

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EKSANTRİK EGZERSİZDE FARKLI EĞİMLERİN KAS HASARINA ETKİSİ

Evrım GÖKÇE

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Emine KOÇ

**Bu tez Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü Tarafından 13L3330020
proje numarası ile desteklenmiştir.**

2014- ANKARA

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simge ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	x

1. GİRİŞ

1.1. Kas Sistemi	1
1.2. İskelet Kası Morfolojisi	1
1.3. Kasılmanın Moleküler Mekanizması	7
1.4. Eksantrik Kas Kasılması	9
1.4.1. Eksantrik Kasılma ve Kas Hasarı İlişkisi	12
1.4.2. Eksantrik Egzersiz ve Adaptasyon	16
1.5. Kreatin Kinaz	19
1.6. Total Oksidan Status	20
1.7. Total Antioksidan Status	20
1.8. Isı Şok Proteinleri	20
1.9. Çalışmanın Amacı	22
1.10. Çalışmanın Hipotezi	

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları	23
2.2. Deney Grupları	23
2.2.1. Ağıştırma ve Antrenman Grupları	24
2.2.2. Kontrol Grubu	28
2.3. Dokuların Alınması	29

2.3.1. Dokuların Homojenizasyonu	29
2.3.2. Kullanılan Gereç ve Kimyasallar	30
2.3.3. Ön Hazırlık Aşaması	30
2.3.4. Homojenizasyon Aşaması	30
2.3.5. Total Oksidan Seviye Ölçümü	31
2.3.6. Total Antioksidan Seviye Ölçümü	31
2.4. Histolojik tayin	32
2.4.1. Histolojik Tayin İçin Kullanılan Gereç ve Kimyasallar	32
2.4.2. Histolojik Tayin Yöntemi	33
2.4.2.1. Işık Mikroskobu (IM) İncelemeleri İçin Yapılan Çalışmalar	33
2.4.2.2. %10'luk Tamponlu Formalin İçin Uygulanan Takip Protokolü	33
2.4.2.3. Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama Protokolü	34
2.4.2.4. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar	34
2.4.2.5. Yarı İnce Kesit Boyama Protokolü	35
2.5. Plazma Kreatin Kinaz Tayini	35
2.5.1 Kullanılan Gereç ve Kimyasallar	36
2.6. Plazma HSP70 Tayini	36
2.6.1 Kullanılan Gereç ve Kimyasallar	37
2.7. İstatistiksel Analizler	38
3. BULGULAR	
3.1. Soleus Total Oksidan Seviye - Total Antioksidan Seviye Sonuçları	39
3.2. Plazma Total Oksidan Seviye- Total Antioksidan Seviye Sonuçları	40
3.3. Plazma CK Sonuçları	41
3.4. Plazma HSP70 Sonuçları	41
3.5. Soleus Kası Histoloji Sonuçları	43
4. TARTIŞMA	57
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
ÖZET	64

SUMMARY	66
KAYNAKLAR	67
EKLER	
EK 1. Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Karar Örneği	74
ÖZGEÇMİŞ	75

ÖNSÖZ

İnsanlığın en başından bugüne hareket; bir iletişim, hayatta kalma ve ifade biçimi olagelmıştır. Zaman geçtikçe, hareketin yaşama katkısının bilgisine daha çok varılmış, sporun insanlığın mental ve fiziksel gelişimine yaptığı etki deneyimlenmiş, egzersiz üzerine daha çaplı araştırmalar yapılmaya başlanmıştır.

"Eksantrik egzersizde farklı eğimlerin kas hasarına etkisi" isimli araştırma ile; egzersiz üzerine bugüne dek yapılan çalışmalara mütevazı bir katkı olarak, çevre düzenlemesi, kentsel yapılaşma, spor gibi farklı disiplinlerin kas hasarına neden olabilecek boyutları üzerine düşünülmesi, disiplinlerarası bir "insan odaklı" planlamanın yürütülmesi yaklaşımı amaçlanmıştır.

Akademik birikimi ve anlayışı ile, araştırmanın planlanması, yürütülmesi ve tez yazımı aşamasında tüm inceliği ve sabırla her zaman yanımda olan tez danışmanım Prof. Dr. Emine Koç'a,

Daha güzel bir dünya için; bilimsel bilgiye erişimin toplumsallaşması, akademik faaliyetin insanlığın hizmetine sunulması yönünde emek vermenin önemini kavratan, düşün dünyama yaptığı eşsiz katkılar ve esininden ötürü Prof. Dr. Erhan Nalçacı'ya,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi birikimim ve akademik anlayışıma yaptıkları katkılarından ötürü değerli hocalarım Prof. Dr. Metin Baştuğ, Prof. Dr. Nezahat Zaloğlu, Prof. Dr. Hakan Fıçıncılar, Prof. Dr. Ahmet Ergün, Prof. Dr. Canan Kalaycıoğlu, Prof. Dr. Metehan Çiçek'e,

Araştırma dizaynının gelişimi ve laboratuvar disiplini geliştirmem konusunda değerli katkılarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ali Doğan Dursun'a,

Yabancıysa olduğum bir alanda çok değerli katkılarını sunan Yrd. Doç. Dr. Deniz Billur'a,

Müziğin ve başka pek çok farklı disiplinin bilimsel faaliyete nasıl zenginlikler kattığı ve bir kadının akademide neden var olması gerektiği konusundaki ilhamı için Uzm.Dr. Emel Güneş'e,

Yüksek lisans eğitimim ve tez yazım süresi boyunca karşılaştığım her sorunda soluğu yanlarında aldığım sevgili arkadaşlarım Fırat Akat ve Sertaç Üstün'e,

Arkadaşlıklarını esirgemeyen İrem Alpaslan, İpek Çelikağ, Yakup Tatar'a,

Deneylerim boyunca yaşadığım tüm teknik sorunlarda yardımlarıyla yanımda olan Fizyoloji Anabilim Dalı personeli Erdal Özkan, İsmail Serbest, Selami Olpak, Ahmet Özsuu ve Fatma Durukan'a,

Deneylerim süresince beni yalnız bırakmayan, Fizyoloji Anabilim Dalı'nın kapısını defalarca birlikte kilitlediğimiz arkadaşım Rıza Temizel'e,

Tüm yaşamım boyunca yanımda olduklarını hissettiren, yaşama sunacağım katkının iyi bir insan olmak gerektiğini hatırlatan, cesaretimin kaynağı babam, annem ve kardeşime,

Son olarak ise ne yapıyorsam ve gelecekte yapmayı planladığım her şeyi adayabileceğim, umudum ve düşlerimin mekanı sevgili ülkeme,

Teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

ΔAbs	Absorbans farkı
μl	Mikrolitre
μmol/L	Mikromol/Litre
C°	Derece Celsius
CK	Kreatin Kinaz
EDTA	Etilendiamin tetraasetikası
Eqv. / L	Equivalent/Litre
g	Gram
HCl	Hidroklorik Asit
HSP70	Isı Şok Proteini 70
KCl	Potasyum Klorür
m/dk	Metre/dakika
mg	Miligram
nm	Nanometre
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
rpm	Dakika devir sayısı (revolution per minute)
TAS	Total Antioksidan Seviye
TEM	Transmisyon Elektron Mikroskobu
TOS	Total Oksidan Seviye
Tris	Hidroksimetil aminometan
U/L	Bir enzim birimi/Litre

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kas hücresi (Vander 2003'ten Türkçe'ye çevrilmiştir)

Şekil 1.2. Miyozin molekülü (Vander 2003'ten Türkçe'ye çevrilmiştir)

Şekil 1.3. Aktin molekülü Vander (2014-Türkçe)

Şekil 1.4. Sarkomer yapısı (Ganong's Review of Medical Physiology'den Türkçe'ye çevrilmiştir, 23. baskı)

Şekil 1.5. Sarkomerin elektron mikroskopundaki görünümü (Ganong's Review of Medical Physiology'den Türkçe'ye çevrilmiştir, 23. baskı)

Şekil 1.6. Kastaki tübüler sistem (Ganong's Review of Medical Physiology'den Türkçe'ye çevrilmiştir, 23. baskı)

Şekil 1.7. Biceps brachii kası eksantrik kasılma örneği (Sisson 2013'ten Türkçe'ye çevrilmiştir.)

Şekil 1.8. Quadriceps kası eksantrik kasılma örneği (Vogt ve ark. 2007'den Türkçe'ye çevrilmiştir)

Şekil 1.9. Farklı sporlarda eksantrik kasılma örnekleri. GKD: Gerim-kısalma döngüsü (Vogt ve ark. 2007'den Türkçe'ye çevrilmiştir)

Şekil 1.10. Tekrarlayan antrenmanların kuvvet kaybı-ağrı-CK sonuçları karşılaştırması (Hyldahl ve ark., 2013'ten Türkçe'ye çevrilmiştir.)

Şekil 2.1. Bilgisayarlı motorize koşu bandı

Şekil 3.1. Kontrol grubu soleus kası örneği (H&E x 40)

Şekil 3.2. Kontrol grubu soleus kası örneği (H&E x40)

Şekil 3.3. Kontrol grubu soleus kası örneği (H&E x 40)

Şekil 3.4. 0° grubu soleus kası örneği (H&E x 10)

Şekil 3.5. -8° grubu soleus kası örneği (H&E x 10)

Şekil 3.6. -16^o grubu soleus kas örneği (H&E x 10)

Şekil 3.7. 0^o grubu soleus kas örneği

Şekil 3.8. -16^o grubu soleus kas örneği (H&E x 20)

Şekil 3.9. -16^o grubu soleus kası örneği (H&E x 20)

Şekil 3.10. -16^o grubu soleus kas örneği (H&E x 20)

Şekil 3.11. Kontrol grubu soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

Şekil 3.12. 0^o grubu soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

Şekil 3.13. -8 grubu^o soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

Şekil 3.14. -16^o grubu soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Kas lifi tipleri özellikleri

Çizelge 1.2. Kas kasılmasının moleküler basamakları

Çizelge 2.1. 0° Ağıştırma grubu protokolü

Çizelge 2.2 -8° ve -16° Ağıştırma grubu protokolü

Çizelge 2.3. 0° grubu antrenman protokolü

Çizelge 2.4. -8° grubu antrenman protokolü

Çizelge 2.5. -16° grubu antrenman protokolü

Çizelge 3.1. Soleus TOS-TAS Sonuçları (μmol/L)

Çizelge 3.2. Soleus TOS (p <0,05)

Çizelge 3.3. Soleus TAS (p:0,159)

Çizelge 3.4. Plazma TOS-TAS Sonuçları (μmol/L)

Çizelge 3.5. Plazma TOS (p: 0,242)

Çizelge 3.6. Plazma TAS (p:0192)

Çizelge 3.7. Serum CK, Serum HSP sonuçları

Çizelge 3.8. Serum CK (p< 0,05)

Çizelge 3.9. Plazma HSP70 (p:0,263)

1. GİRİŞ

1.1. Kas Sistemi

Kas hücreleri mekanik, sinirsel ve kimyasal olarak uyarılabilirliği olan, uyarıldıkları durumda hücre zarı boyunca yayılan aksiyon potansiyeli oluşturan yapılardır.

Kas hücreleri, uyarıya kontraktil yapılarını aktive ederek, kasılarak yanıt verirler. Kasılmayı sağlayan proteinler ise, hareketi sağlayan moleküler motor yapılar olarak tanımlanabilir.

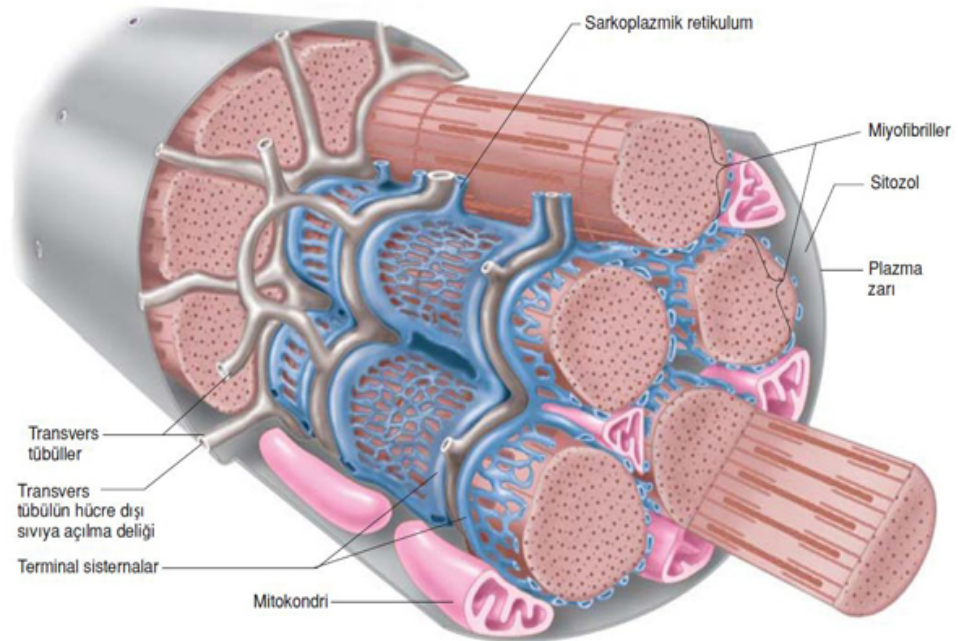
Kas dokusu, 3 esas gruba ayrılarak incelenmektedir.

- İskelet kası
- Düz kas
- Kalp kası

1.2. İskelet Kası Morfolojisi

İskelet kası, çapları 10-80 mikrometre aralığında değişen birbirinden bağımsız çok sayıda kas lifinden oluşur. Kas boyunca uzanan her bir kas lifi, sarkolemma denilen bir hücre zarı ile çevrilidir. Sarkolemma iki katmanlı lipid yapısındadır. Bu iki katmanın içine gömülü integral membran proteinleri yerleşmiştir. Lipid katmanların dışta olanı bazal lamina ile içte olanı ise hücre plazması ile komşuluktadır.

Bir kas lifi, kasılabilir protein içeriğine sahip miyofibrillerden oluşur. Miyofibriller arası hücre dışı alanda sarkoplazmik retikulum bulunmaktadır. Her miyofibrilde, yan yana yer alan miyozin ve aktin filamentleri bulunur. Bu yapılar, kas kasılmasından sorumlu polimerize proteinlerdir.



Şekil 1.1. Kas hücresi (Vander 2003'ten Türkçe'ye çevrilmiştir)

Miyozin filamenti; 6 polipeptit zincirinden meydana gelen miyozin moleküllerinin birleşimiyle oluşur, toplam uzunluğu yaklaşık 1.6 mikrometredir. Miyozin moleküllerinin 'baş' ve 'kuyruk' kısımları bulunur, kuyruk kısımları demet halinde toplanarak filamentin 'gövde'sini, gövdenin baş kısmı ile yana doğru uzanması ise 'kol'u oluşturur. Dışa doğru uzanan kol ve başlar birlikte 'çapraz köprü'yü meydana getirir.

Miyozin başı, globülerpeptit yapıda, ATPaz enzimi olarak fonksiyon görür. Kas kasılması işleminin enerjilendirilmesinde, bu özellik önemlidir.

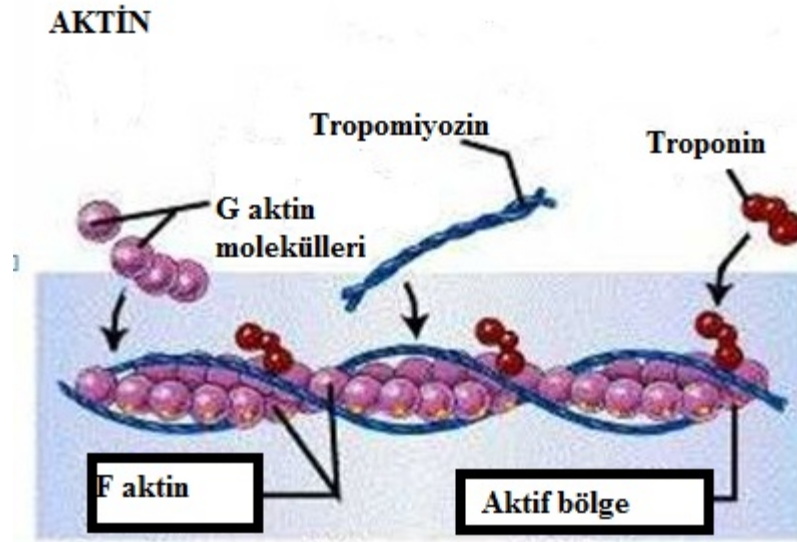


Şekil 1.2. Miyozin molekülü (Vander 2003'ten Türkçe'ye çevrilmiştir)

İnce filament ise; aktin, troponin ve tropomiyozin proteininin bileşiminden oluşan yaklaşık 1 mikrometre uzunluğunda bir yapıdır. Aktin filamentlerinin taban kısmı Z

izgisi içine yerleşir, u kısmı ise miyozin filametleri arasındaki boşluklara doğru uzanır.

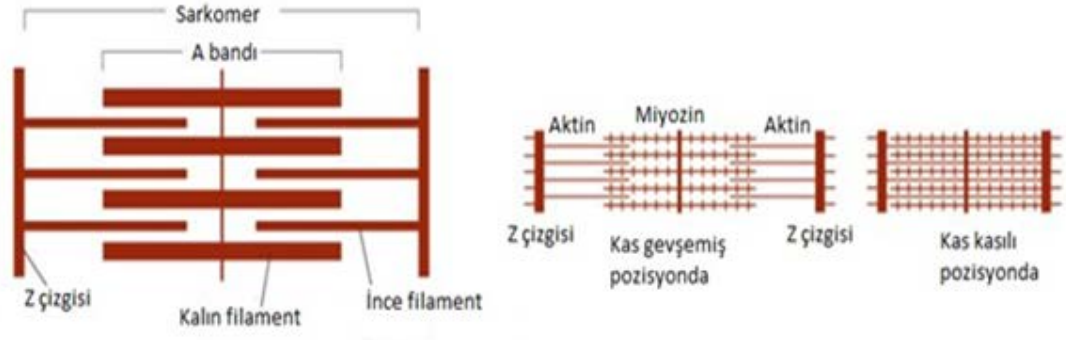
Aktin filamentinin ana unsuru, çift sarmallı F-aktin proteindir. F-aktin molekülleri ise miyozin bağlanma bölgeleri olan G-aktin moleküllerinin ATP varlığında polimerleşmesi sonucunda oluşur. Çift sarmalın her şeridinin bir döngüsünde 13 adet G-aktin vardır. Her G-aktin molekülüne 1 tane ADP tutunmuştur. ADP moleküllerinin aktinin aktif bölgelerini oluşturduğu ve çapraz köprülerle etkileşmelerini sağladığı dşnlmektedir. Aktif bölgeler f-aktin üzerinde 2-7 nm'de bir zikzak şeklinde yerleşmiştir. Aktin filamentleri ortalama 1 m uzunluğundadır.



şekil 1.3. Aktin molekülü (Vander 2014-Türkçe)

Tropomiyozin; dinlenim halinde F-aktine bağlanıp, aktinin aktif bölgelerini kapatarak, aktin ile miyozin arasındaki kasılmaya yol açacak bir etkileşimi inhibe ettiği dşnlmektedir. Bunun için kasılmadan önce; Troponin-tropomiyozin kompleksinin bu inhibitör etkisi engellenmelidir.

Troponin ise; tropomiyozinin bir ucuna tutunmuş, küresel görünümlü bir protein olan troponin her biri kas kasılmasının kontrolünde zgn bir rol oynayan zayıf bağlı üç protein alt biriminden oluşmuştur. Bu alt birimler; aktine bağlanan Troponin-I, tropomiyozine bağlanan Troponin-T ve Ca iyonlarına afinitesi olan Troponin-C 'dir.



Şekil 1.4. Sarkomer yapısı (Ganong's Review of Medical Physiology'den Türkçe'ye çevrilmiştir, 23. baskı)

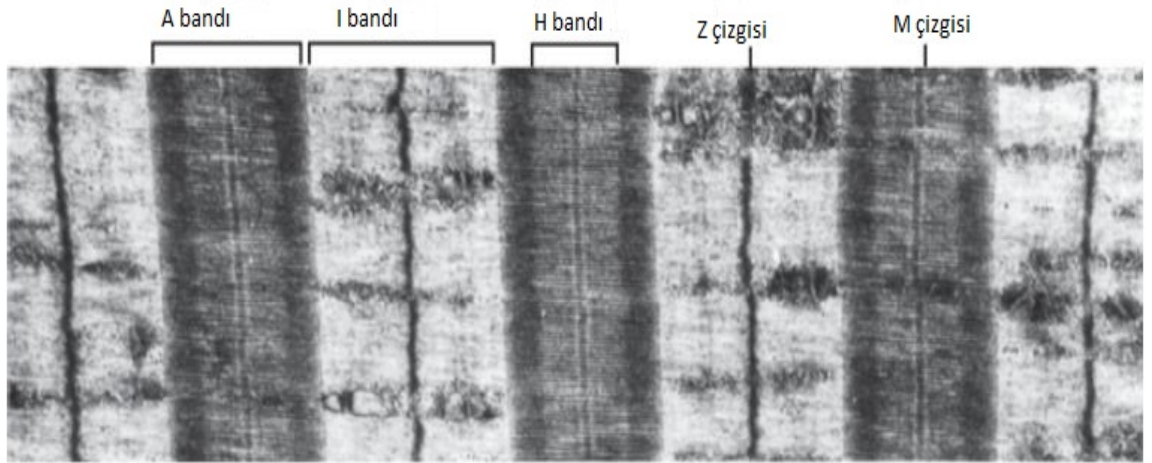
Miyofibriller, aktin ve miyozin proteinlerinin içiçe yapısı nedeniyle, arka arkaya sıralanan koyu ve açık renkli bantlar şeklinde, kalın ve ince filamentlerden oluşan çizgili bir görünüm verirler.

Açık renk bantlar olarak görülen ve aktin, tropomiyozin ve troponin içeren ince filamentler, polarize ışığa izotropiktir, 'I bandı' olarak tanımlanır.

Koyu renk bantlar olarak görülen ve miyozin içeren kalın filamentler, polarize ışığa anizotropiktir, 'A bandı' olarak tanımlanır.

I bandı, koyu renkli Z çizgisi, A bandı ise ince renkli H bandı ile bölünür. H bandı ise, ortasından yatay protein bandı M çizgisi ile bölünmektedir.

