

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**İSKELET VE KALP KASI DOKUSUNDA
YAŞA BAĞLI DEĞİŞİKLİKLERİN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL VE WESTERN BLOTING
YÖNTEMLERİ KULLANILARAK
KARŞILAŞTIRMALI OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Gülezer GÖKTAŞ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN

ANKARA
Şubat 2013

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 04/02/2013



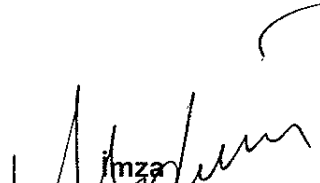
İmza
Prof.Dr.Deniz Erdoğan
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Jüri Başkanı



İmza
Prof.Dr.Celal Ilgaz
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı



İmza
Prof.Dr.Engin Çalgüner
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı



İmza
Prof.Dr.Atilla Dağdeviren
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı



İmza
Doç.Dr.Gülnur Taka Kaplanoğlu
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji
Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	I
İçindekiler.....	II
Fotoğraflar.....	VI
Tablolar	XII
Grafikler	XIII
Semboller ve Kısaltmalar	XIV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Kas Dokusunun Gelişimi	5
2.1.1. İskelet Kası Gelişimi	5
2.1.2. Kalp Kasının Gelişimi	8
2.2. Kas Dokusu Anatomisi	11
2.2.1. İskelet Kası Anatomisi	11
2.2.2. Kalp Kası Anatomisi	18
2.3. Kas Dokusu Histolojisi	22
2.3.1. İskelet Kası Histolojisi.....	22
2.3.2. Kalp Kası Histolojisi	32
2.4. Kas Dokusu Fizyolojisi	35

2.4.1. İskelet Kası Fizyolojisi	35
2.4.1.1. Sinir Kas Kavşağı	36
2.4.1.2. İskelet Kasında Kasılma Yanıtı	38
2.4.2. Kalp Kası Fizyolojisi	39
2.4.2.1. Kalbin Uyarı ve İletim Sistemi	41
2.4.2.2. Kalpte Öz-Uyarım	44
2.4.2.3. Yavaş Yanıt Aksiyon Potansiyeli	45
2.4.2.4. Hızlı Yanıt Aksiyon Potansiyeli ve Kalbin Kasılması	46
2.4.2.5. Kalp Döngüsü	49
2.5. Kullanılan Belirteçler	51
2.5.1. Tip I Kollajen	51
2.5.2. FGF-2	53
2.5.3. IGF-I	55
2.5.4. GDF-8	57
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	59
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	59
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem	60
3.3. Western Blot Yöntemi	63
3.4. Elektron Mikroskopi Takip Yöntemi	66
3.4.1. Scanning Elektron Mikroskopi Takip Yöntemi	66
3.4.2. Transmission Elektron Mikroskopi Takip Yöntemi	66
3.5. İstatistik Yöntemi	67

4. BULGULAR.....	68
4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular	68
4.1.1. İskelet Kası Bulguları.....	68
4.1.1.1. Tip I Kollajen Bulguları.....	68
4.1.1.2. FGF-2 Bulguları.....	70
4.1.1.3. IGF-I Bulguları	71
4.1.1.4. GDF-8 Bulguları	73
4.1.2. Kalp Kası Bulguları.....	74
4.1.2.1. Tip I Kollajen Bulguları.....	74
4.1.2.2. FGF-2 Bulguları.....	75
4.1.2.3. IGF-I Bulguları	76
4.1.2.4. GDF-8 Bulguları	77
4.2. Western Blot Bulguları.....	145
4.2.1. İskelet Kası Bulguları.....	145
4.2.2. Kalp Kası Bulguları.....	147
4.3. Scanning ve Transmission Elektron Mikroskobu Bulguları.....	149
4.3.1. İskelet Kası Bulguları.....	149
4.3.2. Kalp Kası Bulguları.....	151
4.4. İstatistik Bulguları	183
5. TARTIŞMA.....	191
6. SONUÇ	228
7. ÖZET	232

8. SUMMARY	234
9. KAYNAKLAR.....	236
10. EKLER	257
10.1. Etik Kurul Onay Formu	257
11. TEŞEKKÜR.....	258
12. ÖZGEÇMİŞ.....	259

FOTOĞRAFLAR

Fotoğraf 1A, B: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).

Fotoğraf 2A, B: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).

Fotoğraf 3: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 4: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 5: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 6: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 7: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 8: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 9: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 10: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 11: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 12A, B: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX100).

Fotoğraf 13: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 14: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 15: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 16: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 17: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 18: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 19: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 20: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 21: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 22: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 23A, B: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX100).

Fotoğraf 24A, B: : Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX100).

Fotoğraf 25: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 26A, B: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX400).

Fotoğraf 27: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 28: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 29: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 30: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 31: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 32: : 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 33: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 34: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 35A, B: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen Tip I kollajen immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX100).

Fotoğraf 36: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 37: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 38: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 39: : Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 40: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 41: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 42: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 43: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 44: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 45: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen FGF-2 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 46: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 47: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 48: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 49: : Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 50: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 51: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 52: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 53: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 54: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 55: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen IGF-I immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 56: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 57: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 58: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 59: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 60: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 61: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 62: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 63: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 64: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).

Fotoğraf 65: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde görülen GDF-8 immünreaktivitesi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Fotoğraf 66: İskelet kasına ait Tip I Kollagen proteinin gruplara göre Western blot analizi.

Fotoğraf 67: Kalp kasına ait Tip I Kollagen proteinin gruplara göre Western blot analizi.

Fotoğraf 68: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 69: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 70: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örnekleri TEM fotoğrafı

Fotoğraf 71: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 72: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örnekleri, SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 73: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 74: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örnekleri, TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 75: 1 aylık gruba ait iskelet kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 76: 1 aylık gruba ait iskelet kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 77: 6 aylık gruba ait iskelet kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 78: 6 aylık gruba ait TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 79: 6 aylık gruba ait iskelet kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 80: 12 aylık gruba ait iskelet kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 81: 12 aylık gruba ait iskelet kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 82: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 83: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinin TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 84: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinin TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 85: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 86: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinin TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 87: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinin TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 88: 1 aylık gruba ait kalp kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 89: 1 aylık gruba ait kalp kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 90: 1 aylık gruba ait kalp kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 91: 6 aylık gruba ait kalp kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 92: 6 aylık gruba ait kalp kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 93: 6 aylık gruba ait kalp kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 94: 12 aylık gruba ait kalp kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 95: 12 aylık gruba ait kalp kası örnekleri SEM fotoğrafı.

Fotoğraf 96: 12 aylık gruba ait kalp kası örnekleri TEM fotoğrafı.

Fotoğraf 97: 12 aylık gruba ait kalp kası örnekleri TEM fotoğrafı.

TABLolar

Tablo 1: İskelet kası için tüm gruplara ait Tip I Kollajen, FGF-2, IGF-I ve GDF-8 immünreaktivite skor tablosu.

Tablo 2: Kalp kası için tüm gruplara ait Tip I Kollajen, FGF-2, IGF-I ve GDF-8 immünreaktivite skor tablosu.

Tablo 3: İskelet kasına ait Tip I Kollajen proteini hedef gen tablosu.

Tablo 4: Kalp kasına ait Tip I Kollajen proteini hedef gen tablosu.

Tablo 5: Subsarkolemmal bölge mitokondriyon ölçümleri tablosu.

Tablo 6: İntermiyofibriller bölge mitokondriyon ölçümleri tablosu.

GRAFİKLER

Grafik 1: İskelet kasına ait Tip I Kollajen protein yoğunluğu grafiği.

Grafik 2: Kalp kasına ait Tip I Kollajen protein yoğunluğu grafiği.

Grafik 3: İskelet kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği.

Grafik 4: İskelet kasına ait intermiyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği.

Grafik 5: İskelet kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği.

Grafik 6: İskelet kasına ait intermiyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği.

Grafik 7: Kalp kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği.

Grafik 8: Kalp kasına ait intermiyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği.

Grafik 9: Kalp kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği.

Grafik 10: Kalp kasına ait intermiyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği.

SEMBOLLER ve KISALTMALAR

TEM: Transmission elektron mikroskobu

SEM: Scanning elektron mikroskobu

FGF: Fibroblast büyüme faktörleri

IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörleri

TGF- β : Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β

GDF-8: Büyüme ve farklılaştırma faktörü-8, miyostatin

MYO-D: Myoblast determination protein

DNA : Deoksiribonükleik asit

mRNA: Mesajcı ribonükleik asit

BMP-4: Bone morphogenetic protein

MYF-5: Miyogenik faktör-5

MADS: Serum yanıt faktörü

MEF-2: Muscle enhancer factor-2

ADP: Adenozin difosfat

ATP: Adenozin trifosfat

GH: Büyüme hormonu

1. GİRİŞ

Yaşlanma süreci doğumla birlikte başlayan, zamana koşut artarak organizmanın ölümüne neden olan hücresel değişimlerin tümüdür. Yaş artışına koşut tüm organizmada oluşan bu olay, bazı dokularda öncelikli olarak kişinin yaşam kalitesini düşürecek etkilere neden olur.¹ Yaşlanma sırasında belirli dokularda azalan ya da artan moleküllerin ve bu moleküllerin etki düzeneklerinin belirlenmesi bu sürecin işleyişini anlamamıza önemli bir katkı sağlayacaktır.

İskelet kasları, yaşlandıkça küçülür ve güçsüzleşir. Bugüne değin edinilen veriler, iskelet kas hasarının oluşum mekanizmasını tam olarak açıklayamamaktadır. Ancak serbest radikallerin oluşumundaki artışın, iskelet kasının uyum yanıtı oluşturmada bir aktivatör olarak işlev yaptığını düşündürmektedir. Kasta yaşlanmanın sonucu oluşan değişiklikler, kasın fizyolojik işlevini azaltır ve kastaki güç yitimi genellikle fiziksel erkteki düşüşle ilgilidir. Kalp kaslarında ise, endokardiyum ile kalp kapakçıklarının kalınlaşması ve kalsifikasyonu, miyokardiyumdaki hücreler arası fibröz ve adipoz doku artışı, miyokardiyal dokunun bazı bölgelerinin büzülmesi bazı bölgelerinin ise hipertrofisi, sinoatriyal düğümde fibrozis ve kas hücrelerinde lipofuksin pigmentinin birikmesi yaşlılığa koşut değişiklikler olarak değerlendirilebilir. İskelet ve kalp kasında zamanla olduğu bilinen bu değişikliklerin tümü ya da bir bölümü, kas dokusunda lipofuksin pigment birikimi dışında, yaşlılık dışı etkenlerden de kaynaklanıyor olabilir. Bu nedenle bu konuda, kesin bir genelleme yapmak olanaksızdır. Yapısal değerlendirmeler dışında, yaşa koşut olaylanan moleküler değişikliklerin aydınlatılması bu sürecin anlaşılabilmesinde önemli rol oynamaktadır ve bizim çalışmamızın da temelini oluşturmaktadır.

İskelet ve kalp kası mezodermal kökenli kas dokularıdır. Ancak iskelet kası, oksipital bölgeden sakral bölgelere kadar olan somitleri ve kafadaki somitomerleri oluşturan paraksiyal mezodermden köken alırken, kalp kası ilkel kalp tüpünü çevreleyen splanknik mezodermden gelişir. Histolojik olarak da önemli benzerlikler gösteren her iki kas dokusu, oluşumları ve süreklilikleri için benzer sitokinlere gereksinim duyarlar.² Bununla birlikte, iskelet ve kalp kasının gelişimi ile sürekliliğinin sağlanmasında, sitokinlerin olduğu kadar, hücre dışı matriks bileşenlerinden bağ doku liflerinin de büyük önemi bulunmaktadır.

Bağ dokunun önemli bileşenlerinden biri olan kollajen, hücre dışı matriksi oluşturan başlıca proteindir. Kollajenler erken gelişim evresinde belirmeye başlarlar. Erişkin iskelet kasında olduğu gibi, fetal perimisyumda çoğunlukla Tip I Kollajen ve az miktarda Tip III Kollajen bulunmaktadır. Fetal endomisyumda ise başlıca Tip IV Kollajen ve ek olarak Tip I ile Tip III Kollajen bulunur.³ Kalpteki bağ dokuda da kollajen lifler yer almaktadır. Yaşlanmayla birlikte intrakardiyak bağ dokusunun endo ve perinöryumu çevreleyen kollajen lifleri Tip III' ten Tip I Kollajene dönüşür ve kalınlaşır.^{4,5}

Fibroblast büyüme faktörleri (FGF), omurgalıların gelişiminde hücre büyümesi, ölümünün engellenmesi ve sonunun belirlenmesi gibi birçok farklı rollere sahiptir. Embriyo ve embriyolojik dokuların; aksiyal yapılaşması, aralarında hücre türlerinin belirlenmesi ve ayrışması, organların ve dolaşım sistemi gibi organ sistemlerinin morfogenezisi, hücre çoğalması ile hücre hareketlerinin düzenlenmesi gibi pek çok biyolojik olayda önemli işlevleri vardır.

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) ise; iskelet kası için gelişme, büyüme, farklılaşma ve şekillenmede ayrıca metabolik süreçlerin düzenlenmesinde rol oynayan polipeptid yapıda büyüme faktörleridir.⁶ IGF sistemi, iskelet kasının oluşumunda ve sürekliliğinde esas rol oynar. Ancak yaş arttıkça, dolaşımdaki büyüme hormonu (GH) ve IGF-I düzeyleri azalmaktadır.⁷ Bununla birlikte kalp gelişimi ve hipertrofisinde de IGF-I' in düzenleyici rolü olduğu bilinmektedir.⁸

TGF- β (Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β) ailesinin yeni bir üyesi olan GDF-8 (Büyüme ve farklılaştırma faktörü-8, miyostatin), öncelikli olarak gelişmekte olan ve sonrasında erişkin iskelet kasında ifadelenir. GDF-8 ifadesi erken embriyogenezis sırasındaki miyogenik öncüllerde ortaya çıkar ve doğum sonrası iskelet kasında da ifadeleri sürer.⁹ GDF-8' in eksikliğinde iskelet kasının gelişiminde büyük artış olur. Bu etki, miyofibril çapı ve sayısındaki artışa koşut gerçekleşir.¹⁰ GDF-8, kalp kası büyümesi ve değişiminde de önemli rol oynar.¹¹

Kas liflerinin fenotipi geri dönüşümsüz olarak sabitlenmemiştir. Doğum öncesinde, fark edilebilir esnekliğe sahiptirler. Egzersize koşut olarak hipertrofi yanıtı oluşturabilir ya da yorgunluğa karşı daha dirençli olabilirler. İnaktiviteye ve denervasyona atrofiyle uyum sağlarlar. Bu değişimlerin tümüne çeşitli moleküllerin ifadeleri eşlik eder. Diğer birçok hücre tipi de fenotiplerini çevresel uyaranlara göre düzenler, ancak moleküler değişimler kas liflerinde olduğu kadar çarpıcı değildir.

Yapılan kaynak araştırmalarında mezodermal kökenli olduğu bilinen her iki kas dokusunun gelişiminde işlevsel olan sitokin ve büyüme faktörlerinin kısmen tanımlandığı saptanmıştır. Bu faktörlerin özellikleri,

Üretim mekanizmaları ve etkilerini nasıl gösterdikleri ile ilgili bilgilerimizin artması, normal ve patolojik koşullardaki organ çalışması, doku morfogenezi ve hücre türü indüksiyonunun moleküler temelini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir. Ancak bu sonuçlara ulaşabilmek için öncelikle olarak sözü geçen moleküllerin, yaşa koşut olarak belirli dönemlerde, dokularda nasıl ifadelendiklerinin bilinmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda her iki kas dokusuna ait yaşlanmadaki değişikliklerin bu düzeyde açıklandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu erekle, çalışmamızda değişik yaş gruplarında, embriyonik dönemden yaşlanmaya değin, iskelet ve kalp kasındaki olası değişikliklerin sözü geçen moleküller düzeyinde, immünhistokimyasal ve Western blotting yöntemleri kullanarak, karşılaştırmalı olarak incelenmesi planlanmıştır. Çalışmamızda yer alan tüm gruplarda, yine iskelet ve kalp kasında meydana gelen yapısal değişiklikler de scanning (SEM) ve transmission (TEM) olmak üzere iki farklı elektron mikroskobu ile değerlendirilmiş ve ince yapı düzeyinde de farklılıkların ortaya konulması amaçlanmıştır. Bunlara ek her iki kas tipinde de intermiyofibriller ve subsarkolemmal olmak üzere iki farklı alanda mitokondriyon sayıları ve çapları ölçülerek, sonuçlar ayrı ayrı ve karşılaştırmalı olarak istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kas Dokusunun Gelişimi

Kas sistemi ektodermden gelişen iris düz kasları dışında, mezodermden köken alır. İskelet kası oksipital bölgeden sakral bölgelere kadar olan somitleri ve kafadaki somitomerleri oluşturan paraksiyal mezodermden gelişir. Kalp kası ise üçüncü kalp tüpünü çevreleyen splankik mezodermden gelişir.²

2.1.1. İskelet Kası Gelişimi

İskelet kaslarının çoğu doğumdan önce gelişir. Diğerleri ise birinci yılın sonuna kadar şekillenirler. İlk yıldan sonra daha çok miyofibrilin şekillenmesi ile liflerin çapları artar ve böylece kas boyutunda artış olur. Büyüyen iskelet ile birlikte kaslar uzunluklarını ve genişliklerini artırır. Bir kas lifinin ulaşabileceği boyut, yapılan egzersiz miktarına koşut artar. Ancak oluşan her kas lifi gelişimini tamamlayamaz ve bazıları dejenere olur.¹²

Somitler ve somitomerler aksiyal iskeletin, vücut duvarının, ekstremitelerin ve başın kas yapısını oluşturur. Oksipital bölgeden kaudale doğru oluşan somitler, skleretom ve dermatom ile kas oluşturucu iki bölgeye ayrılır. Bu bölgelerden biri somitin dorsolateral bölgesidir ve aynı zamanda ilk bulunan kas düzenleyici faktör olan MYO-D (Myoblast determination protein) ailesi burada ifadenmektedir. MYO-D ailesinin tüm üyeleri DNA' in (Deoksiribonükleik asit) bağlanacağı bölgeler içerir. Kas

oluşumunda işlev gören, diğer gen sıralarını düzenleyen transkripsiyon faktörleri olarak görev yaparlar. MYO-D, lateral plak mezoderminden gelen BMP-4 (Bone morphogenetic protein) ve FGF genlerinin, komşu ektodermden gelen WNT proteinleri aracılığıyla somitin dorsolateral hücrelerini uyarmasıyla salınmaktadır. Üstteki ektodermden salgılanan BMP-4, nöral tüpün dorsolateralinden WNT yapımını uyarır. Dorsolateral bölge, ekstremit ve vücut duvarı kaslarını (hipomerik) oluşturacak hücreleri oluşturmak için göç eder.¹²

Somitin dorsomedialinde yer alan ikinci bölge ise, dermatomu oluşturan hücrelerin ventraline göç eder ve miyotomu yapar. Nöral tüpün dorsolateralinden salınan WNT kasa özgü bir başka gen olan MYF-5' i (Miyogenik faktör-5) uyarır. Miyotomdan epimerik kasları oluşturan MYF-5 geninin ifadelenmesiyle, hücrel farklanma süreci başlar. MYO-D ve MYF-5 proteinleri, myogenin ve MRF-5 genlerini aktive ederek myotüplerin ve miyoliflerin oluşumunu destekler. Herhangi bir nedenle MYO-D ve MYF-5 proteinleri baskılanırsa kas oluşumu başarısızlıkla sonuçlanır.¹²

Miyotomdan köken alan hücreler ilk olarak kas hücreleri olan miyoblastlara farklanırlar. Öncü miyoblastlar ard arda mitoz bölünme geçirirler. Hücreler birbirlerinden ayrılmaz ve kaynaşarak uzun, çok çekirdekli kas liflerini oluştururlar. Miyoblastların birleşmesi kusursuz bir süreçtir. Öncelikli olarak miyoblastların sıralanmasını, Ca^{+2} bağımlı tanıma düzeneğiyle yapışmasını ve son olarak da sarkoplazmalarının birleşmesini içerir. Hücreler daha sonra uzamayı sürdürerek silindir şeklini alırlar. Bu süreçte hücreler IGF' nin etkisiyle, yoğun olarak mRNA (Mesajcı ribonükleik asit) ve protein sentezi yaparlar. Aktin ve miyozini oluşturmak için troponin ve tropomiyozin gibi kas kasılmasını düzenleyici proteinler

sentezlerler. Sentezlenen proteinler miyofibrillerin içine yerleşerek işlevsel birim olan sarkomeri şekillendirir. Sarkoplazmada miyofibrillerin belirmeye başlamasıyla, 3. ayın sonunda iskelet kasları için özgün olan çapraz çizgilenmeler ortaya çıkar. Baş bölgesinde, oksipital somitlerin rostralinde yer alan yedi adet somitomerde de benzer bir süreç olaylanır. Somitomerler hiçbir zaman sklerotom ve dermomiyotom segmentlerine ayrılamayan ancak gevşek şekilde düzenlenmiş yapılar olarak kalırlar.^{2,12}

Başlangıçta çekirdekler hücrenin ortasında yer almasına karşın, kasılma proteinlerinin sentezlenip orta bölümde düzenlenmesiyle, periferiye yönlendirilerek sürekli yerleşim yerleri olan sarkolemmanın altına doğru göç ederler. Bu evrede iskelet kas hücrelerinin en son farklılaşma aşaması olan kas lifine dönüştüğü kabul edilir. Kas liflerinin tam anlamıyla gelişmesi miyotüp çekirdeğinin kenara göçüyle tamamlanır. Bu aşamadan sonra çok çekirdekli kas lifinin çekirdeği proliferasyon olmaz. Ancak kas lifi fötusun ve bebeğin hızlı gelişimi nedeniyle büyümesini sürdürür.¹³

Satellit (uydu) hücreler ise, kas lifi ile bazal lamina arasında yerleşiktir ve bölünen hücrelerden bazıları kas lifiyle birleşir. Satellit hücreler kas lifi için gerekli olan kasılabilir proteinleri sentezleyebilecek yetenektedir. Erişkin dönemde, satellit hücreler, kas lifinin eksternal laminası ile sarkolemması arasında varlıklarını sürdürürler. Kendini yenileyebilme özelliği sınırlı olan iskelet kasında, hasarlanmalardan sonra da satellit hücrelerin kök hücre işlevi gösterdiği belirlenmiştir. Bu hücreler miyoblastları oluşturmak için çoğalırlar. Bazal laminanın değişmeden kalması koşuluyla, miyoblastlar, birbirleriyle birleşerek miyotüpleri oluşturur ve olgunlaşarak kas hücrelerini meydana getirirler. Bazal laminanın yapısı bozulursa; fibroblastlar, yara dokusu oluşturarak hasarlı alanı onarırlar.¹³

Doğumdan önce, kas içinde belli sayıda miyofibril bulunur. TGF- β ailesi üyesi olan GDF-8, kas normal boyutuna ulaşınca ifadelenmeye başlar ve kas büyümesini durdurur. Kas hücrelerinde mitoz bölünme olmadığından kaslar sayıca artamazlar. Kas hücresinin büyümesi, uzunlamasına yani sarkomer sayısının artması ve enlemesine yani miyofibril sentezi ile çapın artışı şeklinde gerçekleşir.^{13,14,15}

2.1.2. Kalp Kasının Gelişimi

Kalp kası çizgilenme göstermekle birlikte, embriyolojik gelişim olarak iskelet kasına karşı birçok farklılık gösterir. Başlangıçta sadece endotelden oluşan ilkel kalp tüpü, gelişimin 22. gününde kalın bir splanknik mezoderm katmanıyla sarılarak iki kat halini alır. Yeni şekillenen bu katman miyokardiyum olarak adlandırılan kalbin kas katıdır. Kalp miyoblastları ilkel miyokardiyumdan farklıdır. Kalp kası 1. aydan itibaren belirgin hale gelmeye başlar ve gelişmelerinde kardiya-spesifik genlerin etkili olduğu düşünülmektedir. Kalp ve iskelet kası gelişimindeki fark, erken dönemde ortaya çıkmaktadır. MYO-D ve iskelet kasını düzenleyici diğer ana öncüller, erken kalp kası gelişiminde salınmazlar. Kalp ve iskelet kası öncülleri olan MADS (MCM1, Agomous, Defience, serum yanıt faktörü), box içeren transkripsiyon faktörü MEF-2' nin (Muscle enhancer factor-2) ifadelenmesini sağlar. MEF-2 MYO-D ailesiyle uyumlu bir şekilde çalışır. Embriyoda kalp ve iskelet kası hücreleri yüksek düzeyde α -aktin ifadesi gösterirler. Hipertrofi gerçekleştiğinde, olgun kalp kası hücreleri büyük oranda α -aktin mRNA' larını ifade etmeye başlarlar. Doğumla birlikte bu molekülün iskelet kasındaki salınımı düşer ancak kalp kasında yüksek düzeyde kalır.²

Kalp miyoblastlarının sitoplazmasında çok sayıda miyofilaman bulunmaktadır ve bunlar belirgin kasılmaları oluşturma yeteneğine sahiptirler. Kalp kası lifleri, yeni miyofilamanların oluşumu sonucunda büyür.^{16,17}

Embriyoda tek çekirdekli olan kalp miyositleri zor bir sorunla karşılaşmaktadırlar. Kalbi oluşturan bu hücreler, kalbin hacmi artarken kasılmayı sürdürmek zorundadırlar. Bu işlevsel gereksinim, sitoplazmalarında çeşitli kasılabilir miyofilaman demetlerini içermelerine karşın mitozla yönelmelerini gerektirebilmektedir. Genel olarak hücreler, sitoplazmalarında farklılaşmış düzeyde özgün yapılar içermeye başladıklarında bölünebilme yeteneklerini yitirebilmektedirler. Kalp miyositleri ise bu sorunu mitoz sırasında kasılabilir miyofilamanlarını da kısmen parçalara ayırarak çözerler.^{13,17}

Kalp kası lifleri, tek hücrelerin büyümesi ve farklılaşmasından oluşur. Oysa iskelet kası lifleri hücrelerin kaynaşması ile gelişmektedir. Kalp kası hücreleri gelişirken, miyoblastlar birbirlerine yapışırlar ancak hücre membranı bu yapışma bölgelerinde kaybolmaz ve diskus interkalaris' i oluştururlar. Tipik kalp kası liflerinden çap olarak daha büyük ve daha yeni birkaç miyofibril içeren özel kas hücre demetlerinin gelişmesiyle ise Purkinje lifleri oluşur. Bu atipik kalp kası hücreleri, kalbin iletim sistemini yaparlar.^{2,12,13}

Embriyonel gelişmenin ileri evrelerinde kalp kası hücreleri seçici yollarla farklılaşmayı sürdürürler. Bu farklılaşma sonucunda, kalbin boyutunda artış, miyofibril yoğunluğunun azalması ve sitoplazmadaki glikojen yoğunluğunun giderek artması gibi olaylar gerçekleşir.

Kalp kası myofibriler yapısı yetişkin düzeydeki konumuna doğuma yakın ulaşır. Kalp kasının ritmik bütün halinde kasılmasında önem taşıyan interkalat disk yapısı ve bu yapıyı oluşturan sıkı bağlantı birimleri insanda doğum sonrası 6. yaş civarında yetişkindeki düzenlenişini almaktadır.¹⁸

2.2. Kas Dokusu Anatomisi

2.2.1. İskelet Kası Anatomisi

Organizmada yer alan 650 kadar kasın toplam ağırlığı insandan insana değişmekle birlikte, tüm vücut ağırlığının ortalama %40-50' sini oluşturur. İskelet kasları hareket sisteminin kasları olup, merkezi sinir sisteminin etkisiyle çalışırlar. Kısa sürede kasılabilen ve kasılma olayında ritmik tekrarların gözlenmediği hareketleri yaparlar.¹⁹

Kasların kemiklere tutundukları, sert, kuvvetli kırılaşmış bölümlerine tendon denir. Kas iki ya da daha çok tendon yapısıyla bağ dokusuna (tendon, ligament, aponeurosis ya da fascia), kemiğe, kırıkdağa, organ ya da deriye tutunur. Bir iskelet kası iki ya da daha fazla tutunma bölgesine sahiptir. Kas kasıldığında, tutunma yerlerinden biri sabit kalırken diğeri hareket eder. Bu tutunma yerlerinden en az hareketli olanı origo (başlama yeri), en hareketli olanı ise insertio (sonlanma yeri) olarak adlandırılır. Hareketin genişliğine göre bazı koşullarda kasın origo' su insertio, insertio' su da origo' su olabilir. Kasın en geniş bölümüne venter (karın bölümü) denir. Kasın tendonu bazen yassı yaprak şeklinde olabilir. Buna aponeurosis denir.²⁰

Kasta hareketin olabilmesi için, kaldıraç kolu işlevi gören kemikler ve dayanak noktası işlevi gören eklemlerin olması gereklidir. Bir kasın hareket yapabilmesi, kendisinin ya da tendonunun bir ya da birkaç eklemin üzerinden geçmesi ile olur.²¹

Kasın ortasından geçen kesite kasın fizyolojik kesiti denir. Eklem ekseninden kas eksenine çizilen dik çizgi ise eklem eksenine olan uzaklıktır. Insertio tarafında kemik eksenine ile kas ekseninin yaptığı açı da insertion açısıdır. Bu tanımlara göre; bir kasın etki gücünün bağlı olduğu koşullar şöyle sıralanabilir:

1. Fizyolojik kesit büyüdükçe kasın etki gücü artar.
2. Eklem eksenine olan uzaklık büyüdükçe kasın etki gücü çoğalır.
3. Insertion açısı büyüdükçe kasın etki gücü artar.

Kaslar şekil, yerleşim yeri, boyut, başlama ve sonlanma sayısı, başlama ve sonlanma yeri, işlevleri ve çalışma düzeni özellikleri dikkate alınarak adlandırılarak sınıflandırılır.

Şekillerine göre:

M. rhomboideus; eşkenar dörtgen şeklindeki kas

M. trapezius; trapeze benzer şekilli kas

M. deltoideus; delta harfine benzeyen, üçgenimsi kas

M. obliquus externus abdominis; karnın dış eğik kası

M. obliquus internus abdominis; karnın iç eğik kası

Yerleşim yerlerine göre:

M. pectoralis; göğüste yerleşim gösteren kas

M. intercostalis; kaburgalar arasında bulunan kas

M. supraspinatus; spinada yerleşim gösteren kas

Boyutuna göre:

M. pectoralis major; göğüsün büyük kası

M. pectoralis minör; göğüsün küçük kası

Başlama ve sonlanma sayısına göre:

M. biceps brachii; kolun iki başlı kası

M. triceps brachii; kolun üç başlı kası

Başlama ve sonlanma yerine göre:

M. stylohyoideus; processus styloideus' tan os hyoideum' a uzanan kas

M. sternocleidomastoideus; sternum, clavicula ve processus mastoideusa' a tutunan kas

İşlevine göre:

M. levator scapula; scapulayı yükselten kas

M. flexor carpi radialis; radius' a bükme hareketi yaptıran kas

Liflerinin seyrine göre:

a) Çekme hattına koşut uzanan kas lifleri

M. quadratus; dörtgen şeklinde kaslardır. Kasın sonlanması yassı bir tendon şeklinde olur.

M. sternohyoideus

M. rhomboideus

M. fusiformis; mekik şeklinde kaslardır. Kas başlama ve sonlanma yerinde dar, orta bölümde geniştir.

M. biceps brachii

M. triangularis; üçgen şeklinde kaslardır. Kas başlama ve sonlanma yerinde üçgen şeklinde görülür.

M. trapezius

b) Çekme hattına oblik uzanan kas lifleri

M. unipennatus; tek taraflı tendon boyunca oblik olarak görülen kaslardır.

M. extensor hallucis longus

M. bipennatus; tendonu ortada yerleşik, kuş tüyüne benzer yerleşim gösteren kaslardır.

M. rectus femoris

M. multipennatus; başlama yerinde birden çok tendon şeklinde başlayıp, sonlanma yerinde birkaç tendonun birleşmesiyle oluşan kaslardır.

M. deltoideus' un pars acromialis parçası

M. orbicularis; göz ve ağız çevresini saran, yuvarlak ya da halka şeklindeki kaslardır.

M. orbicularis oculi

M. orbicularis oris

M. sphincter; özellikle sindirim sisteminde bulunan ve normalde kasılı duran halka şekilli kaslardır.

M. sphincter ani externus

M. cruciatus; Kas liflerinin birbirini çaprazlayacak şekilde düzenlendiği kaslardır.

M. masseter

M. spiralis; başlama ve sonlanma yeri arasında spiral düzenlenen kaslardır.

M. latissimus dorsi

M. digastricus; fuziform şekilli iki kasın ortada bir tendonla belirginleştiği kaslardır.

M. digastricus

Hareketlerine göre:

Kasın hareketi birçok kasın uyumlu kasılması sonucunda oluşur. Kaslar hareketlerine göre:

- a) Fleksor kaslar
- b) Ekstensor kaslar
- c) Adduktor kaslar
- d) Abduktor kaslar
- e) Rotator kaslar olarak adlandırılır.

Çalışma düzenine göre:

Ana hareket ettirici kaslar; hareketin yapılmasında esas rolü üstlenen kas grubudur.

Antagonist kaslar; ana hareket ettirici kasın hareketine ters yönde hareket eden kas grubudur. Ana hareket ettirici kas kasılmadan önce, antagonist kasların gevşemesi gerekir.

Fiksator (tesbit edici) kaslar; kasılma sırasında ana hareket ettirici kası sabitleyen kas grubudur. Bu kaslar, ana hareket ettirici kasın etkin kasılabilmesi için izometrik olarak kasılır.

Sinerjist kaslar; ana hareket ettirici kasın istenmeyen hareketlerini ortadan kaldırıp, ana hareket yönünde işlev gören kas grubudur.

2.2.2. Kalp Kası Anatomisi

Kalp, kaslardan oluşmuş, pompa görevi yaparak kan dolaşımını sağlayan, koni şeklinde bir organdır. Göğüs boşluğu içerisinde, mediastinum' da yerleşmiştir.²² Her iki yanda sağ ve sol akciğerlerle, önde sternum ve onunla birleşim yapan kıkırdak-kaburga komşuluğunda olup, diyaframın üst yüzünün orta kısmına yerleşmiştir.²³ Kalbin ön (facies sternocostalis), alt (facies diaphragmatica) ve arka (basis cordis) olarak

üzere üç yüzü vardır.²⁴ Apex cordis koninin tepesinde, basis cordis ise koninin tabanında yer almaktadır. Kalbin apex cordis' i öne ve sola doğru, basis cordis' i ise arkaya, sağa ve biraz da yukarı doğru yerleşmiştir.²⁵

Kalp en dışta, onu torba gibi içine alan zar yapı ile kaplıdır. Buna pericardium denir. Pericardium fibröz perikardiyum (pericardium fibrosum) ve seröz perikardiyum (pericardium serosum) olarak iki katmandan oluşur. Fibröz perikardiyum dışta, seröz perikardiyum ise iç kısımda bulunur. Seröz perikardiyum da kendi içinde parietal (lamina parietalis) ve epikard (lamina visceralis) olarak iki yapraklı bir düzenlenim gösterir. Bu iki yaprak arasında yer alan potansiyel boşluğa ise perikard boşluğu (cavum pericardii) denir. Bu boşluk içinde, kalbin çalışması sırasında kayganlığı sağlayan perikardiyal sıvı (liquor pericardii) bulunur.^{22,26}

Kalbin içerisinde, ikisi daha büyük ve ikisi daha küçük olarak yerleşmiş, sağ ve sol karıncıklar (ventriculus cordis) ile sağ ve sol kulakçıklar (atrium cordis) vardır. Her iki atrium birbirinden ince (septum interatriale), her iki ventrikül ise daha kalın (septum interventriculare) bir bölme ile ayrılmışlardır. Toplardamarlar ile atriumlara dönen kan, daha sonra iki ayrı kalp kapağından geçerek ventriküllere iletilir. Atriumlar kanı sadece ventriküllere ulaştıracağından fazla bir dirençle karşılaşmazlar. Bu nedenle duvarlarında bulunan kas katmanı incedir. Atriumların kasları iki tabakalıdır. Dış tabaka iki atriumu birden, iç tabaka ise her atriumu ayrı ayrı sarar. Atrium ve ventriküller, bağ dokudan oluşmuş olan bir tabaka ile birbirlerinden tamamen ayrılmışlardır. Ancak sağ atrium sağ ventrikül ile sol atrium da sol ventrikül ile üzerinde kapakları bulunan birer delik aracılığıyla birleşmişlerdir.²³

Sağdaki atrium ve ventrikülü triküspit kapak (valva tricuspidalis, valva atrioventricularis dextra), soldaki atrium ile ventrikülü ise mitral kapak (valva mitralis, valva atrioventricularis sinistra) ayırır. Triküspit kapak; cuspis posterior, cuspis septalis ve cuspis anterior olarak adlandırılan üç adet yapraktan oluşur.^{26,27} Mitral kapak ise, cuspis septalis ve cuspis parietalis olmak üzere iki yapraktan yapılıdır. Mitral kapağın yaprakları, triküspit kapağın yapraklarına karşın daha geniş ve kalındır. Ventriküller arası bölmenin sağ ventriküle ait bölümünde yerleşmiş olan kas çıkıntısı (musculus papillaris subarteriosus ve muscoli papillares parvi) ile genellikle sağ ventrikülün dış duvarında yerleşen kas çıkıntısı (musculus papillaris magnus), ince iplikçikler ile (chorda tendinea) kapakçıklara bağlanır. Bu düzenlenim kapakçıkların, basınç altında atriumlara geri kaçışını önler. Aynı şekilde sol ventrikülün de dış duvarına yerleşmiş iki adet kas çıkıntısı (musculus papillaris) bulunur. Bunlar yerleşim yerlerine göre musculus papillaris subauricularis (anterior, dorsalis, cranialis) ve musculus papillaris subatrialis (posterior, ventralis) olarak adlandırılırlar. Bu kaslardan çıkan ince iplikçikler de kapakçıkların basınç altında atriumlara geri kaçışını önler.²³

Kalbin sol ventrikülünün bitimi ile kalpten çıkan ve insanın en büyük atardamarı olan aort damarının başlangıcı arasında, aort kapağı (valva aortae) vardır. Benzer olarak pulmoner kapak (valva trunci pulmonalis), sağ ventrikül ile akciğer atardamarları arasındadır. Aort damarının girişinde yer alan aort kapağı üç adet yarımay şeklindeki kapakçıktan oluşur. Yerleşim yerlerine göre bu kapaklar; valvula semilunaris sinistra, valvula semilunaris dextra ve valvula semilunaris septalis olarak adlandırılırlar. Aynı şekilde akciğer atardamarlarının girişinde yer alan pulmoner kapak; valvula semilunaris dextra, valvula semilunaris sinistra ve valvula semilunaris intermedia olmak üzere üç adet yarımay şeklinde kapakçıktan oluşur.²⁷

Kalın bir duvara sahip olan sol ventrikül, yüksek basınçla kanı vücudun uzak bölgelerine pompalar. Sağ ventrikül ise kanı daha düşük bir basınçla akciğerlere pompalar.^{22,28} Sol ventrükülün kas katmanı sağdan daha kalındır. Bu kaslar annulus fibrosus ve trigonum fibrosum'dan başlar ve aynı yerde sonlanır. Kaslar burada üç tabakalıdır. Dış tabakadaki lifler kalp tabanından oblik (eğik) olarak tepeye doğru uzanırlar ve tepede kıvrılarak vertex cordis' i oluştururlar. Tepede içe ve derine dalarak sirküler lifleri meydana getirirler. Sirküler lifler daha da derine ilerleyerek içteki longitudinal kas liflerini oluştururlar. Daha sonra bu kas lifleri yeniden fibröz iskelette sonlanırlar. Bu tabakalardan dıştaki tabaka iki ventrükülü birden sararken diğer iki kat (orta ve iç) her ventrükülü ayrı ayrı sarar. Tüm vücuttan gelen kanı toplayan, alt toplardamar (vena cava inferior) ve üst toplardamar (vena cava superior) kalbin sağ atriumuna açılır. Kan akciğer atardamarları (arteriae pulmonalis) ile sağ ventrükülü terkeder. Akciğerlerden, akciğer toplardamarları (venae pulmonalis) ile dönen kan, sol atrium ve sol ventrükülü dolaşarak aort damarı ile tüm vücuda pompalanır.^{22,29}

2.3. Kas Dokusu Histolojisi

Kas dokusu ince uzun ya da mekik şekilli hücrelerden oluşur. Bunlara kas lifi ya da teli de denir. Kas lifleri sitoplazmalarında kasılıp gevşeme erkinde ipliksi proteinler olan miyofilamanları (mikrofilamanlar) içerirler. Sıkı bir şekilde biraraya gelen kas liflerinin aralarında, zengin kan damarları ve sinirleri içeren, ince gevşek bağ dokusu bulunur.

Kas hücrelerinin sitoplazmalarına sarkoplazma, hücre zarına sarkolemma, granülsüz endoplazmik retikulumlarına sarkoplazmik retikulum denir.

Yapı ve işlevsellik yönünden üç tür kas dokusu vardır. Bunlar iskelet kası (çizgili kas), kalp kası ve düz kastır.

2.3.1. İskelet Kası Histolojisi

Bu kaslar çoğunlukla iskelet sistemine bağlı olduklarından iskelet kası, enine çizgilenme gösterdiklerinden çizgili kas lifleri olarak adlandırılırlar.³⁰

Bol damarlı ve sinirli bir yapıya sahip olan iskelet kası, bulundukları yere göre adlandırılmış kılıflarla sarılıdır. Tüm kası saran sıkı bağ dokusundan oluşan kılıf epimisyumdur. Epimisyum bol miktarda kollajen lif ile daha az olarak da elastik ve retiküler lifleri kapsar. Bu lifler

arasında da çeşitli bağ dokusu hücreleri bulunur. Epimisyumdan köken alan ve kas hücre demetlerini saran kılıf perimisyumdur. Her bir kas hücrelerini (kas lifi) saran kılıf ise endomisyum olarak adlandırılır.³¹ Bu bağ dokusu kılıfları; kasılma birimlerinin ve bu birimlerin yaptıkları demetlerin birbirine bağlanmasını sağlayarak, birlikte uyumlu bir şekilde kasılmalarına yardımcı olurlar. Aynı zamanda birimler arasında hareket özgürlüğünün de oluşmasını sağlarlar. Kaslara damarlar bu bağ dokusuyla girerler. Kapillerler kas liflerinin uzun eksenine koşut uzanır. Erişkin iskelet kasında yan populasyon hücreleri olarak adlandırılan bir kök hücre topluluğu, tüm kan hücre serilerine dönüşebilme erkine sahiptir.^{16,31,32}

Her bir kas lifi ince bir dış lamina (bazal membran) ile çevrilidir. Bu membran sarkolemma ile yakın ilişkideki satellit hücrelerini de kuşatır. Satellit hücreleri kas hücrelerinin arasında yerleşiktir. Kas hücre çekirdekleri gibi yassı, ancak daha yoğun kromatine sahip çekirdekleri vardır. Bu hücreler iskelet kasının bir nedenle hasar görmesi durumunda onarıcı kök hücre olarak işlev yaparlar. Bir transkripsiyon faktörü olan MYO-D salınımı, satellit hücre çoğalmasını sağlar. Satellit hücrelerin yüzeyindeki c-Met reseptörü HGF kemotaktik ajanına güçlü bağlanma çekiciliğine sahiptir. Uyarılmış satellit hücrelerin, miyogenik öncü hücreler denilen yavru hücreleri birçok hücre bölünmesine girer. c-Met-HGF bağlantısı satellit hücre çoğalmasını uyarır. Miyoblasta özgü MRF My15 ve MYO-D salgılayan miyogenik öncü hücreler, var olan ya da yeni miyotüplerle birleşirler.^{16,17}

Her bir kas hücresi ince şeffaf ve 80-100 A° kalınlıkta sarkolemma ile çevrilidir. Sarkolemma hücrenin gereksinimi olan bir kısım moleküllerin hücre içine taşınmasında yardımcı olan mikropinositotik veziküller içerir.

Kas hücreleri sarkolemma altına yerleşik çok sayıda çekirdek kapsar. Çekirdek birkaç çekirdekçik içerir ve kromatin orta yoğunluktadır.^{17,30,31,32}

Bir diğer organel olan sarkoplazmik retikulum, her bir kas hücresinde, miyofibriller çevresinde yerleşik, boyuna ve enine tübüllerden oluşan zarla kaplı kanalcıklar sistemidir. Ribozomları yoktur. Boyuna tübüller, birbirleriyle ağzlaşan ve miyofibrilin uzun eksenine yönünde yerleşik geniş sarnıçlar şeklindedir. A bandının çevresini uzunlamasına sararlar. Bu tübüller A bandının ortasındaki, açık renkli alan olan H bandı bölümünde birbirleriyle anastomozlar yaparlar. Enine olanlar ise, daha dar çaplı tübüllerden oluşur ve miyofibrilin uzun eksenine dikey olarak yerleşiktirler. A-I çizgisi birleşim bölgelerinde ya da Z çizgisinde uç kesecikleri (terminal kesecikler) oluştururlar. Sarkolemma birçok bölgeden hücrenin içine doğru girerek T tübülleri (enine, transversal tübüller) denilen parmaklı çıkıntılar yapar. Altan ve üstten, sarkoplazmik retikulumun genişlemiş uç keseciklerinin arasında kalan T tübülleri, sarkoplazmik retikulumun membranöz kese ve kanalları ile ilişkilidir. T tübülüyle birlikte sarkoplazmik retikulum keselerine triad denilmektedir. Bunun nedeni iki lateral sarkoplazmik retikulum kesesinden ve bir merkezi T tübülden oluşmasıdır.³¹

Kas kasılmasında önemli rol oynayan bu yapı aslında bir kalsiyum pompasıdır. İçi sıvı ile dolu iki ayrı tübülüs sistemi olan tüm bu yapının esas amacı ise hücreyi dolaşan bir ağ sistemi oluşturmaktır.

Sarkoplazma organel ve inklüzyonları kapsar. Mitokondriyonlar sarkolemma'nın altında ve miyofibrillerin arasında

yayılmıştır. Mitokondriyonların bol miktarda yoğun kristalları vardır ve kasılma için gereken enerjiyi sağlarlar. Sarkoplazmada ince glikojen tanecikleri ve lipid damlaları bulunur. Oksijeni bağlayıcı bir pigment olan aynı zamanda kasa rengini veren miyogloblin de burada yer alır. Kasılma özelliği olmayan miyoalbumin ve bir albumin karışımı olan miyogen de sarkoplazmada yer alan yapılardır.³⁰

Sarkoplazmanın büyük çoğunluğunu mitokondriyonlarca çevrelenmiş miyofibriller oluşturur. Miyofibriller ışık mikroskopik incelemelerde, iskelet kas hücresinin içinde, enine çizgilenmeler gösterirler ve kasılmayı sağlarlar. Kas lifinin uzun eksenine koşut olarak yerleşmişlerdir. Miyofibriller koyu ve açık renkli bölümler halinde görülen bantlar boyunca bulunan ve miyofilaman denilen alt birimlerin düzenleniş biçimlerinden oluşur.³³

Kas lifinin polarizasyon mikroskobu ile incelenmesi sonucunda bazı görüntü özellikleri belirlenmiştir. Bu değerlendirmeye göre göre; koyu alanlar polarize ışığı çift kıran anizotrop bölgelerdir ve A bandı olarak adlandırılır. Açık renk gözlenen alanlar ise polarize ışığı tek kıran izotrop bölgelerdir ve I bandı olarak bilinirler. Kasın kasılıp gevşemesinde A bandının boyu değişmezken, kasılmada I bandının boyu kısalır. Işık mikroskobu ile büyük büyültmelerde incelenen kas lifinde I bandının ortasında koyu bir çizgi gözlenir. Bu Z çizgisidir. A bandının ortasında görülen açık renkli alana ise H bandı denir. Elektron mikroskobu ile daha büyük büyültmelerde açık renkli H bandının ortasında koyu renkli bir M çizgisi gözlenir. Her miyofibril üzerinde, iki Z çizgisinin arasında kalan bölüm sarkomer olarak adlandırılır. Sarkomer sadece yapısal bir bölüm değildir, aynı zamanda işlevsel olarak kasın kasılma birimidir.³⁴

Enine kesitlerde miyofibriller, noktacıklar halinde görülürler ve bu yapı Chonheim alanları olarak adlandırılır. Bu görüntünün nedeni, miyofibrillerin ince iplikçik halinde, kasılabilir proteinlerin yaptığı iki ana filamandan oluşmasıdır. İskelet kasında iki tip miyofilaman vardır. Bunlar ince olan aktin ve kalın olan miyozin filamanlarıdır.³¹

a) Aktin filamanları (İnce filamanlar):

Yaklaşık 1 μm uzunluğunda 5-7 nm genişliğindedirler. Z bandından başlarlar ve A bandına doğru uzanıp bir miktar A bandına girerler.

F aktin (ipliksi) ve G aktin (globüler) moleküllerinin, çift sarmal olarak birbirleri etrafına dolanmasıyla oluşan uzun ipliksi yapılarıdır. G-aktin molekülleri yapısal asimetri gösterirler. G-aktin F-aktini oluşturmak için polimerize olduğundan, kutuplaşma gösteren filamanlar yaparak arkadan öne doğru bükülür. G-aktin monomerleri miyozin için bağlanma bölgeleri bulundurur. Z çizgisi üzerinde dik açıyla oturan aktin filamanları çizginin her iki tarafında karşıt kutuplaşma oluştururlar. Aktin filamanları α -aktin ve β -aktin olarak iki tiptir. Z çizgisinin ana yapısı olan α -aktin, elastik olmayan nebulin proteininin yardımıyla aktin filamanlarına bu bölgede tutunur. α -aktinin, aktin filamanlarını Z çizgisine tutundurmaktadır. β -aktin ise, H bandının M çizgisinde yer alır.

Aktin filamanları tropomiyozin ve troponin proteinlerini de içerir.

Tropomiyozin proteini; birbiri etrafında bükülmüş, hemen hemen birbirine özdeş olan iki α -heliks polipeptit zincir içeren, uzun bir moleküldür. Bu moleküller, birbirine dolanan iki aktin uzantısı arasındaki çukurcuğun dış kenarı boyunca, aktinin alt birimleri üzerinde filamanlar yapar. Her bir tropomiyozin molekülü, yedi aktin monomerinin uzunluğu boyunca uzanır ve troponin bileşiğine bağlanır.

Troponin proteini; üç alt birimden oluşur. Bunlar tropomiyozine sıkıca tutunan troponin T (TnT), kalsiyum iyonlarını bağlayan troponin C (TnC) ve aktin miyozin bileşkesini bozan troponin I (TnI)' dir. Bir troponin yapısı her tropomiyozin molekülü üzerinde belirli bir noktayla ilişkidir.

Aktin filamanları ile dış laminada bulunan laminin ise distrofin proteini aracılığıyla bağlanır. Distrofinin işlevi; hücre iskeleti ve hücre dışı matriks arasında mekanik bir bağlantı oluşturarak, kasın kasılma stresi süresince, sarkolemmayı sabitlemek ve güçlendirmektir.¹⁷

b) Miyozin filamanları (Kalın filamanlar):

2-3 nm kalınlığında 150 nm uzunluğundadırlar. A bandında bulunurlar. A bandının orta bölümleri miyozinden başka filaman içermez ve burası H bandıdır. Elektron mikroskopunda H bandı açık renktedir. H bandının esas elemanı fosfokreatin ve adenzin difosfattan (ADP), adenzin trifosfat (ATP) oluşumunu katalize eden kreatin kinaz enzimidir.³¹ Bu bandın ortasında, kasılmayan filamanlar miyozin filamanlarını sıkıca bağlayarak düzenli bir birlik oluştururlar. Bağlanma bölgeleri koyu ince bir

bant halinde görülür ve M çizgisini yapar. M çizgilerinde, miyozin filamanlarını birbirine sıkıca tutunduran protein myomezindir. Miyozin filamanlarını M çizgisine tutunduran protein ise C proteindir. I bantlarının ortasındaki Z çizgileri de iki taraftan gelen aktin filamanlarının bu bölgede dallanarak birbirlerine bağlanmaları ile oluşur. Miyozin filamanlarını Z çizgilerine tutundurarak sarkomere esneklik kazandıran protein ise titin (connectin)' dir. Titin milyonlarca alanda görülen, moleküler ağırlığı oldukça büyük bir proteindir. Kas gerildiğinde elastik ve gergindir. Elastik geri çekilme özelliği ile miyozin filamanlarını kuşatırlar.^{35,36}

Miyozin birbirine eşit iki ağır ve iki çift hafif zincirden oluşur. Hafif zincirler, zorunlu ve düzenleyici hafif zincir olarak iki tiptir. Ağır zincirler ise birbiri üzerine dolanmış ince çubuksu moleküllerdir. Her ağır zincirin bir ucunda, küçük globüler uzantılar bulunur. Bunlar ATP bağlamanın yanı sıra ATP' yi hidrolize edecek enzimatik yeteneğe sahip başları oluştururlar. Başlar aktin bağlanma özelliği gösterirler ve hafif zincir baş ile ilişkidir. Her bir miyozin molekülü çomağa benzer kısımları üst üste gelecek ve başları bir diğerinin ucuna yönelecek biçimde düzenlenme gösterir. İnce ve kalın filamanlar arasında ise karşılıklı köprüler görülür. Bu köprüler kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye çevirir.³⁷

Kas lifleri ayrıca desmin ve plektin filamanlarını da içerir. Desminler, iki miyofibrilin Z çizgileri arasında uzanarak Z çizgilerini birbirine tutundururlar. Böylece miyofibrillerin birbirlerine bağlanarak sıkı bir birlik oluşturmalarını sağlarlar. Desmin filamanları aynı zamanda sarkolemmaya ve çekirdek zarına da uzanırlar. Pлектin ise desmin proteinlerini birbirine tutunduran proteindir. Bir ısı şok proteini olan α B-kristalin, desmin filamanlarını stres kökenli hasardan korur. Desmin, plektin ve α B-kristalin proteinleri Z çizgisi düzeyinde mekanik stresten

koruyucu bir ağ yaparlar. Bu üç proteindeki mutasyonlar yineleyen mekanik bir stresten sonra miyofibrillerin yıkımına neden olur.¹⁷

İskelet kası lifleri, doğal renk görünüşleri ve çaplarına göre sınıflandırılır.

