

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇAN İSKELET KASINDA İMMOBİLİZASYON VE TÜM
VÜCUT TİTREŞİMİNİN MHC İZOFORMLARI VE HSP72
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Mustafa ÖZDEMİR

**Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA
2016**

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇAN İSKELET KASINDA İMMOBİLİZASYON VE TÜM
VÜCUT TİTREŞİMİNİN MHC İZOFORMLARI VE HSP72
DÜZEYLERİNE ETKİSİ**

Mustafa ÖZDEMİR

**Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Haydar A. DEMİREL**

**ANKARA
2016**

Anabilim Dalı :Spor Bilimleri ve Teknolojisi
 Program :Spor Bilimleri ve Teknolojisi Tezsiz Yüksek Lisans
 Tez Başlığı : **Sıçan İskelet Kasında İmmobilizasyon ve Tüm Vücut Titreşiminin MHC İzoformları ve Hsp72 Düzeylerine Etkisi**
 Öğrenci Adı-Soyadı :Mustafa ÖZDEMİR
 Savunma Sınavı Tarihi :13.01.2016

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ali Murat ZERGEROĞLU
 (Ankara Üniversitesi - Tıp Fakültesi)
 Tez danışmanı: Prof. Dr. Ali Haydar DEMİREL
 (Hacettepe Üniv. - Spor Bilimleri Fakül.)
 Üye: Prof. Dr. Ayşe KİN İŞLER
 (Hacettepe Üniv. - Spor Bilimleri Fakül.)
 Üye: Doç. Dr. Tahir HAZİR
 (Hacettepe Üniv. - Spor Bilimleri Fakül.)
 Üye: Yrd. Doç. Dr. Nazan KOŞAR
 (Hacettepe Üniv. - Spor Bilimleri Fakül.)

(İmza)
 A. Murat
 Ali Haydar Demirel
 Ayşe Kin İşler
 Tahir Hazer
 Nazan Koşar

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

(İmza)
 Prof.Dr. Ersin FADILLIOĞLU
 Müdür

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya başlamamda ve bitirmemde büyük katkısı olan, sadece akademik kimliğiyle değil, tüm yönleriyle örnek almaya çalıştığımız Danışmanım Sayın Prof. Dr. Haydar A. Demirel'e sonsuz teşekkür ediyorum.

Tüm tecrübelerini ve bilgi birikimini her an bizlerle paylaştığı, bu çalışmanın her aşamasında yardımlarını ve desteğini hiç esirgemeyen laboratuvar arkadaşım, Hocam Dr. Şenay Akın'a en içten duygularıyla teşekkür ediyorum.

Çalışma süresince hep yanımda olan, laboratuvar arkadaşım Tolga Atalar'a yardımlarından ötürü çok teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca yol göstericim olan Abim Hasan Fehmi Özdemir'e verilerin analizi konusundaki yardımlarından ötürü çok teşekkür ediyorum.

Canım Aileme her zaman yanımda oldukları için çok teşekkür ediyorum.

Mustafa ÖZDEMİR

ÖZET

Özdemir, M. Sıçan İskelet Kasında İmmobilizasyon ve Tüm Vücut Titreşiminin MHC İzoformları ve Hsp72 Düzeylerine Etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2016. İskelet kası plastik bir özellikte olup maruz kaldığı çevresel ya da fizyolojik streslere adaptasyon gösterme yeteneğindedir. Kas üzerindeki yükün azalması ya da ortadan kalkmasına atrofi adı verilen, kas kitle ve kuvvet kaybı ile karakterize olan bir yanıt verir. Benzer şekilde, iskelet kas aktivasyonunun azalması veya tamamen ortadan kalkması kas hücrelerini oluşturan yavaş tip miyozin ağır zinciri (MHC) izoformlarında azalma ve hızlı tip MHC izoformlarında artma şeklinde kendisini gösteren fenotipik bir değişikliğe neden olur. Diğer yandan kassal aktivasyonun artması ise MHC izoformlarında hızlıdan yavaş doğru bir dönüşümü beraberinde getirmektedir. Bu çerçevede son yıllarda giderek yaygınlaşan tüm vücut titreşimi (TVT) uygulamasının bir aktivite modeli olarak iskelet kası MHC izoformları üzerine etkisi merak konusudur. İskelet kas hücrelerinin akut ve kronik bir dizi strese hücresel düzeyde savunma amaçlı verdiği bir diğer yanıt ise sıcak şoku proteinlerinin indüklenmesidir. Kuyruktan asma gibi yüksüzleştirme modellerinde MHC izoformlarının yavaştan hızlıya dönüşümü genellikle yer çekimine karşı koyan ve büyük ölçüde yavaş tip kas liflerinden oluşan kaslarda gözlenmiş olup, özellikle yer çekimine karşı koyma özelliği olmayan kaslardaki etki bilinmemektedir. Bu amaçla günlük yaşamda sıkça karşılaşılan bir durum olan alçı yoluyla oluşturulan immobilizasyonun ve tam tersi etki yaratacağı düşünülen TVT uygulamasının plantaris kasında MHC izoformları ve kas Hsp72 düzeylerine etkisi incelenmiştir. Dört aylık Wistar tipi dişi sıçanlar kontrol (K), iki haftalık immobilizasyon (A), iki haftalık immobilizasyon sonrası bir haftalık remobilizasyon (AR) ve bir haftalık remobilizasyon sırasında TVT (AT) ve yalnızca bir hafta TVT (T) uygulaması olmak üzere rastgele beş farklı gruba (n=6, her grup) ayrılmıştır. İmmobilizasyon plantar fleksiyonda bilateral alçılama yoluyla, TVT uygulaması ise 45 Hz, 3mm genlik ve dördüncü günden itibaren 20dk olacak şekilde aralıklı olarak toplam bir hafta boyunca uygulanmıştır. Plantaris kası izole edilerek, MHC Tip IIax (MHCIIa+MHCIIx), Tip IIb ve Tip I izoformları belirlenmiştir. Gruplar arasında MHC izoformları kompozisyonlarında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p>0.05$). Gruplar arasında Hsp72 protein düzeyleri bakımından da anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$). Bu sonuçlar, gerek alçı yoluyla oluşturulan iki haftalık immobilizasyonun, gerekse uygulanan TVT'nin plantaris kasında MHC izoformları ve Hsp72 düzeyleri açısından bir değişikliğe yol açmadığını göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: İmmobilizasyon, Plantaris, Tüm Vücut Titreşimi, Miyozin Ağır Zinciri, Hsp72

ABSTRACT

Özdemir, M. The Effect of Immobilization and Whole Body Vibration on MHC Isoforms and Hsp72 Levels in Rat Skeletal Muscle. Hacettepe University Institute of Health Science, Sport Sciences and Technology Programme Master's Degree Thesis, Ankara, 2016. Skeletal muscle is a plastic tissue and has an adaptive capability to modify its size and function as a response to a change in environmental and physiological stress. Muscle tissue response to decreased loading or disuse is characterized by reduced muscle mass and force degradation known as muscle atrophy. In a similar manner, reduced activation of skeletal muscle or immobilization influence the phenotypic expression of muscles by reducing slow myosin heavy chain (MHC) isoforms whereas fast isoforms increase. On the other hand, increased muscle activation gives rise to MHC shift from fast to slow isoforms. Application of whole body vibration attracted widespread attention during last a few years is a focus of our interest as a model of activity. The induction of heat shock proteins is another response with a defensive purpose at a cellular level which is given by skeletal muscle cells against a number of acute and chronic stresses. In the unloading models like hindlimb suspension, the transformation of MHC isoforms from slow to fast is observed widely in antigravity muscle which consists of mostly slow MHC isoforms. On the other hand, the effect of unloading on MHC isoforms for non-antigravity muscles is not known. For this purpose, the effect of immobilization and whole body vibration (WBV) on MHC isoforms and Hsp72 levels in plantaris muscle have been examined. Four month old Wistar type female rats have been randomly separated into five different groups (n=6, each group); control, two weeks immobilization, two weeks immobilization plus one week remobilization, two weeks immobilization plus one week of WBV and just one week of WBV. Immobilization has been applied by bilateral casting of legs when foot is plantar flexion position. WBV application has been applied for 20 mins daily duration for one week at 45Hz and 3mm amplitude. There was not any significant change in MHC expression among groups ($p>0.05$). In addition, Hsp72 protein levels were not different among groups ($p>0.05$). These results show that neither two weeks of immobilization nor one week of whole body vibration (WBV) has any adaptive changes on plantaris muscle.

Key Words: Immobilization, Plantaris, Whole Body Vibration, Myosin Heavy Chain, Hsp72

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç	5
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. İskelet Kası Miyofibriler Protein Çeşitliliği	6
2.2. İskelet Kas Lif Tipleri	7
2.3. Karışım lifler	9
2.4. İskelet Kasında Lif Tipi Dağılımı	10
2.5. İskelet Kasının Plastik Özelliği	13
2.5.1. İskelet Kasında Kullanmamaya Bağlı Plastisite	14
2.6. Sıcak Şoku Proteinleri	18
2.7. Stres Proteinleri ve Sınıflandırılması	20
2.7.1. Küçük HSP Ailesi	20
2.8. İskelet Kasında İmmobilizasyon ve HSP	23
2.9. Tüm Vücut Titreşimi (TVT)	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Araştırma Grubu	31
3.2. Deney Grupları	31
3.3. Alçılama Yolu ile İmmobilizasyon	33
3.4. Tüm Vücut Titreşimi	34
3.5. Miyozin Ağır Zinciri İzoformlarının Belirlenmesi	36
3.5.1. Miyofibriler Protein İzolasyonu	36

3.5.2. Miyofibriler Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	36
3.5.3. Miyozin Ağır Zinciri için Örneklerin Hazırlanışı	37
3.5.4. Miyozin Ağır Zinciri için SDS-PAGE	37
3.6. Hsp72 Düzeylerinin Belirlenmesi	38
3.6.1. Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	38
3.6.2. SDS-PAGE ve Western Blot Yöntemi	38
3.7. Verilerin Analizi	39
4. BULGULAR	41
4.1. MHC İzoformlarına İlişkin Bulgular	41
4.2. Hsp72 Proteini Dansite Yüzdelere ait Ortalamaların Gruplara Göre Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular	44
5. TARTIŞMA	47
5.1. Miyozin Ağır Zinciri Profilindeki Değişiklikler	48
5.2. İki haftalık İmmobilizasyonun MHC Profiline Etkisi	48
5.3. Tüm Vücut Titreşiminin MHC Profiline Etkisi	50
5.4. İmmobilizasyon ve Titreşimin Hsp72 Düzeylerine Etkisi:	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
7. KAYNAKLAR	56

KISALTMALAR

MHC	Miyozin ağır zinciri
TVT	Tüm vücut titreşimi
HSP	Sıcak şoku proteini
HSF	Sıcak şoku faktörü
HU	Kuyrukran asma
FT	Hızlı kasılan
ST	Yavaş kasılan
SF	Uzay uçuşu
SDS	Sodyum dodesil sülfat
TEMED	Tetrametiletildiamin
APS	Amonyum persulfat

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
1.1. Miyozin molekülünün yapısı.	7
1.2. Sıcak şoku yanıtının regülasyonu (Morimoto, 1998).	19
3.1. HSP'lerin hücredeki işlevleri.	22
3.1. Deney grupları ve uygulamalar.	33
3.2. Alçılamaadan önce ayak bileğinin plantar fleksiyondaki görüntüsü.	34
3.3. Bilateral alçılama.	34
3.4. TVT uygulaması	35
4.1. Plantaris Kasındaki MHC İzofomları Optik Dansite Değerleri Ortalamları	41
4.2 MHC İzofomları Jel Görüntüsü	42
4.3. Hsp72 Dansite Yüzdeleri Ortalamarı	46
4.4. Hsp72 Western Blot görüntüleri	46

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
1.1. İnsan iskelet kas lif tiplerinin kontraktıl özellikleri, bazı enzim aktiviteleri ile morfolojik ve metabolik karakteristikleri	12
3.1. TVT Uygulama Planı	35
4.1. Doornik–Hansen Çok Değişkenli Normal Dağılım Testi Sonuçları	42
4.2. Box Mueller Varyans Kovaryans Matrisleri Eşitliği Testi Sonuçları	43
4.3. MANOVA Test Sonuçları	44
4.4. Deney gruplarından elde edilen Hsp72 proteini dansite yüzdelerine ait ortalamalar	45
4.5. ANOVA Sonuçları	45

1. GİRİŞ

İskelet kasları vücut ağırlığının %40-45'ini oluşturması ile insan vücudundaki en büyük dokudur. İskelet kasları, hareket, nefes alma ve ısı üretimini sağlamanın yanında bir çok metabolik süreçte de önemli rol üstlenmektedir. Bu nedenle kas kitlesi ve fonksiyonunun korunması normal günlük yaşamdan sportif performansa kadar çok geniş aralık ve düzeydeki faaliyetlerin sürdürülmesi yanısıra obezite ve tip II diyabet gibi hastalıklardan korunma açısından da son derece önemlidir.

İskelet kası plastik bir özellikte olup maruz kaldığı çevresel ya da fizyolojik streslere adaptasyon gösterme yeteneğindedir. Bu adaptasyonlar içerisinde en belirgin olanı çıplak gözle dahi görülebilen kas hipertrofisi ve atrofisidir. Hücrel ve moleküler düzeyde ise; kasın güç üretme yeteneği, kasılma hızı gibi özelliklerini belirleyen miyofibriler protein izoformlarında dönüşüm veya metabolik özelliklerini belirleyen mitokondri sayısı, kapasitesi ve aerobik ya da anaerobik enzim aktivitelerinde değişim gibi adaptasyonlar yaşanır.

Egzersiz, anabolik hormonlar, bazı amino asitlerin alımı gibi uyaranlar kas kitlesinde artışa (hipertrofi) neden olur (Schiaffino, 2013). Diğer yandan, kasa etki eden yükün azaldığı ya da ortadan kalktığı durumlarda kas daha ekonomik davranmak adına kitlesel bir küçülmeye giderek yeni koşullara adaptasyon sağlar (Booth, 1997). Kas atrofisi olarak bilinen bu durum kas kitlesinde küçülmenin yanı sıra lif çapında daralma ve kas kuvvetinde azalma ile de karakterizedir. Gerçekten de, kas atrofisine neden olan farklı immobilizasyon modellerinde iskelet kasında miyofibriler proteinlerin diğer çözünür proteinlere göre daha fazla miktarlarda azaldığı bilinmektedir (Coleman, 1995).

Miyofibriler proteinler içerisinde miyozinin ayrı bir önemi vardır. Miyofibriler protein içeriğinin %43'ünü miyozin oluşturmakta olup onu %22 ile aktin takip etmektedir (Scopes, 1970). Miyozin, her biri yaklaşık 200kDa ağırlığında olan iki ağır zincir (MHC) ve ağırlığı 16-27.5kDa arasında değişen dört hafif zincir molekülünden oluşmuştur (Weeds, 1980). Kas kasılması sırasında miyozin çapraz köprüsündeki bükülme hareketi MHC'nin baş kısmında lokalize olmuş olan mATPaz

aktivitesi ile sağlanır. Bu enzimin aktivitesi ATP'nin parçalanarak enerjinin açığa çıkması, dolayısıyla kas kasılmasının hızını belirler. Miyozin ağır zinciri molekülü farklı izoformlara sahip olup bu izoformlarda yer alan mATPaz enzimlerinin aktivasyonu da farklılık gösterir. İnsanda yavaş kasılan tip I ve daha yüksek kasılma hızına sahip tip IIa ve IIx olmak üzere üç farklı MHC izoformu vardır (Bottinelli, 1994c). Küçük memelilerde ise buna ilave olarak en yüksek kasılma hızına sahip olan IIb MHC de vardır.

Tüm memelilerdeki iskelet kasları MHC izoformlarını farklı yüzdelerde içerebilirler. Bir kasın ağırlıklı olarak hangi MHC izoformundan, dolayısıyla hangi lif tipinden oluştuğunu temelde genetik özellikler olmak üzere kasa gelen motor sinir ve kasın lokalizasyonu dolayısıyla kasın fonksiyonu belirler. Bununla birlikte başta hormonlar olmak üzere kasın yüksüzleştirilmesi, tenotomi veya immobilizasyon ya da sinerjist kasın uzaklaştırılması gibi inaktivite ile egzersiz, elektrik uyarısı vb gibi kasa binen yükün artırılması gibi koşullar iskelet kası MHC izoformunda bir dönüşüme neden olurlar.

Böylece çok çeşitli stresler, iskelet kasında lif çapı ve kas kitlesindeki değişimlere neden olduğu gibi, bir kasın normal koşullarda içerdiği MHC lif tipini de etkiler. Genel olarak aktivite hızlı MHC izoformlarından yavaş doğru bir değişime yol açarken immobilizasyon, yüksüzleştirme gibi durumlarda yavaş MHC izoformlarından hızlıya doğru bir değişim görülür (Appell, 1990). Örneğin on hafta süreli dayanıklılık antrenmanında günlük antrenman süresinin uzamasına paralel olarak MHC izoformunda hızlıdan yavaş doğru bir dönüşümün olduğu ve bu dönüşümün kas lif fenotipi düzeyinde de gerçekleştiği bilinmektedir (Demirel, 1999). Öte yandan, iki hafta süresince uygulanan kuyruktan asma (HU) modelinde iskelet kasında miyofibriler protein miktarında görülen azalmaya MHCI izoformundaki %7'lik düşüş eşlik etmiştir (Fujino, 2005). Özellikle sıçanlarda soleus gibi yer çekimine karşı koyan, MHCI izoformunun ağırlıkta olduğu kasların hızlı kaslara oranla atrofiye daha yatkın olduğu gösterilmiştir (Fauteck ve Kandarian, 1995). Nitekim çalışmalar HU uygulaması sonucunda soleus kasında miyofibriler proteinlerde azalma ve MHC izoformunun yavaş liflerden hızlı liflere doğru bir dönüşümün meydana geldiğini göstermektedir (Desplanches, 1987; Edgerton ve Roy, 1996; Fujino, 2005).

Özellikle çeşitli spor yaralanmaları sonrası alçı ve atel uygulamaları veya uzun süreli yatak istirahatini gerektiren hastalık ya da cerrahi operasyonların kas lifi fenotipinde yol açtığı değişikliklerin kişinin daha kolay yorulması, kuvvette dayanıklılık gerektiren aktivitelerde ve yorgunluğa dirençte azalma gibi performans kapasitesinde azalma ile sonuçlanacağı aşıkardır.

Son yıllarda tüm vücut titreşimi (TVT)'nin nöromusküler adaptasyonlar yolu ile kas kuvvetinde artışa neden olan ve direnç egzersizi yanıtlarına benzer etki gösterdiğine ilişkin bulgular mevcuttur (Bogaerts ve diğ., 2007^a). TVT'nin, hormon profilinde değişikliğe sebebiyet verdiği, postural kontrolü, hareket kabiliyetini, dengeyi geliştirdiği, diz ekstansörlerinin maksimal izometrik kuvvetini ve dikey sıçrama performansını arttırdığı da bilinmektedir (Nordlund, 2007; Cheung, 2007; Rees, 2008; Bogaerts ve diğ., 2007^a). TVT'nin iskelet kası MHC profilini nasıl etkilediğine ilişkin net bir bulgu olmamakla birlikte, yol açtığı kassal aktivasyon nedeniyle MHC profilinde hızlıdan yavaşa doğru bir dönüşüm yapması beklenir. Bu varsayım, özellikle immobilizasyon sırasında iskelet kasında bir adaptasyon olarak meydana gelen, daha kolay uyarılan ve geç yorulan yavaş kas lifi fenotipinden daha zor uyarılan ve çabuk yorulan hızlı kas lif tipine dönüşümün engellenmesinde veya remobilizasyon evresinde kas lifi fenotipinin eski haline dönüşümün hızlandırılmasında TVT uygulamasının bir tedavi yöntemi olarak kullanılabilmesi ihtimalini de ortaya çıkarmaktadır.

Bu nedenle bu çalışmanın amaçlarından birisi immobilizasyon ve TVT uygulamalarının iskelet kası MHC izoformlarında bir dönüşüme yol açıp açmayacağının belirlenmesidir. Ayrıca bu çalışmada remobilizasyon sürecinde uygulanan TVT'nin immobilizasyon sürecinde ortaya çıkacak MHC değişikliklerine etkisinin de değerlendirilmesi planlanmıştır.

Organizmada, hücrenin karşı karşıya kaldığı protein sentezi, yıkımı, metabolizma ve benzeri günlük streslerle baş edebilmesi için bazal düzeyde sentezlendiği bilinen bir grup protein vardır. Stres proteinleri veya sıcak şoku proteinleri adı verilen bu proteinlerin miktarı sıcak, oksidan stres, amino asit analogları, çeşitli toksik maddeler, hücre içi Ca miktarının artması gibi çok çeşitli stres koşullarında artmaktadır. Bu proteinler içerisinde en göze çarpanı 70kDa

ailesinin indüklenabilir üyesi olan Hsp72'dir. Hsp72'nin özellikle tip I kas liflerinde bazal düzeyde de var olduğu bildirilmiştir.

İmmobilizasyonun bir yandan kas miyofibriler protein kaybını beraberinde getirirken özellikle tipI liflerinden zengin soleus kasında yavaş lif tipinde azalma ve hızlı lif tipinde artışa yol açtığı için bazal düzeydeki Hsp72 miktarlarında bir azalma ile sonuçlanması beklenir. Diğer yandan immobilizasyonun oksidan strese neden oluşu, Hsp72'nin indüklenmesi gerektiğini de akla getirmektedir.

Sıcak stresi ile önceden düzeyleri arttırılan Hsp72'nin kuyruktan asma modeli ile soleus kasında meydana gelen atrofiyi %50 oranında azalttığı bulgusu (Naito 2000), Hsp72'nin atrofinin önlenmesindeki rolünü ortaya koymaktadır. Ayrıca Venojärvi ve diğerleri (2007), Hsp72 düzeylerinin immobilizasyondan sonra remobilizasyon sürecinde arttığını ve bu artışın kas dokusunun yeniden yapılanmasında rol oynayabileceğini bildirmiştir (Venojärvi, 2007). Kasta miktarları arttırılan Hsp72'nin atrofinin engellenmesinde rol oynaması, atrofiye eşlik eden yavaş lif tipinden hızlı lif tipine dönüşümü de engelleyebileceğini düşündürmektedir.

Kısa süreli titreşimin kan akışını önemli miktarda arttırdığı ve endotelial hücrelerde mekanik titreşimle birlikte kan akışındaki artışının sürtünme kuvvetini de arttırabileceği belirtilmiştir (Lohman, 2007). Sonuç olarak titreşim kan akımı ve sürtünme yoluyla kas içi sıcaklık artışına neden olabilir. Titreşimin Hsp72 düzeyleri üzerine etkisi henüz bilinmemekle birlikte özellikle immobilizasyon sonrası toparlanma döneminde TVT ile oluşan olası bir Hsp72 artışının immobilizasyonun etkisini geri çevirmede etkili olması beklenir.