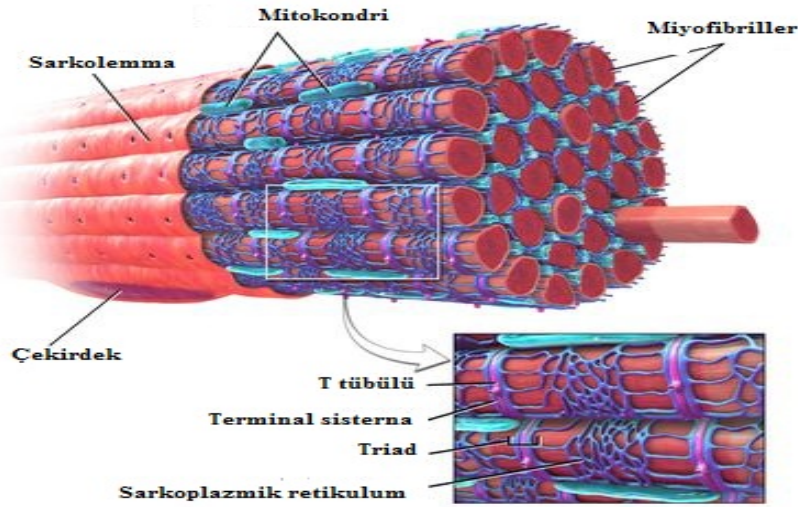
İki Z çizgisi arasında kalan alan 'sarkomer' olarak adlandırılır.



Şekil 1.5. Sarkomerin elektron mikroskobundaki görünümü (Ganong's Review of Medical Physiology'den Türkçe'ye çevrilmiştir, 23. baskı)

Kas fibrilleri, elektron mikroskobunda veziküller ve tübüller şeklinde gözlenen bir membran yapıyla çevrilidir. Bu yapı, T tübül sistemi ve sarkoplazmik retikulumdan (SR) oluşan "sarkotübüler sistem" olarak tanımlanır. T-tübülleri, kas lifi membranı sarkolemmmanın, kas lifi içine doğru çöküntüler yapması ile oluşmuştur, A bandının sonunun kenarından kas lifinin içine geçen SR ve T tübülleri farklı membran sistemleridir. SR tübülleri bir hücre içi sistemi ve kas kasılması sırasında Ca^{+2} hareketi ile ilgili iken, T-tübülleri ekstrasellüler boşluk ile bağlantılıdır, aksiyon potansiyelinin hücre zarından tüm miyofibrillere taşınmasını sağlar.

T tübülleri ile SR'nin komşuluk halinde olduğu yerlerde, tübüller çok genişlemiş terminal sisterna oluşturmuştur. Bir T tübül ve onun 2 yanındaki terminal sisternalar; triad denen yapıyı oluşturur.



Şekil 1.6. Kastaki tübüler sistem (Ganong's Review of Medical Physiology'den Türkçe'ye çevrilmiştir, 23. baskı)

İskelet kasında, bu yapıların dışında aktinin, titin, desmin ve nebulin denen yapısal proteinler de bulunur. Aktinin; aktini Z çizgisine, desmin; Z çizgisini plazma membranına bağlayarak görev yapar.

Nebulin, ince filamentin uzunluğunu ve kasılabilirliğini regüle eder.

Titin ise; kalsiyum bağlayarak sarkomer yapısının sertliğini artırır, Z çizgisini M çizgisine bağlar, çapraz köprülere bağlanan aktinin ayrılmasını sağlar (Herzog, 2014).

İskelet kası, memelilerde farklı tiplerde kas fibrillerinden oluşmaktadır. Fibril tiplerine göre sınıflandırma, miyofibril aktomiyozin ATPaz histokimyası ve miyozin ağır zincir (MHC) izoformlarının immünflorans analizine göre yapılmaktadır. MHC izoformlarına göre insanlarda ise "slow twitch fiber" olarak adlandırılan Tip I fibrillerde oksidatif, "fast twitch fiber" olarak adlandırılan tip IIA, ve IIB fibrillerde ise glikolitik metabolizma baskındır.

Çizelge 1.1. Kas lifi tipleri özellikleri

	TİP I-A (Yavaş oksidatif)	TİP II-A (Hızlı glikolitik-oksidatif)	TİP II-B (Hızlı-glikolitik)
Oksidatif Kapasite	Yüksek	Orta	Düşük
Glikolitik kapasite	Orta	Yüksek	Yüksek
Kuvvet üretimi	Düşük	Orta-Yüksek	Yüksek
Motor Ünite Çapı	Küçük	Büyük	Büyük
Mitokondri yoğunluğu	Yüksek	Düşük	Düşük
Kapiller dağılım	Yüksek	Yüksek	Düşük
Renk	Kırmızı	Kırmızı	Beyaz
Endurans	Yüksek	Orta	Düşük

1.3. Kasılmanın Moleküler Mekanizması

1950'li yıllara dek, kas aktivitesi ve kuvvet üretimi, sarkomerin merkezindeki kalın filamentlerin kısalması ile ilişkilendiriliyordu. Ca^{+2} salınımının, miyozin filamentlerinin oluşturduğu A bandının konumunu sarmal biçimden, yay biçimine dönüştürdüğü, uzun miyozin filamentlerinin Ca^{+2} eşliğinde tetiklediği kılmanın, kas aktivitesinin oluşmasında kritik halka olduğu düşünülüyordu.

Ardından, kas aktivasyonu sırasında kalın filamentlerin kısalmadığı (Huxley, 1953) iddiası ile; "Kayan Filamentler Teorisi" (Huxley ve Niederge, 1954) ortaya çıktı. Kas kasılmasının, kalın ve ince filamentlerin birbiriyle ilişkili kayma hareketi ile ortaya çıktığı görüşü savunuldu, bu görüşün moleküler ve matematiksel çatısı olarak ifade edilen "Çapraz Köprü Teorisi" (Huxley, 1957) geliştirildi.

Teori; kalın filamentlerin çapraz köprü başlarının döngüsel olarak ince filamentler üzerindeki spesifik alanlara bağlandığı görüşüne dayandırıldı ve bir çapraz köprü döngüsü için 1 mol ATP'nin parçalanması gerektiği belirtildi.

Diğer yandan; çapraz köprü hareketinin rotasyon da içerdiği (Huxley, 1969) ve çok sayıda ayrılıp birleşmenin gerçekleştiği bilgisi ise (Huxley ve Simmons, 1971) hızlı gerim ve gevşeme geçişlerini açıklamaya yaramış oldu.

Söz konusu edilen çalışmaların ardından, kas kasılmasının basamakları özetle Çizelge 1.2'deki gibi sıralandı;

Çizelge 1.2. Kas kasılmasının moleküler basamakları

- Motor nöronun deşarjı
- Motor son plaktan, transmitterin salınımı (Asetilkolin)
- Asetilkolinin, nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanması
- Motor son plak membranında, Na^+ ve K^+ geçirgenliğinin artması
- Motor son plakta depolarizasyon ve kas liflerinde aksiyon potansiyelinin oluşması
- T tübüleri aracılığıyla, depolarizasyonun yayılması
- SR'den Ca^{+2} salınımı ve miyofilamentler arasına yayılması
- Ca^{+2} 'un troponin-C'ye bağlanması ve troponin-I ile aktin bağlantısının zayıflaması, tropomiyozin tarafından örtülü olan aktin üzerindeki miyozin bağlanma noktalarının açılması
- Aktin ve miyozin filamentleriyle çapraz köprü ilişkilenecek ve ince filamentlerin kalın filamentler üzerinde kayarak kasın boyunda bir kısalma yaratması

Yukarıda özetlendiği üzere, çapraz köprü teorisi geçtiğimiz yarım yüzyıl boyunca izometrik ve konsantrik kasılmaları açıklamak üzere etkin bir biçimde kullanıldı.

Ancak bu model bizim de çalışmamızda kullanmış olduğumuz eksantrik kontraksiyon modelini açıklamakta kimi eksiklikler barındırmaktadır (Pollack, 1990; Woledge ve ark., 1985).

Kasın boyunun aktif olarak uzamasını takip eden sabit kuvvetlerin, gerimden önceki kuvvetlere nazaran artmış olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum "Rezidüel Kuvvet Artımı" olarak tanımlanmaktadır. Tanımlanan bu kavram, geliştirilmeye ihtiyaç duymakta ve klasik çapraz köprü modelinin açıklamadığı; eksantrik egzersizde daha az olduğu bilinen metabolik talep ve ortaya çıkan daha büyük kuvvet gibi noktaları açıklamaya çalışmaktadır. Bu alandaki çalışmalar, henüz sürmektedir.

Kas kasılması, 3 farklı tipte oluşmaktadır. Kasılma tipleri şöyledir;

İzometrik kasılma: Kasın tonusu artar, boyunda bir değişiklik olmaz.

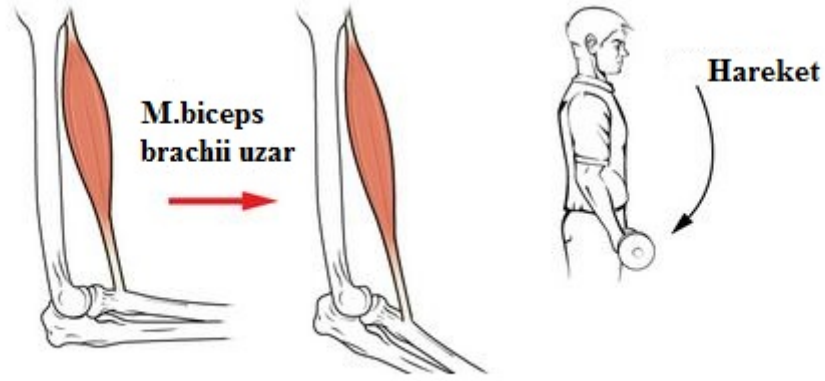
Konsantrik kasılma: Kasın boyunun kısalıp, eklem açısının azaldığı kasılma tipidir.

Eksantrik kasılma: Kasın boyunun uzaması, gerim altında kuvvet oluşması ile meydana gelir.

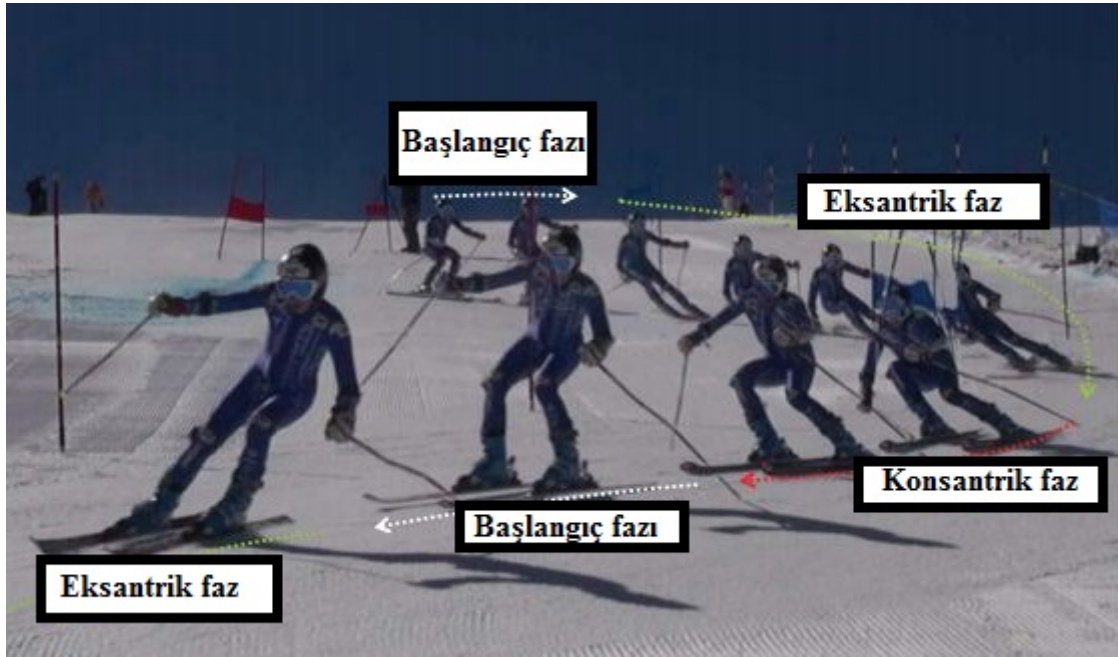
1.4. Eksantrik Kas Kasılması

Eksantrik kasılma; kas boyu uzarken tonusunun arttığı dinamik bir kasılma modelidir. Kelime kökeni olarak ex-centric; merkezden uzaklaşma demektir, eksantrik kasılmada da kas uzarken orjininden uzaklaşmaktadır.

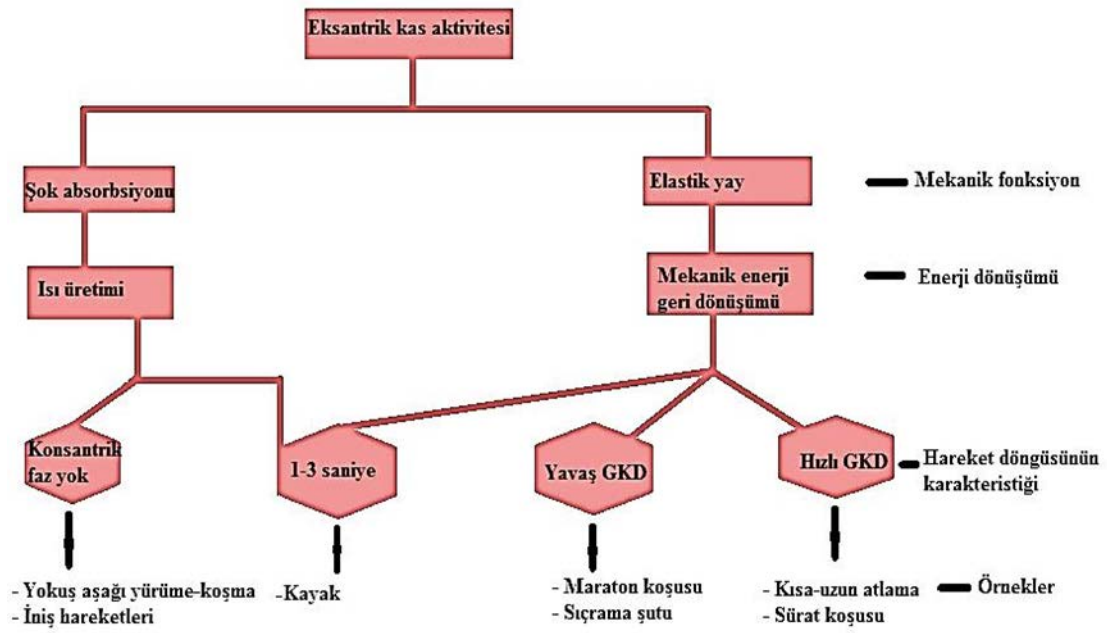
Konsantrik kasılma hareketi başlatırken, eksantrik kasılma yavaşlatmakta ya da durdurmaktadır. Elimizde tuttuğumuz bir ağırlığı masaya koyarken biceps brachii kası, yokuş aşağı koşarken soleus kası, çömelme pozisyonunda soleus ve gastrocnemius kası eksantrik olarak kasılmaktadır. Yokuş aşağı yürürken quadriceps femoris kası da; diz fleksiyonunun hızını kontrol ederken yer çekimine karşı her adımda eksantrik olarak kasılmaktadır.



Şekil 1.7. Biceps brachii kasının eksantrik kasılma örneği (Sisson 2013'ten Türkçe'ye çevrilmiştir.)



Şekil 1.8. Quadriceps kası eksantrik kasılma örneği (Vogt ve ark. 2007'den Türkçe'ye çevrilmiştir)



Şekil 1.9. Farklı sporlarda eksantrik kasılma örnekleri. GKD: Gerim-kısalma döngüsü (Vogt ve ark. 2007'den Türkçe'ye çevrilmiştir)

Eksantrik kasılma, bir dizi eşsiz özellik içermektedir. Klasik çapraz köprü modeli kasın dinamik kısalma yanıtını açıklarken, dinamik uzama yanıtı şeklindeki kasılma biçimini açıklamaya yetersiz kalmaktadır (Harry ve ark, 1990). Meydana çıkan kuvvet, izometrik ya da konsantrik kasılma ile karşılaştırıldığında daha fazladır (Hill, 1938), metabolik enerji talebi daha azdır, kasılmayı takip eden süreçte ortaya çıkan kas kuvveti ise artmıştır (Abbott ve Aubert, 1952).

Elit sporcularda, eksantrik egzersiz modaliteleriyle çalışmanın, kuvvet ve performans üzerinde geliştirici etkisi olduğu belirtilmektedir (Horobeti ve ark., 2012). Eksantrik antrenmanın, yaralanmayı engelleyen etkileri de gösterilmiştir (Cowell ve ark., 2012; LaStayo ve ark., 2003). Tendinopati, ön çapraz bağ gibi ortopedik yaralanmaların rehabilitasyonunda ise, eksantrik egzersizlerin iyileşme üzerinde konsantrik egzersize göre daha olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir (Bahr ve ark., 2006; Gerber ve ark., 2009; Saithna ve ark., 2012)

Tüm egzersiz modelleri ağırlı olabilmektedir ancak eksantrik egzersiz antrenmansız koşullarda, ilerleyen saatlerde kasta sertlik ve ağrıya neden olmaktadır. Egzersizin

hemen ardından ağrı görülmemekte ancak saatler içinde artan ve 48 saat içinde tepe noktasına erişen bir ağrı tarif edilmektedir.(Proske ve Morgan, 2001)

1.4.1. Eksantrik kasılma ve kas hasarı ilişkisi

Kasın gerim altında uzadığı ve karşıt kuvvetlerin kasın ürettiği kuvvetten fazla olduğu durumda, kasta hasarlanmanın daha fazla olduğu bildirilmektedir. Eksantrik kasılmayı takip eden süreçteki kas hasarının; mekanik kaynaklı olabileceği (Friden ve Lieber, 2001), sarkomer boyu heterojenitesi nedeniyle kasın boyu uzadığında zayıf sarkomerin vereceği yanıt (Morgan ve Proske, 2004) bağlı olduğu iddia edilmektedir. Kastaki gerimin, gerimle aktive olan Ca^{+2} kanallarını aktive edeceği (Overgaard ve ark., 2002), artan hücre içi Ca^{+2} miktarının calpain gibi hücre içi proteazların aktivasyonunu sağladığı (Belcastro, 2005) söylenmektedir. Kasta lökosit infiltrasyonu ve pro-inflamatuar sitokinlerde artış görüldüğü bildirilmektedir (Peake ve ark., 2005).

Hasar yanıtı olarak gözlemlenen bir diğer bulgu da ağrı ve hassasiyet olmaktadır. Yokuş aşağı koşunun ardından kaslarda değerlendirilen hassasiyet bulgularında, en fazla hassasiyetin distal kas-tendon birleşim yerinde olduğu görülmüştür (Cleak ve ark., 1992)

Antrene olmayan bir kasta eksantrik kontraksiyon sonrası ağrı, 24-72 saat içinde tepe noktasına ulaşır ve 5-7 gün aralığında sürer, bu tablo DOMS(Delayed Onset Muscle Soreness) -gecikmiş kas ağrısı sendromu- olarak bilinir. Ağrı; kastaki yapısal hasar, Ca^{+2} homeostazisindeki bozulma, tip 4 sinir sonlanmalarındaki sensitizasyon ile açıklanmaktadır.

Kas hasarını takiben nötrofil akını ve makrofaj dalgalanmaları açıklığa kavuşturulmuştur. Egzersiz sonrası inflammatuar yanıtla ilişkin, inflammatuar hücrelerin aktivasyonu ve hareketine etki eden monosit kemoatraktan protein-1'in (MCP) hızlı ve dramatik upregulasyonu gözlenmiştir. Hasarlı membrandan MCP-1'in salınımı, inflammatuar hücrelerin dolaşımını tetikler.

Ayrıca histamin, bradikinin, prostoglandin E2 gibi maddelerin salınımı, nosiseptörleri uyarak kasta bir hipersensitizasyon ve ağrı artışına neden olur. Eksantrik kontraksiyon sonrası bradikininin hiperaljezide merkezi bir rol oynadığı görülmüştür.

NGF mRNA'sı da eksantrik kontraksiyona yanıt olarak upregüle olmuştur. NGF antikoru kasa enjekte edildiğinde, hiperaljezinin tamamen yok olduğu görülmüştür.

Genel bir fikir birliğince, miyofibrildeki sarkomer kopmaları ve eksitasyon-kontraksiyon ilişkisinin bozulması, kas hasarının işaretleri olarak nitelendirilmektedir. Hasarın sarkomerin aşırı gerimiyle başladığı fikrine karşın (Morgan ve Allen,1999), eksitasyon-kontraksiyon ilişkisinin komponentlerindeki hasarın önsel olduğu görüşü de vardır.

Hasarla ilişkili olası mekanizma; eksitasyon-kontraksiyon ilişkisinin bozulması, (Warren ve ark., 1993) her aksiyon potansiyeli için daha az Ca^{+2} 'un salındığını önermekte, kimi çalışmalarda eksantrik egzersiz sonrası hasarın %75 ve daha fazlasının eksitasyon-kontraksiyon ilişkisinin bozulmasıyla ilgili olduğu belirtilmektedir (Warren ve ark., 2001; Allen ve ark., 2001). Eksantrik egzersizi takiben gözlemlenen anormal t tübülü dizilimi de bu hipotezi destekler şekilde ifade edilmiştir (Takekura ve ark., 2001).

Histolojik çalışmalar, kas lifindeki kontraktıl elemanların aktive olmasının yetersizliğiyle eksantrik kontraksiyona bağlı gelişen kuvvet defisitlerini işaret etmektedir. İntramusküler enzimler ve miyogloblin miktarındaki azalmalar, sarkolemma bütünlüğünün bozulmasıyla ilişkilendirilmekte ve eksantrik kontraksiyon sonrası izlenmektedir (Schwann ve Armstrong, 1983). Sarkolemma bütünlüğündeki bozulma, hücre içi ve dışı Na^{+} ve K^{+} konsantrasyonlarında denge kaybına bu da aksiyon potansiyeli iletiminde soruna neden olmaktadır.

Metabolik aşırı yüklenme ve mekanik hasarın, kas hasarına neden olabileceği belirtilmektedir. Düz koşu ile yokuş aşağı koşunun karşılaştırıldığı bir çalışmada, glikojen tüketiminin ve sarkomer kaybının birlikte seyri ilk gruptaki hasarın metabolik kaynağına, kaslardaki kopma yanıtının ise ikinci grupta gözlenmesi

eksantrik kasılmalara bağılı hasarın mekanik kaynağına işaret etmiştir (Appell ve ark., 1992).

Myofibriler kopmaların derecesi, gönüllü aktivite ve elektrik stimülasyonu sonuçlarında değişkenlik göstermektedir(Crameri ve ark., 2007). Elektrik stimülasyonu sonuçları, daha büyük hasar yanıtları göstermiştir.