- a) Beyaz kas lifleri
- b) Kırmızı kas lifleri
- c) Ara (intermediyer) kas lifleri' dir.

İskelet kaslardaki renk farklılığı kas grubunun içerdiği miyogloblin miktarındandır.

- a) *Beyaz Kas Lifleri:* Hızlı kaslar da denir. Bu kaslarda miyogloblin miktarı azdır. Kas hücrelerinin çapı kırmızı kas liflerinden daha geniştir. Kas liflerini çevreleyen kılcal damarlar kırmızı kas liflerine karşın daha azdır. Mitokondriyonları kırmızı kas liflerine göre daha az sayıdadır. Hızlı bir şekilde kasılıp gevşeme yetisine sahiptirler. Bu kasılmada gerekli enerji kaynağı olarak glikojeni kullanırlar. Hızlı kasılıp gevşemelerine karşın sarsı süreleri kısadır. İnsanda elin bazı kasları, kol kasları ve gözün dış kasları beyaz kas liflerinden oluşur.

- b) *Kırmızı Kas Lifleri:* Yavaş kaslar olarak da adlandırılırlar. Yüksek oranda miyogloblin içerirler. Zengin bir kılcal damar ağı kırmızı kas liflerini çevreler. Oldukça yavaş kasılırlar ve enerji kaynağı olarak yağ asitlerini kullanırlar. Uzun süreli aktivite gösterebilirler. Bol mitokondriyon içerirler. Yorulmaksızın uzun süre kasılıp gevşeyebilirler. Z bandının yapısı da kırmızı kas liflerinde daha kalın ve düzensizdir.
- c) *Ara (İntermediyer) Kas Lifleri:* Miyogloblin miktarı beyaz ile kırmızı kas liflerinin ortasında bir miktarda bulunur.

Genelde iskelet kaslarının çoğu her üç kas lifini de içerir.

Kas içciği ya da kas mekiği olarak adlandırılan yapı, iskelet kaslarının tümünde bulunmaz. İç sıvı dolu bir boşluğu saran bağ dokusu kapsülü ile mekik ya da iç şeklindeki yapılardır. Bir duyu olarak kasılıp gevşeme sırasında kasın uzunluğunu algırlar. Kas kitlesi boyu ile kendi boylarını oranlayıp, mekiğin reseptör sinirlerini uyararak merkezlere bilgi verirler. Kas içciği, birkaç mm uzunluğunda değişikliğe uğramış iskelet kası liflerini kapsar. Kas liflerinin arası proteoglikanla doludur. Sinir sonlanmaları kapsül içinde bu kas lifleriyle ilişki kurar. Kas içciği içinde yer alan bu özelleşmiş hücrelere intrafüzal kas lifleri (mekik içi kas lifleri) denir. İntrafüzal kas lifleri daha kalın olan ektrafüzal kas lifleri (mekik dışı kas lifleri) ile sarılmıştır. Ektrafüzal kas lifleri; dinlenme halindeki kasın gerginlik derecesinden ve daha fazla uyarı durumunda ise tüm kasın kasılmasından sorumludur. Kas mekiklerinin içine birkaç duyu sinir lifi girer ve mekik dışı kas liflerindeki gerilmeyi saptayarak bu bilgileri

omuriliğe iletir. Omurilikte refleksler etkinleşir ve böylece vücut duruşu sağlanır. Aynı zamanda yürümede görev alan kas gruplarının erki de düzenlenir.¹⁷

İskelet kas hücrelerinin tendona bağlandığı bölge yakınında bağ dokusundan oluşan bir kapsül miyelinsiz sinir telleri ile çevrili kollajen lif demetlerini kuşatır. Duyu sinirleri bu bağ dokusu kapsülünün içine girerek tendonlardaki gerilme değişikliklerini algırlar ve bunu merkezlere iletirler. Kasın kasılması çok olduğunda bunu engelleyici ve durdurucu reseptör olarak görev yapar. Bunlara Golgi tendon organları denir. Golgi tendon organları aşırı kasılmaya karşı duyarlı olarak çalışırlar ve değişik düzeylerde kas hareketi için gerekli gücü denetlerler.¹⁷

İskelet kasları, motor sinirlerle sinirlendirilirler. Bu sinirler, kas lifi yüzeyinde dallanan ve motor plak olarak adlandırılan uçlarla sonlanır. Kas liflerinin kasılmasını sağlayan uyarımlar kas liflerine bu motor son plaklardan geçer. Yer yer kas lifindeki enine tubuluslara doğru ilerler. Sarkolemmada oluşan uyarımlar, bu kanalcıklarla miyofibrillerin yakınına kadar giderler. Kanalcıklar yakınında kesecikler yapan kas lifleri ise bol miktarda Ca^{+2} iyonları içerir. Uyarımlar sonucu kesecikleri oluşturan membranların duvarındaki Ca^{+2} kanalları açılır ve iyonlar pasif taşınma ile keseciklerden dışarı çıkarak miyozin ve aktin filamanlarının aralarına girerler ve böylece kasılma gerçekleşir. Bu olay için gereken büyük miktardaki enerji ise filamanlar çevresinde bolca bulunan ATP ve kreatin fosfatın parçalanması ile elde edilir. Kasılma için gerekli olan ATP mitokondriyonlarda, kreatin fosfat ise sarkoplazmada yapılır. Uyarımın kesildiği ve kasılmanın bittiği anda Ca^{+2} iyonları aktif taşınım ile yeniden keseciklere çekilir ve kas gevşer.³⁰

2.3.2. Kalp Kası Histolojisi

Kalp kası; iskelet kasına benzer şekilde enine çizgilenme gösteren, birbirine koştur düzenlenen, silindirik ve genelde tek çekirdekli hücrelerin sıkıca bir araya gelmeleriyle oluşmuştur. Kalp kası hücreleri yan dallarla (kollateral) komşu hücrelerle birleşerek üç boyutlu bir kas hücre ağı oluştururlar. İskelet kasındaki kadar uzun olmayan, genelde bir, bazen iki çekirdek içeren 15 µm çapında ve 100 nm uzunluğunda hücrelerdir. Bu hücrelerin çekirdekleri oval şekilli olup hücrenin ortasında ve uzun eksene koştur olarak yerleşmiştir. Kalp kası hücre demetleri enine, boyuna ve oblik uzanır. Bu demetlerdeki kas liflerinin aralarında retiküler liflerin zengin olduğu gevşek bağ dokusu bulunur. Bağ dokusu yapıları kalp kasının arasında daha azdır. Bu doku intermiyokardiyal bağ dokusu olarak da isimlendirilir. İntermiyokardiyal bağ dokusu kan ve lenf damarlarından zengindir.³⁸

Kalp kası hücreleri beslenmelerini intermiyokardiyal bağ dokudaki kılcal damarlardan gelen kandan ve sarkolemma aracılığı ile difüzyonla sağlarlar. Kalp kası yüksek düzeyde oksidatif fosforilasyon gerçekleştirir. Sürekli ritmik kasılmaları için gerekli enerjiyi, çok sayıda kristala içeren mitokondriyonları sağlar.^{17,37,39}

Kalp kasında sarkolemma iskelet kasından biraz daha ince olmakla birlikte benzer yapıdadır. Sarkoplazma iskelet kasından daha bol ve mitokondriyonlar da fazla sayıdadır. Kalp kası sarkoplazması kasılabilir proteinler, ağırlıklı olarak aktin ve miyozini içerir. Çekirdek çevresindeki dar bir alanda miyofibril yoktur. Bu bölgede çekirdeğin bir kutbuna yakın bölümünde Golgi kompleksi bulunur. Yine bu bölgede yağ damlacıkları,

lipofuksin pigmenti ile glikojen de izlenir. Atriyal lifler, sitoplazmalarında homojen ve elektron yönünden yoğun olan atriya özgü granülleri içerirler. Bunlar, başlıca atriya duvarında ve interventriküler septumda yerleşiktir. Granüllerin içinde atriyopeptin, atriyal natriüretik polipeptid, kardiyonatriin ve kardiyodilatin bulunur. İçeriklerini, etraftaki kılcal damarlara salgırlar. Bu hormonlar kan basıncının azaltılmasından ve sıvı–elektrolit dengesinden sorumludur. Özelleşmiş kalp kası lifleri olan Purkinje lifleri ise, sinirsel ileti sisteminin bir parçasıdır. Bu lifler, kalbin iç yüzündeki endokardın hemen altında ve özellikle interventriküler septuma yakın konumdadır. Kalp kasında olduğu gibi, Purkinje lifleri de ayrı hücresel birimlerden oluşan bir ağ meydana getirir. Purkinje lifleri, ışık mikroskobu altında kalp kası liflerine oranla daha geniş, daha kalın ve daha açık boyanmış şekilde görülür. Bu hücreler, merkezi sarkoplazma ve glikojen yönünden daha zengin ancak, miyofibril bakımından daha fakirdir.^{17,31,32,36,38}

Kalp kasının yapısı iskelet kasına benzer. Koyu renkli A bandı ve açık renkli I bantlarını içerirler. A bandının ortasında açık renkli bir H bandı ve onun ortasında koyu bir çizgi halinde M çizgisi bulunur. I bandının ortasında ise Z çizgileri gözlenir.

Kalp kası hücrelerinin sarkoplazmik retikulumu iskelet kasındaki kadar zengin değildir. Sarkoplazmik retikulumun sisternaları iyi gelişmediği için T tübülleri, iskelet kasındakilere göre daha kısa ve daha geniştir. T tübülleri iskelet kasındaki gibi A-I birleşiminde olmayıp Z çizgisi düzeyinde bulunur ve kas hücresinin merkezine kadar ilerler. Kalp kasında triadlar pek izlenmez. Sarkoplazmik retikulum uç kesecikleri tek yanlıdır ve T tübülüslerle birlikte, iskelet kasındaki triadlardan ayrıcalıklı olarak diad yapılarını oluşturur.¹⁷

Kalp kası hücrelerinin birbirlerine bağlandığı yerler, ışık mikroskopunda kalın diskler halinde görülür. Bunlara interkalat diskler (Diskus intercalatus) denir. Bağlantı yerlerinde her biri merdiven basamağı görünümünde yerleşim gösterirler. Uç uca gelen kas lifleri çok ender olarak düz bir interkalat disk ile birbirlerine bağlanırlar. Bu bölgeler uyarımların hücreden hücreye geçmelerini sağlar. İnterkalat diskler Z çizgilerinin düzeyinde kas hücresini boydan boya kateden koyu renkli basamaklı bir çizgi şeklinde gözlenir. Bu bağlantılarda iki bölge ayırt edilir. Bunlar enine bölüm ile lateral bölümlerdir. Enine parçalar hücrenin uzun eksenine dik olarak seyrederken, lateral parçalar miyofibrillere koşut uzanırlar.^{30,36}

İnterkalat disklerde üç tür bağlantı birimi bulunur. Bunlar kas hücrelerinin birbirlerine sıkıca tutunmalarını ve iyon bütünlüğünü sağlarlar. İnterkalat diskin enine bölümündeki bağlantı birimlerinden biri fasia adherens (ara bağlantı) olup terminal aktin filamanları için sıkı tutunma bölgeleri oluşturur. Enine bölümdeki diğer bir bağlantı bölgesi ise desmozomlardır. Bunlar, sabit kasılma erkinde kalp kası hücrelerinin ayrılmayacak şekilde birbirine tutunmalarını sağlar. İnterkalat diskin lateral bölümünde bulunan bağlantı birimleri ise oluklu bağlantı (gap junction, neksuz)'lardır. Bu geçit bölgeleri ile tüm kas hücreleri boyunca uyarının, hücreden hücreye hızlı bir dalga halinde yayılması sağlanır.^{17,30,36}

2.4. Kas Dokusu Fizyolojisi

2.4.1. İskelet Kası Fizyolojisi

İskelet kasları çapları 10-80 mikrometre arasında değişen çok sayıda kas lifinden oluşmuştur. Çoğu kasta, lifler tüm kas boyunca uzanır ve %2' lik bir bölümü dışında tümü, lifin orta bölgesinde bulunan tek bir sinir ucu ile uyarılır. Kas lifleri tendonlar ile birleşerek bir bütün olarak kemiklere tutunur.

Her kas lifi, bir kaç yüz ile birkaç bin arasında miyofibril içerir. Her miyofibrilde yan yana uzanan yaklaşık 1500 miyozin ve 3000 aktin filamanı bulunur. Bunlar kas kasılmasıyla yükümlü olan büyük polimerize proteinlerdir. Elektron mikroskop ile yapılan incelemelerde, bu proteinlerden daha koyu boyanan ve daha kalın olarak izlenen miyozin, daha açık boyanan ve daha ince olanı ise aktin olduğu belirlenmiştir. Miyozin filamanının yan taraflarından çıkan küçük uzantılara çapraz köprüler denir. Aktin molekülü ile bu çapraz köprüler arasındaki etkileşim kasın kasılmasında esas rolü oynar. Miyofibrildeki her bir aktin proteini Z çizgilerine tutunur. Z çizgisi, miyofibriller arasında çapraz uzanır ve kas lifi boyunca ilerleyerek bir miyofibrili diğerine bağlar. Bu nedenle tek miyofibrilde olduğu gibi, tüm kas lifi boyunca da açık ve koyu bantlar görülür. Bu bantlar iskelet ve kalp kasına çizgili bir görünüm verir.⁴⁰

Bir miyofibrilde iki Z çizgisi arasında kalan ve kasın kasılabilir en küçük birimi olarak tanımlanan bölgeye sarkomer adı verilir. Kas kasıldığı zaman iki taraflı aktin molekülleri üst üste gelir ve bu durumda bir

sarkomer boyu yaklaşık olarak 2 mikrometredir. Sarkomerde, aktin ve miyozin molekülünün bir arada durabilmesi için bir iskelet görevi gören ve vücudun en büyük proteinlerinden birisi olan titin molekülü bulunur. Titin filamentöz yapıda bir proteindir ve oldukça esnektir. Bu sayede kasılma ve gevşeme sırasında iskelet işlevini yerine getirir.³⁷

2.4.1.1. Sinir Kas Kavşağı

İskelet kası lifleri, omuriliğin ön boynuzunda bulunan ve α -motor nöron olarak adlandırılan büyük miyelinli sinir liflerince sinirlendirilir. α -motor nörondan çıkan sinir lifi kas içerisine geldiğinde dallara ayrılır ve her bir dal ayrı bir kas lifini ortasına yakın bir yerden uyarır. Sinir lifi ucu ile kas lifinin birleştiği yere sinir-kas kavşağı denir.³⁰

Sinir kas kavşağında, kas lifi üzerinde içeriye doğru girinti yapmış bölgeye sinaptik çukur ya da sinaptik oluk adı verilir. Sinir ucuyla kas lifi zarı arasındaki boşluğu ise sinaptik aralık ya da sinaptik yarık denir. Bu aralık 20–30 nanometre genişliğindedir. Sinaptik oluğun tabanını oluşturan sarkoplazmada, sinaptik nörotransmitterin etki edebileceği yüzey alanını büyük oranda artıran subnöral yarıklar bulunur. Bu bölge sarkoplazmanın yaptığı çok sayıda küçük kıvrımlardan oluşmuştur.¹⁷

Sinir kas kavşağında akson ucundan salınan uyarıcı nörotransmitter asetilkolin' dir. Asetilkolin sentezi için gerekli ATP, sinir son ucunda bol miktarda bulunan mitokondriyonlarca üretilir. Asetilkolin sinir son ucunun sitoplazmasında üretilir ve sinaptik vezikül denilen oluşumlar içerisine yerleşir. Bir sinir uyarısı, sinir kas kavşağına ulaştığında yaklaşık

125 adet asetilkolin vezikülü sinirin sinaptik ucundan sinaptik aralığa salınır. Kas kasılması sırasında, sinaptik aralığa salınan asetilkolinin aralıkta parçalanmasını sağlayan çok miktarda asetilkolin esteraz enzimi bulunur.³⁷

Omurilikte bulunan α -motor nöron gövdesinde oluşan aksiyon potansiyeli tüm sinir lifi boyunca iletilerek sinir son ucuna gelir. Sinir son ucunun membranına bakıldığında oldukça fazla voltaj bağımlı kalsiyum kanalı içerdiği görülür. Sinir son ucuna ulaşan aksiyon potansiyeli bu voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının açılmasını ve kalsiyumun sinir son ucuna girmesine neden olur. Kalsiyum iyonları asetilkolin veziküllerini etkileyerek bunların sinir son ucu zarına yaklaşmasına ve vezikül içeriğindeki asetilkolinin sinaptik aralığa boşaltılmasına neden olur. Sonuçta asetilkolin difüzyonla kas lifi membranına doğru ilerler.^{37,39}

Sinaptik aralıkta bulunan kas lifinin yapısında ise çok sayıda asetilkolin reseptörü bulunmaktadır. Bunlar asetilkolin kapılı iyon kanallarıdır ve zarda boylu boyunca yerleşim gösterirler. Her bir reseptör iki adet alfa, birer adet beta, delta ve gamma olmak üzere beş protein alt biriminden oluşmaktadır. Asetilkolin kapılı iyon kanalları iki alfa alt birim proteinine iki adet asetilkolin molekülü bağlanıncaya değin kapalı durumdadırlar. Bu kanallara iki adet asetilkolin molekülü bağlanınca açılır ve içerisine iyon geçirmeye başlar. Bu kanaldan sodyum ve potasyum iyonları geçebilmektedir. Ancak kas lifinin içi negatif yüklü olduğundan, pozitif yükleri hücre dışından içeriye doğru çekme eğilimindedir. Normal bir hücrede hücre içi potasyum yoğunluğu hücre dışından daha fazla, aksine sodyum iyonları ise hücre dışında içerisine karşın daha fazladır. Bu nedenle asetilkolin kapılı iyon reseptörleri dışarıdan içeriye doğru bol miktarda sodyum iyonunun geçmesine neden olur. Hücre içine giren sodyum iyonları, yani pozitif yükler, kas lifi membranında bölgesel bir

potansiyel değişikliğine neden olurlar. Bölgesel olarak oluşan bu potansiyele son plak potansiyeli denir. Son plak potansiyeli kas zarı boyunca yayılan aksiyon potansiyeli oluşumuna neden olur. Tüm bu nörotransmitter, reseptör ve iyon aktivitesi sonucu oluşmuş olan aksiyon potansiyeli kas kasılması için kesinlikle gereklidir.³⁷

2.4.1.2. İskelet Kasında Kasılma Yanıtı

İskelet kası sarkolemmasında oluşan son plak potansiyelleri, zar potansiyelini eşik değerin üzerine çıkardığında bir aksiyon potansiyeli oluşur. Bu aksiyon potansiyeli, iskelet kas zarında bulunan T-tübül sistemi ile tüm kas sarkolemmalarına yayılır. Yayılan aksiyon potansiyeli iskelet kas zarında bulunan voltaj bağımlı kalsiyum kanalını aktive eder. Bu kanal “dihidropiridin kanalı” olarak adlandırılır. Bunun nedeni bir ilaç olan dihidropiridin adlı maddenin, kanalı bloke etmesidir. Dihidropiridin kanalının aktive olması hücre dışından, hücre içerisine kalsiyum iyonlarının girmesine neden olur. Kalsiyum iyonları da sarkoplazmik retikulum zarında bulunan “Riyanodin” kanallarını aktive ederler. Riyanodin kanallarına bu adın verilmesinin nedeni de, bir bitki alkaloidi olan Riyanodin adlı maddenin bu kanalı açık olarak kilitlemesidir. Riyanodin kanalı asıl olarak bir ligand bağımlı kalsiyum kanalıdır. Kalsiyumun Riyanodin kanalına bağlanmasıyla sarkoplazmik retikulundan sarkoplazmaya bol miktarda kalsiyum salınarak, kalın ile ince filamanlara ulaşır. Kalsiyum iyonları filamanlara ulaşınca, aktin üzerindeki miyozin bağlanma noktalarını açmak üzere troponin C’ ye bağlanır. Bu aktin üzerinde miyozin başının bağlanma noktalarını örten troponin I’ yı yerinden hareket ettirir. Aktin üzerinde bulunan miyozin başı bağlanma noktaları ile miyozin başı birbirine bağlanır. Miyozin başının ATPaz aktivitesi sayesinde ATP parçalanır ve ortaya çıkan enerji ile miyozin başı

hareket ederek miyofibrillerdeki ince ve kalın filamanların birbirinin üzerinde kaymasını sağlar. Sonuç olarak bu kayma hareketi ile kas kasılır ve boyu kısalır.^{37,39}

İskelet kası ile kalp kasında kasılmanın temel moleküler mekanizması benzerdir. Aradaki en önemli fark kalp kasında sarkoplazmik retikulumun çok iyi gelişmemesi nedeni ile hücre dışında var olan kalsiyum iyonlarının kasılmada önemli olmasıdır. İskelet kası kasılmasında ise sadece sarkoplazmik retiklulumda bulunan kalsiyum iyonları, kasılma için yeterlidir.³⁹

2.4.2. Kalp Kası Fizyolojisi

Kalp, seri bağlı iki ayrı pompadan oluşmuştur. Pompalardan biri, kanı oksijen (O_2) ve karbondioksit (CO_2) değişimi için akciğerlere iletirken (Pulmoner dolaşım, küçük dolaşım), diğeri kanı vücudun diğer tüm dokularına gönderir (Sistemik dolaşım, büyük dolaşım). Kalpte kan akımı atriyumlardan ventriküllere ve ventriküllerden aort ve akciğer atardamarlarına doğru hep tek yönlüdür. Kalpteki tek yönlü akım uygun yerleştirilmiş kapakçıklar ile sağlanır. Kalp ventriküllerinin kasılmasına sistol, gevşemesine ise diyastol denir. Sistol sırasında kan aorta ve akciğer atardamarına doğru yönlendirilirken, diyastol sırasında atriyumlardan gelen kan ventrikülleri doldurmaktadır. Kalbin debisi aralıklı olduğu halde, sistol sırasında aorta ve büyük dallarının genişlemesi ve diyastol sırasında büyük atardamar duvarlarının elastik geri tepmesi ile kanın ileriye doğru itilmesi olaylanır. Vücut dokularına doğru akım sürekli dir.⁴⁰

Kalp tüm pompa işlevlerini yerine getirebilmek için üç farklı tip kalp kası hücresinden oluşmuştur:

a) Atriyum kası

b) Ventrikül kası

c) Özelleşmiş uyarıcı ve iletilici kas hücreleri

Atriyum ve ventrikül kasları, kasılma sürelerinin iskelet kasından çok daha uzun olması dışında oldukça benzer yapıdadır. İskelet kaslarında olduğu gibi kalp kası hücrelerinde de aktin ve miyozin filamanlarından oluşan çizgili bir görünüm vardır. Bu filamanlar yan yana dizilmişlerdir ve kasılma sırasında, iskelet kasında olduğu gibi, birbirleri üzerinden kayarlar. Kalp kasında da, kasılmada işlev gören troponin ve tropomiyozin proteinleri bulunmaktadır. Benzer şekilde kasılmak için kalsiyuma ve ATP enerjisine gereksinim duyar.³⁷

Kalp kası hücreleri, diğer kas hücre türlerinden ayrıcalıklı olarak, membranları aracılığıyla birbirlerine kaynaşarak sinsityum denilen bir ağ sistemi oluştururlar. Kalp kası hücrelerine özgü bir yapı olan interkalat disklerde çok miktarda bulunan nekzus tipi bağlantılar, uyarıların bir hücreden diğerine hızlıca iletilmesini sağlar. Nekzuslar uyarımın bir kas lifinden diğerine yayılması için düşük dirençli köprüler oluşturur. Kalp kası, hücrelerindeki bu düzenlenim sayesinde, birbirine seri ve koşut bağlanmış çok sayıda ayrı hücreden oluşmasına karşın, uyarılma sonucunda tek bir hücre gibi davranır. Uyarana birden çok hücrenin, tek bir hücre gibi yanıt verdiği bu duruma “fonksiyonel sinsityum” adı verilir.³⁷

Kalpte aslında iki farklı sinsityum bulunmaktadır:

a) İki atriyumun duvarlarını oluşturan “atriyum sinsityumu”

b) İki ventrikülün duvarlarını yapan “ventrikül sinsityumu”

Atriyum ve ventriküller arasında, kan geçişini sağlayan atriyoventriküler (AV) kapak açıklıklarını çevreleyen fibröz doku, atriyum sinsityumunu ventrikül sinsityumundan ayırarak, atriyum sinsityumundaki elektriksel değişikliğin ventrikül sinsityumuna doğrudan iletilmesini önler. Kalbin iki işlevsel sinsityuma ayrılmış olması nedeniyle, atriyumlar ventriküllerden kısa bir süre önce kasılırlar. Bu durum kalbin pompa etkinliği için önemlidir. Atriyumlar kasılırken ventriküller gevşeyerek kan ile dolar. Daha sonra ventriküller kasılarak içerisindeki kanı damarlara iletirken, atriyumlar vücuttan dönen kan ile dolacak zamanı bulurlar.³⁷

2.4.2.1. Kalbin Uyarı ve İleti Sistemi

Kalp, kalp kasının düzenli aralıklarla kasılmasını sağlamak ereğiyle ritmik elektriksel uyarıları doğuran ve bu uyarıları kalbin her yanına hızla ileten, özel bir sistemle donatılmıştır. Bu sistem düzgün olarak çalıştığında atriyumlar, ventriküllerden yaklaşık 1/6 saniye daha önce kasılırlar. Kalpte bu sistemin varlığı önemli iki kazancı beraberinde getirir. İlk olarak, ventriküller kanı akciğerler ve çevre dolaşıma pompalamadan önce dolacak daha çok zaman bulur. İkinci olarak bu sistem sayesinde, ventriküllerin tüm bölgeleri hemen hemen aynı anda kasılır. Bu da ventrikül boşluklarında yeterli basıncın oluşması için gereklidir.³⁷

Kalbin özelleşmiş uyarı ve ileti sistemini birbiri ile bağlantılı olan şu yapılar oluşturur:

- Sinüs düğümü (SA düğüm)
- Düğümler arası yollar (İnternodal yollar)
- Atriyoventriküler düğüm (AV düğüm)
- Atriyoventriküler demet (His demeti)
- Purkinje lif demetleri (sağ ve sol demet)

Sinüs düğümü; hemen hemen hiç, kasılabilir kas filamanı içermeyen özelleşmiş bir yapıdır. Sağ atriyumun superior posterolateral duvarında, superior vena kavanın sağ atriya açıldığı ağzının hemen altında ve hafifçe yanında yerleşmiştir. Sinüs düğümü lifleri doğrudan atriyum liflerine bağlanırlar. Bunun sonucunda sinüs düğümünde başlayan her aksiyon potansiyeli hemen atriyum kasına yayılır. Sinüs düğümünün kendiliğinden oluşan elektriksel bir ritmi vardır. Bu nedenle kendiliğinden ritmik ateşlemelere ve kasılmalara neden olabilir. Aslında bu durum kalbin özelleşmiş uyarı ve ileti sisteminin tümünde olduğu gibi, ventrikül kas liflerinde de vardır. Ancak kalbin tamamının atım hızını, normalde en hızlı uyarıyı çıkaran sinüs düğümü belirler. Diğer bölümler sadece sinüs düğümünden ritmik bir uyarı çıkmadığı durumlarda devreye girerler.³⁷

Sinüs düğümü liflerinin uçları, bunları çevreleyen atriyum kas lifleri ile kaynaşır. Bu nedenle, sinüs düğümünden doğan aksiyon potansiyelleri atriyum kas liflerini doğrudan uyarabilir. Aksiyon

potansiyelleri bu yolla atriyum kas kütlesinin tümüne ve oradan da atriyoventriküler düğümüne yayılır. Kalbin normal pompa işlevi için, tüm atriyum kaslarının eş zamanlı kasılması gerekir. Sağ atriyum duvarında bulunan sinüs düğümünden çıkan uyarı sol atriyauma özelleşmiş bir atriyum lifi olan “ön atriyumlar arası şerit” ile iletilir. Böylece sağ ve sol atriyum hemen hemen eş zamanlı kasılır.³⁷

Atriyumlarda kasılma ile sonuçlanan aksiyon potansiyeli düğümler arası yollarla, atriyoventriküler düğümüne iletilir. Bu iletimi sağlayan ve atriyumlarda, yerleştikleri yere göre ön, dış ve arka düğümler arası yollar olarak adlandırılan özelleşmiş üç ayrı yapı vardır. Düğümler arası yollar da aslında atriyum kas lifleridir. Ancak bu lifler aksiyon potansiyelini, normalde 0.3 m/sn iletim hızı olan atriyum kas liflerinden ayrıcalıklı olarak 1 m/sn hızla iletirler.³⁷

Düğümler arası yollar ile iletilen aksiyon potansiyeli atriyoventriküler düğümüne gelir. Atriyoventriküler düğüm, interatriyal septumun sağ yanında arka tarafta, koroner sinüsün ağzına yakın olarak yerleşmiştir. Atriyoventriküler düğüm interventriküler septuma doğru his demeti ile birleşerek devam eder. Atriyoventriküler düğüm işlevsel olarak birbirinden farklı üç bölümden oluşur. Bu bölgeler, atriyumla, atriyoventriküler düğümün geri kalan bölümü arasında geçiş bölgesi olan AN bölgesi, orta bölümü olan N bölgesi ile His demetiyle bağlantıda olan ve işlevsel olarak His demetine benzeyen NH bölgesidir. N bölgesi atriyoventriküler düğümün çok önemli iki özelliğini göstermesi açısından oldukça önemlidir. Bunlardan ilki, atriyumlardan gelip ventriküle iletilen aksiyon potansiyelinin geciktirilmesidir. Böylece kanın ventriküle dolması için gerekli zaman kazanılmış olur. İkincisi ise, atriyumlardan yüksek

frekansla iletilen aksiyon potansiyelinin bir kısmının bu bölümde bloke edilmesidir.⁴⁰

Atriyovenriküler düğümde gelen uyarılar onun süreği şeklinde olan His demeti ile ventriküllere iletilir. His demeti, interventriküler septumun sağ tarafında, sağ ventrikülün subendokardiyal bölgesinde aşağıya doğru yaklaşık bir cm boyunca sürer. Daha sonra sağ ve sol demet dallarına ayrılır. His demetinin devamı olan sağ dal, interventriküler septumun sağ tarafında aşağıya doğru ilerler. Sağ daldan daha kalın olan sol dal, His demetinden hemen hemen dikey şekilde ayrılır. Daha sonra interventriküler septumun sol tarafının subendokardiyal yüzeyinde, ince bir ön ve kalın bir arka dal olarak ikiye ayrılır.⁴⁰

His demetinin sağ ve sol dalı en sonunda Purkinje lifleri olarak adlandırılan iletili liflerle sürer. Purkinje lifleri, her iki ventrikülün subendokardiyal yüzeyinin her tarafına yayılan karmaşık bir ağ oluşturmak için dallanır. Purkinje liflerinin amacı, his demetinden iletilen aksiyon potansiyelini tüm ventrikül kas liflerine en hızlı şekilde dağıtmaktır. Purkinje lifleri kalpteki en geniş ve en hızlı iletim yapan hücrelerdir. Ortalama iletim hızı 1-4 m/sn' dir. Yüksek iletim hızı ventriküllerin tüm subendokardiyal yüzeyinin hızlı aktivasyonuna olanak verir.⁴⁰

2.4.2.2. Kalpte Öz-Uyarım

Kalpte oluşan aksiyon potansiyelleri, her bir hücre tipinde birbirinden farklı özellikler göstermesine karşın esas olarak iki farklı şekildedir. Atriyum kası hücreleri, ventrikül kası hücreleri ve Purkinje

liflerinden oluşan özelleşmiş iletili liflerde “hızlı yanıt” tipi aksiyon potansiyelleri oluşurken, sinüs düğümü ve atriyoventriküler düğümde “yavaş yanıt” tipi aksiyon potansiyeli oluşmaktadır. Hızlı yanıt tipi aksiyon potansiyellerinin en önemli özelliği aksiyon potansiyeli eğrisinde Faz 2’ ye karşılık gelen “plato fazı” nın olmasıdır.⁴⁰

Hızlı yanıt tipi aksiyon potansiyellerinde dinlenim, membran potansiyeli yavaş yanıtla olanlara karşın daha negatiftir. Ayrıca genliği daha çoktur. Aksiyon potansiyeli eğrisinde Faz 0 olarak belirlenen ve oluşan ilk pozitif dalgağın eğimi bir hücrenin hızlı yanıt ya da yavaş yanıt verip vermediğini gösteren en önemli göstergedir. Hızlı hücrelerde eğim çok daha azken, yavaş yanıt aksiyon potansiyellerinde bu eğim daha fazladır. Sonuç olarak yavaş yanıt aksiyon potansiyellerinde depolarizasyonun oluşması ve oluşan aksiyon potansiyelinin yayılması hızlı yanıt aksiyon potansiyellerine karşın daha yavaştır.⁴⁰

2.4.2.3. Yavaş Yanıt Aksiyon Potansiyeli

Ventrikül kas lifinin dinlenim zar potansiyeli -85, -90 milivolt iken, yavaş yanıt aksiyon potansiyeline sahip sinüs düğümünün dinlenim zar potansiyeli yaklaşık -55, -60 milivolt’ tur. Bu değerlerin daha az negatif olmasının nedeni; sinüs düğümü liflerinin sarkolemmalarının doğal yapısının sodyum ve kalsiyum iyonlarını sürekli olarak sızdırmasıyla, hücre dışından hücre içine pozitif yük girişı olmasıdır. Hücre içine giren pozitif yükler, hücre içi negatifliğini nötralize ederek dinlenim zar potansiyelini daha az negatif düzeyde tutarlar.³⁷

Kalbin özelleşmiş uyarı ve iletim sisteminin değişik bölümleri, anormal koşullarda kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluşturabilir. Bu durum “öz-uyarım” olarak tanımlanır. Kalp böylece, başka hiç bir uyarı almadan kendiliğinden kasılıp gevşeyebilir. Sinüs düğümü, kendiliğinden aksiyon potansiyeli oluşturma özelliğine sahiptir. Bu nedenle normalde kalbin önder odağıdır. Sinüs düğümünün öz-uyarımı kalbin atım hızını belirler.³⁹

Öz-uyarıma sahip hücreler, her uyarıdan sonra yeniden ateşleme düzeyine inen zar potansiyeline sahiptir. Böylece, bu prepotansiyel ya da önder odak potansiyeli bir sonraki uyarıyı tetikler. Kalpte T (geçici) kanallar ve L (uzun süreli) kanallar olarak iki tip kalsiyum kanalı vardır. Prepotansiyel sırasında, T tipi kalsiyum kanallarının açılmasına koşut olarak, hücre dışından içeriye doğru kalsiyum akımı oluşur. Bu akım sonucunda, dinlenim zar potansiyeli kendiliğinden, yavaş yavaş pozitifleşir ve eşik değere ulaşır. Eşik değere ulaşma ile birlikte prepotansiyel tamamlanır ve L tipi kalsiyum kanallarının açılmasına bağlı olarak depolarizasyon oluşur. Depolarizasyon tamamlandıktan sonra ise hücre içinden dışarı doğru potasyum çıkışı olur ve repolarizasyon başlar. Potasyum akımı azalır ve hücre bir sonraki atımı oluşturmak için yeniden dinlenim zar potansiyeline döner.³⁹

2.4.2.4. Hızlı Yanıt Aksiyon Potansiyeli ve Kalbin Kasılması

Tek bir kalp kası hücresinin dinlenim zar potansiyeli, yaklaşık olarak -90 milivolt' tur. Kalbin özelleşmiş uyarı ve ileti sisteminden kaynaklanan uyarı, kalp kası sarkolemmasında ilerleyici bir aksiyon potansiyeli oluşturur. İskelet kası ve sinir hücresinde olduğu gibi, kalp kası

hücresinde de depolarizasyon hızla ilerler ve bir aşma oluşur. Zar potansiyeli başlangıç değerine dönmeden önce, bir plato oluşturur ve daha sonra bunu bir repolarizasyon dalgası izler. Depolarizasyon yaklaşık 2 milisaniye sürerken, plato evresi ve repolarizasyon 200 milisaniye sürer. Bu hızla oluşan yanıt ve ilerleme aracılığıyla kalp kasında hızlı bir tepki oluşur. Plato ve repolarizasyonun çok uzun sürmesi nedeniyle kasılma olayının yarısı tamamlanıncaya değin repolarizasyon bitmez. Bunun sonucu olarak kalp yeniden uyarılamaz ve iskelet kasından farklı olarak kalp kasında tetani gözlenmez.³⁹

Diğer uyarılabilir hücrelerde de olduğu gibi, hücre dışı potasyum ve sodyum derişimindeki değışiklikler, kalp kasının aksiyon potansiyelinde değışiklikler yaparak kasılmasını etkiler. Hücre dışı potasyum derişimindeki artış, kalp kasının dinlenim zar potansiyelini etkilerken, sodyum derişimindeki değışiklik, oluşan aksiyon potansiyelinin büyüklüğünü etkiler.

Kalp kası sarkolemmasında oluşan ve kalp kasının kasılması ile sonuçlanan aksiyon potansiyeli beş ayrı evreden oluşmaktadır:

Faz 0; Hızlı depolarizasyon ve aşma evresidir. Yaklaşık 2 milisaniye sürer. Bu evreden esas olarak voltaj kapılı sodyum kanallarının açılması ve hücre dışından içeriye doğru geçen yüksek miktarda sodyum iyonu sorumludur.³⁹

Faz 1; Başlangıç hızlı repolarizasyon evresidir. Voltaj bağımlı sodyum kanallarının kapanmasına bağlı kısa süreli repolarizasyondur.

Faz 2; Plato evresidir. Yavaş açılan, ancak uzun süre açık kalan, voltaj bağımlı kalsiyum kanallarına bağlıdır.

Faz 3; Repolarizasyon evresidir. Plato evresinde açık olan kalsiyum kanallarının kapanması ve potasyum kanallarından yeterli miktarda potasyumun hücre dışına çıkışına bağlıdır.

Faz 4; Dinlenme zar potansiyeline dönüş evresidir. Repolarizasyon evresinde rolü olan potasyum kanallarıyla ilgilidir.

Kalp kası sarkolemmasında oluşan bu aksiyon potansiyeli, fonksiyonel sinsityum yapısındaki tüm kas hücrelerine yayılır ve kalp kası mekanik olarak kasılır.³⁹

Kalp kasının kasılması depolarizasyondan hemen sonra başlar ve aksiyon potansiyelinden 1,5 kat daha uzun sürer. Kas lifinin depolarize olması ile başlayan kasılma süreci “eksitasyon-kontraksiyon bağıntısı” olarak adlandırılır. Kasılmada temel olarak rol alan iyon kalsiyumdur. Kas boyunun mekanik olarak kısalması ise ince ve kalın filamanlar olarak adlandırılan, aktin ve miyozin filamanlarının birbirinin üzerinden kayması ile gerçekleşir.³⁹

Kalp kasının kasılma mekanizmasında, kalp kası sarkolemmasında oluşan aksiyon potansiyeli T-tübül sistemindeki zar katlantıları ile tüm kalp kası sarkolemmalarına yayılır. Oluşan aksiyon potansiyelinin plato fazında açık olan voltaj bağımlı kalsiyum kanallarıyla,

hücre dışından içine bir miktar kalsiyum iyonu girer. Sarkoplazmaya giren kalsiyum iyonları, sarkoplazmik retikulum zarında bulunan “kalsiyum bağımlı kalsiyum kanalı” olarak adlandırılan ligand bağımlı kalsiyum kanallarına bağlanır ve bu kanalların açılmasını sağlar. Kanalların açılmasını izleyerek, sarkoplazmik retikuluma bulunan bol miktardaki kalsiyum iyonu sarkoplazmaya dağılarak kalın ve ince filamanlara ulaşır. Kalsiyum iyonları, aktin üzerindeki miyozin bağlanma noktalarını açmak üzere troponin C’ ye bağlanır. Bu bağlanma sonucunda, aktin üzerinde miyozin başının bağlanma noktalarını örten troponin I yerinden çekilir. Aktin ve miyozin başı birbirine bağlanır. Miyozin başının ATPaz erkiyle ATP parçalanır ve ortaya çıkan enerji ile kas kasılmaya başlar.^{29,37,39,40}

Bir kalsiyum iyonuna bağlanan her troponin molekülü, yedi adet miyozin bağlanma noktasını açığa çıkarır. Fazla kalsiyum yeniden bir kalsiyum pompası ile sarkoplazmik retikuluma pompalanır. Sarkoplazma içerisinde kalsiyum iyonu derişimi azalınca troponine bağılı kalsiyum, troponinden ayrılır ve hızla ya hücre dışına salınır ya da sarkoplazmik retikuluma pompalanır. Kalsiyumun troponinden ayrılması kasılmanın sonlanması ve kasın gevşemesi için gereklidir.³⁹

2.4.2.5. Kalp Döngüsü

Bir kalp atımının başlangıcından, bir sonraki kalp atımının başlangıcına değin gerçekleşen kalp olaylarına “kalp döngüsü” adı verilir. Her bir döngü, sinüs düğümünde bir aksiyon potansiyelinin kendiliğinden oluşması ile başlar.³⁷ Her bir döngüde, sağ atriyumdan geçerek sağ ventriküle giren kan sistemik arterlerdekinin yedide biri kadarlık bir ortalama basınçla pulmoner arter sistemine pompalanır. Kan daha sonra,

kandaki CO_2 'nin serbest bırakıldığı ve O_2 'nin tutulduğu akciğer kılcal damarlarına geçer. Akciğer kılcallarında O_2 'den zenginleşen kan, pulmoner venler yoluyla sol atriya döner ve periferik pompalandığı sol ventriküle geçer, Sol ventrikülden tüm vücuda oksijenlenmiş kanı dağıtan aortaya verilen kan, tüm vücudu dolaşarak O_2 içeriğini bırakıp yerine CO_2 'i alarak yeniden oksijenlenmek için sağ atriya döner. Döngü bu şekilde tamamlanır.³⁹

Bütünlüğü bozulmamış normal dolaşımda, toplam kan hacmi sabittir ve bir bölgenin kan hacmindeki artışa başka bir bölgede azalma eşlik eder. Bununla birlikte, vücudun farklı bölgelerine dolaşan kanın dağılımı, sol ventrikülün debisi ve bu bölgelerdeki direnç damarlarının (arteriyoller) kasılma durumunca belirlenir.⁴⁰

2.5. Kullanılan Belirteçler

2.5.1. Tip I Kollajen

Kollajen bağ doku tarafından salgılanan, hareket sisteminin yapı taşlarını, özellikle kemik, kıkırdak, lif ve eklemleri oluşturan proteindir. Kollajen lifler insan vücudunun kuru ağırlığının yaklaşık %30' unu oluştururlar. Taze halde beyaz renkte izlendiklerinden beyaz lifler olarak da adlandırılırlar. Işığı çift kıran asidofilik bir proteindir. Elastik değildir ancak gerilmeye karşı dirençlidirler. Bu protein birbiri üzerine sarılmış üç α -zincirinden oluşur. Bugüne dek her biri farklı bir genden kodlanan 25 farklı kollajen α -zinciri belirlenmiştir. 19 değişik tipi tanımlanmıştır ve 20 farklı kollajen tipi bulunmaktadır. Bu çeşitlilik moleküler yapıdan kaynaklanmaktadır.

Kollajenin yapısındaki amino asitlerin yaklaşık %35' i glisin, %21' i prolin ve hidroksiprolin, %11' i alanindir. Bunlardan hidroksiprolin ve hidroksilizin kollajene özgü amino asitlerdir. Hidroksiprolin, kollajen miktarının ölçümünde kullanılır.⁴¹

Kollajen, bir hücre dışı bir protein olmakla birlikte, olgun bir kollajen lifi haline gelmeden önce bağ doku fibroblastlarında, hücre içi öncül molekül halinde sentezlenir. Fibroblastlarda en önce ortaya çıkan kollajen öncülü, N-terminalinde yaklaşık 100 amino asitlik bir sinyal dizisi içeren preprokollajendir. Preprokollajen, endoplazmik retikuluma bağlı ribozomlarca oluşturulur. Preprokollajenin N-terminali endoplazmik retikulumun veziküler aralığına girdikçe sinyal sıralaması ayrılır ve molekül

ağırlığı 150000 kadar olan prokollajen oluşur. Prokollajen suda kolaylıkla çözünür ve bu özelliği onun hücre içerisinde rahatça taşınabilmesi için gereklidir. Hücre içi prokollajen sentezinde en önemli aşama, lizin ve prolin' in endoplazmik retikulumda hidroksilasyonudur.

Prokollajen, Golgi kompleksinde düzenlenir. Bu düzenlenim, polipeptit yapısı içindeki prolin ve lizin kalıntılarının hidroksillenerek hidroksiprolin ve hidroksilizin haline dönüşmesini, hidroksilizin kalıntılarının galaktozillenmesini, disülfid bağlarının ve üçlü sarmalın oluşması işlemlerini kapsar. Prolin kalıntılarının hidroksiprolin kalıntısına dönüşümü, prolil-4-hidroksilaz ya da prolil-3-hidroksilaz enzimleri tarafından katalizlenir. Prolil-4-hidroksilaz, (Gly-X-Y) n polipeptidinde Y konumunda olan prolin kalıntıları üzerine etki ederek bunları, 4-hidroksiprolin kalıntıları haline dönüştürür. Bunun için α -ketoglutarat, O_2 , Fe^{+2} ve askorbat gerekmektedir. Prolil-3-hidroksilaz, Y konumundaki bir 4-hidroksiprolinin hemen öncesindeki X konumundaki prolin kalıntıları üzerine etki eder. Lizin kalıntılarının hidroksillenmesi ise lizil hidroksilaz etkisiyle olur. Daha sonra hidroksilizin kalıntıları, UDP' ın galaktozil ya da glukozil taşıyıcısı olarak kullanıldığı tepkimelerde, galaktozil transferaz ve glukozil transferaz etkisiyle galaktozillenir ve glukozillenirler.

Prokollajen, N-terminalinde 20000 molekül ağırlıklı ve C-terminalinde 30000-35000 molekül ağırlıklı iki peptit içerir. Prokollajen molekülünün iki ucunda bulunan peptitlerdeki sistein kalıntıları, N-terminalde zincir içi, C-terminalde ise hem zincir içi hem zincirler arası disülfid bağları oluştururlar ve prokollajen molekülleri üçlü sarmal halinde biraraya gelirler. Hücre içi düzenlenimden sonra, hidroksillenmiş ve glikozillenmiş prokollajen molekülü, Golgi kompleksi yoluyla hücre dışına salgılanır. Hücre dışına salgılanan prokollajenin N-terminal ve C-terminal

peptitleri, sırasıyla prokollajen aminoproteaz ve prokollajen karboksiproteaz enzimlerince ortadan kaldırılır. Prokollajen zincirleri hücre dışına salınmalarını izleyerek, hücre dışında bir dizi enzimatik işleminden geçerek fibrilleri oluşturmak üzere birleşirler ve tropokollajen oluşur.⁴²

Tropokollajen molekülleri, her zincirde yaklaşık 1000 amino asite sahiptirler ve dokularda bulunan olgun kollajen fibrilleri gibi lifler halinde toplanırlar. Bununla birlikte bazı fibriller bir dizi kovalent bağ aracılığıyla çapraz bağlanmadıkça olgun kollajen fibrillerinin gerilme gücüne sahip değildirler. Kollajen lifin öncülü tropokollajen molekülü; 2 identik α -1 zinciri ve 1 α -2 zincirinden oluşur. 280 nm uzunluğunda 1,5 nm genişliğindedir. 20-90 nm arasında ortalama 75 nm- çapında bir bileşiktir ve 64 nm' de bir enine çizgilenme gösterir. Fibriller lifleri, lifler de kollajen demetleri oluşturur.³¹

Kollajenin yarı ömrü birkaç gün kadardır. Kollajen, özel kollajenazlar tarafından, son derece yavaş olarak, glisin-lösin ya da glisin-izolösin bağlantılarından yıkılır. Katepsin B, çapraz bağlara yakın bölgelerdeki bağları parçalayarak sarmal yapının değişmez yapısını bozar ve proteolize yardım eder. Kollajenazlar, bazı proteolitik enzimlerle aktive edilirler. α 2-makroglobulin ise önemli bir kollajenaz baskılayıcısıdır.

2.5.2. FGF-2 (Fibroblast büyüme faktörü-2, temel fibroblast büyüme faktörü)

Fibroblast büyüme faktörleri (Fibroblast growth factors, FGFs), polipeptit büyüme faktörlerinin büyük bir ailesini oluşturmaktadır.

FGFs hematodlardan insanlara değin değişik birçok organizmada bulunmaktadır.⁴³

Fibroblast büyüme faktör ailesinin, yapısal ve biyolojik erkleri açısından benzerlik gösteren, 17-34 kDa aralığında molekül ağırlığına sahip olan birçok yesi vardır. Çok bilinen iki FGFs izoelektrik noktalarının (pI) farklı olması nedeni ile birbirinden ayırt edilmiştir. Asidik FGF (aFGF, FGF-1)' nin pH' sı 4.5-6 iken, bazik FGF (bFGF, FGF-2)' nin pH' sı 9.6-9.8' dir. Bu iki büyüme faktörü % 55 sıra benzerliğine sahiptir.^{44,45}

FGF-2' yi kodlayan, FGF-2 geni insanlarda; 4.kromozom, q26-q27 bandı üzerinde yerleşim göstermektedir.⁴³ FGF-2 klasik bir işaret sırasına sahip değildir ve bu nedenle işaret iletim yolu ile salınmaz.⁴⁴ Hücrelerden FGF-2' nin salınımı ile ilgili bir görüş ise FGF-2' nin hücre ölümü, yaralanma ve kimyasal hasarlanma gibi pasif düzenekler sonucu salındığı görüşüdür.⁴⁶ Salınan FGF-2 hücre dışında heparan sülfat proteoglikanlara (HSPG) bağlı olarak depolanmaktadır.⁴⁷

FGF-2 ya da FGF-1' e yanıt veren tüm hücre tipleri zel FGF hücre yüzey reseptörleri taşımaktadırlar. FGF-2 yüksek (FGFRs, tirozin kinaz (TK) aktiviteli FGF reseptörleri) ve düşük çekicilikli reseptörlere (HSPG) bağlanmaktadır.⁴⁸ FGFs parakrin ve otokrin faktörlerin çok önemli gruplarından birisidir.^{49,50} FGFs' nin reseptöre bağlanması ile reseptörler dimerize olmakta ve bunun sonucunda tirozin kinaz aktivitesi gerçekleşmektedir. Bu kinazlar birbirlerini fosforilleyerek sinyal iletimini başlatmaktadırlar.⁵¹

FGF-2; çok sayıda hücre, doku ve organ sistemlerinin işlevlerinde ve gelişimlerinde etkili olan bir büyüme faktörüdür. Öncelikle fibroblastik hücreler için mitojenik bir faktör olarak tanımlanmıştır. Kaslarda miyojenik erki düzenlediği ve özellikle iskelet kas hücrelerinde, mitojenik etki gösterdiği bilinmektedir. Bununla birlikte miyojenik hücrelerin miyoblastlara dönüşümünde antagonistik etkiye sahiptir. Bu hipertrofi oluşumunda kritik bir aşamadır.^{52,53} FGF-2 aynı zamanda dokuların yenilenmesinde de etkilidir.⁵⁰

Endotel hücre çoğalması, göç etmesi ve yeni kan damarı oluşumunun uyarılması ise FGF-2' nin en iyi bilinen işlevleridir.^{46,54}

2.5.3. IGF-I (İnsülin benzeri büyüme faktörü)

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF) diğer adıyla somatomedinler, GH' nun anabolik ve mitojenik etkilerinin çoğunun ortaya çıkmasına aracı olan bir peptid ailesidir. IGF sistemi, IGF' lerden, IGF bağlayıcı proteinlerden ve IGF reseptörlerinden oluşmaktadır. IGF' ler; IGF-I ve IGF-II' dir. IGF bağlayıcı proteinler IGFBP-I, IGFBP-II, IGFBP-III, IGFBP-IV, IGFBP-V ve IGFBP-VI' dır. IGF reseptörleri ise Tip I IGF reseptörü ve Tip II IGF reseptörüdür.

IGF-I mitojenik ve antiapoptotik etkiye sahip olan peptid yapıda bir hormondur. İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-III (IGFBP-III) ise apoptozisi uyararak IGF-I' in mitojenik etkisini baskılayan ve antiproliferatif etkiye sahip bir proteindir.

IGF' ler tek zincirli polipeptidlerdir. IGF-I 70 amino asit içeren bazik bir peptiddir. Molekül ağırlığı 7649 kDa' dur. IGF-II ise 67 amino asit içeren hafif asidik bir peptiddir. Molekül ağırlığı 7471 kDa' dur. Her iki IGF molekülü proinsüline benzer olarak A ve B zincirlerine sahiptirler ve bu zincirler birbirlerine C peptidi denilen disülfid bağlarıyla bağlıdır. IGF-I ve IGF-II' nin amino asit dizilimleri sırasıyla %43 ve %41 oranında proinsülin ile benzerdir. Proinsülinde ayrıcalıklı olarak IGF' ler karboksi terminalinde D bölgesi içermektedir. Proinsüline olan bu yapısal benzerlik her iki IGF molekülünün insülin reseptörlerine düşük çekicilik ile bağlanmasını açıklar. Diğer yandan yapısal farklılıklar insülinin IGF bağlayan proteinlere bağlanmasını önler.⁵⁵

İnsülin öncelikli olarak karaciğer, kas ve yağ dokusunda etki gösterirken, IGF' ler hemen hemen tüm organların işlevlerinde etkilidirler. IGF' lerin her ikisi de embriyolojik gelişimde önemli rol oynarlar ve organizmadaki miktarları erişkin yaşam boyunca sürdürülür. Bununla birlikte doğum sonrasında IGF-II' nin rolü tam olarak bilinmezken, IGF-I büyümenin düzenlenmesinde önemli rol oynar.⁵⁶

İnsülin ve IGF-I reseptörünün uyarılması hücre içinde aynı ilk uyarıyı başlatır. Bununla birlikte, insülin metabolik işlevleri düzenlerken, IGF' ler büyüme ve farklılaşma işlevlerinde rol alırlar. Hücre içinde bu hormonların uyardığı son yollar farklıdır. IGF' ler in vitro etkisini ya akut olarak protein ve karbonhidrat metabolizması üzerine anabolik etkisiyle ya da uzun dönemde hücre çoğalması ile farklılaşması üzerine yapar. Hücre döngüsünde DNA sentez ve hücre replikasyonunu uyarması çok önemli bir etkidir. Dinlenme aşamasındaki fibroblastların G0 fazından G2 fazına girmeleri için IGF-I molekülüne gereksinimleri vardır. Aynı zamanda IGF'

lerin ve bağlayıcı proteinlerin birçok dokuda yerel olarak üretilerek otokrin ve parakrin etki gösterdikleri bilinmektedir.