Sonuç olarak immobilizasyonun ve TVT'nin Hsp72 düzeylerine etkisi merak konusudur ve bu çalışmanın amaçlarından bir diğeridir. Bu çalışmada ayrıca remobilizasyon sürecinde uygulanan TVT'nin Hsp72 düzeylerine etkisi de değerlendirilmiştir.

1.1. Amaç

İmmobilizasyon ve TVT uygulamalarının iskelet kası MHC izoformları ve Hsp72 düzeylerine etkisinin belirlenmesidir.

Hipotez 1: İki haftalık alçılama yoluyla oluşturulan immobilizasyon sıçan plantaris kası MHC izoformlarında yavaştan hızlıya doğru bir dönüşümü gerçekleştirirken, TVT uygulaması hızlı MHC izoformundan yavaşa doğru bir değişime neden olur.

Hipotez 2: İki haftalık alçılama yoluyla oluşturulan immobilizasyon sıçan plantaris kası Hsp72 düzeylerinde bir azalmaya yol açarken TVT uygulaması ise Hsp72 düzeylerinde artışa sebep olur.

2. GENEL BİLGİLER

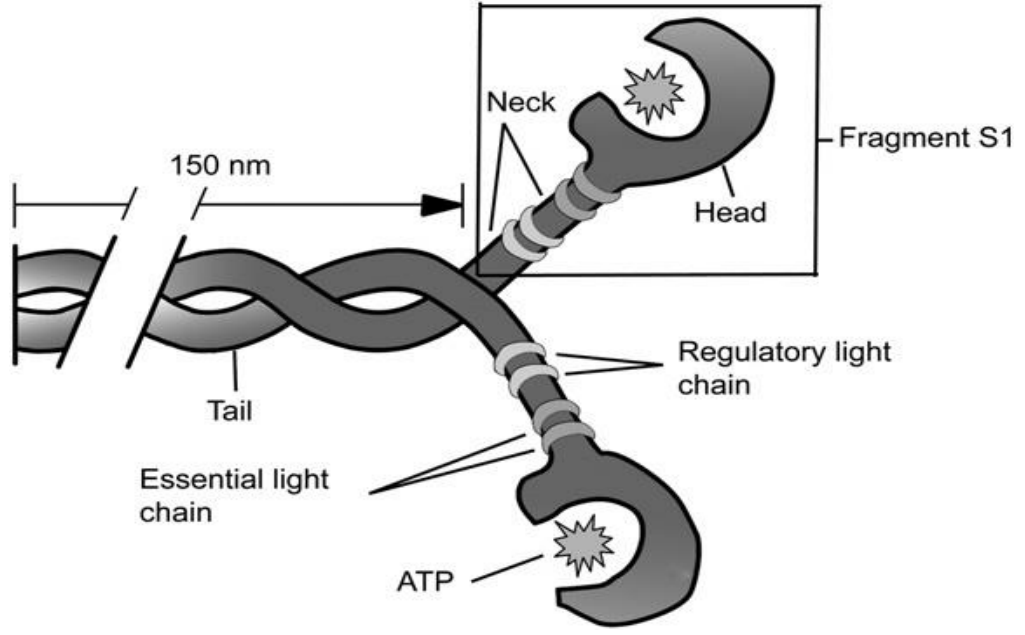
İnsan vücudunda 400'ün üzerinde iskelet kası vardır ve toplamda vücut ağırlığının yaklaşık olarak %40-45'ini iskelet kas dokusu oluşturmaktadır (Fox, S. 2002). İskelet kaslarının temel işlevi hareket etmek ve nefes almak için gerekli enerjiyi sağlamak ve vücudu soğuktan korumak için ısı üretimini sağlamaktır. Kaslar bu işlevleri kasılma yoluyla gerçekleştirirler. Kas kasılması, bir çok hücrenel protein ve enerji üretim sistemlerinin dahil olduğu karışık bir süreçtir. Bu sürecin ayrıntıları moleküler düzeyde hala tartışmalı olmakla birlikte, temel düzeyde kasılma mekanizması kayan filamentler teorisiyle açıklanmaktadır (Ebashi, S. 1976). Basitçe kas kasılması, kalın filament olarak adlandırılan miyozin molekülünde yer alan çapraz köprülerin bir bükülme hareketi ile, bağlandıkları karşılıklı aktin filamentlerini birbirine yaklaştırması ile gerçekleşmektedir. Bu hareket sırasında kasılma hızını belirleyen, miyozin ağır zinciri moleküllerinin (MHC) çapraz köprü başında yer alan miyofibriler ATPaz enzimi aktivitesidir. MHC izoformlarına göre miyozin başında yer alan miyofibriler ATPaz aktivitesi farklı olduğu için, bir diğer ifade ile miyofibriler ATPaz aktivitesi yer aldığı miyozin molekülüne göre şekillendiği için iskelet kas lifinde bulunan MHC izoformu o kas lifinin kasılma hızı konusunda da belirleyici olmaktadır. Şekil 1'de miyofibriler ATPaz enziminin bir miyozin molekülündeki lokalizasyonu şematik olarak gösterilmektedir. İskelet kas liflerinde bulunan miyozin molekülü yanı sıra diğer miyofibriler proteinler de fonksiyonel farklılıklar gösterirler.

2.1. İskelet Kası Miyofibriler Protein Çeşitliliği

İskelet kasında yer alan miyofibriler proteinler fonksiyonel farklılıkların oluşmasını sağlayan değişik izoformlardan meydana gelmiştir. Bunlardan tropomiyozin üç ana izoformdan oluşmaktadır. Tropomiyozin bir dimerik molekül olduğu için homodimer veya heterodimer oluşuna göre altı farklı tropomiyozin molekülü varlığından söz edilebilir. Benzer şekilde troponin (Tn) molekülü TnI, TnC ve TbT olmak üzere üç alt ünitelerden oluşmakta olup her birinin iki veya daha fazla

izoformu vardır (Pette ve Staron, 1990; Schiaffino ve Reggiani, 1996).

İskelet kasında miyofibriler proteinler içerisinde miyozinin ayrı bir önemi vardır. Miyozin çizgili kas liflerinde en fazla miktarda bulunan proteindir. Miyozin molekülünün 200 kDa civarında moleküler ağırlığa sahip iki ağır zincirden, kuyruk ve baş kısımlarından oluştuğu bilinmektedir. Bir miyozin molekülü iki ağır zincir ve dört hafif zincirden (MLC) oluşmaktadır (Weeds, 1980). Hafif zincirlerden ikisi esansiyel (ELC) ve diğer ikisi de regülatör (RLC) rol üstlenir (Şekil 1).



Şekil 1.1. Miyozin molekülünün yapısı.

2.2. İskelet Kas Lifi Tipleri

Farklı özelliklerde iskelet kasları bulunduğuna ilişkin ilk değerlendirme Ranvier tarafından 1873 yılında kasın rengi ve elektrik uyarısı ile kasılma özelliğine dayanılarak yapılmıştır. Buna göre beyaz kaslar hızlı kasılan ve kırmızı kaslar ise yavaş kasılan kaslar olarak tanımlanmıştır (Spangenburg ve Booth, 2003). İskelet kas liflerinin histokimyasal özelliklerine göre tanımlanması ise ilk kez Engel (1962) tarafından yapılmış ve buna göre koyu renk veya kırmızı görünen yavaş kasılan (ST) lifler ile açık renk veya beyaz boyanan hızlı kasılan (FT) lifler olarak adlandırılmıştır (Engel, 1962). Bergstrom ve Hultman (1966) tarafından iğne biyopsisi tekniğinin

geliştirilmesi ile insanlarda iskelet kaslarına ilişkin histolojik ve biyokimyasal analiz yöntemlerinin uygulanması iskelet kas liflerinin morfolojik, kontraktil ve metabolik özellikleri açısından değerlendirilebilmesine olanak sağlamıştır (Bergstrom ve Hultman, 1966). Daha sonra Brooke ve Kaiser (1970) tarafından FT liflerinin alt sınıflaması da yapılabilmiş ve daha anaerobik, glikolitik lifler FTb olarak nitelendirilirken bu özelliği daha az olan FT lifleri FTa olarak sınıflandırılmıştır (Brooke ve Kaiser, 1970). Peter ve diğerleri (1972) iskelet kas liflerini kasılabilir özellikler ve oksidatif kapasitelerine göre tip I ve tip II olarak sınıflamayı önermiştir. Mitokondride yer alan enzim aktivitelerinin belirlenebilmesine ilişkin gelişmeler kas lifleri sınıflamasında oksidatif ve glikolitik kapasiteye göre yapılan değerlendirmelerin daha da gelişmesini sağlarken elektroforez yöntemi ile saptanan MHC izoformları ile kasılma hızı ve miyofibriler ATPaz aktivitesi arasında (Reiser, 1985; Staron ve Pette, 1986) ilişkinin saptanması giderek MHC izoformlarının belirlenmesi yoluyla kas lifi fenotipinin belirlenmesine yönelik çalışmaların ortaya çıkmasına neden olmuştur.

Schiaffino ve diğerleri (1989) ile Pette'nin laboratuvarında gerçekleştirilen bir çalışmada MHC elektroforezine göre sıçanlarda üçüncü bir hızlı MHC izoformunun keşfedilmesi iskelet kasında üçüncü bir olası hızlı lif tipinin var olduğunu ortaya koymuştur. Schiaffino ve diğerleri (1989) bu miyozin izoformuna MHCIIx adını verirken Pette ve diğerleri diyafram kasında yüksek yüzdede bulunması nedeniyle MHC IId adını vermişlerdir (Termin, 1989). Giderek literatürde IIX ve IId eş anlamlı olarak kullanılmış veya bu MHC izoformu her iki araştırmacının eş zamanlı buluşlarına kredi verilebilmesi için bazı araştırmacılar tarafından MHCIIx/d (Demirel, 1999) olarak ifade edilmiştir. Günümüzde her iki isim de araştırmacılar tarafından kullanılmasına rağmen, MHCIIx isminin çok daha yaygın olarak ifade edildiği görülmektedir. Sonuç olarak küçük memelilerde iskelet kasları dört ana MHC izoformunu içermektedir. Buna göre, yavaş tip MHCI tip I liflerinde bulunurken, üç hızlı tip izoform olan MHCIIa, MHCIIx ve MHCIIb sırasıyla IIa, IIX ve IId liflerinde yer alır (Weiss, 1999).

İskelet kası kesitlerinde gerek immünohistokimyasal gerekse histokimyasal çalışmalar sonucunda kemirgenlerde yavaş veya kırmızı tip I lifleri, hızlı ve kırmızı

tip IIA lifleri ile hızlı ve beyaz olan tip IIB ve tip IIB lifleri olarak dört temel kas lif tipi ortaya konmaktadır. Ennion ve diğerleri (1995) ile Smerdu ve diğerleri (1994) tarafından insanda daha önceleri IIB olarak adlandırılan liflerin aslında IIX lifleri olduğunun gösterilmesi üzerine en hızlı kasılan lif tipi olan tip IIB'nin insanda bulunmadığı ve bu lif tipinin sadece kemirgenlerde bulunduğu anlaşılmıştır. Buna göre insanda bulunan temel kas lif tipleri tip I, tip IIA ve tip IIX olmak üzere üç çeşittir. Bu kas liflerini birbirinden ayıran en belirgin özellik güç üretimi ve kısılma hızlarıdır. Tip IIA ve IIX lifleri daha büyük güç üretmekte ve hızlı kasılabilmektedirken, tip I lifler yorgunluğa karşı daha dirençli/dayanıklıdır. Tip IIX liflerinin kasılması ve gevşemesi tip IIA'ya göre biraz daha hızlı olsa da, sonuç olarak bu iki lifin kısılma hızı da tip I'den daha yüksektir.

Sonuç olarak bu liflerde miyozin molekülü farklı MHC genlerinin ekspresyonlarından oluşmaktadır. Dolayısıyla, lif tiplerini oluşturan MHC molekülerinin farklılığıdır. Bununla birlikte, aynı kas lifinde birden farklı miyozin ağır zincir izoformunun varlığı, kas lif tipi sınıflamasında farklı lif alt tiplerinin de bulunduğunu göstermektedir. Öyle ki, aynı kas lifinde iki veya daha fazla MHC izoformunun birlikte ve farklı yüzdelerde yer alması ilgili kas lifinin histokimyasal yolla yapılan temel sınıflardan birisine konmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle MHC yoluyla yapılan sınıflamanın aslında MHC profilini yansıttığı bu nedenle doğrudan lif tipi değişimi değilse de, kasta protein düzeyinde meydana gelen değişikliği doğrudan ifade ettiği bilinmektedir (Spangenburg ve Booth, 2003). Miyofibriler ATPaz aktivitesindeki değişim kas liflerinin farklı hızlarda kasılmasını sağlar (Bottinelli, 1994c). Buna bağlı olarak izole edilen tek kas lifinin kısılma hızını belirleyen çalışmalara göre kısılma hızı tip IIB>IIX>IIA>I şeklindedir (Bottinelli, 1991; Larsson ve Moss, 1993).

2.3. Karışım lifler

Yetişkin iskelet kası büyük oranda sadece tek bir MHC izoformu içeren iskelet kas liflerinden oluşmuş olsa da, birden fazla MHC izoformunun birlikte bulunduğu çeşitli miktarda lifler de bulunmaktadır. Karışım lifler olarak adlandırılan

bu liflerde genel olarak birbirine yakın hıza sahip olan iki veya daha fazla MHC izoformları birlikte bulunmaktadır. Buna göre, MHCI+MHCIIa, MHCIIa+MHCIIx veya MHCIIx+MHCIIb Buna göre, MHCI ve MHCIIa, MHCIIa ve MHCIIx veya MHCIIx ve MHCIIb kombinasyonları en sık görülen karışımlardır (Pette ve Staron, 1997; 2000). Bu sebeple, tek bir kas lifinde sadece bir tip MHC veya MHC karışımının bulunup bulunmamasına göre lif tiplerinin kasılma hızının tip I – tip I/IIa – tip IIa – tip IIa/x – tip IIx – tip IIx/b – tip IIb şeklinde yavaştan hızlıya doğru bir sıra izlediği görülmektedir (Pette ve Staron, 1997).

2.4. İskelet Kasında Lif Tipi Dağılımı

İskelet kaslarının içerdiği her bir lif tipinin yüzdesi farklı etkenlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Genetik özellik, her bir kasta lif tipini etkileyen bir belirteç olarak bu etkenlerin başında gelmektedir. Bununla birlikte kandaki hormon düzeyi, bireyin egzersiz alışkanlığı gibi durumlar da iskelet kasının ne kadar yüzdeyle hangi lif tipini içerdiğini belirleyen diğer etmenlerdir.

Bir bütün olarak iskelet kası düzeyinde ele alacak olursak, bazı kaslar ağırlıklı olarak hızlı ya da yavaş lif tipinden oluşmaktayken vücudumuzdaki birçok kas grubu iki lif tipini de eşit miktarda içeren bir yapıya sahiptir. Fare iskelet kaslarının gen ekspresyon analizi incelendiğinde soleus kasının ağırlıklı olarak yavaş oksidatif (SO) ve hızlı oksidatif glikolitik (FOG) liflerinden, ekstansor digitorum kasının ise FG ve FOG liflerinde oluştuğu görülmektedir. Buna karşılık plantaris kası hızlı glikolitik (FG) ve hızlı oksidatif (FO) yanı sıra daha az oranlarda da olsa yavaş oksidatif (SO) kas liflerini de içermektedir (Wu, 2003). MHC izoformları açısından ele alındığında da soleus kasının sıçanlarda %90-95 oranında MHCI ve %5-10 oranında MHCIIa'dan oluştuğu buna karşılık plantaris kasının ağırlıklı olarak hızlı tip MHC oluşmakla beraber dört farklı MHC izoformunu da içerdiği bilinmektedir (Demirel, 1999).

Hızlı ya da yavaş lif tiplerinin bir kasta yüzdesini belirlemek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Enzim aktivitesine göre histokimyasal olarak yapılan

sınıflamada en yaygın olarak kullanılan yöntem miyofibriler ATPaz (mATPaz) aktivitesine göre yapılan sınıflandırmadır. Buna göre öncelikle kas lifleri yavaş tip olan tip I ve hızlı tip olan tip IIa, IIb/x (veya IIx) ve IIb olmak üzere sınıflara ayrılır (Guth ve Samaha, 1969; Brooke ve Kaiser, 1970). Diğer bir enzimatik sınıflama türü ise mATPaz histokimyasını aerobik veya anaerobik enerji metabolizmalarına yönelik enzim aktivitesine göre sınıflamayla birleştiren, yavaş oksidatif, hızlı oksidatif glikolitik ve hızlı glikolitik olarak yapılan sınıflamadır (Barnard, 1971). Bir diğer yöntem ise immunohistokimya'dır. Bu yöntem, kas liflerinde bulunan farklı miyozin proteinlerinin moleküler ağırlıklarına göre antikorlara bağlanarak görülebilmektedir. Kasta bulunan miyozin izoformlarının belirlenmesinde kullanılan bir diğer yöntem ise SDS jel elektroforezidir.

Kas genel yapısı itibarıyla düşünüldüğünde fonksiyonel olarak iki özelliği; oksidatif kapasitesi ve ATPaz izoform tipi önemlidir. Kas liflerinin oksidatif kapasitesi mitokondri sayısı, kapiller yoğunluk ve miyogloblin miktarına bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Hücredeki mitokondri sayısının fazlalığı aerobik olarak ATP üretim kapasitesindeki büyüklüğü de beraberinde getirmektedir. Kapiller yoğunluk ise kontraktıl aktivite sırasında dokulara yeterli miktarda oksijen gitmesi bakımından önem arz etmektedir. Yüksek miktardaki miyogloblin konsantrasyonu ise dokulara taşınan oksijenin kapillerden mitokondriye taşınmasını sağladığı için kritik bir öneme sahiptir. Tüm bu faktörler düşünüldüğünde miyogloblin, mitokondri ve kapiller bakımından zengin kaslar yüksek aerobik kapasiteye sahip olacağından yorgunluğa direnç eşiği de yüksek olacaktır. Kas liflerinin biyokimyasal olarak bir başka özelliği miyozin ATPaz aktivitesidir. Yüksek ATPaz aktivitesine sahip kas liflerinde ATP daha hızlı parçalanmakta ve bunun sonucu olarak kasın kısalması daha çabuk gerçekleşmektedir. Diğer taraftan düşük ATPaz aktivitesi kasın daha yavaş kısalmasını beraberinde getirmektedir. Tip I lifler (yavaş-oksidatif ya da yavaş kasılan) çok fazla miktarda oksidatif enzimler içermektedir. Yüksek miktarda mitokondri sayısı, kapiller yoğunluk ve yüksek miyogloblin konsantrasyonu tip I liflerinin yorgunluğa karşı daha dirençli ve aerobik kapasitelerinin geniş olması anlamına gelmektedir. Hızlı kas lifleri olan tip IIx ve tip IIa, yavaş lif tipine göre daha az sayıda mitokondriye sahip olduğundan yorgunluğa direnci daha düşük ve aerobik kapasitesi sınırlıdır (Green, 1986). Ancak bu lifler glikolitik enzimlerden

zengin oldukları için daha büyük anaerobik kapasiteye sahiptirler. Tablo 1’de ST, FTa ve FTb sınıflamasına göre insan kas lif tiplerinin kontraktıl özellikleri, bazı enzim aktiviteleri ile morfolojik ve metabolik açıdan değerlendirilmesi verilmiştir (Zierath ve Hawley, 2004). Diğer yandan bu tablo değerlendirilirken insandaki FTb liflerinin FTx olarak değerlendirilmesi gerektiği unutulmamalıdır.

Tablo 1.1. İnsan iskelet kas lif tiplerinin kontraktıl özellikleri, bazı enzim aktiviteleri ile morfolojik ve metabolik karakteristikleri

<i>Özellik</i>	<i>ST oksidatif</i>	<i>FTa oksidatif</i>	<i>FTb glikolitik</i>
<i>Kasılma özelliği</i>			
Pik gerime ulaşma	1.0	0.4	0.4
Ca ⁺² miyozin ATPaz	1.0	3.0	3.0
Mg ⁺² aktomiyozin ATPaz	1.0	2.8	2.8
<i>Enzim aktiviteleri</i>			
Kreatin fosfokinaz	1.0	1.3	1.3
Fosfofruktokinaz	1.0	1.5	2.1
Glikojen fosforilaz	1.0	2.1	3.1
Sitrat sentaz	1.0	0.8	0.6
<i>Morfolojik özellikler</i>			
Kapiller yoğunluk	1.0	0.8	0.6
Mitokondri yoğunluğu	1.0	0.7	0.4
<i>Metabolik özellikler</i>			
Oksidatif potansiyel	1.0	0.7	0.2
Glikolitik potansiyel	1.0	1.5	2
[Fosfokreatin]	1.0	1.2	1.2
[Glikojen]	1.0	1.3	1.5
[Triasilgliserol]	1.0	0.4	0.2

2.5. İskelet Kasının Plastik Özelliği

İskelet kasları; inaktivite, kasa binen yükteki değişiklik, sinir uyarılarındaki değişiklikler, hormonal etkiler gibi çok çeşitli uyaranlar karşısında lif çapı ve fenotipik özellikleri açısından yanıt verme yeteneğine sahiptir. Bu adaptasyonlar genel olarak kas plastisitesi olarak adlandırılmaktadır (Pette, 2001). Kas kompozisyonunda ve fonksiyonunda değişikliklere yol açan bazı uyaranlar şu şekilde özetlenebilir. Buller ve diğerleri (1960) iskelet kas liflerinin kendilerine gelen motor sinirin özelliklerini yansıttığını, diğer bir ifade ile kas lif tipini etkileyen faktörün innervasyon olduğunu ortaya koymuştur. Hızlı kas lifine giden motor sinirin yavaş, yavaş kas lifine giden motor sinirin ise hızlı ile yer değiştirilmesi ile oluşan çapraz reinnervasyon deneyleri de benzer şekilde iskelet kas liflerinin değişen sinir uyarı özelliğine adaptasyon gösterdiğini ortaya koymuştur (Vrbova, 1963; Salmons ve Vrbova, 1967). Aynı etki, doğrudan kasa verilen yüksek frekanslı fazık veya düşük frekanslı kronik elektrik uyarıları yolu ile de gerçekleştirilebilmiştir (Salmons ve Vrbova, 1969; Lömo, 1974). Mekanik yüklenme sık çalışılan bir diğer modeldir. Buna göre, kasın uzamış pozisyonda immobilize edilmesi veya sinerjist kasın tenotomi yapılarak uzaklaştırılması yoluyla kas boyutunda büyüme gözlenmiştir (Goldspink, 1992; Goldberg, 1967; Sugiura, 1993). Aynı modelde tenotomiye uğrayan kasta ise atrofi görülmüştür. Tenotomi yanı sıra atrofiyi mimik eden diğer modeller arasında mikrogravite, kuyruktan asma yolu ile yüksüzleştirme (Naito, 2001), spinal kord kesisi (Roy, 1984), kasın kısalmış pozisyonda immobilize edilmesi (Goldspink, 1977) gibi modeller mevcuttur.