Elektron mikroskobu çalışmalarında, eksantrik egzersiz sonrasında Z çizgisi devamlılığında 2-7 gün aralığında bozulmalar görülmüştür. Z çizgisindeki bozulmalar 24-72 saat sonrasında alınan kas örneklerinde, egzersizden hemen sonra alınan örneklerle nazaran daha fazla bulunmuştur (Newham ve ark., 1983).

Miyofibriler parçalanmaların, eksantrik kontraksiyonda konsantrik kontraksiyona nazaran daha yaygın olduğu görülmüştür (Friden ve ark., 2001)

Öte yandan, kas hasarının primer mekanizmasının kas ağrısı ve kuvvet kaybına neden olduğu düşünülse de, aradaki ilişki tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir (Newham ve ark., 1984).

Eksantrik kasılmanın ardından en sık görülen yanıtlardan kuvvet kaybı hasarla ilişkilendirilmektedir. Kısa süreli kuvvet kaybı izometrik ve konsantrik kasılmalarından sonra da görülmekte ancak daha az sürmektedir. Eksantrik kasılmalarda daha uzun görülen kuvvet kaybı, SR hasarına bağlanmaktadır. SR hasarında, Ca^{+2} 'un normal seviyesine dönmesi gecikmekte ve normal kuvvet yanıtlarının gelişimi bozulmaktadır. (Clarkson ve ark., 1992). Gerçekten de, değişmiş SR fonksiyonuna bağılı hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun regülasyonu uzamıştır (Fitts ve ark., 1982).

Ara filamanlar ve konnektif dokunun, hasarı azaltıyor olabileceği belirtilmektedir (Koh ve ark, 1998).Örneğin yüksek desmin konsantrasyonuna sahip kaslar, eksantrik egzersize bağılı gelişen hasara daha dirençli bulunmuştur. Desmin kaybı, hayvan çalışmalarında eksantrik kontraksiyona verilen ilk yanıt olarak gözlenmiş (Lieber ve ark, 1994), ardından inflamasyon süreci izlenmiştir. Desmin kaybı ile kuvvet kaybı arasında bir korelasyon olduğu iddia edilmiştir(Lieber ve ark, 1996).

İnsan çalışmalarında ise, eksantrik kontraksiyon sonrası desmin artışının rejenerasyona işaret ettiği belirtilmektedir.

Kuvvet kaybını açıklayan bir diğer çalışmada ise; sarkomerlerin kas lifinin sonuna doğru kısaldığı, uzama hareketinin bazı sarkomerlerde ayrılmalara neden olduğu, aktin ve miyozin filamentleri arasındaki üst üste gelmenin azaldığı, bunun da çapraz köprü sayısını azalttığı önerilmiştir.

Eksantrik kasılma sırasında kuvvet kaybındaki azalmanın kasın uzama derecesine bağlı olduğu, kasın uzama miktarı ile kuvvet kaybının ve toparlanma süresinin doğru orantılı olduğu belirtilmektedir (Newham ve ark., 1988)

Kas lifi tipinin de eksantrik egzersiz ile gelişen hasara etkisi olduğu ifade edilmektedir. Yavaş kasılan, düşük eşikli ve önemli postural rolleri olan motor ünitelerin hasara eğilimi olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (Armstrong ve ark., 1983; Mair ve ark., 1992).

Aynı kastaki büyük ve hızlı motor ünitelerin daha çok hasarlandığını söyleyen çalışmalar ise bunu oksidatif kapasite yetmezliği ile açıklamaktadır (Friden ve Lieber, 1998).

Eksantrik egzersiz sonrası hızlı-glikolitik liflerdeki hasarın daha fazla olduğu iddiası ek olarak kısa kas lifi uzunluklarına bağlanmıştır (Lieber ve Friden, 1999). Hızlı-glikolitik liflerdeki hasar hipotezini destekleyen bir diğer çalışma ise; lif fenotipinin ve düşük kontraktil iş yükünün hasardan sorumlu olabileceğini belirtmektedir (Vijayan ve ark., 2001).

Sarkomer heterojenitesine dayandırılan bir diğer iddia ise, eksantrik kontraksiyon sırasında kas lifinin uzunluk değişimlerine ilişkindir. Buna göre, farklı lif tipleri için optimal uzunluk aynı değildir ve gerim sırasında kimi kas lifleri daha fazla uzamaktadır.

Hızlı ve yavaş kasılan kaslarda yapılan çalışmalarda, iki tipte de uzunluk-gerim ilişkisinde değişiklik gözlenmiştir. Aktif gerimdeki optimum uzunluğun iki grupta da değişmesi, iki lif tipinin de zarar gördüğünü göstermiştir ve iki grup arasındaki

değişiklik oranlarında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durumun özet olarak, kas lifi tipinin hasar üzerinde belirleyici olmadığını söylediği iddia edilmiştir.

Aynı kasta farklı tipte liflerle çalışıldığında ise, farklı oranlarda hasarlanma görülmüştür. Hızlı kasılan motor ünitelerin gerim sırasındaki optimum uzunluğunun, tüm kasın optimum uzunluğundan kısa; yavaş kasılan motor ünitelerin ise optimum uzunluğunun tüm kasınkinden uzun olduğu belirtilmiştir. Yavaş kasılan üniteler hızlı olanlara göre daha küçük bir değişiklik göstermiştir. Bu doğrultuda, motor ünitenin optimum uzunluğunun, kasın optimum uzunluğuna oranının, motor ünite tipine göre daha iyi bir hasar göstergesi olduğu belirtilmiştir (Brockett ve ark., 2001).

Hasarın bağlı olduğu parametreler arasında; egzersizin tipi-şiddeti-yoğunluğu, seçilen kas grubu, egzersizin gönüllü ya da elektrik stimülasyonu ile yapılması ve genetik değişkenlik gösterilmektedir (Lauritzen ve ark., 2009). İnsanda yapılan çalışmalarda, üst ekstremitede eksantrik egzersize hasar yanıtı, alt ekstremiteye göre daha fazla bulunmuştur. Bu durumun kaynağı olarak, üst ekstremitenin alt ekstremiteye göre daha az kullanılıyor oluşu gösterilmektedir.

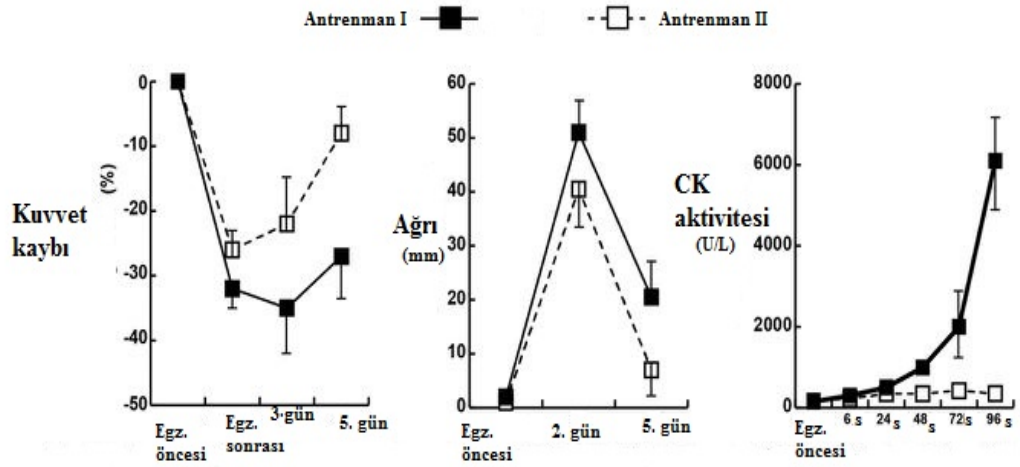
1.4.2. Eksantrik egzersiz ve adaptasyon

Eksantrik egzersizle gelişen hasar yanıtına en güçlü düzenleyicinin egzersiz öncesi planlanan koruyucu egzersiz olduğu bilinmektedir.

Eksantrik egzersizden önce devamlılık arz eden şekilde yapılan antrenman ile, DOMS'a bağlı işaret ve semptomların yok olduğu görülür, eksantrik egzersizin bu koruyucu bu etkisi ilk kez 1995'te Repeated Bout Effect (RBE) olarak tanımlanmıştır.

RBE yüzyılın başından beri gözlemlenmiştir (Hough ve ark, 1902) ve üzerine çalışmalar sürmektedir. RBE ile, egzersize bağlı gelişen hasarın indirekt belirteçlerinde iyileşme yönünde bir değişime neden olur.

Tekrarlayan egzersiz ile; kuvvet kaybı, ağrı, serum CK aktivitesinde azalma gözlenmiştir.



Şekil 1.10. Tekrarlayan antrenmanların kuvvet kaybı-ağrı-CK sonuçları karşılaştırması (Hyldahl ve ark., 2013'ten Türkçe'ye çevrilmiştir.)

Egzersiz sonrası kaslarda meydana gelen ağrı ve sertliğin, egzersiz 1 hafta sonra tekrarlandığında daha az geliştiği uzun yıllardır bilinmekte ve kasın adaptasyonu ile açıklanmaktadır. Altında yatan mekanizma ise halen tartışmalıdır.

İlk egzersizi takiben, stres altında kalan zayıf liflerin geri dönüşümsüz bir hasara maruz kaldığı, güçsüz liflerin eliminasyonu ardından güçlü liflerin tamir sürecinin ve adaptasyonun bir parçası olduğunu iddia etmektedir (Armstrong ve ark, 1983).

RBE mekanizması net olarak anlaşılmassa da, kas hasarını takip eden süreçte sarkomer sayısı artışı olabileceği iddia edilmektedir. Aynı kasın farklı bölgelerinde farklı adaptasyonlar geliştiği gözlenmiştir. Eksantrik egzersizi takiben vastus intermedius kasında sarkomer sayısı artışı görülürken, vastus lateraleste görülüyor oluşu, sinerjist 2 kasın, farklı adaptasyonlar geliştirdiğini düşündürmektedir (Lynn ve ark, 1994)

Kas liflerinin uzunluğu bir veri olarak sunulmakta, kısa olan liflerde gerime bağlı hasarın daha fazla olacağı belirtilmektedir. Sarkomer kaybı, kasın lateral bölgelerinde izlenmezken, merkez derin bölgelerde görülmüştür bu durum lateral bölgelerde daha uzun olan lif uzunlukları ile ilişkilendirilmektedir.

Sarkomerogenezisin ilk nedeni olarak kas tendon ünitesi arasındaki gerim neden gösterilmektedir.

Egzersiz sonrası sarkomer sayısı artışı, ara filamanların yeniden yapımı, kasın mekanik özelliklerindeki değişim -sertlik gibi- değişikliklerin boyutunun, kullanılan egzersiz modeliyle ilişkili oluşu, adaptasyonun tamamen bu faktörlerle açıklanmasını zorlaştırmaktadır.

Kasın ekstrasellüler matriksindeki (ECM) değişimin, tekrarlayan egzersizle gelişen adaptasyona katkı sağladığı düşünülmektedir (Kjaer ve ark., 2004). ECM, eksantrik egzersize anlamlı bir değişimle yanıt vermektedir; kollajen yoğunluğu(I, II, IV, XII), lamininler ($\beta 1$, $\beta 2$, $\alpha 5$), ve matriks büyüme faktörleri (TGF- β , IGF-1) artışı izlenmektedir. ECM'nin artmış konnektif doku aracılığı ile tekrarlayan egzersizlerde hasarı engellediği iddia edilmektedir (Mackey ve ark, 2004).

Eksantrik egzersiz sonrası gelişen adaptasyon sürecinde kas lifindeki sarkomer sayısının artışına işaret edilmiştir.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 1 haftalık bir yokuş aşağı ve yokuş yukarı koşu egzersizi sonrasında, yokuş aşağı koşanlardaki Vastus intermedius kasının sarkomer sayısının %11 arttığı görülmüştür.

Öte yandan eksantrik egzersiz sonrası kas lifleri yeniden şekillenecek ise bu süreç hasarı takip eden 1 hafta içinde tamamlanacak kadar hızlı olmalıdır. Kasın bu şekilde hızlı bir adaptasyona sarkomer düzeyinde ulaşması mümkün müdür sorusu ekseninde yapılan çalışmalarda, uzamış pozisyonda immobilize edilen kaslarda 5 gün içinde sarkomer sayısının arttığı görülmüş ancak hücresel düzeydeki kesin nedenleri henüz aydınlanmamıştır. Fakat kasın bu şekilde hızlı bir adaptasyona gidişi önemli bir veridir.

1.5. Kreatin Kinaz

Kreatin kinaz (CK), iskelet kası, kalp kası ve beyinde bulunan bir enzimdir. CK, her biri 40.000 dalton molekül ağırlığına sahip iki alt ünitelerden oluşan dimer yapıda bir enzimdir. Bu alt ünitelerden bir B (brain) diğeri M (muscle) olarak ifade edilir.

Enzimin dimer şekli aktiftir, monomerler üç farklı şekilde bağlanarak farklı kreatin kinaz izoenzimlerini oluşturur. Bu izoenzimler CK-BB (CK-1), CK-MB (CK-2), CK-MM (CK-3)'tür.

CK-BB (CK-1) beyin, prostat, kalın barsak, akciğer, mesane, uterus, plasenta ve tiroid bezinde fazla miktarda bulunmaktadır. CK-MM (CK-3) daha çok iskelet ve kalp kaslarında bulunmaktadır. CK-MB (CK-2) farklı derecelerde kalp kasında (CK aktivitesinin % 16-24'ü) ve iskelet kasında (%5'den az) bulunur (Bhagavan ve ark., 2002)

Kan serum seviyesindeki CK'nın artışı, kas hasarının niteliksel bir göstergesidir (Evans ve ark 1991). Kas hasarının tespit eden çalışmalarda en sık ve yaygın kullanılan enzim CK'dır (Murray ve ark., 1998). Egzersizin sebep olduğu kas hasarında CK aktivitesi yaş, egzersizin tipi, cinsiyet gibi değişkenlerden etkilenmekte, farklı ırklara mensup kişilerde de değişiklikler gözlemlenmektedir (Chen ve ark., 2014).

Sarkolemmayı normal koşullar altında geçemeyecek kadar büyük olan moleküller, hücre zarındaki hasarlanma sonrası hücre dışına çıkar ve plazma konsantrasyonun artmasına neden olur. Bu nedenle CK konsantrasyonunda meydana gelen artış, doku hasarıyla orantılıdır.

Egzersizden sonra CK seviyesinde yükselmenin başladığı, 48 saat sonra tepe seviyesine yükseldiği, 7 gün boyunca kandaki CK seviyesi yüksekliğinin azalarak sürdüğü görülmüştür (Serrao ve ark., 2003).

Eksantrik egzersizi takiben yapılan ölçümlerde çok sayıda çalışmada plazma CK enziminin yükseldiği gözlenmiştir (Newham ve ark.,1988; Friden ve ark., 1989).

1.6. Total Oksidan Status / Seviye

Oksidatif stres; mevcut oksidatif-antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelir ve bir patolojiye işaret eder. Toplam oksidatif stres değeri, Total Oksidan Status/Seviye (TOS) olarak ifade edilmektedir. Antioksidan tampon mekanizması yetersiz olduğunda, nitrojen türlerinin üretimi veya reaktif oksijen türleri üretim mekanizmasındaki yetmezliklere bağlı olarak gelişir.

1.7. Total Antioksidan Status / Seviye

Total Antioksidan Status (TAS); total antioksidan kapasiteyi göstermektedir. Normal koşullarda organizma, endojen ve ekzojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresle savaşan bir antioksidan savunma sistemine sahiptir ve oksidan durumu tamponize eder. Antioksidanlar kan ile tüm vücuda yayılmaktadır (Ghiselli ve ark., 2000) ve plazmada etkileşim halinde bulunmakta, bu şekilde teker teker gösterecekleri etkiden daha büyük bir etki göstermektedirler (Erel ve ark., 2004).

1.8. Isı Şok Proteinleri

Isı Şok Proteinleri (HSP), ilk olarak 30 dakika süreyle 37°C'de ısıya maruz bırakılıp; daha sonra 25°C ısıya düşürülen *Drosophila melanogaster* (sirke sineği) tükürük bezi hücrelerindeki kromozomal kümelerde 1962 yılında tariflenmiştir. HSP'ler, mayalar, bitkiler, prokaryotlar ve ökaryotlarda filo genetik olarak korunmuş ailelerden biridir (Rylander ve ark., 1999).

Bu proteinlerin molekül ağırlıkları 15 kDa ile 110 kDa arasında değişmektedir ve isimlendirilmeleri molekül ağırlıklarına göre olmaktadır (Fen ve ark., 2004).

Isı şok proteinleri hücredeki fonksiyonlarına göre sürekli sentezlenenler ve stres uyarına bağlı olarak salınanlar (HSC-HSP) olmak üzere ikiye ayrılırlar (Tutar, 2006). Sürekli sentezlenenler normal hücre şartlarında henüz katlanmamış polipeptitlere bağlanarak bunların doğru şekilde hedef organellere taşınmasını

sağlarlar. Stres uyarana bağlı salınanlar ise stres koşullarına bağlı olarak ortaya çıkan hücre hasarını sınırlandırmak, proteinlerin agregasyonunu önlemek, bozulan proteinlerin uzaklaştırılmasını sağlamak ve stres kaynaklı hücre ölümüne engel olmak görevlerini üstlenir (Kayhan ve ark., 2010).

Hücre içi moleküller olarak bulunan HSP'lerin hücre dışı kompartmana da salındığı bildirilmiştir (Hightower ve ark., 1989). İskemi, serbest oksijen radikalleri, hormonlar, antibiyotikler, hipoksi, basınç artışı, sitokinler ve enfeksiyonu içeren stresin yoğun olduğu durumlarda HSP yükselmesinin tetiklenebileceği görülmüştür. HSP sentezinin indükleyicileri arasında ısı şoku, oksidanlar, çevresel stres, ağır metallere maruziyet, iskemi veya inflamasyon sayılabilir.

HSP70, proteinlerin üç boyutlu yapıya erişmesini ve bu yapılarını korumasını sağlayan, türler arasında evrensel olarak bulunan önemli bir proteindir. Translasyon, membranlar arasında protein taşınımı gibi hücresel görevlerine ek olarak üçüncül yapılarına kısmi olarak erişmiş proteinlere bağlanıp agregasyonu önler ve hücreleri stresten korur. Farklılaşan bu fonksiyonlar, substratın proteine bağlanma ve salınmasına bağlı olarak düzenlenmiştir.

Egzersiz sonrası kas dokusunda HSP70 miktarının arttığı bildirilmektedir. Konsantrik egzersizde, eksantrik egzersize göre daha fazla artış gözlenmiş, konsantrik-eksantrik döngünün olduğu egzersize göre ise, eksantrik egzersizde HSP70 artışı daha fazla bulunmuştur. Yokuş yukarı koşu egzersizi daha fazla metabolik enerji talep eder, yokuş aşağı koşu egzersizinde ise fiziksel stres ve doku hasarı daha fazladır ancak, HSP70 yanıtı yokuş yukarı egzersize daha fazla olmuştur, bu durum HSP70 yanıtının metabolik stresle ilgisine dikkat çekmektedir (Lollo ve ark., 2013).

HSP70 yanıtındaki artışın hipoksi, sıcaklık artışı ve serbest radikal oluşumuyla ilişkilendirilebileceği bildirilmektedir (Khalil ve ark., 2011). Kas lifi tipinin de etkili olacağı, hızlı liflerin anaerobik mekanizmayı kullanacağı için yavaş liflere göre oksidatif stresten daha az sorumlu olacağı belirtilmektedir, yokuş yukarı koşu egzersizi sonrası gastrocnemius kasında soleusa göre daha fazla HSP70 artışı bu durumu desteklemektedir (Oishi ve ark., 2002).

1.9. Çalışmanın Amacı

Eksantrik kontraksiyonlar, kas hasarına neden olabileceği gibi, doğru planlandığında iyi antrene sporcularda kas kuvvetinin artırılması, kimi durumlarda ise kas hasarının önlenmesi için de kullanılmaktadır.

Eksantrik egzersiz, sınırlı egzersiz kapasitesi olan bireylerde de fonksiyonel kapasitelerini ve hayat kalitelerini artırmak için de ılımlı olarak uygulanabilmektedir.

Günlük yaşamın önemli bir parçası, antrene sporcularda yaralanmayı engelleyen ve kuvvet artımını sağlayan kasın eksantrik kasılma modeli, kas hasarına da neden olabilmektedir.

Farklı eğimlerde gerçekleşen eksantrik kontraksiyonlar, kas hasarı sonuçları açısından değişken veriler sunabilir. Bu nedenle hem rehabilitasyon modalitelerinin bir parçası olan hem de kas hasarı yaratma ihtimali bulunan eksantrik kontraksiyonlar; imar yönetmeliklerinde yer alan eğim sınırları göz önünde bulundurularak; çevre düzenlemesi-kentsel mimari ve antrenman protokolleri ile olan ilişkisi, halk sağlığı üzerine olabilecek etkisi dolayısıyla araştırmaya değer görülmüştür.

1.10. Çalışmanın Hipotezi

Araştırmanın hipotezi şu şekilde belirlenmiştir;

- Eksantrik egzersiz, plazma CK düzeyi, HSP düzeyi, TAS/TOS düzeyi ile soleus TAS/TOS düzeyini arttıracak, histolojik olarak hasar bulguları yaratacaktır.
- Eksantrik egzersizin yaratacağı hasar bulguları, kullanılan egzersiz modelindeki eğim derecesi ile paralellik gösterecek, artan eğim ile hasar yanıtları da artacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Deney Hayvanları

Deney hayvanı olarak 32 adet 10 haftalık Wistar Albino türü erkek sıçan kullanıldı. Denekler Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Yetiştirme ve Temini Laboratuvarı'ndan temin edildi. Sıçanlar ortam adaptasyonu amacıyla deneyler başlamadan 2 hafta önce Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda antrenman protokolünün uygulanacağı laboratuvara getirildi. 22°C'lik klimatize ortamda, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsünde, serbest şekilde su ve besin alarak tutuldular. Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 04.09.2013 tarih ve 15/119 sayılı karar numarası ile alınan etik kurul onayı EK 1'de verilmiştir.

2.2. Deney Grupları

Deney hayvanları ortam adaptasyonu sürecinden sonra rastgele olarak 4 ayrı gruba ayrıldı. Kontrol grubu ve antrenman grupları şeklinde, her grupta 8 deney hayvanı olacak şekilde 4 grup belirlendi. Antrenman grupları; 0°, -8°, -16° eğimde koşacak gruplar olarak ayrıldı. Deneyler Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektronik Mühendisliği Bölümü tarafından tasarlanmış ve imal edilmiş olan hız, eğim ve ceza kontrolü yapılabilen küçük deney hayvanları için bilgisayarlı motorize koşu bandında gerçekleştirildi.