2.5.4. GDF-8 (Büyüme ve farklılaştırma faktörü-8, miyostatin)

Doku gelişimi, büyümesi ve işlevleri özelleşmiş hücre içi sinyallerle gerçekleşmektedir. Bu moleküler sinyaller hedef hücrede olaylanan kaskad yapılarını, hücre sinyalini ve hücre içinde ya da hücre yoluyla oluşacak yanıtın oluşmasını sağlar. Bu işlevleri sağlayan GF' ler (Büyüme Faktörleri) geniş bir protein ailesidir. Bunlar genellikle amino asit ve tersiyer yapılarına bakılarak gruplandırılırlar. GF' lerin bir alt grubu da TGF- β (Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β) ailesidir.

TGF- β ' lar hücrelerden inaktif karmaşık bir yapıda salgılanır. Buna karşın TGF- β ' lar bu karmaşık yapı parçalanıncaya değin çok az miktarda ya da hiçbir biyolojik erk göstermezler. TGF- β ' larin ortak bir özelliği ise biyolojik işlevlerinin diğer büyüme faktörlerinin varlığında ortaya çıkmasıdır. Bu durum ise hedef hücrelerin fizyolojik durumlarına ve diğer büyüme faktörlerinin varlığına bağlıdır.

TGF- β ' larin yapılarına bağlı birçok alt türü vardır. Bunlardan bir tanesi GDF' (Büyüme ve Farklılaştırma Faktörü) dir. GDF büyüme ve farklılaşmada düzenleyici rol oynamaktadır. GDF' nin alt türü olan GDF-8 Miyostatin olarak da bilinmektedir. GDF-8 iskelet kası proteini olup farelerde ve sığırlarda çift kaslılığa neden olmaktadır. İskelet kası büyümesinde ve farklılaşmasında rol oynamaktadır.⁵⁷

Yapılan alışmalarda, GDF-8 geninin sığırlarda 2. kromozomda yer aldığı ve 3 ekzon ile 2 introndan oluştuğu gösterilmiştir.⁵⁸

GDF-8 ailesi daha çok sığır türlerinde araştırılmıştır. Bu araştırmalardan en önemli ikisi Belçika Mavisi ve Piedmontese sığır türlerinde GDF-8 genini kodlayan sekanslarda oluşan mutasyonlar sonucu kas kütle artışının oluştuğunun gösterilmesidir.^{59,60} Bu durum GDF-8 geninin inaktivasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. GDF-8 miyogenezisin negatif düzenleyicisi olarak da rol oynamaktadır.⁶⁰

GDF-8 gen dizileri birçok memeli türlerinde saptanmış olup doğal olan varyantları kas hipertrofisine neden olmuştur. Diğer türlerden GDF-8 genlerini klonlamak için cDNA kütüphaneleri oluşturulmuş ve olgun molekülün aktif kısmını içeren, korunmuş C-terminal bölgesi kapsayan fare GDF-8 probu yardımıyla görüntülenmiştir. Yapılan çalışmalarda cDNA klonları kullanılarak fare, sıçan, insan, maymun, sığır, domuz, koyun ve tavuk gibi birçok türde GDF-8 amino asit sekansları belirlenmiştir. Sonuç olarak GDF-8' in türler arasında yüksek derecede korunduğu grlmştir. Aslında fare, sıçan, insan, domuz, tavuk ve hindi GDF-8 sekanslarının C-terminal bölgelerinde % 100 benzer olduğu, maymun, sığır ve koyun GDF-8' in ise olgun proteinde 1' den 3' e kadar amino asit farklılıkları içerdiği belirlenmiştir.⁶¹

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Bu çalışmada Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden sağlanan ve bakımları bu merkezce yapılan denekler kullanıldı.

Her grup doğum öncesi ve sonrası farklı yaş gruplarını içerecek şekilde, 6 adet sıçandan oluşan 5 grup oluşturuldu. Gruplar kas gelişiminde önemli olabilecek günler dikkate alınarak:

1. grup: Doğum öncesi evre (20. Gün)
2. grup: Yenidoğan
3. grup: 1 ay (prepubertal evre)
4. grup: 6 ay (erişkin evre)
5. grup: 12 ay (yaşlılık dönemi başlangıcı) olarak belirlendi.

Doğum öncesi ve yenidoğan evre incelemeleri için, 2 dişi 1 erkek sıçan karanlık ortamda bir gece aynı kafeste bırakılarak gebeliğin oluşumu sağlandı. Vaginal plak oluşumu görülen sıçanlar gebeliğin 0. gününde kabul edilerek çalışmaya alındı. Doğum öncesi evre grubu için,

gebeliğin 20. gününe gelindiğinde, sıçanlara 50mg/kg ketalar HCl ve 10mg/kg rompun anestezisi intraperitoneal olarak uygulandı ve anestezi sağlandıktan sonra gebelik cerrahi olarak sonlandırıldı. Doğum sonrası evreler için belirlenen yaş gruplarında ise, doğum künyelerine bakılarak elde edilen yaş gruplarındaki deneklere aynı yöntemle anestezi uygulandı. Sonrasında cerrahi girişim yapılarak kalp kası ve gastrokinemius iskelet kası örnekleri alındı. Işık mikroskopik inceleme için her deneğin sağ tarafından alınan örnekler %10' luk nötral formaline, sol tarafından alınan örneklerin bir bölümü Western blot yönteminin uygulanabilmesi için sıvı azota, bir bölümü ise SEM ve TEM incelemelerinin yapılması için %2,5' luk fosfat tamponlu gluteraldehit solusyonuna alınarak bekletildi.

3.2. İmmünohistokimyasal Yöntem

%10' luk nötral formaline alınarak 72 saat süreyle tespit edilen dokular, alışılmış histolojik ışık mikroskop takip yönteminden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Tüm gruplar için hazırlanan bloklardan mikrotomla (Leica SM 2000, Germany) polizinli lamlara 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal çalışma uygulandı.

Kesitler 37° C' deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak ereğiyle etüv ısısı 57° C' ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15' er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100' lük, %96' lık ve %80' lik alkol serilerinden 10' ar dakika süreyle geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden arındırıldı.

FGF-2 (rabbit poliklonal, sc-79, Lot: F0706, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) ile IGF-I (rabbit poliklonal, sc-9013, Lot: B2706, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) primer antikorları için HRP Histostain-Plus (Lot: 724944A, Invitrogen, USA) sekonder kiti ve Kollajen Tip I (goat poliklonal, sc-25974, Lot: H2506, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) ile GDF-8 (goat poliklonal, sc:34781, Lot: B0306, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) primer antikorları için Goat ImmunoCruz™ Staining (sc-2053, Lot: Santa Cruz Biotechnology, California, USA) sekonder kiti kullanıldı.

FGF-2 ve IGF-I primer antikorları için kullanılan kesitler, endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi ereğiyle 15 dakika süreyle hidrojen peroksit ile etkin bırakıldı. Kollajen Tip I ve GDF-8 primer antikorları için kullanılan kesitlere de aynı amaçla 2 dakika süreyle peroksidaz blok (Lot: F2909, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) uygulandı. Tüm kesitler, 3 kez 3' er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline, pH: 7.4) ile yıkandı. Özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi ereğiyle FGF-2 ile IGF-I primer antikorları için 5 dakika Ultra V Block (Lot: 724944A, Invitrogen, USA) ve Kollajen Tip I ile GDF-8 primer antikorları için 20 dakika serum blok (Lot: D0810, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) uygulandı. Bloklama aşamasını izleyerek kesitler yıkanmadan, Kollajen Tip I, FGF-2, IGF-I ve GDF-8 primer antikorlarına etkin bırakıldı. Tüm kesitler daha sonra 3 kez 3' er dakika PBS ile yıkandıktan sonra FGF-2 ile IGF-I primer antikorları için 10 dakika sekonder antikor (Lot: 724944A, Invitrogen, USA), Kollajen Tip I ile GDF-8 primer antikorları için ise 30 dakika biotinli sekonder antikora (Lot:D0810, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) etkin bırakıldılar. Süre sonunda yeniden PBS ile yıkanan dokular enzimin biyotine bağlanması ereğiyle, FGF-2 ile IGF-I primer antikorları için 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Lot: 724944A, Invitrogen, USA) ve Kollajen Tip I ile GDF-8

primer antikorları için ise 30 dakika HRP-Streptavidine (Lot: F2909, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) etkin bırakıldı.

Tüm kesitler PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olarak, FGF-2 ile IGF-I primer antikorları için AEC (3-amino-9-ethylcarbazole, Lot: S11667A, Invitrogen, USA) ve Kollajen Tip I ile GDF-8 primer antikorları için de yine DAB (3,3'iaminobenzidine Tatrahydrochloride, Lot: F2909, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) uygulanarak gözle görülebilir ürünün ortaya çıkması sağlandı.

Son olarak FGF-2 ile IGF-I primer antikorları ile boyanan kesitler Mayer' in hematoksileni ile, Kollajen Tip I ile GDF-8 primer antikorları ile boyanan kesitler Harris' in hematoksileni ile boyanarak kapatıldı. Tüm preparatlar Leica DM 4000 (Leica, Weetlar, Germany) mikroskobunda kamera ataçmanlı (DFC280 Plus Camera, Leica, Weetlar, Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğrafları çekildi.

İmmünohistokimyasal değerlendirme için tüm gruplara ait iskelet ve kalp kası dokularından farklı lamalar üzerine seri kesitler alındı. Tip I Kollajen, FGF-2, IGF-I ve GDF-8 primer antikorlarının her biri için yapılan immünohistokimyasal boyamalarda, her bir lamda X100 büyültmede rastgele beş alan seçilerek tutulumların yoğunluğu semikantitatif olarak değerlendirildi. Değerlendirme 0 (0, tutulum yok), 1 (+, zayıf immünreaktivite), 2 (++, orta düzeyde immünreaktivite), 3 (+++, kuvvetli düzeyde immünreaktivite) olarak değerlendirilerek skorlandı ve sonuçların ortalamaları alınarak her grup için tek bir değere ulaşıldı. Sonuçlar iskelet kası için Tablo 1' de, kalp kası için Tablo 2' de gösterildi.

3.3. Western Blot Yöntemi

Dokular, proteaz inhibitör kokteyl (SantaCruz) içeren 50mM Tris-HCl (Sigma) solüsyonunda 300 mg doku, 1,5 mL hacimde olacak şekilde homojenize edildiler.

Sds-Page (Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforezi) İçin %5' lik Paketleyici (Stacking) Jel

- dH₂O: 3,4mL (HyClone, USA)
- 30% AKRİLAMİD MİX: 0,83mL (29:1 Akrlamid-Bisakrlamid, Fisher Scientific, Germany)
- 1M TRIS (pH6,8): 0,63mL (Sigma, USA)
- 10% SODYUM DODESİL SÜLFAT: 0,05mL (Sigma, USA)
- 10% AMONYUM PERSÜLFAT: 0,05mL (Sigma, USA)
- TEMED: 0,005mL (Merck, Germany) olacak şekilde hazırlandı.

%10'luk Ayırıcı (Separating) Jel

- dH₂O: 3,3mL (HyClone, USA)
- 30% AKRİLAMİD MİX: 4mL (29:1 Akrlamid:Bisakrlamid) (Fisher Scientific, Germany)
- 5M TRIS (pH8,8): 2,5mL (Sigma, USA)

- 10% SODYUM DODESİL SÜLFAT: 0,1mL (Sigma, USA)
- 10% AMONYUM PERSÜLFAT: 0,1mL (Sigma, USA)
- TEMED: 0,004mL (Merck, Germany) olacak şekilde hazırlandı.

Homojenatlarda total protein miktarı BCA Protein Kantitasyon Kiti (Pierce, Rockford USA) kullanılarak yapıldı. Her bir kuyucukta 50 µg protein olacak şekilde yükleme yapıldı. Yükleme tamponu içeriği:

- 7ml, 0,5m Tris, %0,4 Sodyum Dodesil Sülfat Ph 6,8 (Sigma, USA)
- 3,6mL GLİSEROL (Sigma, USA)
- 1g SODYUM DODESİL SÜLFAT (Sigma, USA)
- 1,2mg BROMFENOL BLUE (Acros Organics, Germany) olacak şekilde hazırlandı.

Yükleme tamponunun 960 µL' sine 40 µL β-merkaptoetanol (Merck, Germany) eklendi. 5 birim hacim homojenat 1 birim hacim 6x yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra 96°C' de 5 dakika kaynatıldıktan sonra kaynatılmış protein örnekleri jel kuyucuklarına yüklendi.

Protein örnekleri paketleyici jeli geçene kadar 50V' da ayırıcı jelde 100V' da toplam 2,5 saat +4°C' de yürütüldü. Elektroforez işlemi

JGC-1 Dikey elektroforez sistemi (Thermo Fisher Scientific, Germany) ile yapıldı.

Elektroforezi tamamlanmış jel PVDF membrana (Pierce, Rockford, USA) 200mA sabit akımda 1,5 saat transfer edildi. Transblot işleminde OWL VEP-2 Bloter (Thermo Fisher Scientific, Germany) kullanıldı. Proteinlerin transfer edildiği membran %3 yağsız süt tozu (Cell Signaling, Germany) içeren TBST (%0,1 Tween 20 içeren Tris buffer saline) tamponunda oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi.

Bloklanmış membran, önerilen antikor dilüsyon miktarında primer antikor kullanılarak gece boyunca +4°C' de inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonunda membran 2 kez TBST (%0,1 Tween 20 içeren Tris buffer saline), 1 kez TBS (Tris buffer saline) ile 10 dakika yıkandı. Yıkama işlemi biten membran HRP konjuge sekonder antikor ile önerilen dilüsyonda 2 saat inkübe edildi. Daha önce yapılan yıkamalar aynı şekilde tekrarlandı. HRP konjuge sekonder antikor ile inkübasyonu tamamlanmış PVDF membran ECL-Kemilüminesans substrat (Pierce, WestPico, USA) ile 5 dakika inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonucu gözlenen ışımlar sayesinde X-Ray (Pierce, USA) filmi yakılarak, bantlar görünür hale getirildi. X-ray filminden elde edilen protein band yoğunlukları Image J programı kullanılarak ölçüldü.

Western blot değerlendirmesi için tüm gruplara ait iskelet ve kalp kası dokularında Tip I Kollajen protein ifadenmesine bakıldı. Tip I Kollajen proteini iskelet kası bant yoğunlukları Fotoğraf 66' da, aynı proteinin kalp kasındaki bant yoğunlukları ise Fotoğraf 67' de gösterildi. Tüm gruplara ait hedef gen tabloları iskelet kası için Tablo 3' de, kalp kası

için ise Tablo 4' de gösterildi. İskelet kasına ait gruptaki Tip I Kollajen protein yoğunlukları Grafik 1' de ve kalp kasına ait gruptaki Tip I Kollajen protein yoğunlukları Grafik 2' de gösterildi.

3.4. Elektron Mikroskopi Takip Yöntemi

3.4.1. Scanning Elektron Mikroskopi Takip Yöntemi

Doku rnekleri, SEM ile incelemenin yapılabilmesi için, %2,5' luk fosfat tamponlu gluteraldehit solusyonuna alınarak bekletildi. Örnekler daha sonra doku içindeki fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki aseton serilerinden geçirildi. Sonrasında kritik nokta kurutma cihazında (EM CPD030, Leica, Germany) kurutulan dokuların tam dehidratasyonları sağlandı. Kurutma sonrasında, alüminyum taşıma haznelere sıvı gmğ ile yapıştırılarak; kaplama cihazında (Denton vacuum, LLC Desk V sputter/etch unit), altın-paladyum (AuPd) ile kaplandı. Tutuculara yerleştirilen dokular Carl Zeiss EVO LS10 TEM-SEM mikroskobunun SEM bölümünde incelenerek fotoğrafları çekildi.

3.4.2. Transmission Elektron Mikroskopi Takip Yöntemi

Alınan doku rnekleri TEM ile incelemenin yapılabilmesi için, fosfat tamponlu %2,5' luk tamponlu gluteraldehit solusyonuna alınarak tespit edildi. Sonrasında %1' lik osmiyum tetroksite 1 saat etkin bırakılan dokuların ikinci tespitleri ve boyanmaları sağlandıktan sonra alkol serilerinden geçirildi. 30 dakika propilen oksitte bekletilen dokular

sonrasında, propilen oksit ve gömme materyali içinde 30 dakika daha bekletilerek gömme materyalinin doku içine geçişi sağlandı. Bu aşamadan sonra gömme materyali içine alınan dokular 2 saat rotatorda oda ısısında, 2 saat 40°C' de etüvde bekletildi. Son olarak dokular aynı karışım ile yatay gömme bloğuna gömüldü. Hazırlanan bloklardan LKB Leica ultramikrotom ile 1µ' luk kesitler alınarak ve toluidin mavisi ile boyandı. Bilgisayar donanımlı foto-ışık mikroskobu (DCM 4000, Leica, Germany) ile incelenen kalın kesitlerden belirlenen bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0,2–0,5µ' luk ince kesitleri alındı. Alınan kesitler kontrast sağlamak ereğiyle, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EVO LS10 TEM-SEM elektron mikroskobunun TEM bölümünde incelenerek fotoğraflandırıldı.

3.5. İstatistik Yöntemi

İskelet ve kalp kası için, TEM ile yapılan değerlendirmeler sonucunda, her denek için alınan farklı kesitlerde tüm alanın taranmasıyla Carl Zeiss EVO LS10 TEM-SEM elektron mikroskobuna ait ölçüm programı kullanılarak subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölgeler olmak üzere iki farklı bölgede bulunan mitokondriyon sayıları ve çapları ölçüldü. Ölçümler sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesi ve tabloların oluşturulması SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Version 15 programında yapıldı. Verilerin gösterilmesi amacıyla ortalama ve standart sapma değerleri kullanıldı. Gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık olup olmadığı, tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) yöntemiyle araştırıldı. Yapılan varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bulunan gruplarda farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek amacıyla Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Bütün istatistiksel analizlerde önemlilik seviyesi olarak $p < 0.05$ değeri kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.1.1. İskelet Kası Bulguları

4.1.1.1. Tip I Kollajen Bulguları

Doğum öncesi evreye ait iskelet kas örnekleri incelendiğinde, kas lifi demetlerinin son derece ince olduğu ve hücrelerin az gelişkinliği dikkati çekti. Çekirdeklerin yerleşim yerleri ve şekilleri tam olarak belirgin değildi. Çekirdekler, oval şekilli idi ve kromatin dağılımı daha çok çekirdek zarı altında yoğunlaşmıştı. Kas lifleri arasındaki bağ dokunun oldukça fazla olduğu ilgiyi çekti. Bağ dokuda yuvarlak şekilli bağ doku hücrelerinin yanı sıra iri ve oval şekilli çekirdeğe sahip kas hücre öncüllerinin dağılımı saptandı. Kas liflerinde enine çizgilenmeler belirsizdi ve düzenli değildi. Ancak bazı kas liflerinde düzenli olmayan çizgilenmeler izlendi. Bu gruba ait Tip I Kollajen immünreaktivitesi incelendiğinde ise tutulumun genelde sarkolemma düzeyinde olduğu gözlemlendi. Ara bağ dokusunda kollajen tutulumunun zayıf olduğu ilgiyi çekerken, bağ doku hücrelerinde yer yer orta dereceli tutulum görüldü. Bu tutulum genelde sitoplazmikti. Kas öncül hücrelerinde ise immünreaktivitenin daha fazla olduğu saptandı (Fotoğraf 1A, B).

Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde; iskelet kas lifi demetlerinin biraz daha kalınlaştığı, ancak ara bağ dokusunun hala yoğun

olduğu belirlendi. Demetlerde yer alan enine çizgilenmeler bir önceki gruba benzer olarak düzensizdi. Kas liflerinde çekirdeklerin çoğunlukla sarkolemma altında yerleşim gösterdiği izlendi. Tip I Kollajen immünreaktivitesi doku genelinde doğum öncesi grup ile benzerdi. Tutulum sarkolemmada yoğun izlenmekle birlikte, sarkoplazmada orta-kuvvetli derecedeydi. Bağ dokuda izlenen Tip I Kollajen immünreaktivitesi doğum öncesi gruba eşdeşti (Fotoğraf 2A, B).

1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; iskelet kas lifi demetlerinin erişkindeki yapısını aldığı, miyofibril ve enine çizgilenmelerin gelişkin olduğu ayırt edildi. Tip I Kollajen immünreaktivitesinin sarkolemmada yoğun olduğu, sitoplazmik tutulumun ise azaldığı dikkati çekti. Bağ dokuda kuvvetli Tip I Kollajen tutulumu belirgindi. Damar endotelinde de tutulum yaygındı. Tutulumun daha yoğun olarak damar çevresinde enlemesine organize olmuş kollajen liflerde olduğu ve damar adventisyası ile devam ettiği belirlendi. Bağ doku hücrelerinde de immünreaktivite oldukça kuvvetliydi (Fotoğraf 3).

6 aylık gruba ait incelemelerde; kas lifi demetlerinin gelişkin olduğu ara bağ dokusu hücrelerinin ise kuvvetli Tip I Kollajen immünreaktivitesi gösterdiği dikkati çekti. Sarkolemmada tutulum orta dereceli olarak belirlenirken, sarkoplazmada oldukça zayıftı. Enine kesitlerde de sarkolemmanın oldukça kuvvetli immünreaktivite gösterdiği ilgiyi çekti. Doku genelinde koyu ve açık lifler izlendi. Açık liflerde immünreaktivite azken, koyularda sarkolemmadan sitoplazmaya gidildikçe tutulumun zayıfladığı ayırt edildi (Fotoğraf 4).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; ara bağ dokusunun belirgin olarak arttığı ve kuvvetli Tip I Kollajen tutulumu gösterdiği gözlemlendi. Bağ doku hücrelerinde de yaygın tutulum ilgiyi çekti. Enine kesitlerde sarkolemanın kuvvetli immünreaktivite gösterdiği belirlenirken yer yer enine çizgilenmeler ayırt edildi. Doku genelinde en yoğun tutulumun bu grupta olduğu belirlendi (Fotoğraf 5)

4.1.1.2. FGF-2 Bulguları

Doğum öncesi evreye ait iskelet kas örnekleri incelendiğinde, iskelet kası liflerinde ve bağ dokuda FGF-2 tutulumunun sitoplazmik düzeyde ve yaygın olduğu izlendi. Büyük büyültmelerde yapılan değerlendirmelerde, gelişmiş iskelet kası liflerinin yanı sıra gelişmekte olan tüp yapısındaki hücreler de belirlendi. Bu bölgelerde tek tek hücrelerin lifleri oluşturmak üzere geliştiği belirgin olarak ayırt edildi. Yeni oluşan tüplerde sarkolemma, sarkoplazma ve çekirdek boyanması oldukça zayıfken, enine çizgilenmelerdeki belirgin tutulum dikkati çekti. Tüpleri oluşturacak olan öncül iskelet kası hücrelerinin genellikle iğ biçimli olduğu çekirdek ve sitoplazmanın ise oldukça yoğun boyandığı ayırt edildi (Fotoğraf 6, 7).

Yenidoğan grubunda, iskelet kas yapısı ve FGF-2 immünreaktivitesi doğum öncesi grubuna eşdeşti. Küçük ve büyük büyültmelerde yapılan değerlendirmelerde, ara bağ dokusunun oldukça fazla olduğu ve bu bağ dokusunda yeni hücreleri oluşturacak öncül hücrelerde FGF-2 immünreaktivitesinin olduğu belirlendi. Benzer şekilde yeni tüpleri oluşturacak hücrelerde de FGF-2 tutulumu belirgindi. Tek olan kas hücre öncüllerinde sitoplazma ve çekirdek tutulumunun daha yoğun

olduğu dikkati çekti. Ancak yeni oluşan miyotüplerde tutulum biraz daha zayıftı. Biraz daha olgunlaşmış hücrelerde ise sarkolemma, sarkoplazma ve çekirdek tutulumu yaygındı (Fotoğraf 8, 9, 10).

1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; önceki gruplara karşın kas lifi demetlerinin biraz daha gelişkin olduğu gözlemlendi. FGF-2 immünreaktivitesi ise sitoplazmik ve granüler düzeydeydi (Fotoğraf 11).

6 aylık gruba ait incelemelerde; iskelet kasının olgun yapısını kazandığı ayırt edilirken, FGF-2 tutulumunun sarkolemma ve enine çizgilenmeler düzeyinde gözlemlenmesi ilgiyi çekti. Çekirdek tutulumu diğer gruplara karşın daha zayıftı. Yer yer ara bağ dokusunda da bazı yapıların biraz daha kuvvetli boyandığı belgindi (Fotoğraf 12A, B, 13).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; kas lifleri koyu ve açık halde ayırt edildi. Açık liflerde belirgin bir FGF-2 tutulumu izlenmezken, koyu liflerin yoğun bir FGF tutulumu göstermesi ilgiyi çekti (Fotoğraf 14, 15).

4.1.1.3. IGF-I Bulguları

Doğum öncesi evreye ait iskelet kas örneklerindeki IGF-I immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; tutulumun sarkolemma düzeyinde yoğun ancak sarkoplazmada biraz daha zayıf olduğu gözlemlendi. Bu grupta ara bağ dokusunun yoğun olduğu ve miyotüp gelişiminin belirginliği ayırt edildi (Fotoğraf 16, 17).

Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde, kas lifi demetlerinin biraz daha kalınlaştığı izlenirken, IGF-I immünreaktivitesinin sarkolemma ve sarkoplazma düzeyinde biraz daha artmış olduğu belirlendi. Ara bağ doku da bir önceki gruba karşın biraz daha fazlaydı. Bu grupta da gelişmekte olan miyotüp yapıları ilgiyi çekti (Fotoğraf 17, 18).

1 aylık grupta IGF-I immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; sarkolemma'nın ve çekirdeklerin ortadan zayıfa değişen tutulum gösterdiği belirlendi. Bu grupta enine çizgilenmelerin belirginleştiği gözlemlendi. Çekirdek yerleşimi sarkolemma'nın hemen altındaydı. Ara bağ doku azalmıştı. Ancak bağ doku hücreleri oldukça kuvvetli IGF-I tutulumu gösteriyordu (Fotoğraf 20).

6 aylık gruba ait incelemelerde; kas liflerinin tümüyle erişkin yapısını aldığı ve sarkolemma ile çekirdek dışında IGF-I tutulumunun belirsizliği izlendi. Ara bağ dokuda bazı hücrelerin çekirdeklerinde ve damarlarda IGF-I immünreaktivitesi ayırt edildi (Fotoğraf 21).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; kas liflerinde koyu ve açık hücreler ilgiyi çekti. Bu gruba ait IGF-I immünreaktivitesinin ise açık hücrelerde daha zayıf, koyu hücrelerde ise oldukça yoğun olduğu izlendi (Fotoğraf 22).

4.1.1.4. GDF-8 Bulguları

Doğum öncesi evreye ait iskelet kas örneklerindeki GDF-8 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; yeni oluşan miyotüplerde tutulumun daha orta dereceli olduğu ilgiyi çekerken biraz daha kalınlaşmış liflerde zayıf tutulum olduğu ayırt edildi (Fotoğraf 23A, B).

Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde GDF-8 immün tutulumun; ince kas lifi demetlerinde sarkolemma, sarkoplazma ve çekirdek düzeyinde yoğunlaştığı ayırt edilirken yeni oluşan liflerde tutulumun daha zayıf olduğu görüldü (Fotoğraf 24A, B).

1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; GDF-8 immünreaktivitesinin gelişkin demetlerde sarkolemma düzeyinde yoğunlaştığı belirlendi. Sarkoplazmada ise bazı liflerde tutulum yoğun bazılarında daha zayıftı (Fotoğraf 25).

6 aylık gruba ait incelemelerde GDF-8 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; tutulumun 1 aylık gruba karşın biraz daha yoğunlaştığı ve sarkolemma ile sarkoplazma düzeyinde olduğu görüldü. Enine kesitlerde açık liflerde sarkoplazmik tutulum zayıftı. Buna karşın sarkolemma tutulumu yaygındı. Koyu liflerde ise sarkolemma ve sarkoplazma tutulumu oldukça yoğundu (Fotoğraf 26A, B).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; GDF-8 immünreaktivitesinin bir önceki gruba benzer olarak koyu liflerde daha yoğun olduğu ayırt edildi (Fotoğraf 27).

4.1.2. Kalp Kası Bulguları

4.1.2.1. Tip I Kollajen Bulguları

Doğum öncesi evreye ait kalp kası örnekleri değerlendirildiğinde; liflerin oldukça gelişkin olduğu görüldü. Endokardiyum ve perikardiyumu oluşturacak bölgelerde daha belirgin bir tepkimenin varlığı belirlendi. Liflerdeki Tip I Kollajen tutulumunun her hücrede çekirdek ve sitoplazma düzeyinde olduğu ve sitoplazmik tutulumun ise granüler şekilde dağılım gösterdiği dikkati çekti (Fotoğraf 28, 29).

Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde Tip I Kollajen immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; epikardiyumun gelişkin olduğu ve Tip I Kollajen tutulumunun arttığı izlendi. Kalp kası hücrelerindeki tutulumun doğum öncesi grubuna karşın daha yoğun olduğu ayırt edildi (Fotoğraf 30, 31).

1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; epikardiyum ve endokardiyuma ek olarak kalp kası hücrelerinin arasını dolduran bağ dokuda da Tip I Kollajen tutulumunun varlığı izlendi. Kas hücrelerinde sitoplazmik olarak belirlenen tutulumunun diğer gruplara karşın daha da yaygınlaştığı görüldü (Fotoğraf 32, 33).

6 aylık gruba ait incelemelerde; kalp kası katmanının erişkin düzenleniminde olduğu, kas hücrelerinin gelişkin yapı kazandığı ve organizasyonunu tamamladığı izlendi. 1 aylık gruptan ayrıcalıklı olarak endokardiyumda Tip I Kollajen tutulumunun arttığı dikkati çekti. Tip I Kollajen immünreaktivitesinin; bazı liflerde daha az bazılarında ise oldukça yoğun olduğu gözlemlendi (Fotoğraf 34A, B).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde de; perikardiyum ve endokardiyum katmanlarında belirgin bir tutulum izlendi. Tip I Kollajen tutulumunun çekirdek düzeyinde orta dereceli, buna karşın sitoplazmada granüler düzeyde olduğu saptandı (Fotoğraf 35A, B).

4.1.2.2. FGF-2 Bulguları

Doğum öncesi evreye ait kalp kası örnekleri değerlendirildiğinde; FGF-2 immünreaktivitesinin çekirdek ve sitoplazma düzeyinde olduğu görüldü. Tutulumun ortadan zayıfa değiştiği ilgiyi çekti (Fotoğraf 36, 37).

Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde; FGF-2 immünreaktivitesinin bir önceki gruba karşın doku genelinde oldukça yaygın ve sitoplazmik düzeyde olduğu belirlendi. Tutulum aynı zamanda doğum öncesi grubuna karşın yoğundu (Fotoğraf 38, 39).

1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; FGF-2 tutulumunun bazı kas liflerinde oldukça yoğunken bazılarında doğum

öncesi evreye benzediği ilgiyi çekti. İmmünreaktivitenin zayıf-orta dereceli olduğu saptandı (Fotoğraf 40, 41).

6 aylık gruba ait incelemelerde; FGF-2 immünreaktivitesin 1 aylık grup ile aynı olduğu görüldü. Tutulum bazı liflerde az bazılarında ise çoktu (Fotoğraf 42, 43).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde ise; FGF-2 immünreaktivitesinin yoğun ve sitoplazmik olduğu, çekirdek düzeyinde ise düzenli olarak arttığı belirlendi (Fotoğraf 44, 45).

4.1.2.3. IGF-I Bulguları

Doğum öncesi evreye ait kalp kası örnekleri değerlendirildiğinde; tutulumun doku genelinde endokardiyumu oluşturacak olan bölgede zayıftan ortaya değiştiği izlenirken, diğer katmanlarda tutulum görülmedi (Fotoğraf 46,47).

Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde; özellikle perikardiyum ve ventiküler miyokardda immün tutulum ayırt edildi. Doğum öncesi gruba karşın artan IGF-I immünreaktivitesi dikkati çekti (Fotoğraf 48, 49).

1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; miyokard düzeyinde tutulumunun belirgin şekilde arttığı görüldü. Tutulum bir önceki gruba eşdeğer olarak perikarda belirginken, ventriküldeki immün tutulumun

arttığı saptandı. Buna koşut olarak atriyal kalp kası hücrelerinde de immün tutulum belirgin olarak artmıştı (Fotoğraf 50,51).

6 aylık gruba ait incelemelerde; IGF-I immünreaktivitesin; 1 aylık gruba benzer dağılımda ancak daha zayıf olduğu ilgiyi çekti (Fotoğraf 52,53).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; tutulumun doku genelinde bazı bölgelerde kuvvetli ve yaygın olduğu görüldü. Ancak bazı bölgelerde yer yer zayıf tutulum olduğu dikkati çekti (Fotoğraf 54,55).

4.1.2.4. GDF-8 Bulguları

Doğum öncesi evreye ait kalp kası örnekleri değerlendirildiğinde; embriyolojik dönemde yoğun düzenleyici olarak işlev gören GDF-8 immünreaktivitesinin son derece kuvvetli olduğu görüldü (Fotoğraf 56,57).

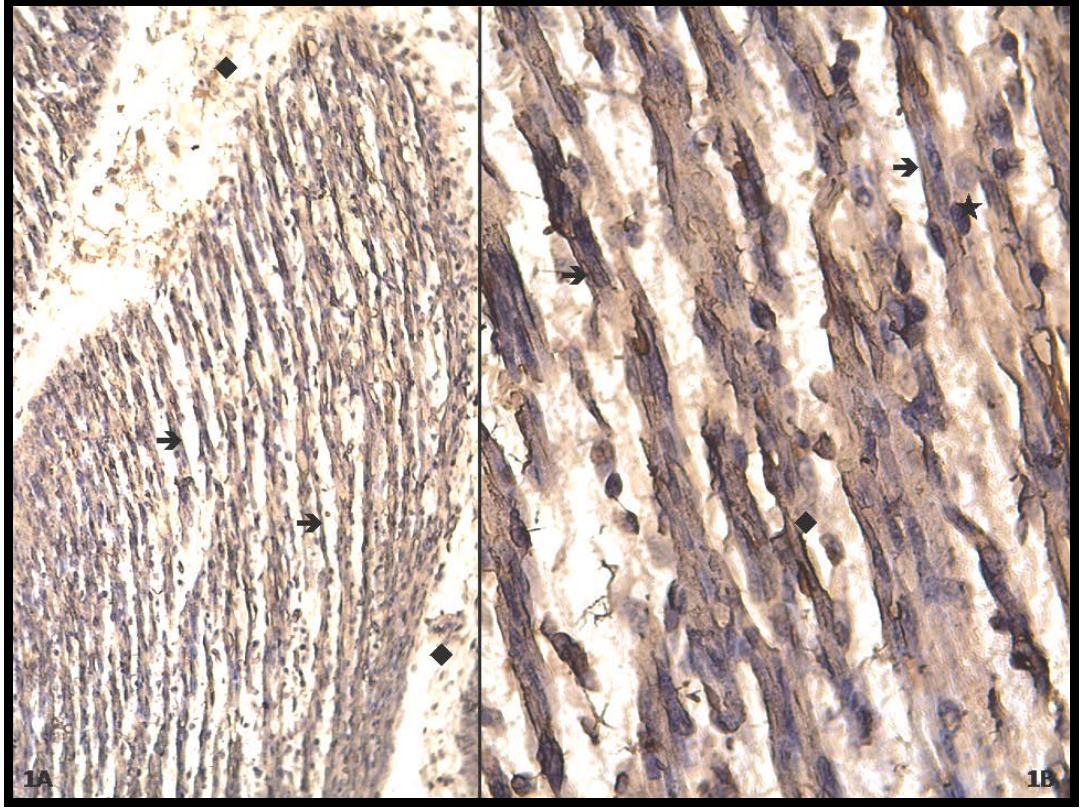
Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde; GDF-8 immünreaktivitesinin bir önceki gruba karşın daha zayıf ve sitoplazmik düzeyde olduğu belirlendi (Fotoğraf 58,59).

1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; bir önceki gruba benzer olarak perikardiyumda yaygın GDF-8 tutulumu izlenirken, miyokarddaki tutulumun yerel alanlarda yoğunlaştığı saptandı (Fotoğraf 60,61).

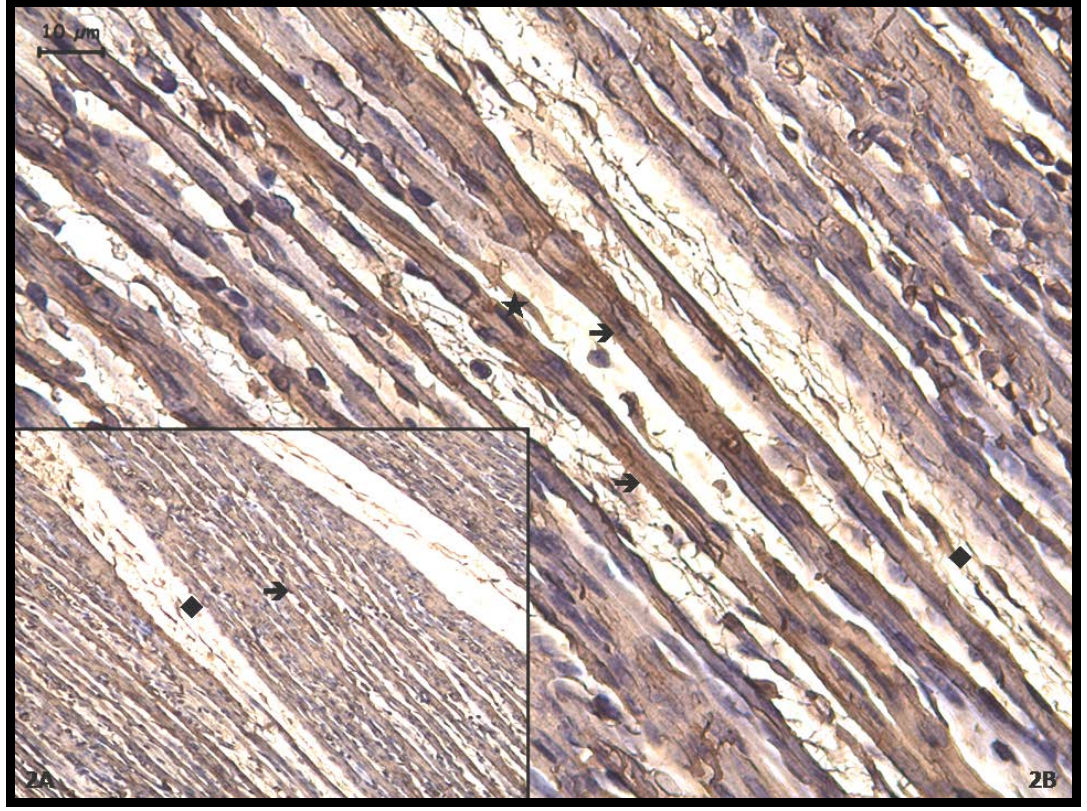
6 aylık gruba ait incelemelerde; GDF-8 immünreaktivitesin miyokard genelinde yaygın olduğu saptandı. Tutulum orta dereceli ve sitoplazmikti (Fotoğraf 62,63).

12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; boyanma endokard ve perikarda fazlaydı. Bazı kalp kası hücrelerinde zayıf bazılarında ise ortadan kuvvetliye değişen immün tutulum belirlendi. Kuvvetli tutulum gösteren kas hücrelerinin gruplar oluşturduğu dikkati çekti (Fotoğraf 64,65).

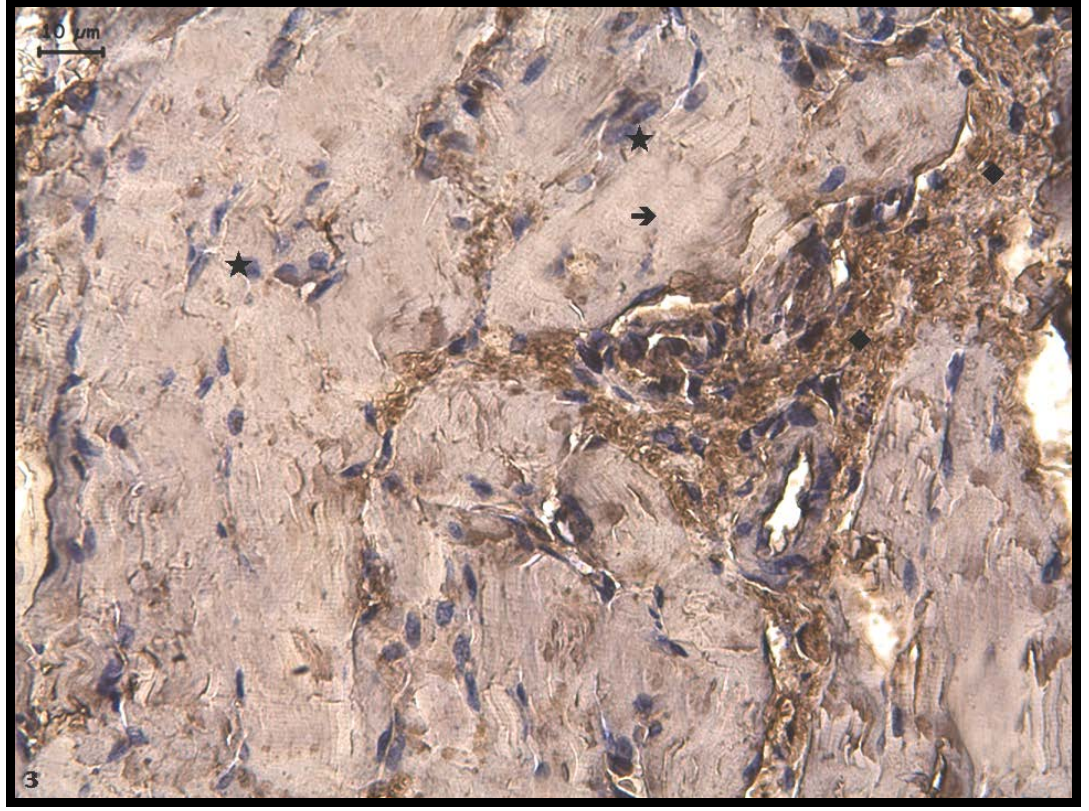
İMMÜNOHİSTOKİMYA FOTOĞRAFLARI



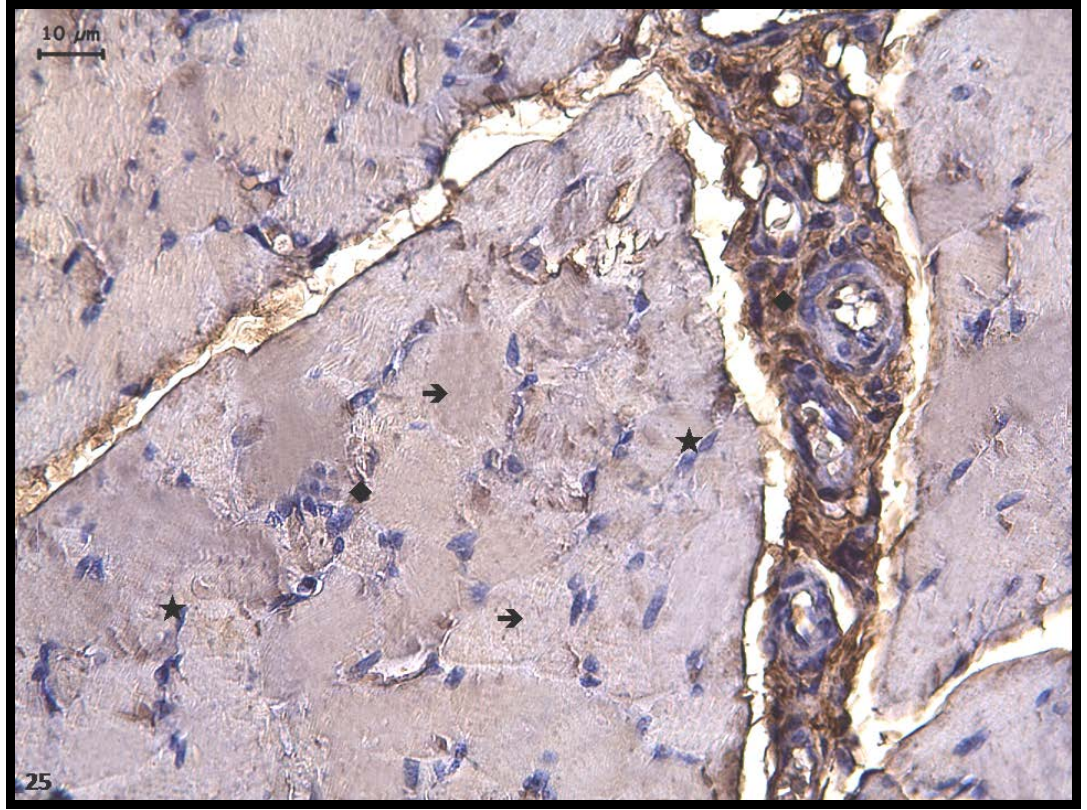
Fotoğraf 1A, B: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



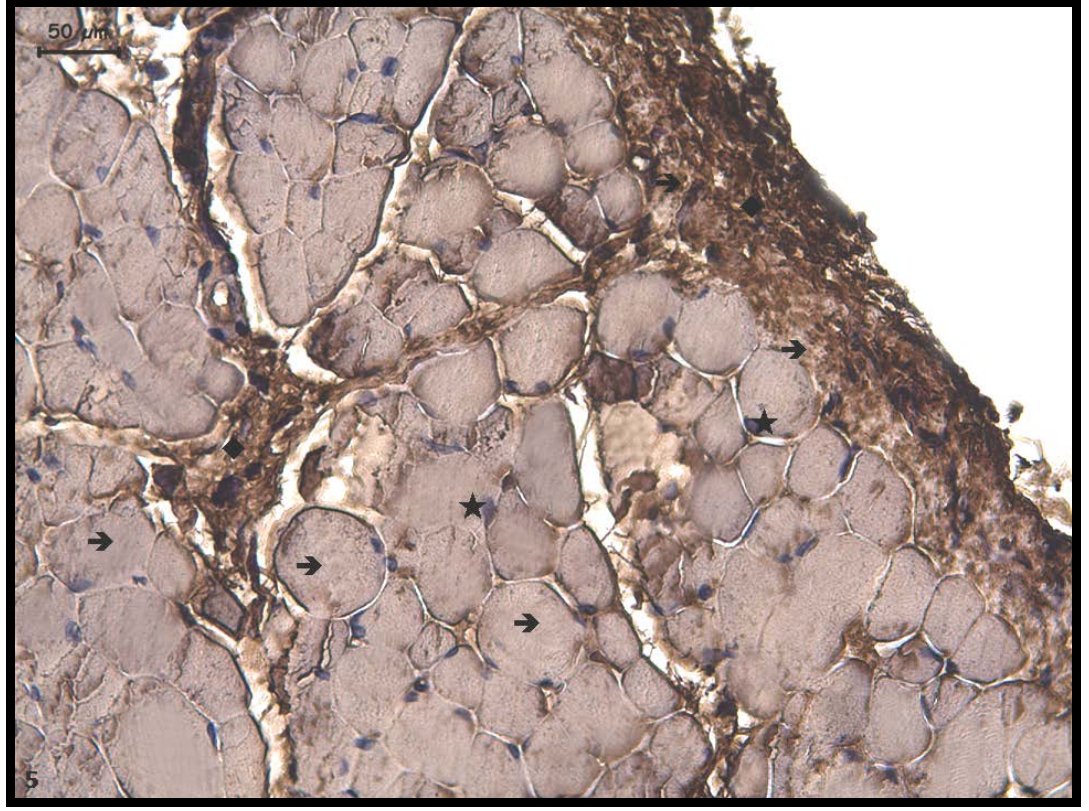
Fotoğraf 2A, B: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX400).