Hormonal etki denildiğinde ise akla ilk gelen tiroid hormonudur. Genel olarak hipotiroidi kas lifi fenotipinde ve MHC izoformlarında hızlıdan yavaş doğru bir dönüşe neden olurken hipertiroidi yavaştan hızlıya doğru fenotipik bir değişimi gerçekleştirir (Ianuzzo, 1977; Izumo, 1986; Caiozzo, 1992 ve 1993).

Kasların egzersize yanıtı yapılan fiziksel aktivitenin türüne göre farklılık göstermektedir. Kuvvet antrenmanlarının kas boyutunu ve üretilen kuvvet miktarını arttırdığı bilinmektedir. Hatta bazı araştırmacılar tarafından kas liflerindeki büyümenin (hipertrofi) yanı sıra lif sayısında da artış (hiperplazi) olabileceği görüşü savunulmaktadır (Gonyea, 1980; Gonyea ve Ericson, 1976). Dayanıklılık

antrenmanlarıyla ise oksidatif kapasitede artış olduğu bilinmektedir.

İskelet kasının temel özelliği farklı stres durumlarına karşı adaptasyon sağlayabilmesidir. Miyozin ağır zinciri bu adaptasyonda rol oynayan kilit faktörlerden biridir. Koşu bandında aynı egzersiz şiddetinde 10 haftalık dayanıklılık antrenmanı sonrasında günlük koşu süresindeki artışa bağlı olarak MHC izoformunda hızlıdan yavaşa doğru dönüşümün olduğu gösterilmiştir (Demirel, 1999). Bu çalışmada histokimyasal lif tipi değerlendirmesi, dönüşümün kas lifi fenotipinde de gerçekleştiğini ortaya koymuştur.

2.5.1. İskelet Kasında Kullanmamaya Bağlı Plastisite

Kullanmama sırasında iskelet kası hızlı bir şekilde yeniden biçimlenmeye başlayarak kas ağırlığında azalma, lif boyutu, çekirdek sayısı ve genel olarak yavaştan hızlı kas fenotipine dönüşüm meydana gelir (Appell, 1990; Booth ve Criswell, 1997). Yavaş kas lifleri hızlı kas liflerine oranla daha fazla atrofiye uğramaktadır (Appell, 1990). Sıçanlarda soleus, addüktör longus gibi yavaş, antigravite kaslarda hızlı kaslara göre daha büyük bir atrofi olduğu bilinmektedir. Edgerton ve diğerleri (1996) sıçan iskelet kasında 14 günlük uzay uçuşu sonrasında soleus, medial gastroknemius ve tibialis anterior kaslarında atrofiyi incelemişlerdir. En büyük atrofiye ayak bileği plantar fleksör kaslarından soleus maruz kalmıştır (Jiang, 1992; Ohira, 1992). Hayvan deneylerindeki verilerle tutarlı biçimde insanlarda yapılan bazı çalışmalarda da yavaş soleusun, hızlı gastroknemiusa göre daha çok atrofi olduğu saptanmıştır (Widrick, 1999). Ancak mikrograviteye maruz bırakılan sıçanların aksine insanlarda tip I lifleri atrofiye karşı tip II liflerden daha duyarlı değillerdir. Bu durum atrofi öncesindeki insanlarda tip IIa lifleriyle sıçanlardaki tip I liflerinin ortalama lif boyutuyla açıklanabilir. Sıçanlarda tip IIa lif tipi tip I'e göre oldukça düşük orandadır, insanlarda ise, tip IIa lifleri tip I'e göre bir miktar daha büyüktür (Fitts, 1996). Edgerton ve Roy (1996) atrofiden önce lif boyutu ne kadar büyükse yine aynı doğrultuda atrofi sonrasında en büyük zararın bu liflerde görüleceğini söylemişlerdir. Edgerton ve Roy (1996) uzay uçuşu sonrasında lif tipi değişikliklerini de incelemişlerdir. Uzay uçuşunun ilk haftasında sıçanlarda

antigravite kaslarında yavaş liflerin miktarının azaldığı, diğer taraftan da hızlı tip miyozin içeren lif miktarının ise arttığını göstermişlerdir.

Sıçanlarda, kuyruktan asma (Hindlimb unloading, HU) ve uzay uçuşunun (Space flight, SF) kontraktil proteinlerde bir azalmaya ve yavaştan hızlıya doğru bir dönüşüme neden olduğu bilinmektedir (McCarthy, 1997). Sıçanlarda HU ve SF'den sonraki dönemde tekrar yüklenme yavaş tip I liflerinde bir hasara yol açmaktadır (Riley, 1995). Yüksüzleştirme sırasında aralıklı egzersizlerin protein sentezini kontrol grubu düzeylerinde tutmak için etkili olduğu düşünülmektedir (D'Aunno, 1992). Yapılan bir çalışmada 7 günlük HU uygulaması sırasında günde dörder kez aralıklı olarak uygulanan 10 dakika ayakta durma ya da yavaş tempoda yürüme egzersizlerinin soleus kas kitlesini neredeyse normal düzeyde tuttuğunu göstermiştir (Herbert, 1988). Bazı araştırmacılar ise bu durumun kısa süreli yüksüzleştirmeler için geçerli olduğunu savunmaktadır. Aynı protokolün 14 günlük HU sırasında uygulanması ile soleusun vücut ağırlığına oranındaki kaybın %22 oranında azaldığı ve tip I lif çapındaki değişikliklerin de azaldığı görülmüştür. Aralıklı ayakta durma protokolünün 14 günlük HU uygulamasında 7 güne oranla daha az etkili olduğu söylenebilir. Sıçanlarda HU uygulamasında ilk hafta meydana gelen kas kaybının ana sebebinin protein sentezindeki azalmadan kaynaklandığı bilinmekteyken, protein degradasyonundaki artışın maksimum seviyesine ulaşması ise 9-15. günlerde gerçekleşmektedir (Thomason, 1989). Böylelikle atrofi sırasında aralıklı egzersizlerin ya da sadece ayakta durma protokolünün degradasyonu azaltmaktan ziyade protein sentezindeki azalmayı engellediği düşünülebilir. On dakikalık ayakta durmaya aralıklı yüksek direnç egzersizlerinin eşlik etmesinin sadece ayakta durmaya göre kas atrofisinin engellenmesinde daha etkili olduğu görülmüştür (Widrick, 1997). Kas atrofisini önlemek ya da sınırlandırmak için bu süreçte meydana gelen hücresel ve moleküler mekanizmaların aydınlığa kavuşturulması gerekmektedir.

Uzun süreli yatak istirahati de büyük ölçüde kas hasarını beraberinde getirmektedir. 60 günlük yatak istirahati sonrasında soleus kasında yavaş lif kesit alanında %7-29 arasında düşüş meydana gelmektedir. 120 günlük yatak istirahatinde ise bu azalma %35-48'lere kadar çıkmaktadır (Ohira, 2000).

Kasın yüksüzleştirilmesiyle birlikte oluşan lif tipi değişiminin moleküler mekanizması çok net bir şekilde açıklanamamakla birlikte bu konu üzerine yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Yüksüzleştirme sonrasında ortaya çıkan kas atrofisinin iyileşme sürecinde yaşanan olaylar ile ilgili bilgiler ise çok kısıtlı ve bu konuda yapılan çalışmaların sayısı çok sınırlıdır. İyileşme sürecinde normale dönüş sırasında MHC protein ekspresyonu ile ilgili çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Kuyruktan asma modeliyle yüksüzleştirilen sıçanlarda soleus kasında proteoliz oranı arttığı ve bu doğrultuda protein içeriğinde azalma meydana geldiği bilinmektedir (Desplanches, 1987; Thomason ve Booth, 1990). Kuyruktan asma modeliyle sadece 5 saat sonunda myofibriler protein içeriğinde azalma olduğu gözlenmiş ve bu yıkımın 2 hafta süresince devam ettiği görülmüştür (Thomason et al. 1989). HU kassal atrofiyi beraberinde getirmekte ve özellikle yavaş kaslarda hızlı MHC lif oranında bir artışa sebep olurken, yavaş MHC liflerinin formunda bir azalmaya neden olmaktadır (Thomas ve Booth, 1990; Talmadge, 1996). Bununla birlikte soleus kasında (ağırlıklı olarak tip I'den oluşmaktadır) 14-31 günlük HU modeliyle oluşturulan yüksüzleştirme sonrasında hızlı lif tipi olan MHC tipIIx izoformunda artış olduğu saptanmıştır (Takahashi, 1991; Fauteck ve Kandarian, 1995). Yapılan çalışmalar HU uygulaması sonucunda miyofibriler proteinlerde azalma ve MHC izoformunun yavaş liflerden hızlı liflere doğru bir dönüşümünün meydana geldiğini göstermektedir (Desplanches, 1987; Edgerton ve Roy, 1996; Fujino, 2005).

İskelet kas kitlesinin immobilizasyon nedeni ile azalması, yüksüzleştirme ortadan kalktığında dahi kas kitlesinin yeniden kazanılması immobilizasyon süresine bağlı olarak ciddi bir şekilde gecikebilir (Rochester, 2009). Özellikle spor yaralanmaları sonrasında atel veya alçıya alınan ekstremitelerde kas kuvvet ve fonksiyonunun normal fonksiyonlarını kazanma süreci, spora dönüşü etkileyen en önemli faktörlerden biridir. İnsanlarda kullanmamaya bağlı olarak oluşan kas atrofisinin altında yatan mekanizmaların araştırılmasında karşılaşılan zorluklardan ötürü, kas atrofisine neden olan yüksüzleştirme koşullarını mimik eden birçok hayvan modeli geliştirilmiştir. Bunlardan alçılama yoluyla oluşturulan immobilizasyon, en uygun modellerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Dahası, kemirgen hayvan modellerinde HU ile yüksüzleştirilen arka bacak lokomotor kasları

insanlardaki uzun süreli yatak istirahati ya da uzay uçuşu gibi durumlardaki şartları yaratmak için kullanılmaktadır. Kuyruktan asma modeli uygulanarak kas inaktivitesinin oluşturulduğu çalışmalarda kas protein sentezinde azalma ve proteolizde artma meydana geldiği bilinmektedir (Carlson, 1999). Kuyruktan asma modelinin uygulanarak kas atrofisinin oluşturulduğu bir çalışmada kas yüksüzleştirilmeye başlandıktan sonra protein sentezi oranının hızlı bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Protein sentezindeki bu azalma sonraki 48 saatte daha düşük bir sabit sentez hızına ulaşmaktadır (Thomason, 1989). Kullanmamaya bağlı olarak protein sentezinde meydana gelen bu azalmayı protein degradasyonundaki önemli bir artış takip etmektedir. Böylece iskelet kasındaki azalan aktiviteyle birlikte total kas proteinindeki azalma protein sentezindeki azalmadan ve proteolizde artıştan kaynaklanmaktadır.

Sıçan iskelet kasında kullanmamaya bağlı olarak oluşan atrofinin kas lif kesit alanının azalması, kas kitlesinin azalması ve kuvvet üretim kapasitesinin azalmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (Caiozzo, 1994). HU çalışmalarında soleus kasındaki atrofinin başlangıç safhasında miyofibriler protein sentez hızında bir azalmanın meydana geldiği bildirilmiştir (Thomason, 1989). HU uygulamasının ilk günlerinde protein kaybının ana nedeni protein sentezindeki azalmadır. Üçüncü günden itibaren sentez oranı sabit bir duruma ulaşmaktayken protein degradasyon oranı geçici olarak önemli bir artış göstermektedir. İlk birkaç günden sonraki protein kaybının büyük bir bölümü degradasyon oranının artmasından kaynaklanmaktadır (Thomason, 1989).

Kas atrofisi kastaki protein yıkımının artmasından dolayı kas lif boyutundaki azalma sonucunda meydana gelmektedir (Edgerton ve Roy, 1996). Kas dokusundaki miyofibriler protein miktarı 2 haftalık kuyruktan asma modeliyle yüksüzleştirme sonrasında %42 oranında azalmaktadır (Fujino, 2005). Yavaş tip I ve hızlı tip IIa, IIb ve IIx olarak tanımlanan MHC izoformlarının oranları farklı çevresel şartlar altında değişiklik gösterebilmektedir. Yüksüzleştirme, egzersiz ve uzay yolculuğu bu duruma örnek olarak gösterilebilir (Thomason ve Booth, 1990., Edgerton ve Roy, 1996).

Beş günlük kuyruktan asma modeliyle oluşturulan yüksüzleştirmenin soleus ve gastrocnemius kaslarında total RNA ve protein sentezinde azalmaya yol açtığı

bilinmektedir. Ayrıca yavaş lif tiplerinin ağırlıklı olduğu soleus kasının gastrocnemius ve digitorum ekstansör longus kasına göre daha büyük bir atrofiye uğradığı gösterilmiştir (Goldspink, 1986). Bazı çalışmalar inaktivite ile birlikte, atrofi oluşan kasta zamana bağlı olarak hem transkripsiyon hem de translasyonel oranların düştüğünü göstermektedir (Thomason, 1990). Alt ekstremitte immobilizasyonun ilk 6 saatlik kısmında protein sentezinin sıçan gastrocnemius kasında %37 oranında azaldığı bildirilmiştir (Booth, 1979). Mitchell ve Pavlath (2002) atrofi sonrası kasın tekrar büyüme mekanizmasının postnatal büyüme ve hipertrofiyenin farklılık gösterebileceğini öne sürmüşlerdir.

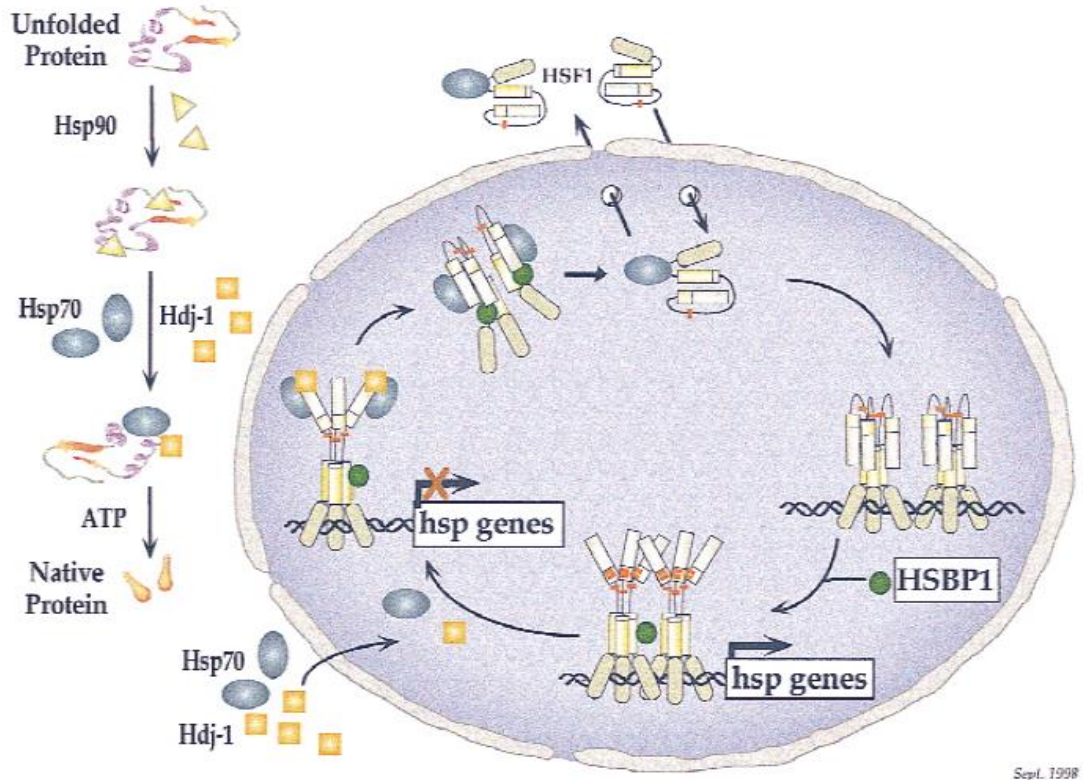
2.6. Sıcak Şoku Proteinleri

Kas hücresi normal koşullar altında yeni sentezlenen ve yarı ömrünü tamamlamış proteinler arasındaki ilişkiyi ifade eden bir protein yapım - yıkım dengesine sahiptir. Farklı stres koşullarında ise hücre, birçok proteinin gen ekspresyonunda değişiklik ile yanıt vererek hücrenin içerisinde bulunduğu yeni koşullara adaptasyonunu sağlar. Bu proteinlerden en önemlileri sıcak şoku proteinleri (HSPs)'dir. Geniş bir protein ailesini içeren HSP'ler, yapısal ve işlevsel özellikleri ilk defa tanımlandığında artan sıcaklığa bağlı olarak indüklenmeleri nedeni ile sıcak şoku proteinleri olarak adlandırılmıştır (Tissieres, 1974). Ancak daha sonra hücrenin maruz kaldığı; oksidatif stres, iskemi, hipoksi, inflamasyon, protein degradasyonu, artmış hücre içi kalsiyum konsantrasyonu ve yetersiz enerji gibi farklı çevresel stresler ve patofizyolojik koşullarda hücrenin yanıt olarak indüklendiğinin bilinmesi ile (Marber, 1995; Chiang, 1989; Guttman, 1980; Weitzel, 1985; Adric, 2000; Welch, 1983; Sciandra, 1983) stres proteinleri olarak da adlandırılmaya başlanmıştır.

Hücrede moleküler şaperonlar olarak görev yapan stres proteinleri, herhangi bir stresin olmadığı koşullarda da hücrenin süreçleri için son derece önemli bir görev üstlenirler. Hücrede yeni sentezlenen proteinler henüz üçüncül yapısını almadıkları için proteazların hedefidir. Stres proteinleri yeni sentezlenen proteinlerin doğru katlanmalarına yardımcı olarak onları degrade olmaktan korurlar. Ayrıca proteinlerin

sentez sonrası işlev gösterecekleri hedef bölgelere ulaşmalarından da sorumludurlar (Welch 1992, Lanchaster 2005). Öte yandan, hücre herhangi bir strese maruz kaldığında hücresel homeostazis bozulur ve proteinlerin yapısal bütünlüğünün korunması daha da önemli hale gelir. Bu nedenle hücrede normal koşullarda belirli bir düzeyde sentezlenen HSP'lere duyulan gereksinim artar. Stres koşullarında hücrede ekspresyonu artan HSP'ler her ne kadar farklı mekanizmalar ile işlev gösteriyorlarsa da, temelde hücreyi denatüre olmuş proteinlerin tekrar katlanmalarında, aktif üç boyutlu yapısını almış proteinlerin hücredeki lokalizasyonlarına ulaştırılmalarında ve geri kazanımı olmayan denature proteinlerin degradasyonunda görev alarak korurlar.

Stres uyaranları ile oluşan hücresel yanıt, sıcak şoku faktörü (HSF) olarak adlandırılan bir transkripsiyon faktörü ile gerçekleşir (Asea, 2007).



Şekil 1.2. Sıcak şoku yanıtının regülasyonu (Morimoto, 1998).

Normal koşullarda sitozolde DNA'ya baēlanma özelliēi olmayan monomerler şeklinde bulunan HSF, stres uyararı ile homotrimer formuna dōnūřerek řekirdeēe geğer. řekirdeēe giren HSF *HSP* gen promotorları iğerisindeki sıcak řoku elementi (HSE)'ne baēlanarak HSP transkripsiyonunu arttırır (Anckar, 2007).

2.7. Stres Proteinleri ve Sınıflandırılması

HSP'ler moleküler aēırlıklarına göre farklı gruplara ayrılmaktadır. Bunlardan en belirgin olanları küçük HSP'ler (HSPB), Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 aileleridir (Harm, 2009). HSP70 ailesinin iki belirgin üyesi olup bunlardan Hsp73 (Hsc70) bazal düzeyde ekspres edilen formu olup Hsp72 (HSP70), stres koşullarında indüklenebilir olan formudur (Harm, 2009). Bu HSP'lerin hücrede farklı bölgelerde farklı görevleri bulunmaktadır.

Özellikle son on yılda iskelet kasında HSP70'in arařtırıldıēı ęalıřmalar önemli derecede artmıştır. Bunun nedeni olarak HSP70 indüksiyonunun farklı fizyolojik ve patofizyolojik streslere yanıt olarak artması gösterilmekte, dahası bu stres uyarılarına kassal adaptasyonda önemli bir rol üstlendiēi düşünölmektedir (Senf, 2013). Bu tez ęalıřmasında immobilizasyon ve titreşimin sıçan plantaris kasında Hsp72 düzeyleri üzerine etkisi arařtırıldıēından bu proteine ilişkin daha geniş bilgiye yer verilmiştir.

2.7.1. Küçük HSP Ailesi

Ubiquitin:

Ubiquitin 8 kDa aēırlıēındadır ve iskelet kasında ekspres edilen en küçük HSP'dir. Bu protein bazal düzeyde sitozolde eksprese edilmektedir. Ubiquitin ana rolü kromatin yapısında ve protein degradasyonundadır (Welch, 1992). Hücre içi proteinlerinin degrade olabilmeleri için ilk olarak kovalent bir yapıda ubiquitin modifikasyonu gereklidir (Glickman, 2001). Hücre içerisinde ubiquitin miktarındaki

artış hasar görmüş, denature olmuş proteinlerin uzaklaştırılmasında önemli rol oynamaktadır (Thompson, 1994).

α B-Kristallin:

α B-kristallin, omurgalı lenslerinde bulunan 22 kDa ağırlığında bir HSP üyesidir. Lens dokusuna ek olarak kalpte, iskelet kasında tip I ve tip IIa liflerinde eksprese edildiği bilinmektedir (Neufer, 1988). Hsp27 ile birlikte α B-kristallinin stres sırasında hücre iskeletinin ve kasılma mekanizmasının korunmasında önemli bir fizyolojik rol oynamaktadır (Feasson, 2002).

Hsp27:

Normal koşullarda sitozolde bulunan Hsp27, hücre strese maruz kaldığında translokasyona uğrayarak çekirdek içinde ya da etrafında lokalize olmaktadır (Arrigo, 1994). Hsp27'nin mikroflament stabilizasyonunda, sinyal iletimi ve büyüme gibi süreçlere dahil olduğu bilinmektedir. Ayrıca Hsp27, termal ve oksidatif stres karşısında koruma sağlamaktadır (Locke, 1997., Escobedo, 2004).