Şekil 2.1. Bilgisayarlı motorize koşu bandı

2.2.1. Aıştırma ve Antrenman Grupları

Kontrol grubu dışındaki hayvanlar, 10 günlük bir "koşu bandı ve egzersize alıştırma" protokolüne tabi tutuldular (Dursun ve ark., 2013). Aıştırma koşularından önce ve sonra, her deney hayvanı için vücut ağırlığı ölçümü yapıldı. Aıştırma protokolleri, Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2'de ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

Çizelge 2.1. 0° Ağırtırma grubu protokolü

Gün	Süre (dakika)	Hız (m/s)	Eğim (°)
1	5	5	0
	5	10	0
	5	15	0
2	5	5	0
	5	10	0
	5	15	0
3	10	10	0
	5	15	0
4	10	10	0
	5	15	0
5	10	10	0
	5	15	0
6	5	10	0
	5	15	0
	5	20	0
7	2	10	0
	5	15	0
	8	20	0
8	2	10	0
	3	15	0
	10	20	0
9	2	10	0
	3	15	0
	5	20	0
	5	25	0
10	2	10	0
	3	15	0
	5	20	0
	5	25	0

Çizelge 2.2. -8° ve -16° Ağıştırma grubu protokolü

Gün	Süre (dakika)	Hız (m/s)	Eğim (°)
1	5	5	0
	5	10	0
	5	15	0
2	5	5	0
	5	10	0
	5	15	0
3	10	10	-2
	5	15	-2
4	10	10	-2
	5	15	-2
5	10	10	-2
	5	15	-2
6	5	10	-3
	5	15	-3
	5	20	-3
7	2	10	-3
	5	15	-3
	8	20	-3
8	2	10	-3
	3	15	-3
	10	20	-3
9	2	10	-4
	3	15	-4
	5	20	-4
	5	25	-4
10	2	10	-4
	3	15	-4
	5	20	-4
	5	25	-4

10 günlük alıştırma protokolünün ardından, antrenman grupları 3 günlük bir dinlenme periyoduna alındılar. Ortalama vücut ağırlıkları 0° grubunda $245 \pm 12,31$ gram, -8° grubunda $233 \pm 7,45$ gram, -16° grubunda $231 \pm 11,65$ gram olarak ölçüldü. Dinlenme sürecinin ardından, 14, 15, 16, 17, 18. günde hayvanlar dahil oldukları gruptaki antrenman programına katıldılar. Antrenman programları Çizelge 2.3, Çizelge 2.4 ve Çizelge 2.5'de ayrıntılı olarak belirtilmiştir.

Çizelge 2.3. 0° grubu antrenman protokolü

Süre (dakika)	Hız (m/s)	Eğim (°)
5	10	0
5	10	0
5	15	0
10	20	0
65	20-25	0

Çizelge 2.4. -8° grubu antrenman protokolü

Süre (dakika)	Hız (m/s)	Eğim (°)
5	10	-4
5	10	-8
5	15	-8
10	20	-8
65	20-25	-8

Çizelge 2.5. -16° grubu antrenman protokolü

Süre (dakika)	Hız (m/s)	Eğim (°)
5	10	-4
5	10	-8
5	15	-12
10	20	-16
65	20-25	-16

Denekler, 0° ile -8°, -16° eğimde, ardışık 5 gün boyunca ilk 15 dakikası artan hız ve eğimde hedeflenen eğime ulaşana dek 15 dk, hedef eğimde 75 dk, 20-25 metre/dakika hız ile, toplamda 90 dk antrenman programına alındılar.

Deneyler 09.00 - 16.00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Her antrenman programının öncesinde ve sonrasında deneklerin ağırlık takipleri yapıldı.

2.2.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu denekleri, deney programının başlaması ile 18 gün boyunca serbest sıvı ve besin alarak 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünde kafeslerinde tutuldular. Kontrol grubu sıçanların ortalama vücut ağırlıkları; $241 \pm 6,24$ olarak saptandı.

2.3. Dokuların Alınması

Deneylerin bitiminden 48 saat sonra, tüm deneklere sodyum tiyopentalin 50 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak enjekte edilmesi ile anestezi uygulandı. Denekler ağırlı uyarana cevap vermediğinde cerrahi masaya tespit edilerek usulüne uygun şekilde göğüs kafesleri açıldı. Sternum ve kostaların ekartasyonunu takiben kalbin büyük damarları klampe edilerek kalp çıkarılmak suretiyle sakrifikasyon uygulandı.

Çalışmada kullanılmak üzere kalpten 4-5 ml kan, bilateral soleus kası, sonraki araştırma ve projelerde kullanılmak üzere bilateral gastrocnemius kası, plantaris kası, böbrekler, karaciğer ve sağ/sol ventrikül olarak ayrılmış kalp örnekleri alındı. Soleus kası, postural bir kas olması (Roy ve ark.,1991; Tsivitse ve ark., 2003; Bombardier ve ark., 2009) ve ısı şok proteini çalışmalarında tercih edilmesi (Milne ve Noble 2002; Uehara ve ark., 2004; Selsby ve ark., 2007) nedeniyle seçildi.

Kan örnekleri, 3000 rpm'de +4 °C'de 15 dk santrifüj edilerek plazma elde edildi.

Bilateral olarak çıkarılan soleus kaslarının hassas terazide yaş ağırlık ölçümleri yapıldı, sağ soleus kasları histolojik araştırma için her gruptan 2'şer kas olacak şekilde formaldehit ve gluteraldehit tesbit solüsyonlarına alındı, sol soleus kasları,

plantaris kası, böbrekler, karaciğer ve sağ/sol ventrikül olarak ayrılmış kalp örnekleri ise eppendorf tüpünde moleküler çalışma yapılıncaya dek sıvı azotla dondurularak -80 °C'de saklandı.

2.3.1. Dokuların Homojenizasyonu

Moleküler çalışmaların yapılabilmesi için doku örneklerinden öncelikle homojenizasyon aracılığı homojenatlar elde edildi.

2.3.2. Kullanılan Gereç ve Kimyasallar

- Homojenizatör (Glas_Col K5424)
- Soğutmalı mikrosantrifüj (Hettich mikro 200R)
- Spektrofotometre (ND-1000)
- Sıcak su banyosu (Şimşek Labortechnik)
- Sıvı azot taşıma kabı
- Seramik havan
- Pipetler (2-20 µl, 10-100 µl ve 100-1000 µl kapasiteli)
- Steril pipet ucu
- 1,5 ml kapasiteli eppendorf tüp
- Tek kullanımlık laboratuvar eldiveni
- Sıvı azot
- Kar makinesi (Ziegra ZBE30-10)
- Manyetik karıştırıcı (Isotex)
- Hassas terazi (Kern)
- Beher
- Total Oksidan-Antioksidan Kiti (Rel Assay Diagnostics)

2.3.3. Ön Hazırlık Aşaması

Homojenizasyon tamponu için, hazırlanan PBS, Tris HCl, EDTA, PMSF solüsyonları eşit hacimde; her birinden 1,25 ml alınarak karıştırıldı. Toplamda 5 ml homojenizasyon tamponu elde edildi.

2.3.4. Homojenizasyon Aşaması

- – 80°C dondurucuda tutulan dokular sıvı azot dolu taşıyıcı kaba alındılar.
- Kullanılacak olan örnek eppendorf tüpünden çıkarılıp çözünmesine izin verilmeden hızla hassas terazide tartılıp 22 numaralı bistüri ucu kullanılarak 100-110 mg alındı.
- Alınan doku parçaları porselen havanda sıvı azot varlığında ezildi.
- Toz halindeki dokular homojenizasyon tüpüne aktarılıp üzerlerine 0,1 ml PBS eklendi.
- Homojenizasyonda ısı artışı ile protein denaturasyonu olmaması için homojenizasyon tüpü kar dolu cam beher içinde tutularak, 2 dakika süre ile 30 dönüş/dakika (rpm) hızda santrifüj edilerek homojenizasyon işlemi tamamlandı.
- Homojenizata 9 ml solusyon (deiyonize suda çözünmüş 140 µmol KCl) eklendi.
- Homojenizat eppendorf tüpe aktarıldı, 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi.
- Supernatant yeni bir tüpe eklendi, tüpler parafilm aracılığıyla kapatılıp +4 °C'de ileri aşamalarda kullanılmak üzere saklandı.

2.3.5. Total Oksidan Seviye Ölçümü

Total Oksidan Seviye (TOS) ölçümü tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (Erel ve ark., 2004). Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon bileşkesini ferrik iyon oksitlerler. Oksidasyon reaksiyonu, ortamda bulunan hızlandırıcı moleküllerle

uzamaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda kromojen ile renkli bir bileşke oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülür .

Standart solusyonu 20 µmol H₂O₂ Eqv. / L şeklindedir.

Soleus kasından elde edilen homojenatlar ve plazma örneklerinde, yaklaşık 1 mikrolitrelik(µl) örneklerin çalışılabildiği spektrofotometre eşliğinde Total Oksidan Kiti içeriği ile, 530 nanometre dalgaboyunda, 37 °C'de absorbans değerleri ölçüldü. Ölçüm aşamaları şu şekilde gelişti;

- İlk absorbans(Abs) değeri (A1), 500 µl Reagent 1'e, 75 µl örnek eklendi. Spektrofotometrede 1µl örnek alınarak, 3 tekrar ölçüm yapıldı.
- İkinci absorbans değerinin (A2) ölçümü için, ilk karışıma 25 µl Reagent 2 eklendi.
- Vortex ile karışımı sağlanan eppendorf içindeki karışımın ağzı, parafilm ile kapatıldı. 37 ° C'lik sıcak su banyosunda 5 dk bekletilerek inkübe edildi.
- Tekrar vortex ile karışımın ardından, 3 ardışık ölçüm ile her bir örneğin spektrofotometrede ikinci absorbans değeri ölçüldü.
- $A2 - A1 = \Delta Abs$; formülü ile standart ya da doku örneği için absorbans farkı ölçüldü.
- $Sonuç = \frac{\Delta Abs \text{ örnek}}{\Delta Abs \text{ standart}} \times \text{Standart konsantrasyonu}^*$; formülü ile ise TOS sonuçlarına ulaşıldı.

* Standart konsantrasyonu: 20 µmol/L

2.3.6. Total Antioksidan Seviye Ölçümü

Total Antioksidan Seviye (TAS) ölçümü için; testin prensibi ABTS radikalinin oluşturduğu mavi-yeşil rengin, ortama eklenen numunedeki antioksidanlar ile azalması esasına dayanmaktadır. 660 nm dalgaboyunda ölçülen değişim

hesaplanırken E vitamini analogu olan Trolox standart olarak kullanılmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol} / \text{L}$ cinsinden elde edilmiştir.

soleus kasından elde edilen homojenatlar ve plazma örneklerinde, yaklaşık 1 mikrolitrelik (ml) örneklerin çalışılabildiği spektrofotometre eşliğinde Total Oksidan Kiti içeriği ile, 660 nanometre dalgaboyunda, 37 °C'de absorbans değerleri ölçüldü. Ölçüm aşamaları şu şekilde gelişti;

- İlk absorbans(Abs) değeri (A1), 500 μl Reagent 1'e, 30 μl örnek eklendi. Spektrofotometrede 1 μl örnek alınarak, 3 tekrar ölçüm yapıldı.
- İkinci absorbans değerinin (A2) ölçümü için, ilk karışıma 75 μl Reagent 2 eklendi.
- Vortex ile karışımı sağlanan eppendorf içindeki karışımın ağzı, parafilm ile kapatıldı. 37 ° C'lik sıcak su banyosunda 5 dk bekletilerek inkübe edildi.
- Tekrar vortex ile karışımın ardından, 3 ardışık ölçüm ile her bir örneğin spektrofotometrede ikinci absorbans değeri ölçüldü.
- $A2 - A1 = \Delta Abs$; formülü ile standart ya da doku örneği için absorbans farkı ölçüldü.
- $Sonuç = \frac{(\Delta Abs_{H_2O}) - (\Delta Abs_{Örnek})}{(\Delta Abs_{H_2O}) - (\Delta Abs_{Standart})}$, formülü ile ise TOS sonuçlarına ulaşıldı.

2.4. Histolojik Tayin

Deneklerden alınan sağ soleus kası ile; Ankara Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda histolojik tayin yapıldı.

2.4.1. Histolojik Tayin İçin Kullanılan Gereç ve Kimyasallar

1. Işık Mikroskobu
2. Xylol
3. Alkol
4. Parafin

5. Gömme Kabı
6. Rodajlı lam
7. Lamel
8. İdrar kabı

2.4.2. Histolojik Tayin Yöntemi

Sakrifikasyon sonrası çıkarılan sağ soleus kasları ile çalışıldı. Kas dokusu örneklerinin bir kısmı klasik ışık mikroskobu takip yöntemlerine göre histolojik takibe alınırken kas dokularından 1mm³ lük bir parça yarı ince doku kesitlerinin gözlenmesi amacıyla transmisyon elektron mikroskobu (TEM) takibine alındı.

2.4.2.1. Işık Mikroskobu (IM) İncelemeleri İçin Yapılan Çalışmalar

Kontrol ve çalışma gruplarından alınan dokular tespit amacıyla %10'luk fosfat tamponlu formalin solüsyonunda 48-72 saat süreyle fikse edildi. Fikse olan dokularının takip işlemleri aşağıdaki protokole göre yapıldı.

2.4.2.2. %10'luk Tamponlu Formalin İçin Uygulanan Takip Protokolü

Formalinden alınan dokular çeşme suyu altında yaklaşık 1 saat yıkandıktan sonra dereceli alkol (%75, %96, %100) serilerinden geçirilerek dehydrate edildi. Dehidratasyon işleminden sonra ksilen ile şeffaflaştırılan dokular iki değişim sıvı parafinle 60°C'lik etüvde 3 saat inkübe edildi. Sıvı parafin infiltrasyonunu takiben doku örnekleri sert parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklar buzdolabı alt rafında (+4°C) kesit alınana kadar bekletildi. Kesit işlemine başlamadan önce -18°C' ye alınan bloklardan Leica RM 2125RT model sliding mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Sıcak su banyosundan lam üzerine alınan kesitler 60°C'lik etüvde deparafinizasyon amacıyla 1 saat bekletildi. Histolojik boyamaya hazır hale getirilen doku kesitlerine Hematoksilen-Eozin boyası uygulandı.

2.4.2.3. Hematoksilen-Eozin (H&E) Boyama Protokolü

- Ksilen ile deparafinizasyon
- %100, %96 ve %75 etanol serisi ile hidratasyon
- Yıkama (çeşme suyunda)
- Hematoksilen solüsyonu, 1 dakika
- Yıkama (çeşme suyunda)
- Eozin solüsyonu, 1 dakika
- Yıkama (çeşme suyunda)
- %75, %96 ve %100 etanol serisi ile dehidratasyon
- Ksilen ile şeffaflandırma
- Entellan kullanarak lamelle kapama

Boyanan preparatlar, Zeiss Axio Scope A1 marka ışık mikroskopuyla incelendi ve fotoğraflandı.

2.4.2.4. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) İncelemeler İçin Yapılan Çalışmalar

Kontrol ve çalışma gruplarına ait kas dokularından 1 mm³ hacmindeki bir parça %2,5'luk gluteraldehit içerisinde alındı. TEM için tespit ve takip işlemleri aşağıdaki sıra ile uygulandı.

- 1. Tespit (ön tespit): 0,2 M fosfat tamponu içerisinde % 2,5 gluteraldehit ve % 2 paraformaldehit (pH=7.2-7.4) (+4°C' de 2-4 saat)
- 1. Yıkama: 0,1 M fosfat tamponunda (2 x 15 dakika, rotatorda)

- 2. Tespit: 0,1 M fosfat tamponunda % 1 OsO₄ (rotatorda ve karanlıkta, 2 saat)
- 2. Yıkama: 0,1 M fosfat tamponunda (3 x 20 dakika)
- Distile su ile yıkama
- Blok boyama: % 70 etanolde % 0,05 uranil asetat ve % 1 fosfotungustik asit (rotatorda ve karanlıkta, 2 saat)
- Dehidratasyon: % 70, % 96, %100 etanol, propilenoksit
- 1:1propilen / Araldite (rotatorda 1 saat)
- Araldite (2 saat)
- Bloklama: blok kalıbı içerisine aort örnekleri konuldu, üzerine araldite eklendi.
- Polimerizasyon: hazırlanan bloklar 80°C' de 1 gece süre ile tutuldu, sonrasında etüv kapatılarak bloklar kendi halinde soğumaya bırakıldı.

2.4.2.5. Yarı İnce Kesit Boyama Protokolü

- Ultramikrotom ile 700-1000 nm kalınlığında kesitler alındı
- Kesitler ısıtıcıda kurutuldu
- Distile su içinde Toluidin mavisi / Azur II boyası (%1 boraks, %1 Toluidin mavisi, %1 Azur II) ile boyandı (50 – 60°C ısıtıcıda boya kuruyana kadar)
- Distile su ile yıkandı
- Kesitler tekrar ısıtıcıda bekletildi
- Kurutma ve soğutma işlemleri uygulandı
- Entellan ile kapatıldı.

Boyanan preparatlar kuruduktan sonra Zeiss Axio Scope A1 marka ışık mikroskopuyla incelendi ve fotoğraflandı.

2.5. Plazma Kreatin Kinaz Tayini

Deneklerde plazma kreatin kinaz ölçümü için immunoserolojik bir yöntem olan ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) testi kullanıldı.

ELISA testinin temel prensibi, antijen-antikor ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini ölçmek olarak belirtilmektedir. Test kitinde, bir mikro tabaka üzerindeki kuyular, CK'ya spesifik antikor ile önceden kaplanmışır. Kuyulara standart ve örnekler pipetle enjekte edilir, antikora CK bağlanır. Ardından Biotin antikoru kuyulara ilave edilir, yıkamanın ardından HRP-avidin kuyulara eklenir. Her adımda inkübasyon yapılmaktadır. Tekrar yapılan yıkamanın ardından, serumda antijene uygun antikor var ise antijene bağlanmış olur ve bu son eklenen enzim ile işaretlenmiş antiglobülini de bağlayarak yıkama ile uzaklaştırılmaz. Enzime uygun bir kromojen substrat eklenir. Sisteme bağlanmış enzim bu substratı parçaladığında ortaya çıkan renk, yapılacak kolorimetrik yöntemlerle ölçülür, bağlanmış olan enzim dolayısıyla bağlanmış olan antikor hakkında fikir verir.

2.5.1 Kullanılan Gereç ve Kimyasallar

- Manyetik karıştırıcı (Vortex)
- Spektrofotometre μ Quant (BioTek)
- Sıcak su banyosu
- Steril pipet ucu
- 1,5 ml kapasiteli eppendorf tüp
- Tek kullanımlık laboratuvar eldiveni
- Kar makinesi (Ziegra ZBE30-10)
- ELISA kiti (Cusabio)

2.6. Plazma HSP70 Tayini

Plazma HSP70 tayini için, immunoserolojik bir yöntem olan ELISA testi kullanıldı. ELISA testi için, Kreatin Kinaz tayininde kullanılan basamakların aynısı takip edildi.

2.6.1 Kullanılan Gereç ve Kimyasallar

- Manyetik karıştırıcı (Vortex)
- Spektrofotometre μ Quant (BioTek)
- Sıcak su banyosu
- Steril pipet ucu
- 1,5 ml kapasiteli eppendorf tüp
- Tek kullanımlık laboratuvar eldiveni
- Kar makinesi (Ziegra ZBE30-10)
- ELISA kiti (Cusabio)

2.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analiz sonuçları için SPSS 16.0 paket programında (Kinneer ve Gray, 1995) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey ve Bonferroni post-hoc testi kullanıldı . $P < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) olarak verildi.

3. BULGULAR

3.1. Soleus Total Oksidan Seviye - Total Antioksidan Seviye Sonuçları

Sıçanlarda soleus kası TOS sonuçları; $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden -16° grubunda $14,16 \pm 3,09$, -8° grubunda $9,31 \pm 3,52$, 0° grubunda $3,84 \pm 2,72$, kontrol grubunda ise $4,45 \pm 2,23$ şeklinde bulunmuştur. -16° antrenman grubunda; diğer gruplara oranla anlamlı bir TOS artışı olduğu (Oneway ANOVA $p < 0,05$) gözlemlenmiştir.

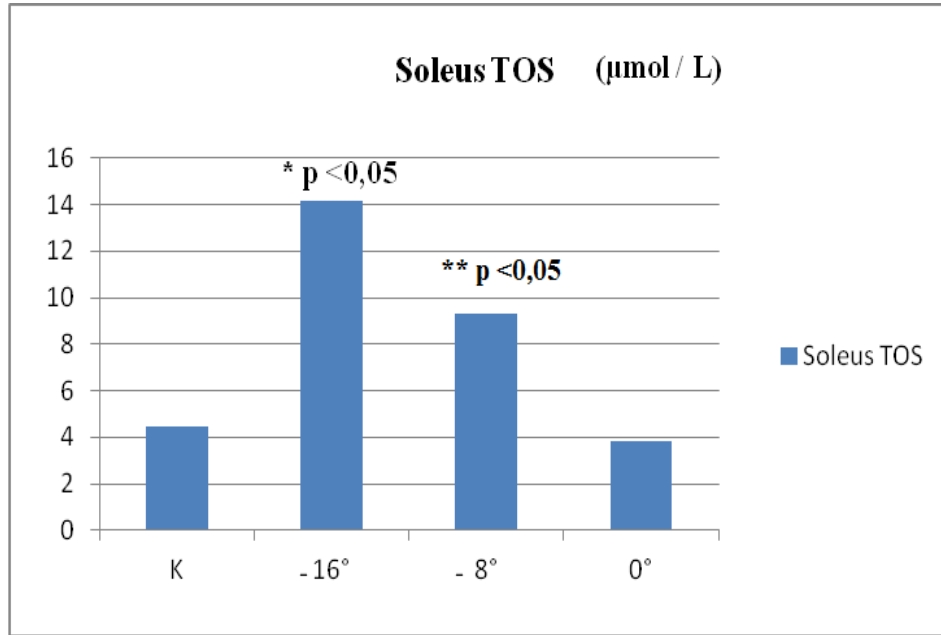
-8° grubu TOS artışı ise, 0° grubu ve kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. Kontrol grubu ve 0° grubu arasında ise anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Soleus kası TAS sonuçları karşılaştırıldığında ise $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden; -16° grubunda $2,80 \pm 2,29$, -8° grubunda $1,57 \pm 1,74$, 0° grubunda $1,44 \pm 0,89$, kontrol grubunda ise $2,88 \pm 1,02$ sonuçlarına ulaşılmıştır. Sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Oneway ANOVA $p:0,157$).