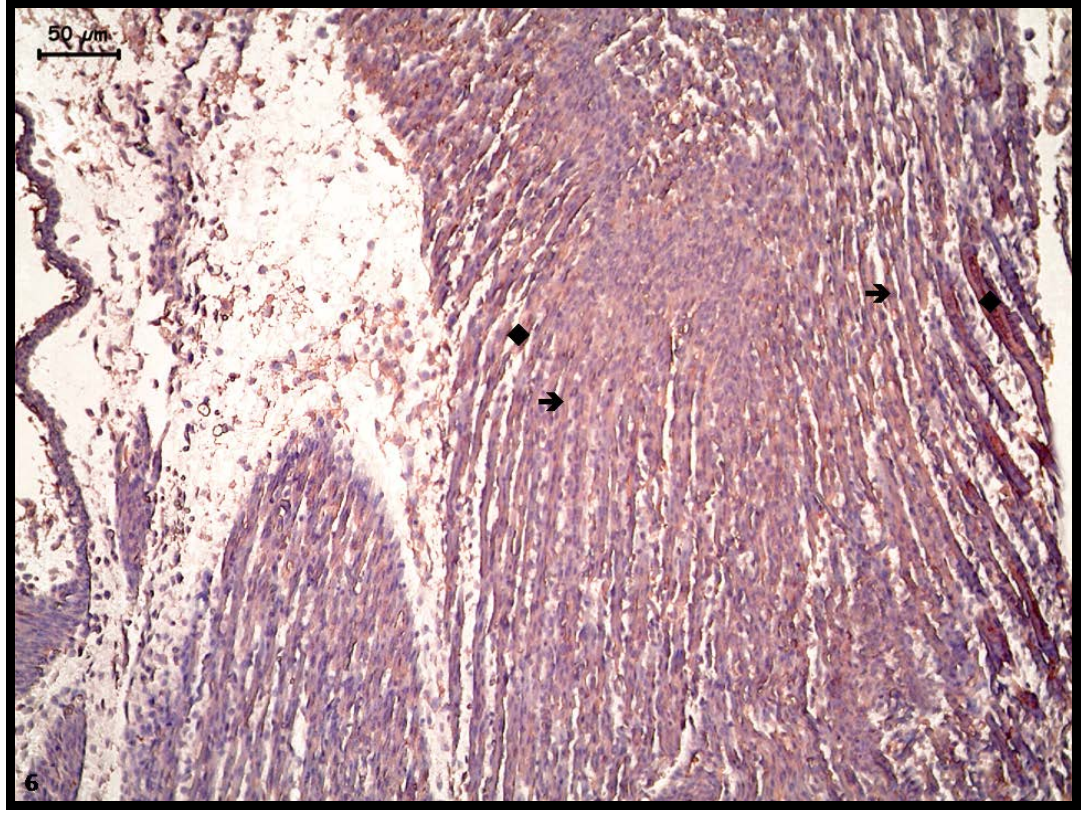
Fotoğraf 3: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



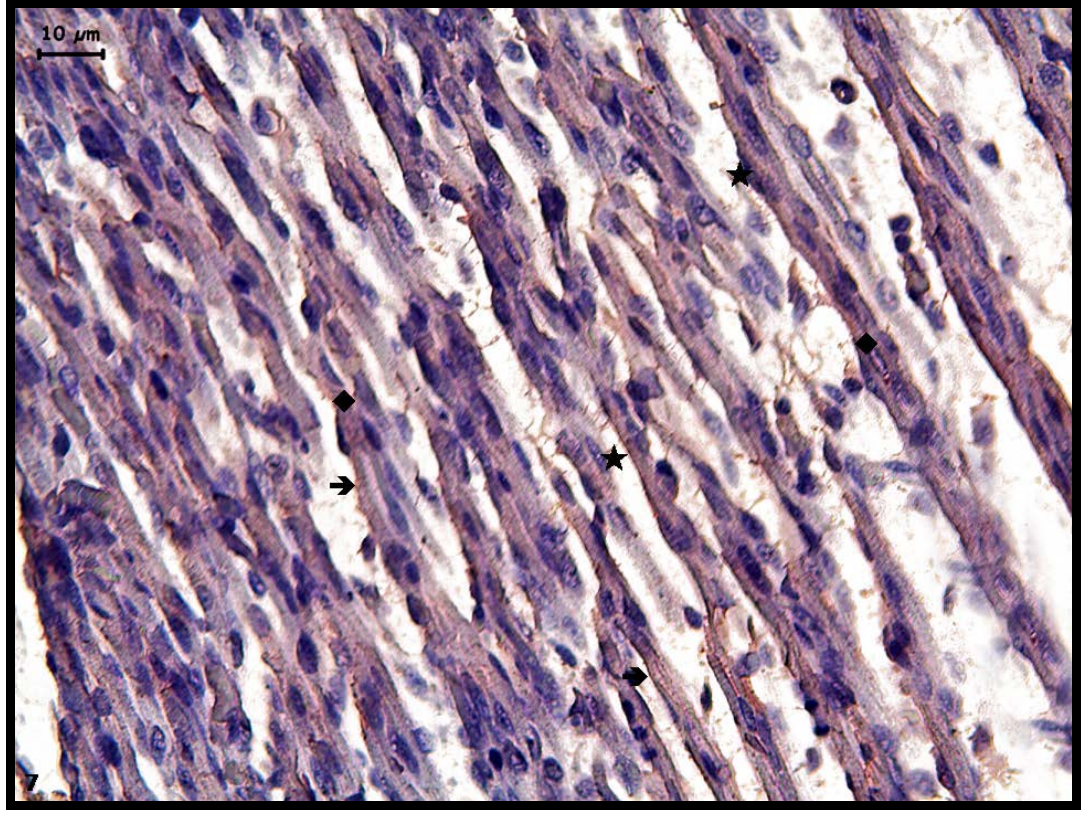
Fotoğraf 4: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



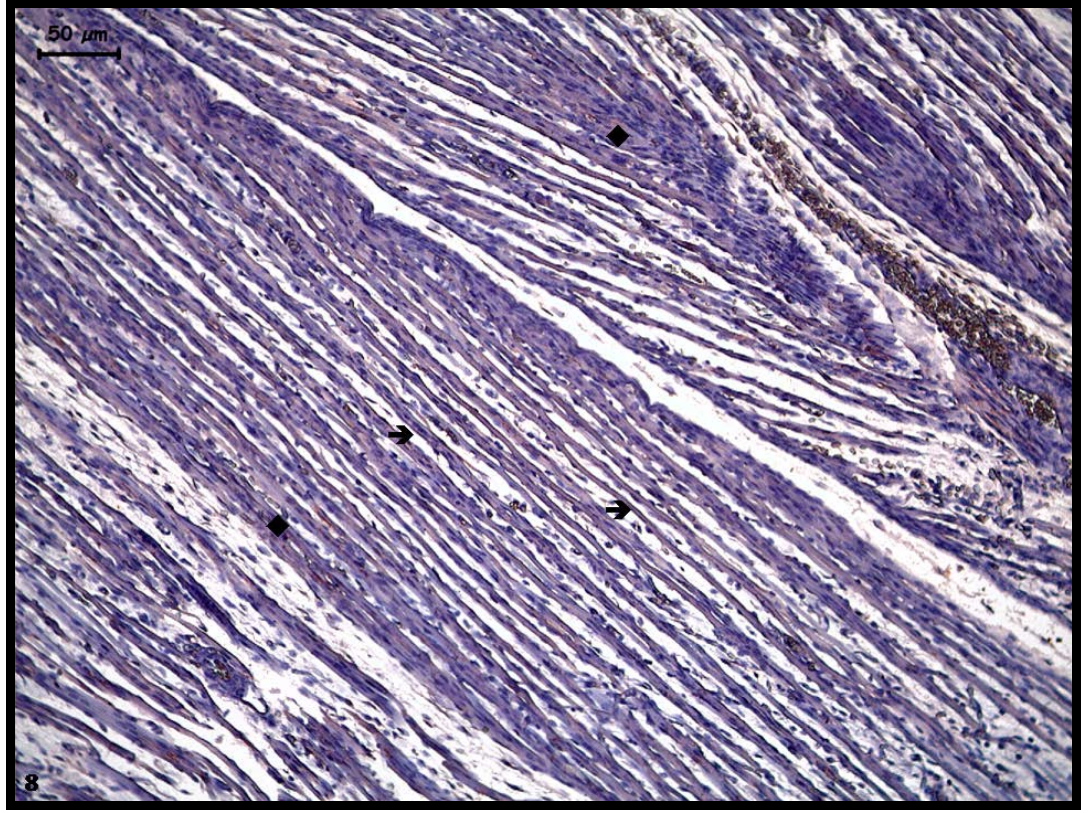
Fotoğraf 5: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



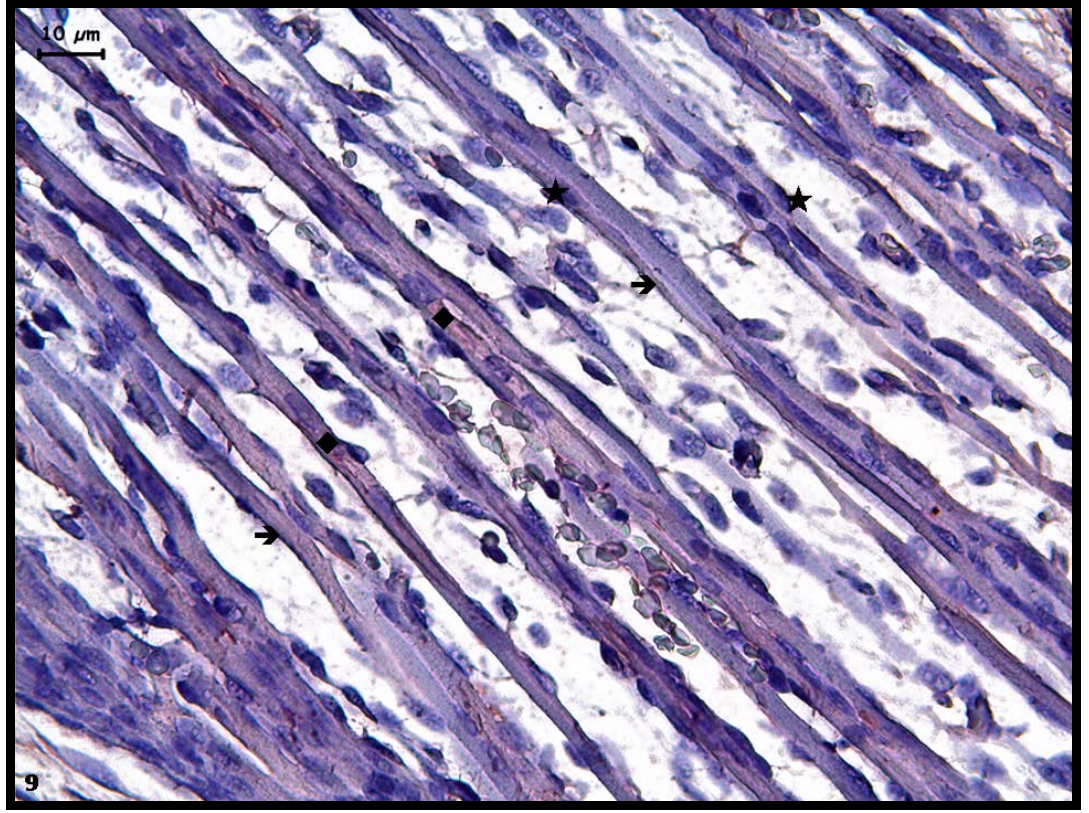
Fotoğraf 6: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



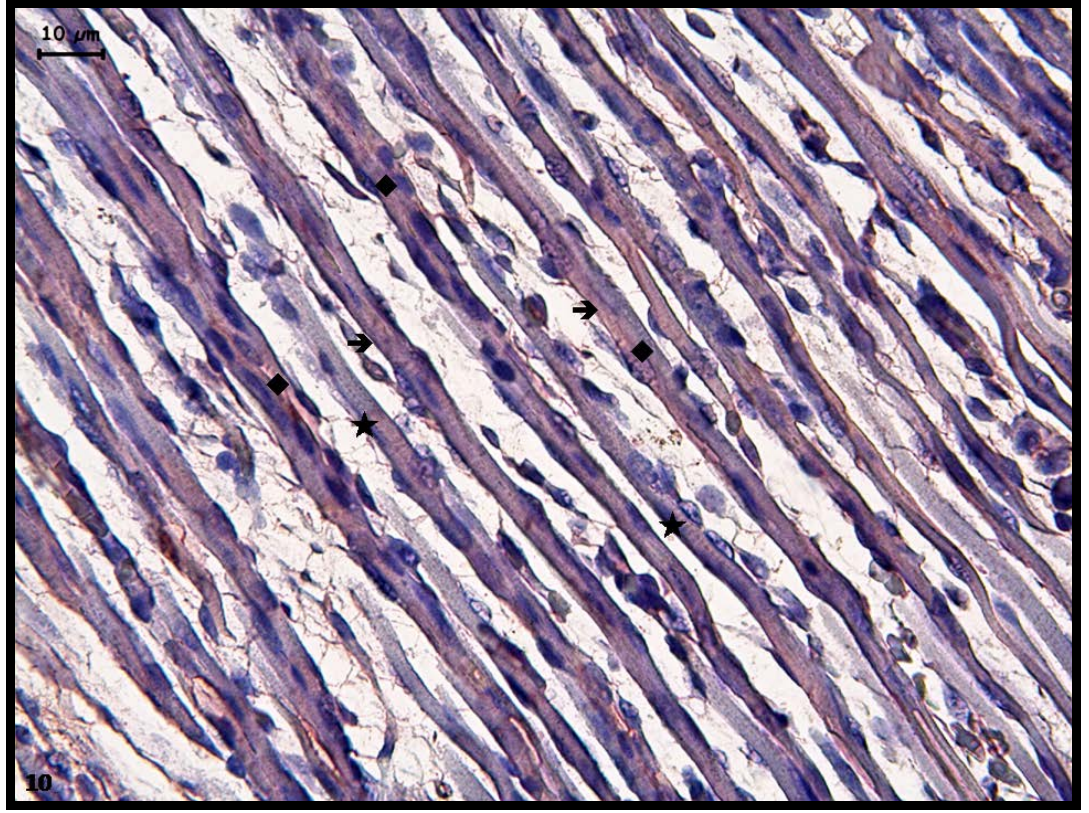
Fotoğraf 7: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



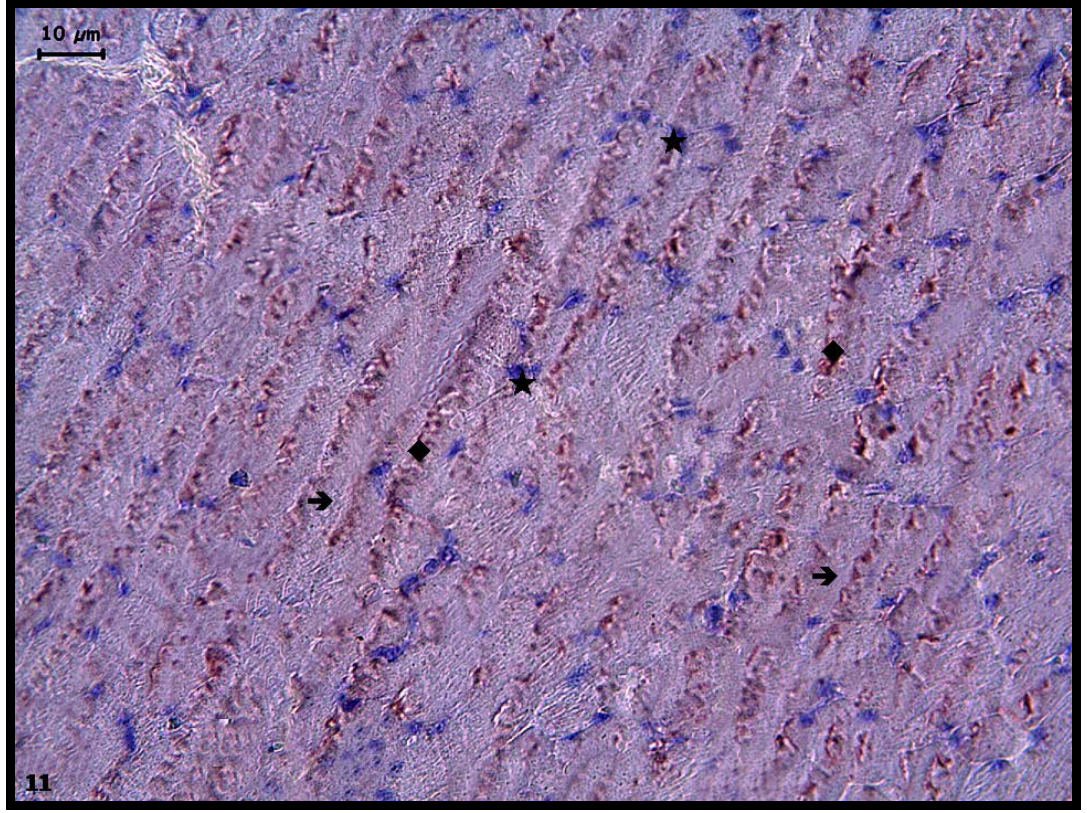
Fotoğraf 8: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



Fotoğraf 9: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



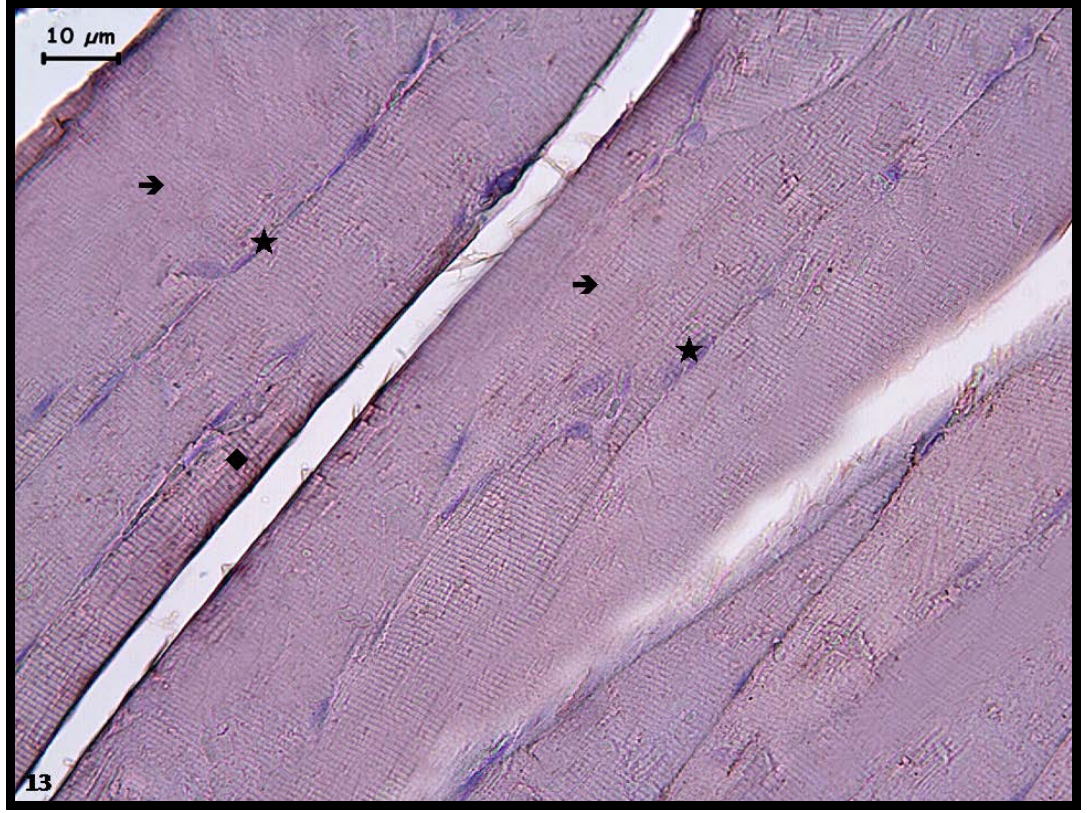
Fotoğraf 10: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



Fotoğraf 11: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



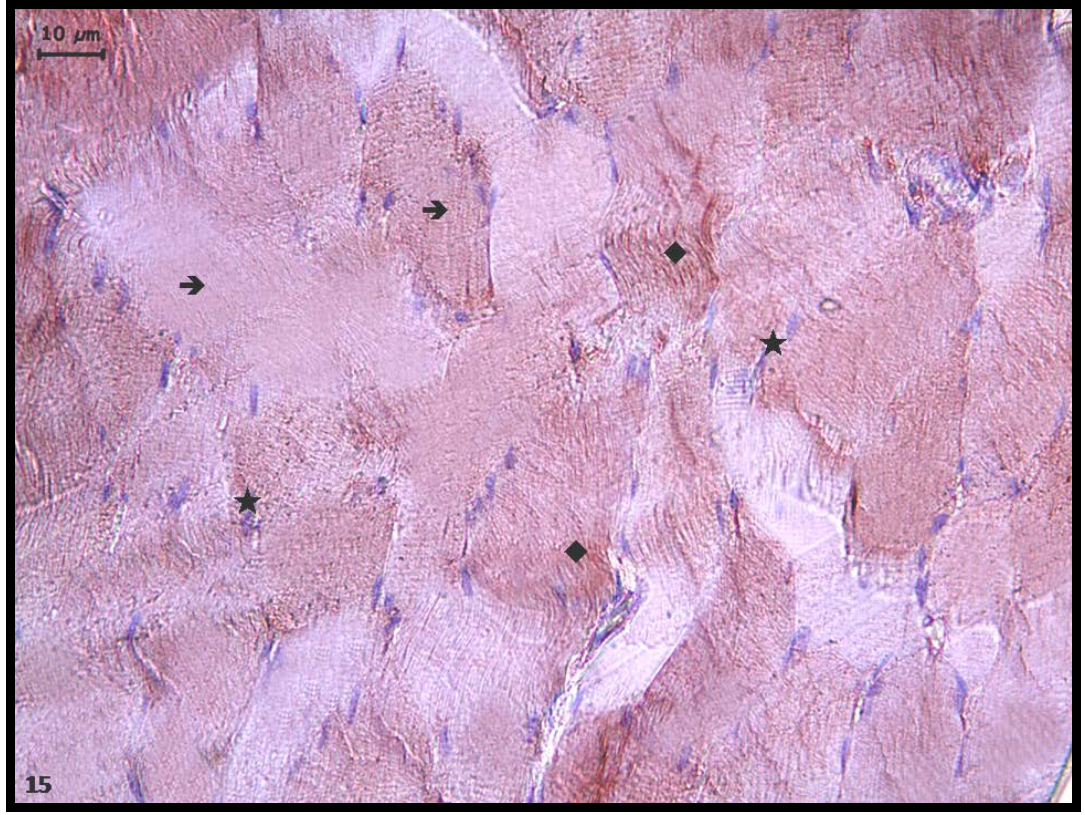
Fotoğraf 12A, B: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX100, BX100).



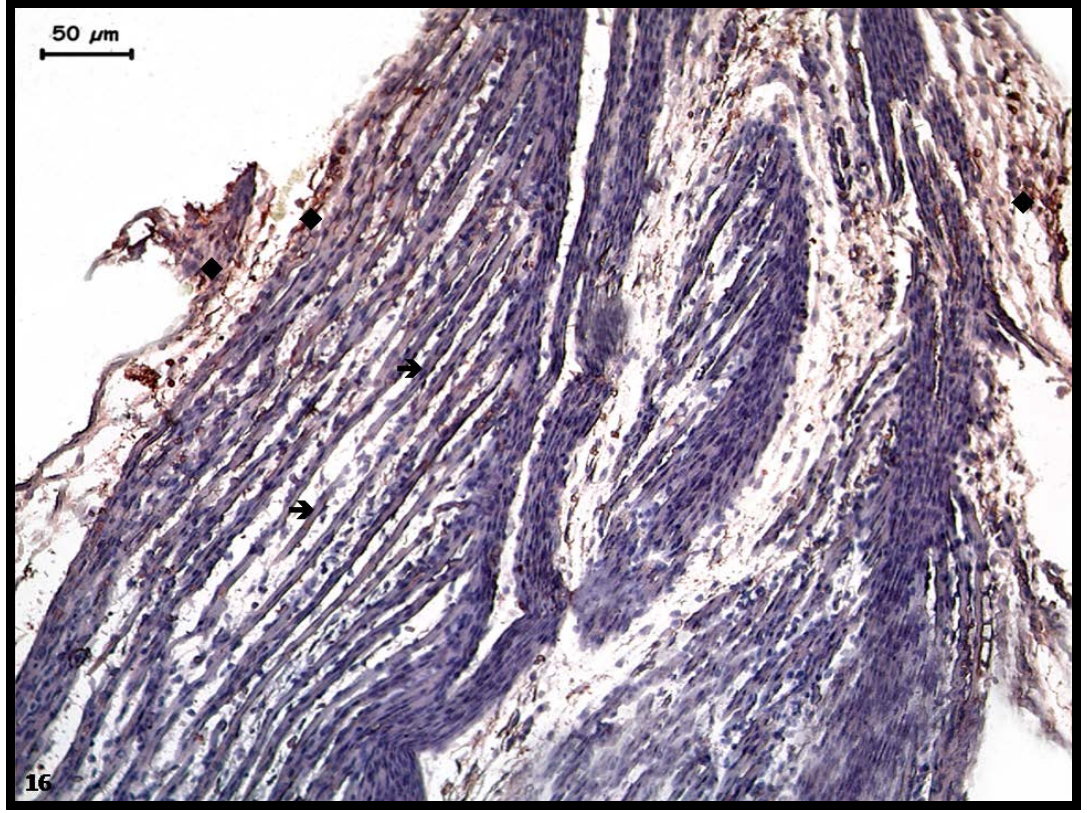
Fotoğraf 13: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



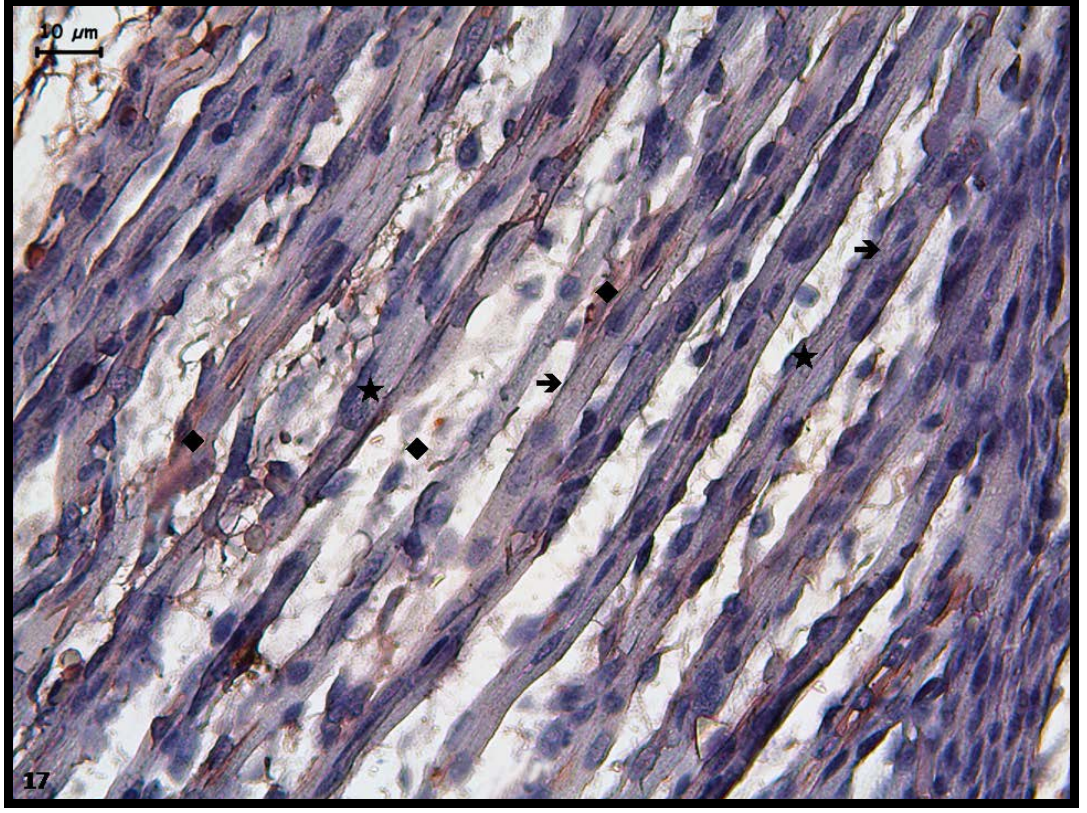
Fotoğraf 14: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



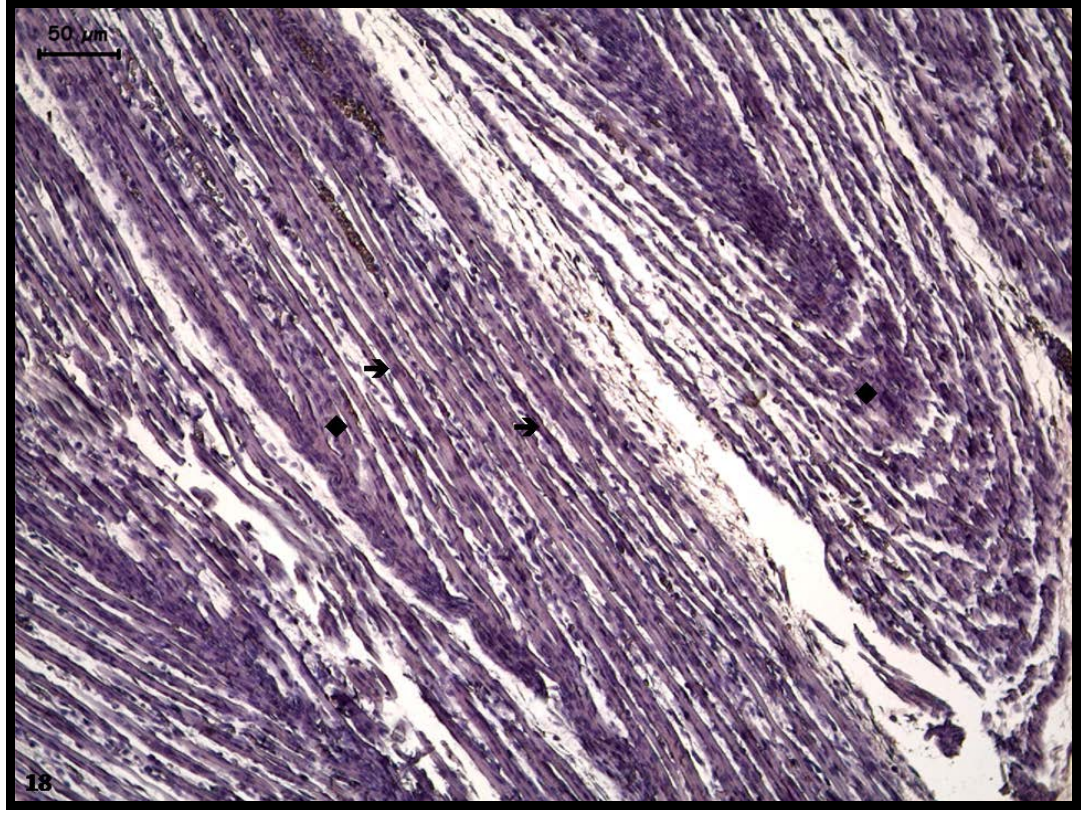
Fotoğraf 15: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



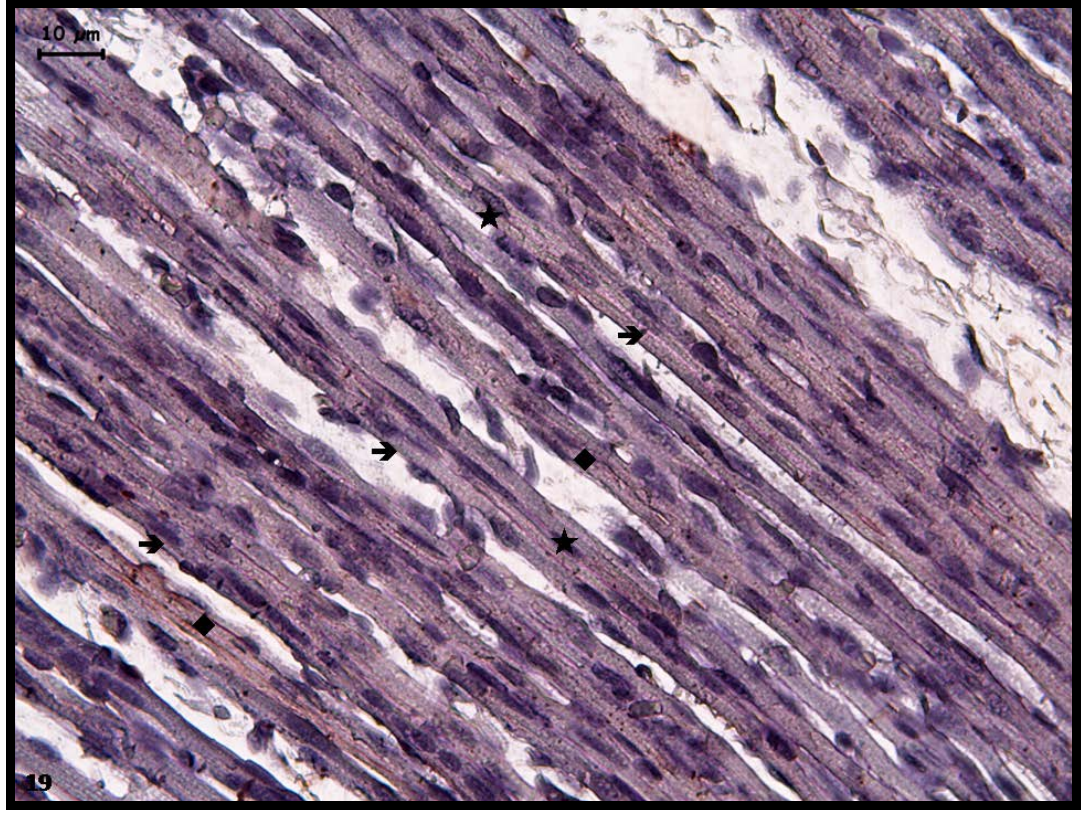
Fotoğraf 16: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



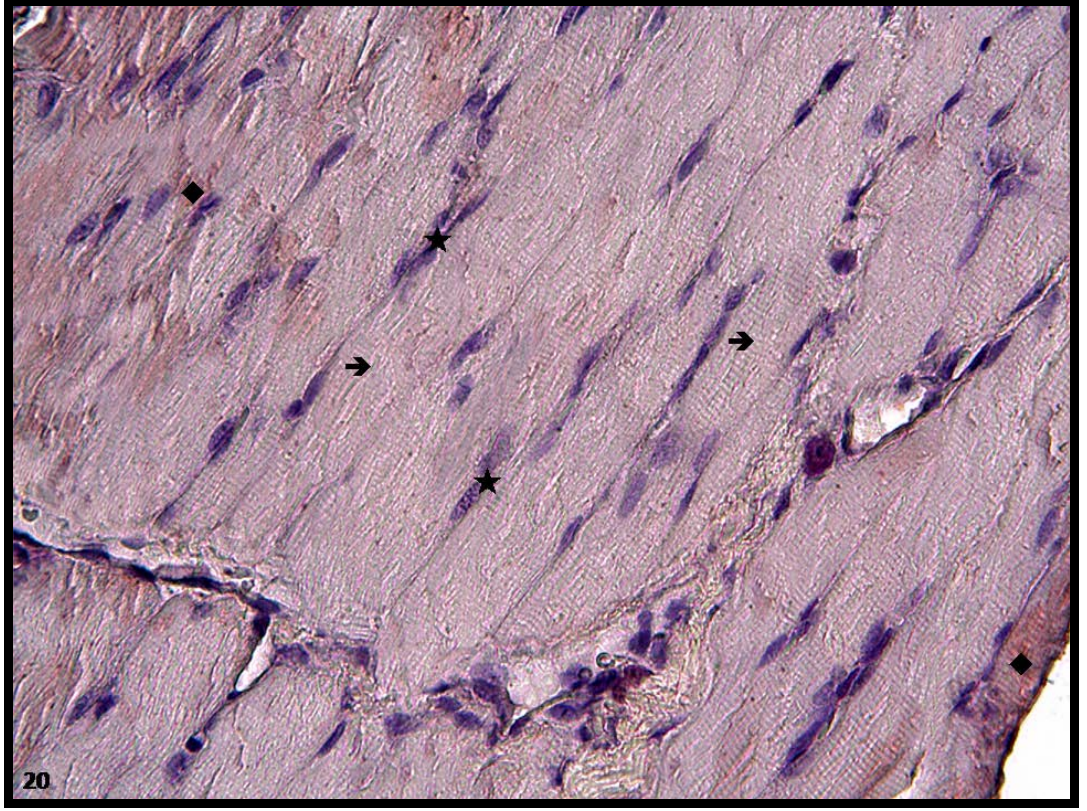
Fotoğraf 17: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



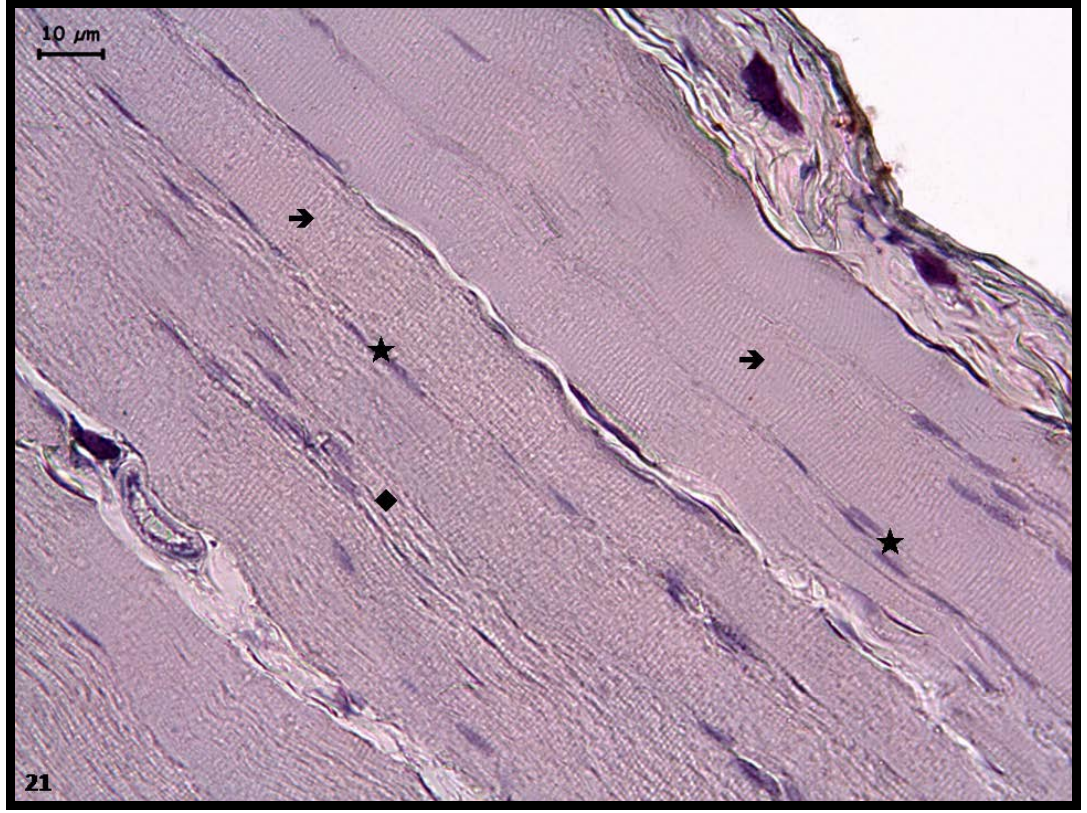
Fotoğraf 18: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



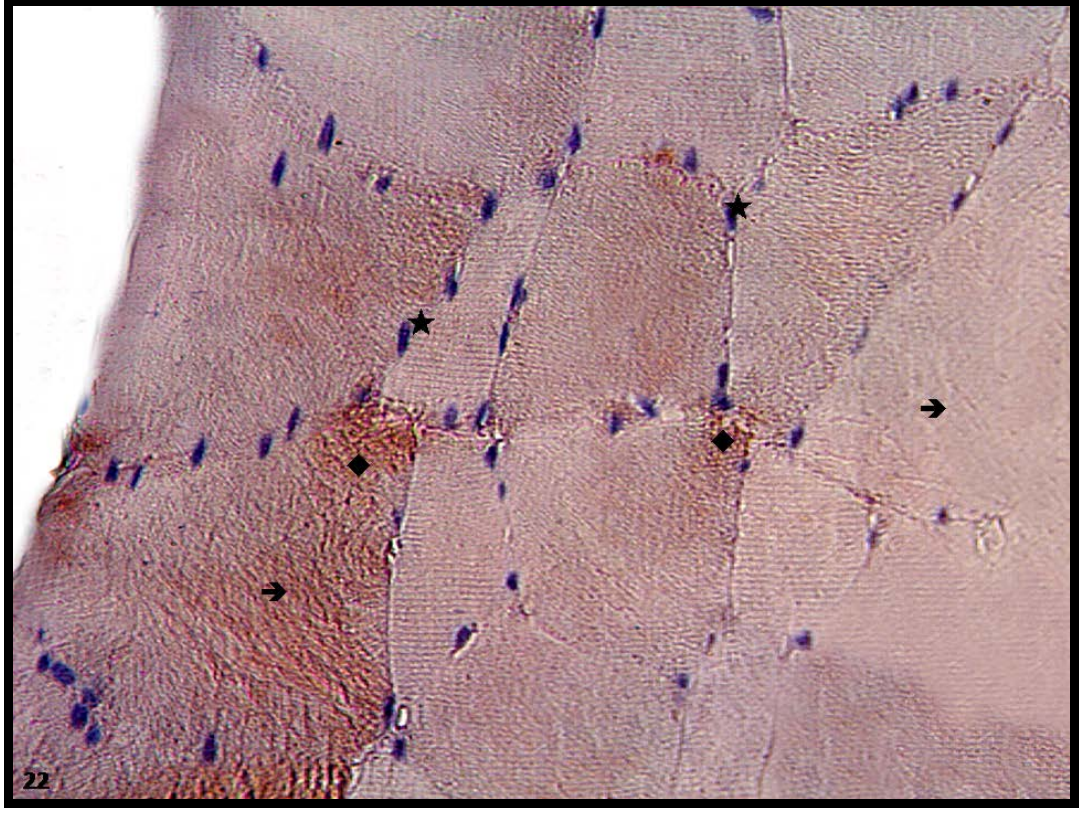
Fotoğraf 19: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



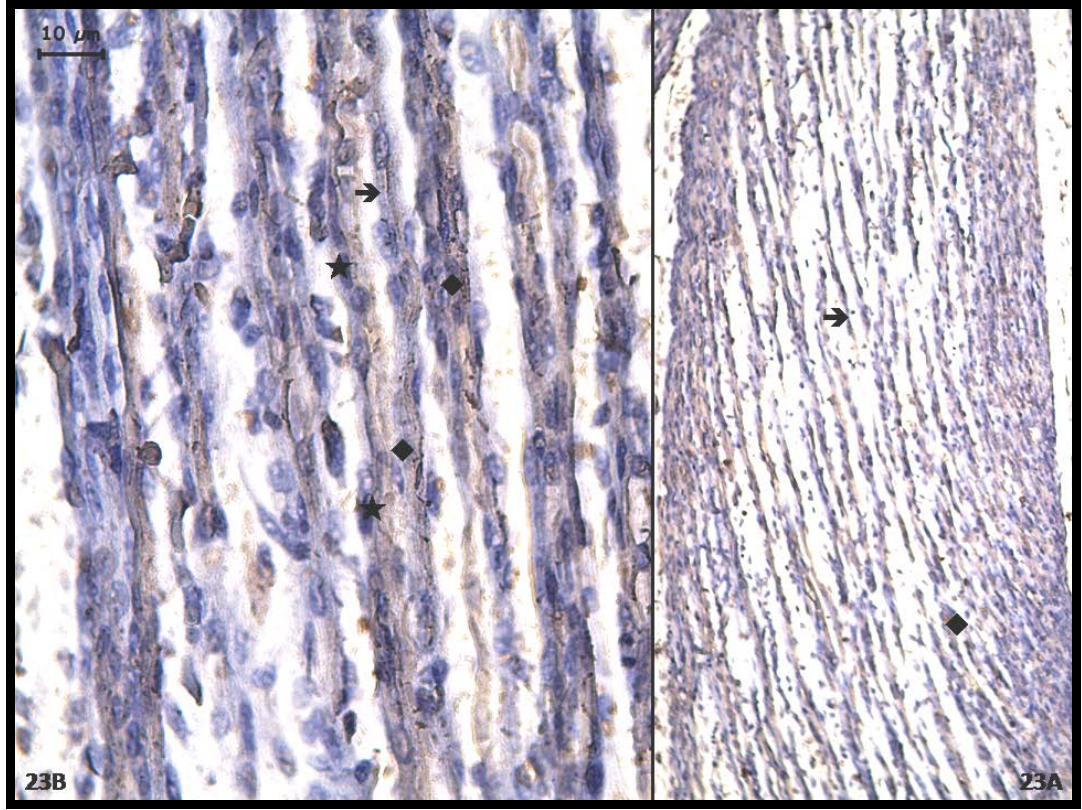
Fotoğraf 20: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



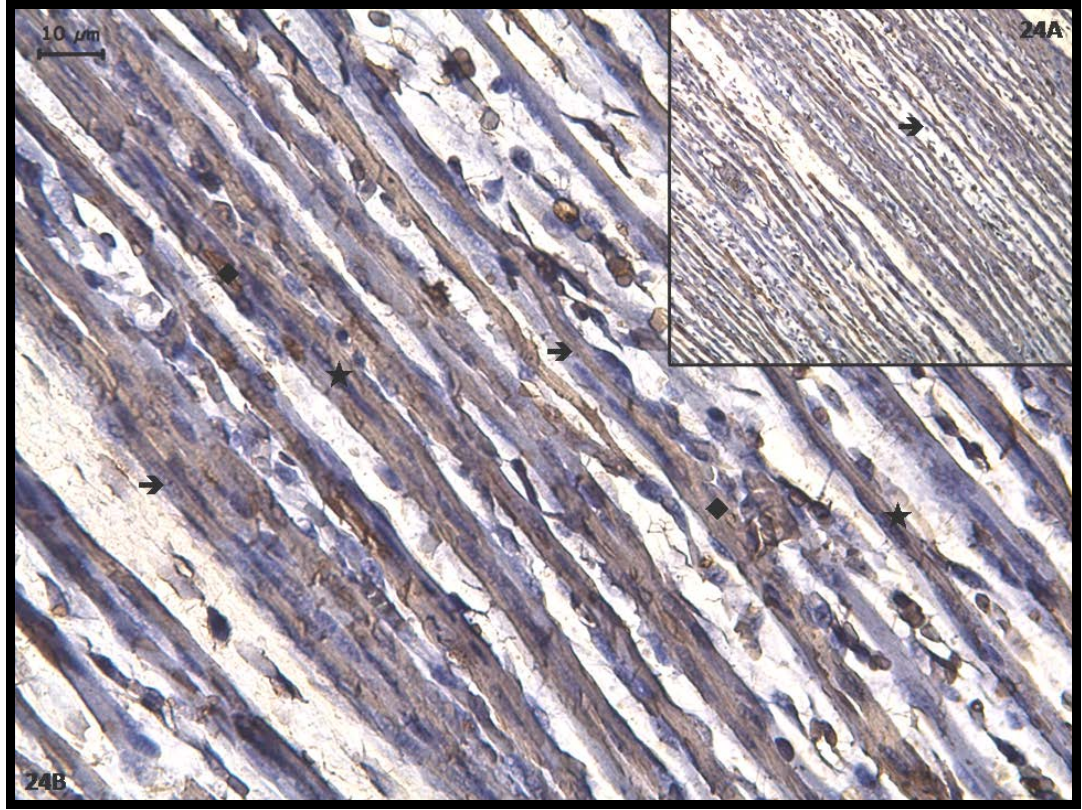
Fotoğraf 21: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



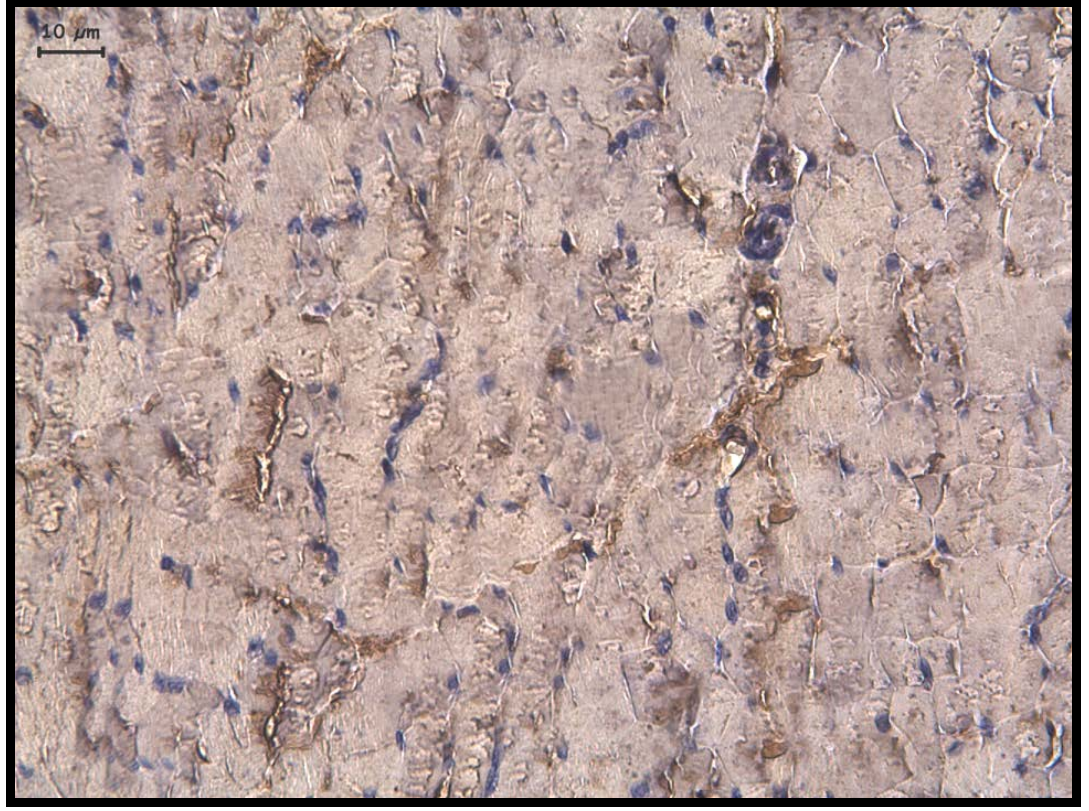
Fotoğraf 22: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



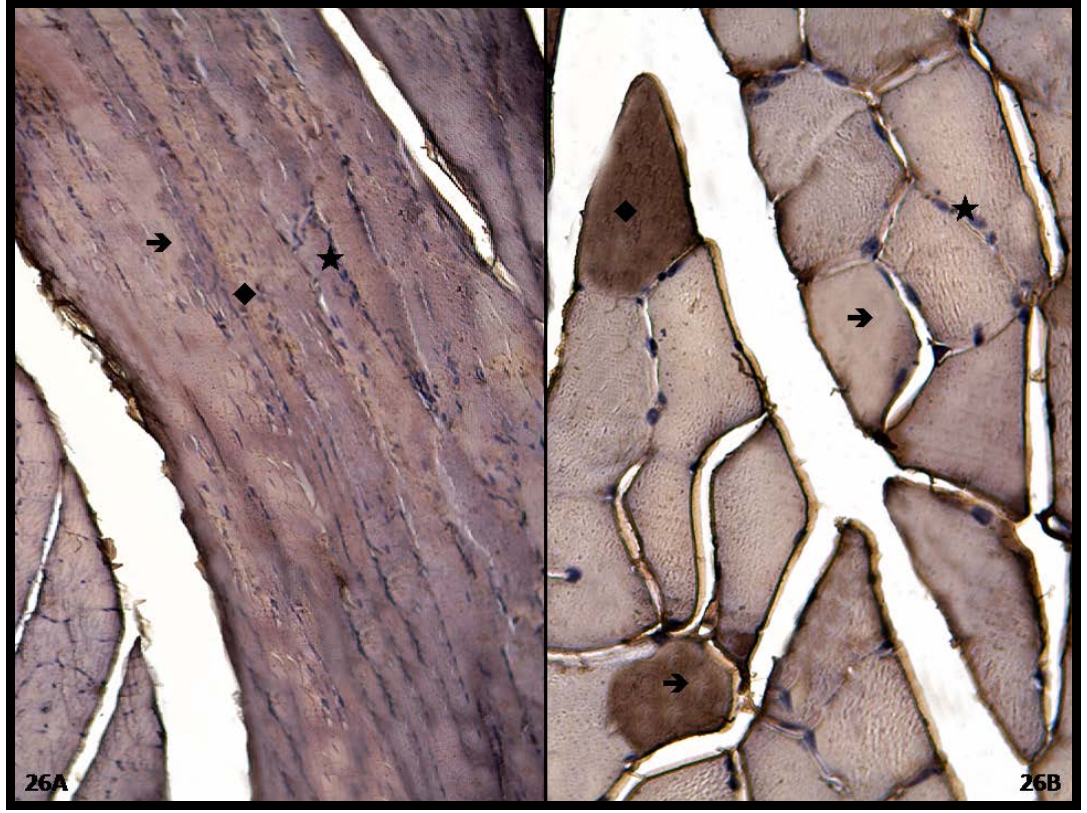
Fotoğraf 23A, B: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX100).



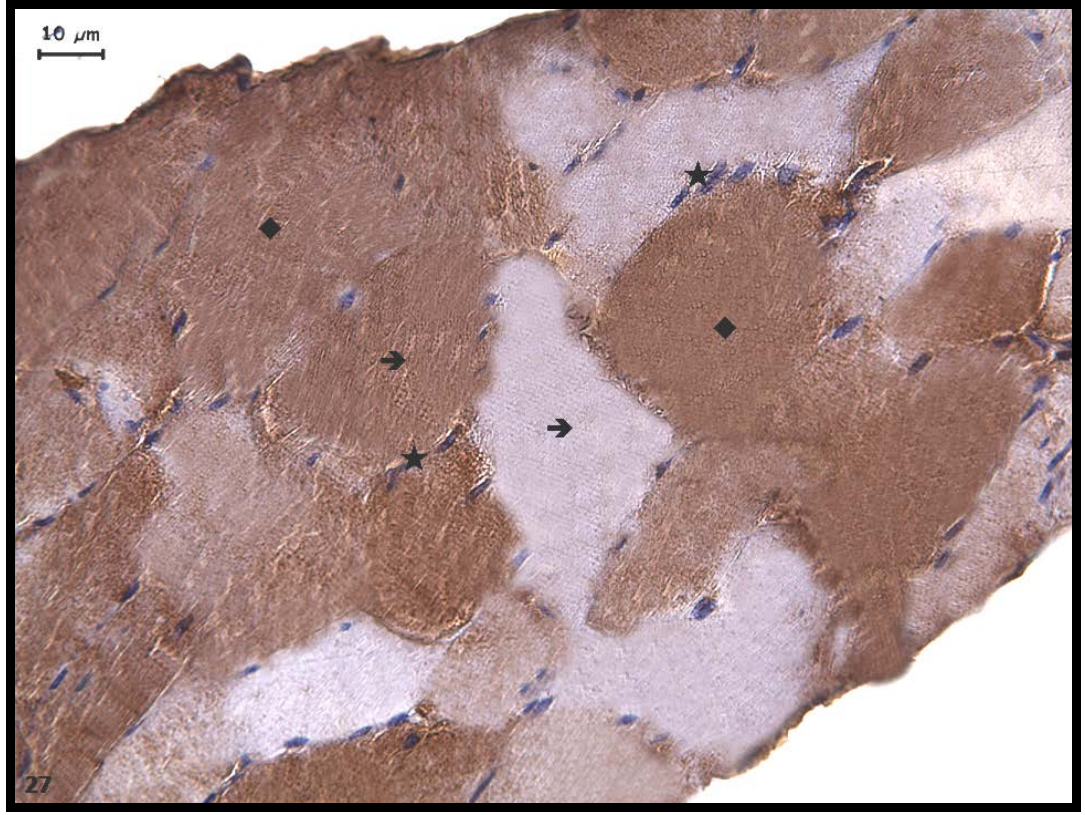
Fotoğraf 24A, B : Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. →: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX100).



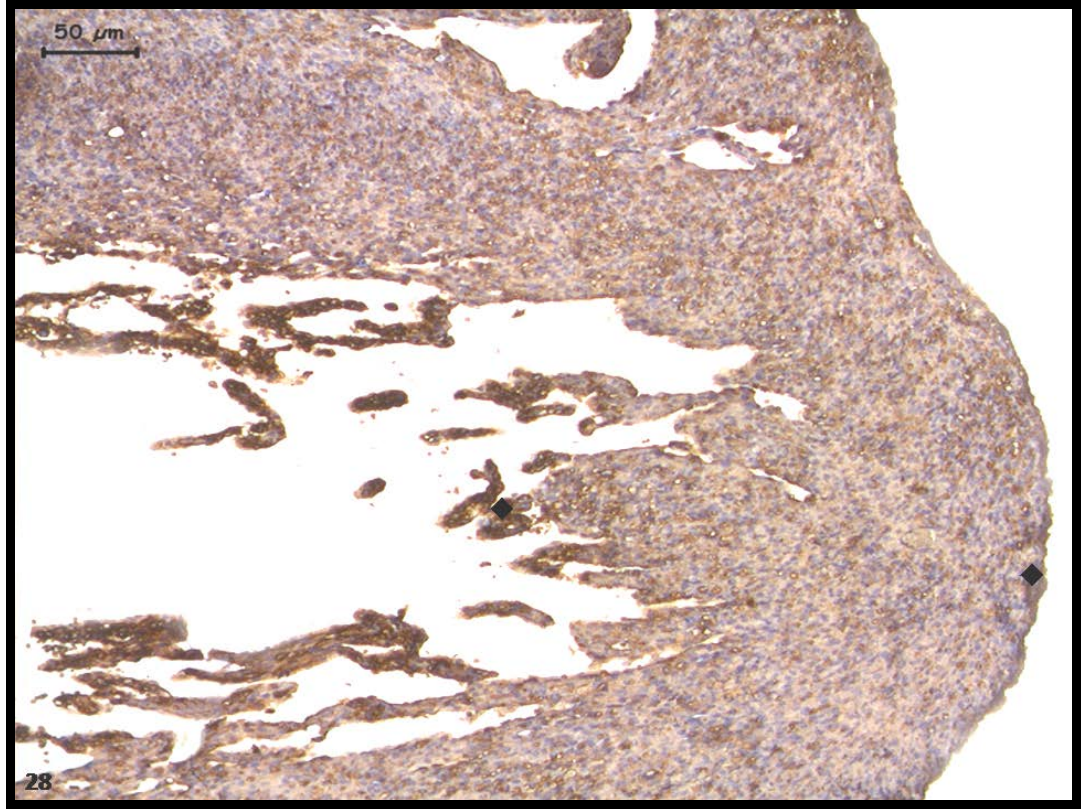
Fotoğraf 25: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



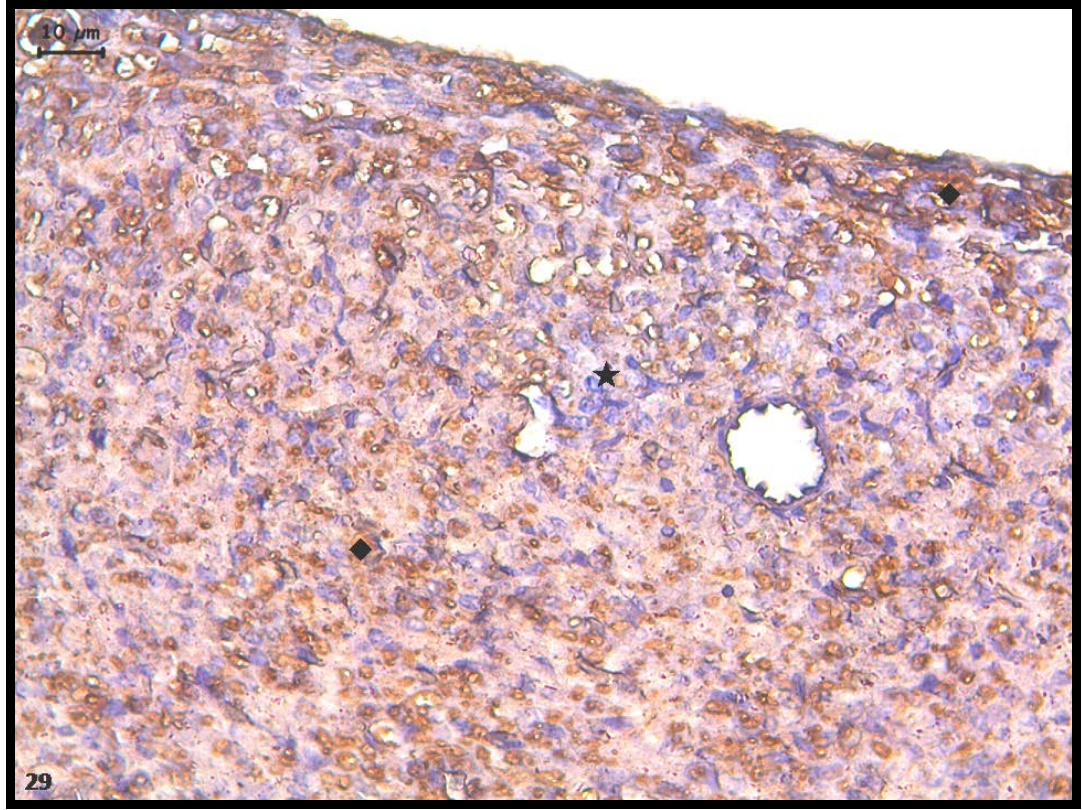
Fotoğraf 26A, B: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX400).