Hsp60:

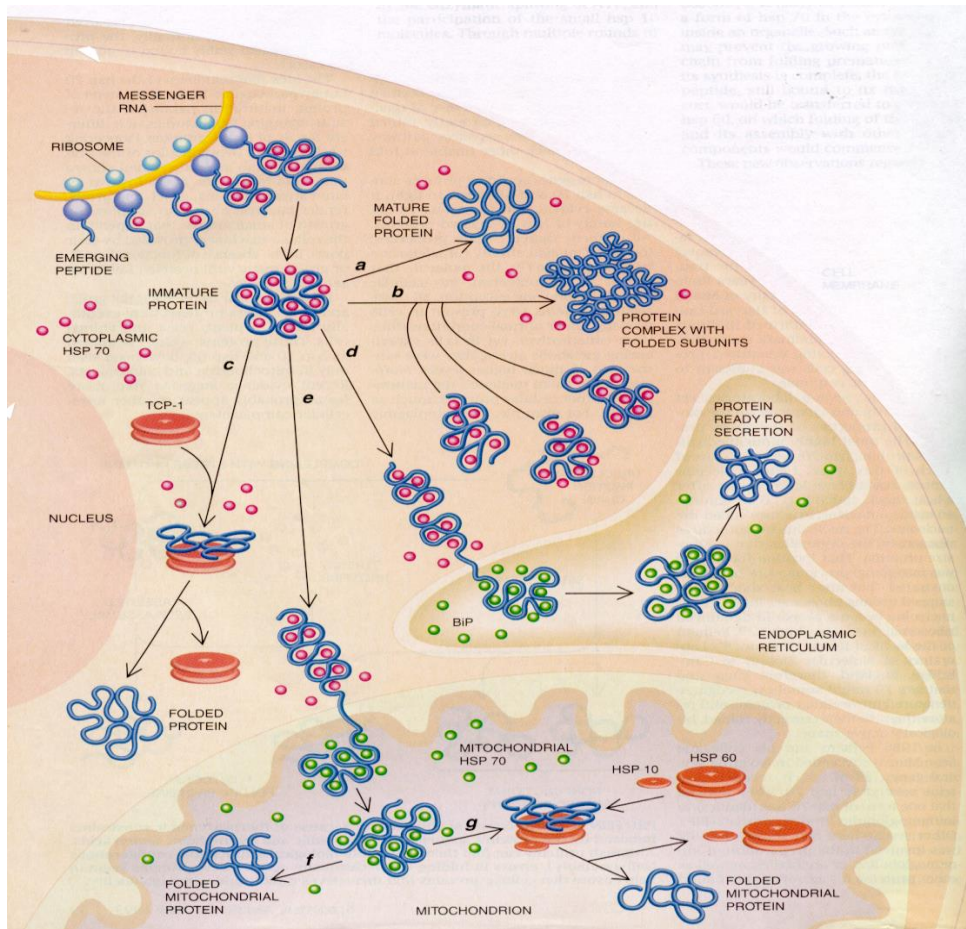
Hsp60 yapısal düzeyde mitokondride eksprese edilmektedir. Yeni sentezlenen proteinlerin katlanmalarına yardım ederler. Proteinlerin doğru katlanmalarının yanı sıra hücre içeriğinde proteinlerin taşınmalarında da rolleri vardır (Hood, 2001).

Hsp90:

Hsp90 protein kinaz, transkripsiyon faktörü ve steroid hormon reseptörleri gibi substrat proteinlerin katlanmasında ve aktivasyonunda koruyucu bir görev üstlenir. Stres sonucunda indüklenen Hsp90 ekspresyonunun fonksiyonu katlanmamış proteinlerin bir araya gelmesini önleyerek tekrar katlanabilecekleri bölgelerde tutmaktır.

HSP70 Ailesi:

Araştırmalara en yaygın biçimde konu olan HSP ailesidir. Bu ailenin iki önemli üyesi bulunmaktadır. Bunlardan Hsp73 bazal düzeyde eksprese edilen formudur. Hsp72 ise bazal düzeyde hücrede çok düşük miktarda bulunmaktayken, stres koşullarında miktarı hızla artmaktadır. Bu proteinler, hücredeki bazı sinyal yollarıyla etkileşim halindedirler, mRNA stabilizasyonunda ve degradasyonunda rol alırlar, protein degradasyonuna yardımcı olurlar ve işlevini kaybeden proteinlerin hücreden uzaklaştırılmasını sağlarlar. HSP70 ailesinin bilinen en iyi rolü, moleküler bir şaperon olması ve hücredeki koruyucu rolüdür. HSP70 ailesi proteinlerin doğru bir şekilde katlanmaları, translokasyonu, yanlış katlanan proteinlerin doğru bir biçimde katlanmaları, protein agregasyonunun önlenmesi ve tekrar işlevsel yapısına dönemeyecek proteinlerin degradasyonuna yardımcı olmak gibi kritik roller üstlenmektedir (Beckman, 1990; Welch 1992).



Şekil 3.1. HSP'lerin hücredeki işlevleri.

1990'lı yıllarda kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalarda akut egzersiz sonrasında kalpte, beyinde, karaciğerde ve iskelet kasında Hsp72 miktarının arttığı görülmüştür (Salo,1991; Walters, 1999; Skidmore, 1995). Egzersize ve sıcak strese yanıt olarak Hsp72'nin adrenalde, kalpte, karaciğerde ve iskelet kasında arttığı da bilinmektedir (Skidmore, 1995; Febbraio, 2002; Liu, 1999). Stres koşullarında Hsp72 total hücresel protein miktarının %20'sine kadar artış göstermekte, bu da Hsp72'yi indüklenebilir olması bakımından en önemli stres proteini yapmaktadır (Morton, 2009).

Akut egzersizle birlikte meydana gelen stres ve sıcaklık artışı metabolik düzensizlik ve olası kas hasarını beraberinde getirmektedir. Bunun sonucu olarak, akut egzersiz iskelet kasında HSP miktarını arttırmaktadır (Noble 2002). İskelet kasının bu yanıtı egzersiz tipine, yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Milne ve Noble 2002; Paulsen, 2007). Strese yanıt olarak Hsp72'nin mitokondrial ve sarkoplazmik retikulum fonksiyonlarını koruduğu bilinmektedir (Tupling ve diğ., 2007). Bununla birlikte, net olarak bilinmemesine rağmen egzersiz sırasında kasta Hsp72'nin insülin duyarlılığının ve glukoz kullanımının devam ettirilmesinde önemli bir rolü olduğu da düşünülmektedir (Kurucz, 2002). Ayrıca egzersizle birlikte indüklenen bazı HSP'lerin inflamatuvar yanıtları baskılayarak kas hasarını sınırlayabileceği düşünülmektedir (Chen, 2007). 70 kDa HSP ailesinin yapısal düzeyde var olan üyesi Hsc70'in birkaç istisna dışında egzersiz sonucunda miktarında artış gözlenmemiştir (Murlasist ve diğ., 2006).

2.8. İskelet Kasında İmmobilizasyon ve HSP

Sıçan iskelet kası, tip I, tip IIa, tip IIx ve tip IIb olmak üzere dört farklı hücre tipinden oluşmaktadır. İskelet kası, inaktivite, denervasyon, yaşlanma ve çeşitli patolojik koşullarında lif tipini yavaştan hızlıya doğru değiştirerek yanıt verir (Demirel, 1999). Yavaş kas lifleri olarak da adlandırılan tip I lifleri bazal Hsp72 düzeylerinin daha yüksek miktarlarda olduğu liflerdir. İmmobilizasyon, kronik yatak istirahati, mikrogravite gibi uzun süreli inaktivitenin iskelet kas kitlesinde ve kuvvetinde azalmaya neden olduğu bilinmektedir (Powers, 2004). İmmobilizasyon sırasında kasa binen yükün olmayışı, protein sentezinde azalma ve protein

degradasyonunda artmaya dolayısıyla kas atrofisine neden olmaktadır (Glass, 2005; Sandri, 2008.). İmmobilizasyon süresine bağlı olarak kas kitlesi, kas kuvveti ve yorgunluğa dirençte azalma (Adams, 2003) ile kas lifinde tip I'den tip II'ye dönüşüm meydana gelmektedir (Glass, 2005; Sandri, 2008; Kandarian, 2006). Bu durumun bazal düzeydeki HSP ekspresyonunda bir azalmayı dolayısıyla kasın HSP içeriğinin azalmasını beraberinde getirmesi beklenmektedir. Diğer yandan, oksidatif stresin uzun süreli inaktivite sırasında kas atrofisinde rol oynayan çok sayıda hücre sinyal yolları için önemli bir etken olduğu bilinmektedir. Oksidatif stres Hsp72 indüksiyonuna neden olan stresler arasında yer almaktadır. Bu durumda ise atrofiye uğrayan kasta Hsp72 düzeylerinde bir artış beklemek gerekir.

Kas atrofisi ve Hsp72 ekspresyon düzeyinin birbirleriyle ilişkili olduğu bilinmektedir (Naito, 2000; Oishi, 2001; Senf, 2008). Senf ve arkadaşları (2008) Hsp72'nin 7 günlük immobilizasyon sırasında kas kitlesinin korunmasında direk bir rolü olduğunu kanıtlamışlardır. Hsp72'nin aşırı ekspresyonun kas atrofisi için anahtar sinyal yollarının inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

İskelet kasında atrofisi sürecinde, sıcak şoku proteinlerinin kas atrofisi süreciyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Senf, 2008). Sıcak şoku proteinlerinin en göze çarpan üyesi olan Hsp72'nin hücresel strese yanıt olarak hızlı bir şekilde eksprese edildiği ve miyofibrillerin korunmasında rol oynadığı bilinmektedir (Venojarvi, 2007; Powers, 2005). İskelet kası immobilizasyonu sırasında, oksidatif hasara yanıt olarak Hsp72 ekspresyonunun artabileceği bilinmektedir. HSP'lerin iskelet kası atrofisindeki rolünü tam olarak anlamak için yapılan bazı çalışmalarda iskelet kası yüksüzleştirme öncesinde ve yüksüzleştirme sırasında tüm vücuda hipertermi uygulanmıştır. Hiperterminin yüksek düzeyde Hsp72 ekspresyonunu tetiklediği ve böylelikle kas kaybının azaltıldığı bilinmektedir (Naito, 2000; Selsby, 2005). Yüksüzleştirme sırasında Hsp72'nin elektroporasyon yöntemi ile daha spesifik olarak indüklendiği çalışmalarda artan Hsp72 düzeylerinin kas atrofisini azalttığı vurgulanmıştır (Dodd, 2009; Senf, 2010).

Sıcak şoku proteinlerinin hücresel korumada kilit bir rol oynadığı bilinmektedir. İndüklenebilir Hsp72'nin iskelet kası atrofisi ve sonrası iyileşme sürecinde araştırılması için soleus ve ektensor digitorum longus kasına 7 gün

immobilizasyon uygulanmış ve ayrıca sonrasındaki 7 gün boyunca iyileşme süreci gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda transgenik farelerde immobilizasyon sonrasında kasın geri kazanılmasında Hsp72'nin aşırı miktarlarda ekspresyonunun hızlı kas lifi tiplerinden oluşan EDL ve yavaş kas lifi tiplerinden oluşan soleus kasında iyileşmeyi hızlandırdığı saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada Hsp72 ekspresyonunun yedi günlük iyileşme sürecinde hem kontrol hem transgenik farelerde normal seviyelerine döndüğü gözlenmiştir (Miyabara, 2012).

HSP'lerin hem hipertrofide hem de atrofide rol oynadığı bilinmektedir (Agarraberes, 1997; Beckman, 1990). Aşırı yüklenme sonucunda plantaris kasındaki hipertrofiyle beraber Hsp72 miktarında artış olduğu gözlenmiştir (Locke, 1994). Ancak, Hsp72 düzeylerinde herhangi bir değişim olmaksızın da kas kitlesinde artışın olabileceği bildirilmiştir (O'Neill ve diğerleri, 2006). Genel olarak, yüksüzleştirme HSP miktarındaki azalma ile ilişkili iken tekrar yüklenme ya da aşırı yüklenme sonucunda ise HSP miktarlarında artış meydana gelmektedir. Oishi ve diğerlerinin (2008) sıçanlarda kuyruktan asma modelini iki hafta süresince uyguladığı çalışmada soleus kasında %73 atrofi gözlenmiş ve miyozin ağır zinciri kompozisyonunda yavaş tipte azalma meydana gelmiştir. Yine aynı çalışmada iki haftalık immobilizasyon sonrasında Hsp60 ve Hsp72 düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığı sonucu elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada iki haftalık kuyruktan asma uygulaması sonrasında soleus kasında yavaş kas lif tipinden hızlı kas lif tipine dönüşüm de ortaya konmuştur. Diğer taraftan, kas atrofisi genellikle protein sentezindeki azalma ve protein degradasyonundaki artış sonucunda meydana gelmektedir (Thomason, 1989). Yüksek düzeyde Hsp72'nin apoptozise karşı hücreleri koruduğuna dair bulgular bulunmaktadır (Volloch ve Rits, 1999). Bu nedenle, Hsp72'nin kullanmama sırasında kas boyutu ve fonksiyonlarının korunmasında önemli bir rolü olabileceği düşünülebilir. Gerçekten de, Naito ve diğerlerinin (2000) yaptığı çalışmada kısa süreli sıcak stresi sonucunda yükselen Hsp72 miktarının 8 günlük kuyruktan asma modelinin uygulandığı hayvanlarda soleus kasında atrofiyi önemli ölçüde önlediği görülmüştür. Sıcak tedavisi uygulanan bir başka çalışmada artan Hsp25 ve Hsp72 miktarları immobilizasyon sonrasında soleus kasında atrofiyi azalttığı gözlenmiştir (Selsby ve Dodd, 2005). Bu çalışma, sıcak uygulamasının oksidatif strese karşı koruma sağladığını ve immobilizasyon sırasında atrofiyi azalttığını göstermiştir.

Yine aynı çalışmada kontrol ve immobilizasyon gruplarında Hsp25 ve Hsp72 ekspresyonunda bir farklılık gözlenmezken, sıcak uygulamasının yapıldığı immobilizasyon grubundan yalnızca immobilizasyon grubuna göre Hsp25 miktarında %75 oranında bir artış olmuştur. Hsp72 düzeyinde ise immobilizasyon grubuna göre 7 kat bir artış gözlenmiştir. Tüm bu bulgular iskelet kasında artan HSP düzeylerinin atrofiye karşı bir koruma sağladığını göstermektedir. Bu çalışma, sakatlıklara, yaşlanmaya veya diğer kas kayıplarının yaşandığı durumlarda yüksek düzeyde Hsp72 miktarının iyileştirici bir rol üstlendiğine işaret etmektedir. (Selsby ve Dodd, 2005)

Atrofi olan kasta yavaş MHC izoformunun azalmasıyla birlikte Hsp72 ekspresyonunun da azaldığı bilinmektedir (Locke, 1994). Bu bulguya dayanarak Hsp72'nin MHC izoformunda yavaştan hızlıya ya da hızlıdan yavaş doğru değişimlerde bir rolü olduğu ön görülebilir. Bununla birlikte Senf ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada sıçan soleus kasında Hsp72'nin enjekte edilerek aşırı ekspresyonu ile kullanmamaya bağlı ortaya çıkan atrofiyi önemli ölçüde engellediğini ortaya koymuşlardır.

2 haftalık kuyruktan asma modeliyle oluşturulan atrofide sıçan soleus kasında %73 oranında atrofi meydana gelmiştir. Bununla birlikte yavaş lif tipi tip I MHC kompozisyonunda bir azalma meydana gelmiştir. Lif boyutu ve tip I MHC profili, remobilizasyonun 14. gününde HU uygulanmayan grupla neredeyse aynı seviyelere ulaşmıştır. 2 haftalık HU modeli sonrasında soleus kası sırasıyla %48, 33 ve 19 yavaş, hızlı ve hibrit liflerden oluştuğu saptanmıştır. Oysaki kontrol grubundaki hayvanlarda deney boyunca bu oran tip I de yaklaşık olarak %80 ve tip IIa MHC'de ise %20 civarındadır. Hızlı kas lifleri daha 7. günde kontrol grubuna göre daha fazladır. Yine aynı çalışmada iki haftalık HU'dan sonra Hsp72 düzeyleri de incelenmiştir. Kontrol grubuna kıyasla atrofiye uğrayan grupta Hsp72 oranının %33 daha düşük olduğu saptanmıştır. Ancak 7. günde kontrol grubu seviyelerinin üzerine çıkmış 14. günde ise tekrar kontrol grubu seviyelerine düşmüştür (Oishi, 2008). Kuyruktan asma modeli uygulanan sıçanlarda atrofiye uğrayan alt ekstremite kaslarında apoptotik çekirdek sayısında artış gözlenmiştir (Allen, 1997). Bununla birlikte bazı HSP'lerin düzenlenmesinde de değişim meydana gelmiştir (Oishi, 2001). Fonksiyonel aşırı yüklenme gibi kas hipertrofisi oluşturulan modellerde ise

aynı HSP'lerin karşıt yönde düzenlendiği bilinmektedir. Tüm bu sebeplerden ötürü HSP'lerin kronik yüksüzleştirmelerden sonra iyileşme dönemlerinde kas kitlesinin yeniden kazanılmasında ve lif boyutlarının yenilenmesinde bir bağlantısı olduğu düşünölebilir.

Senf ve diğerleri (2008) Hsp72'nin atrofide kilit rol oynayan Foxo3a and NF-kappaB gibi genlerin kullanmama sırasında aktivasyonunu düzenleyerek atrofiyi azaltabileceğini öne sürmüşlerdir. Fazla miktarda eksprese edilen Hsp72'nin atrofide anahtar rol oynayan sinyal yolaklarının inhibisyonunu etkileyebileceği ve iskelet kası atrofisini önleyebileceğini belirtmişlerdir.

Hsp72'nin kas kaybına karşı koruma sağladığı bilinmesine karşın atrofi ve sonrasındaki toparlanma döneminde Hsp72'nin yapısal ve fonksiyonel temel yönleri farklı fenotip kaslarda net olarak bilinmemektedir.

İmmobilizasyonun oksidatif strese neden olduğu, bunun da oksidatif hasara yol açtığı ve immobilizasyon sırasında Hsp72 miktarlarında artış olduğu bilinmektedir. 7 günlük immobilizasyon sonucunda soleus kasından farklı olarak EDL kasının immobilizasyondan daha az etkilendiği ve kas ağırlığı ve tip I lif çapının değişmediği belirtilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da yavaş lif tipinin ağırlıklı olduğu kasların atrofi uyarılarına daha duyarlı olduğu gösterilmiştir. Burada soleus kasının bazal düzeyde EDL kasına göre daha yüksek miktarda Hsp72 içermesinin söz konusu kasın bazal fonksiyonlar için dahi daha fazla HSP'ye ihtiyaç duyması sebebiyle atrofiden daha fazla etkilenebileceğini düşündürmektedir (Miyabara, 2012).

Takeda ve diğerleri (2009) kuyruktan asma modeliyle yüksüzleştirmeden önce HSP ekspresyonunu termoterapi yoluyla indükleyerek kas atrofisini azaltabileceklerini ve bununla birlikte HSP indüksiyonun MHC izoform dönüşümüne karşı bir önlem olarak kullanılabileceğini düşünmüşlerdir. Hsp72'nin miyofibriler proteinlerin regölasyonunda görev aldığı ve sıcak stresi yoluyla indüklendiği bilindiğinden yaptıkları çalışmada kullanmamaya bağlı kas atrofisinde MHC izoformunda oluşan lif tipi değişimini önlemek amacıyla Hsp72 ekspresyonunun termal tedavi yoluyla indüklenmesini sağlamışlardır. Bunun sonucu olarak yavaştan hızlı kas lifi tipine dönüşüm azaltılarak yavaş tip I liflerinde azalma ve hızlı MHC IIx

izoformundaki artış azalmış ancak kas kitlesindeki azalmanın önüne geçilememiştir. Diğer bir ifadeyle, sıcak uygulaması yavaştan hızlı kas lif tipine dönüşümünü azaltırken, kas kitlesindeki düşüşün önüne geçememiştir. Bu çalışma ile Hsp72 ekspresyonundaki artışın yavaş tip MHCI izoformundaki azalmayı engellediği gösterilmiştir. Böylelikle Hsp72'nin MHC izoformlarının düzenlenmesinde rol almış olabileceği tartışması da ortaya atılmıştır.

2.9. Tüm Vücut Titreşimi (TVT)

Titreşim, bir salınım hareketini beraberinde getiren mekanik bir uyarıcıdır. Tüm vücut titreşimi ile bireyler platform üzerinde farklı statik pozisyonlarda durmakta ya da çeşitli egzersizler yapmaktadırlar. Son yıllarda titreşim platformlarının sporda ve rehabilitasyon merkezlerinde kullanımı yaygınlaşmıştır. Direnç antrenmanlarının bir tamamlayıcısı olarak tüm vücut titreşimi uygulamaları artmaktadır. Hatta direnç antrenmanlarına bir alternatif olarak kullanılabileceğini söyleyen çalışmaların sayısı da her geçen gün artmaktadır.

Titreşimin yoğunluğunu belirleyen biyomekanik değişkenler titreşimin sıklığı (frekansı) ve genliğidir. Titreşimin genliğini belirleyen ise salınım hareketinin uzunluğu ve büyüklüğüdür. Salınım döngüsünün tekrarlanma oranı ise titreşimin sıklığı, frekansı olarak tanımlanmaktadır. Titreşimin sıklığı Hertz (Hz) cinsinden ölçülmektedir (Bosco, 1999).

Titreşimin uzun yıllar boyunca özellikle belli genlikte ve sıklıkta insanlar üzerindeki olumsuz, tehlikeli etkileri yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla birlikte düşük genlikte ve frekansta insanlara uygulanan titreşimlerin, mekanik uyaranların güvenli ve etkili bir kas-iskelet yapısını uyaran bir egzersiz olabileceği öngörülmektedir. Tüm vücut titreşimi (TVT) uygulamalarının etkileri özel olarak dizayn edilmiş farklı platformlarda incelenmektedir. TVT egzersiz cihazları titreşimi bir frekans aralığı boyunca iletmektedir. Son yıllarda gelişen teknolojiyle birlikte TVT farklı frekans ve genliklerde çok çeşitli kombinasyonlarda uygulanabilmektedir. Bu aralık 15 ile 60 Hz arasında değişmekte

olup 1 mm'den 10 mm'ye kadar değişen genlikte uygulanmaktadır (Cardinale, 2005).

Spor bilimlerinde titreşimin egzersiz olarak kullanımı çok yeni bir konudur. Ancak bir çok sporcu, fitness ve rehabilitasyon merkezleri titreşimi bir egzersiz çeşidi olarak kullanmaktadırlar. İnsanlar üzerinde çok çeşitli TVT uygulama protokolleri bulunmasına rağmen, uygun güvenlik ve etkinlikte gerçekleştirilebilen protokollerin sayısı kısıtlıdır. Yüksek frekans, düşük genlikte uygulanan titreşim yoluyla uyarılan kas kasılmasının kas kuvvetini ve performansı arttırdığı bilinmektedir (Loreto, 2004). Mekanik olarak uygulanan tüm vücut titreşiminin kasta tonik titreşim refleksi olarak adlandırılan tonik uyarıcı etkisi olduğu bilinmektedir. Bu refleks kas içiği aktivasyonu ile birlikte büyük α -nöronları vasıtasıyla kas fibrillerinin aktivasyonunu içermektedir (Loreto, 2004).