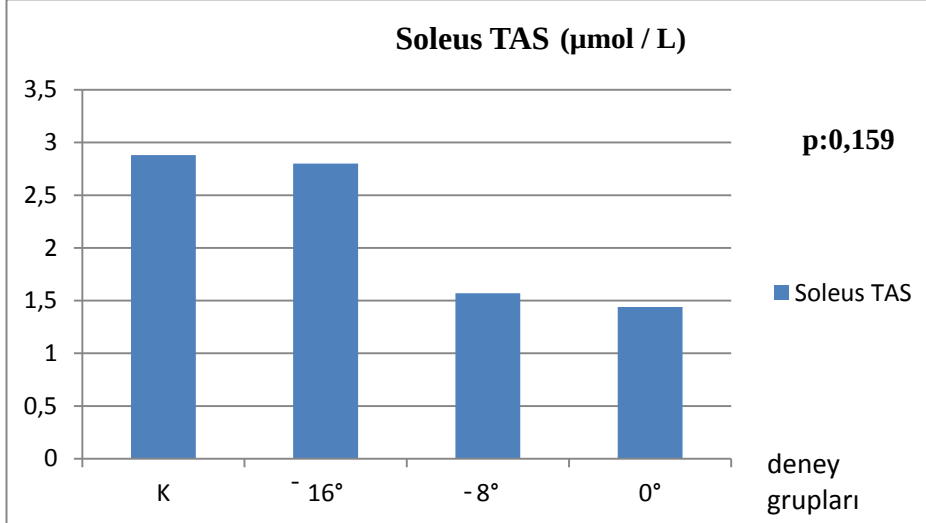
Çizelge 3.1. Soleus TOS-TAS Sonuçları ($\mu\text{mol/L}$)

SOLEUS TOS Sonuçları $\mu\text{mol/L}$					SOLEUS TAS Sonuçları $\mu\text{mol/L}$			
DENEK NO.	KONTROL	-16°	-8°	0°	KONTROL	-16°	-8°	0°
I	0,98	13,62	5,85	2,67	2,8	5	0,12	0,22
II	0,98	16,67	16,89	8,8	1,5	3	0,27	1,56
III	5,9	11,28	7,94	2,03	3,5	1,13	0,18	2,16
IV	5,95	12,04	7,68	2,03	2,5	2,13	3,6	2,03
V	5,21	15,14	6,70	2,63	4,11	0,09	4,8	0,07
VI	4,46	11,71	11,55	1,14	4,37	1,34	0,88	2,44
VII	5,45	12,53	8,28	4,35	1,95	2,53	0,86	1,16
VIII	6,69	20,32	9,64	7,1	2,37	7,2	1,9	1,95

Çizelge 3.2. Soleus TOS ($p < 0,05$)



Çizelge 3.3. Soleus TAS ($p:0,159$)



3.2. Plazma Total Oksidan Seviye- Total Antioksidan Seviye Sonuçları

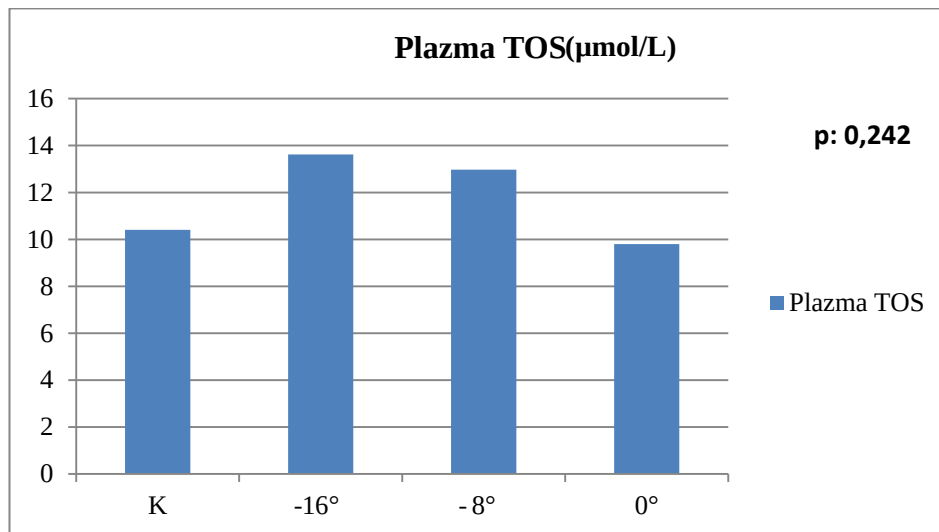
Plazma TOS değerleri; $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden -16° grubunda $13,62 \pm 4,34$, -8° grubunda $12,97 \pm 4,64$, 0° grubunda $9,8 \pm 3,92$, kontrol grubunda $10,41 \pm 4,54$ sonuçlarına ulaşılmıştır. Sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Oneway ANOVA p:0,242).

Plazma TAS değerleri $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden; -16° grubunda $4,57 \pm 1,12$, -8° grubunda $2,41 \pm 1,14$, 0° grubunda $2,8 \pm 1,92$, kontrol grubunda $3,41 \pm 1,54$ sonuçlarına ulaşılmıştır. Sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Oneway ANOVA p:0,159).

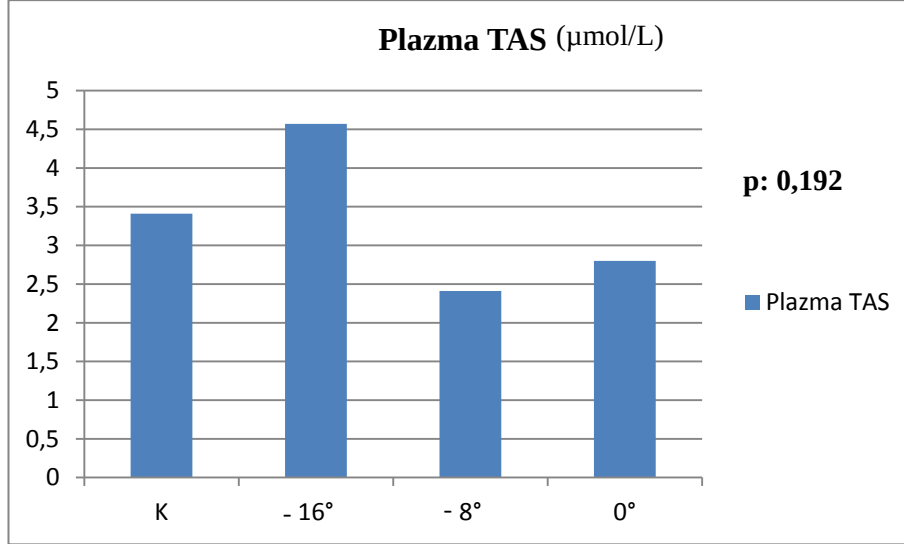
Çizelge 3.4. Plazma TOS-TAS Sonuçları ($\mu\text{mol/L}$)

PLAZMA TOS Sonuçları ($\mu\text{mol/L}$)					PLAZMA TAS Sonuçları ($\mu\text{mol/L}$)			
DENEK NO.	KONTROL	-16°	-8°	0°	KONTROL	-16°	-8°	0°
I	7,12	14,36	14,58	6,45	3,1	4,68	1,09	2,1
II	7,67	15,12	11,60	7,24	2,6	3,21	2,14	2,43
III	8,58	10,16	21,24	12,14	4,1	2,49	1,98	1,69
IV	8,39	19,13	16,17	13,66	1,8	2,14	1,24	3,08
V	19,18	6,95	6,18	6,23	2,3	4,54	2,16	2,47
VI	8,63	14,38	8,44	6,64	3,13	3,19	1,36	1,16
VII	16,01	9,92	13,62	9,40	2,69	6,11	4,13	3,14
VIII	7,71	18,94	11,99	16,64	3,17	2,67	2,63	2,57

Çizelge 3.5. Plazma TOS (p: 0,242)



Çizelge 3.6. Plazma TAS (p:0192)



3.3. Plazma CK Sonuçları

Plazma CK değerleri için U/L cinsinden; -16° grubunda $192,56 \pm 30,58$, -8° grubunda $121,5 \pm 40,12$, 0° grubunda $114,43 \pm 56,66$, kontrol grubunda $97,87 \pm 21,46$ sonuçlarına ulaşılmıştır. Gruplar arasında anlamlı bir fark (Oneway ANOVA $p < 0,05$) bulunmuştur.

-16° grubu, -8°, 0°, ve kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek CK değerine sahiptir, -8°, 0° ve kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır.

3.4. Plazma HSP70 Sonuçları

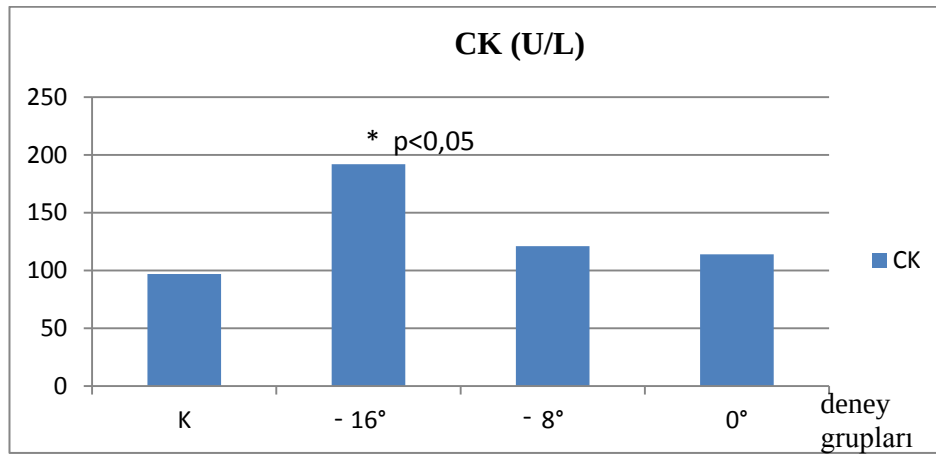
Plazma HSP70 sonuçları pg/ml cinsinden; -16° grubunda $0,99 \pm 0,51$, -8° grubunda $0,70 \pm 0,42$, 0° grubunda $0,62 \pm 0,42$, kontrol grubunda $0,57 \pm 0,43$ sonuçlarına ulaşılmıştır.

HSP70 artışı -16° grubunda en yüksek bulunmuş, eğim azaldıkça oranı azalmış olmakla birlikte, fark anlamlı bulunmamıştır ($p:0,263$).

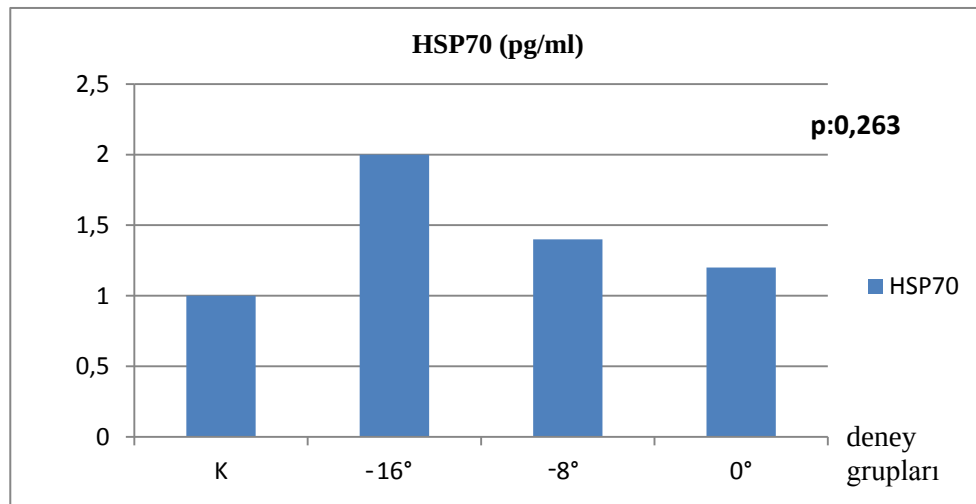
Çizelge 3.7. Plazma CK, Plazma HSP sonuçları

PLAZMA KREATİN KİNAZ (U/L)					PLAZMA HSP 70 (pg/ml)			
DENEK NO.	KONTROL	-16°	-8°	0°	KONTROL	-16°	-8°	0°
I	260	500	204	75	0,512	0,664	0,814	0,328
II	244	442	340	131	0,362	1,552	0,602	0,484
III	210	352	96	326	0,624	1,598	0,746	0,654
IV	157	343	228	220	0,570	1,4	0,912	0,998
V	201	348	200	379	0,674	1,290	1,028	1,030
VI	184	361	313	336	2,130	3,15	2,02	2,70
VII	180	412	314	115	2,544	3,016	2,28	2
VIII	130	323	256	250	1,84	3,406	2,972	1,92

Çizelge 3.8. Plazma CK ($p < 0,05$)

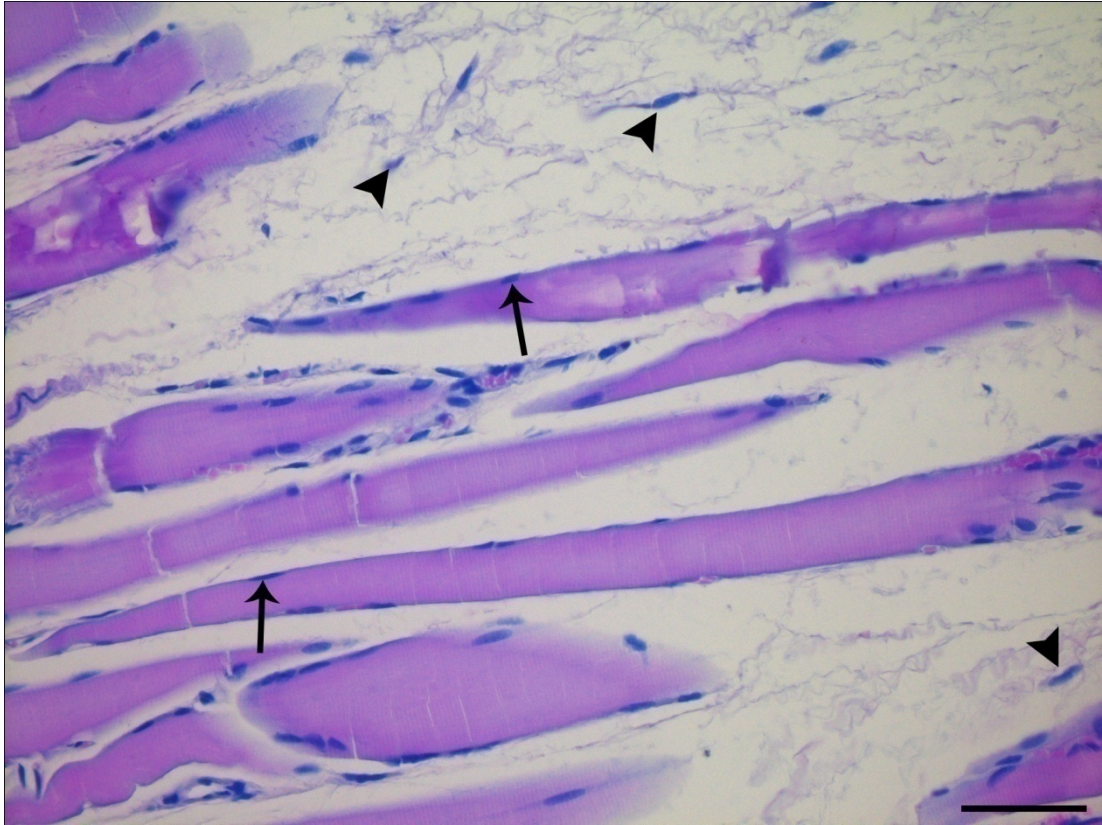


Çizelge 3.9. Plazma HSP70 ($p:0,263$)



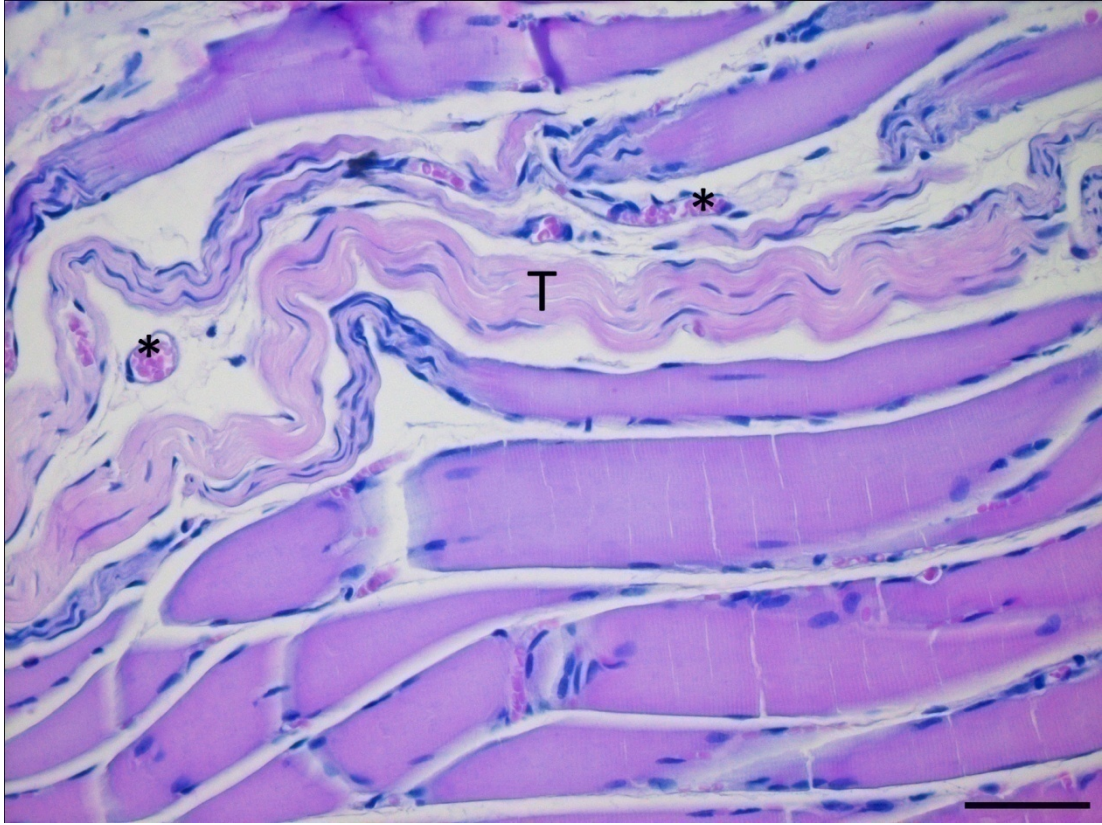
3.5. Soleus Kası Histoloji Sonuçları

Kontrol grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin çekirdekleri periferik yerleşimli olarak gözlenmiştir (ok ile gösterilmiş). Kas liflerinin çevresinde endomisyumda az sayıda fibroblast çekirdeği izlenmektedir (ok başı ile gösterilmiş) (Şekil 3.1).



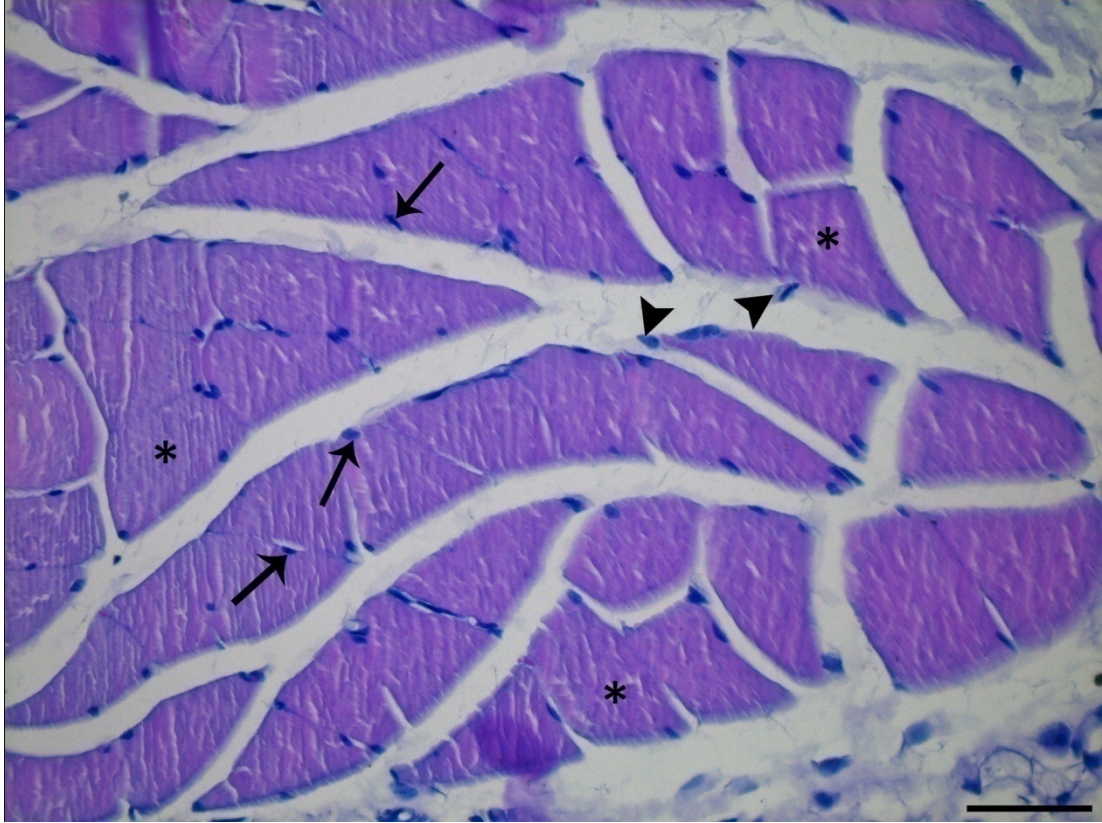
Şekil 3.1. Kontrol grubu soleus kası örneği (H&E x 40)

Kontrol grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası lifleri arasında tendona ait düzenli sıkı bağ dokusu yapısında kollajen lif demetleri (T ile gösterilmiş) ve kılcak kan damarları dikkat çekmiştir (* ile gösterilmiş) (Şekil 3.2.).



