresi hariç tüm parametreler GKN kasında M. EDL' dan anlamlı derecede uzun bulundu ($P<0.05$). Her bir kas grubu için Ca^{2+} lu ve Ca^{2+} suz ortamlarda elde edilen zamansal sarsı parametreleri birbiri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Tablo 4: 5 Hz'lik Uyarımlarla Yorgunluk Oluşturulan Kasların Ca^{2+} 'lu ve Ca^{2+} 'suz Ortamlardaki Sarsı Parametreleri

Uyarım Hızı 3 Hz		CT (msn) (Kasılma zamanı)	RT (msn) (Gevşeme zamanı)	TT (msn) (Sarsı zamanı)	1/2 RT (msn) (Yarılanma zamanı)	Yorgunluk süresi (msn)
Ortam	Kas Adı					
Ca^{2+} (+)	M. EDL (A)	0.057 ± 0.011	0.220 ± 0.09	0.277 ± 0.098	0.083 ± 0.036	Tetani oluştu
	M. GKN (B)	0.066 ± 0.007	0.280 ± 0.103	0.346 ± 0.109	0.120 ± 0.022	"
Ca^{2+} (-)	M. EDL (C)	0.057 ± 0.007	0.187 ± 0.078	0.244 ± 0.083	0.075 ± 0.026	"
	M. GKN (D)	0.061 ± 0.009	0.258 ± 0.081	0.319 ± 0.087	0.099 ± 0.031	"
ANOVA		F:2.576 p<0.05	F:2.164 p<0.05	F:2.258 p<0.05	F:2.646 p<0.05	
Fisher PLSD					A-B	

Tablo 4'de ANOVA sonrası Fisher PLSD metodu testi, kalsiyumlu M.EDL ve M.GKN kas grupları arasında, 1/2 yarılanma zamanı parametresinde farklılık bulunduğunu gösterdi. Kalsiyumlu ortamda çalışılan GKN kasında, kalsiyumlu ortamda çalışılan EDL kasına göre bu sürenin uzaması istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0.05$). Diğer parametrelerin karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılığa rastlanmadı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, Her iki kas grubunda kalsiyumlu ortamdakine göre kalsiyumsuz ortamda daha uzun zamansal parametreler saptanmıştır (Tablo 1). Bu farklılık; hipertrofiye uğrayan kaslarda Ca^{2+} duyarlılığının artması aynı zamanda yavaş kas liflerinin, hızlı olanlara göre Ca^{2+} duyarlılığının daha fazla olması^(13, 14) ile açıklanabilir. Ca^{2+} duyarlılığındaki artışların, kasılma sırasında kontraktıl proteinler arasındaki etkileşiminin dinamiğini etkilemesi de mümkündür.

2 Hz 3 Hz ve 5 Hz uyarım yorgunlukları ve kasların ekstrasellüler Ca^{2+} iyonuna verdikleri cevaplar iki kas grubu arasında bazı farklılıkların olduğunu ortaya koymaktadır. Zaman-sal sarsı parametreleri, gastrocnemius kasında ekstensör digitorum longustan daha büyüktür (Tablo 2, 3, 4).

Çalışmamızda kullandığımız, GKN ve EDL' dan elde ettiğimiz izometrik zamansal sarsı parametre değerleri, bu iki kas grubunun farklı lif tipleri içerdiğini yada farklı ara liflerden oluştuğunu düşündürmektedir. GKN' un baskın olarak FT lifleri, EDL' nin de baskın olarak ST lifleri içerdiği düşünülürse^(5,16), EDL' deki sarsı süresinde uzama Ca^{2+} duyarlılığına bağlı olarak görülebilir. EDL kası için elde ettiğimiz sonuçlar, farelerde EDL kası için elde edilen izometrik dinamik özelliklere uygundur⁽¹⁵⁾. Bildirildiğine göre Ca^{2+} ilave edilmiş ekstrasellüler ortamlarda kontraksiyonu başlatan temel sebep kas lifleri içerisine giren kalsiyum iyonlarıdır^(9,17,19). İzole edilmiş kurbağa (*Rana pipiens*) semitendinosus iskelet kaslarındaki S.R'dan Ca^{2+} salınımının, Ca^{2+} bulunmayan ekstrasellüler ortamlarda inhibe edildiği ortaya konulmuştur⁽⁶⁾.

İzole kurbağa kasında yapılan bir çalışmada⁽²¹⁾ epinefrin ile artırılan ekstrasellüler Ca^{2+} akımının gerimi % 33 oranında artırdığı, bu inotropik etkinin ekstrasellüler Ca^{2+} 'un varlığından kaynaklandığı üstelik ekstrasellüler Ca^{2+} 'un sarkoplasmik retikulumdan salınan için bir kaynak oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca oldukça düşük konsantrasyonlarda bile önemli miktarda Ca^{2+} salınımına neden olduğundan iskelet kasında kimyasal bir modülatör olarak düşünülen inozitol trifosfatın⁽¹⁸⁾, ekstrasellüler Ca^{2+} girişini artırdığı da gösterilmiştir⁽¹³⁾.