Titreşimin etkili bir antrenman aracı olarak kullanımı son yıllarda ortaya çıkmış bir fikir olarak düşünülebilir ancak, Whedon ve arkadaşları 1949 yılında flasterle immobilize edilmiş hastalarda yatakların titretilmesinin (oscillating) bazı pozitif etkileri olduğunu iddia etmişlerdir. Daha sonraki dönemde Rus bilim adamları izometrik egzersizler sırasında titreşim dalgalarının iletimini distal yönden proksimal olarak kas gruplarına dağıtan aleti geliştirmişlerdir (Nazarov, 1985). Son yıllarda ise bir çok çalışma TVT'nin akut ve kronik etkilerini anlamak için yapılmaktadır. TVT'nin egzersize benzer metabolik yanıtlara sebep olduğu bazı çalışmalarla ortaya konmuştur. Kerschman-Schindl ve arkadaşlarının (2001) yaptığı bir çalışmada 20 yetişkin birey 9 dakikalık titreşim platformunda ayakta durarak 26Hz ve 3mm genlikteki vibrasyona maruz kalmışlardır. Kuadriseps ve gastroknemius kas kan volümü ve popliteal arterden arterial kan akışı ölçümleri egzersiz öncesi ve sonrasında hemen alınmıştır. Baldır ve uylukta kas kan dolaşımının titreşim uygulamasından sonra önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Ayrıca ortalama kan akım hızında önemli bir artış gözlenmiştir.

TVT'nin nöromusküler adaptasyonlar yolu ile kas kuvvetinde ve dayanıklılığında artışa neden olarak direnç egzersizi yanıtlarına benzer etkisi olduğu gözlenmiştir (Bogaerts ve diğ., 2007a). TVT'nin, hormon profilinde değişikliğe neden olduğu, postural kontrolü, hareket kabiliyetini, dengeyi geliştirdiği, diz

ekstansörlerinin maksimal izometrik kuvvetini ve dikey sıçrama performansını arttırdığı bilinmektedir (Nordlund, 2007; Cheung, 2007; Rees, 2008).

TVT uygulaması sırasında oluşan ritmik salınımlar iskelet kasının kasılmasına neden olmaktadır. Kasılma karakteristiğinden dolayı hızlıdan ziyade yavaş motor ünitelerde yumuşak doku salınımını minimize etmek için 10-50 Hz titreşim frekansında daha etkin olduğu bilinmektedir (Wakeling, 2002).

Kısa süreli TVT uygulamasının hayvan iskelet kaslarında da spesifik adaptasyonlara neden olduğu bilinmektedir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada 6 hafta boyunca dikey titreşim uygulamasının soleus kası enine kesit alanını arttırdığı ortaya konmuştur (Lochynski, 2013).

Motor ünite kontraktıl özelliklerindeki değişimin ve MHC izoform profilinin iskelet kasının egzersize adaptasyonunun altında yatan mekanizmaların anlaşılabilmesi için önemi büyüktür. Kuvvet antrenmanlarıyla birlikte mekanik yükün arttığı ve bu doğrultuda kas kuvvetinde artışla birlikte MHC izoformunda hızlıdan yavaşa doğru bir dönüşüm yaşandığı bilinmektedir. Bu nedenle titreşimin iskelet kası MHC profilinde bir değişime yol açıp açmayacağı merak konusudur. Uzun süreli TVT'nin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 3 ay boyunca haftanın 5 günü 4'er kez 1'er dakika arayla 30 saniye 50Hz'de uygulanan dikey titreşim sonucunda MHC tip I oranında önemli ölçüde bir azalma olduğu, diğer taraftan MHC TipIIa/x toplamında bir artış olduğu gözlenmiştir (Lochynski, 2013). Diğer taraftan, kısa süreli titreşimin kan akışını önemli miktarda arttırdığı bilinmektedir (Lohman, 2007). Hücresel düzeyde endotel hücrelerde mekanik titreşimle birlikte kan akışının sürtünme kuvvetini de arttırabileceği belirtilmiştir (Lohman, 2007). Sonuç olarak titreşim kan akımı ve sürtünme yoluyla kas içi sıcaklık artışına neden olabilir. Titreşimin Hsp72 düzeyleri üzerine etkisi henüz net olarak bilinmemektedir. Hsp72'nin kasta koruyucu etkisi göz önüne alındığında, özellikle immobilizasyon sonrası toparlanma döneminde Hsp72 miktarlarının artışının bir avantaj sağlaması beklenir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Grubu

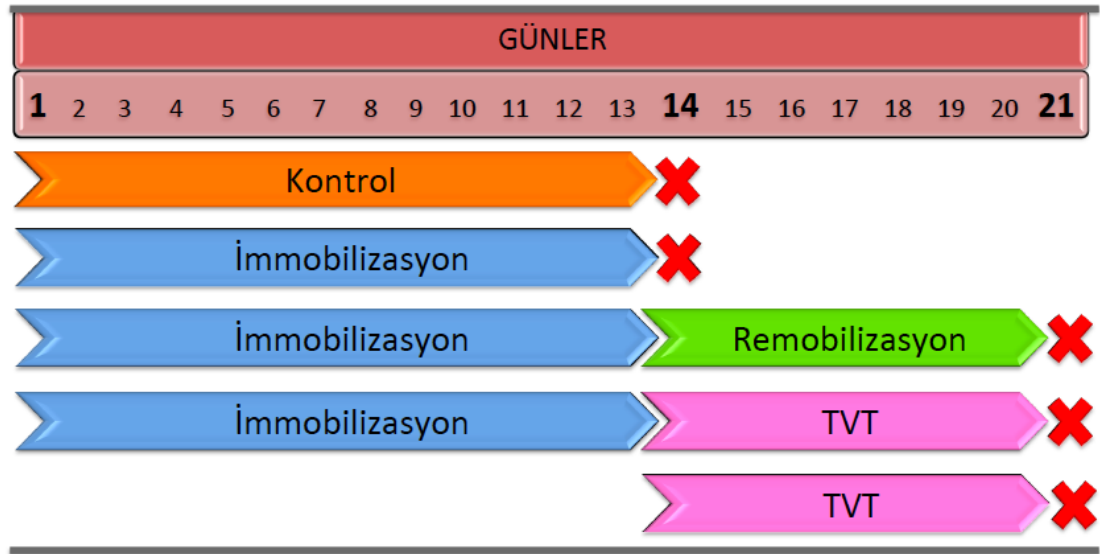
Bu çalışmada kullanılan sıçan plantaris kasları, daha önce ‘İmmobilizasyon ve Titreşim Uygulamasının Aşıl Tendonu Üzerine Etkisi’ başlıklı uzmanlık tezi için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2010-42 sayılı onayı verilmiş hayvanlardan alınan dokulardır. Dokuların kullanımına ilişkin yeni bir etik kurul iznine gerek olmadığına dair Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alınmıştır.

Deney grupları 4-6 aylık ve vücut ağırlıkları 200-250 gr olan 30 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanılarak oluşturulmuştur. Hayvanlar, deneylerden önce bir hafta boyunca 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsünde kafeslerde bir hayvan olacak şekilde barındırılarak bulundukları ortama alışmaları sağlanmıştır. Adaptasyon süreci dahil olmak üzere, çalışma boyunca hayvanlar 22°C oda sıcaklığına ve %50-60 nem oranındaki ortamda barındırılmışlardır. Çalışma boyunca hayvanların beslenmeleri tüm hayvanlar için eşit miktarda su ve hayvan yemi ile karşılanmıştır.

3.2. Deney Grupları

- 1- **Kontrol (K; n=6):** Bu hayvanlara iki hafta boyunca hiçbir uygulama yapılmamıştır. Diğer gruplardaki hayvanlar ile eş miktarda su ve besin verilerek barındırılmış ve iki hafta sonunda A grubu ile eş zamanlı ötenazi yapılmıştır.
- 2- **İmmobilizasyon (A; n=6):** Bu grup, alçılama yolu ile oluşturulan immobilizasyonun plantaris kasında lif tipi dönüşümünü üzerine etkisinin gözlenmesi amacı ile oluşturulmuştur. Bunun yanı sıra, iki haftalık immobilizasyonun plantaris kasında Hsp72 düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması da amaçlanmıştır. Hayvanlara iki hafta boyunca alçılama yolu ile immobilizasyon ve hemen ardından ötenazi uygulanmıştır.

- 3- İmmobilizasyon-Remobilizasyon (AR; n=6):** İmmobilizasyon sonrasında titreşim uygulamasının plantaris kasında lif tipi dönüşümünü üzerine etkisinin gözlenmesi amacı ile oluşturulan bu gruptaki hayvanlara, iki hafta süresince alçılama yolu ile immobilizasyon uygulanmıştır. İki hafta sonunda hayvanlar kafeslerinde normal koşullarda barındırılmış ve bir hafta sonra AT grubu ile eş zamanlı ötenazi yapılmıştır.
- 4- İmmobilizasyon-Titreşim (AT; n=6):** Titreşimin immobilizasyon sonrası lif tipi değişimi üzerine etkisini incelemek amacı ile oluşturulan bu grup, aynı zamanda plantaris kasında Hsp72 indüksiyonu açısından da değerlendirme yapmaya olanak sağlamıştır. Bu hayvanlara iki hafta boyunca alçılama yolu ile immobilizasyon uygulanmış ve iki hafta sonunda hayvanlara T grubu hayvanlar ile eş zamanda TVT uygulanmıştır. Hayvanlara bir hafta sonra ötenazi yapılmış ve plantaris kası izole edilmiştir.
- 5- Tüm Vücut Titreşimi (T; n=6):** Bu grup TVT'nin sıçan plantaris kasında lif tipi değişimi üzerine etkisini değerlendirmek amacı ile oluşturulmuştur. Ayrıca bu grup ile bir hafta süresince uygulanan TVT'nin sıçan plantaris kasında Hsp72 indüksiyonuna etkisi de değerlendirilmiştir. Bu amaçla T grubu hayvanlar, diğer hayvanlar ile birlikte iki haftalık deney periyodunu normal koşullar altında barındırılarak geçirmişlerdir. İki hafta sonunda bir haftalık TVT uygulanan hayvanlara bu uygulamayı takiben 24 saat sonra ötenazi uygulanmıştır.



Şekil 3.1. Deney grupları ve uygulamalar.

3.3. Alçılama Yolu ile İmmobilizasyon

Bu tez çalışmasında, iki haftalık alçılama yolu ile oluşturulan immobilizasyonun plantaris kasında lif tipi kompozisyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca hücresel korumada önemli bir rol oynayan Hsp72'nin alçılama ile meydana gelen atrofide plantaris kasında verdiği yanıt da incelenmiştir.

Alçılama ile alt ekstremitede bulunan kaslarda atrofi meydana geldiği bilinmektedir. Özellikle ayak bileği plantar fleksiyonda iken yapılan alçılama en fazla atrofiye uğrayan kaslar plantar fleksörlerdir (Goldspink, 1986). Bu amaçla immobilizasyon uygulanan A, AR ve AT gruplarındaki hayvanlar, iki bacak da plantar fleksiyon pozisyonunda iken alçılama uygulanmıştır (Şekil 3.2). Bu işlemden önce hayvanlar intraperitoneal olarak kilogram başına 90mg Ketamin (Ketalar 50mg/ml ketamin hidroklorür ve benzetonyum klorür) ve 10mg ksilazin (Rompun %2 çözelti 23,32mg/ml ksilazin hidroklorür) enjekte edilerek uyutulmuşlardır. Böylece yapılan anestezi, hayvanların tüm alt ekstremitelerini kapsayan alçılama işleminin etkili bir şekilde yapılmasına olanak sağlamıştır. Alçılama işleminde hayvanların gluteal bölgeleri açıkta bırakılmıştır. Kullanılan Paris alçı üzeri hayvanların alçıyı kemirerek herhangi hasar vermemeleri için Paris alçının üzerini bir kaç kat da Scotchcast Plus 3M ıslak hafif alçı ile kaplanmıştır (Şekil 3.3). Bu

hayvanlar immobilizasyon süresi olan iki hafta boyunca diğer gruplardaki hayvanlar ile aynı koşullarda barındırılmış ve özdeş besin ile beslenmişlerdir.



Şekil 3.2. Alçılamadan önce ayak bileğinin plantar fleksiyondaki görüntüsü.



Şekil 3.3. Bilateral alçılama.

3.4. Tüm Vücut Titreşimi

TVT, düz bir platformda 45 Hz frekans ve 3mm genlikte dikey titreşim üreten bir platformda uygulanmıştır. TVT uygulaması bir hafta süresince AT ve T gruplarındaki hayvanlara her gün aynı saatte uygulanmıştır. Hayvanların TVT uygulamasına adaptasyonunun sağlanması için birinci gün 15 dakika süresince 1

dakika TVT ve 1 dakika dinlenme şeklinde uygulanmıştır. Daha sonra toplam süre 5'er dakika arttırılarak 2. gün 20, 3. gün 25 ve 4. gün 30 dakika boyunca 2 dakika TVT ve 1 dakika dinlenim periyodu ile uygulanmıştır. Arka arkaya gelen üç gün giderek artan toplam süre 4, 5, 6 ve 7. günlerde 30 dakika ve 2 dakika TVT, 1 dakika dinlenme şeklinde uygulanarak TVT protokolü tamamlanmıştır.



Şekil 3.4. TVT uygulaması

Tablo 3.1 TVT Uygulama Planı

Günler	Frekans (Hz)	Genlik (mm)	Toplam Süre (dk)
1	45	3	15
2	45	3	20
3	45	3	25
4	45	3	30
5	45	3	30
6	45	3	30
7	45	3	30

3.5. Miyozin Ağır Zinciri İzofomlarının Belirlenmesi

3.5.1. Miyofibriler Protein İzolasyonu

Miyofibriler Protein izolasyonu Solara ve diğerleri (1971)'nin modifiye edilmiş protokolü ile yapılmıştır. Sıçan plantaris kasının tamamı küçük parçalara kesildikten sonra, 60 mg kas hassas tartı (Sartorius CP225D, ABD) ile tartılarak plastik santrifüj tüplerine konulmuştur. Daha sonra bu tüplere 1-1,2 ml sukroz tamponu (250mM sukroz, 100mM KCl, 5mM EDTA; pH 6.8) eklenerek tüpler buz içerisinde iken mekanik homojenizatör ile (X250D CAT, Almanya) 14500 rpm devirde standart bir şekilde homojenize edilmiştir. Homojenatlar 4°C'de 1000xg'de 15 dakika santrifüj (HERMLE Z 323 K, Almanya) edilmiştir. Santrifüj süpernatantlar atılmış ve miyofibriler izolasyon protokolüne pelletler ile devam edilmiştir. Tüplere 1,2 ml triton tamponu (175mM KCl, %0,5 Triton X-100, 20mM Tris; pH 6,8) eklenmiş ve pelletler vorteks ile triton tamponunda (LABNET VX 100) çözülmüş ve tekrar 4°C'de 1000xg'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Pelletler aynı aşamalar izlenerek iki kez de KCl tamponu (175mM KCl, 20mM Tris; pH 7,0) ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra pelletler üzerine 150µl KCl tampon eklenmiş ve miyofibriler proteinlerden oluşan pelletler tamamen çözüldükten sonra örnekler -80°C'de saklanmıştır.

3.5.2. Miyofibriler Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Miyofibriler protein konsantrasyonları, izolasyon sonrası yüksek olacağı için protein konsantrasyonlarını 1-20mg/ml aralığında ölçebilen Biüret yöntemi ile belirlenmiştir (Lowry, 1951). Örneklerin abzorbanı 465nm'de mikropilaya okuyucu (SPECTRA max PLUS 384, ABD) ile ölçülmüştür. Örnekler ile aynı mikropilaya, konsantrasyonları 1 ile 20mg/ml arasında olan 7 adet BSA protein standardı yüklenmiştir. Protein standartlarının bilinen konsantrasyonları ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen abzorbanı değerleri arasındaki lineer şekil ile örneklerin protein konsantrasyonları hesaplanmıştır.

3.5.3. Miyozin Ağır Zinciri için Örneklerin Hazırlanışı

Protein konsantrasyonları belirlenen örneklerin, jel kuyularına eşit miktarda protein yüklenmesi için gereken dilüsyonları hesaplanmıştır. Tüm örneklerdeki protein konsantrasyonları her biri için gereken miktarda KCl eklenerek 6mg/ml olacak şekilde eşitlenmiştir. Daha sonra SDS poliakrilamit jel elektroforezi (SDS-PAGE) için gereken protein denatürasyonunu sağlayacak iki kat konsantre örnek tamponu Laemmli (Laemmli, 1970)'nin bu tampon için önerdiği 1:2 oranı korunacak şekilde örnekler eklenmiştir. Daha sonra ısı denatürasyonu için örnekler 100°C'de 5 dakika kaynatılmıştır.

3.5.4. Miyozin Ağır Zinciri için SDS-PAGE

MHC izoformları %8 akrilamit içeren tek boyutlu SDS-PAGE ile ayrıştırılmıştır. Jel kalınlığı 0,75mm olacak şekilde hazırlanan ayrıştırıcı jel %30 gliserol, %30 akrilamit: bisakrilamit (50:1), 1,5M tris-base (pH 8,8), 1M glisin, %10 sodyum dodesil sülfat (SDS), tetrametiletildiamin (TEMED) ve %10 amonyum persulfat (APS) ile hazırlanmıştır. Birleştirici jel %4 akrilamit içerecek şekilde gliserol, %30 akrilamit: bisakrilamit (50:1), 0,5M tris-HCl (pH 6,7), 100mM etilendiamintetraasetik asit (EDTA; pH 7,0), %10 SDS, TEMED ve %10 APS karıştırılarak hazırlanmıştır. Jellerin polimerize olması ile üst yürütme (0,2 M tris-base, 0,3M glisin, 7mM SDS) tamponu elektroforez cihazına eklenmiş ve her kuyuya 24µg protein yüklenmiştir. Alt yürütme tamponu (50mM tris-base, 75mM glisin, 1,75mM SDS) da eklendikten sonra jeller 160V sabit akımda 22-24 saat boyunca yürütülmüştür. Yürütme işlemini tamamlandıktan sonra jeller Coomassie Blue boyama solüsyonu ile (Coomassie Brilliant Blue R-250 Staining Solution, Bio-Rad, Katalog No: 1610436) yarım saat inkübe edilmiştir. Ardından arındırıcı solüsyon (%53 dH₂O, %7 asetik asit, %40 metanol) ile protein dışındaki bölgelere bağlanan boya jellerden uzaklaştırılmış ve moleküler ağırlıklarına göre ayrılan MHC izoformları jel görüntüleme sistemi (Protein Simple, FluorChem E) ile görüntülenmiştir. Jellerdeki MHC izoformlarına ait bantların miktarsal tayinleri Image J, NIH görüntü analiz programı ile belirlenmiştir (Schneider, 2012). Her bir

örneğe ait MHC izoformlarının oranları, o örnekteki toplam MHC dansitesinin yüzdesi biçiminde değerlendirilmiştir.

3.6. Hsp72 Düzeylerinin Belirlenmesi

3.6.1. Protein Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Daha önce tamamı küçük parçalara ayrılmış plantaris kasından 50 mg alınarak 10 katı kadar (450µl) homojenizasyon tamponu (100mM HEPES; pH 7,9, 10mM KCl, 0,1mM EDTA; pH 8, 0,5mM MgCl₂, 0,1mM EDTA, 1mM DTT 0,1mM PMSF, 0,05% Nonidet P-40, proteaz inhibitör karışımı) ile plastik santrifüj tüplerine konulmuş ve tüpler buz içerisinde iken mekanik homojenizatör kullanılarak 14500 rpm devirde homojenize edilmiştir. Homojenatlar daha sonra 4°C’de 10 dakika süresince 7500xg devirde santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar başka plastik santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Örneklerin protein konsantrasyonları Bradford yöntemi ile (Bradford, 1976), mikropate okuyucu kullanılarak 595nm’de verdikleri abzorban değerleri ile belirlenmiştir. Protein standardı olarak konsantrasyonları 0,063 ile 1 mg/ml arasında BSA içeren 5 adet standart kullanılmış ve standart grafiği ile örnek konsantrasyonları hesaplanmıştır. Protein konsantrasyonlarının belirlenmesinden sonra geriye kalan süpernatantlar SDS-PAGE ve Western Blot yöntemi ile analizi için kullanılmak üzere -80°C dondurucuda saklanmıştır.

3.6.2. SDS-PAGE ve Western Blot Yöntemi

Plantaris kas dokularından elde edilen süpernatantlar protein konsantrasyonlarının eşitlenmesi için hesaplanan volümlerde homojenizasyon tamponu eklenerek dilüe edilmiştir. Örneklerin son konsantrasyonu 2,5mg/ml olacak şekilde Laemmli Sample Buffer ile plastik santrifüj tüplerinde karıştırılmış ve örnekler 100°C’de 5 dakika süresince kaynatılmıştır.

Hsp72 için %12 akrilamit içeren jellere (%30 akrilamit-bisakrilamit (50:1), 1,5M Tris; pH 8,8, %10 SDS, %10 APS ve TEMED) 50µg örnek yüklenerek 100V'ta 90 dakika süresince proteinler ayrıştırılmıştır (Bio-Rad, mini protean). SDS-PAGE tamamlandıktan sonra proteinler yarı kuru transfer sistemi (Bio-Rad, Trans-Blot Turbo) ile 30 dakika 20V akım uygulanarak 0.45µm kalınlığındaki nitrosellüloz membranlara (BioRad) aktarılmıştır. Transfer işleminde Towbin transfer (25mM tris, 192mM glisin, %20 metanol) tamponu kullanılmıştır. Proteinler transfer edildikten sonra membranlar %5 oranında kuru süt içeren TBST (Tris-buffered saline %0,1 Tween-20) ile 1 saat oda sıcaklığında hafifçe çalkalanarak inkübe edilmiştir. Bloklama işleminden sonra membranlar 3 defa 5'er dakika TBST ile yıkanmıştır. Ardından TBST içerisinde %5'lik kuru süt solüsyonuna alkalin fosfataz ile konjuge Hsp72'ye özel monoklonel antikor (StressGen) 1:1000 oranında eklenmiş ve membranlar 4°C'de gece boyunca bu antikor solüsyonu ile yavaşça çalkalanarak inkübe edilmiştir. Membranlar, tekrar 3 defa 5'er dakika TBST ile yıkanmıştır. bromokloroindol fosfat-nitroblue tetrazolium substrat (Alkaline Phosphatase Conjugate Substrate Kit, Bio-Rad, Katalog No: 170-6432) kullanılarak görüntülenmiştir. Western Blot yöntemi ile görüntülenen membranlardaki protein bantlarının miktarsal tayinleri Image J, NIH görüntü analiz programı ile belirlenmiştir (Schneider, 2012).