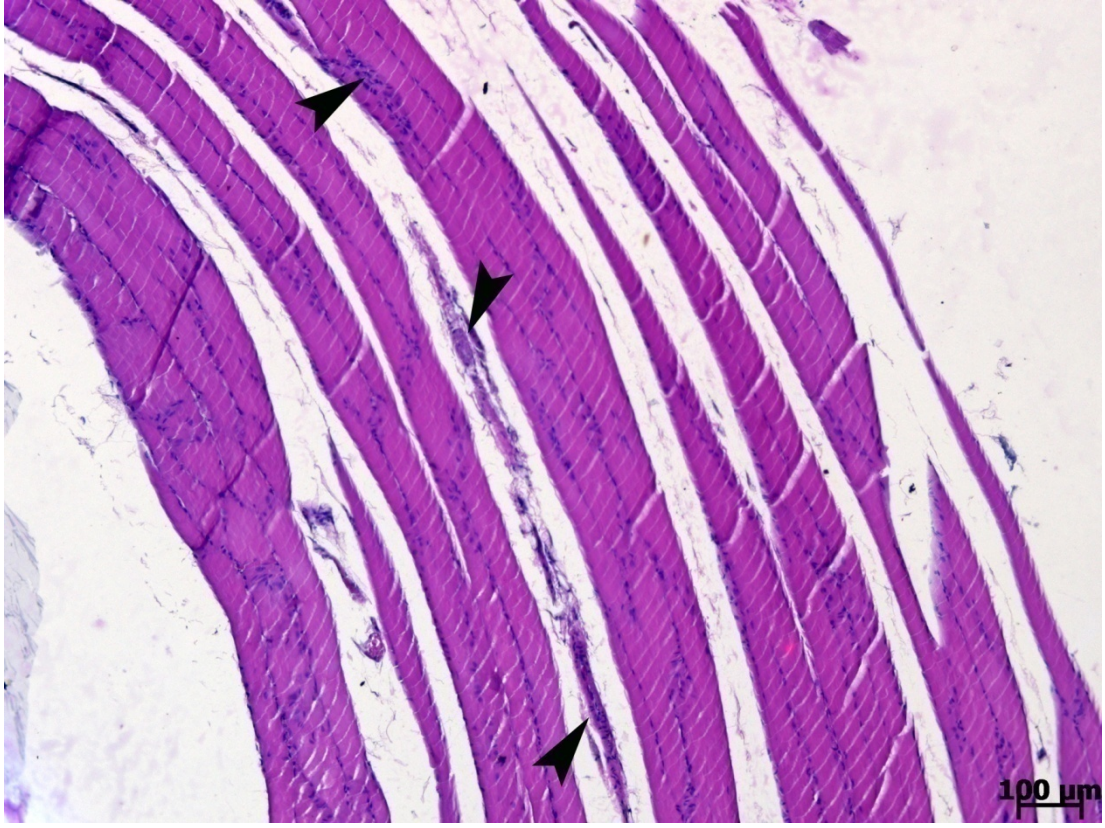
Şekil 3.2. Kontrol grubu soleus kas örneği (H&E x40)

Kontrol grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin enine kesitleri izlenmektedir. Kas liflerinin sarkolemması altına periferik yerleşimli çekirdekler (okla gösterilmiş) görülmüştür. Sitoplazmada gözlenen miyofibrillerin enine kesitleri (* ile gösterilmiş) gözlenmiş olup, kas liflerinin çevresinde az sayıda fibroblast çekirdeği (ok başı ile gösterilmiş) dikkat çekmektedir (Şekil 3.3).



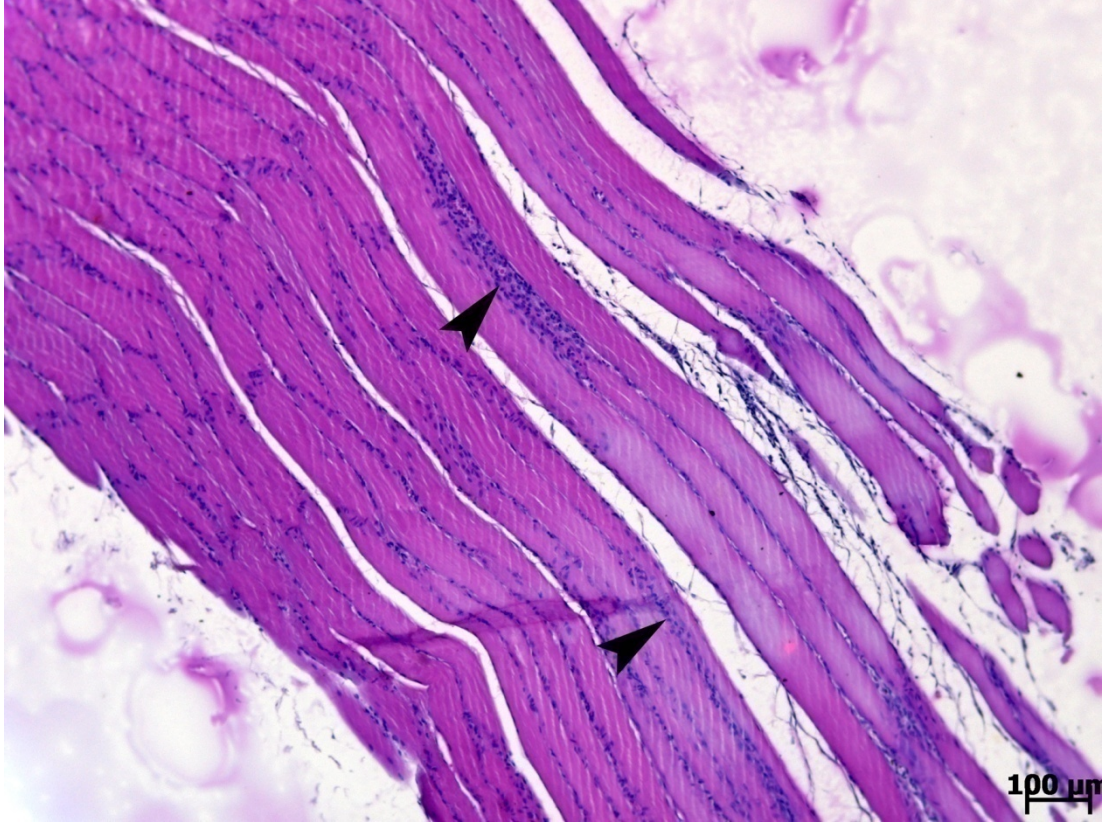
Şekil 3.3. Kontrol grubu soleus kası örneği (H&E x 40)

0° antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin endomisyumunda hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başı ile gösterilmiş) izlenmektedir (Şekil 3.4).



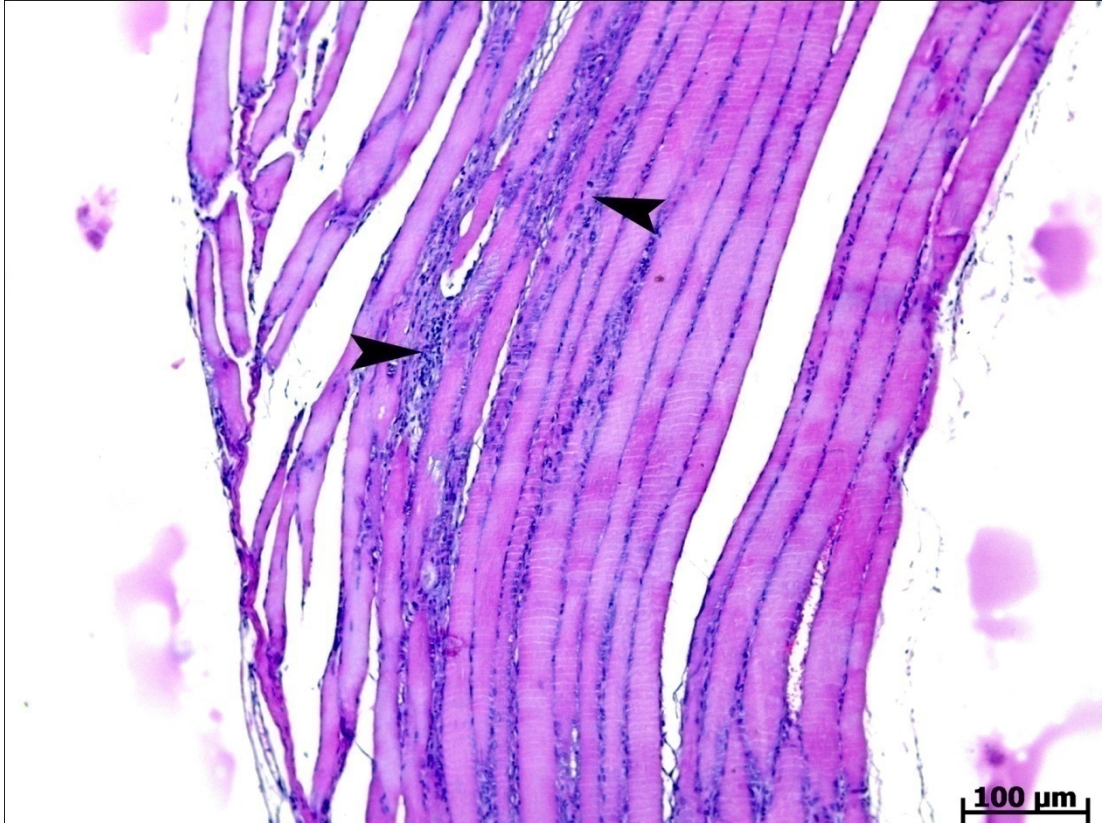
Şekil 3.4. 0° grubu soleus kas örneği (H&E x 10)

-8^o antrenman grubuna ait mikrografta, çizgili iskelet kası liflerinin endomisyumunda mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başı ile gösterilmiş) izlenmektedir (Şekil 3.5.).



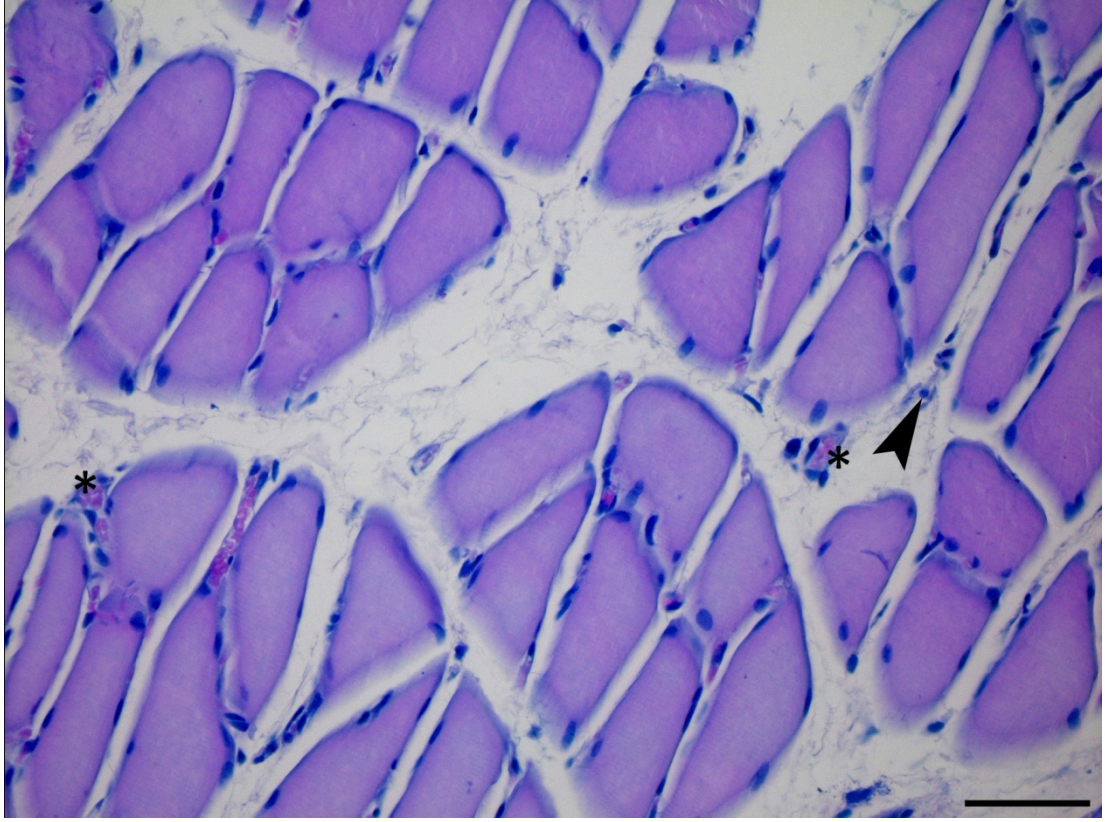
Şekil 3.5. -8^o grubu soleus kas örneği (H&E x 10)

-16° antrenman grubuna ait mikrografta, çizgili iskelet kası liflerinin endomisyumunda belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başı ile gösterilmiş) izlenmektedir (Şekil 3.6.).



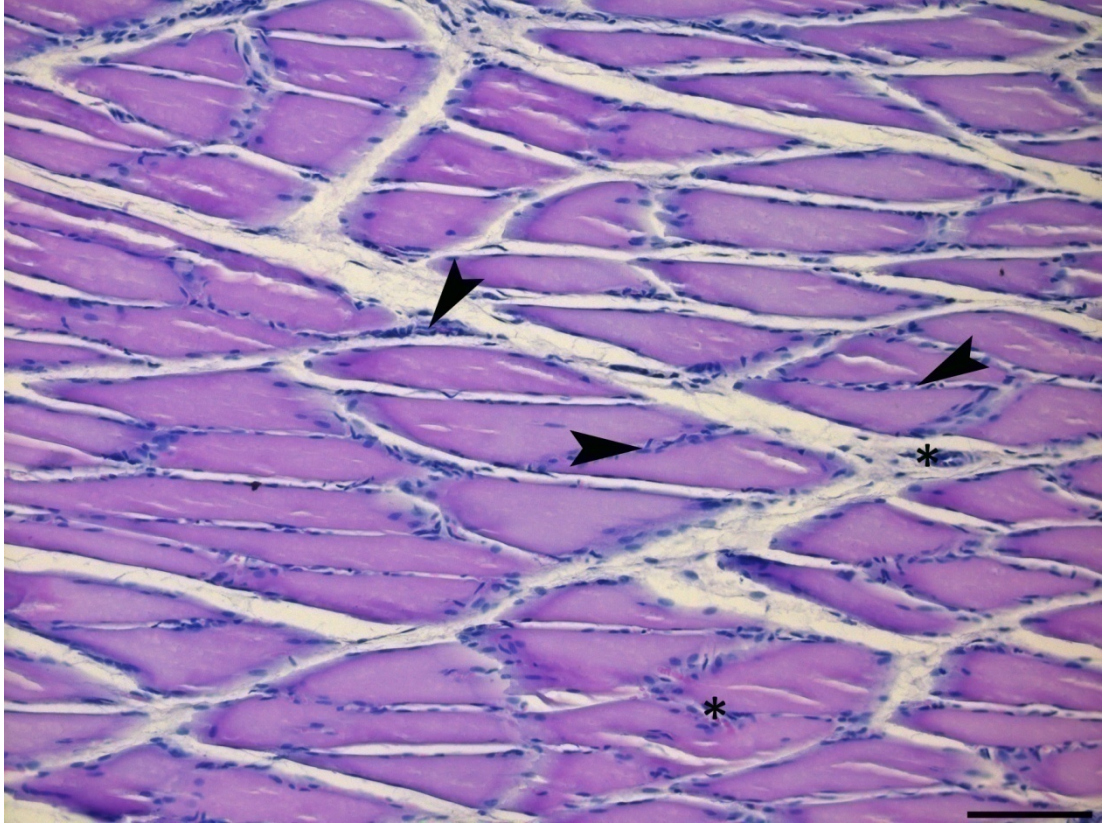
Şekil 3.6. -16° grubu soleus kas örneği (H&E x 10)

0° antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin enine kesitlerinde, endomisyumda hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başı ile gösterilmiş) ve kılcal kan damarları (* ile gösterilmiş) izlenmektedir (Şekil 3.7.).



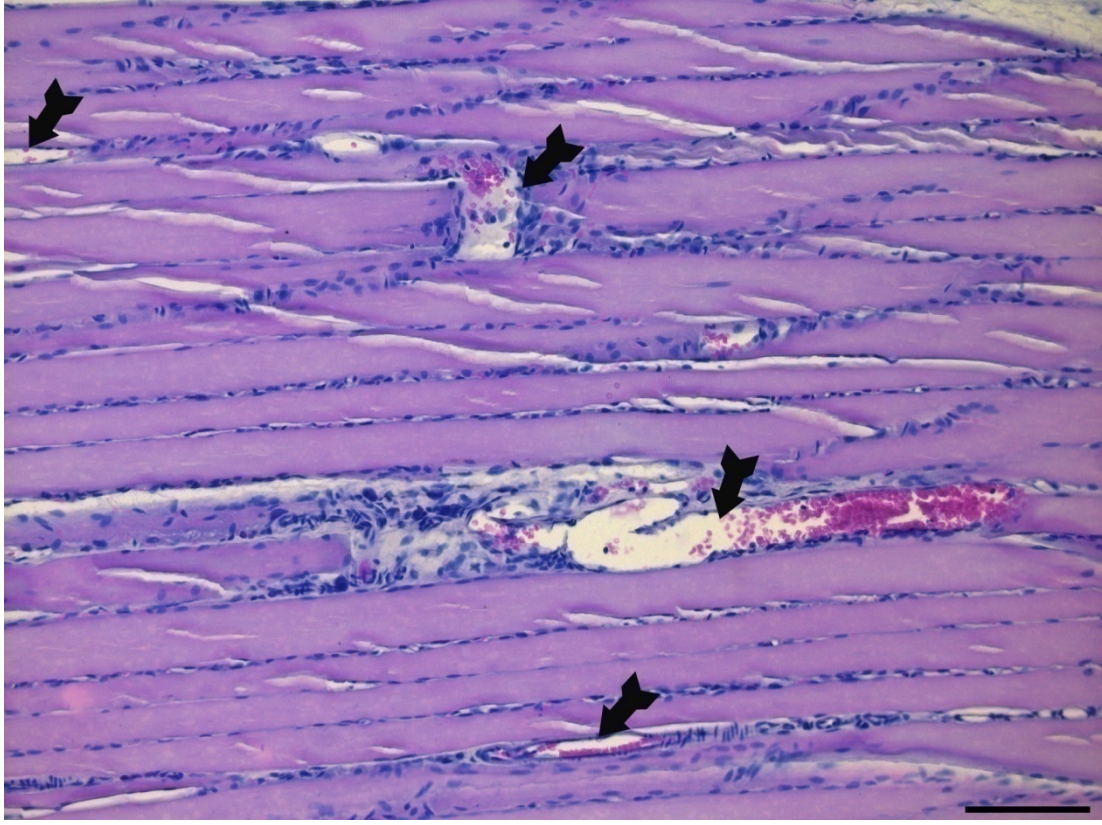
Şekil 3.7. 0° grubu soleus kas örneği (H & E $\times 40$)

-16° antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin enine kesitlerinde, endomisyumda anlamlı derecede mononükleer hücre infiltrasyonu (ok başı ile gösterilmiştir) ve kılcak kan damarları (* ile gösterilmiştir) izlenmektedir (Şekil 3.8.).



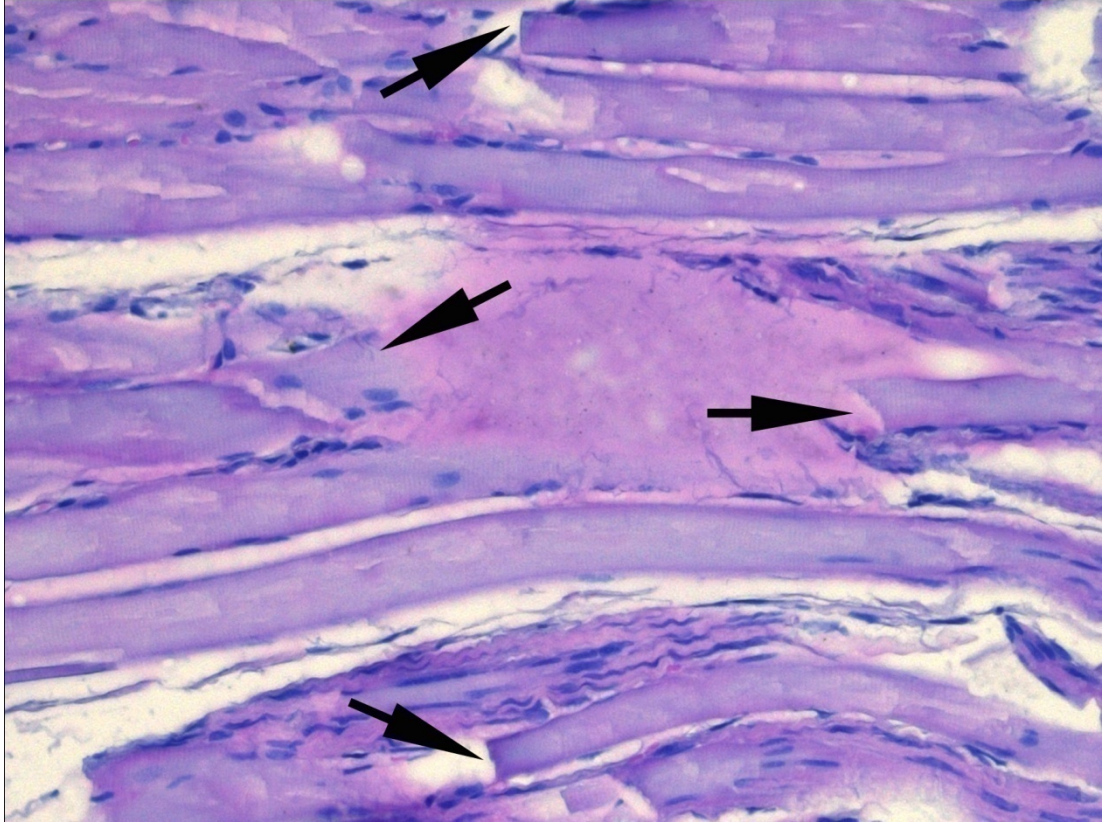
Şekil 3.8. -16° grubu soleus kas örneği (H&E x 20)

-16^o antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin endomisyumunda belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu ile kılcak kan damarlarında artışı (ok ile gösterilmiştir) izlenmektedir (Şekil 3.9.).



Şekil 3.9. -16^o grubu soleus kası örneği (H&E x 20)

-16° antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinde kırılmalar (ok) dikkat çekmektedir (Şekil 3.10.).