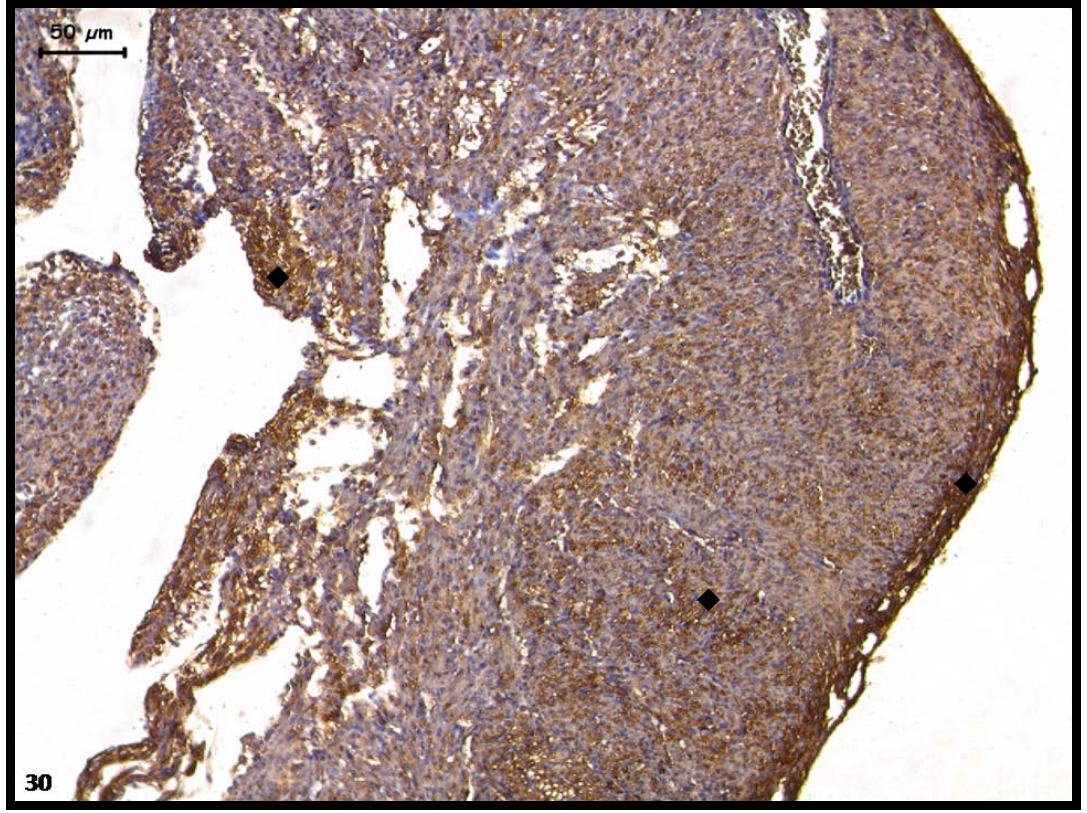
Fotoğraf 27: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ➔: Kas lifi, ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



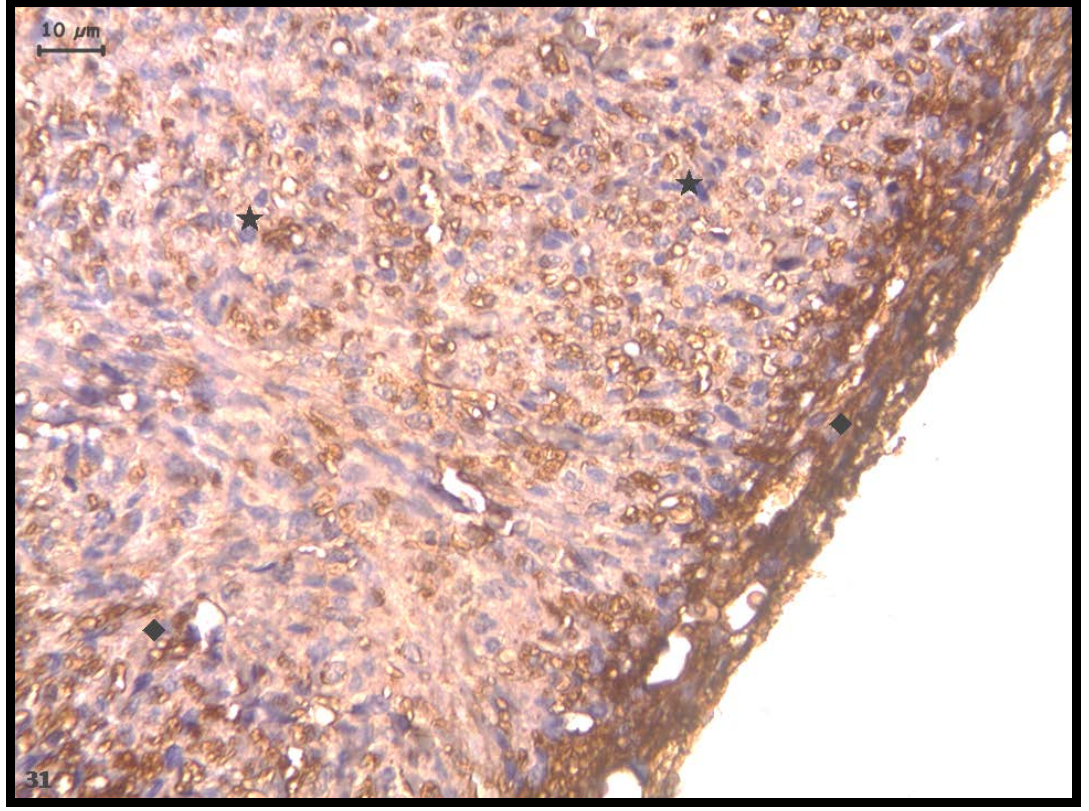
Fotoğraf 28: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



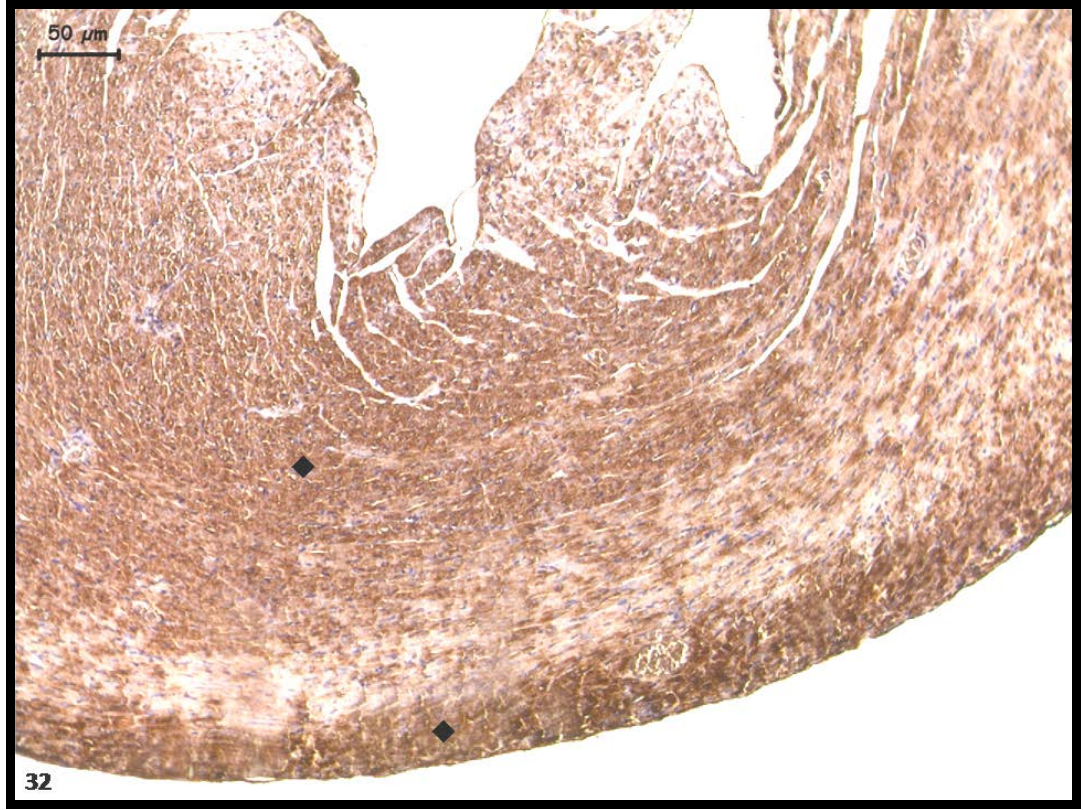
Fotoğraf 29: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



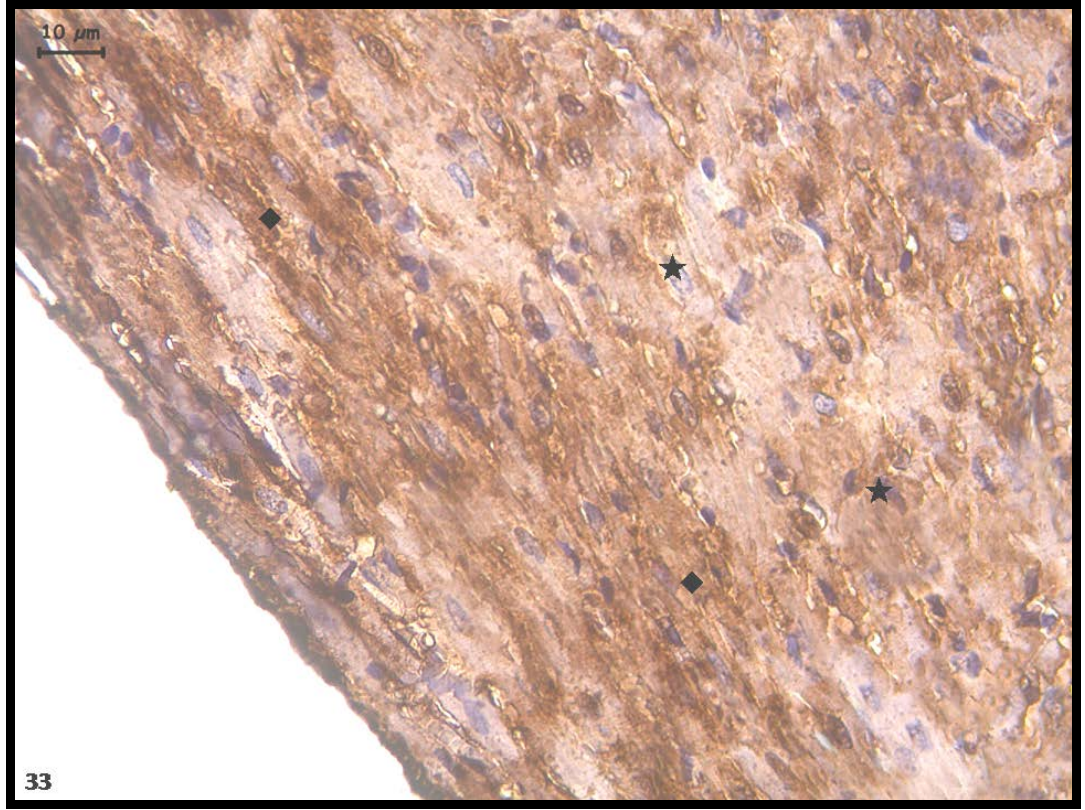
Fotoğraf 30: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



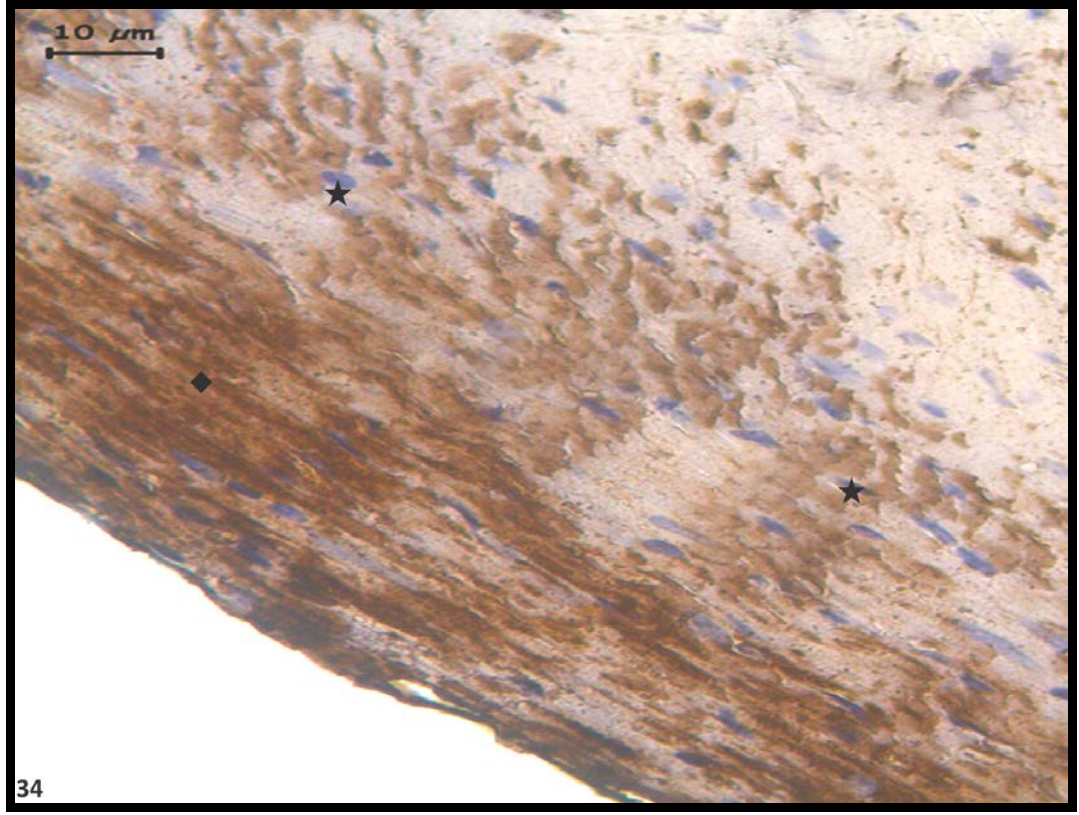
Fotoğraf 31: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



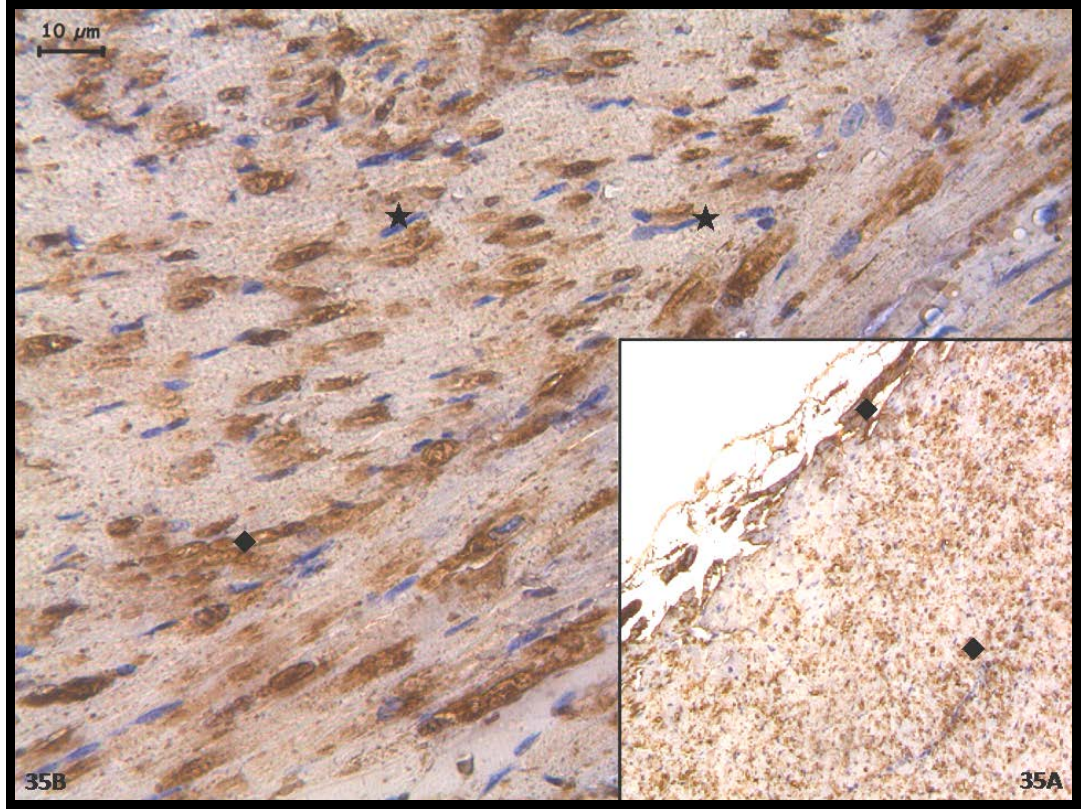
Fotoğraf 32: : 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



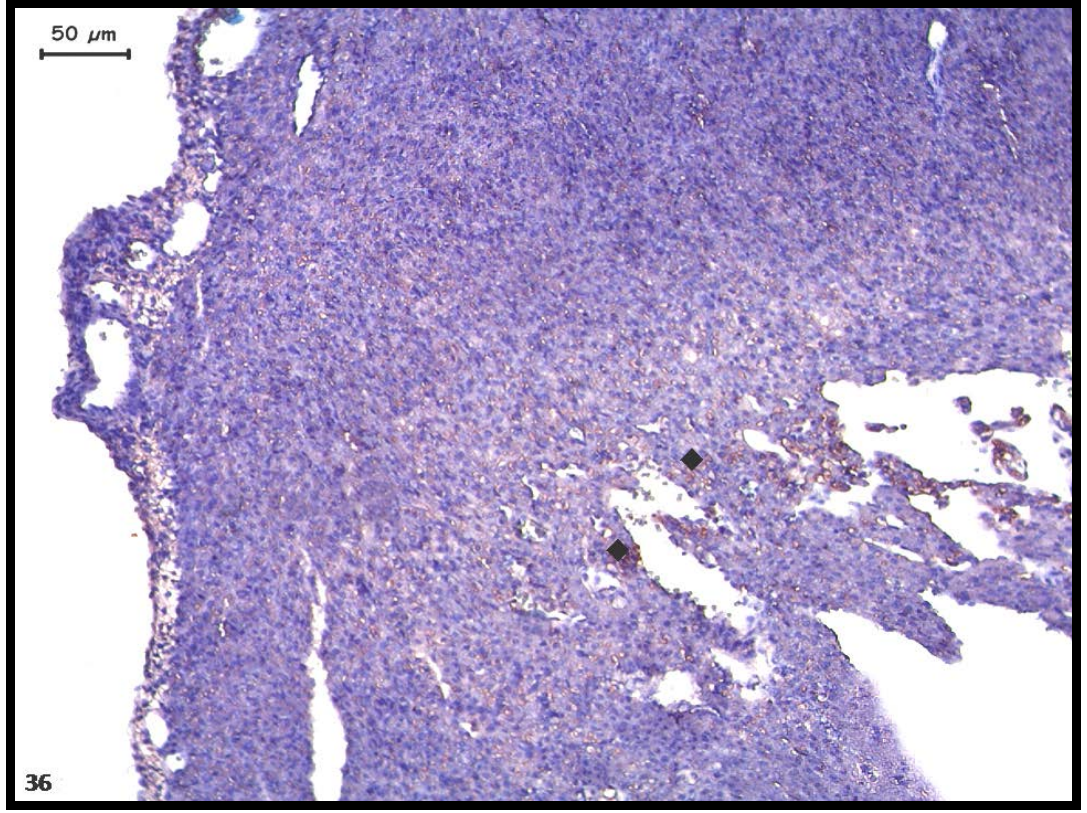
Fotoğraf 33: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



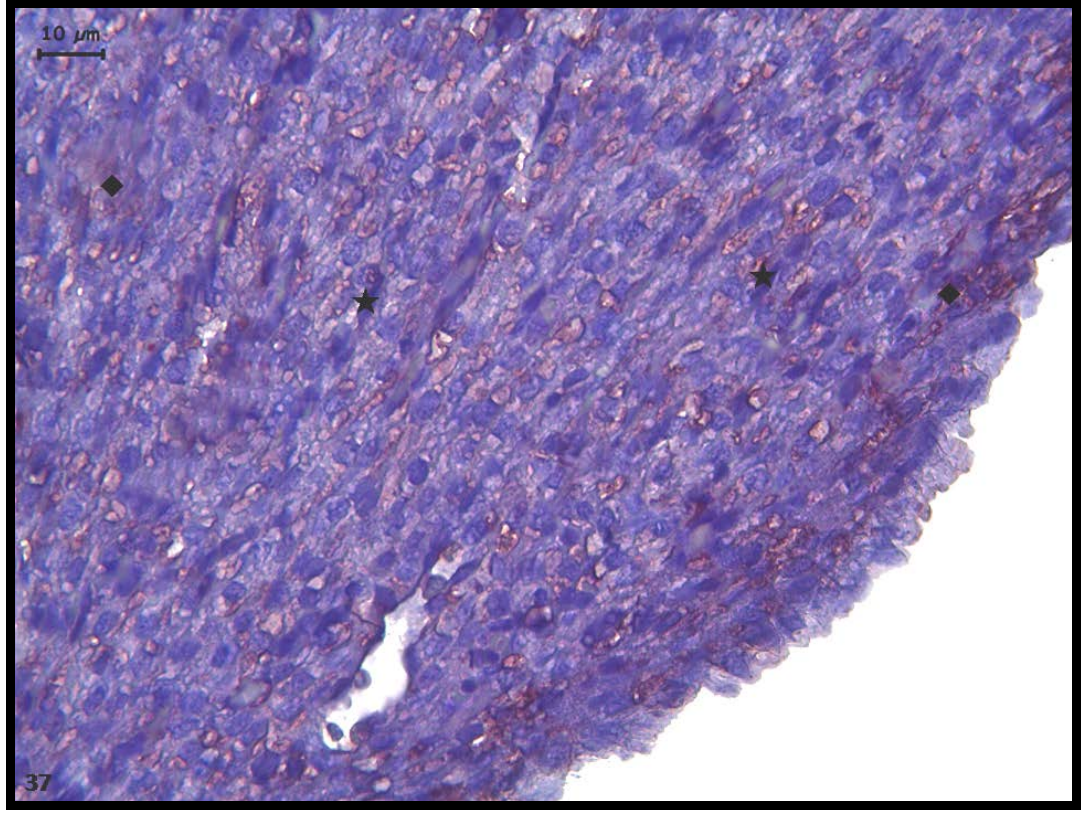
Fotoğraf 34: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



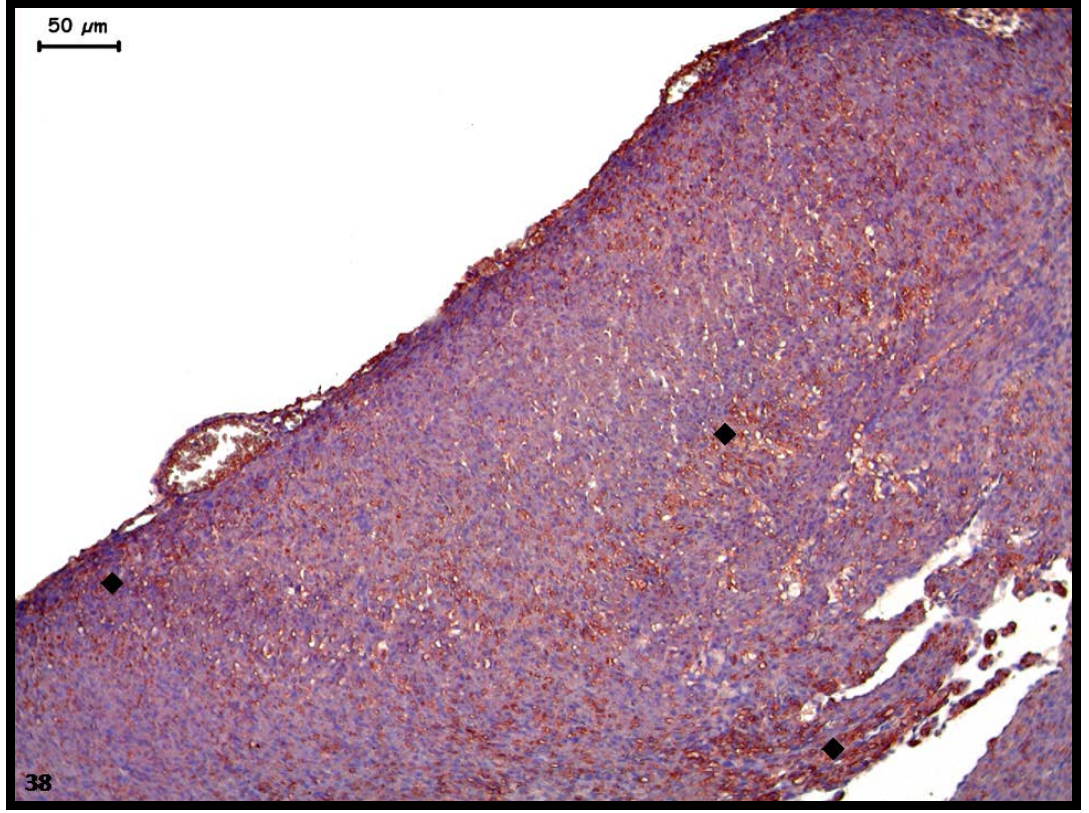
Fotoğraf 35A, B: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-Hematoksilen AX400, BX100).



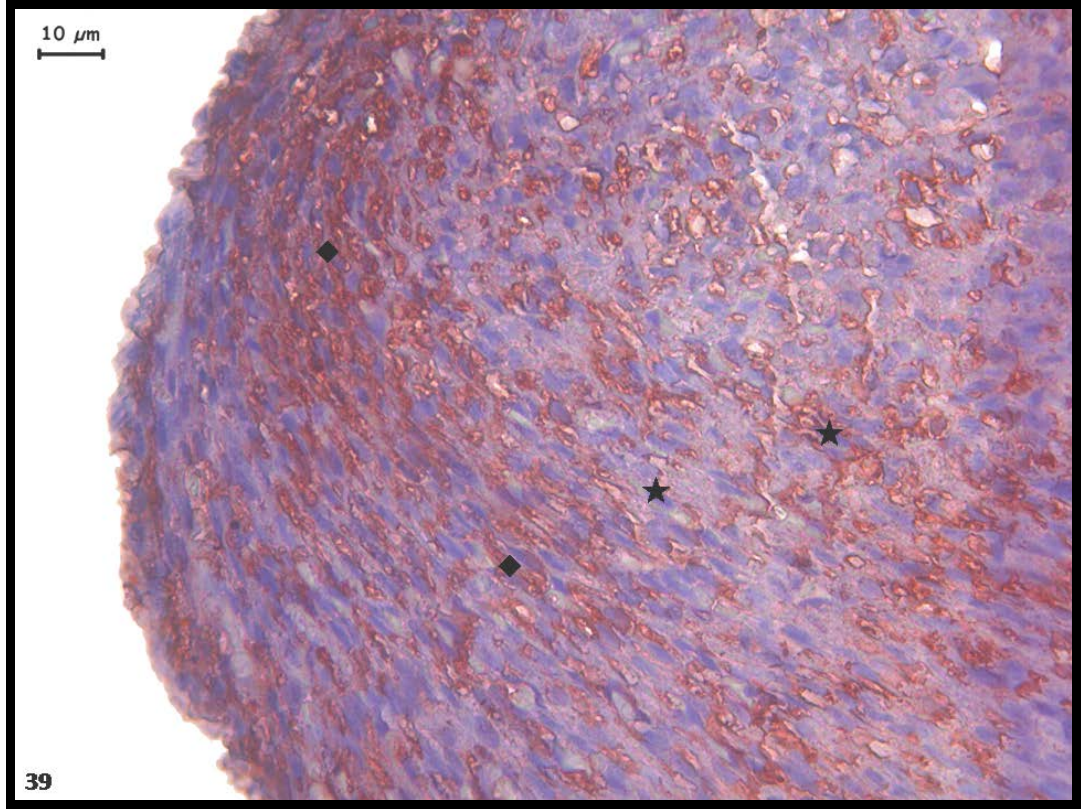
Fotoğraf 36: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



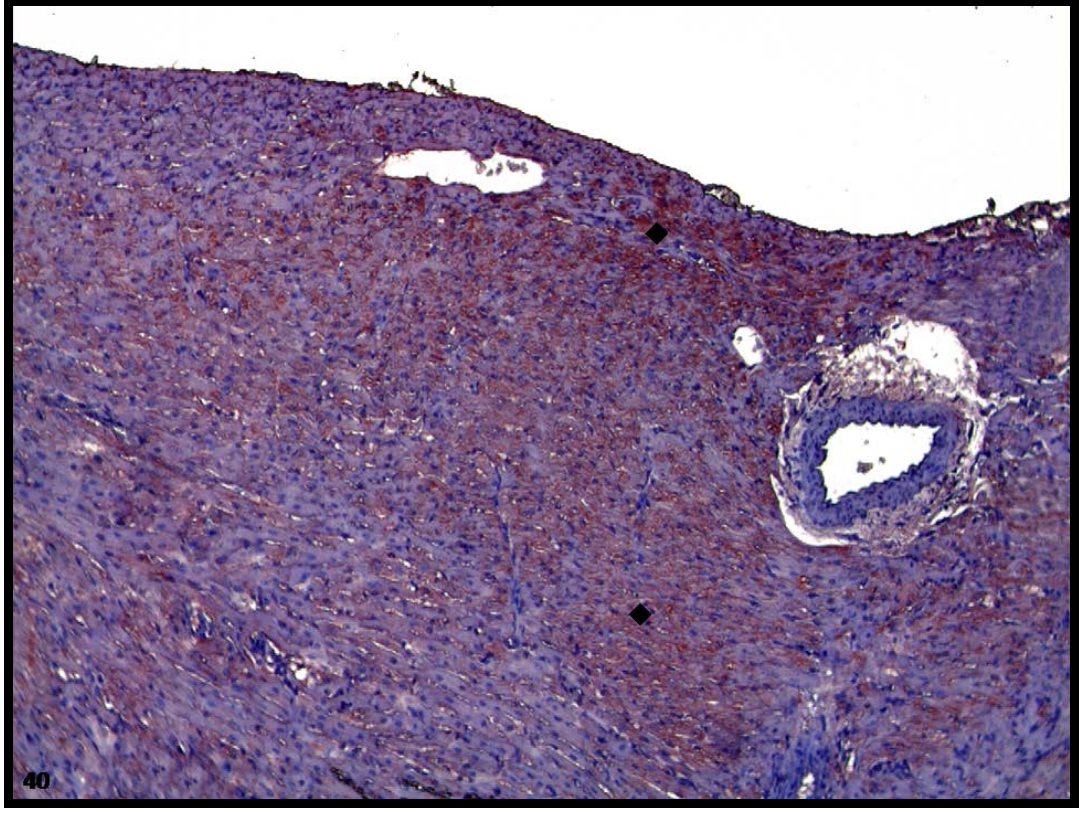
Fotoğraf 37: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



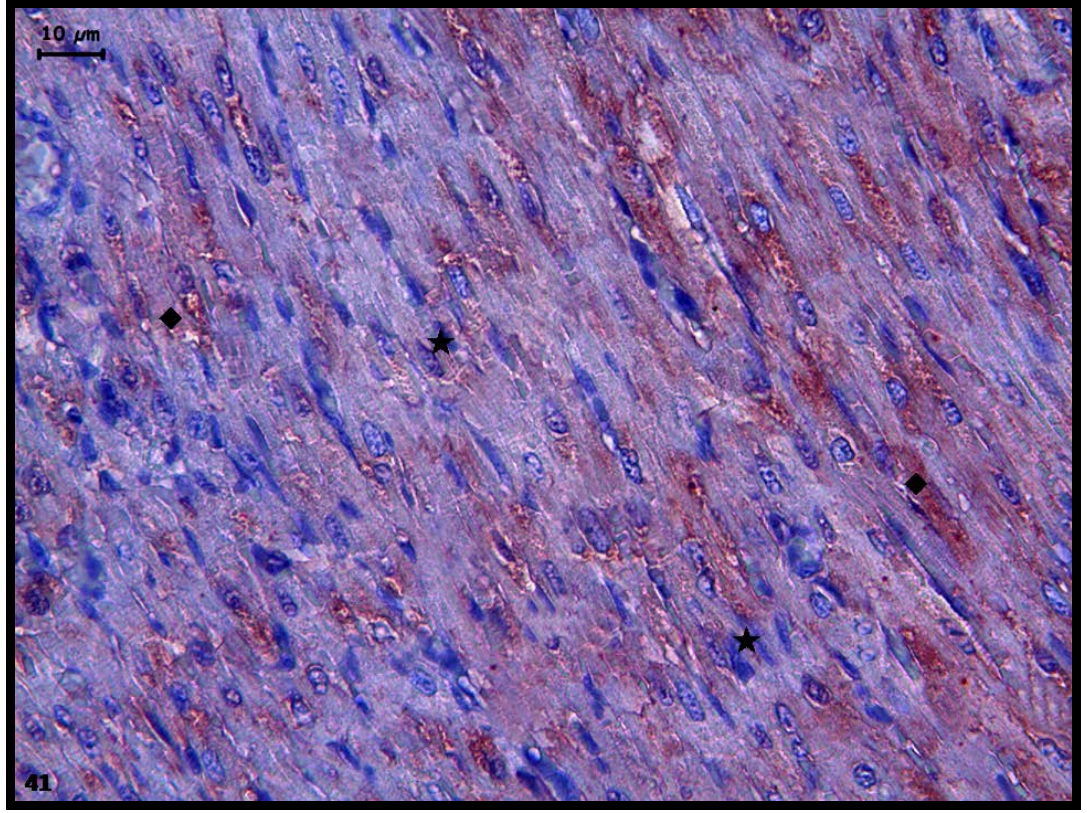
Fotoğraf 38: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



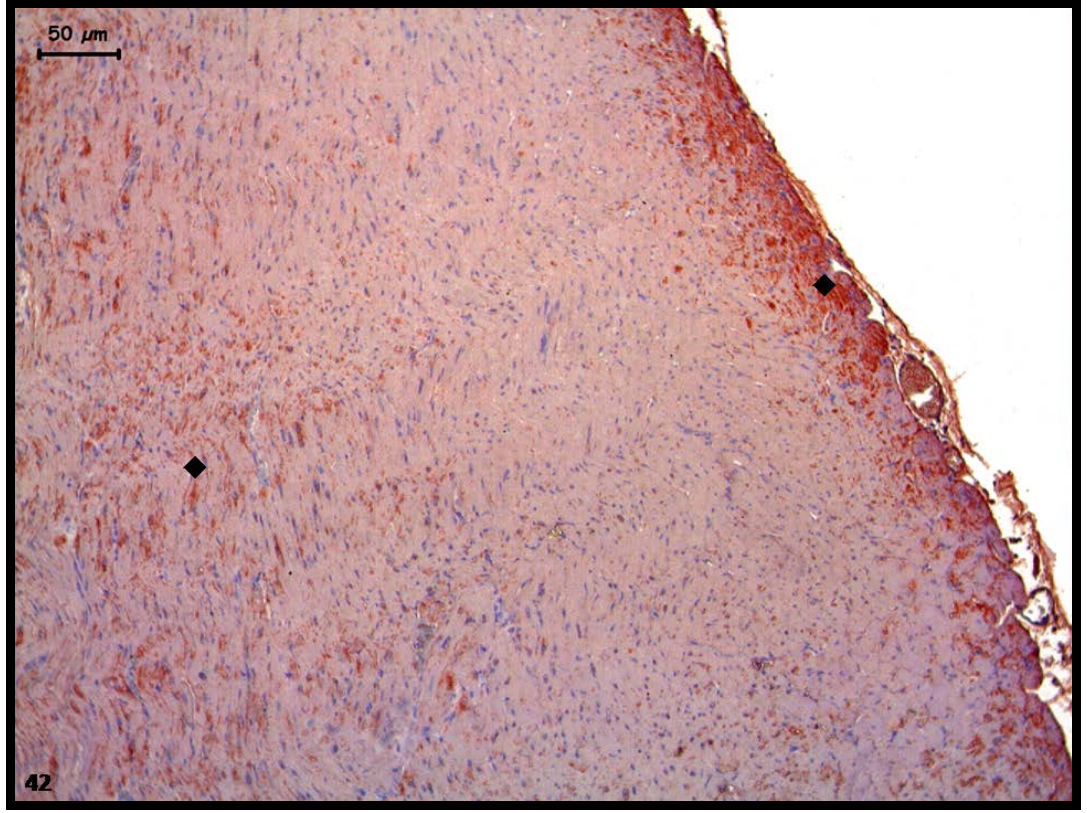
Fotoğraf 39: : Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



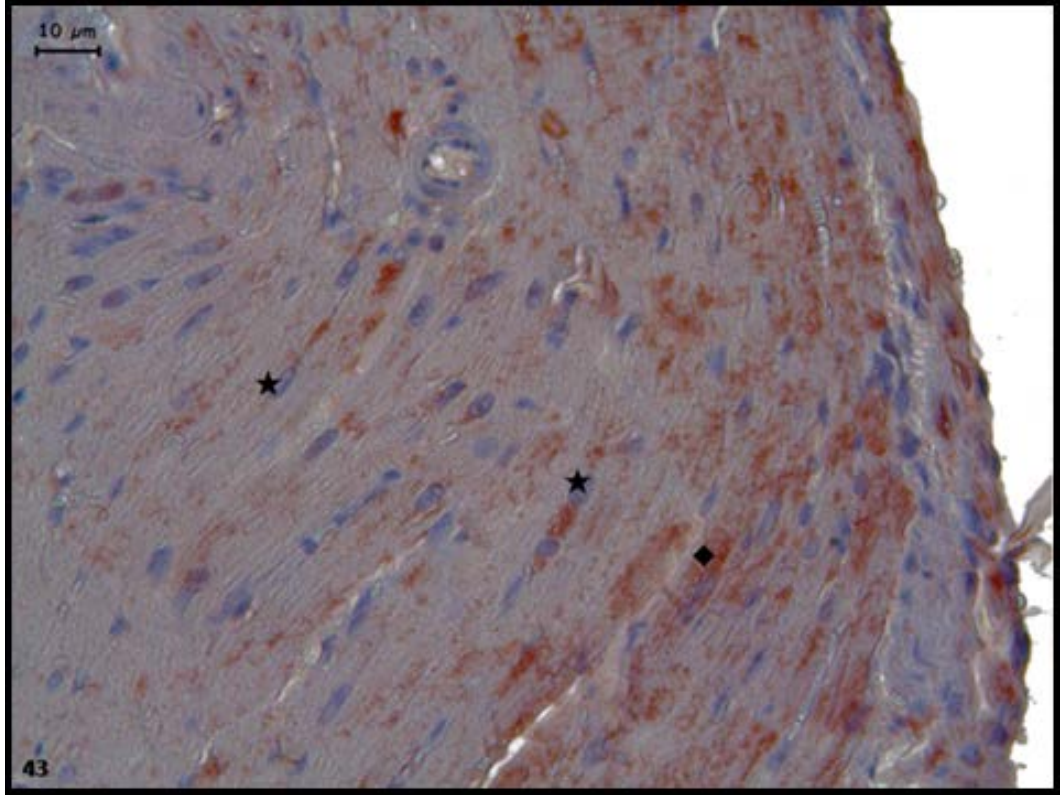
Fotoğraf 40: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



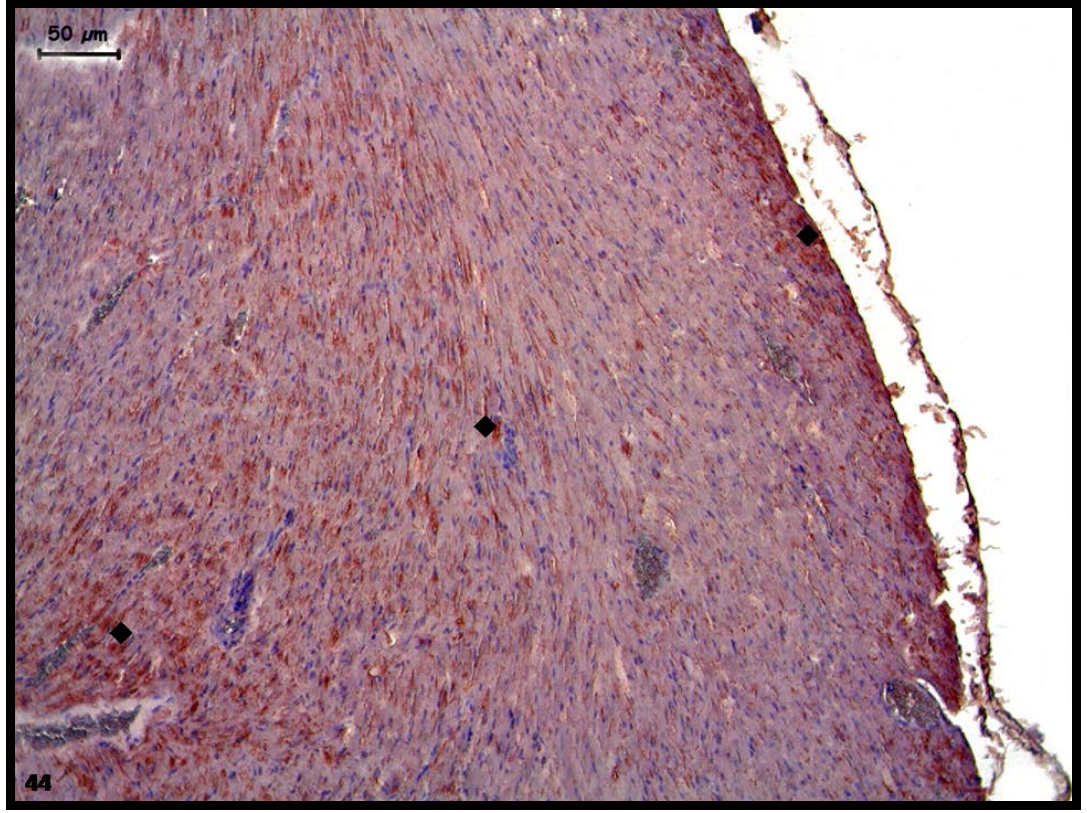
Fotoğraf 41: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



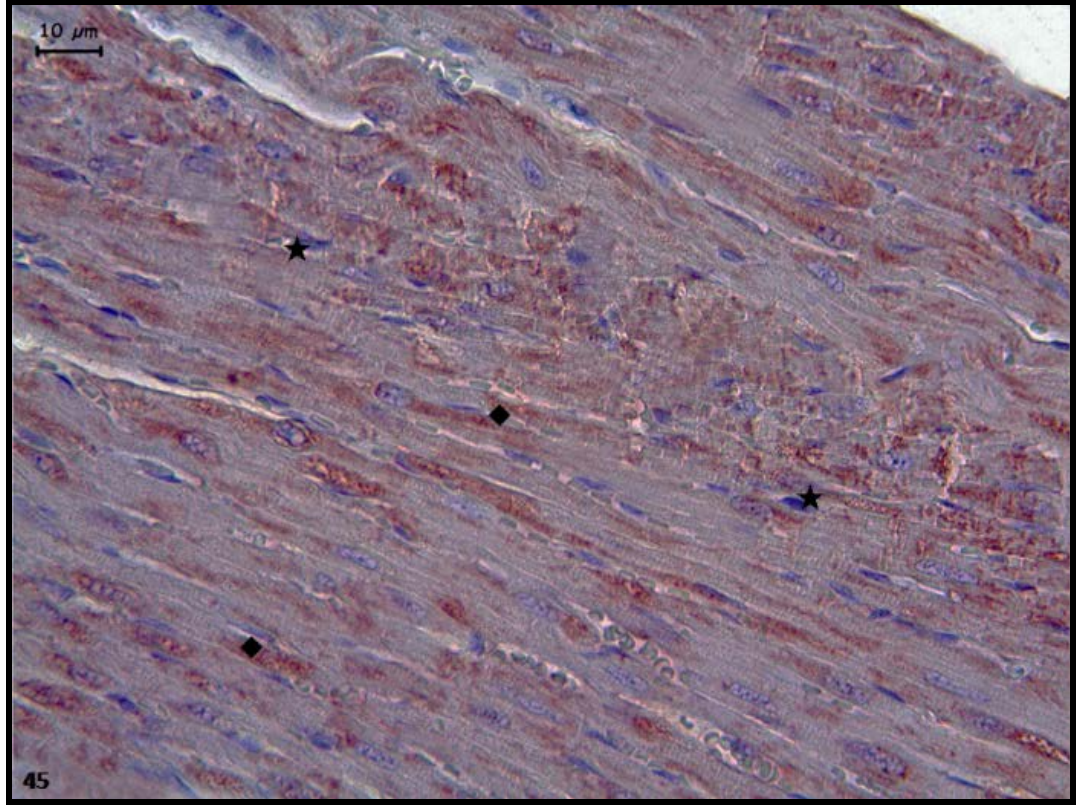
Fotoğraf 42: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



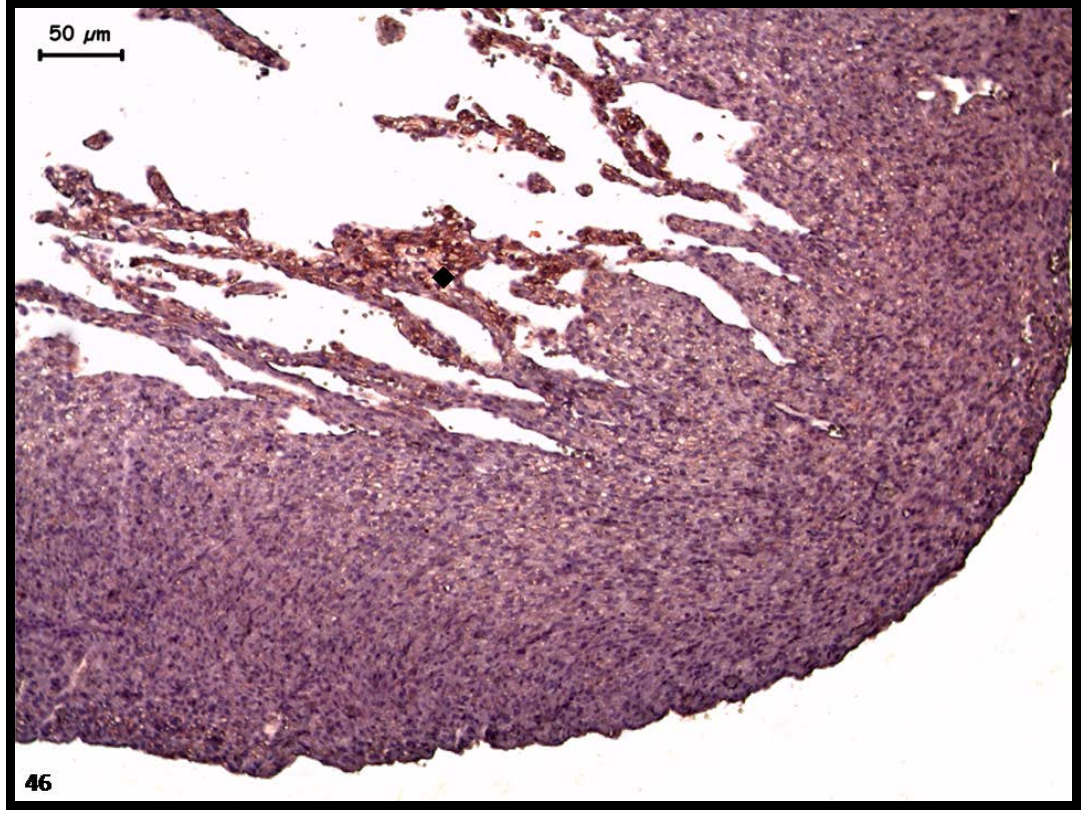
Fotoğraf 43: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



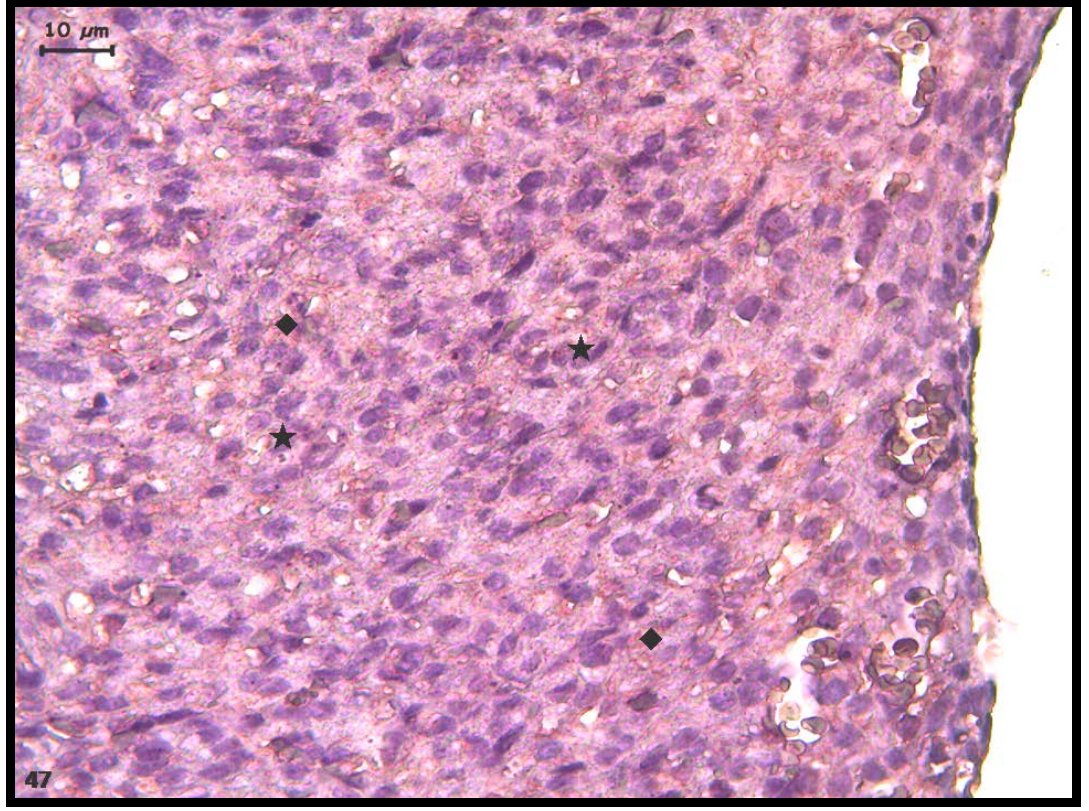
Fotoğraf 44: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



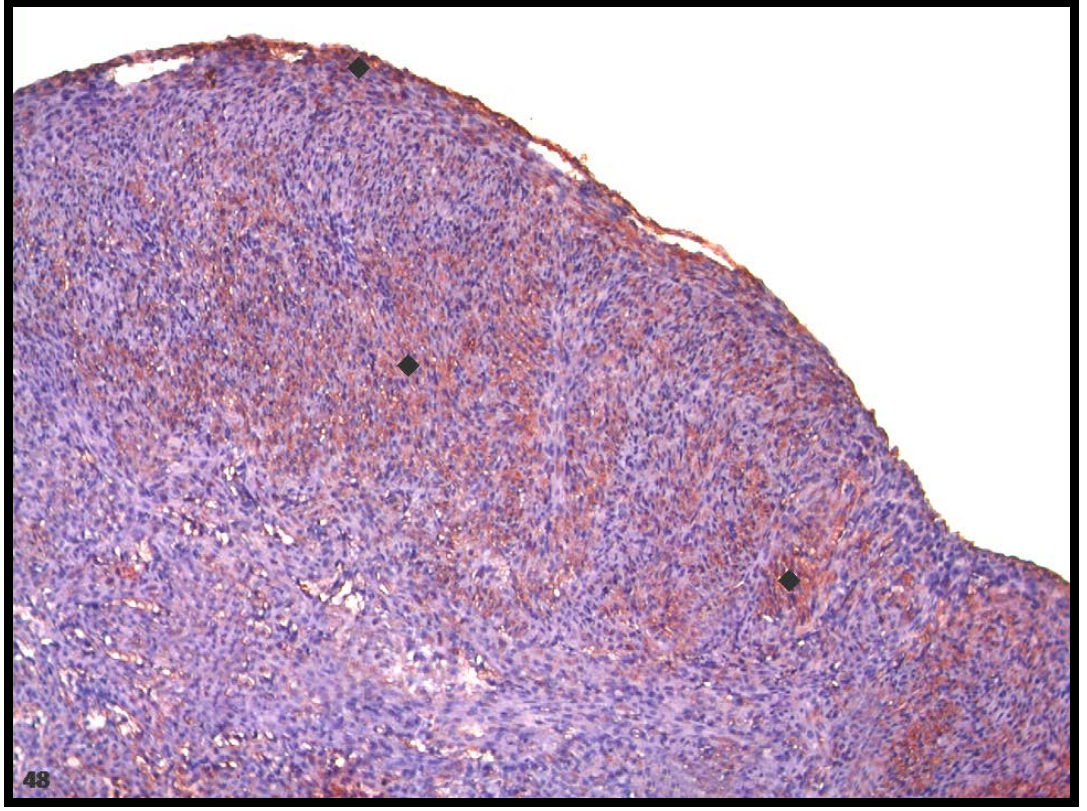
Fotoğraf 45: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde FGF-2 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