3.7. Verilerin Analizi

Bu tez çalışması sonucunda elde edilen veriler SPSS 22 paket kullanılarak analiz edilmiştir. Beş farklı gruptaki plantaris kas örneklerinin lif tipi (MHC Tip I, TipIIxa, ve Tip IIb) kompozisyonları Çok Değişkenli Varyans Analizi (Multivariate Analysis of Variance - MANOVA) ile karşılaştırılmıştır. MANOVA tek yönlü varyans analizi (ANOVA)'nin geliştirilmiş çok değişkenli versiyonudur, her bir değeri gruplara göre aynı anda tek seferde karşılaştırma yaptığı için α hatasını en aza indirdiği bilinmektedir (Özdamar, 2013).

Karşılaştırma yapılmadan önce çok değişkenli bir analiz tekniği olan MANOVA'nın varsayımları olan çok değişkenli normal dağılım ve varyans

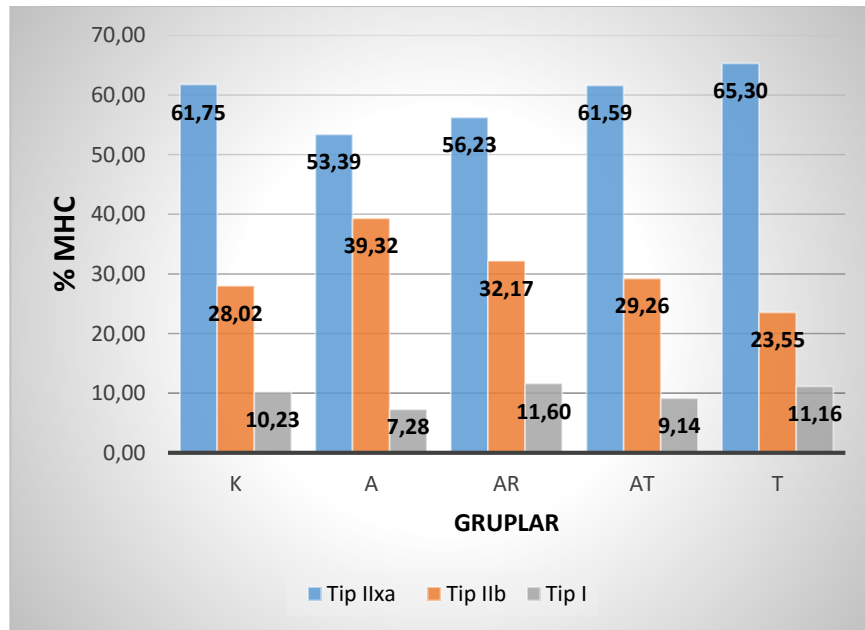
kovaryans matrislerinin eşitliği test edilmiştir. Çok değişkenli normal dağılım testi STATA 12 ile test edilmiştir. Varyans kovaryans matrislerinin eşitliği ise SPSS ile test edilmiştir. Varsayımların test edilmesinin sonucunda MANOVA testi uygulanmıştır (Kalaycı, 2005; zdamar, 2013).

4. BULGULAR

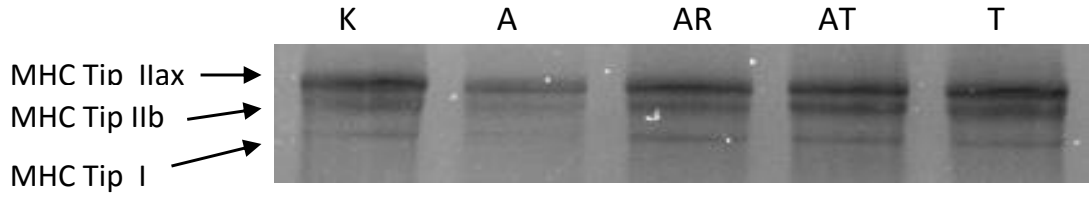
Bu bölümde araştırmanın amacı ve hipotezleri doğrultusunda elde edilen verilerin analiz edilmesi, anlamlandırılmasıyla ulaşılan bulgular özetlenmiştir.

4.1. MHC İzoformlarına İlişkin Bulgular

Araştırma kapsamındaki deney gruplarında (Kontrol, Alçı, Alçı-Remobilizasyon, Alçı-Titreşim ve Tüm Vücut Titreşimi) hayvanların plantaris kasındaki farklı MHC izoform (TipI, TipIIxa ve TipIIb) kompozisyonlarına ait optik dansite yüzdeleri hesaplanarak, ortalama değerleri Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Plantaris Kasındaki MHC İzoformları Optik Dansite Değerleri Ortalamaları



Şekil 4.2. MHC İzoformları Jel Görüntüsü

Araştırma hipotezleri gereği iki haftalık alçılama yolu ile oluşturulan immobilizasyonun, sonrasındaki bir haftalık remobilizasyonun, titreşim ve tek başına bir haftalık titreşimin uygulandığı deney gruplarındaki (Kontrol, Alçı, Alçı-Remobilizasyon, Alçı-Titreşim ve Tüm Vücut Titreşimi) hayvanların plantaris kasındaki MHC izoformları (MHC TipIIxa, TipIIb ve TipI) arasında farklılık olup olmadığı test edilmiştir.

Hipotezlerin testleri “Çok Değişkenli Varyans Analizi (**M**ultivariate **A**nalysis **O**f **V**ariance - MANOVA)” ile yapılmıştır. Çok değişkenli varyans analizi iki ya da ikiden çok bağımsız gruba (bu araştırmada Kontrol, Alçı, Alçı-Remobilizasyon, Alçı-Titreşim ve Tüm Vücut Titreşimi grupları gibi) ait iki veya ikiden çok verinin (bu araştırmada bu grupların plantaris kasındaki MHC izoformlarının; MHC TipIIxa, TipIIb ve TipI izoformlarının) farklılık gösterip göstermediğini incelemek üzere yapılmaktadır (Alpar, 2011; Büyüköztürk, 2013; Kalaycı, 2005; Özdamar, 2013).

Tablo 4.1. Doornik–Hansen Çok Değişkenli Normal Dağılım Testi Sonuçları

Değişkenler	X^2	sd	P
TipIIxa*TipIIb*TipI	8,083	6	0,232

Tablo 4.1 incelendiğinde TipIIxa, TipIIb ve TipI MHC izoformlarının çok değişkenli normal dağılım gösterdiği ($p>.05$) anlaşılmaktadır.

Varyans kovaryans matrislerinin eşitliğini test eden “Box Mueller Testi” sonuçları tablo 4.2’de özetlenmiştir.

Tablo 4.2. Box Mueller Varyans Kovaryans Matrisleri Eşitliği Testi Sonuçları

Değişkenler	Box’s M	F	sd	p
TipIIxa*TipIIb*TipI	24,668	0,680	24	0,874

Tablo 4.2 incelendiğinde TipIIxa, TipIIb ve TipI MHC izoformlarının varyans kovaryans matrislerinin eşit olduğu ($p>.05$) anlaşılmaktadır.

MANOVA çok değişkenli parametrik yöntemlerden birisidir. Analizin çok değişkenli normal dağılım ve varyans kovaryans matrislerinin eşitliği varsayımı altında uygulanması en sağlıklı sonuçları verir. Alpar’a (2011) göre MANOVA testinde “Pillai Trace”, “Wilks’ Lambda”, “Hotelling’s Trace” ve Roy’s Largest Root’a göre anlamlılık değerleri hesaplanır. Bunlardan “Pillai Trace” ve “Wilks’ Lambda” anlamlılık değerleri varsayımların karşılandığı, “Hotelling’s Trace” ve “Roy’s Largest Root” anlamlılık değerleri ise varsayımların karşılanmadığı durumlarda daha güçlü sonuç vermektedir. Varsayımlar karşılandığı için MANOVA Test sonucunda “Pillai Trace” ve “Wilks’ Lambda” anlamlılık değerleri dikkate alınmıştır.

Araştırma hipotezleri gereği iki haftalık alçılama yolu ile oluşturulan immobilizasyonun, sonrasında ki bir haftalık remobilizasyon, titreşim ve tek başına bir haftalık titreşimin uygulandığı deney gruplarındaki (Kontrol, Alçı, Alçı-Remobilizasyon, Alçı-Titreşim ve Tüm Vücut Titreşimi) hayvanların plantaris kasındaki MHC izoformlarının (MHC TipIIxa, TipIIb ve TipI) kompozisyonları arasında farklılık olup olmadığına bakılmak için MANOVA Testi yapılmıştır. MANOVA Test sonuçları Tablo 4.3’te özetlenmiştir.

Tablo 4.3. MANOVA Test Sonuçları

Etki		Değer	F	Hipotez	Hata sd	p
				sd		
Grup	Pillai's Trace	0,704	1,685	12,000	66,000	0,090
	Wilks' Lambda	0,428	1,677	12,000	53,000	0,099
	Hotelling's Trace	1,040	1,617	12,000	56,000	0,113
	Roy's Largest Root	0,577	3,175	4,000	22,000	0,133

Tablo 4.3. incelendiğinde yapılan MANOVA Testi sonucunda

- Gruba göre plantaris kasındaki farklı MHC izoformlarının; MHC TipIIxa, TipIIb ve TipI izoformları arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Test sonucu grupların ortalama vektörlerinin birbirlerinden anlamlı düzeyde farklılaşmadığı (Pillai Trace=0,704, $F_{(12-66)}=1,685$, $p>.05$; Wilks' Lambda=0,428, $F_{(12-53)}=1,677$, $p>.05$) belirlenmiştir.

4.2. Hsp72 Proteini Dansite Yüzdelere ait Ortalamaların Gruplara Göre Karşılaştırılmasına İlişkin Bulgular

Araştırma hipotezleri gereği deney gruplarındaki (Kontrol, Alçı, Alçı-Remobilizasyon, Alçı-Titreşim ve Tüm Vücut Titreşimi) hayvanların plantaris kasındaki Hsp72 proteini dansite yüzdelere ait ortalamalar arasında farklılık olup olmadığı test edilmiştir. Bu sorunun cevabı aranırken ilişkisiz örneklem için tek yönlü (faktörlü) varyans analizi (One-Way ANOVA) yapılmıştır. Bu analiz, ilişkisiz iki ya da daha çok örneklem/grup ortalaması arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını test etmek üzere kullanılır (Büyüköztürk, 2003; Kalaycı, 2005; Green ve Salkind, 2008; Özdamar, 2013). Hsp72 proteini dansite yüzdelere ait ortalamalar Tablo 4.4'te ve gruplara göre yapılan tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) sonuçları da Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Deney gruplarından elde edilen Hsp72 proteini dansite yüzdelerine ait ortalamalar

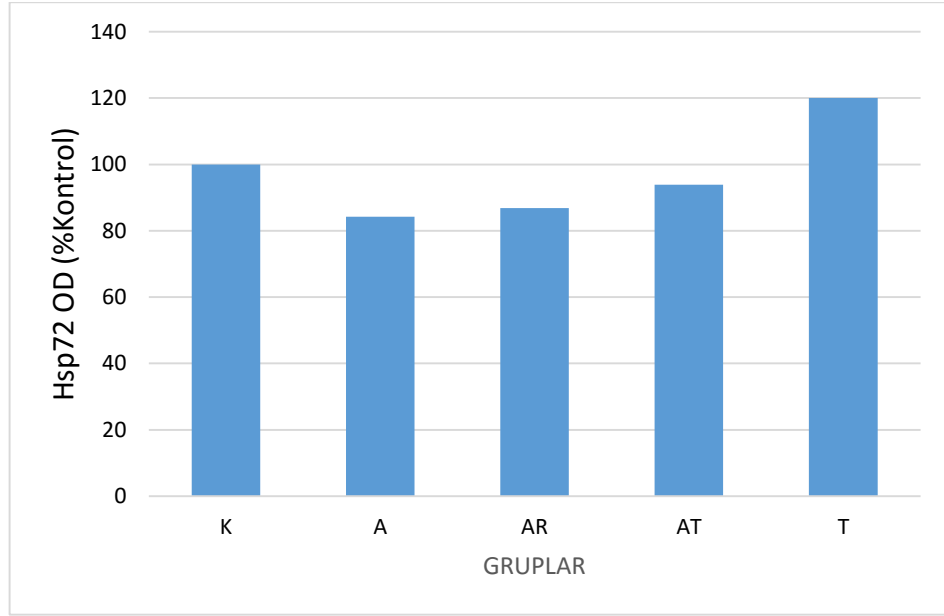
Gruplar	N	$\bar{X}$	S
Kontrol	6	100,00	11,21
Alçı	6	84,27	33,55
Alçı-Remobilizasyon	6	86,86	37,52
Alçı-Titreşim	6	93,91	34,77
Tüm Vücut Titreşimi	6	120,00	58,30

Tablo 4.5. ANOVA Sonuçları

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	sd	F	P	Anlamlı Fark
Gruplararası	4874,738	1218,685	4	0,838	0,514	
Gruplarıçi	36338,985	1453,559	25			-
Toplam	41213,723					

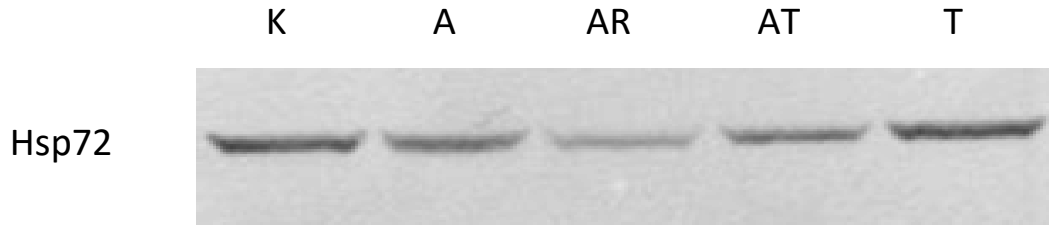
İki haftalık alçılama yolu ile oluşturulan immobilizasyonun, sonrasında ki bir haftalık remobilizasyon, titreşim ve tek başına bir haftalık titreşimin uygulandığı deney gruplarındaki (Kontrol, Alçı, Alçı-Remobilizasyon, Alçı-Titreşim ve Tüm Vücut Titreşimi) hayvanların plantaris kasındaki Hsp72 düzeyleri arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($F_{(4-25)}=0,838$, $p>.05$).

Deney gruplarındaki hayvanların plantaris kasındaki Hsp72 dansite yüzdeleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Hsp72 Dansite Yüzdeleri Ortalamaları

Aşağıda Hsp72 proteini Western Blot görüntüleri verilmiştir.



Şekil 4.4. Hsp72 Western Blot görüntüleri

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada değerlendirilen hususlardan birisi iki haftalık alçılama yoluyla oluşturulan immobilizasyonun sıçan plantaris kasında MHC izoform dönüşümü üzerine etkisinin gözlenmesidir. Çalışmada, özellikle immobilizasyon sonrasında bir haftalık toparlanma döneminde uygulanan tüm vücut titreşiminin MHC kompozisyonundaki etkilerinin belirlenmesi de hedeflenmiştir. Tüm MHC izoformlarını içeren bir kas olması sebebiyle plantaris kası çalışma kapsamında incelenmiştir. Önceki çalışmalar immobilizasyon sırasında uygulanan TVT'nin atrofi ile birlikte ortaya çıkan yavaştan hızlı lif tipine dönüşümün önüne geçtiğini göstermektedir (Salanova ve diğ., 2014). Bu yüzden, bu çalışmada immobilizasyon sonrasında uygulanan titreşimin ve tek başına titreşim uygulamasının MHC kompozisyonunda bir değişime yol açabileceği düşünülmüştür. Ancak çalışmanın sonuçları iki haftalık alçılama yoluyla oluşturulan immobilizasyonun ve bir haftalık tüm vücut titreşim uygulamasının plantaris kası MHC kompozisyonunda anlamlı bir değişime yol açmadığını göstermektedir.

Ayrıca bu çalışmada alçılama yoluyla oluşturulan iki haftalık immobilizasyonun plantaris kasında Hsp72 düzeyi üzerine etkisinin araştırılması da amaçlanmıştır. Hücrede koruyucu rolü olduğu bilinen sıcak şoku proteinlerinin atrofide miktarlarının azaldığı ve sonraki iyileşme döneminde sentezinin arttığı bilinmektedir (Oishi ve diğ., 2008). Bu çalışma kapsamında alçılama yoluyla iki haftalık immobilizasyon oluşturulan hayvanlarda Hsp72 miktarlarında azalma beklenirken, alçı sonrası dönemde veya alçı olmadan bir haftalık TVT uygulamasının Hsp72 düzeyini arttırabileceği düşünülmüştür. Ancak araştırma bulguları gruplar arasında plantaris kası Hsp72 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığına işaret etmektedir. Bu kapsamda çalışmanın sonuçları aşağıda detaylı olarak tartışılmaktadır.

5.1. Miyozin Ağır Zinciri Profilindeki Değişiklikler

İskelet kası farklı iskelet kas hücrelerinin bir araya gelmesinden oluşmuştur. Buna göre sıçanlarda temel olarak tipI, IIa, IIx ve IIb kas lifleri bulunmaktadır. Lif tiplerinin sınıflandırılmasında MHC profili belirleyici olup özellikle maksimum kasılma hızı ve güç üretme kapasitesi bakımından liflerin birbirlerinden farklılaşmasının ana belirleyicisi MHC izoformlarıdır. Tek bir kas lifinin maksimum kasılabilme hızı spesifik MHC izoform ekspresyonuna bağlı olup (Bottinelli, 1994) Tip I liflerin Tip IIx'e göre 4-5 kat daha yavaş olduğu bildirilmiştir (Sargeant, 2007). Böylece farklı kas lifleri yorgunluğa direnç, kuvvet, güç ve kasılma hızı gibi özellikler açısından farklılıklar gösterir (Bottinelli, 2001; Malisoux et al., 2007).

5.2. İki haftalık İmmobilizasyonun MHC Profiline Etkisi

İskelet kasında kullanmamaya bağlı olarak protein sentezinde azalma ve protein yıkımında artma meydana gelerek atrofi oluşmaktadır. Atrofiyle kas kitlesinde ve kuvvette azalmayla birlikte lif tipi profilinde de değişiklikler yaşanmaktadır. Bu çerçevede en çok çalışılan yüksüzleştirme modeli uzay uçuşlarındaki mikrograviteyi mimik eden kuyruktan asma (HU) modelidir. Sıçanlarda, gerek uzay uçuşunda ve gerekse kuyruktan asma modelinde yavaş kas lif tipi ve MHC izoformundan hızlıya doğru bir dönüşüm olduğu görülmektedir (Fujino ve diğ., 2005). Nitekim Oishi ve diğ., (2008) iki haftalık kuyruktan asma modeliyle oluşturulan immobilizasyonda soleus kasında %73 atrofi ve yavaş lif tipi ve MHCI'de azalma olduğunu belirtmişlerdir. Edgerton ve Roy (1996) uzay uçuşunun ilk haftasında sıçanlarda antigravite kaslarında yavaş lif tiplerinin miktarının azaldığı, hızlı tip miyozin içeren lif tipleri miktarının ise arttığını gözlemlemişlerdir.

Kuyruktan asma (HU) modeliyle yüksüzleştirilen sıçanlarda soleus kasında proteolizin arttığı, beş saat gibi kısa bir süre içerisinde miyofibriler protein içeriğinde azalma olduğu ve protein yıkımının 2 hafta süresince devam ettiği görülmüştür (Thomason, 1989). HU'nun kasta atrofiye yol açarken özellikle yavaş kaslarda hızlı MHC oranında bir artışa ve yavaş MHC izoformu yüzdesinde bir azalmaya neden

olmaktadır (Thomas and Booth 1990, Talmadge et al. 1996). Soleus kası ağırlıklı olarak tipI olmak üzere MHCI ve MHCII'den oluşurken, 14-31 günlük kuyruktan asma (HU) modeliyle oluşturulan yüksüzleştirme sonrasında hızlı form olan tipIIx MHC izoformunda artış olduğu saptanmıştır (Takahashi, 1991; Campione, 1993; Adams, 1994; Fauteck ve Kandarian, 1995). Sonuç olarak HU uygulaması sonucunda MHC izoformunda yavaştan hızlıya doğru bir dönüşümün yaşandığı görülmektedir (Desplanches, 1987; Templeton, 1988; Edgerton ve Roy 1996; Fujino, 2005).

Bir diğer immobilizasyon modeli olan ve ayaklar bir miktar yüksekte tutularak yer çekiminin azaltılmasını da içeren yatak istirahati modelinde de yavaş lif tiplerinde atrofi yaşanmaktadır. Öyle ki, 60 günlük yatak istirahati sonrasında soleus kasında yavaş lifin enine kesit alanında %7-29 arasında düşüş yaşanmış, 120 günlük yatak istirahatinde ise bu miktarın %35-48'lere kadar çıktığı görülmüştür (Ohira, 2000). Sonuç olarak yavaş kas lifleri enine kesit alanında görülen bu kayıp doğrudan miyofibriler protein kaybını ve bu çerçevede iskelet kasında ağırlıklı miyofibriler protein olan miyozin miktarında azalmayı beraberinde getirecektir.

Sıçanlarda çeşitli yüksüzleştirme modellerinde yavaş (soleus, addüktör longus gibi), yerçekimine karşı koyan kaslarda hızlı kaslara göre daha büyük bir atrofi olduğu bilinmektedir (Edgerton ve Roy, 1996; Appell 1990). Bu çalışmada ise iki haftalık alçının sıçan plantaris kasında MHC izoformlarında herhangi bir dönüşüme yol açmadığı görülmüştür. Bunun altında yatan nedenlerden birisi yukarıda da bahsedildiği gibi plantaris kasının yerçekimine karşı koyan bir kas olmayışı ve bu nedenle normal koşullarda zaten çok fazla aktif olmayışı, dolayısıyla iki haftalık immobilizasyonun ilave bir yavaş tip MHC azalması ve hızlı tip MHC artışına yol açmaması olabilir. Nitekim çalışmamızda elde ettiğimiz plantaris kası MHCI yüzdesi dağılımı gruplarda %8-12 arasında görülmekte iken MHCIIb dağılımı %50'lere kadar uzanmaktadır.