Şekil 3.10. -16° grubu soleus kas örneği (H&E x 20)

Kontrol grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde miyofilamanlarca oluşturulan enine çizgilenme, periferik yerleşimli kas hücresi çekirdekleri (n ile gösterilmiş) ile kas liflerinin çevresinde az sayıda kapiller (* ile gösterilmiş) ve mononükleer hücre (ok ile gösterilmiş) izlenmektedir (Şekil 3.11.).



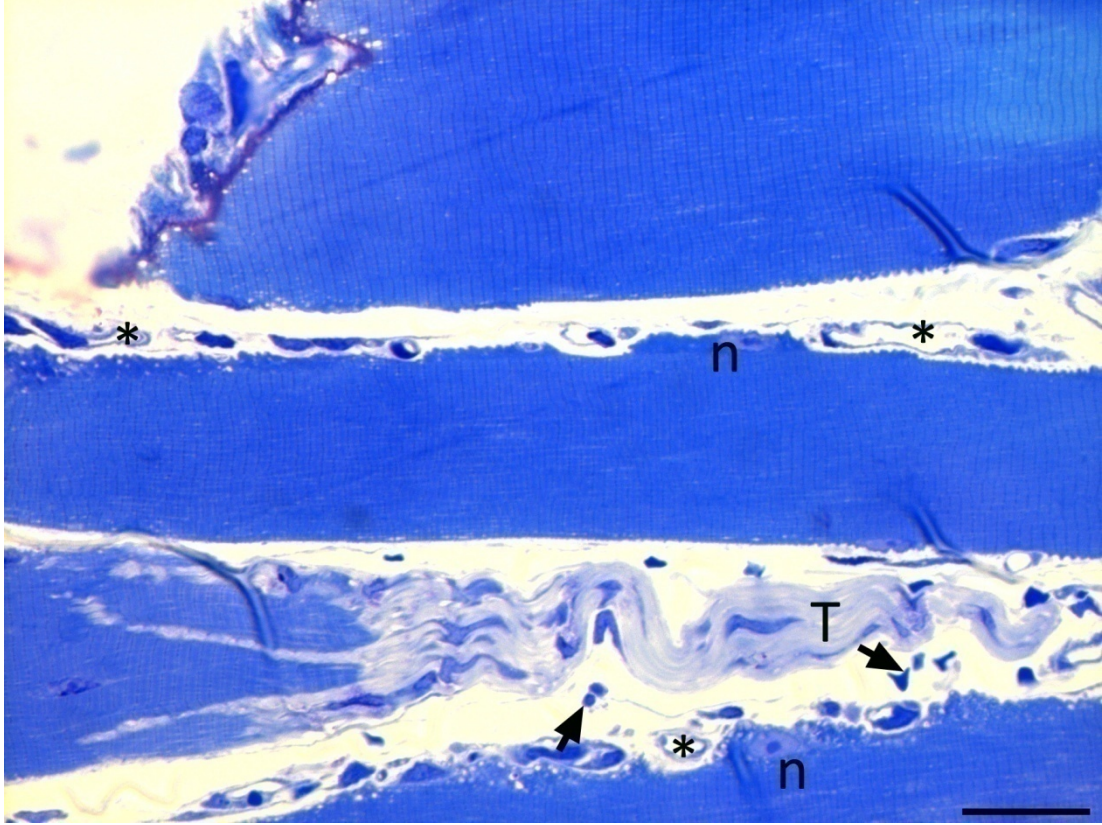
Şekil 3.11. Kontrol grubu soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

0° antrenman grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde periferik yerleşimli kas hücresi çekirdekleri (n ile gösterilmiş) ile kas liflerinin çevresinde kapiller (* ile gösterilmiş) ve mononükleer hücreler (ok) izlenmektedir (Şekil 3.12.).



Şekil 3.12. 0° grubu soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

-8^o antrenman grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde periferik yerleşimli kas hücresi çekirdekleri (n ile gösterilmiş), muskulotendinöz bileşke devamında tendon (T ile gösterilmiş), kas liflerinin çevresinde kapiller (* ile gösterilmiş) ve mononükleer hücreler (ok ile gösterilmiş) izlenmektedir (Şekil 3.13.).



Şekil 3.13. -8 grubu^o soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

-16° antrenman grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde periferik yerleşimli kas hücresi çekirdekleri (n ile gösterilmiş) ile kas liflerinin çevresinde artmış sayıda kapiller (* ile gösterilmiş) ve mononükleer hücreler (ok ile gösterilmiş) izlenmektedir (Şekil 3.14.).



Şekil 3.14. -16° grubu soleus kas örneği (Toluidin mavisi x 100)

4.TARTIŞMA

Sunulan tez çalışmasında, eksantrik egzersizin yokuş aşağı koşu sırasında farklı eğimlerde kasta yarattığı hasar tabloları incelenerek, eğim artışının hasar artışıyla ilişkilendirilebileceği iddia edilmektedir.

Araştırmamızda son antrenman programının bitiminden 48 saat sonra yaptığımız sakrifikasyonun ardından alınan plazmada ölçülen CK oranları, -16° antrenman grubunda, -8°, 0° ve kontrol grubuna göre artmış bulunmuştur. Eksantrik egzersizin CK oranını arttırdığı önermesi desteklenmiştir.

Araştırmamızda ulaşılan, 90 dakikalık eksantrik egzersizi takiben -16° ve -8°de ortaya çıkan kas hasarı izlemleri, literatürle uyumluluk göstermektedir (Armstrong ve ark., 1983; Roger G. ve ark., 1995; Lynn ve ark., 1998; Lollo ve ark., 2013).

Armstrong ve arkadaşları (1983), çalışmamızda kullandığımız antrenman programı ile -16° eğimde plazma CK oranının arttığını bildirmişler, aralıksız 90 dakikalık koşu protokolünde en yüksek CK oranını, 36. saatte ölçmüşlerdir. Magalhaes ve arkadaşları ise, eksantrik egzersizden 48 saat sonra ölçtükleri CK oranını, kontrol grubu verilerine göre yüksek bulmuşlardır. Lollo ve arkadaşları, 6. saatin sonunda, -7°de yapılan yokuş aşağı koşu şeklindeki eksantrik antrenman sonuçlarında da CK oranında kontrol grubu ve horizontal koşu yapan gruba göre anlamlı farklara ulaşmıştır.

Bir başka görüş olarak ise; Touchberry ve arkadaşları (2013), aynı eğimle yapılan aralıklı 90 dakikalık koşu protokolünün (5dk koşu, 2 dk dinlenme, 18 set) ardından 48 saat sonra CK değerinin normal seviyeye döndüğünü belirtmiştir.

Newham ve arkadaşları (1988), eksantrik egzersiz sırasında kasın boyunun uzama derecesinin kuvvet kaybını etkilediğini, uzama oranı ile kuvvet kaybı arasında doğru orantı olduğunu iddia etmişlerdir. Araştırmamızda elde edilen CK değişim oranlarının da, kuvvet kaybı oranları gibi kasın boyunun uzama derecesi, dolayısıyla antrenman sırasındaki eğim miktarı ile ilişkilendirilebileceği düşünülebilir.

Eksantrik egzersiz sonrası CK değişimindeki artışın, egzersiz sırasında aktive olduğu düşünülen tip II kas liflerinden kaynaklanan glikojenolizle ilişkili olduğu iddiası, araştırmamızla uyumluluk göstermemektedir. Araştırmamızda kullandığımız sıçan soleus kasının lif tipi dağılımının ağırlıklı olarak Tip I olması (Delp ve ark., 1996), bu iddia ile örtüşmemektedir.

Eksantrik egzersiz sonrasında kanda ve kasta oksidatif stres sonuçlarında değişim izlendiği bildirilmektedir (Nikolaidis ve ark., 2008; Silva ve ark., 2010; Isner-Horobeti ve ark., 2014; Magalhaes ve ark., 2014).

Serbest radikallerin hasar sürecinin parçası olduğu belirtilmiştir (Warren ve ark., 1992; Duarte ve ark., 1994). Serbest radikaller lipid membranlarına infiltre olarak hasara neden olabilmekte, hücre nekrozu gelişebilmektedir. Warren ve arkadaşları (1992), serbest radikallerin eksantrik egzersiz sonrası gelişen kuvvet kaybının sorumlusu olabileceğini belirtmiştir.

Halliwell ve arkadaşları (1993) oksidatif strese neden olan mekanizmanın, antioksidan savunma sistemini baskılayarak hasarın gelişimini tetiklediğini ileri sürmektedirler.

Araştırmamızda, soleus kas örneklerinde eksantrik egzersizle beraber, eğimle paralel şekilde TOS sonuçlarında artış izlenmiştir. -16° antrenman grubu deneklerinde, diğer gruplardan anlamlı bir şekilde daha fazla bulunan soleus TOS değeri, eğimin oksidatif stresle de ilişkilendirileceğini göstermektedir.

Bu iddiaya karşın; Armstrong ve arkadaşlarının (1981) yaptığı bir çalışmada; -16° antrenmanda, 16°'ye göre maksimum oksijen tüketiminin %25, düz koşuya göre ise %7 daha az olduğu belirtilmektedir. Bu durumda, düz koşu yapan 0° grubunda daha yüksek bulunması beklenen TOS değeri, araştırmamızla uyumlu görülmemektedir. Araştırmamızda, düz koşu yapan denekler ve kontrol grubu TOS değerleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

İnflamatuar yanıtların meydana gelişi ile azalmış serum TAS değerleri arasında bir korelasyon olduğu belirtilmektedir (Whitehead ve ark., 1992). İnflamatuar yanıtın gözlenmesine rağmen serumda TAS sonuçları değişmeyen çalışmalar ile (Child ve

ark., 1999) araştırmamızın sonuçları arasında bir uyum ortaya çıkmış; serum TAS değerleri arasında antrenman grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark meydana gelmemiştir.

Egzersiz sonrası kasta TAS artışı olduğunu belirten insan çalışmaları, bu durumu kasın koruma-adaptasyon yanıtı olarak açıklamaktadır (Duarte ve ark., 1994; Rajguru ve ark., 1994). Ancak alışmamızda eksantrik egzersiz tablosunda böyle bir değişiklik gözlenmemiş olup, TAS değerleri soleus kasında anlamlı bir değişim göstermemiştir. Öte yandan kas lifi-hücre dışı infiltrasyon tablosunun 4-7 gün arası geliştiğini iddia eden çalışmalar bulunmaktadır (Jones ve ark., 1986; Round ve ark., 1992). TAS sonuçlarına ilişkin bir dizi literatür verisi ile uyumsuz görünüm; egzersiz modelinin, seçilen kasın, insan-hayvan çalışmalarının bu tablo ile ilişkilendirilebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, deneklerin sakrifikasyon sürelerinin 48 saat olmasının da literatür TAS sonuçları ile uyumsuz tablo ile ilişkilendirilebileceği düşünölebilir.

Maruhashi ve arkadaşları (2007), düşük dozda eksantrik egzersizin antioksidan kapasiteyi düşürmediğini belirtmiştir. Benzer şekilde Nikolaidis ve arkadaşları (2008) da hasar yapan egzersiz modeline bağlı antioksidan kapasitedeki değişimin çok sınırlı olduğunu iddia etmektedir.

Araştırmamızda, plazma ve soleus kas örneklerinde yapılan TAS değerlendirmeleri sonucunda, eksantrik antrenman, düz koşu ve kontrol grubu arasında bu iddialarla örtösecek şekilde anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Eksantrik egzersizi takip eden nötrofil hareketliliğinin ise, oksidatif stres sonuçlarına etki etmediği , sonuçlardaki değişimin nötrofillerle ilişkili olmadığı düşünölmektedir.

Eksantrik egzersize bağlı, kaslarda gelişen histolojik değişiklikler bir dizi çalışmada nötrofil infiltrasyonu, Z bandı kesintileri, mononökleer hücre kümelenmeleri, t tübölü anomalileri, sarkomer kopmaları, desmin kaybı olarak belirtilmektedir (Friden ve ark., 1981; Newham ve ark., 1983; Takekura ve ark., 2001; Morgan ve Allen, 1999).

Mononükleer hücreler, bağışıklık-savunma sisteminin bir bileşeni olarak, hasar belirteci olarak yorumlanabilir. Soleus kas örneklerinde, eğimle paralel bir şekilde artan mononükleer hücre infiltrasyonları, araştırmamızda karşımıza çıkan bir sonuç olmuştur. -16° ve -8° antrenman grubu soleus örneklerinde, 0° antrenman ve kontrol grubu örneklerine göre belirgin şekilde fazla mononükleer hücreler izlenmiştir, -16° antrenman grubu mononükleer hücre sayısı da enine ve boyuna kesitlerde -8° antrenman grubuna göre fazla görülmüştür. Bu tablo, eğim artışının hasarla ilişkilendiğine bir kanıt olarak nitelendirilebilir.

Araştırmamızda -16° ve -8° antrenman grubu muskulotendinöz bileşke hattında yaygın mononükleer hücreler izlenmiştir. Muskulotendinöz bileşke hattında hasarın yaygın görüldüğü görüşü (Armstrong ve ark., 1983), araştırmamızı desteklemektedir.

Talbot ve Morgan (1996), sarkomer hattında kırılmalar gözlemlemiş, bu gözlemle uyumlu sarkomer kırılmaları araştırmamızda da görülmüştür. -16° antrenman grubunda; diğer antrenman grupları ve kontrol grubunda olmayan kırılmalar, soleus kas lifleri hattı üzerinde izlenmiştir.

Kastaki kan akımının artışı, dokunun metabolik talebi ile doğrudan ilişkilidir, eksantrik egzersiz sırasında konsantrik egzersize oranla metabolik yük daha azdır (Clifford ve ark., 2004). Eksantrik egzersiz daha az sistemik O_2 talep etse de, kasın lokal oksijenizasyonu egzersiz sonrasında değişkenlik gösterebilir, lokal oksijenizasyon ve metabolik yük doğru orantı göstermeyebilir. (Davies ve ark., 2008; Muthalib ve ark., 2010).

Bulgularımızda, kas liflerinin çevresindeki kapiller sayısında, eğimle paralel bir şekilde artış izlenmiştir; -16° grubunda, -8° grubuna göre kapiller sayısı daha fazla görülmüştür. Bu durumun eksantrik egzersiz sonrası mikrosirkülasyon disfonksiyonu veya inflamatuvar vazodilatatör yanıtlarla ilişkilendirilebileceği düşünülebilir.

Perimisyum ve endomisyum çevresinde görülen mononükleer hücre kümelenmeleri şeklinde elde ettiğimiz veriler, insan çalışmaları ile uyumlu şekilde (Stauber ve ark., 1990; Round ve ark., 1987) antrenman gruplarında daha belirgin şekilde izlenmiştir. Kümelenme sayısı; eğimle paralel şekilde artmaktadır. Bu durum egzersize bağlı konnektif doku hasarı etkisini düşündürmektedir.

Elektron mikroskobu verileri, t tübülü hasarları, anomalileri (fazla sayıda longitudinal t tübülü gibi) hakkında daha ayrıntılı bilgi vermektedir ancak araştırmamızda ışık mikroskobu verileri kullanılmış olup, sarkomerdeki hasarın ayrıntılı taraması gerçekleştirilememiştir. Soleus kas örnekleri, ileride yapılacak elektron mikroskobu taramaları için, uygun histolojik yöntem kullanılarak korunmaktadır.

Literatürde, egzersize verilen biomekanik ve moleküler stres yanıtlarından birinin de kas hücrelerinin HSP üretimi olduğu belirtilmiş; fonksiyonel yüklenme eşliğinde sıçan ve insan iskelet kaslarında yapılan çalışmalarda HSP oranının arttığı gözlenmiştir (Huey ve ark., 2006; Locke ve ark., 2008; O'Neill ve ark., 2006; Ogata ve ark., 2005; Gjovaag ve ark., 2006; Paulsen ve ark., 2007).

Egzersize verilen hasar yanıtı olarak HSP artışı, protein sentezindeki rolleri bilinen bu proteinlerin, kasın adaptasyon sürecinde rol aldığını düşündürmektedir. Yapılan çalışmalar protein sentezi, protein içeriği, kas ağırlığı, lif büyüklüğüne; HSP'nin artış yönünde etki ettiğini göstermiştir (Ohno ve ark., 2010; Goto ve ark., 2003; Kobayashi ve ark., 2005; Oishi ve ark., 2009).

Araştırmamızda, yokuş aşağı koşu gruplarının her ikisi ve düz koşu ile kontrol grubu denekleri arasında serum HSP konsantrasyonları anlamlı arasında bir fark gözlemlenmemiştir.

Lollo'nun (2013) bir çalışmasında yokuş aşağı ve yokuş yukarı koşu ardından, her iki grup sıçanlarda da soleus kasında HSP artışı anlamlı bulunmuş, yokuş yukarı gruptaki artış ise eksantrik egzersiz yapanlara oranla daha fazla ölçülmüştür. Aynı çalışmada, gastrocnemius kasındaki HSP artışı ise, soleus kası HSP artışından daha az ancak anlamlı bulunmuştur.

Çalışmamızda gruplar arasında HSP70 artışı yönünden anlamlı bir bulguya ulaşılamamasının nedenlerinden biri, HSP70 tayini için kas dokusunu değil plazmayı tercih etmiş olmamız olabilir.

Touchberry ve arkadaşlarının (2012) yaptığı bir çalışmada, HSP ve eksantrik egzersiz ilişkisi araştırılmış, yokuş aşağı koşu egzersizinden 2 saat sonra soleus

kasında yapılan HSP ölçümlerinde artış izlenirken, 48 saat sonra yapılan ölçümlerde bir artış izlenmemiştir. Bu bilgiyle birlikte ele alındığında, araştırmamızda elde ettiğimiz HSP sonucunun, sakrifikasyon zamanlaması ile de ilişkili olabileceği düşünülebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışması ile, eksantrik egzersizin kas hasarı bulguları yarattığı sonucuna literatürle uyumlu olacak şekilde; plazmadaki kreatin kinaz artışı, soleus kası doku örneğinde total oksidan status artışı ve histolojik bulgularda mononükleer hücre infiltrasyonu, kas lifi kırılmaları, kapiller damarlanma artışı sonuçları elde edilmiştir.

Çalışmada; eksantrik egzersiz modeli olarak yokuş aşağı koşu antrenmanının kasta yaratacağı hasarın eğim artışıyla paralel olduğu hipotezi doğrulanmıştır. -16° eğim ile koşan sıçanlarda, -8° ile koşan sıçanlara oranla plazma CK yoğunluğu fazla, soleus kası TOS oranı yüksek, soleus kası histolojik bulguları da daha fazla hasarı işaret edecek şekilde görülmüştür.

-8° eğimin ise hasar yanıtları TOS sonuçları ve histoloji bulguları açısından; -16°'den az; 0° ve kontrol grubu sıçanlarına göre ise daha fazla bulunmuştur.

Araştırmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda şu önerilerde bulunulabilir;

- Kentleşmenin önemli ayaklarından biri olan mimari tercihlerin, sağlıklı kişilerde günlük yaşam aktivitesi olan yürüme ile dahi kas hasarı yaratacak sonuçlar doğurabileceği göz önünde bulundurulursa, bu konuda gerekli disiplinlerin bilgi paylaşımında bulunması halk sağlığı açısından gereklidir. Egzersiz fizyologları, çevresel mimarinin halk sağlığına uygun düzenlenmesi için danışılması gereken profesyoneller olabilir.
- Antrene olmayan bireylerde; tendinopati, ön çapraz bağ yaralanmaları gibi ortopedik yaralanmaların tedavilerinde kullanılan eksantrik egzersiz

modalitelerinin seçimleri doğru yapılmalı, eğim artışının tedavi protokolünde yaratabileceği olumsuz etki göz önünde bulundurulmalıdır.

- Araştırmada HSP70 sonuçları kasta izlenmemiş, kasın iyileşme süreci ve egzersize adaptasyon döneminde yapabileceği olası etkiler gözlenmemiştir. Bu sonuçları izleme amacıyla, soleus kasında ek analiz ve istatistiksel yöntemler kullanılabilir.

ÖZET

Eksantrik Egzersizde Farklı Eğimlerin Kas Hasarına Etkisi

Eksantrik kas aktivitesi, gerim altında kasın boyunun uzaması ile ortaya çıkar. Alt ekstremitte kaslarının büyük bir bölümü yürüme paterninin bir bölümünde eksantrik olarak kasılır, yerçekimine karşı vücut ağırlığını destekleyerek vücudu dik tutar ve şok absorban görevi görür.

Eksantrik egzersizi takip eden süreçte, kaslarda hasar yanıtları izlenmiştir. Antrene olmayan bireylerde yapılan eksantrik egzersiz, kas liflerinde kopma, sarkomer kayıpları, plazma CK enziminde yükselme gibi hasar yanıtlarına neden olmaktadır.

Çalışmanın amacı, yokuş aşağı koşu egzersizi sırasında ağırlıklı olarak eksantrik olarak çalışan sıçan soleus kası ve plazmada; farklı eğimlerdeki hasar yanıtlarının incelenmesi, eğim artışının hasar ile ilişkili olup olmadığının ortaya çıkarılmasıdır.

Çalışmada, 12 haftalık 32 erkek Wistar sıçanı; kontrol, -16° , -8° eksantrik egzersiz (yokuş aşağı koşu) ve 0° (düz koşu) grubu olarak 4 ayrı gruba ayrılmıştır. Denekler, 10 günlük, 15 dakikayı geçmeyen koşu bandına alışma amaçlı yapılan alıştırmaya protokolünün ardından; 3 gün dinlenmeye alınmış sonrasında 5 gün, 0° , -8° , -16° eğimlerde 90 dk boyunca, 20-25 m/dk hız ile koşu bandında antrenman yapmışlardır. Son egzersizden 48 saat sonra sakrifiye edilen sıçanlarda, serum örneklerinde kreatin kinaz, total antioksidan ve total oksidan seviyeleri, HSP70 ve soleus kasında total antioksidan ve total oksidan seviye tayini yapılmıştır.

Sonuçlarda; plazma CK -16° yokuş aşağı koşu grubunda yükselmiş, soleus kası TOS değerleri yokuş aşağı koşu antrenman gruplarının her ikisinde de (-16° , -8°) yükselmiş, eğim artışı ile soleus TOS değişiklikleri arasında paralel bir durum bulunmuştur.

Soleus kası histoloji sonuçlarında; antrenman gruplarında mononükleer hücre infiltrasyonu, kapiller sayısında artış görülmüş; eğim artışı ile sonuçlar arasında paralel bir durum ortaya çıkmıştır. Ek olarak, -16° antrenman grubu soleus liflerinde, diğer antrenman grupları ve kontrol grubunda görülmeyen kırılmalar gözlenmiştir.