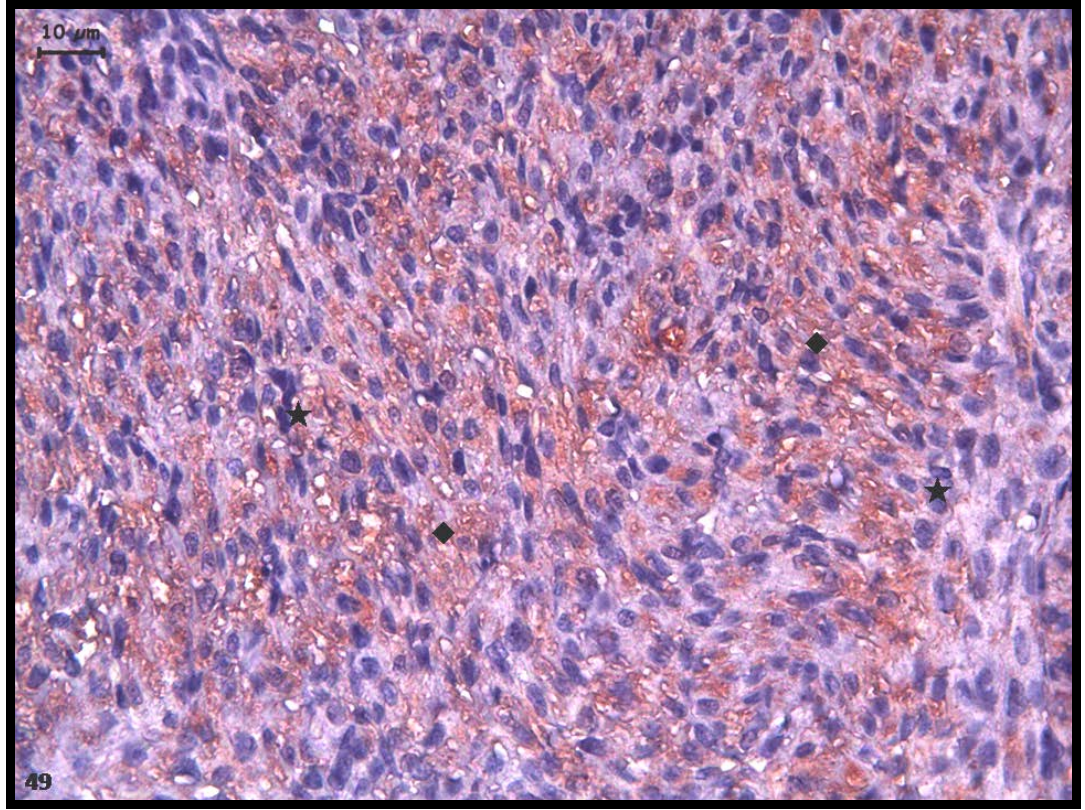
Fotoğraf 46: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



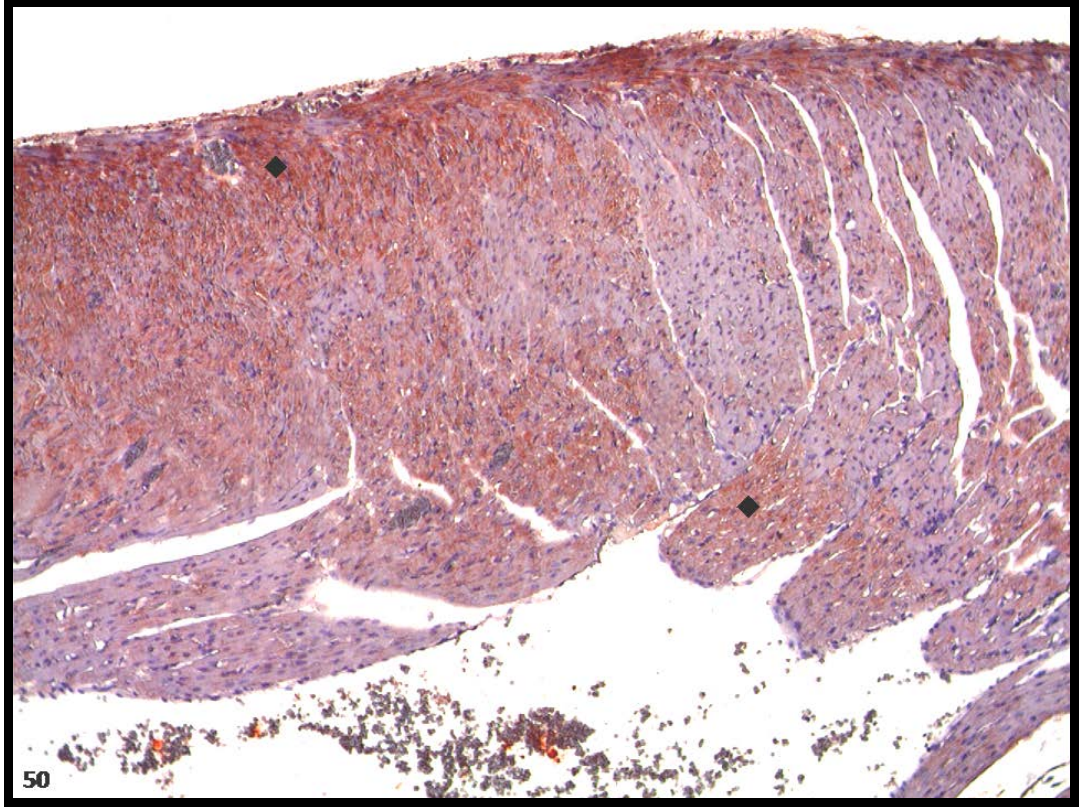
Fotoğraf 47: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



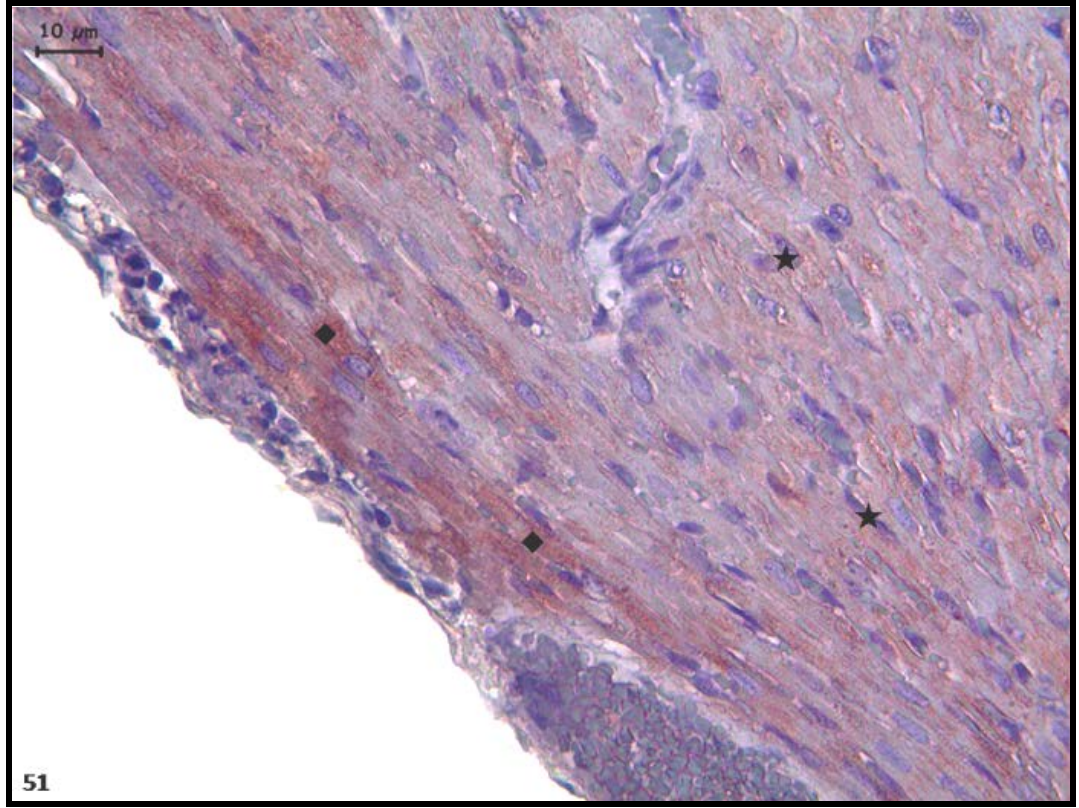
Fotoğraf 48: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



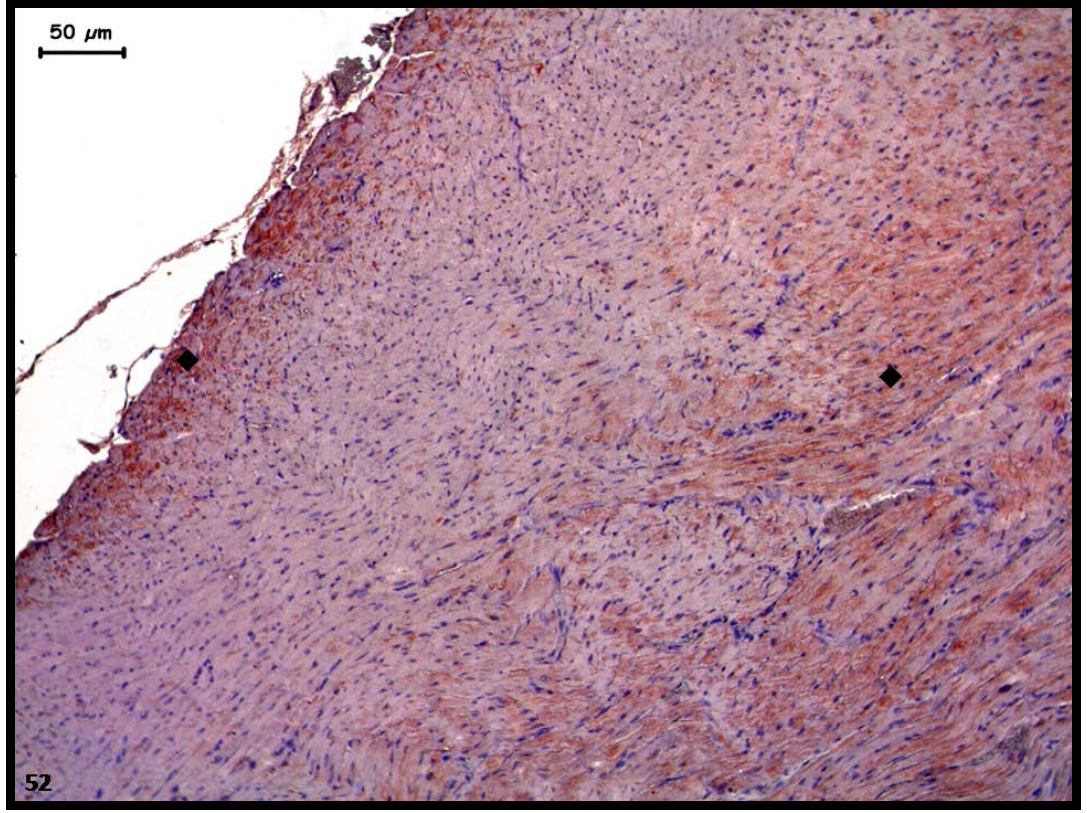
Fotoğraf 49: : Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



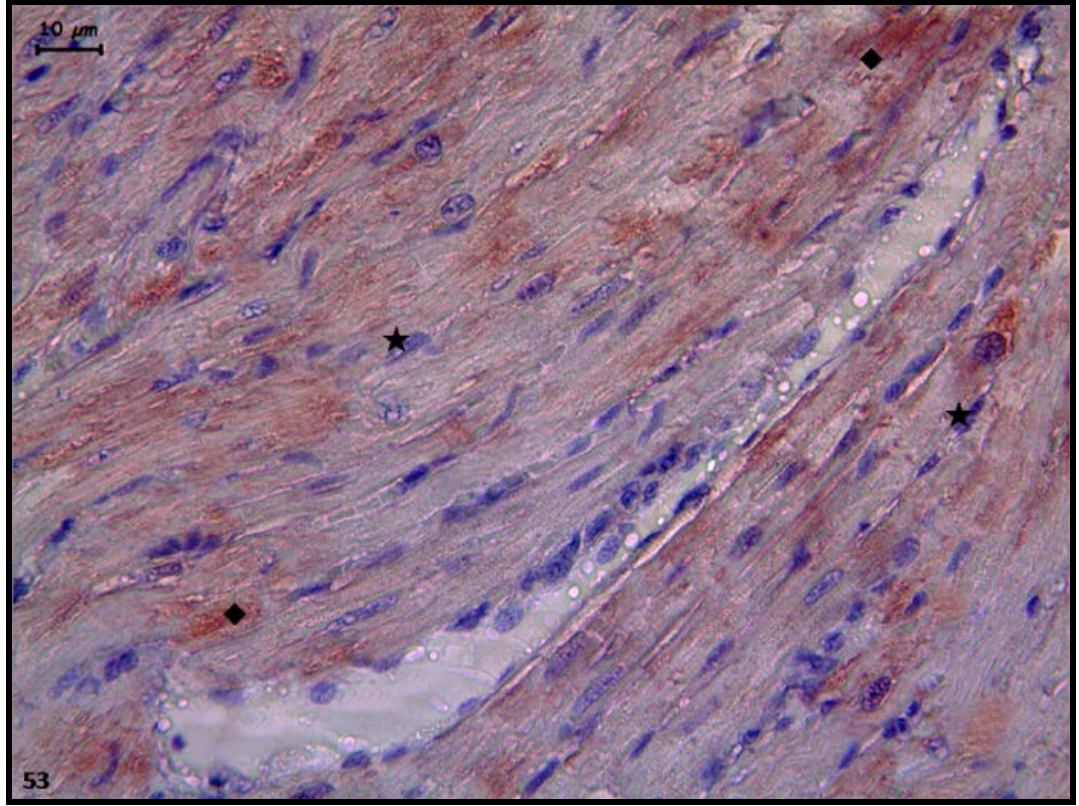
Fotoğraf 50: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



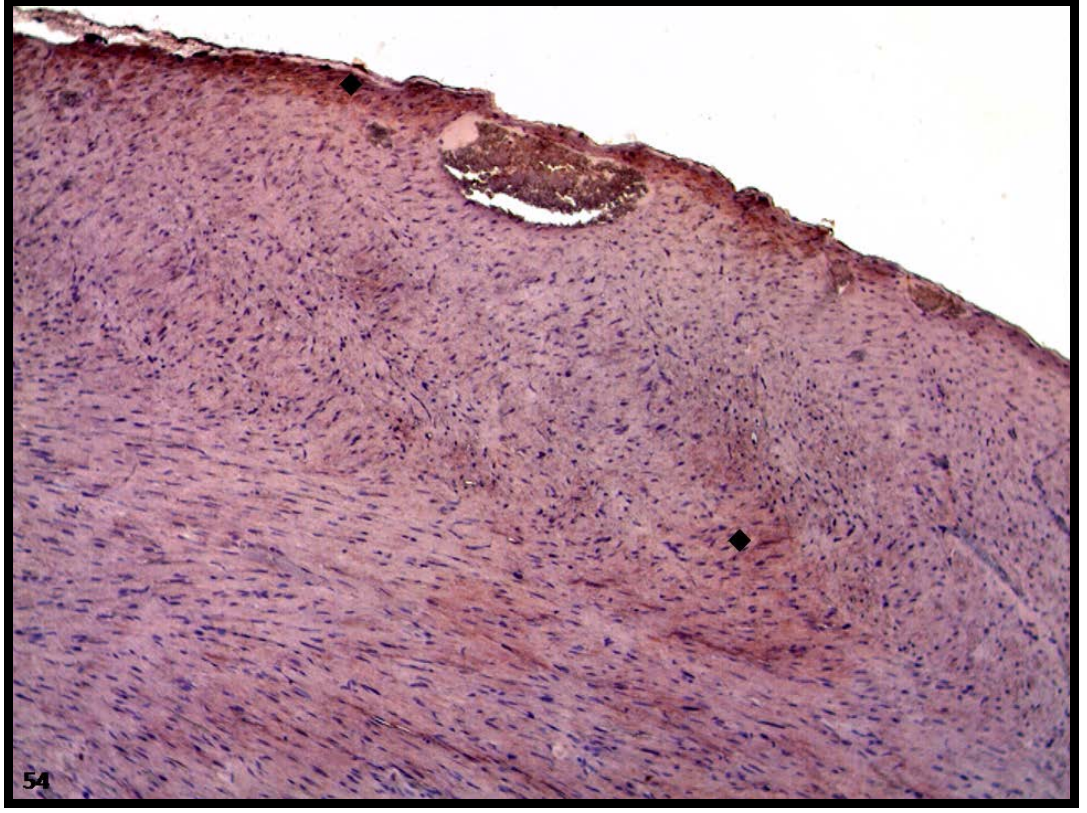
Fotoğraf 51: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



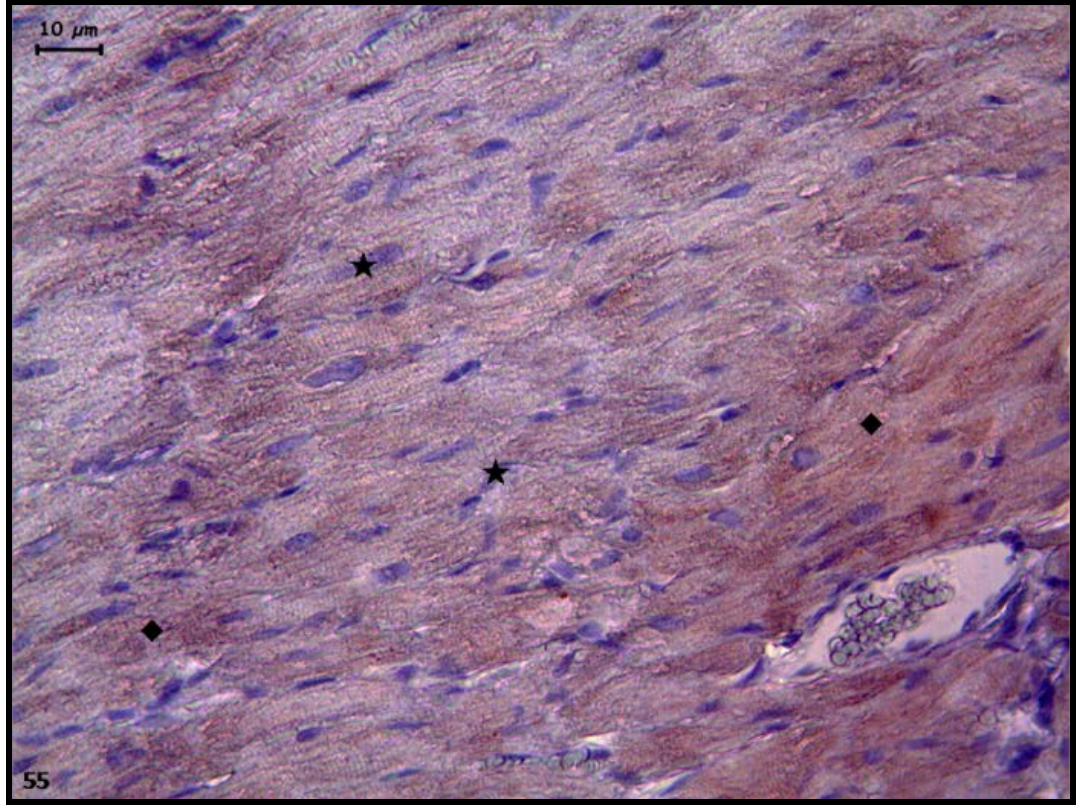
Fotoğraf 52: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



Fotoğraf 53: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



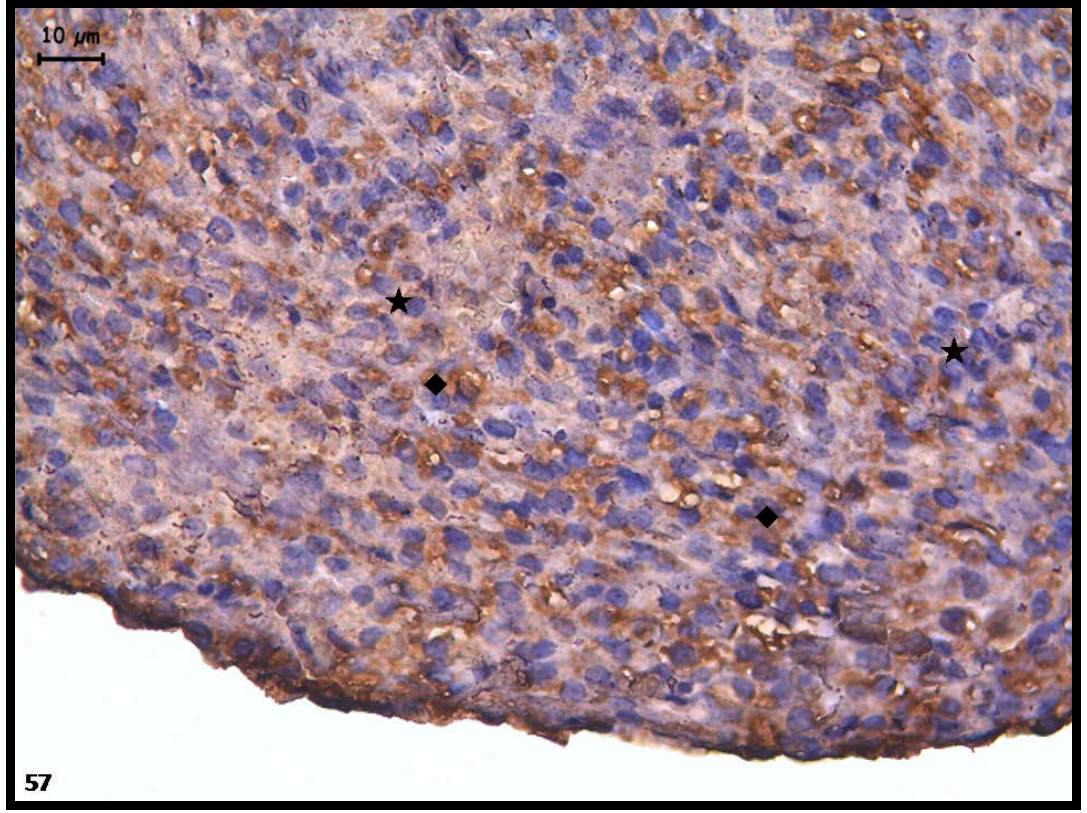
Fotoğraf 54: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



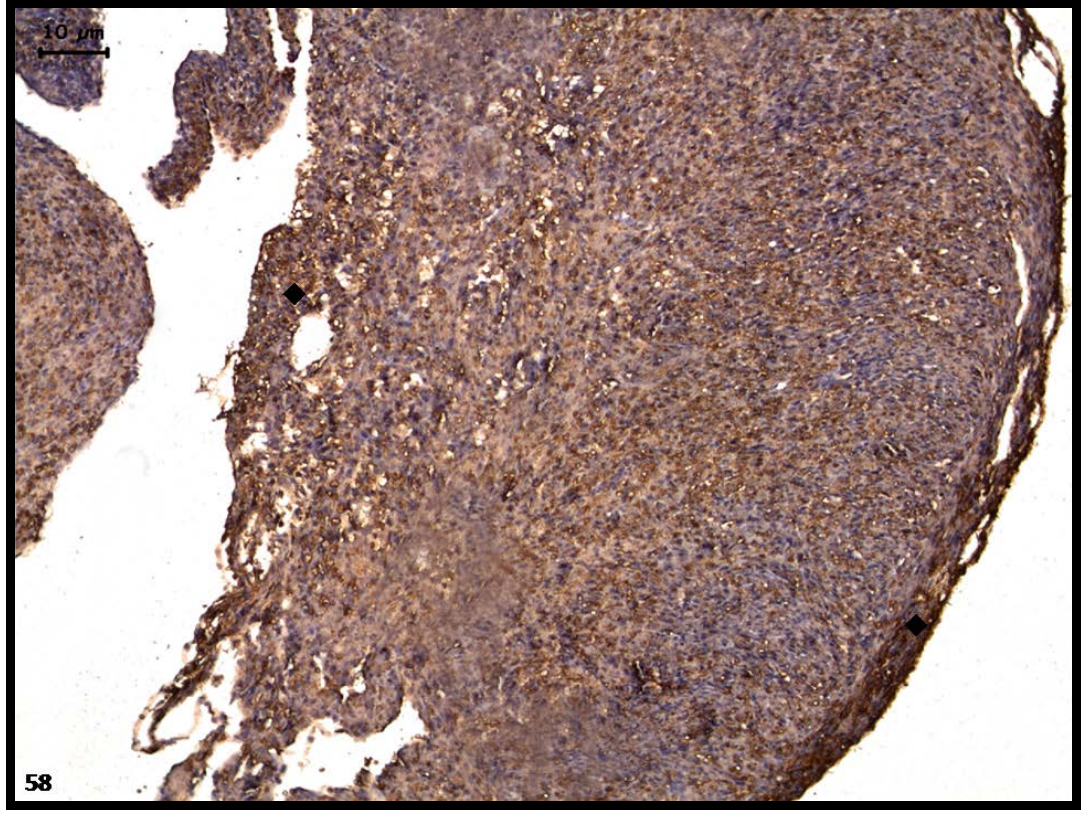
Fotoğraf 55: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde IGF-I immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



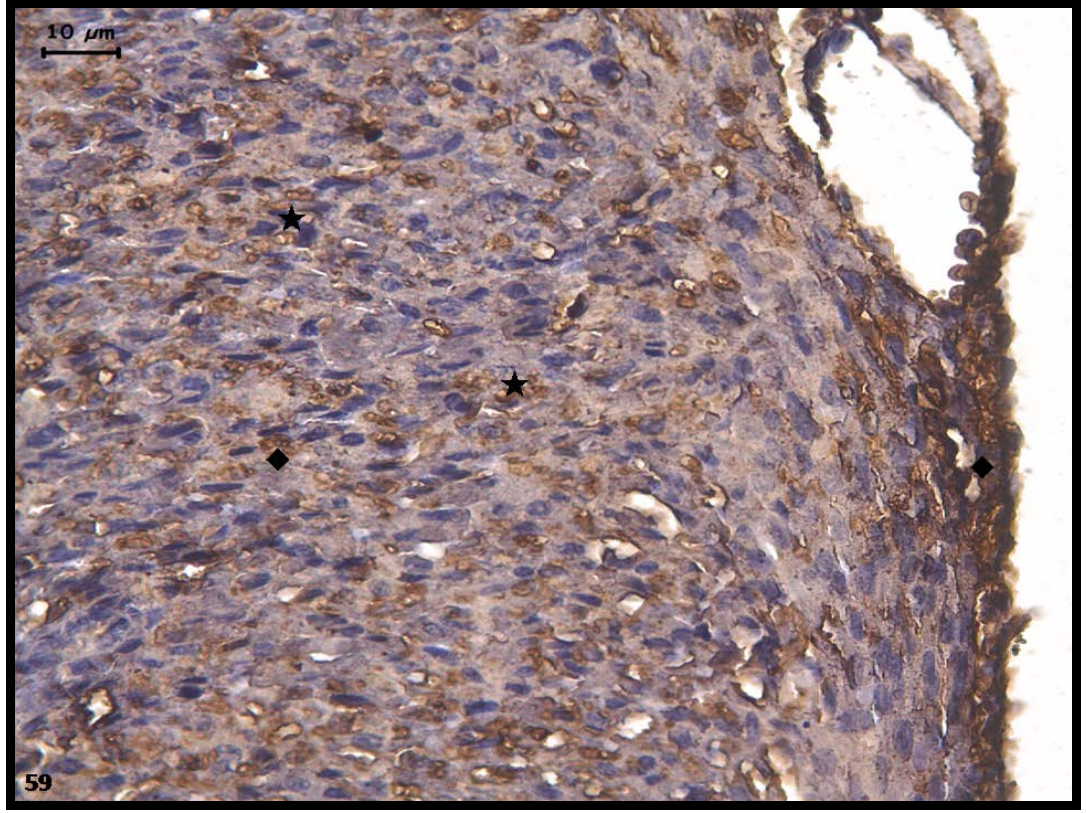
Fotoğraf 56: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



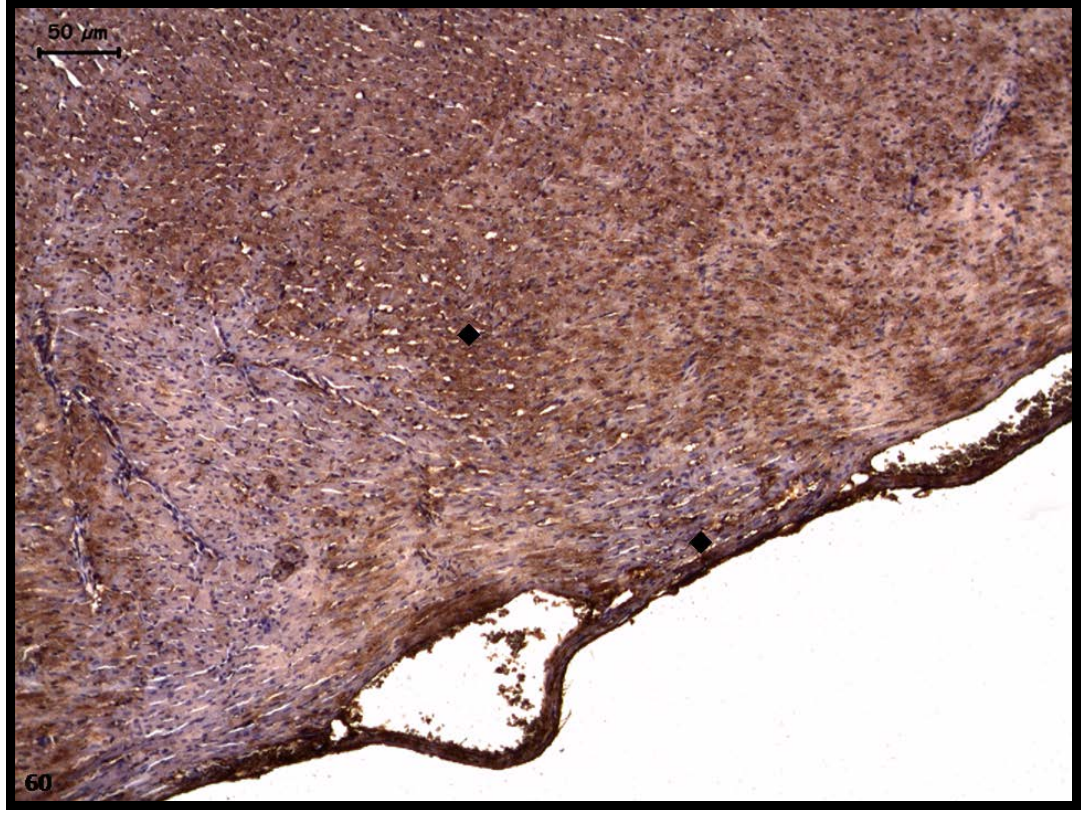
Fotoğraf 57: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



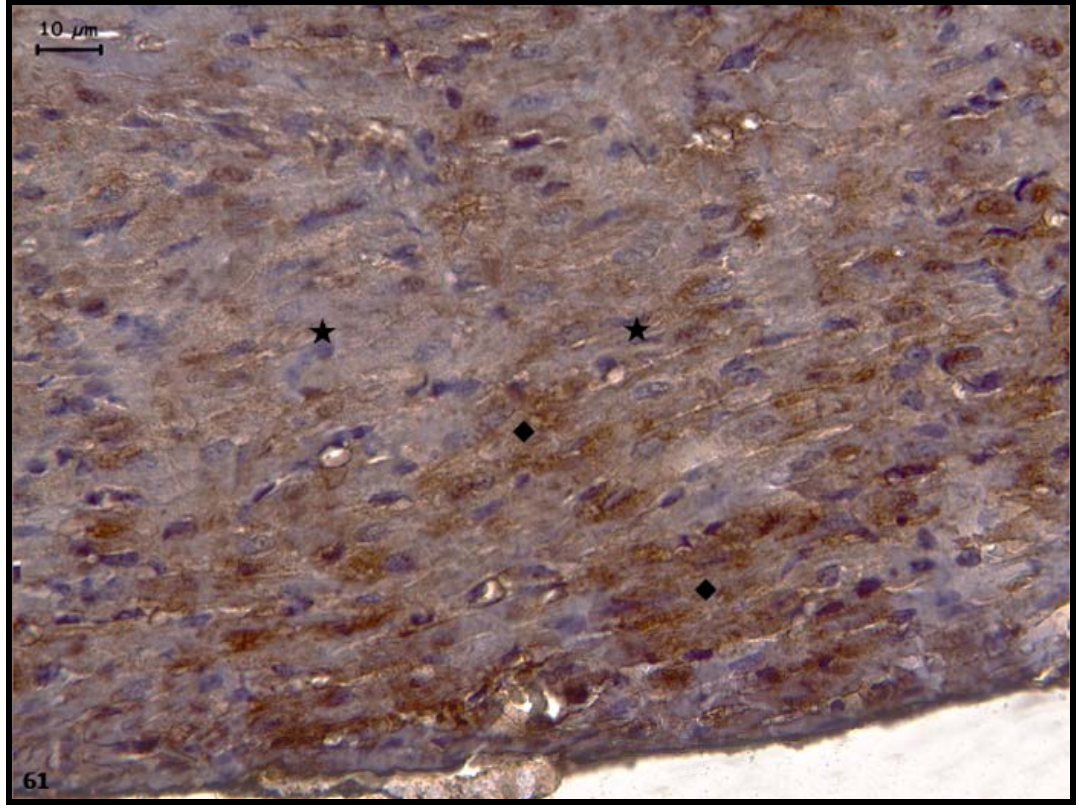
Fotoğraf 58: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



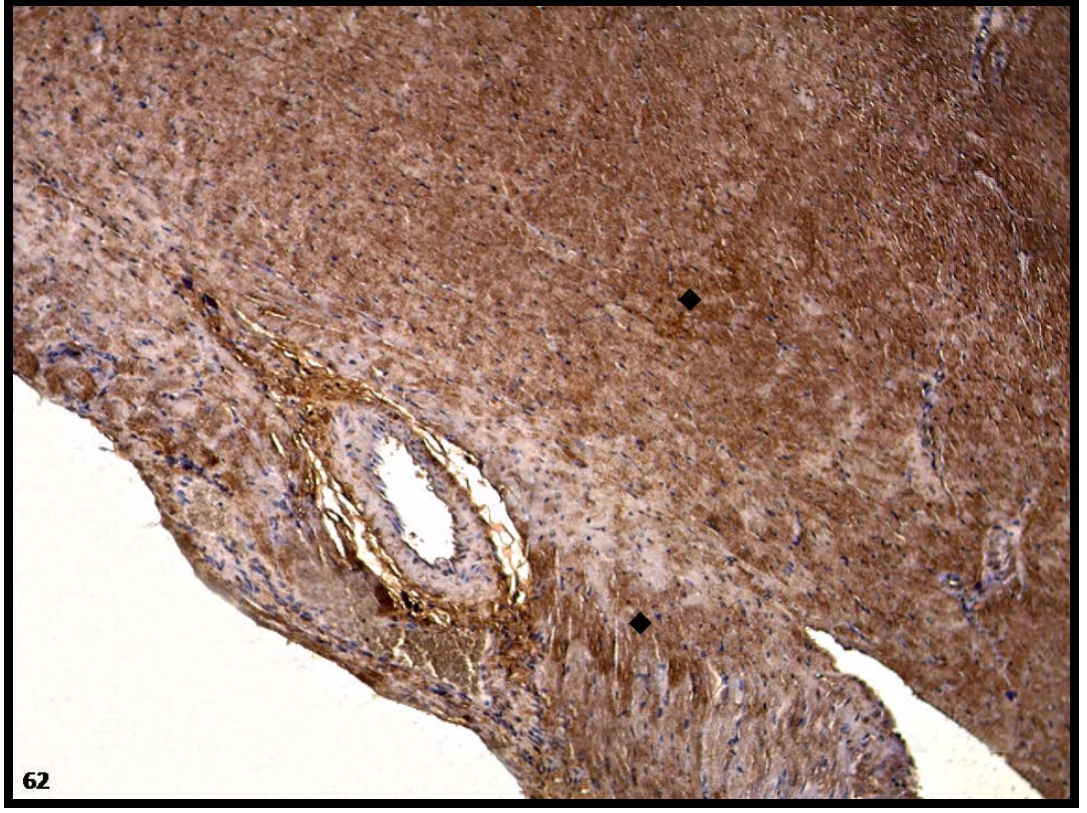
Fotoğraf 59: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



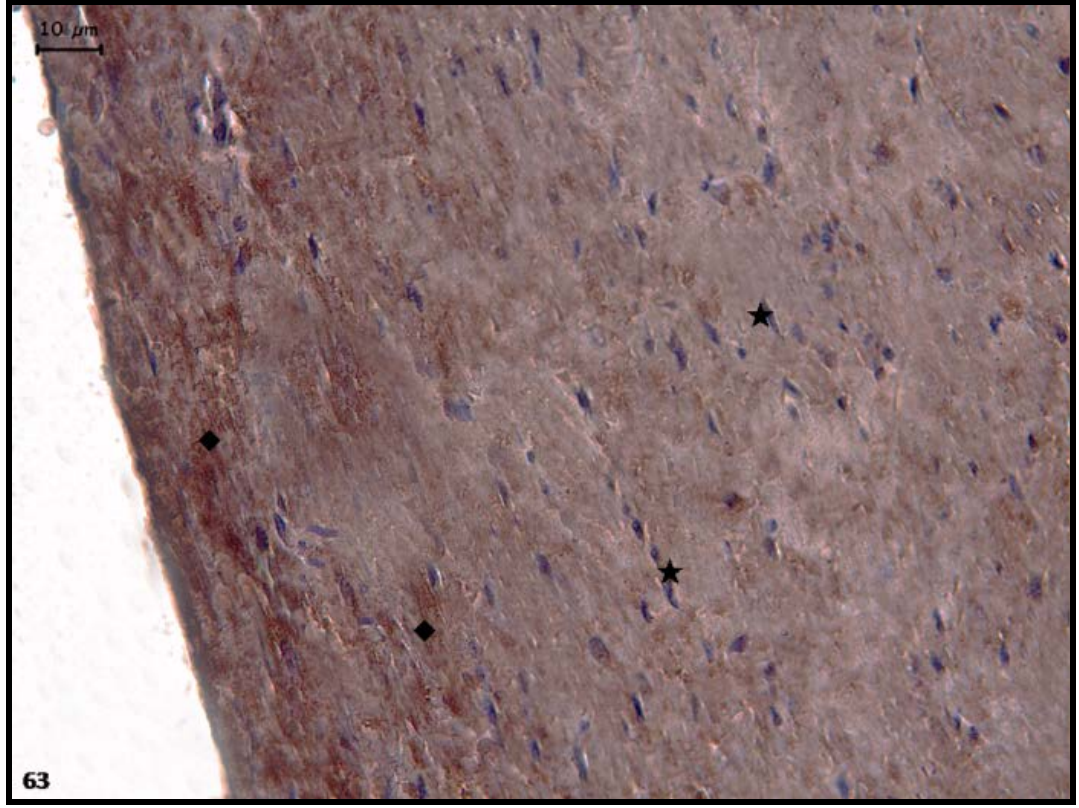
Fotoğraf 60: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



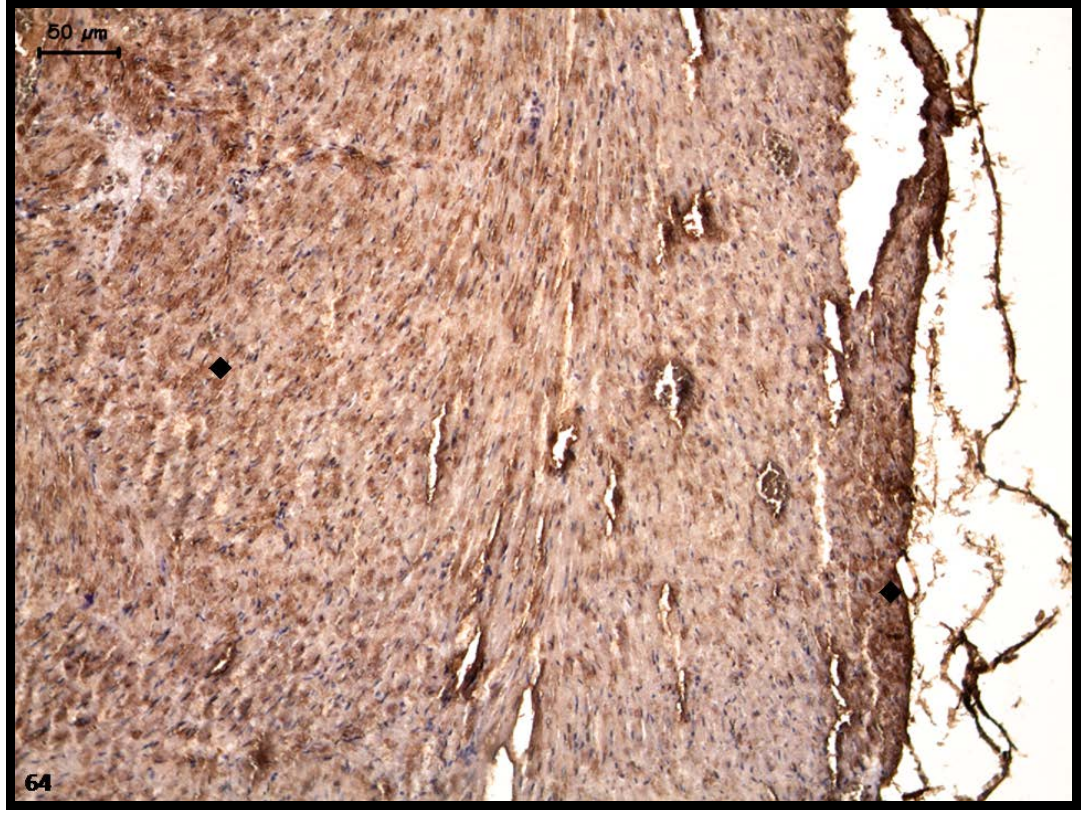
Fotoğraf 61: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



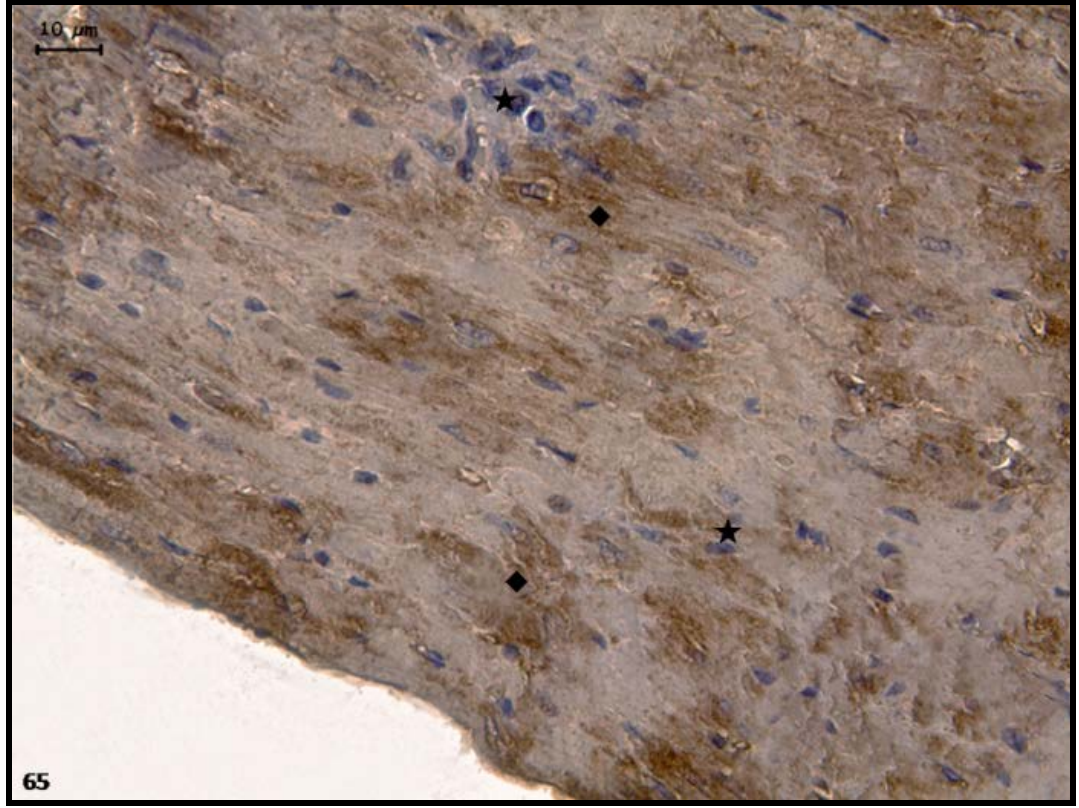
Fotoğraf 62: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



Fotoğraf 63: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).



Fotoğraf 64: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor (İmmünperoksidaz-HematoksilenX100).



Fotoğraf 65: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde GDF-8 immünreaktivitesi (◆) görülüyor. ★: Çekirdek (İmmünperoksidaz-HematoksilenX400).

Tablo 1: İskelet kası için tüm gruplara ait Tip I Kollajen, FGF-2, IGF-I ve GDF-8 immünreaktivite skor tablosu.

İSKELET KASI GRUPLARI	KULLANILAN BELİRTEÇLER			
	Tip I Kollajen	FGF-2	IGF-I	GDF-8
DÖ Grubu	+	+++	++	++
YD Grubu	+	+++	++	++
1 Ay Grubu	++	++	++	+
6 Ay Grubu	++	++	+	+
12 Ay Grubu	+++	++	+	+

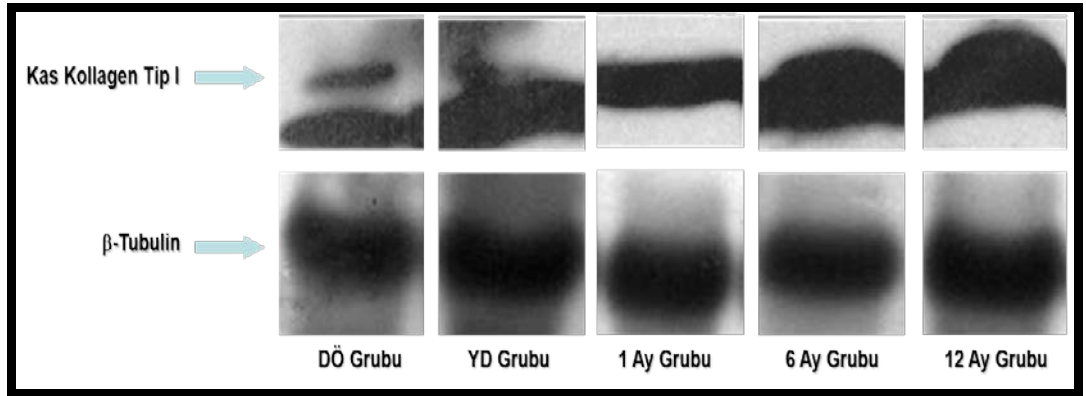
Tablo 2: Kalp kası için tüm gruplara ait Tip I Kollajen, FGF-2, IGF-I ve GDF-8 immünreaktivite skor tablosu.

KALP KASI GRUPLARI	KULLANILAN BELİRTEÇLER			
	Tip I Kollajen	FGF-2	IGF-I	GDF-8
DÖ Grubu	+	++	+	++
YD Grubu	++	+++	++	++
1 Ay Grubu	+++	++	++	+
6 Ay Grubu	+++	++	++	+
12 Ay Grubu	+++	+	+	+

4.2. Western Blot Bulguları

4.2.1. İskelet Kası Bulguları

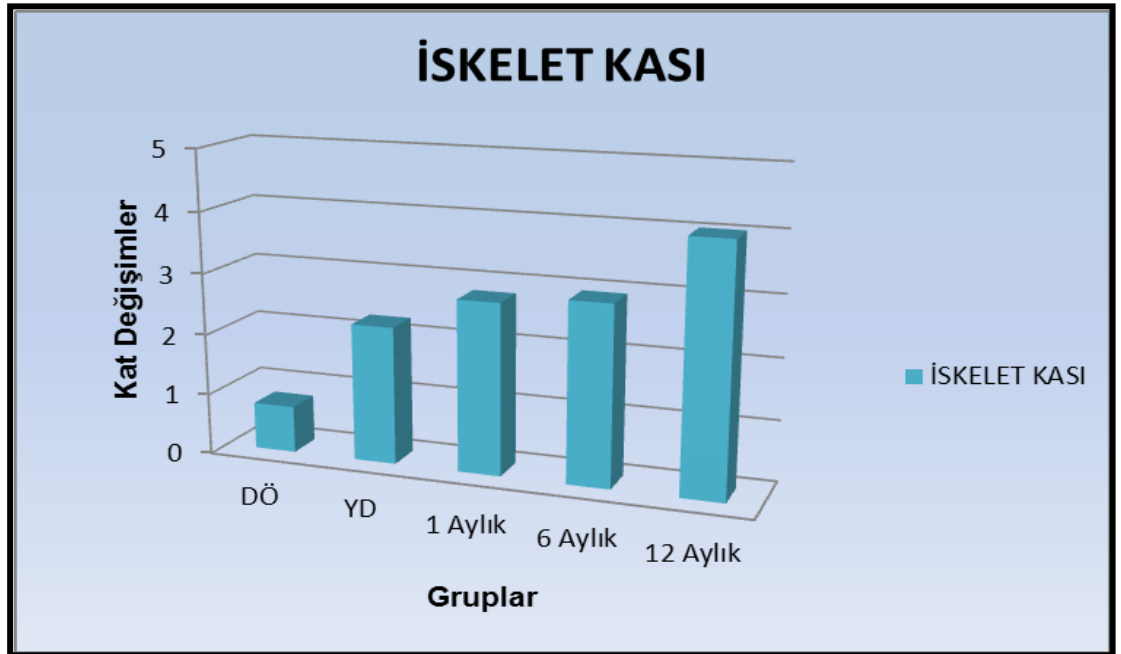
Yaşa koşut iskelet kasında doğum öncesi, yenidoğan, 1, 6 ve 12 aylık grupta Tip I Kollajen ekspresyonunu değerlendirmek için yapılan Western blot analizlerinde, Tip I Kollajen proteini bant yoğunlukları Fotoğraf 66' da görülmektedir. Gruplara ait protein ekspresyonu hedef gen tablosu Tablo 3' de verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada protein yoğunlukları Grafik 1' de izlenmektedir. Yapılan değerlendirmelerde Tip I Kollajen ifadenmesinin doğum öncesi gruba karşı, yenidoğan grubunda 2,93 kat arttığı görüldü. 1 aylık ve 6 aylık grupta sırasıyla 3,64 ve 3,82 kat artış olduğu saptandı. Yaşa koşut artış gösterdiği belirlenen Tip I Kollajen ifadenmesinin, 12 aylık grupta 5,24 kat artış göstermesi ilgiyi çekti.



Fotoğraf 66: İskelet kasına ait Tip I Kollajen proteinin gruplara göre Western blot analizi.

Tablo 3: İskelet kasına ait Tip I Kollajen proteini hedef gen tablosu.

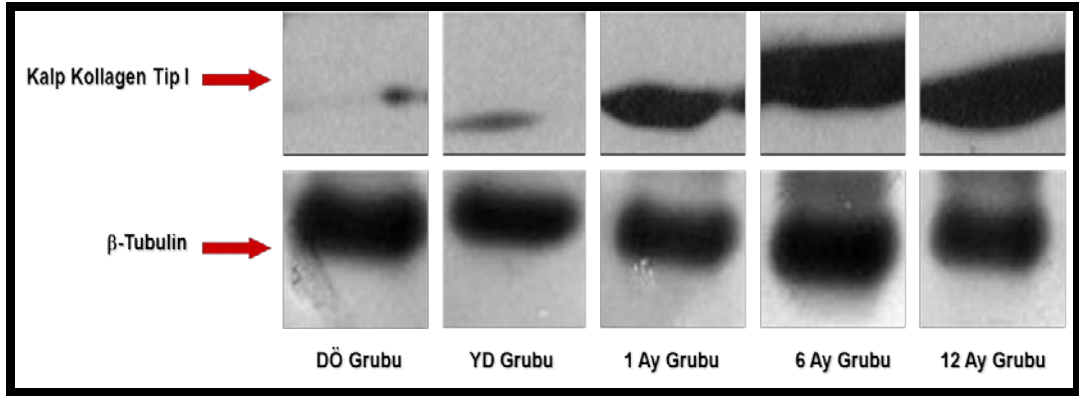
İSKELET KASI GRUPLARI	TİP I KOLLAJEN / β -TUBULİN BANT YOĞUNLUĞU	KAT DEĞİŞİMLER
DÖ Grubu	0,767910448	1
YD Grubu	2,255285714	2,93
1 Ay Grubu	2,801238095	3,64
6 Ay Grubu	2,934434783	3,82
12 Ay Grubu	4,028166667	5,24



Grafik 1: İskelet kasına ait Tip I Kollajen protein yoğunluğu grafiği.