5.3. Tüm Vücut Titreşiminin MHC Profiline Etkisi

Bu çalışmada tüm vücut titreşimi (TVT) bir aktivite modeli olarak kullanılmıştır. TVT'nin özellikle kas kuvvet kazanımını desteklemesi açısından direnç egzersizlerine benzer yanıtlar göstermesi nedeniyle, iskelet kasında uzun süreli kullanılmamaya yol açan atrofi sonrası süreçte ve alternatif bir uygulama olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmalar genel olarak iskelet kası aktivasyonunun immobilizasyon veya inaktivitenin aksine iskelet kası MHC izoformlarında hızlıdan yavaş doğru bir dönüşüme yol açtığını göstermektedir. Bu çalışmada plantaris kası tüm MHC izoformlarını içermesi sebebiyle özellikle tercih edilmiştir. Öyle ki, aktivitenin hızlıdan yavaş doğru bir dönüşüme yol açtığı göz önüne alındığında %90-95 oranında MHCI ve %5-10 oranında MHCIIa'dan oluşan soleus gibi bir kasın kullanılmasının titreşimin olası yol açacağı hızlıdan yavaş dönüşümün görülmesini gizleyeceği düşünülmüştür.

Çalışmanın sonuçları bir haftalık tüm vücut titreşiminin, herhangi bir alçıya maruz kalmamış veya iki haftalık bir alçıya tabi tutulmuş sıçanlarda plantaris kası MHC izoformunda herhangi bir değişikliğe yol açmadığını göstermiştir.

Bu çerçevede iskelet kasında aktivite artışı ile oluşan MHC dönüşümünü anlayabilmek için egzersize iskelet kasının adaptasyonunun üzerinde durmakta yarar vardır. Çalışmalar hem dayanıklılık hem de direnç egzersizlerini hızlı lif tiplerinden daha yavaş lif tiplerine doğru bir dönüşüme neden olduğunu göstermektedir (Demirel ve diğ., 1999; Adams, 1993; Short ve diğ., 2005). Bu dönüşümde MHC izoformları dönüşümünün belirli bir sırayı takip ettiği ve buna göre MHCIb-MHCIIx-MHCIIa-MHCI şeklinde gerçekleştiği bildirilmiştir. Kuşkusuz bu dönüşümün oluşmasında egzersizin süresi, şiddeti ve hacmi önemli faktörlerdir. Egzersizin üç farklı koşu grubunda 10 hafta boyunca haftada 4-5 gün yapıldığı ancak günlük koşu süresinin 30, 60 ve 90 dakika gibi üç ayrı sürede tutulduğu bir çalışmada MHC izoformlarındaki adaptasyonun egzersizin günlük süresindeki artış ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir (Demirel ve diğ., 1999). Bu çalışmada özellikle MHCIb-MHCIIx-MHCIIa-MHCI dönüşümü net olarak gözlenmiş ve plantaris kasında

kontrol grubunda %35'lerde olan MHCIIb yüzdesi günde 90 dakika koşan grupta %20'lere düşmüştür. EDL kasında ise bu değişim çok daha dramatik olarak gerçekleşmiş ve MHCIIb yüzdesi %60'lardan %30'lara düşmüştür. Dayanıklılık egzersizlerine benzer şekilde, direnç egzersizlerine adaptasyon da tip IIX yüzdesinde azalma tip IIA'da ise artış şeklinde meydana gelmektedir (Adams, 1993).

TVT kas aktivitesini, güç ve kuvvetini arttıran alternatif bir yöntem olup (Kemmler et al., 2010; Machado et al., 2010) düşük-orta şiddetli ve çok boyutlu mekanik salınımların titreşim platformu vasıtasıyla vücuda iletilmesiyle gerçekleşmektedir (Hazel et al, 2010, Wilcock et al 2009). Salanova ve diğ., yaptıkları çalışmada uzun süreli yatak istirahati ile oluşturulan immobilizasyon sırasında uygulanan TVT'nin atrofi ile birlikte ortaya çıkan yavaştan hızlı lif tipine dönüşümün önüne geçtiğini göstermişlerdir (Salanova, 2014). Yaşları 30-33 arasında olan 23 gönüllünün katılım gösterdiği bu çalışmada, 60 günlük yatak istirahati sırasında direnç egzersizi grubu ve titreşimle birlikte direnç egzersizi grubu olmak üzere incelediği gruplarda 60 günlük yatak istirahati sonrası kontrol grubu soleus kasında MHCIIa'da azalma olurken (-9.14%, $P \leq 0.01$), MHCIIx'in arttığını (+8.26, $P \leq 0.01$) direnç egzersizi grubunda tip I izoformunda azalma (-12.14%, $P \leq 0.01$) ve tip IIX'de artış (+4.83%, $P \leq 0.01$) görülürken, titreşim uygulanan direnç egzersizi grubunda ise MHC izoform kompozisyonunda anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Çalışmada ayrıca egzersizle birlikte uygulanan titreşimin MHC fenotipi yanı sıra miyofibril boyutunu da koruduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasında uygulanan bir hafta süreli titreşimin iskelet kası MHC izoformunda bir değişikliğe yol açmamış olması oluşturulan aktivasyonun yeterli düzeyde olmadığını düşündürmektedir. Nitekim yukarıda bahsedilen 10 haftalık egzersiz çalışmasında 30 dakika koşan gruptan ziyade 90 dakika koşan grupta MHC izoformunda net bir değişimin gözlenmesi de bunu düşündürmektedir. Benzer şekilde TVT'nin inaktivite yoluyla oluşan yavaştan hızlı izoforma dönüşümün engellediği gösterilen çalışmada sürenin 60 gün olması da bu çalışmada uyguladığımız bir haftalık sürenin yetersiz olabileceğini düşündürmektedir.

Çeşitli çalışmalarda yüksüzleştirme sırasında aralıklı olarak yük verilmesinin protein yıkımında azalmaya neden olacağı, dolayısıyla tipI MHC kaybını

azaltacağını düşündürmektedir. Özellikle yüksüzleştirme sırasında protein yıkımındaki artışın maksimum seviyesine 9-15. günlerde ulaştığı bildirilmiştir (Thomason, 1989). Yedi günlük HU uygulaması sırasında günde dörder kez aralıklı olarak uygulanan 10 dakika ayakta durma ya da yavaş tempoda yürüme egzersizlerinin soleus kitlesini neredeyse normal düzeyde tuttuğunu göstermiştir (Herbert, 1988). Aynı protokolün 14 günlük HU sırasında uygulanması ile soleusun vücut ağırlığına oranındaki kaybın %22 oranında azaldığı ve tip I fiber çapındaki değişikliklerin de azaldığı görülmüştür. Bu çalışmalar göz önüne alındığında titreşimin alçı ile birlikte verilmesinin olumlu etki yaratabileceği düşünülebilir. Özellikle spor yaralanmaları sonrasında atel veya alçıya alınan ekstremitelerde kas kuvvet ve fonksiyonunun normal fonksiyonlarını kazanma süreci, spora dönüşü etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Bu nedenle tüm vücut titreşiminin lif tipinde oluşan değişimi veya miyofibriler protein kaybını azaltma olasılığının tedavi modaliteleri arasına girmesi açısından çok ciddi bir etkisinin olacağı aşıkardır. Ancak bununla birlikte, plantaris kasında iki haftalık immobilizasyonun MHC izoformu profilinde bir değişikliğe yol açmadığı göz önüne alınırsa alçı süresince tüm vücut titreşimi uygulamasının da bu kasta bir etkiye yol açmayacağı gerçektir. Bu hipotezin test edilebilmesi için plantaris dışında, özellikle antigravite kasların çalışılması uygun olacaktır.

İskelet kası plastik bir özelliğe sahip olup çok çeşitli stresler karşısında fenotipik adaptasyon gösterme yeteneğindedir. Bu adaptasyonda rol oynayan temel moleküllerden birisi miyozin ağır zinciri olup, kuyruktan asma, immobilizasyon, egzersiz gibi çeşitli streslerde MHC izoform profilinde değişiklikler gözlenir. Bu çalışmada iki haftalık alçı yoluyla oluşturulan immobilizasyonun veya doğrudan tüm vücut titreşiminin etkisini değerlendirmek amacı ile incelenen plantaris kasında böyle bir adaptasyona rastlanılmamıştır.

5.4. İmmobilizasyon ve Titreşimin Hsp72 Düzeylerine Etkisi:

HSP'ler hücrenin çok çeşitli streslere karşı korunmasını sağlayan moleküllerdir. Bu çerçevede 70kDa HSP ailesinin indüklenebilir formu olan Hsp72'nin özel bir önemi vardır.

Hsp72'nin egzersize yanıt olarak sentezi artmaktadır (Demirel, 2001). Bu artışta egzersize bağlı sıcaklık artışı önemli bir rol oynarken ortaya çıkan oksidatif stresin de etkili olabileceği düşünülmektedir. Kısa süreli titreşimin kan akışını önemli miktarda arttırdığı bilinmektedir (Lohman, 2007). Hücresel düzeyde endotel hücrelerde mekanik titreşimle birlikte kan akışının sürtünme kuvvetini de arttırabileceği belirtilmiştir (Lohman, 2007). Sonuç olarak titreşim kan akımı ve sürtünme yoluyla kas içi sıcaklık artışına neden olabileceği bunun da Hsp72 düzeylerinde bir artışa yol açabileceği düşünülmüştür. Nitekim, Rodriguez-Miguel ve diğerlerinin (2015) son dönemde yapmış oldukları çalışmada, ortalama 70-71 yaşlarındaki 28 birey antrenman ve kontrol grubu olarak iki gruba ayrılmışlardır. Antrenman grubuna 8 hafta boyunca tüm vücut titreşimi uygulanarak statik ve dinamik egzersizler yaptırılmıştır. Süreç sonunda tüm vücut titreşimi uygulanan grupta periferik mononükleer kan hücrelerinde Hsp72 protein içeriğinde önemli miktarda artış olduğu gözlenmiştir. Çalışmada 8 haftaya boyunca uygulanan titreşimin süresi bu çalışmada 1 haftada uygulananadan daha kısa olmasına rağmen onların Hsp72 miktarlarında artış gözlerken bizim görmememiz sıçan ve insanın strese adaptasyona farklı düzeyde yanıt vermesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte titreşimin uygulandığı pozisyonun da farklı olduğu unutulmamalıdır. Hsp72 miktarı önceden arttırılan soleus kasında HU yoluyla oluşturulan atrofinin önemli ölçüde önlenmesi (Naito ve diğ, 2001), immobilizasyon sonrası toparlanma sürecinde TVT'nin Hsp72 protein ekspresyonunu arttırması halinde atrofinin etkisinin giderilmesi açısından anlamlı rol oynayabileceğini ve dolayısıyla bu grupta HSP72 miktarlarının artıp artmadığının test edilmesinin önemli olacağını düşündürmüştür.

Diğer yandan, özellikle tipI lifleri veya MHCI izoformunun daha ağırlıklı olduğu iskelet kaslarında bazal düzeyde Hsp72 düzeylerinin daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada iki haftalık alçı yoluyla oluşturulan immobilizasyonun iskelet kasında yavaş lif tipinden hızlıya doğru dönüşümü veya MHC izoformunda

yavaştan hızlıya doğru bir dönüşe yol açacağı bu nedenle alçı grubunda Hsp72 düzeylerinde bir azalmanın görüleceği hipotezi ortaya atılmıştır.

Ancak bu çalışmadan elde edilen bulgular immobilizasyon veya TVT'nin Hsp72 miktarlarında bir farklılığa yol açmadığını ortaya koymuştur. Genel olarak, yüksüzleştirme HSP miktarındaki azalma ile ilişkiliyen tekrar yüklenme ya da aşırı yüklenme sonucunda ise HSP miktarlarında artış yaşanmaktadır. Oishi ve diğerleri (2008) sıçanlarda kuyruktan asma modelini iki hafta süresince uyguladığı çalışmada soleus kasında %73 atrofi yanı sıra HSP60 ve Hsp72 düzeylerinde azalma göstermiştir. Ayrıca bu çalışmada iki haftalık kuyruktan asma uygulaması sonrasında soleus kasında yavaş kas lifi tipinden hızlı kas lifi tipine dönüşüm yaşandığı da ortaya konulmuştur (Oishi ve diğerleri, 2008). Kuşkusuz bu yüksek lisans çalışmasında plantaris kasında MHC izoformunda herhangi bir değişikliğin bulunmamış olması da Hsp72 miktarlarında immobilizasyona bağlı bir azalma olmamasının en önemli nedenlerindendir.

Aşırı yüklenme sonucunda plantaris kasındaki hipertrofiyle beraber Hsp72 miktarında artış olduğu gözlenmiştir (Locke ve diğerleri, 1994). Ancak, kas kitlesindeki artışın HSP70 miktarında herhangi bir değişim yaşanmadan da olabileceğine ilişkin çalışmalar da mevcuttur (O'Neill ve diğerleri, 2006). Hsp72'nin egzersizin sıklığına ve yoğunluğuna bağlı olarak artış gösterdiği bilinmektedir (Milne ve Noble, 2002). Yukarıda sözü edilen çalışmada TVT'nin 70 yaş ve üzeri bireylerde periferik kan hücrelerinde Hsp72 düzeylerinde artışa yol açması, TVT'nin bu adaptasyonunu gerçekleştirebilecek kadar şiddetli bir uyaran olduğunu göstermektedir. Bu durum, özellikle etkin egzersiz şiddetinin uygulanamadığı ileri yaşlardaki bireylerde TVT'nin Hsp72 indüklemesinde etkili olabileceğini göstermiştir. Bu lisansüstü tez çalışmasında TVT süresi sadece 1 hafta olarak uygulanmıştır. Bu çerçevede 1 haftalık titreşim uygulaması sonucunda Hsp72 miktarlarında bir farklılık oluşmasının uygulama süresinin yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülebilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada literatür bulgularından yola çıkılarak iki haftalık alçı yoluyla oluşturulan immobilizasyonun plantaris kası MHC izoformlarında yavaştan hızlıya doğru bir değişime yol açacağı, buna bağlı olarak immobilizasyonun aynı kasta Hsp72 bazal düzeylerini azaltacağı hipotezi ortaya atılmıştır. Tüm vücut titreşiminin bir yandan kan akımı ve sıcaklık artışı yoluyla plantaris Hsp72 düzeylerini arttırabileceği ayrıca immobilizasyon ile oluşacak olası bir MHC izoformundaki hızlıya dönüşümü de azaltacağı düşünülmüştür. Çalışma sonucunda hipotezlerimiz desteklenmemiştir. Bunun altında yatan çeşitli nedenler olduğu düşünülmekte ve bu konuda çalışacak olan araştırmacılara da yol göstermesi açısından bazı öneriler aşağıda sıralanmaktadır.

- 1) Çalışmada özellikle MHC izoformlarından dördünü de içermesi sebebiyle plantaris kası kullanılmıştır. Özellikle TVT'nin MHC izoformunda hızlıdan yavaşa dönüşüme neden olacağı varsayıldığından hızlı tip MHC içeren bir kasın kullanılması önemli olduğu düşünülmekle beraber plantaris yanı sıra yer çekimine karşı görev yapan ancak hızlı lif içeriği de olan medial gastroknemius kasının da değerlendirilmesinin uygun olabileceği düşünülmektedir.
- 2) Gerek alçı ve gerekse uygulanan TVT süresinin daha uzun olması arzulanan değişikliklerin daha kolay görülebilmesini sağlayabilir.
- 3) TVT ile birlikte direnç egzersizlerinin uygulanması TVT'nin etkinliğinin daha kolay görülmesini sağlayabilir. Bununla birlikte sıçan modellerinde bu uygulamanın zorluğu da unutulmamalıdır.
- 4) Özellikle immobilizasyon süresinin uzun tutularak yapılacağı çalışmalarda immobilizasyon sırasında TVT veya TVT ile birlikte direnç egzersizlerinin uygulanabileceği hayvan modellerinin gerçekleştirilmesi uygun olabilecektir.

7. KAYNAKLAR

1. Adams, GR., Caiozzo, VJ., Baldwin, KM. (2003). Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models. *J Appl Physio*, 95: 2185–2201.
2. Adric, C., Ritcher, C., Bachelet, M. (2000). Contrasting effects of NO and peroxynitrites on HSP70 expression and apoptosis in human monocytes. *Am J Physiol*, 1 279: C452-60.
3. Alpar, R. (2011). Uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri. *Detay Yayıncılık*: Ankara
4. Anckar, J. ve Sistonen, L. (2007). Heat shock factor 1 as a coordinator of stress and developmental pathways. *Advances Experimental Medicine and Biology*, 594: 78-88.
5. Arrigo, A. P. ve Landry, J. (1994). Expression and function of the low molecular weight heat shock proteins. *Cold Spring Harbour (NY): Cold Spring Harbour Laboratory Press*, 335-73.
6. Asea, A. (2007). Mechanisms of HSP72 release. *Journal of Biosciences*, 32, 579-584.
7. Barnard, RJ., Edgerton, VR., Furukawa, T., Peter, JB. (1971). Histochemical, biochemical and contractile properties of red, white, and intermediate fibers. *Am J Physiol*, 220, 410–414.
8. Barreto, GE., White, RE., Xu, L., Palm, CJ., Giffard, RG. (2012). Effects of heat shock protein 72 (Hsp72) on evolution of astrocyte activation following stroke in the mouse. *Exp Neurol*, Dec;238 (2):284-96. Doi.
9. Beckmann, RP., Mizzen, L. E. ve Welch, WJ. (1990). Interaction of Hsp 70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly. *Science*, 248 (4957): 850-854.
10. Bederman, I. Y., Lai, N., Shuster, J., Henderson, L., Ewart, S. ve Cabrera, M. E. (2015). Chronic hindlimb suspension unloading markedly decreases turnover rates of skeletal and cardiac muscle proteins and adipose tissue triglycerides. *Journal of Applied Physiology*, 119 (1):16-26.
11. Bergstrom J, Hultman E. (1966). Muscle glycogen synthesis after exercise: An enhancing factor localized to the muscle cells in man. *Nature* 210: 309–310.
12. Bogaerts, A., Delecluse, C., Claessens, A. L., Coudyzer, W., Boonen, S. ve Verschueren, S. M (2007a). Impact of whole-body vibration training versus fitness training on muscle strength and muscle mass in older men: a 1-year

randomized controlled trial. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 62 (6): 630-635.

13. Booth, F. W. ve M. J. Seider. (1979). Early change in skeletal muscle protein synthesis after limb immobilization of rats. *J. Appl. Physiol*, 47:974–977.
14. Booth, F.W. ve Criswell, D.S. (1997). Molecular events underlying skeletal muscle atrophy and the development of effective countermeasures. *International Journal of Sports Medicine*, 18 Suppl 4: S265-S269.
15. Bosco, C., Colli, R., Introini, E., ve diğ. (1990). Adaptive responses of human skeletal muscle to vibration exposure. *Clin Physiol*, 19:183–7.
16. Bottinelli, R. (2001). Functional heterogeneity of mammalian single muscle fibres: do myosin isoforms tell the whole story? *Pflugers Arch*, 443,6–17.
17. Bottinelli, R., Betto, R., Schiaffino, S., Reggiani, C. (1994a). Maximum shortening velocity and coexistence of myosin heavy chain isoforms in single skinned fast fibres of rat skeletal muscle. *J Muscle Res Cell Motil*, 15, 413–419.
18. Bottinelli, R., Betto, R., Schiaffino, S., Reggiani, C. (1994b). Unloaded shortening velocity and myosin heavy chain and alkali light chain isoform composition in rat skeletal muscle fibres. *J Physiol (Lond)*, 478, 341–349.
19. Bottinelli, R., Canepari, M., Reggiani, C., Stienen, GJM. (1994c). Myofibrillar ATPase activity during isometric contraction and isomyosin composition in rat single skinned muscle fibres. *J Physiol (Lond)*, 481, 663–675.
20. Bottinelli, R., Schiaffino, S., Reggiani, C. (1991). Force-velocity relationship and myosin heavy chain isoform compositions of skinned fibres from rat skeletal muscle. *J Physiol (Lond)*, 437, 655–672.
21. Bradford, M.M. (1976), "Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Anal. Biochem*, 72: 248-254.
22. Brooke, MH., Kasier, KK. (1970). Three “myosin ATPase” systems: The nature of their pH liability and sulphhydryl dependence. *J Histochem Cytochem*, 18: 670–672.
23. Buller, AJ., Eccles, JC., Eccles, RM. (1960). Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speed of their responses. *J Physiol (Lond)*, 150, 417–439.
24. Büyüköztürk, Ş. (2013). Sosyal bilimler için veri analizi el kitabı. *Pegem Yayıncılık*: Ankara C842–C850.

25. Caiozzo, VJ., Baker, MJ., Herrick, RE., Tao, M. ve Baldwin, KM. (1994). Effect of spaceflight on skeletal muscle: mechanical properties and myosin isoform content of a slow muscle. *J Appl Physiol*, 76: 1764–1773.
26. Caiozzo, VJ., Herrick, RE., Baldwin, KM. (1992). Response of slow and fast muscle to hypothyroidism – maximal shortening velocity and myosin isoforms. *Am J Physiol*, 263, C86–C94.
27. Caiozzo, VJ., Swoap, S., Tao, M., Menzel, D., Baldwin, KM. (1993). Single Fiber Analyses of Type-IIA myosin heavy chain distribution in hyper- and hypothyroid soleus. *American Journal of Physiology- Cell Physiology Published*, Vol.265 No.3 C842-C850
28. Cardinale, M., Wakeling, J. (2005). Whole body vibration exercise: are vibrations good for you? *Br J Sports Med*, 2005;39:585–589.
29. Carlson, CJ., Booth, FW. ve Gordon, SE. (1999) Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 277: R601–R606.
30. Chen, Y., Voegeli, T.S., Liu, P.P., Noble, E.G. ve Currie, R.W. (2007). Heat shock paradox and a new role of heat shock proteins and their receptors as anti-inflammation targets. *Inflamm. Allergy Drug Targets*, 6: 91–100. PM:17692032.
31. Cheung, W. H., Mok HW., ve diğ. (2007). High-frequency whole-body vibration improves balancing ability in elderly women. *Arch Phys Med Rehabil*, 88 (7): 852-7.
32. Chiang, HL., Terlecky, SR., Plant, CP., ve ark. (1989). A role for a 70-kilodalton heat shock protein in myosomal degradation of intracellular proteins. *Science*, 246: 382-5.
33. Chiang, HL., Terlecky, SR., Plant, CP., ve diğ. (1989). A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science*, 246: 382-5 6.
34. Coleman, M. E., DeMayo, F., Yin., K. C., Lee, H. M., Geske, R., Montgomery, C. ve Schwartz, R. J. (1995). *Journal of Biological Chemistry*, 270: 12109-12116.
35. D'Aunno, DS., Robinson, RR., Smith, GS., Thomason, DS., ve Booth, FW. (1992). Intermittent cceleration as a countermeasure to soleus muscle atrophy. *J Appl Physiol*, 72: 428–433,.
36. Demirel, HA., Powers, SK., Hisashi, Naito., Michael, Hughes., Coombes, JS. (1999). Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship, *Journal of Applied Physiology Published*, Vol. 86 no. 3,1002-1008 DOI:

37. Demirel, HA., Powers, SK., Naito, H., Hughes, M., Coombes JS. (1999). Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. *Journal of Applied Physiology*, 86 (3): 1002-8.
38. Desplanches, D., Mayet, MH., Sempore, B. Ve diğ. (1987). Structural and functional responses to prolonged hindlimb suspension in rat muscle. *J Appl Physiol*, 63:558–563.
39. Di Loreto, C., Ranchelli, A., Lucidi, P., ve diğ. (2004). Effects of whole-body vibration exercise on the endocrine system of healthy men. *J Endocrinol Invest*, 27:323–7.
40. Dodd, S., Hain, B., Judge, A. (2009). Hsp70 prevents disuse muscle atrophy in senescent rats. *Biogerontology*, 10:605–611.
41. Ebashi, S. (1976). Excitation-contraction coupling. *Annual Review of Physiology*, 38: 293-309.
42. Edgerton, VR. ve Roy, RR. (1996). Neuromuscular adaptations to actual and simulated spaceflight. In: *Handbook of Physiology. Environmental Physiology*, Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., sect. 4, vol. II, chapt 32, p. 721–763.
43. Engel, WK. (1962). The essentiality of histo- and cytochemical studies of skeletal muscle in the investigation of neuromuscular disease. *Neurology*, 12: 778–784.
44. Ennion, S., Sant'ana Pereira, J., Sargeant, AJ., Young , A., Goldspink, G. (1995). Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. *J Muscle Res Cell Motil*, 16 (1):35-43.
45. Escobedo, J., Pucci, A. M. ve Koh, T. J. (2004). HSP25 protects skeletal muscle cells against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 37: 1455-62.
46. Fauteck, SP., Kandarian, SC. (1995). Sensitive detection of myosin heavy chain composition in skeletal muscle under different loading conditions. *Am J Physiol*, 268:C419–C424.
47. Feasson, L., Stockholm, D., Freyssenet, D. ve diğ. (2002). Molecular adaptations of neuromuscular disease-associated proteins in response to eccentric exercise in human skeletal muscle. *J Physiol*, 543: 297-306.
48. Febbraio, MA., Ott, P., Nielsen, HB., ve diğ. (2002). Exercise induces hepatosplanchnic release of heat shock protein 72 in humans. *J Physiol*, 544 (Pt 3): 957- 62.
49. Fitts, RH. (2003). Effects of regular exercise training on skeletal muscle contractile function. *Am. J. Phys. Med. Rehabil*, 82, 320–331.
50. Fitts, RH. ve Widrick, JJ. (1996). Muscle mechanics: adaptations with exercise-training. *Exerc Sport Sci Rev*, 24: 427–473.