Plazma ve soleus kası TAS sonuçları ile plazma TOS ve HSP70 sonuçlarında deney grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Çalışmada; eksantrik egzersiz modeli olan yokuş aşağı koşu antrenmanı sonucunda kas hasarı meydana geldiği, hasar belirteci olan bir dizi parametredeki artışların, eğitim artışıyla paralel olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Eksantrik egzersiz, yokuş aşağı koşu, soleus kası, HSP70, total oksidan status, total antioksidan status, kreatin kinaz

SUMMARY

Effects of different inclinations to muscle damage at eccentric exercise

Eccentric muscle activation occurs when the muscle lengthens under the tension. Large part of the lower extremity muscles work eccentrically as shock absorbent when walking, hold straight and support the body for against gravity.

Muscle damage indications are seen at the muscle after the period of eccentric exercise. Sarcomer losses, muscle detachments, rising plasma creatin kinase level have been seen after eccentric exercise that is experienced by the untrained people.

The purpose of this study is; to investigate the muscle damage responses at different inclinations for soleus muscle that predominantly works as eccentrically while downhill running.

32 male Wistar rats (12 weeks old) were randomly assigned to control, -16° , -8° eccentric exercise groups (downhill running), 0° (horizontal running) group. 10 days-15 minutes running programmes were designed for practising the motorized treadmill, after resting for 3 days, rats had performed 90 minutes with the speed of 20-25m/s for 5 days.

48 hours after last exercise, rats were sacrificed and creatin kinase, total oxidant-antioxidant status, HSP70 at plasma and total oxidant-antioxidant status, histological changes at soleus were assessed.

CK and TOS markers increased for downhill running group (-16°) and TOS markers increased for downhill running groups (-16° , -8°). There is a correlation with inclination and muscle damage responses.

Histological investigation for soleus muscle shows; the number of mononuclear cell infiltrations and capillars increase after eccentric exercise and there is a correlation with inclination. Additionally, muscle splits have been seen for -16° downhill running group, too.

There is no significant change for plasma TAS/TOS, HSP70 and soleus TAS responses to eccentric exercise.

In this study, after the downhill running protocol as an eccentric exercise; muscle damage responses have been seen and there is a correlation with inclination and muscle damage.

Key words: eccentric exercise, downhill running, soleus muscle, HSP70, total oxidant status, total antioxidant status, creatin kinase

KAYNAKLAR

- ABRAHAM, WM. (1977) Factors in delayed muscle soreness. *Medical Science Sports* **9**:11-20
- ALLEN, DG. (2001) Eccentric muscle damage: mechanism of early reduction of force. *Acta Physiologica Scandanavica* **171**:311-319
- ARMSTRONG, RB., OGILVIE, RW., SCHWANE, JA. (1983) Eccentric exercise-induces injury to rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* **54**:80-93
- BAHR, R., BJORN, F., SVERRE, L., ENGBRETSSEN, L. (2006). Surgical treatment compared with eccentric training for patellar tendinopathy(jumper's knee). *Journal of Bone and Joint Surgery*, **88(8)** 1689-1698
- BALNAVE, CD., THOMPSON, MW. (1993) Effect of training on eccentric-induced muscle damage. *Journal of Applied Physiology* **75**: 1545-1551
- BELCASTRO, M., MARINO, T., RUSSO, N., TOSCANO, M. (2005) Interaction of cysteine with Cu²⁺ and group IIb (Zn²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺) metal cations: a theoretical study. *J Mas Spectrom. Mar*; **40(3)**:300-6.
- BOMBARDIER, E., VIGNA, C., IQBAL, S., TIIDUS, PM., TUPLING, AR. (2009) Effects of ovarian sex hormones and downhill running on fiber-type-specific HSP70 expression in rat soleus. *Journal of Applied Physiology* **106(6)**:2009–2015
- BROCKETT, CL., MORGAN, DL., PROSKE, U. (2001) Human hamstring muscles adapt to eccentric exercise by changing optimum length. *Medical Science Sports Exercise* **33**:783–790
- BUTTERFIELD, TA., HERZOG, W. (2005) Differential serial sarcomere number adaptations in knee extensor muscles of rats is contraction type dependent. *Journal of Applied Physiology*
- CARLSON, CJ., FAN, Z., GORDON, SE., BOOTH, FW. (2001) Time course of the MAPK and PI3-kinase response within 24 h of skeletal muscle overload. *Journal of Applied Physiology* **91(5)**:2079–2087
- CHEN, TC., CHEN, HL., LIU, YC., NOSAKA, K. (2014) **Eccentric** exercise-induced muscle damage of pre-adolescent and adolescent boys in comparison to young men. *European Journal of Applied Physiology* **114(6)**:1183-95.
- CLEAK, MJ., ESTON, RG. (1992) Muscle soreness, swelling, stiffness and strength loss after intense eccentric exercise. *Br J Sports Med. Dec*; **26(4)**: 267–272.
- CLIFFORD, PS., HELLSTENN, Y. (2004) Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* **97**:393–403
- COWELL JF, CRONIN J, BRUGHELLO M. (2012) Eccentric muscle actions and how the strength and conditioning specialist might use them for a variety of purposes. *Strength Cond J* **34**: 33–48

- CRAMERI, RM., AAGARD, P., QVORTRUP, K., LANGBERG, H., OLESEN, J., KJAER, M. (2007) Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. *The Journal of Physiology* **583**:365-380
- DAVIES, ROSEMARY C., ESTON, ROGER G., POOLE, DAVID C., ROWLANDS, ANN V., DIMENNA, FRED., WILKERSON, DARYL P., TWIST, CRAIG., JONES, ANDREW M. (2008) Effect of eccentric exercise-induced muscle damage on the dynamics of muscle oxygenation and pulmonary oxygen uptake *Journal of Applied Physiology* Vol. **105** no. 5, 1413-1421
- DELP, MD., DUAN, C. (1996) Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J Appl Physiol.* **80**, 261–270.
- DURSUN, ALİ DOĞAN., FIÇICILAR, HAKAN., BAŞTUĞ, METİN., TEKİN, DEMET. (2013) Kısa dönem antrenmanın iskelet kasında kaveolin ve VEGF ekspresyonu üzerine etkisi. *Spor Bilimleri Dergisi* **24 (1)**, 11-24
- EREL, ÖZCAN. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. (2004) *Journal of Clinical Biochemistry* **37**: 112-9
- FEN, MA., ZHANG, Y., WEISS, Y., L.M. (2004). Identification and characterisation of a regulatory region in the *Toxoplasma gondii* hsp70 genomic locus. *International Journal of Parasitology* **9**; 34(3):333-346
- FITTS, RH., COURTRIGHT, JB., KIM, DH., WITZMANN, FA. (1982) Muscle fatigue with prolonged exercise: contractile and biochemical alterations. *American Journal of Physiology* **242**:C65–73
- FRIDEN, J., SFAKIANOS, PN., HARGENS, AR. (1989) Blood indices of muscle injury associated with eccentric muscle contractions. *Journal of Orthopedic Research* **7**: 142-145
- FRIDEN, J., LIEBER, RL. (1998) Segmental muscle fiber lesions after repetitive eccentric contractions. *Cell and Tissue Research* **293**: 165-171
- FRIDEN, J., LIEBER, RL. Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibres components. (2001) *Acta Physiology Scand* **171**:321-326
- GERBER, J.P., MARCUS, R.L., DIBBLE, L.E., GRESIS, P.E., BURKS, R.T., LASTAYO, P.C. (2009) Effects of early progressive eccentric exercise on muscle size and function after ACL reconstruction: A 1-year follow-up study of a randomized clinical trial. *Journal of Physical Therapy*. **89(1)**: 52-59
- GHISELLI, A., SERAFINI, M., NATELLA, F. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*; **29(11)**: 1106-14.

- GJOVAAG TF, Dahl HA. (2006) Effect of training and detraining on the expression of heat shock proteins in m. triceps brachii of untrained males and females. *Eur J Appl Physiol* **98(3)**:310-22
- GUILHEM, G., CORNU, C., GUEVEL, A. (2010) Neuromuscular and muscle-tendon system adaptations to isotonic and isokinesthetic eccentric exercise. *Ann Phys Rehabil Med* **53**: 319-341
- HARRY, JD., WARD, AW., HEGLUND, NC., MORGAN, DL., MCMAHON, TA. (1990) Cross bridge cycling theories cannot explain high-speed lengthening behavior in frog muscle *Biophys J* **57**: 201-208
- HERZOG, W. (2013) Mechanisms of enhanced force production in lengthening (eccentric) muscle contractions. *J Appl Physiol.* **116(11)**:1407-17
- HERZOG, W. (2014) The role of titin in eccentric muscle contraction *J Exp Biol.* Aug **15**;217(Pt 16):2825-33.
- HOUGH, T. (1902) Ergographic studies in muscle soreness. *Am J Physiol* **7**:76-92
- HYLDAHL, ROBERT D., HUBAL, MONICA J. (2013) Lengthening our perspective: Morphological, cellular and molecular responses to eccentric exercise
- ISNER-HOROBETI, ME., DUFOUR, SP., VAUTRAVERS, P., GENY, B., COUDEYRE, E., RICHARD, R.(2013) Eccentric exercise training: modalities, applications and perspectives. *Sports Med* **43**: 483–512
- ISNER-HOROBETI, M., RASSENEUR, L., LONSDORFER,-WOLF E., DUFOUR, SP., DOUTRELEAU, S., BOUITBIR, J., ZOLL, J., KAPCHINSKY, S., GENY, B., DAUSSIN,FN., BURELLE, Y., RICHARD, R. (2014) Effect of eccentric versus concentric exercise training on mitochondrial function. *Muscle Nerve* **50(5)**:803-11.
- KANDA, K., SUGAMA K., HAYASHIDA H., Sakuma, J., Kawakami, Y., MIURA, S., YOSHIDA, R., MORI, Y., SUZUKI, K. (2013) Eccentric exercise-induced delayed-onset muscle soreness and changes in markers of muscle damage and inflammation. *Exerc. Immunol. Rev.* **19**: 74-87
- KAYHAN, E.F., ATASAYAR, Z. (2010). Sucul Organizmalarda Isı Şok Proteinlerinin Önemi ve Termotölerans, *Journal of Fisheries Sciences* **4(3)**: 246-253
- KHALIL, AA., KABAPİ, NF., DERAZ, SF., SMITH, C. (2011) Heat shock proteins in oncology: Diagnostic biomarkers or therapeutic targets? *The Journal of Physiology* **412**: 415-427
- KINNEAR, P.R., GRAY, C.D. (1995) SPSS for Windows Made Simple. Lawrence Erlbaum Associates, East Sussex, UK, 275s.
- KJAER, M. (2004) Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* **84**:649-698

- KOH, TJ., HERZOG, W. (1998) Eccentric training does not increase sarcomere number in rabbit dorsiflexor muscles. *J Biomech* **31**:499-501
- LASTAYO, PC., WOOLF, JM., LEWEK, MD., SNYDER-MACKLER, L., REICH, T., LINDSTEDT, SL. (2003) Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sport. *J Orthop Sports Phys Ther* **33**: 557–571
- LAURITZEN, F., PAULSEN, G., RAASTAD, T., BERGERSEN, LH., OWE, SG. (2009) Gross ultrastructural changes and necrotic fiber segments in elbow flexor muscles after maximal voluntary eccentric action in humans. *J Appl Physiol* **107**: 1923-1934
- LIEBER, RL., SCHMITZ MC., MISHRA, DK., FRIDEN, JK. (1994) Contractile and cellular remodeling in rabbit skeletal muscle after cyclic eccentric contraction of 25% strain. *J Appl Physiol* **70**:2498-2507
- LIEBER, RL., THORNELL, L-E., FRIDEN, J. (1996) Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 minutes of cyclic eccentric contraction. *Journal of Applied Physiology* **80**: 278-284
- LIEBER, RL., FRIDEN, J. (2002) Morphologic and mechanical basis of delayed-onset muscle soreness. *J Am Acad Orthop Surg* **10**:67-73
- LINDSTEDT, SL., LASTAYO, PC., REICH, TE. (2001) When active muscles lengthen: properties and consequences of eccentric contractions. *News in Physiological Science* **16**: 256 –261
- LIU, Y., GAMPERT, L., NETHING, K., STEINACKER, JM. (2006) Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. *Frontiers in Bioscience* **11**: 2802-2827
- LOLLO, CB PABLO., S.MOURA, CAROLINA., MORATO, N.PRISCILA., AMAYA FARFAN, JAIME. (2013) Differential response of heat shock proteins to uphill and downhill exercise in heart, skeletal muscle, lung and kidney tissues. *Journal of Sports Science Medicine* **12(3)**:461-466
- LYNN, R., MORGAN, DL. (1994) Decline running produces more sarcomeres in rat vastus intermedius muscle fibers than does incline running. *Journal of Applied Physiology* **77**:1439-1444
- MACKEY, AL., DONNELLY, AE., TURPEENNIEMI-HUJANEN, T., ROPER, HP. (2004) *Journal of Applied Physiology* **97**:197-203
- MAGALHAES, J., FRAGA, M., LUMINI-OLIVEIRA, J., GONCALVES, I., COSTA, M., FERREIRA, R., OLIVEIRA, PJ., ASCENSAO, A. (2013) Eccentric exercise transiently affects mice skeletal muscle mitochondrial function. *Appl Physiol Nutr Metab.* **38(4)**:401-9.
- MAIR, J., KOLLER, A., ARTNER-DWORZAK, E., HAID, C., WICKE, K., JUDMAIER, W., PUSCHENDORF, B. (1992) Effects of exercise on plasma myosin heavy chain fragments and MRI of skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* **72**:656-663
- MARUHASHI, Y., K. KITAOKA, Y., YOSHIKI, R. NAKAMURA, A., OKANO, K., NAKAMURA, T., TSUYAMA, Y., SHIMA and K, TOMITA. (2007) ROS scavenging

- activity and muscle damage prevention in eccentric exercise in rats. *J. Physiol. Sci.* **57**: 211-216
- MCHUGH, MP., CONNOLLY, DA., ESTON, RG., GLEIM, GW. (1999) Exercise-induced muscle damage and potential mechanism for the repeated bout effect. *Sports Medicine* **27**:157-170
- MILNE, KJ., NOBLE, EG. (2002) Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *Journal of Applied Physiology* **93**(2):561–568.
- MORGAN, DL., ALLEN, DG.(1999) Early events in stretch-induced muscle damage. *Journal of Applied Physiology* **87**:2007-2015
- NEWHAM, DJ., MCPHAIL, G., MILLS, KR., EDWARDS, RH. (1983) Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *Journal of Neurological Sciences* **61**: 109-122
- NEWHAM, DJ., JONES, DA., EDWARDS, RHT. (1986) Plasma creatin kinase changes after eccentric and concentric contractions. *Muscle-Nerve* **9**: 59-63
- NEWHAM, DJ., JONES, DA., GHOSH, G., AURORA, P. (1988) Muscle fatigue and pain after eccentric contractions at long and short length. *Clinical Science* **412**; 415-427
- NIKOLAIDIS, MG., JAMURTAS, AZ., PASCHALIS, V., FATOUROS, IG., KOUTEDAKIS, Y., KOURETAS, D. (2008) The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Med.* **38**(7):579-606.
- OGATA, T., OISHI, Y., ROY, RR., OHMORI, H. (2005) Effects of T3 treatment on HSP72 and calcineurin content of functionally overloaded rat plantaris muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* **17**;331(4):1317-23.
- OISHI, Y., TANIGUCHI, K., MATSUMOTO, H., ISHIHARA, A., OHIRA, Y., ROY, RR. (2002) Muscle type-specific response of HSP60, HSP72, HSP73 during recovery after elevation of muscle temperature. *Journal of Applied Physiology* **92**: 1097-1103
- O’SULLIVAN, K., MCAULIFFE, S., DEBURCA, N. (2012) The effects of eccentric training on lower limb flexibility: a systematic review. *British Journal of Sports Medicine* **46**:838 –845, 2012
- PAULSEN, G., VISSING, K., KALHOVDE JM., UGELSTAD I., BAYER ML., KADIF., SCHJERLING, P., HALLEN, J., RAASTAD, J. (2007) Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* Published 1 August Vol. **293** no. 2,R844-R853
- PEAKE J, NOSAKA K, SUZUKI K. (2005) Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc Immunol Rev.* **11**:64-85 Review.
- PETERS, D., BARASH, I., BURDI, M., YUAN, PS., MATHEW. L.,FRIDEN, J.,LIEBER, RL. (2001) Asynchronous functional, cellular and transcriptional changes after a bout of eccentric exercise in the rat. *The Journal of Physiology* **553**:947-957

- PROSKE, U., MORGAN, DL. (2001) Muscle damage from eccentric exercise; mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *The Journal of Physiology* **537**:333-345
- SAITHNA, A., GONGA, R., BARAZA, N., MODI, C., SPENCER, S. (2012) Eccentric exercise protocols for patella tendinopathy: should we really be withdrawing athletes from sport? A systematic review. *Open Orthopedia Journal* **6**:553-7.
- SELSBY, JT., ROTHER, S., TSUDA, S., PRACASH, O., QUINDRY, J., DODD, SL. (2007) Intermittent hyperthermia enhances skeletal muscle regrowth and attenuates oxidative damage following reloading. *Journal of Applied Physiology* **102**(4):1702–1707
- SHEPPARD, JM., HOBSAB, S., BARKER, M., TAYLOR, K., CHAPMAN, D., MCGUIGAN, M., NEWTON, R. (2008) The effect of training with accentuated eccentric load counter-movement jumps on strength and power characteristics of high-performance volleyball players. In *J Sports Sci Coaching* **3**: 355-363
- SHEPPARD, JM., YOUNG, K. (2010) Using additional eccentric loads to increase concentric performance in the bench throw. *J Strength Cond Res* **24**: 2853-2856
- SISSON, MARK. (2013) Biomechanical work: Concentric, eccentric, isometric contraction. <http://blog.jimlien.com/tag/mark-sisson/>
- SMOLKA, MB., ZOPPI, CC., ALVES, AA., SILVEIRA, LR., MARANGONI, S., PEREIRA, Da-Silva L., NOVELLO, JC., MACEDO, DV. (2000) HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **279**(5):R1539–R1545
- SUBUDHI, AW., DAVIS, SL., KIPP, RW., ASKEW, EW. (2001) Antioxidant status and Oxidative stress in elite alpine ski racers. *International Journal Sport Nutrition Exercise Metabolism* **11**: 32-41.
- TAKEKURA, H., FUJINAMI, N., NISHIZAWA, T., OGASAWARA, H., KASUGA, N. (2001) Eccentric exercise-induced morphological changes in the membrane systems involved in excitation-contraction coupling in rat skeletal muscle. *The Journal of Physiology* **533**:571-583
- TOUCHBERRY, CHAD D., GUPTE, ANISHA A., BOMHOFF, GREGORY L., GRAHAM, ZACHARY A., GEIGER, PAIGE C., GALLAGHER, PHILIP M. (2012) Acute heat stress prior to downhill running may enhance skeletal muscle remodeling. *Cell Stress Chaperones* **17**(6): 693-705
- TSIVITSE, SK., MCLOUGHLIN, TJ., PETERSON, JM., MYLONA, E., MCGREGOR, SJ., PIZZA, FX. (2003) Downhill running in rats: influence on neutrophils, macrophages, and MyoD + cells in skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology* **90**(5–6):633–638.
- UEHARA, K., GOTO, K., KOBAYASHI, T., KOJIMA, A., AKEMA, T., SUGIURA, T., YAMADA, S., OHIRA, Y., YOSHIOKA, T., AOKI, H. (2004) Heat-stress enhances proliferative potential in rat soleus muscle. *Japan Journal of Physiology* **54**(3):263–271
- VIJAYAN, K., THOMPSON, JL., NORENBERG, KM., FITTS, RH., RILEY, DA. (2001) Fiber-type susceptibility to eccentric contraction-induced damage of hindlimb-unloaded rat AL muscles. *Journal of Applied Physiology* **90**:770-776

- VOGT, M., HOPPLER, HANS. (2014) Eccentric exercise: mechanisms and effects when used as training regime or training adjunct. *Journal of Applied Physiology* **116**: 1446-1454
- WIDMAIER, ERIC P., RAFF, HERSHEL., STRANG, KEVIN T. (2010) Vander İnsan Fizyolojisi. S.Demirgören (Çeviri Editörü) İzmir Güven Kitabevi
- WARREN, GL., INGALLS, CP., LOWE, DA., ARMSTRONG, RB. (2001) Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. *Exercise and Sport Sciences Reviews* **29**:82-87
- WARREN, GL., LOWE, DA., HAYES, DA., KARWOSKI, CJ., PRIOR, BM., ARMSTRONG, RB. (1993) Excitation failure in eccentric contraction-induced muscle injury of mouse soleus muscle. *The Journal of Physiology* **468**:487-499

EK-1**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ**

TOPLANTI TARİHİ :04/09/2013
 TOPLANTI NO :2013-15
 DOSYA NO :2013-104
 KARAR NO :2013-15-119

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Emine Koç'un yaptığı ve araştırmacı olarak Uzm.Dr.Ali Doğan Dursun ve Fizyoterapist Evrim Gökçe'nin katıldığı "Sıçanlarda Farklı Eğilimlerdeki Eksantrik Egzersizin Kas Hasarına Etkisi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine göre aşağıdaki kapsamda yapılmasına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Hayvan Türü : Sıçan
 Hayvan Sayısı : 40
 Geçerlilik Süresi : 01/11/2013-01/11/2014

ASLININ AYNIDIR
04/09/2013

H. Sarımehtemetoğlu
 Başkan



Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU
 A.Ü.

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

Adı: Evrim

Soyası: GÖKÇE

Doğum yeri ve tarihi: İzmir / 12.09.1985

Medeni Durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Şehit Macit Ağca Sokak 12-4, Küçük Esat-ANKARA (0 555) 564 86 74

II. Eğitimi

Hacettepe Üniversitesi Fizik tedavi ve Rehabilitasyon Bölümü (2008)

Buca Anadolu Lisesi (2003)

Tuğsavul İlkokulu (1995)

III. Ünvanları: Fizyoterapist

IV. Mesleki Deneyimi:

El ve mikrocerrahi, ortopedi ve travmatoloji hastanesi-EMOT/İZMİR (2008)

Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi (2011)

V. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI. Bilimsel İlgi Alanları

VII. Bilimsel Etkinlikleri

Projeleri:

- Ratlarda farklı eğitimlerdeki eksantrik egzersizin kas hasarına etkileri (2013-2014)
(Ankara Üniversitesi BAP Destekli)

Verdiği konferans ya da seminerler:

- 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi Sözlü Bildiri Sunumu, 2014; "Farklı eğitimlerdeki eksantrik egzersizin iskelet kası üzerine etkileri"

VIII. Diğer Bilgiler