4.2.2. Kalp Kası Bulguları

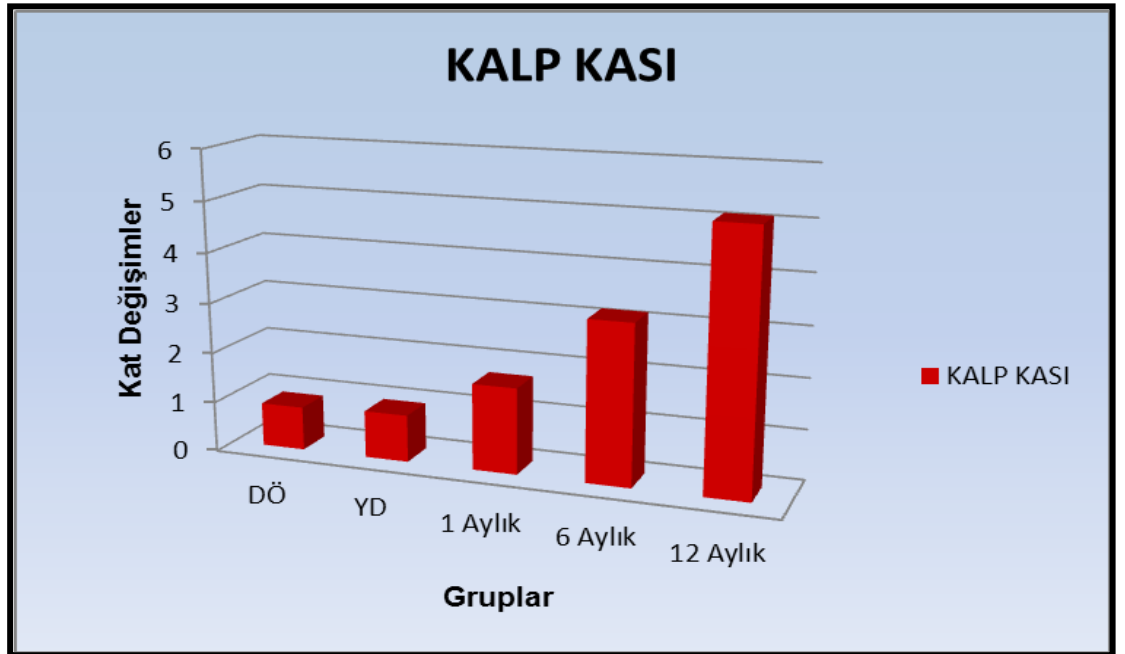
Yaşa koşut kalp kasında doğum öncesi, yenidoğan, 1, 6 ve 12 aylık grupta Tip I Kollajen ekspresyonunu değerlendirmek için yapılan Western blot analizlerinde, Tip I Kollajen proteini bant yoğunlukları Fotoğraf 67' de görülmektedir. Gruplara ait hedef gen tablosu Tablo 4' de verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmada protein yoğunlukları Grafik 2' de izlenmektedir. Yapılan değerlendirmelerde 12 aylık gruba gelinceye dek Tip I Kollajen protein ifadenmesinin yaşa koşut olarak artış gösterdiği saptandı. Gruplar arası protein ekspresyonu karşılaştırıldığında ise doğum öncesi gruba karşın yenidoğan grubunda 1,08 kat artış olduğu belirlendi. Bu artış 1 aylık grupta da sürüyordu ve 1,97 kattı. 6 aylık grupta protein ifadesinin 3,64 kat arttığı belirlendi. 12 aylık grupta ise 5,88 kat artış görüldü ve tüm gruplar arasındaki en çok artış bu gruptaydı.



Fotoğraf 67: Kalp kasına ait Tip I Kollagen proteinin gruplara göre Western blot analizi.

Tablo 4: Kalp kasına ait Tip I Kollajen proteini hedef gen tablosu.

KALP KASI GRUPLARI	TİP I KOLLAJEN / β -TUBULİN BANT YOĞUNLUĞU	KAT DEĞİŞİMLER
DÖ Grubu	0,868793341	1
YD Grubu	0,93885729	1,08
1 Ay Grubu	1,711722682	1,97
6 Ay Grubu	3,167993526	3,64
12 Ay Grubu	5,109052484	5,88



Grafik 2: Kalp kasına ait Tip I Kollajen protein yoğunluğu grafiği.

4.3. Scanning ve Transmission Elektron Mikroskobu Bulguları

4.3.1. İskelet Kası Bulguları

Doğum öncesi (Fotoğraf68,69), yenidoğan ve 1 aylık grupta yapılan SEM incelemelerinde, iskelet kas örneklerinde, kas liflerinin biraz daha ince olduğu, miyofibrillerin 1. aydan itibaren enine çizgilenme gösterdiği, diğer gruplarda ise dağınık oldukları belirlendi. Yapılan TEM incelemelerinde de durum yine aynıydı.

Doğum öncesi evreye ait, miyofibrilleri şekillenmekte olan iskelet kas örneklerinde, satellit hücrelerin mitokondriyonlarının çekirdek çevresinde ve sarkolemma altında yuvarlak ya da oval şekilli oldukları belirlendi. Yine mitokondriyonlardaki matriks yoğunluğu dikkat çekiciydi. Oval şekilli çekirdek ve belirgin çekirdekcik saptandı. Miyofibrillerde enine çizgilenmelerin tek tük olduğu görüldü. Z çizgileri oldukça belirgin olarak ayırt edilirken, biçimlenmiş miyofibrillerde A ve I bantları da izlendi (Fotoğraf70). Biraz daha gelişkin kaslarda miyofibrillerin daha belirgin olduğu gözlemlendi. Çekirdek sarkolemma'nın hemen altında oval şekilli izlenirken, mitokondriyonlar o bölge sitoplazmasına yayılmıştı (Fotoğraf71).

Yenidoğan grubunda yapılan SEM incelemelerinde yapının doğum öncesi gruba benzer olduğu izlendi (Fotoğraf72). İnce yapı düzeyinde de miyofibril düzenleniminin doğum öncesi gruba eşdeğer olduğu saptandı (Fotoğraf73,74).

1 aylık grupta, olgun iskelet kası lifleri daha belirgin olarak ayırt edildi (Fotoğraf75). Sarkolemma, sarkoplazma ve çekirdek gelişkindi. Miyofibriller de oldukça gelişkin olarak gözlemlendi. Mitokondriyonların, miyofibriller arasında onlara koşut dizilimi, diğer gruplara karşın daha uzun ve daha yoğun matriksli oluşları dikkati çekti. Bu grupta arada yer yer satelit hücreler ayırt edildi (Fotoğraf76).

6 aylık grupta yapılan SEM incelemelerinde, iskelet kası liflerinin daha da gelişkin olduğu ve enine çizgilenme gösteren düzenli miyofibrillerin varlığı ilgiyi çekti (Fotoğraf77). İnce yapı düzeyinde de miyofibril düzenlenimi, A, I ve Z çizgilerinin belirgin olduğu görüldü. Çekirdek oldukça gelişkin ve sarkolemma'nın hemen altında yerleşikti. Çekirdek zarı altında yoğun kromatin birikimi gözlemlenirken, orta bölge daha ökromatik yapıdaydı (Fotoğraf78). Mitokondriyonların hem çevre sarkoplazma hem miyofibriller arasında onlara koşut yerleşimi belirgindi. Yine bazı alanlarda satelit hücreler ayırt ediliyordu. Bu hücrelerde lipofuksin pigmenti benzeri yapılar dikkati çekti (Fotoğraf79).

12 aylık grupta kas lifleri erişkin yapısı ile izlenirken, diğer gruplara karşın ara bağ dokusunun biraz daha arttığı saptandı (Fotoğraf80,81).

4.3.2. Kalp Kası Bulguları

Doğum öncesi grupta SEM düzeyinde yapılan incelemelerde iskelet kasında olduğu gibi enine çizgilenmelerin ancak 1. ayda belirgin hale geldiği dikkati çekti (Fotoğraf82). İnce yapı düzeyinde de kas liflerinin doğum öncesi grubunda yeni yeni biçimlendiği görüldü. Çekirdeklerde heterokromatin kümeler olmasına karşın, diğer bölgelerde kromatinin ökromatik olduğu, çekirdekçiklerin ise bazı bölgelerde belirgin olduğu ayırt edildi. Miyofibrillerin düzensiz şekilde sitoplazmada dağıldığı saptandı. İrili ufaklı ve oldukça yoğun matriksli mitokondriyonlar tüm sitoplazmaya dağılmış olarak gözlemlendi (Fotoğraf83,84).

Yenidoğan grubunda hem SEM hem de TEM incelemelerinde, miyofibrillerin biraz daha fazla olduğu ve sitoplazmada gelişigüzel dağılmış yoğun demetler halinde görülmesi dikkati çekti (Fotoğraf85). Çekirdek genelde hücrenin orta bölgesinde yerleşti. Mitokondriyonlar miyofibriller arasına dağılmış şekildeydi (Fotoğraf86,87).

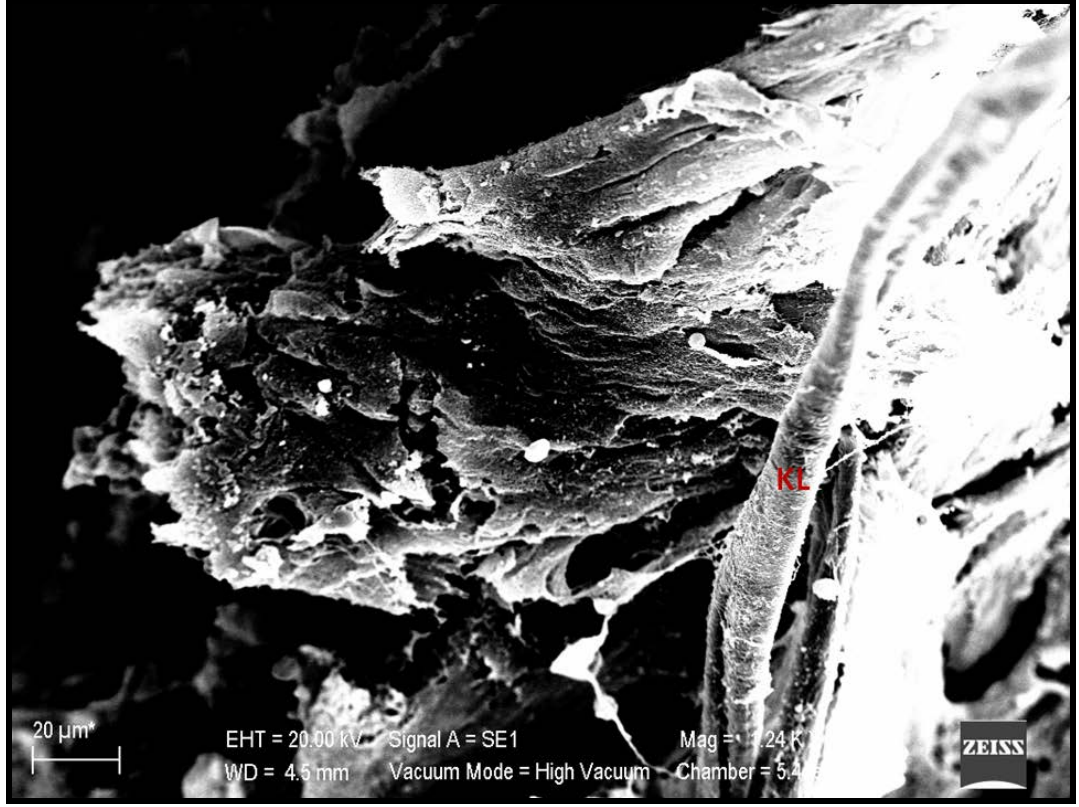
1 aylık grupta, miyofibrillerin biraz daha demetler oluşturduğu ve tüm sitoplazmaya dağıldığı izlendi (Fotoğraf88). Miyofibrillerde enine çizgilenmelerin belirginleştiği saptandı. Z çizgileri de belirgin olarak ayırt edildi. Diğer gruplardan ayrıcalıklı olarak bu grupta diskus interkalarislerin de belirgin olduğu görüldü. Çekirdekler de diğer gruplara karşın daha ökromatikti (Fotoğraf89,90).

6 aylık grupta ise kalp kası liflerinin erişkin yapısını kazanması dikkati çekti (Fotoğraf91). Miyofibril düzenlenimi, Z çizgileri ve

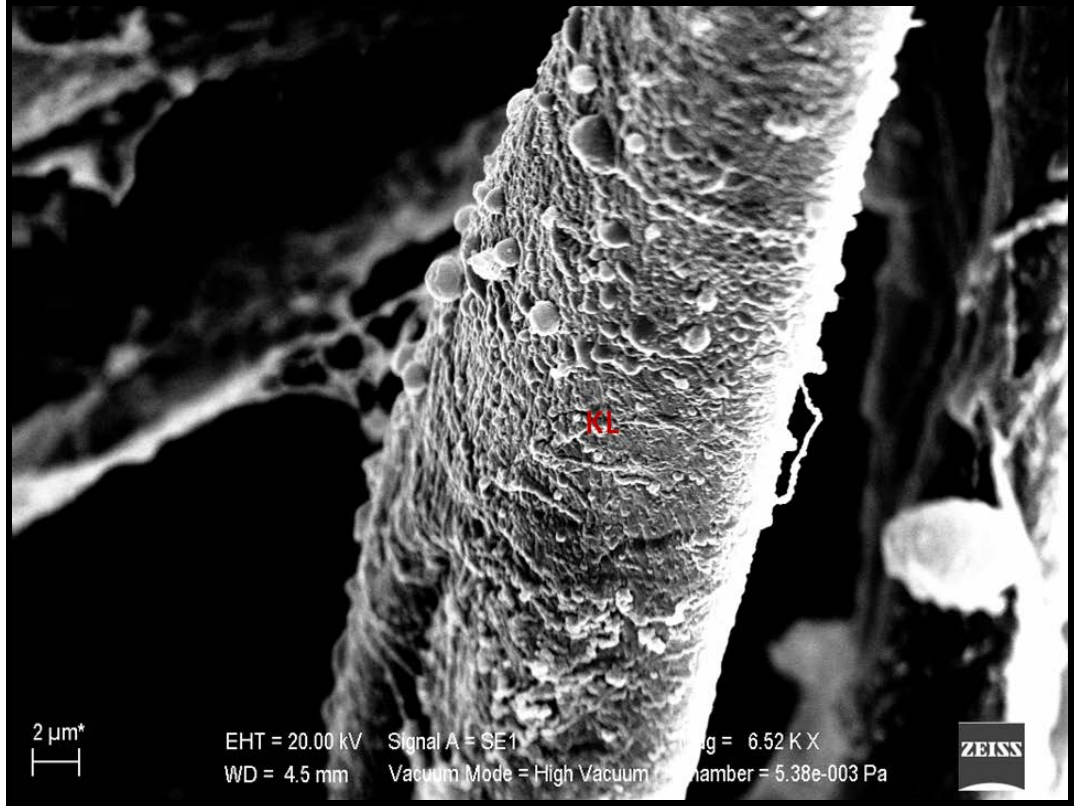
diskus interkalarisler belirgindi. Yine bu grupta A ve I bantları da belirgin olarak görüldü. Çekirdek çevresi ve miyofibriller arasında yerleşik mitokondriyonlar, uzamış, oval-yuvarlak şekilleri ve yoğun matriksleri ile ayırt edildi. Bazı bölgelerde lipofuksin pigmenti benzeri yapılar ilgiyi çekti (Fotoğraf92,93).

12 aylık grupta, olgun kas lifi yapısı SEM ve ince yapı düzeyinde belirgin olarak gözlemlendi (Fotoğraf94,95). Enine çizgilenmeler normal yapıda ve diskus interkalarisler gelişkindi. Çekirdek yapısı bazı liflerde biraz daha çentikli hale dönüşmüştü. Mitokondriyonlar oldukça fazla sayıdaydı. Yine kan damarları diğer gruplara karşın ara bağ dokuda oldukça gelişkin yapı sergiliyordu. Sitoplazmada bir önceki gruba benzer olarak yer yer lipofuksin pigmenti birikimi ilgiyi çekti. Bu grupta diğer gruplardan ayrıcalıklı olarak bazı bölgelerde lipit damlacıkları da ayırt edildi (Fotoğraf96,97).

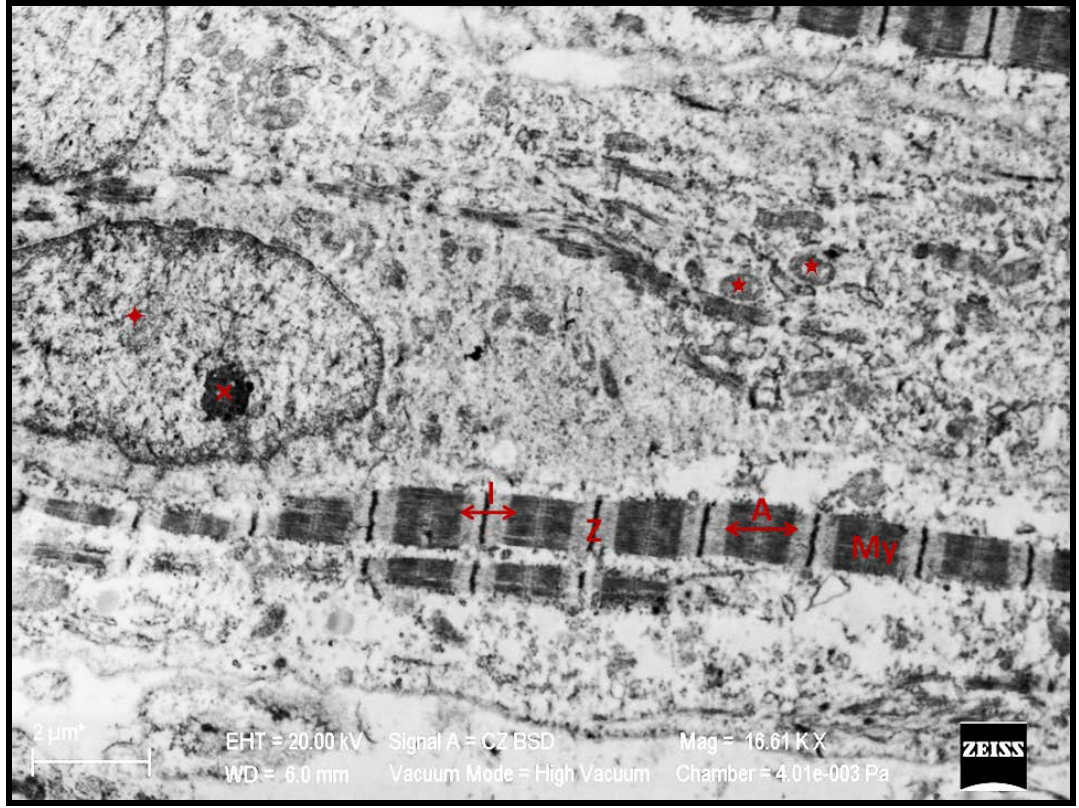
ELEKTRONMİKROSKOBİ FOTOĞRAFLARI



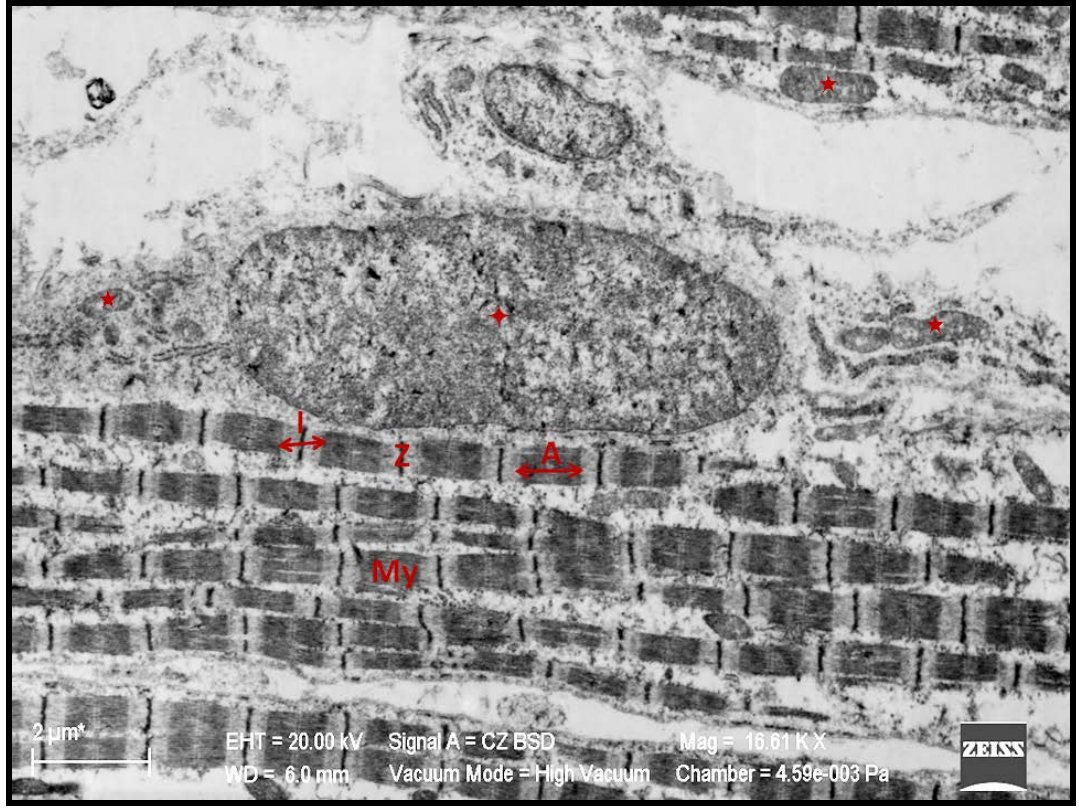
Fotoğraf 68: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde, SEM incelemelerinde kas lifleri (KL) izleniyor.



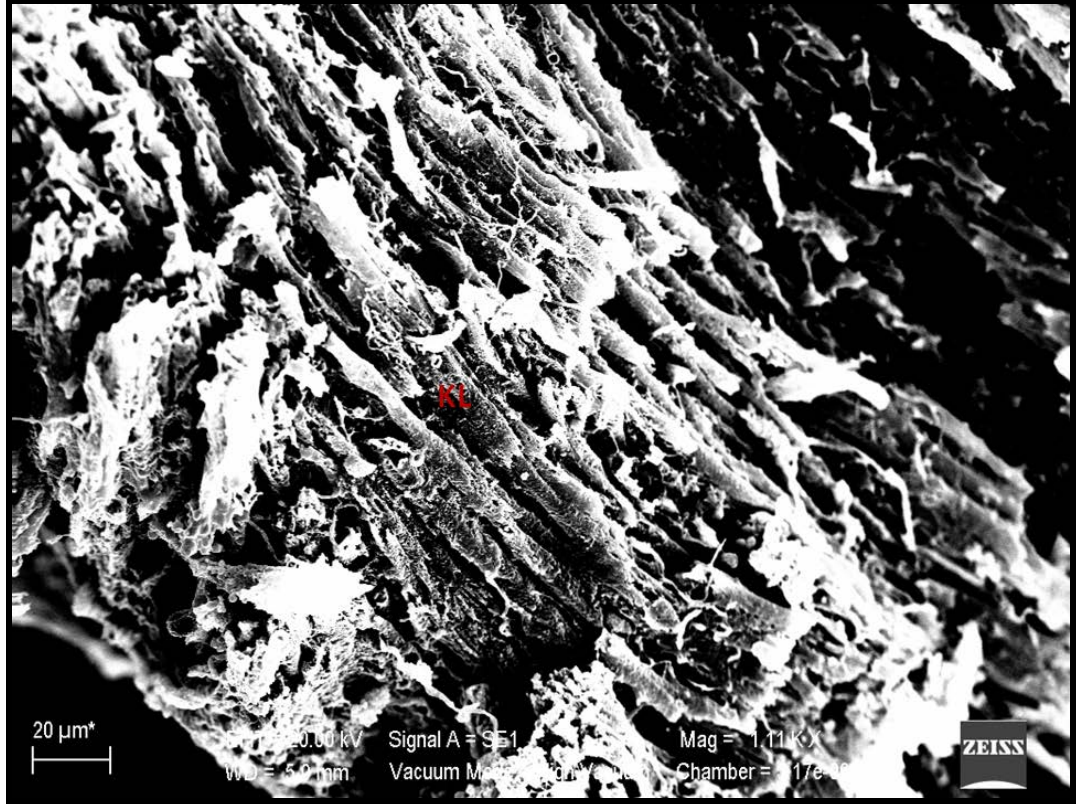
Fotoğraf 69: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde SEM incelemelerinde daha büyük büyültmede kas lifi (KL) görülüyor.



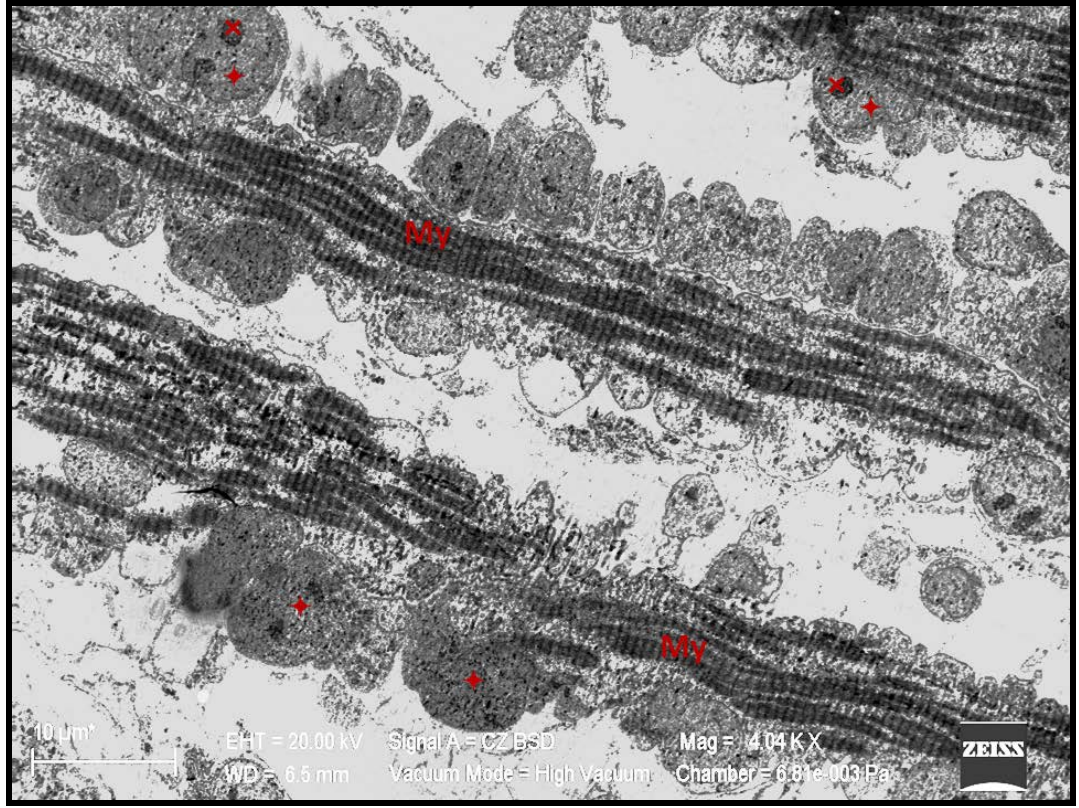
Fotoğraf 70: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde TEM incelemelerinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (×), mitokondriyon (★), A bandı (A), I bandı (I) ve Z çizgileri (Z) ayırt ediliyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



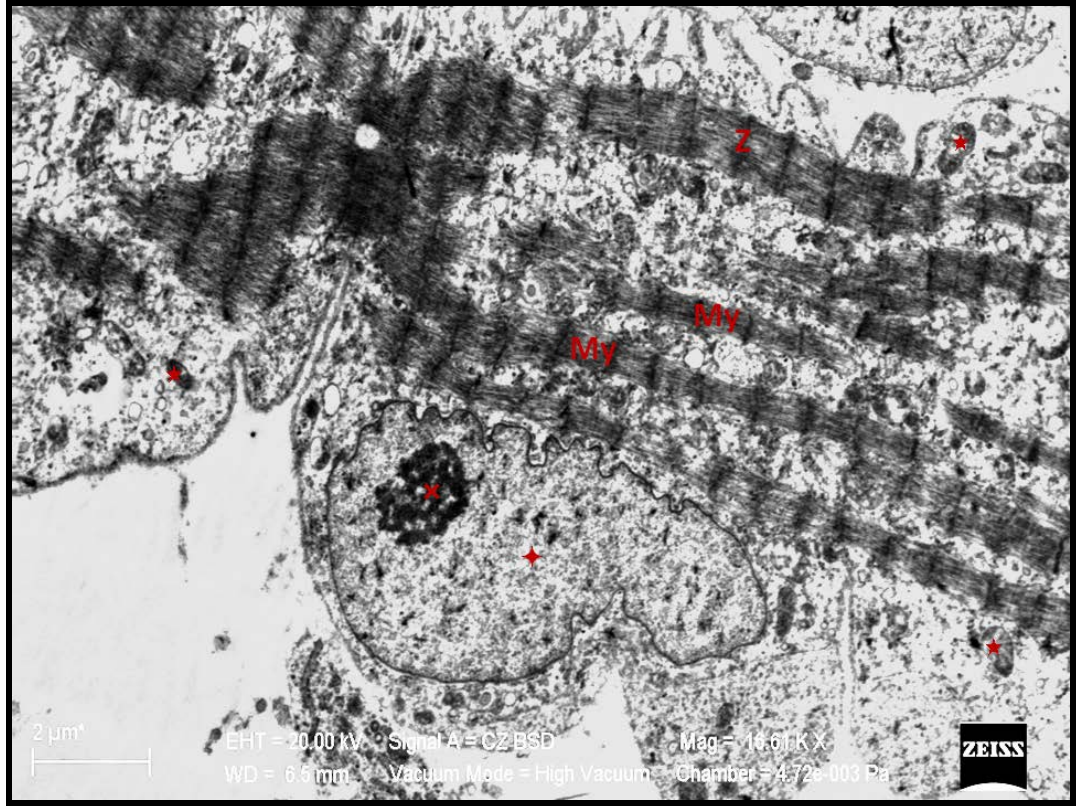
Fotoğraf 71: Doğum öncesi gruba ait iskelet kası örneklerinde TEM fotoğraflarında, miyofibriller (My), çekirdek (★), çekirdekcik (✕), mitokondriyon (★), A bandı (A), I bandı (I) ve Z çizgileri (Z) görülüyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



Fotoğraf 72: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde, SEM incelemelerinde kas lifleri (KL) ayırt ediliyor.



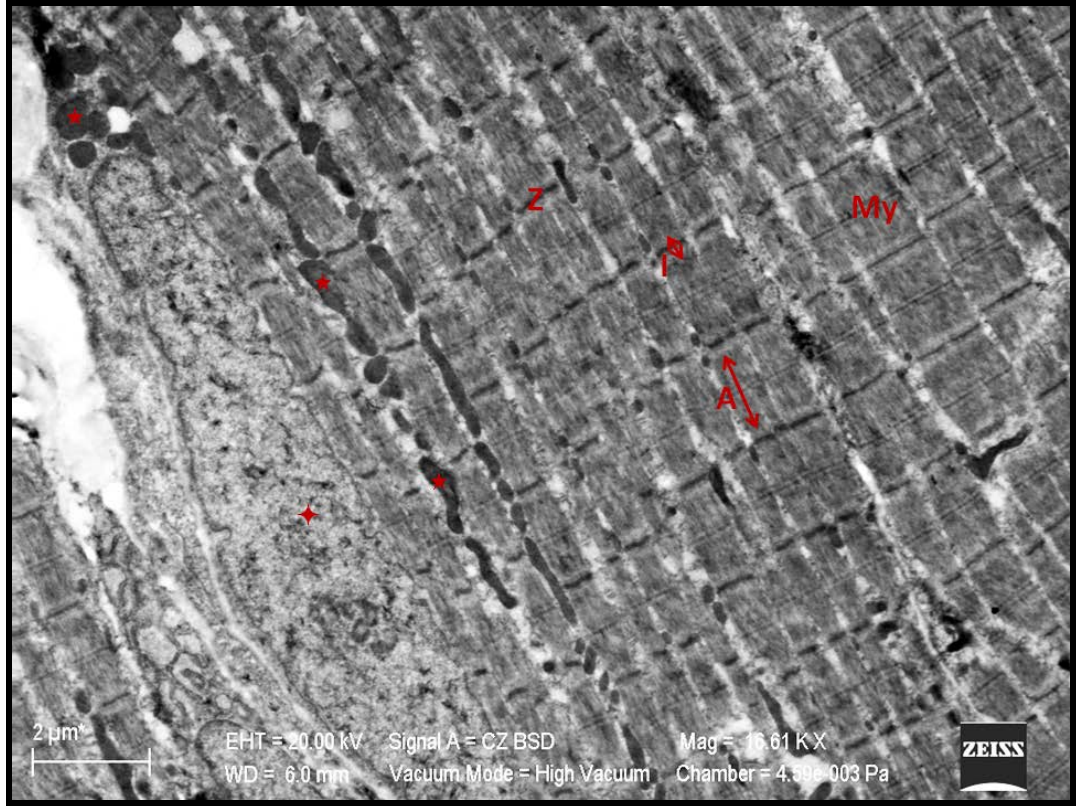
Fotoğraf 73: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde TEM incelemelerinde, iyofibriller (My), ekirdek (♦) ve çekirdekcik (✕) yapıları izleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



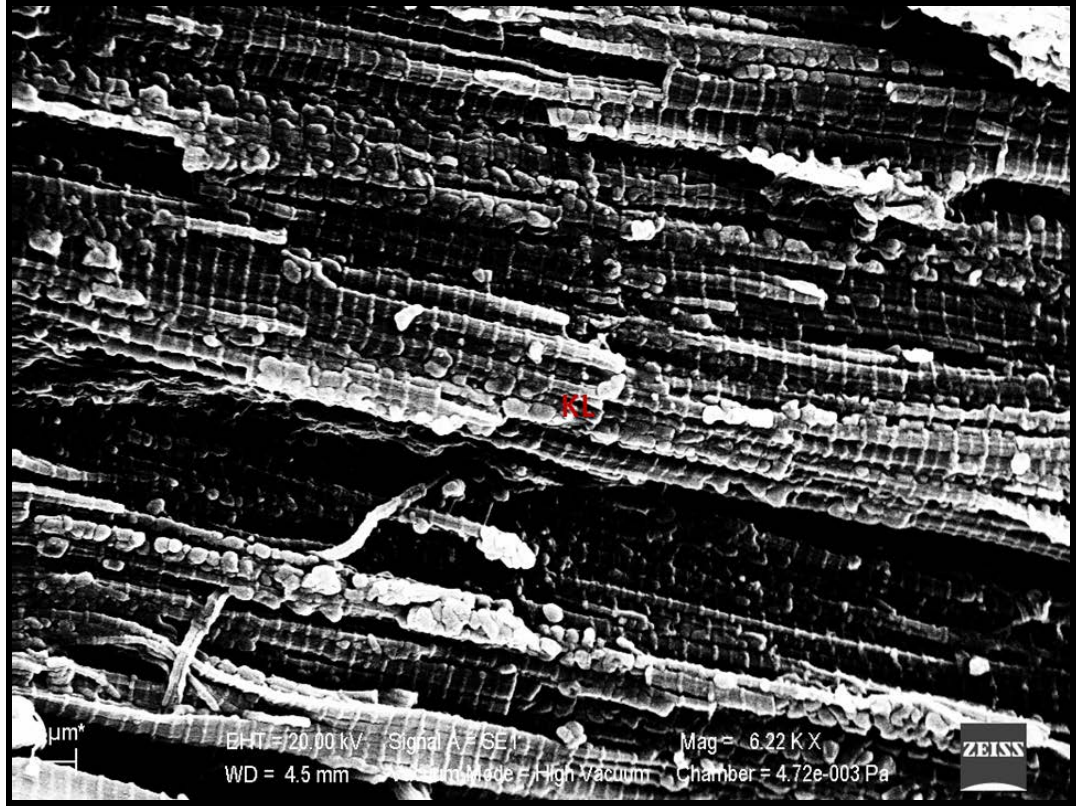
Fotoğraf 74: Yenidoğan grubuna ait iskelet kası örneklerinde, daha büyük büyütmeli TEM incelemelerinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyon (★), A bandı (A), I bandı (I) ve Z çizgileri (Z) görülüyor. (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



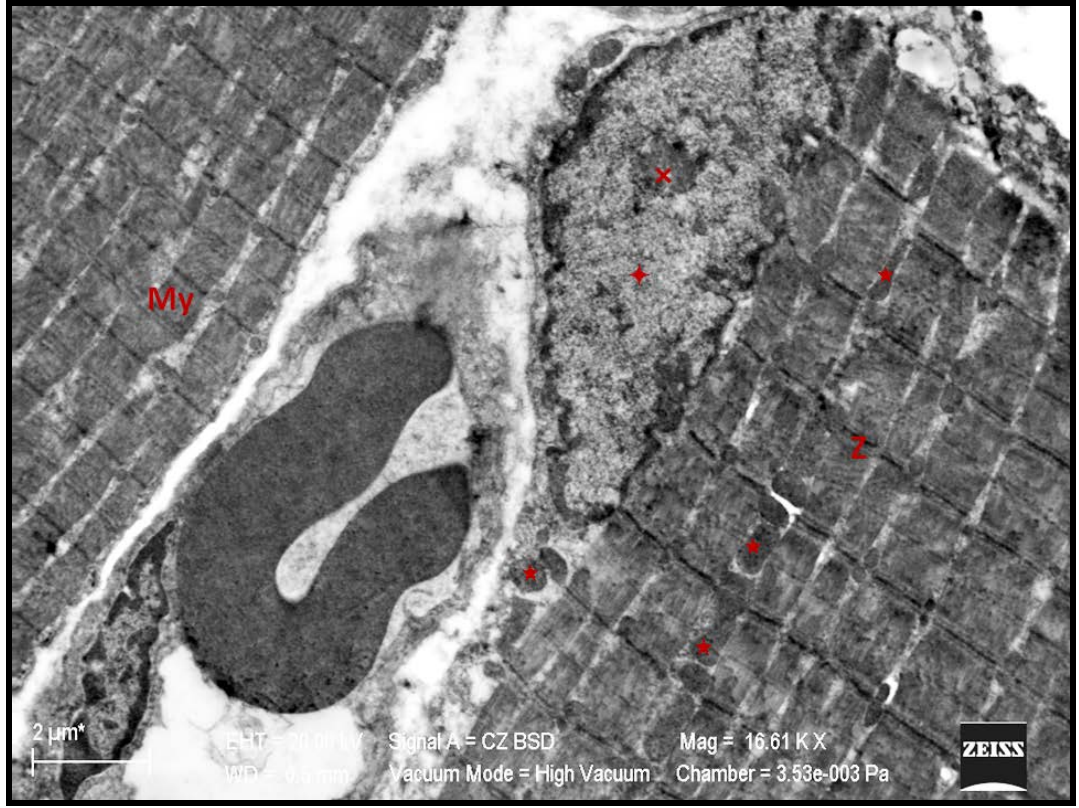
Fotoğraf 75: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde SEM incelemelerinde belirgin kas lifleri (KL) izleniyor.



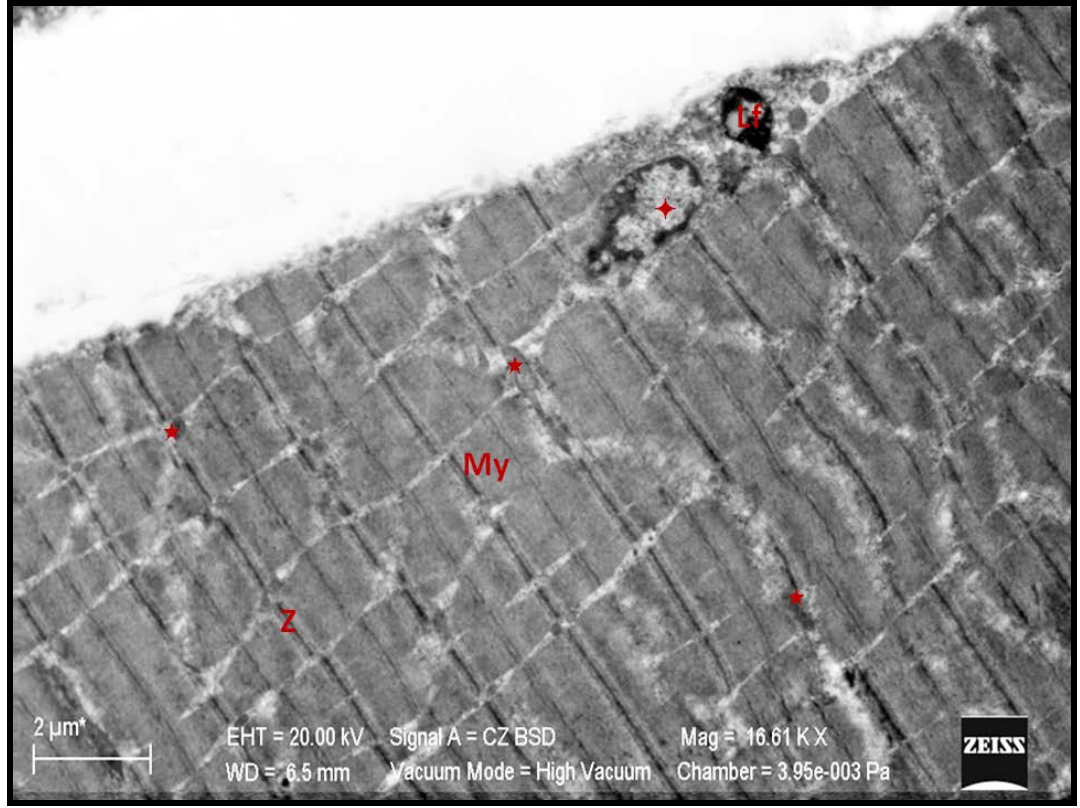
Fotoğraf 76: 1 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde TEM fotoğraflarında, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyon (★), A bandı (A), I bandı (I) ve Z çizgileri (Z) gözlemleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



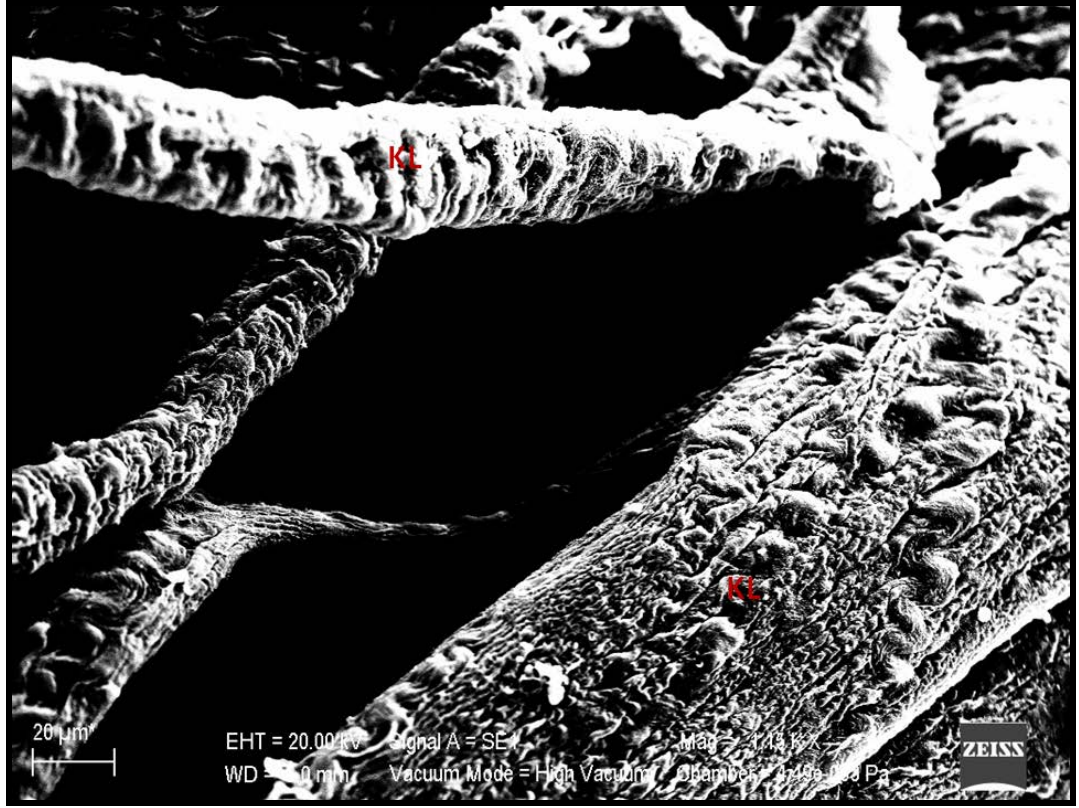
Fotoğraf 77: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde SEM incelemelerinde kas lifleri (KL) ve miyofibriller ayırt ediliyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



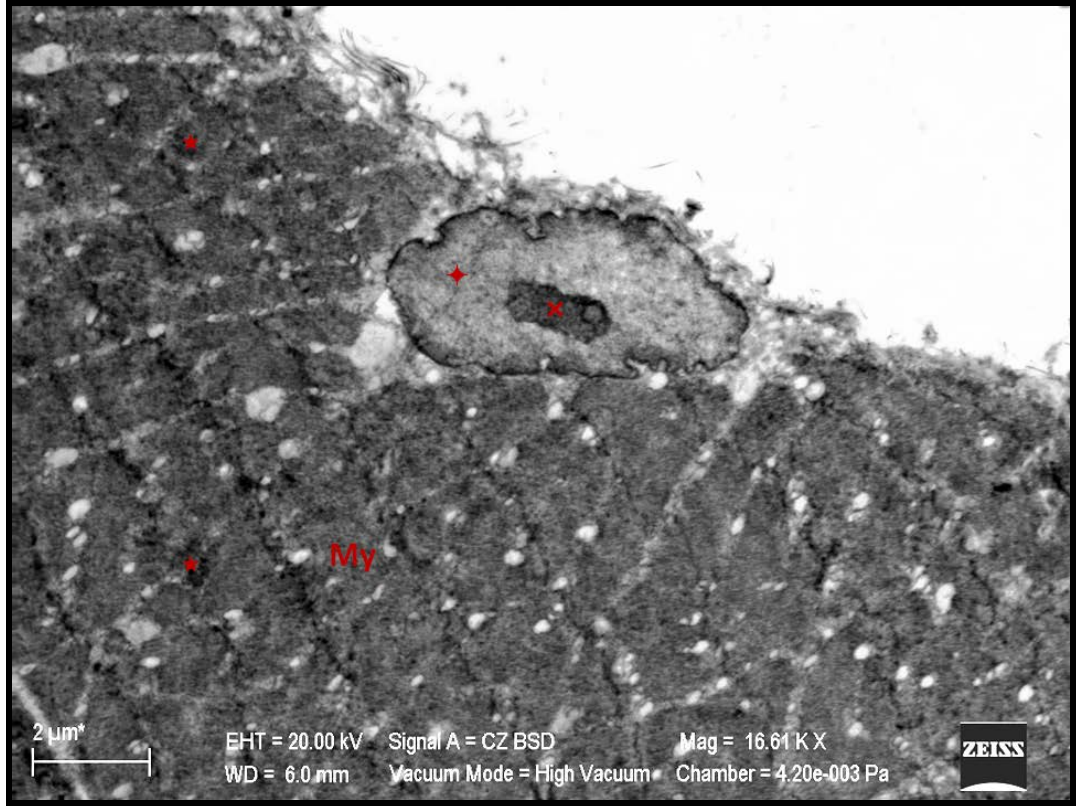
Fotoğraf 78: 6 aylık gruba ait TEM incelemelerinde iskelet kası örneklerinde miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyon (★) ve Z çizgileri (Z) görülüyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



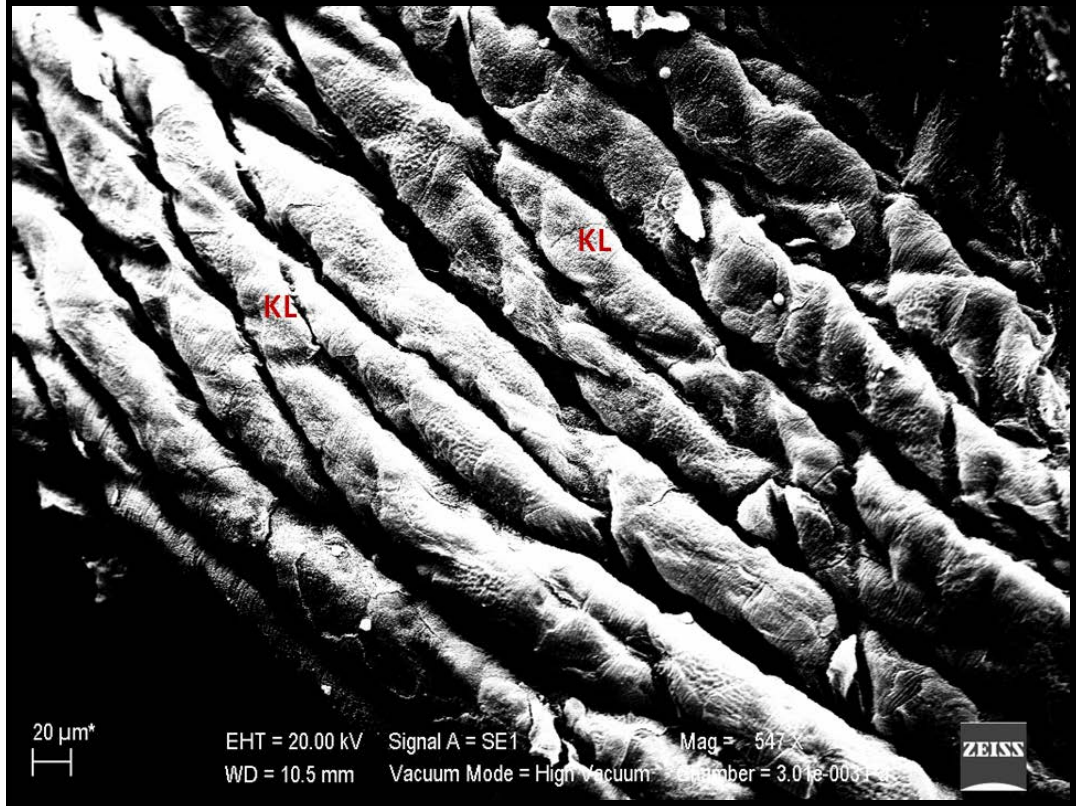
Fotoğraf 79: 6 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde TEM incelemelerinde miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyon (★), A bandı (A), I bandı (I) ve Z çizgileri (Z) ile lipofuksin (Lf) benzeri yapılar ilgiyi çekiyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



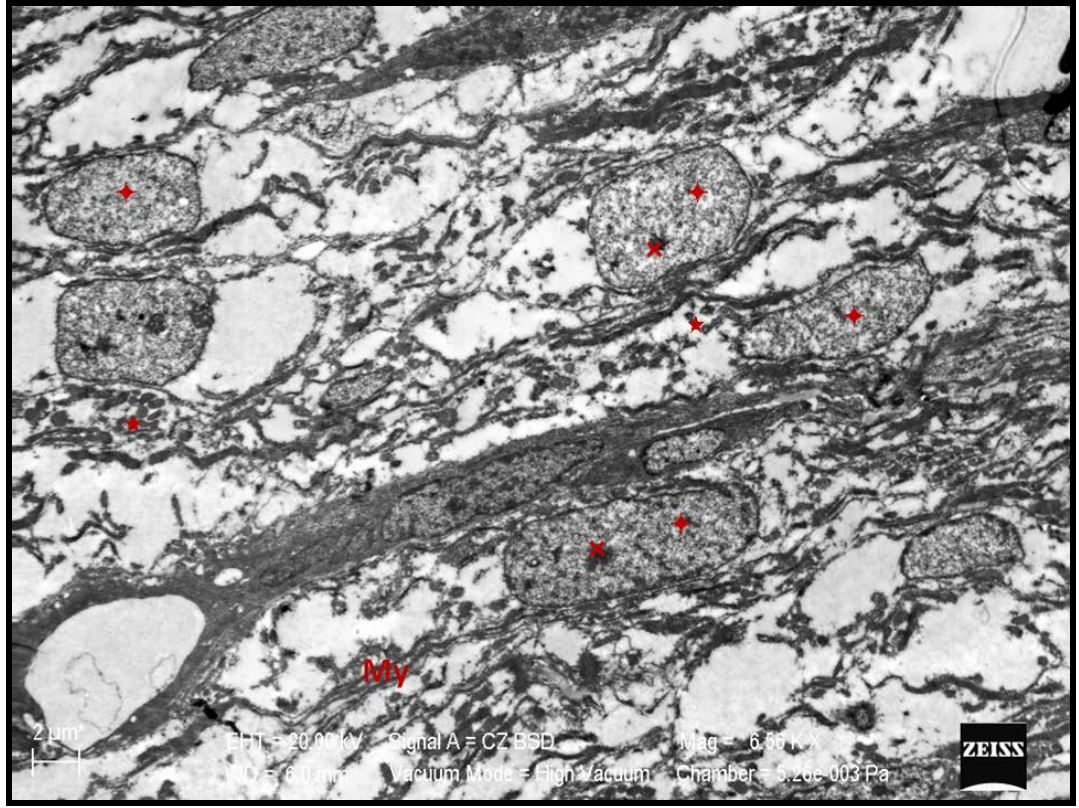
Fotoğraf 80: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde SEM incelemelerinde gelişkin kas lifleri (KL) ayırt ediliyor.