51. Fox, S. (2002). *Human Physiology*, New York: McGraw-Hill Companies.
52. Fujino, H., Kohzuki, H., Takeda, I. ve diğ. (2005). Regression of capillary network in atrophied soleus muscle induced by hindlimb unweighting. *J Appl Physiol*, 98:1407–1413.
53. Glass, DJ. (2005). Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int J Biochem Cell Biol*, 37:1974–1984.
54. Glickman, M. H. ve Ciechanover, A. (2001). The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol Rev*, 82: 373-428.
55. Goldberg, AL. (1967). Work-induced growth of skeletal muscle in normal and hypophysectomized rats. *Am J Physiol*, 213, 1193–1198.
56. Goldspink, D. F., A. J. Morton, P. Loughna. ve G. Goldspink. (1986). The effect of hypokinesia and hypodynamia on protein turnover and the growth of four skeletal muscles of the rat. *Pflugers Arch*, 407:333–340.
57. Goldspink, DF. (1977). The influence of immobilization and stretch on protein turnover of rat skeletal muscle. *J Physiol (Lond)*, 264, 267–282.
58. Goldspink, DF., Morton, AJ., Loughna, P., ve Goldspink, G. (1986). The effect of hypokinesia and hypodynamia on protein turnover and the growth of four skeletal muscles of the rat. *Pflugers Arch*, 407: 333–340.
59. Goldspink, G., Scutt, A., Loughna, PT., Wells, DJ., Jaenicke, T., Gerlach, GF. (1992). Gene expression in skeletal muscle in response to stretch and force generation. *Am J Physiol*, 262, R356–R363.
60. Gonyea, W. J. and G. C. Ericson. (1980). An experimental model for the study of exercise-induced muscle hypertrophy. *J. Appl. Physiol*, 40: 630-633, 1976.
61. Gonyea, W. J.(1976). Role of exercise in inducing increases in skeletal muscle fiber number. *J. Appl. Physiol*, 48(3): 421-426, 1980.
62. Green, H. (1986). Muscle Power: Fiber type recruitment, metabolism and fatigue. *In Human Muscle Power*, 65-79. Champaign, IL: Human Kinetics,
63. Guth, L., Samaha, FJ. (1969). Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp Neurol*, 25, 138–152.
64. Guttman, SD., Glover, CVC., Allis, CD., ve diğ. (1980). Heat shock, deciliation and release from anoxia induce the synthesis of the same polypeptides in starved *T. pyriformis*. *Cell*, 22: 299-307 7.
65. Harm, H. K., ve diğerleri. (2009). Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress and Chaperones*, 14:105–111.

66. Hazell, T. J., Thomas, G. W., Deguire, J. R. ve Lemon, P. W. (2008). Vertical whole-body vibration does not increase cardiovascular stress to static semi-squat exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 104 (5):903-908.
67. Herbert, ME., Roy, RR., ve Edgerton, VR. (1988). Influence of oneweek hindlimb suspension and intermittent high load exercise on rat muscles. *Exp Neurol*, 102: 190–198,.
68. Hood, D. A. (2001). Contractile activity induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 90: 1031-5.
69. Ianuzzo, D., Patel, P., Chen, V., O'Brien, P., Williams, C. (1977). Thyroidal trophic influence on skeletal muscle myosin. *Nature*, 270, 74–76.
70. Izumo, S., Nadal-Ginard, B., Mahdavi, V. (1986). All members of the MHC multigene family respond to thyroid hormone in a highly tissue-specific manner. *Science*, 231, 597–600.
71. James, P., Morton, Anna, C. Kayani, Anne, McArdle. ve Barry, Drust. (2009). The Exercise-Induced Stress Responses of Skeletal Muscle, with Specific Emphasis on Humans. *Sports Med*, 39 (8): 643-662
72. Jiang, B., Ohira, Y., Roy, RR., Nguyen, Q., Ilyina-Kakueva EI, Oganov, V. ve Edgerton, VR. (1992). Adaptation of fibers in fasttwitch muscles of rats to spaceflight and hindlimb suspension. *J Appl Physiol*, 73: 58S–65S.
73. Kalaycı, Ş. (2005). SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri. Ankara: *Asil Yayın Dağıtım*
74. Kandarian, SC., Jackman, RW. (2006). Intracellular signaling during skeletal muscle atrophy. *Muscle Nerve*, 33:155–165.
75. Kerschman-Schindl, K., Grampp, S., Henk, C., ve diğ. (2001). Whole-body vibration exercise leads to alterations in muscle blood volume. *Clin Physiol*, 21:377–82.
76. Kurucz, I., Morva, A., Vaag, A., Eriksson, K.F., Huang, X., Groop, L., ve Koranyi, L. (2002). Decreased expression of heat shock protein 72 in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes correlates with insulin resistance. *Diabetes*, 51: 1102–1109. PM:11916932.
77. Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
78. Lanchaster, G. I. ve Febbraio, M. A. (2005). Mechanism of stress-induced cellular HSP72 release: implications for exercise-induced increases in extracellular HSP72. *Exerc Immunol Rev*, 11: 46-52.

79. Larsson, L., Moss, R.L. (1993). Maximum velocity of shortening in relation to myosin isoform composition in single fibres from human skeletal muscles. *J Physiol (Lond)*, 472, 595–614.
80. Liu, Y., Mayr, S., Opitz-Gress, A., ve diğ. (1999). Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. *J Appl Physiol*, 86 (1): 101-4.
81. Locke, M. (1997). The cellular stress response to exercise: role of stress proteins. *Exerc Sports Sci Rev*, 25: 105-36.
82. Lohman, E.B., ve diğ. (2007). The effect of whole body vibration on lower extremity skin blood flow in normal subjects. *Med Sci Monit*, 13 (2):CR71–76.
83. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein Measurement With the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem*, 193: 265 - 275.
84. Lömo, T., Westgaard, R.H., Dahl, H.A. (1974). Contractile properties of muscle, control by pattern of muscle activity in the rat. *Proc R Soc Lond B*, 187, 99–103.
85. Machado, A., Garcia-Lopez, D., Gonzalez-Gallego, J. ve Garatachea, N. (2010). Whole-body vibration training increases muscle strength and mass in older women: a randomized-controlled trial. *Scandinavian journal of medicine and science in sports*, 20: 200-207.
86. Malisoux, L., Francaux, M., and Theisen, D. (2007). What do single- fibre studies tell us about exercise training? *Med. Sci. Sports Exerc*, 39, 1051–1060
87. Marber, M.S., Meistrel, R., Chi, S.R., ve diğ. (1995). Overexpression of the rat inducible 70 k-Da heat stress protein in a transgenic mouse increases the resistance of the heart to ischemic injury. *J Clin Invest*, 95: 1446-56 5.
88. McCarthy, J.J., Fox, A.M., Tsika, G.L., Gao, L., ve Tsika, R.W. (1997). [t]b-MHC transgene expression in suspended and mechanically overloaded/suspended soleus muscle of transgenic mice. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 272: R1552– R1561,.
89. Milne, K.J. ve Noble, E.G. (2002). Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J. Appl. Physiol*, 93: 561–568. PM:12133865.
90. Mitchell, P. O., S. T. Mills, ve G. K. Pavlath. (2002). Calcineurin differentially regulates maintenance and growth of phenotypically distinct muscles. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*, 282:C984–C992.
91. Naito, H., Powers, S.K., Demirel, H.A., Sugiura, T., Dodd, S.L., Aoki, J. (2000). Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimbunweighted rats. *J Appl Physiol*, 88:359–363.

92. Nazarov, V., Spivak, G. (1985). Development of athlete's strength abilities by means of biomechanical stimulation method. *Theory and Practice of Physical Culture* (Moscow), 12:445–450.
93. Neufer, P. D., Ordway, G. A. ve Williams, R. S. (1988). Transient regulation of c-fos, alpha B-crystallin and HSP70 in muscle during recovery from contractile activity. *Am J Physiol*, 274: C341-6.
94. Noble, E.G. (2002). Heat shock proteins and their induction with exercise. In: *Exercise and Stress Response: Role of Stress Proteins*, (eds. M. Locke and E.G. Noble). CRC Press, pp. 43–78.
95. Nordlund, NM., Thorstensson, A. (2007). Strenght training effects of whole body vibration? *Scand J Med Sci Sports*, 17 (1): 12-7.
96. Ohira, Y., Jiang, B., Roy, RR., Oganov, V., Ilyina-Kakueva, E., Marini, JF., ve Edgerton, VR. (1992). Rat soleus muscle fiber responses to 14 days of spaceflight and hindlimb suspension.
97. Ohira, Y., Yoshinaga, T., Nonaka, I., Ohara, M., Yoshioka, T., Yamashita-Goto, K., Izumi, R., Yasukawa, K., Sekiguchi, C., Shenkman, BS., ve Kozzlovskaya IB. (2000). Histochemical responses of human soleus muscle fibers to long-term bedrest with or without countermeasures. *Jpn J Physiol*, 50: 41–47,.
98. Oishi, Y., Ogata, T., Yamamoto, K. I., Terada, M., Ohira, T., Ohira, Y. ver diğ erleri. (2008). Cellular adaptations in soleus muscle during recovery after hindlimb unloading. *Acta Physiologica*, 192: 381–395.
99. Özdamar, K. (2013). Paket programlar ile istatistiksel veri analizi. *Nisan Kitabevi*: Ankara
100. Paulsen, G., Vissing, K., Kalhovde, J.M., Ugelstad, I., Bayer, M.L., Kadi, F., Schjerling, P., Hallen, J., ve Raastad, T. (2007). Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp Physiol*, 293: R844–R853. PM:17522120.
101. Peter, J.B., Barnard, R.J., Edgerton, V.R., Gillespie, C.A. & Stempel, K.E. (1972). Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry*, 11, 2627–2633.
102. Pette D. (2001). Historical Perspectives, Plasticity of mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* 90, 1119–1124.
103. Pette, D. (1985). Metabolic heterogeneity of muscle fibres. *J. Exp. Biol* 115, 179–189

104. Picquet, F., ve Falempin, M. (2003). Compared effects of hindlimb unloading versus terrestrial deafferentation on muscular properties of the rat soleus. *Exp. Neurol*, 182, 186–194
105. Powers, SK., Kavazis, AN., DeRuisseau, KC. (2005). Mechanism of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 288: R337-R344.
106. Rees, SS., A.J. Murphy ve M.L. (2008). Watsford, Effects of whole-body vibration exercise on lower-extremity muscle strength and power in an older population: a randomized clinical trial, *Phys. Ther*, 88 (4), pp. 462–470.
107. Reiser, P.J., Moss, R.L., Giulian, G.G. & Greaser, M.L. (1985). Shortening velocity in single fibers from adult rabbit soleus muscles is correlated with myosin heavy chain composition. *J Biol Chem*, 260, 9077–9080.
108. Riley, DA., Thompson, JL., Krippendorf, BB., ve Slocum, GR. (1995). Review of spaceflight and hindlimb suspension unloading induced sarcomere damage and repair. *Basic Appl Myol*, 5: 139–145,.
109. Rochester, CL. (2009). Rehabilitation in the intensive care unit. *Semin Respir Crit Care Med*, 30:656–669.
110. Rodriguez-Miguel, P., Fernandez-Gonzalo, R., Collado, PS., Almar M., Martinez-Florez S., de Paz Ja ve diğ. (2015). Whole-body vibration improves the anti-inflammatory status in elderly subjects through toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways. *Mech Ageing Dev*, 150:12-9.
111. Roy, RR., Sacks, RD., Baldwin, KM., Short, M., Edgerton, VR. (1984). Interrelationships of contraction time, Vmax, and myosin ATPase after spinal transection. *J Appl Physiol*, 56, 1594–1601.
112. Salanova, M., Gelfi, C., Morrigi, M., Vasso, M., Vigano, A., Miafra, L. Bonifacio, G., Schiffl, G., Gutschmann, M., Felsenberg, D., Cerretelli, P., Blottner D. (2014). Disuse deterioration of human skeletal muscle challenged by resistive exercise superimposed with vibration: evidence from structural and proteomic analysis. *The FASEB Journal*, 28, 4748-4763.
113. Salmons, S., Vrbová, G. (1967). Changes in the speed of mammalian fast muscle following long- term stimulation. *J Physiol (Lond)*, 192, 39–40P.
114. Salmons, S., Vrbová, G. (1969). The influence of activity on some contractile characteristics of mammalian fast and slow muscles. *J Physiol (Lond)*, 201, 535–549.
115. Salo, DC., Donovan, CM., Davies, KJA. (1991). HSP70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart and liver during exercise. *Free Radic Biol Med*, 11: 239-46.

116. Sandri, M. (2008). Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology (Bethesda)*, 23:160–170.
117. Sargeant, A. J. (2007). Structural and functional determinants of human muscle power. *Exp. Physiol.* 92, 323–331.
118. Schiaffino, S., Dyar, K.A., Ciciliot, S., Blaauw, B. ve Sandri, M. (2013). Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS Journal*, 280: 4294–4314.
119. Schiaffino, S., Gorza, L., Sartore, S. et al. (1989). Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *J Muscle Res Cell Motil*, 10, 197–205.
120. Schiaffino, S., Reggiani, C. (1994). Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* 77:493–501 Tissieres A, Mitchell HK, Tracy UM. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol*, 1974; 84: 389–98.
121. Schneider, CA., Rasband, WS. ve Eliceiri, KW. (2012). "NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis". *Nature Methods*, 9: 671–675.
122. Sciandra, JJ., Subjeck, JR. (1983). The effect of glucose on protein synthesis and thermosensitivity in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem*, 258: 12091–3.
123. Scopes, R.K. (1970). Characterization and study of sarcoplasmic proteins. *J. Physiol And Biochem Of Muscle As A Food*, (E.Y. Briskey E, R.G. Cassens, and B.B. Marsh, eds), p. 471–492. University of Wisconsin Press, Madison.
124. Selsby, JT., Dodd, SL. (2005). Heat treatment reduces oxidative stress and protects muscle mass during immobilization. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 289:R134–139.
125. Senf, S.M (2013). Skeletal muscle heat shock protein 70: diverse functions and therapeutic potential for wasting disorders. *Frontiers in Physiology*, 4: 330.
126. Senf, SM., Dodd, SL., Judge, AR. (2010). FOXO signaling is required for disuse muscle atrophy and is directly regulated by Hsp70. *Am J Physiol Cell Physiol*, 298:C38–45.
127. Senf, SM., Dodd, SL., McClung, JM., Judge, AR. (2008). Hsp70 overexpression inhibits NF-kappaB and Foxo3a transcriptional activities and prevents skeletal muscle atrophy. *FASEB J*, 22:3836–3845.
128. Short. K. Ve diğ. (2005). Changes in myosin heavy chain mRNA and protein expression in human skeletal muscle with age and endurance training. *Journal of Applied Physiology*, 99:95–102.

129. Smerdu, V., Karsch-Mizrachi, I., Campione, M., Leinwand, L. ve Schiaffino, S. (1994). Type IIx myosin heavy chain transcripts are expressed in type IIb fibers of human skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 267, C1723–C1728.
130. Spangenburg, EE ve F. W. Booth. (2003). Molecular regulation of individual skeletal muscle fibre types. *Acta Physiol Scand*, 178, 413–424.
131. Staron, RS., Pette, D. (1986). Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers. *Histochemistry*, 86, 19–23.
132. Sugiura, T., Miyata, H., Kawai, Y., Matoba, H., Murakami, N. (1993). Changes in myosin heavy chain isoform expression of overloaded rat skeletal muscles. *Int J Biochem*, 25, 1609–1613.
133. Takahashi, H., Wada, M., Katsuta, S. (1991). Expressions of myosin heavy chain IId isoform in rat soleus muscle during hindlimb suspension. *Acta Physiol Scand*, 143:131–132.
134. Takeda, Isao., Murakami, S., Kondo, H., Nagatomo, AI. (2009). Thermal preconditioning prevents fiber type transformation of the unloading induced-atrophied muscle in rats. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, Vol 30, Issue 3, pp 145-152.
135. Talmadge, RJ., Roy, RR., Edgerton, VR. (1996). Distribution of myosin heavy chain isoforms in non-weight-bearing rat soleus muscle fibers. *J Appl Physiol*, 81:2540–2546.
136. Termin, A., Staron, RS., Pette, D. (1989). Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscle. *Histochemistry*, 92 (6):453-7.
137. Thomason, DB., Biggs, RB., ve Booth, FW. (1989). Protein metabolism and b-myosin heavy-chain mRNA in unweighted soleus muscle. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 257: R300–R305.
138. Thomason, DB., Booth, FW. (1990). Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. *J Appl Physiol*, 68: 1–12.
139. Thompson, HS. ve Scordillis, SP. (1994). Ubiquitin changes in human biceps muscle following exercise-induced muscle damage. *Biochem Biophys Res Commun*, 204: 1193-8.
140. Tissieres, A., Mitchell, HK., Tracy, UM. (1974). Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol*, 84: 389-98 4.
141. Tupling, A.R., Bombardier, E., Stewart, R.D., Vigna, C., ve Aqui, A.E. (2007). Muscle fiber type-specific response of Hsp70 expression in human quadriceps

- following acute isometric exercise. *J. Appl. Physiol*, 103: 2105–2111. PM:17916670.
142. Venojärvi, M., Kvist, M., Jozsa, L., Kalimo, H., Hanninen, O., Atalay, M. (2007). Skeletal muscle HSP expression in response to immobilization and remobilization. *Int J Sports Med*, 28:281–286.
 143. Venojärvi, M., Kvist, M., Jozsa, L., Kalimo, H., Hänninen, O., Atalay, M. (2007). Skeletal muscle HSP expression in response to immobilization and remobilization. *Int Journal of Sports Medicine*, 28 (4):281-286.
 144. Vrbova, G. (1963). The effect of motoneurone activity on the speed of contraction of striated muscle. *J Physiol (Lond)*, 169, 513–526.
 145. Wakeling, J. M., Nigg, B. M. ve Rozitis. (2002). Muscle activity damps the soft tissue resonance that occurs in response to pulsed and continuous vibrations. *Journal of Applied Physiology*, Vol. 93 no. 3, 1093-1103.
 146. Walters, G., Ryan, KL., Tehrany, MR., ve diğ. (1998). HSP70 expression in the CNS in response to exercise and heat stress in rats. *J Appl Physio*, 84: 1269-77.
 147. Weeds, A.G. (1980). Myosin Light Chains, polymorphism and fiber types in skeletal muscles. In. “ Plasticity of Muscle” (D. Pette, ed.) p.55 de Gruyter, New York.
 148. Weiss, A., Schiaffino, S., Leinwand, LA. (1999). Comparative sequence analysis of the complete human sarcomeric myosin heavy chain family, Implications for functional diversity. *J Mol Biol*, 290, 61–75.
 149. Weitzel, G., Pilatus, U., Rensing, L. (1985). Similar dose response of heat shock protein synthesis and intracellular pH change in yeast. *Exp Cell Res*, 159: 252-68.
 150. Welch, WJ. (1992). Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev*, 72: 1063-81.
 151. Welch, WJ., Garrells, JI., Thomas, GP., ve diğ. (1983). Biochemical characterization of the mammalian stress proteins and identification of two stress proteins as glucose and Ca²⁺ Ionophore regulated proteins. *J Biol Chem*, 258: 7102-11.
 152. Whedon, GD., Deitrick, JE., Shorr, E. (1949). Modification of the effects of immobilisation upon metabolic and physiological functions of the normal men by the use of oscillating bed. *Am J Med*, 6:684–710.
 153. Widrick, JJ. ve Fitts, RH. (1997). Peak force and maximal shortening velocity of soleus fibers after non-weight-bearing and resistance exercise. *J Appl Physiol*, 82: 189–195,.

154. Widrick, JJ., Knuth, ST., Norenberg, KM., Romatowski, JG., Bain, JLW., Riley, DA., Karhanek, M., Trappe, SW., Trappe, TA., Costill, DL., ve Fitts, RH. (1999). Effect of a 17 day spaceflight on contractile properties of human soleus muscle fibres. *J Physiol (Lond)*, 516: 915–930.
155. Wu, H., Gallardo, T., Olson, EN., Williams, RS., Shohet, RV. (2003). Transcriptional analysis of Mouse skeletal myofiber diversity and adaptation to endurance exercise. *J Muscle Res Cell Motil*, 24, 587–592.
156. Zierath, J.R. ve Hawley, J.A. (2004). Skeletal Muscle Fiber Type: Influence on Contractile and Metabolic Properties. *PLoS Biology*, 2 (10), e337 -e348.