Bulgularımız, Ca^{2+} iyonlarının nöro-müsküler kavşak üzerine etkileri ile açıklanabilir. Motor sinir terminallerindeki Ca^{2+} konsantrasyonu, motor sinir terminalindeki depolarizasyonu, böylece fazik transmitter salınımını etkileyebilir⁽⁹⁾. Ancak çalışmamızda hem preparatın hazırlanması esnasında sinir dokusu dissek'te edilmiş hem de preparat direkt kas üzerinden uyarılmıştır. Bununla birlikte, etki, nöro-müsküler kavşağa bağlı olsaydı, Ca^{2+} 'lu ortamda elde edilen sarsıların daha kısa olması beklenirdi⁽⁹⁾. Ayrıca M. GKN' un M. EDL' a göre daha büyük kesit alanına sahip olması da gözlenen farklılıkların bir nedeni olarak düşünülebilir. S.R' dan kalsiyumla indüklenen Ca^{2+} salınımı, belirgin olmamakla birlikte, miyoplazmadaki Ca^{2+} konsantrasyonunun düzenlenmesinde önemli bir fonksiyona sahiptir. Aktivasyon sırasında miyoplazmada meydana gelen Ca^{2+} girişindeki artış S.R tarafından aşırı Ca^{2+} salınımının bir sonucu olarak oluşmaktadır. S.R'da Ca^{2+} konsantrasyonu kas liflerinin epinefrin ve cAMP maruz kaldığında artış gösterdiği bilinmektedir. Bu olay S.R'daki düzenleyici bir proteinin, cAMP'a bağımlı bir protein kinaz tarafından fosforile edilmesiyle oluşmakta, sonuç olarak miyoplazmadan Ca^{2+} çıkışına neden olmaktadır^(11,15). Bu çalışma sonucunda; GKN ve EDL kaslarının yorgunluk öncesi sarsı karakterleri farklı ve her iki kas grubu da Ca^{2+} 'lu ortamda, Ca^{2+} 'suz ortamda göre daha uzun sarsı sürelerine sahip olduğu bulundu. Ayrıca GKN kası hem Ca^{2+} 'lu hem Ca^{2+} 'suz ortamda 1-5 Hz arasındaki uyarımlarla, yorulabilirken; M.EDL Ca^{2+} 'lu ortamda yorulmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Bull R, Marengo JJ, Saurez - Isla BA, Donoso P, Sutko JL, Hidolgo C: Activation of calcium channels in sarcoplasmic reticulum from frog skeletal muscle by nano concentrations of ryanodine. *Biophysical J* 1989. 56 : 749 - 756
2. Davies NW : Modulation of ATP - sensitive K⁺ channels in skeletal muscle by intracellular protons. *Nature* 1990. 343 (6256) : 375 - 377.
3. Dudel J : Contribution of Ca²⁺ in flow to quantal, phasic transmitter release from nerve terminals of frog muscle. *European J Physiology* 1992. 422 : 129 - 142.
4. Düzgüneş O, Kesici T, Gürbüz F : İstatistik Metotları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Ankara 1984. 116 - 126.
5. Fox E J et al: The Physiological Basis of Physical Education and Athletics, 4 th edition, Saunders College Publishing, Philadelphia, 1988.
6. Garcia J, Amodor M, Stefani E : Relationship between myoplasmic calcium transients and calcium currents in frog skeletal muscle. *J Gen Physiol* 1989. 94 : 973 - 986.
7. Gökhan N, Çavuşoğlu H, Kayserilioğlu A : İnsan Fizyolojisi Cilt 1. Sermet Matbaası Kırklareli 1983. ss 88 - 153.
8. Gökhan N, Emiroğlu F : Fizyoloji Uygulamalı Çalışma Kitabı İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları. Çeliker Matbaacılık 1982. ss 161- 169.
9. Guthrie H.A. : Introductory nutrition (3 rd ed). St. Louis : The C. V. Mosby Co 1975. pp 112 - 134.
10. Guyton AA : Tıbbi Fizyoloji Cilt 1 (Çev: Gökhan N, Çavuşoğlu H). Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul 1989. ss 177 - 198.
11. Hermann - Frank A, Meissner G : İzolasyon of a Ca²⁺ - releasing factor from caffeine - treated skeletal muscle fibres and its effects on Ca²⁺ release from sarcoplasmic reticulum. *J Muscle Res Cell Motil* 1989. 10 (6) : 427 - 436.
12. Irving M : Birefringence changes associated with isometric contraction and rapid shortening steps in frog skeletal muscle fibres. *J Physiology* 1993. 472 : 125 - 155.
13. Kayaalp SO : Düz Kas Fizyolojisi ve Farmakolojide Kullanılan Ölçüm Yöntemleri, Türk Farmakoloji Derneği Yayınları Ankara 1993, ss. 5-22.
14. Klein MG, Simon BJ, Scheneider MF : Effects of caffeine on calcium release from the sarcoplasmic reticulum in frog skeletal muscle fibres. *J Physiology* 1990. 425 : 599 - 626.
15. Luf AR : Dyanamic properties of the inferior rectus, extensor digitorum longus, diaphragm and soleus muscles of the mouse. *J Physiol* 1981. 313 pp : 161-171.
16. Noyan, A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 8. Baskı Ankara, 1993.
17. Oba T, Hotta K : Effects of extracellular calcium and calcium channel blocker on silver - induced contractures in frog skeletal muscle fibres. *J Physiology* 1987. 37 : 125 - 135.
18. Rojas C, Jaimovich E : Calcium release modulated by inositol trisphosphate in ruptured fibers from frog skeletal muscle. *J. Physiol* 1990. 416 : 296 - 304.
19. Root AW, Harrison HE : Recet advances in calcium metabolism. Mechanism of calcium homeostasis. *J. Pediatr* 1976. 88 : 1 - 2.
20. Terzioğlu M, Çakar L, Yiğit G : Kas, Periferik Sinir ve Bioelektrik Potansiyeller. Hilal Matbaacılık İstanbul 1982. ss 1 -38.
21. Williams JH, Barnes WS : Extracellular calcium and the inotropic effects of epinephrine on frog muscle. *J Physiol Pharmacol* 1989 67 : 1574 - 157