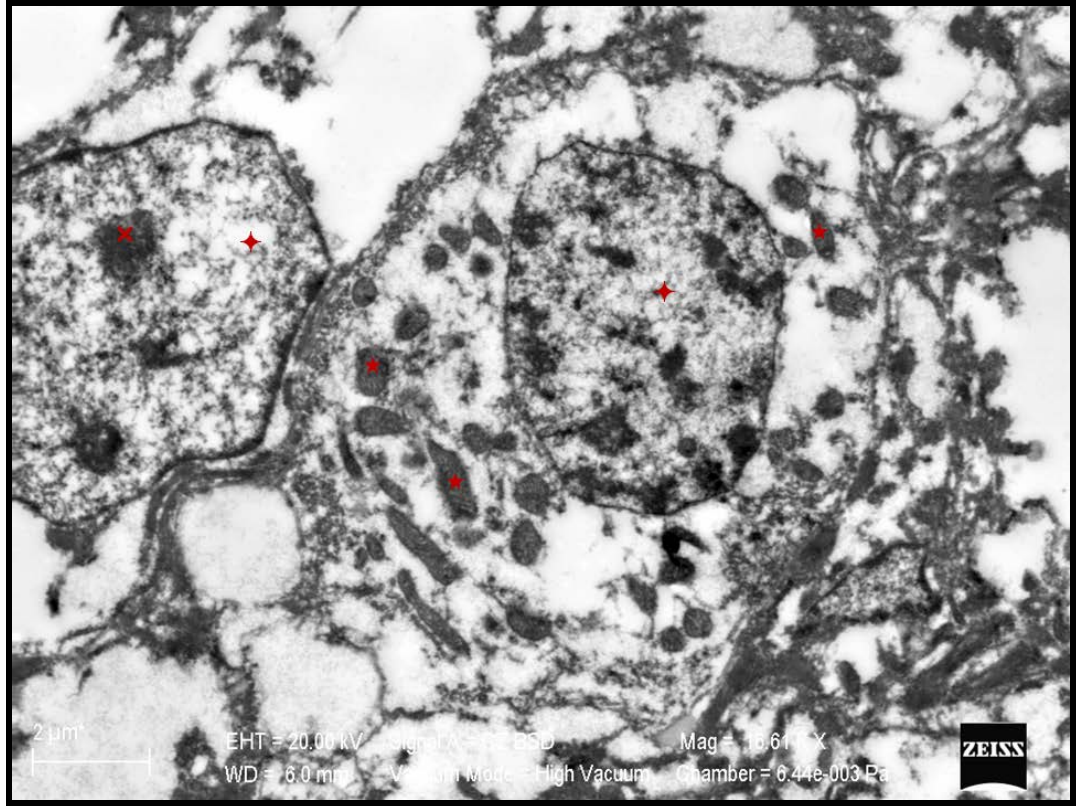
Fotoğraf 81: 12 aylık gruba ait iskelet kası örneklerinde TEM incelemelerinde kas lifinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕) ve mitokondriyon (★) izleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



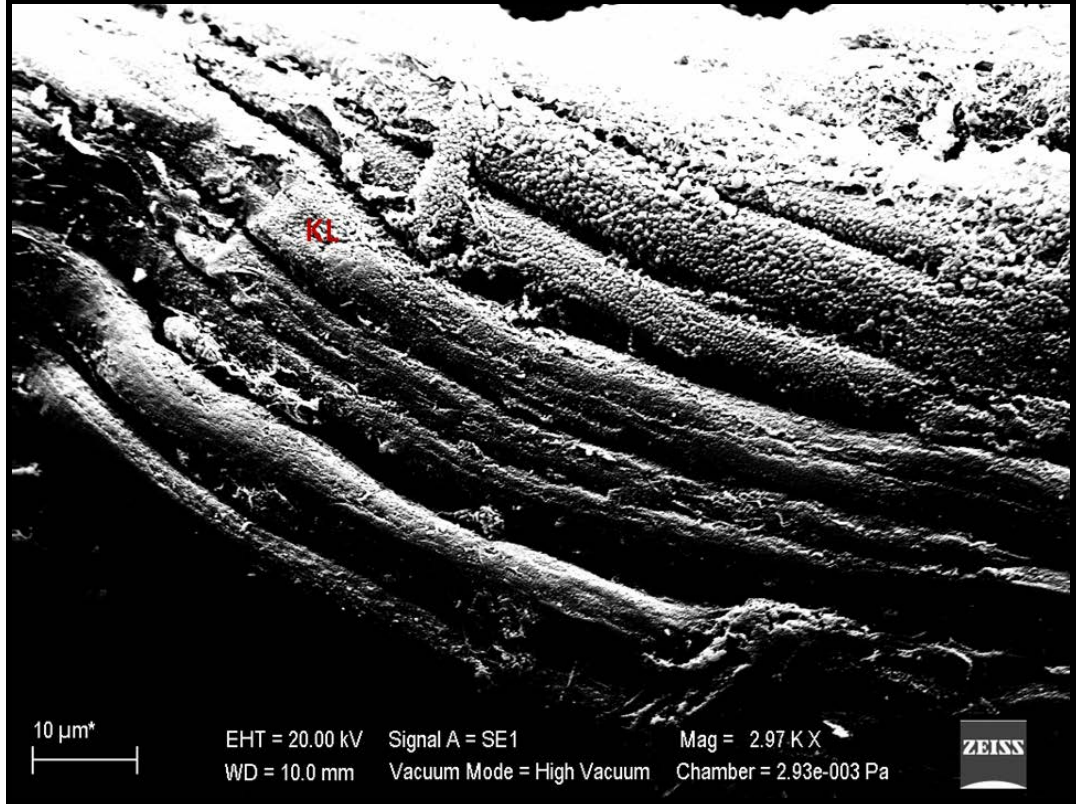
Fotoğraf 82: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinde SEM incelemelerinde kas lifleri (KL) dikkati çekiyor.



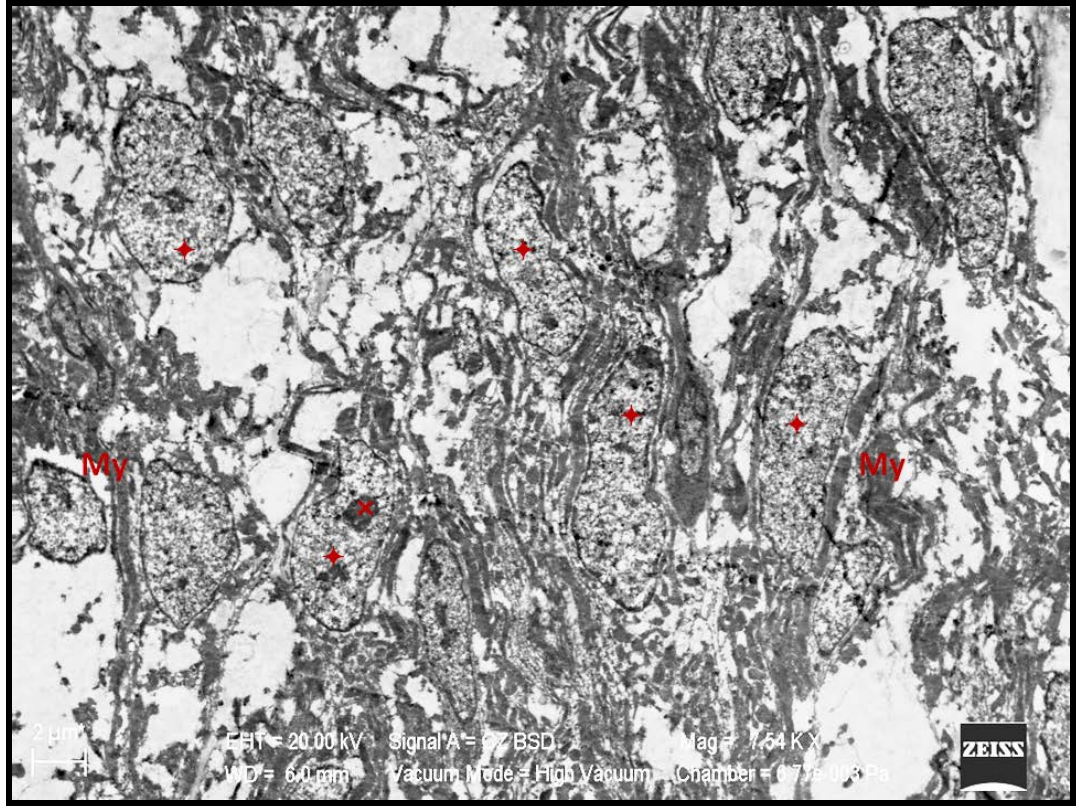
Fotoğraf 83: Doğum öncesi gruba ait kalp kası örneklerinin TEM incelemelerinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕) ve mitokondriyonlar (★) ayırt ediliyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



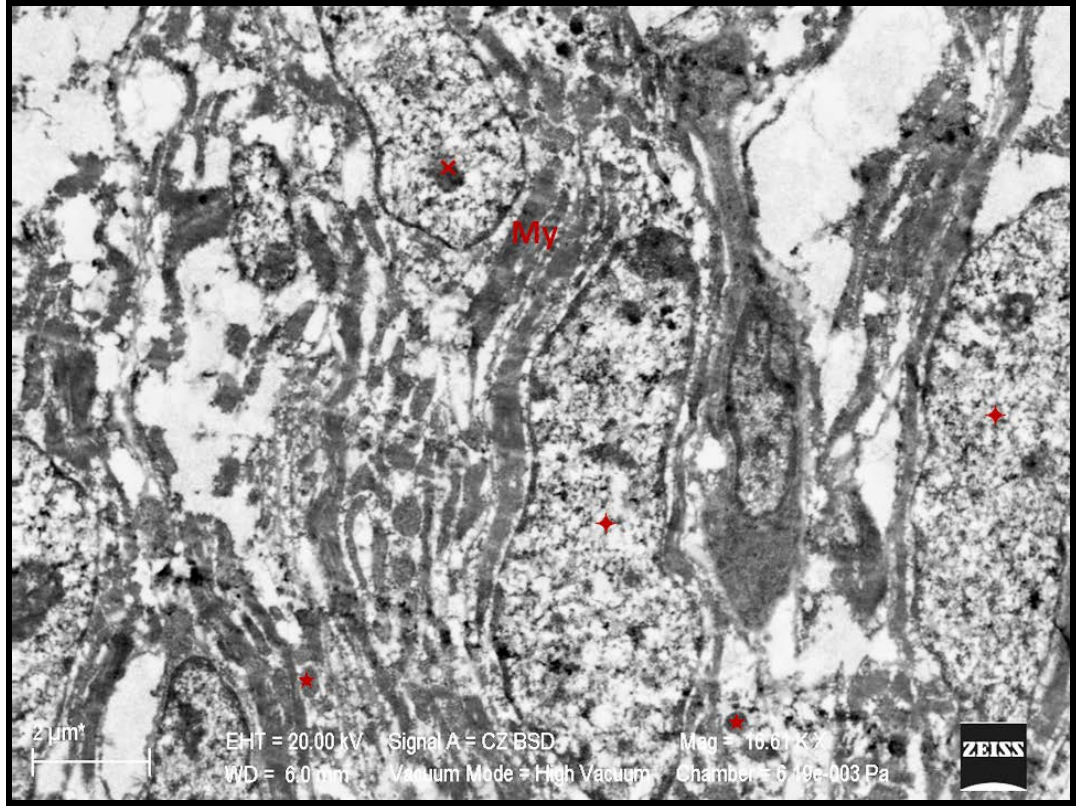
Fotoğraf 84: Doğum öncesi gruba ait TEM incelemelerinde daha büyük büyültmelerdeki kalp kası örneklerinde, çekirdek (◆), çekirdekcik (✕) ve mitokondriyonlar (★) görülüyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



Fotoğraf 85: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinde SEM incelemelerinde kalp kası liflerinin (KL) düzenlenimi ayırt ediliyor.



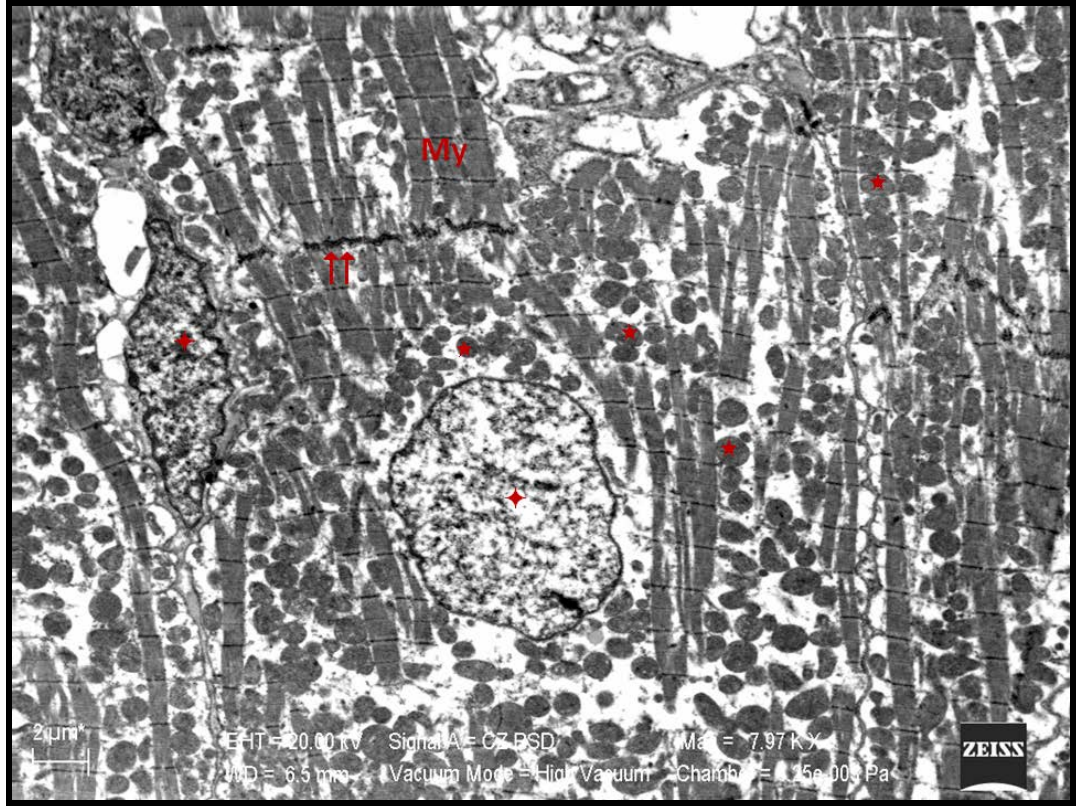
Fotoğraf 86: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinin TEM incelemelerinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕) ve mitokondriyonlar (★) izleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



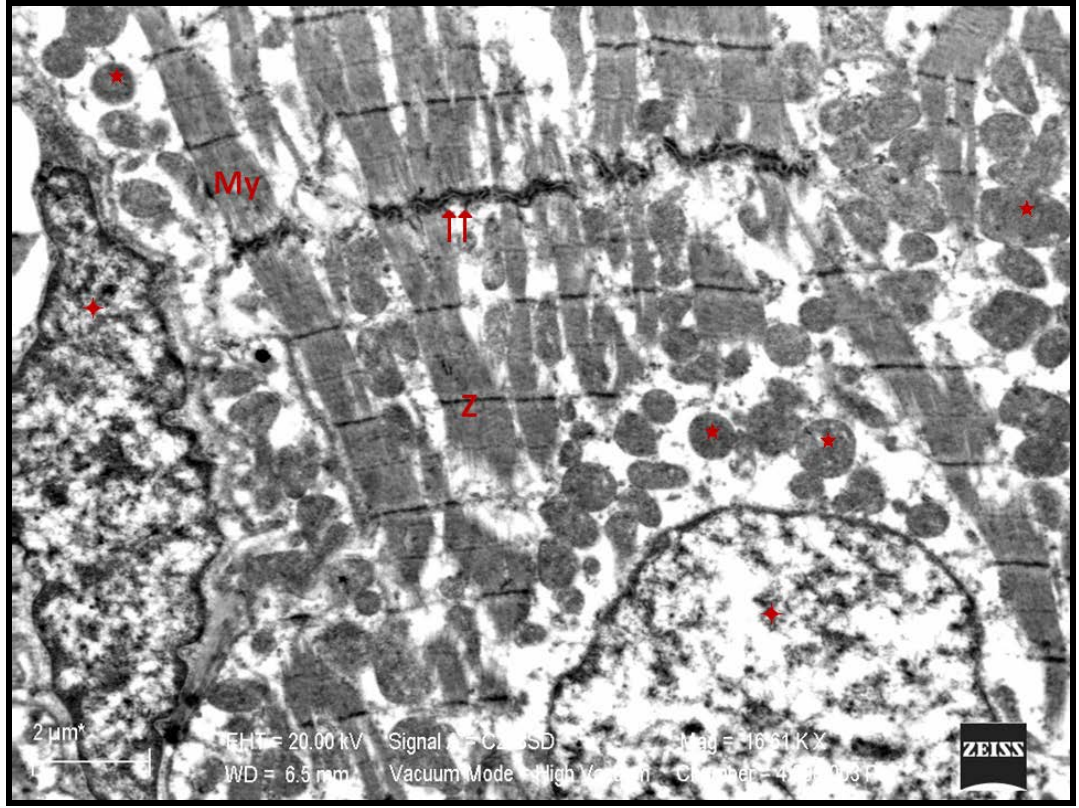
Fotoğraf 87: Yenidoğan grubuna ait kalp kası örneklerinin TEM incelemelerinde miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕) ve mitokondriyonlar (★) görülüyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



Fotoğraf 88: 1 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde SEM incelemelerinde kas liflerinin (KL) düzenlenimi ayırt ediliyor.



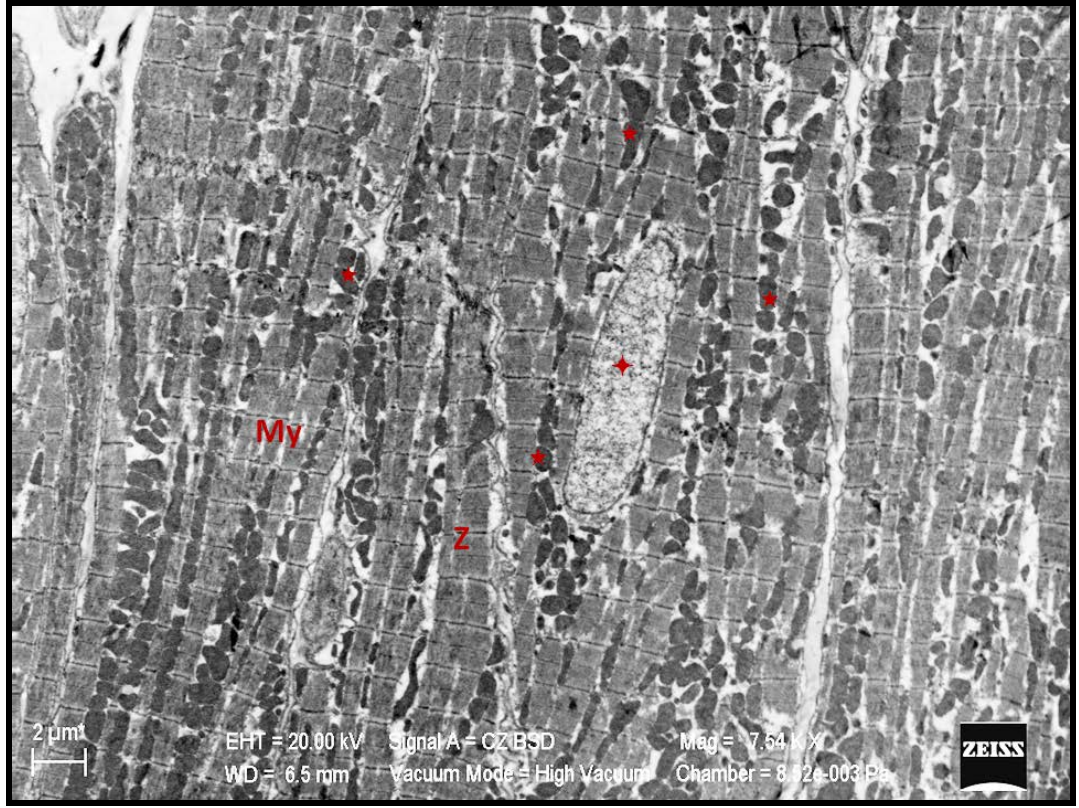
Fotoğraf 89: 1 aylık gruba ait TEM incelemelerinde kalp kası örneklerinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyonlar (★), Z çizgileri (Z) ve diskus interkalarisler (↑↑) dikkati çekiyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



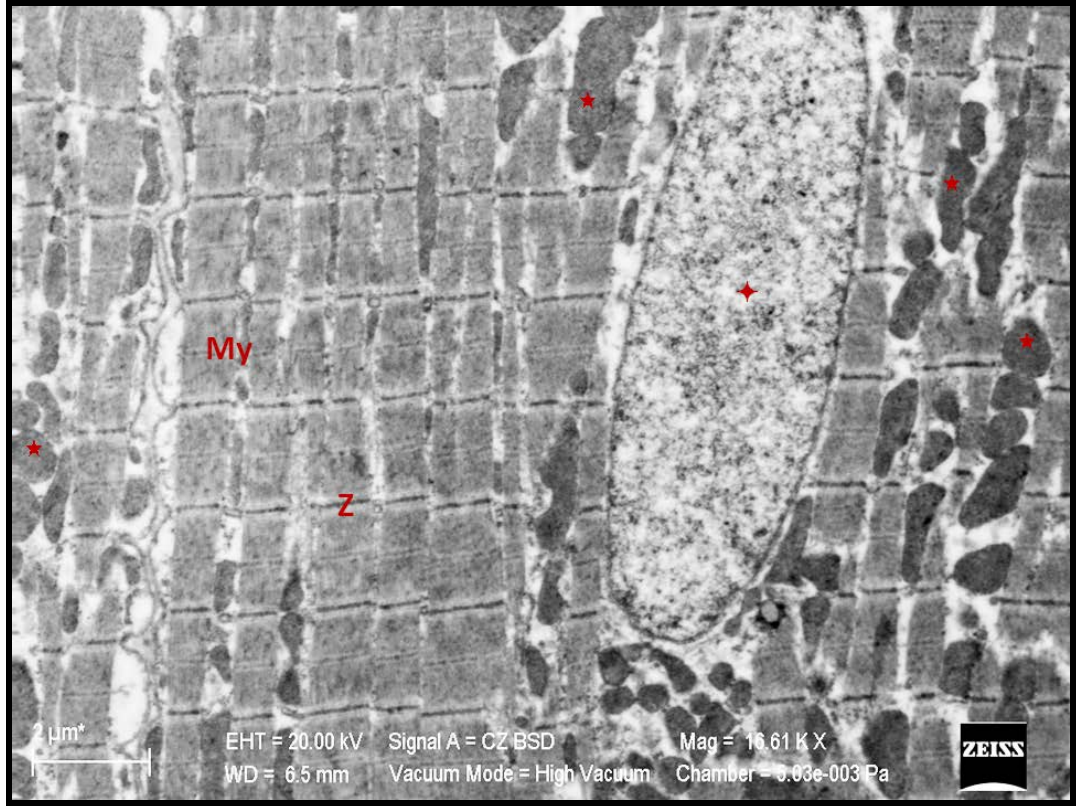
Fotoğraf 90: 1 aylık gruba ait TEM incelemelerinde kalp kası örneklerindeki daha büyük büyültmeli incelemelerde miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (×), mitokondriyonlar (★), Z çizgileri (Z) ve diskus interkalarisler (↑↑) gözlemleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



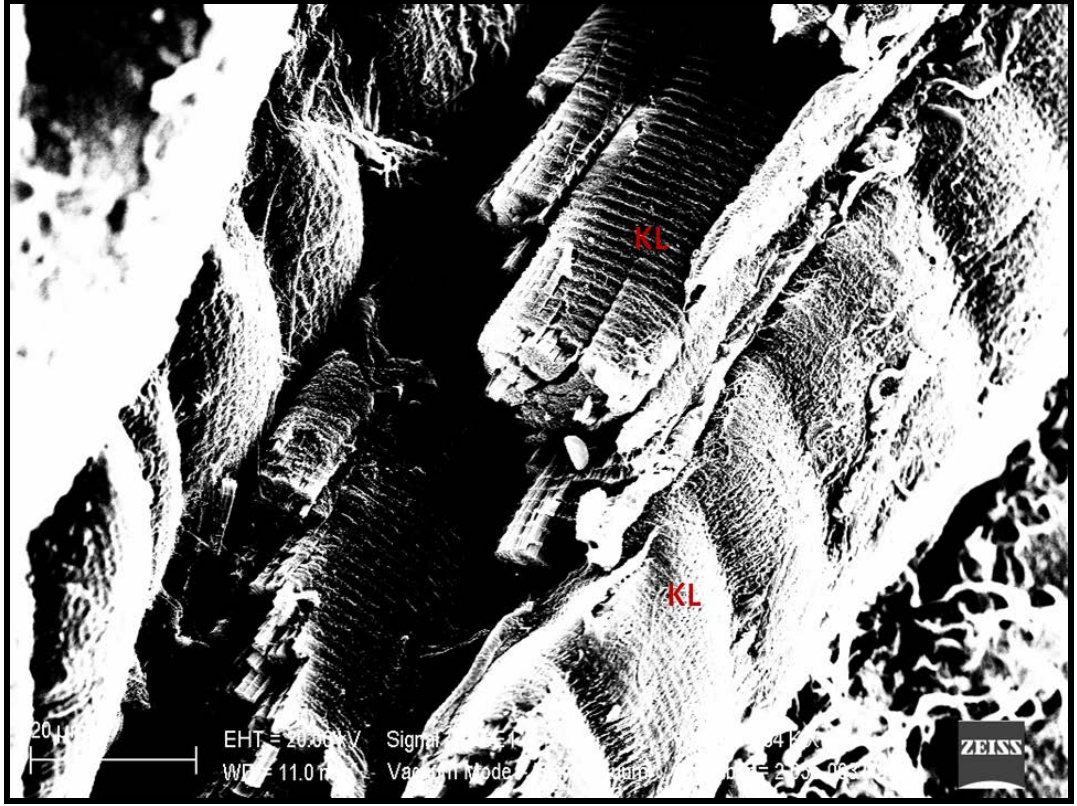
Fotoğraf 91: 6 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde SEM incelemelerinde kas liflerinin (KL) düzenlenimi görölüyor.



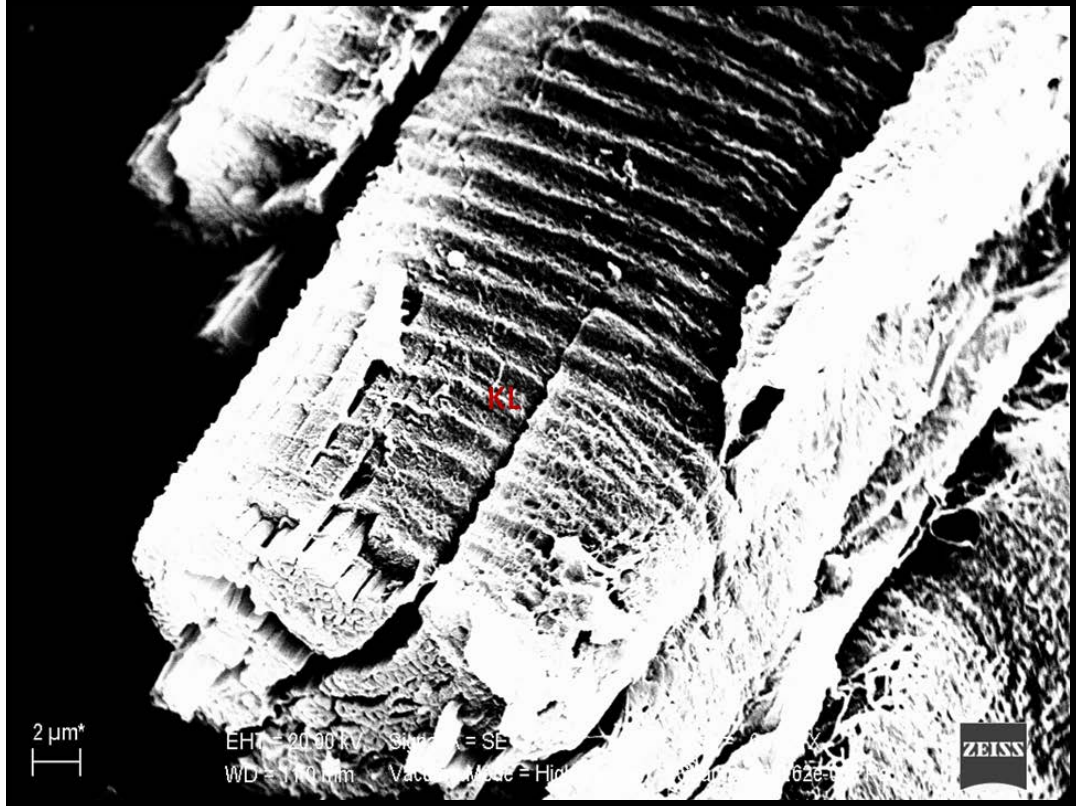
Fotoğraf 92: 6 aylık gruba ait TEM incelemelerinde kalp kası örneklerinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyonlar (★) ve Z çizgileri (Z) izleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



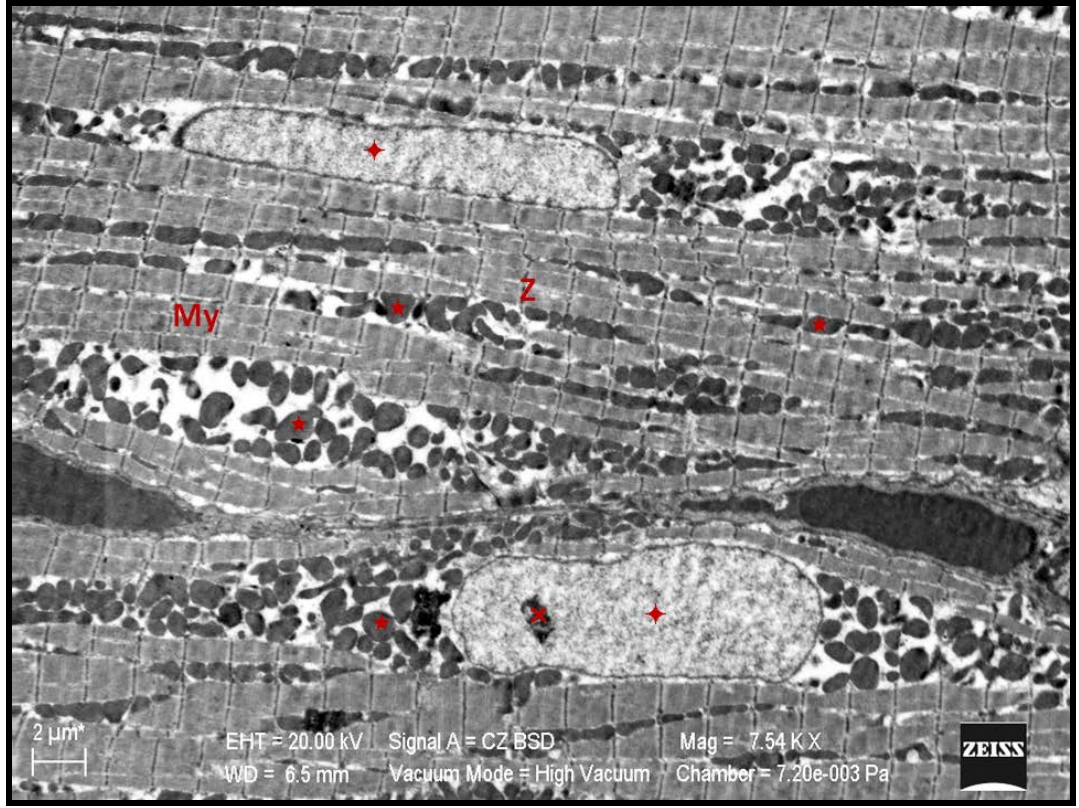
Fotoğraf 93: 6 aylık gruba ait TEM incelemelerinde daha büyük büyültmelerde, kalp kasında miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyonlar (★) ve Z çizgileri (Z) ayırt ediliyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



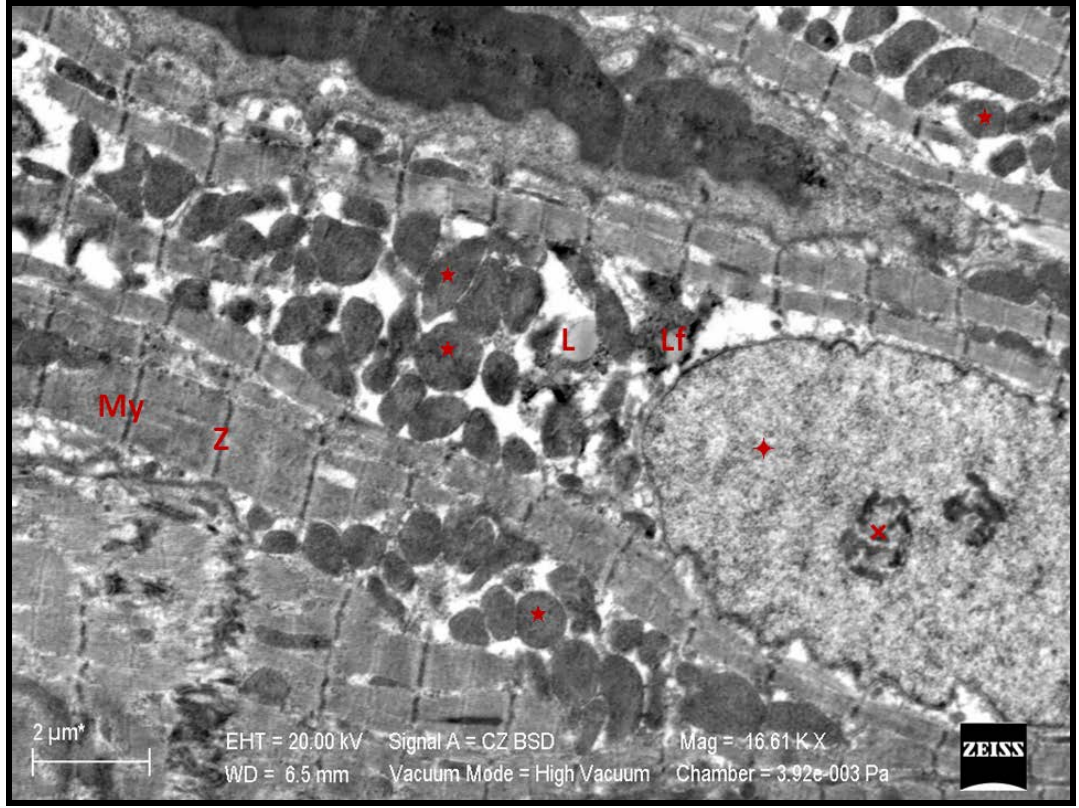
Fotoğraf 94: 12 aylık gruba ait SEM incelemelerinde, kalp kası liflerinin (KL) yerleşimi dikkati çekiyor.



Fotoğraf 95: 12 aylık gruba ait SEM incelemelerinde, daha büyük büyültmelerde kalp kası liflerinin (KL) yerleşimi izleniyor.



Fotoğraf 96: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde TEM incelemelerinde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (✕), mitokondriyonlar (★) ve Z çizgileri (Z) gözlemleniyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).



Fotoğraf 97: 12 aylık gruba ait kalp kası örneklerinde TEM incelemelerinde daha büyük büyültmelerde, miyofibriller (My), çekirdek (◆), çekirdekcik (×), mitokondriyonlar (★), Z çizgileri (Z), lipofuksin (Lf) ve lipid (L) ayırt ediliyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat).

4.4. İstatistik Bulguları

Çalışmamızda, iskelet kası örneklerinde gruplara göre mitokondriyon sayıları istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirmeler iskelet kasında subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede yapıldı. Subsarkolemmal bölgede yapılan sayımlarda, gruplar arası mitokondriyon sayılarında sadece 12 aylık grupta 6 aylık gruba karşın azalma olduğu görüldü ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo5, Grafik3). İntermiyofibriller bölgede ise, doğum öncesi grubuna karşın 1, 6 ve 12 aylık gruplarda mitokondriyon sayısında istatistiksel olarak artış saptandı ($p<0.05$). Yenidoğan grubunda ise 1 ve 6 aylık gruplara karşın anlamlı bir azalma vardı ($p<0.05$). Yapılan değerlendirmelerde diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı ($p>0.05$) (Tablo6, Grafik4).

Çalışmamızda mitokondriyon çap ölçümleri de subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede yapıldı. Buna göre subsarkolemmal bölgede yapılan ölçümlerde 12 aylık grupta, doğum öncesi gruba karşın mitokondriyon çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p<0.05$). Benzer olarak 12 aylık gruba karşın yenidoğan grubunda da mitokondriyon çaplarının daha küçük olduğu belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo5, Grafik5). Yapılan değerlendirmelerde intermiyofibriller bölgede ise, subsarkolemmal bölgede yapılan değerlendirmelerden ayrıcalıklı olarak doğum öncesi ve 6 aylık gruplar arasında da artış belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Benzer şekilde intermiyofibriller bölgede, subsarkolemmal bölgeden ayrıcalıklı olarak, yenidoğan grubunda da 6 aylık gruba karşın mitokondriyon çaplarının azaldığı görüldü ($p<0.05$). Yine intermiyofibriller bölgede yapılan ölçümlerde, 12 aylık grupta da 1 ay ve 6

aylık gruplara karşın mitokondriyon çaplarının arttığı belirlendi ($p<0.05$) (Tablo6, Grafik6).

Kalp kası örneklerinde de iskelet kası örneklerinde olduğu gibi gruplara göre mitokondriyon sayıları istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirmeler kalp kasında subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede yapıldı. Subsarkolemmal bölgede yapılan sayımlarda mitokondriyon sayısının 6 aylık grupta doğum öncesi, yenidoğan ve 1 aylık gruba karşın arttığı saptandı ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). 12 aylık grupta ise 6 aylık gruba karşın azalma belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo5, Grafik7). İntermiyofibriller bölgede yapılan değerlendirmelerde ise, subsarkolemmal bölgeden ayrıcalıklı olarak, yenidoğan grubunda doğum öncesi gruba karşın azalma olduğu saptandı ($p<0.05$). Yenidoğan grubuna göre 1, 6 ve 12 aylık gruba gelinceye dek tüm gruplarda mitokondriyon sayısında artış olduğu belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). 12 aylık grupta ise 6 aylık gruba karşın bir azalma söz konusuydu ($p<0.05$) (Tablo6, Grafik8). Bu azalmanın aynı grubun subsarkolemmal bölgesinde belirlenen azalmaya benzer olduğu dikkati çekti.

Çalışmamızda iskelet kasına benzer olarak kalp kasında da subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede mitokondriyon çap ölçümleri yapıldı. Buna göre subsarkolemmal bölgede yapılan ölçümlerde, iskelet kasından farklı olarak doğum öncesi ile 1 aylık, 6 aylık ve 12 aylık gruplarda mitokondriyon çaplarının anlamlı olarak arttığı belirlendi ($p<0.05$). Yine yenidoğan grubunda da 6 aylık ve 12 aylık gruplara karşın mitokondriyon çaplarının daha küçük olduğu görüldü ve farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). 1 aylık grupta, 6 ve 12 aylık gruplara karşın mitokondriyon çaplarının daha küçük olduğu belirlendi

($p<0.05$). Yapılan değerlendirmelerde 6 aylık gruba karşın, 12 aylık grupta mitokondriyon çaplarının arttığı görüldü ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$) (Tablo5, Grafik9). Kalp kasında intermiyofibriller bölgede mitokondriyon çapları değerlendirildiğinde ise, subsarkolemmal bölgeden ayrıcalıklı olarak doğum öncesi ve 1 aylık gruplar arasında artış görülmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Diğer bulgulardan ayrıcalıklı olarak ise 6 aylık ve 12 aylık gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmedi ($p>0.05$). Bu karşılaştırmada doğum öncesi, yenidoğan ve 1 aylık grupların ayrı ayrı 6 ve 12 aylık gruplara karşın mitokondriyon çaplarının anlamlı olarak daha küçük olduğu belirlendi ($p<0.05$) (Tablo6, Grafik10).

İskelet ve kalp kasında subsarkolemmal bölgede mitokondriyon sayıları incelendiğinde, kalp kasından ayrıcalıklı olarak, iskelet kasında sadece 6 ve 12 aylık gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmesi ilgiyi çekti ($p<0.05$). İntermiyofibriller bölgede yapılan değerlendirmelerde ise kalp kasında iskelet kasından ayrıcalıklı olarak doğum öncesi ve 1 aylık gruplar arasında mitokondriyon sayısı bakımından fark olmadığı görüldü($p>0.05$).

İskelet ve kalp kası subsarkolemmal bölgede mitokondriyon çapları incelendiğinde, kalp kasında hemen hemen tüm gruplarda anlamlı bir fark belirlenmekle birlikte, iskelet kasında sadece doğum öncesi ve yenidoğan gruplarının 12 aylık gruba karşın anlamlı fark göstermesi dikkati çekti ($p<0.05$). İntermiyofibriller bölgede ise iskelet kasında 6 ve 12 aylık gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasına karşın ($p<0.05$), kalp kasında bu gruplar arasında anlamlı bir fark olmaması ilgiyi çekti ($p>0.05$).

Tablo 5: Subsarkolemmal bölge mitokondriyon ölçümleri tablosu.

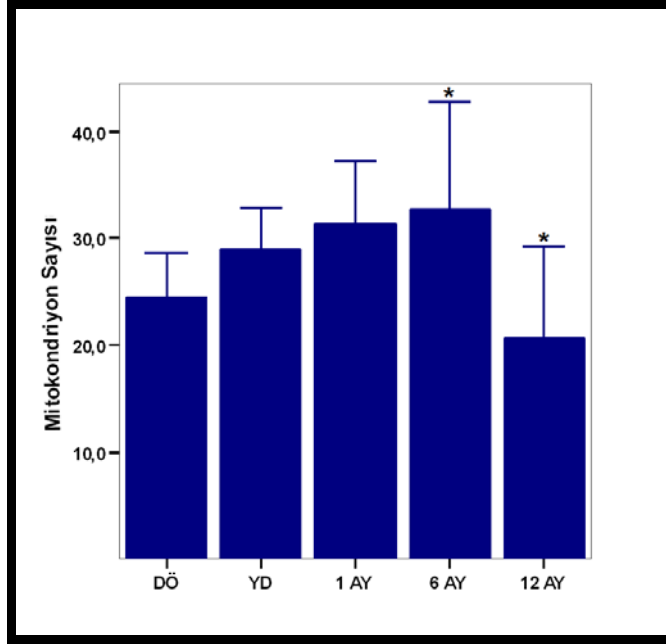
*	<u>İskelet Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Sayısı</u>	<u>Kalp Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Sayısı</u>	<u>İskelet Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Çapı</u>	<u>Kalp Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Çapı</u>
Doğum öncesi	24.5 ± 3.9 ^{a,b}	56.3 ± 7.9 ^a	422.9 ± 27.5 ^b	360.6 ± 79.9 ^{d,e}
Yeni doğan	29.0 ± 3.7 ^{a,b}	50.8 ± 17.5 ^a	441.5 ± 77.5 ^b	481.1 ± 73.9 ^{c,d}
1 ay	31.3 ± 5.5 ^{a,b}	34.2 ± 12.1 ^a	458.5 ± 60.9 ^{a,b}	490.5 ± 85.6 ^c
6 ay	32.7 ± 9.6 ^b	117.0 ± 24.2 ^b	538.6 ± 73.4 ^{a,b}	692.5 ± 61.1 ^b
12 ay	20.7 ± 8.2 ^a	46.2 ± 8.2 ^a	572.9 ± 88.1 ^a	938.6 ± 49.6 ^a

★: Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli, aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli değildir.

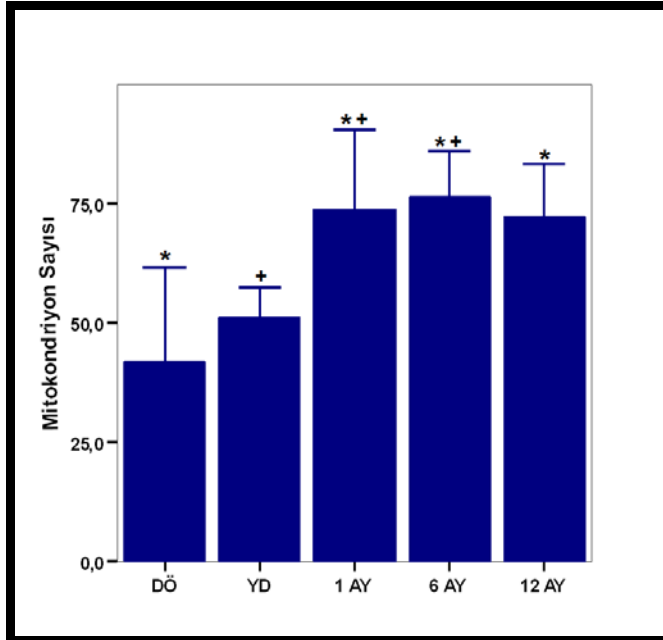
Tablo 6: İntermiyofibriller bölge mitokondriyon ölçümleri tablosu.

*	<u>İskelet Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Sayısı</u>	<u>Kalp Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Sayısı</u>	<u>İskelet Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Çapı</u>	<u>Kalp Kası</u> <u>Mitokondriyon</u> <u>Çapı</u>
Doğum öncesi	41.8 ± 18.6 ^c	77.7 ± 16.5 ^c	419.9 ± 58.6 ^c	356.9 ± 48.2 ^b
Yeni doğan	51.2 ± 5.8 ^{a,c}	52.3 ± 7.9 ^d	435.3 ± 30.7 ^c	475.2 ± 61.6 ^b
1 ay	73.7 ± 15.8 ^{a,b}	80.7 ± 10.6 ^c	448.2 ± 58.3 ^{b,c}	478.3 ± 95.4 ^b
6 ay	76.3 ± 9.1 ^{a,b}	139.0 ± 21.4 ^b	535.4 ± 59.7 ^b	785.4 ± 25.6 ^a
12 ay	72.2 ± 10.4 ^a	104.8 ± 6.1 ^a	731.5 ± 45.4 ^a	862.0 ± 167.6 ^a

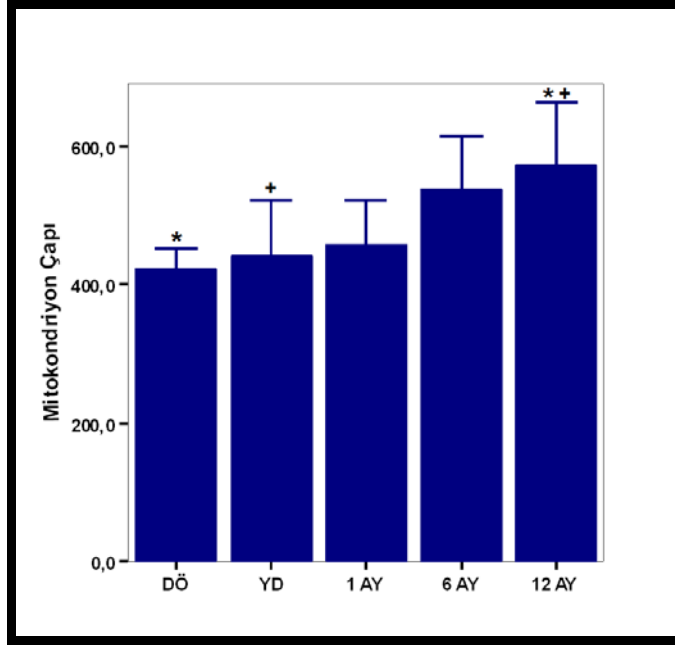
★: Farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli, aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli değildir.



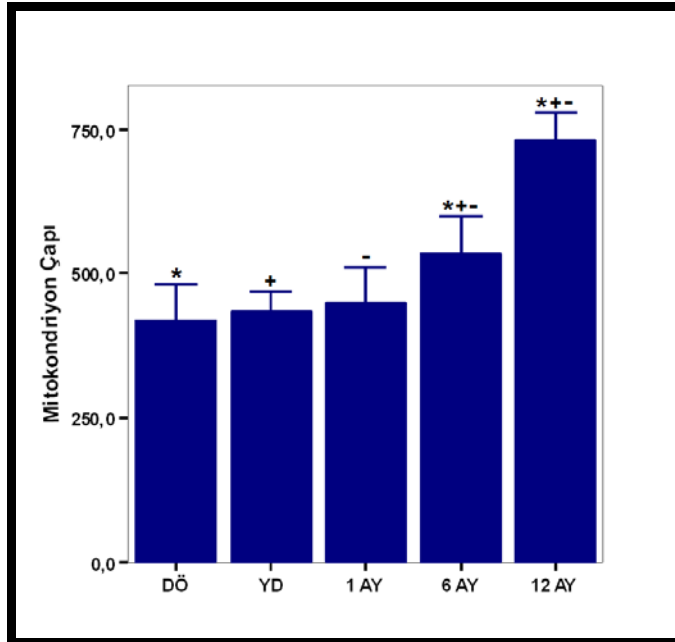
Grafik 3: İskelet kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği. ★: 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).



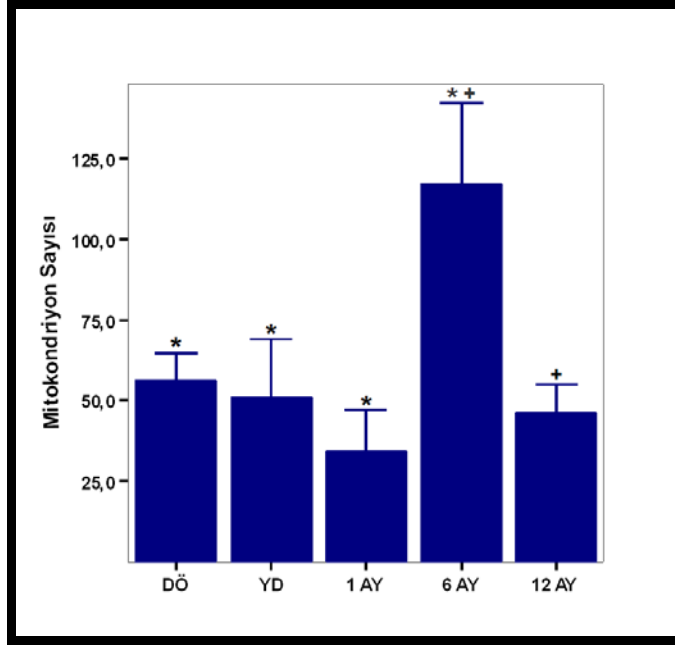
Grafik 4: İskelet kasına ait intermyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği. ★: Doğum öncesi grubu ile 1, 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), +: Yenidoğan grubu ile 1 ve 6 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).



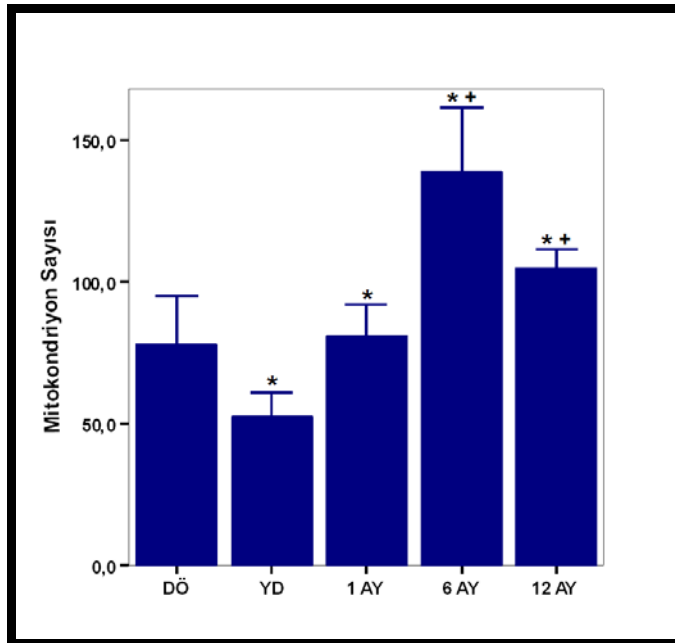
Grafik 5: İskelet kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği. ★: Doğum öncesi ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), +: Yenidoğan ve 6 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).



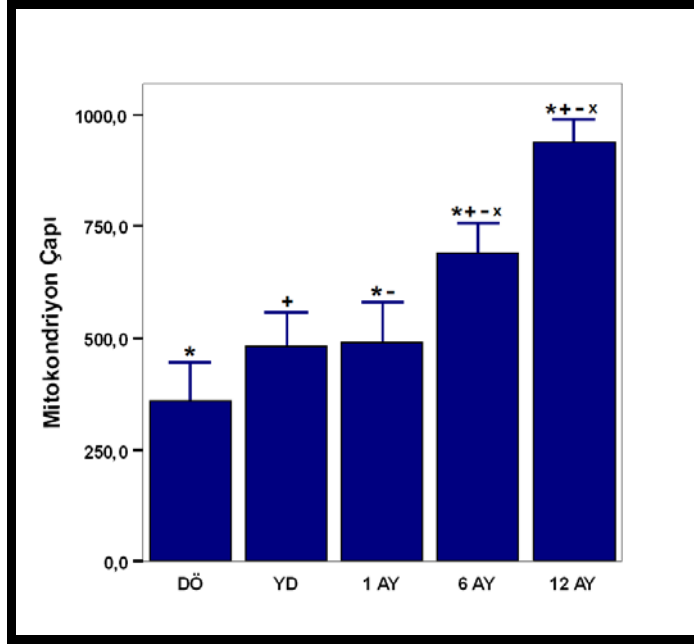
Grafik 6: İskelet kasına ait intermiyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği. ★: Doğum öncesi grubu ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), +: Yenidoğan grubu ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), -: 1 ay ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).



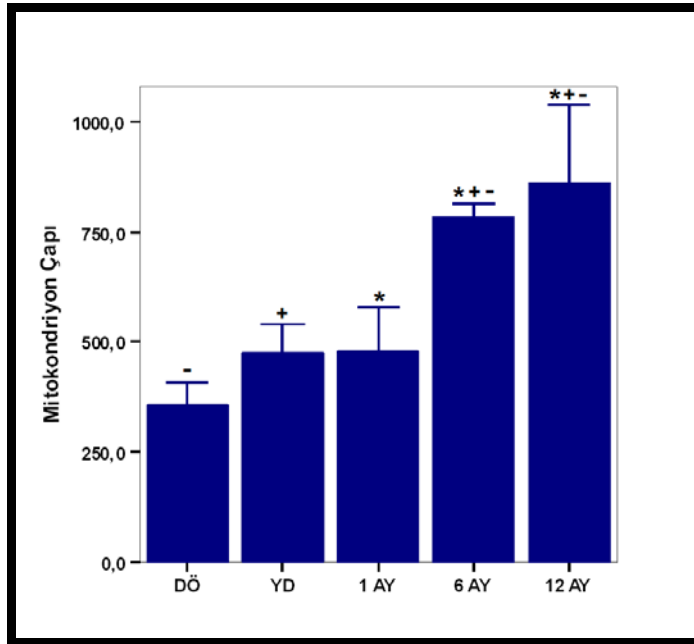
Grafik 7: Kalp kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği. ★: Doğum öncesi grubu ile yenidoğan, 1 ve 6 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), +: 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).



Grafik 8: Kalp kasına ait intermyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon sayısı ölçümleri grafiği. ★: Yenidoğan grubu ile 1, 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), +: 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).



Grafik 9: Kalp kasına ait subsarkolemmal bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği. ★: Doğum öncesi grubu ile 1, 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), +: Yenidoğan grubu ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), -: 1 ay ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), X: 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).



Grafik 10: Kalp kasına ait intermyofibriller bölgede yapılan mitokondriyon çapı ölçümleri grafiği. ★: 1 ay grubu ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), +: Yenidoğan grubu ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$), -: Doğum öncesi grubu ile 6 ve 12 aylık gruplar arasındaki fark ($p<0,05$).

5. TARTIŞMA

Yaşlanma süreci doğumla başlayan, zamana koşut artarak organizmanın ölümüne neden olan hücresel değişimlerin tümünü kapsar. Yaş artışına koşut tüm organizmada olaylanan bu değişimler, bazı dokularda öncelikli olarak kişinin yaşam kalitesini düşürecek etkilere neden olur. Yaşlanma sırasında belirli dokularda azalan ya da artan moleküllerin ve bu moleküllerin etki düzeneklerinin belirlenmesi bu sürecin işleyişinin anlaşılmasında önemli katkı sağlar.¹

Yaşlılık özellikle yağsız vücut kitlesi ve kas kitlesinin aşamalı olarak yitimi ile ilgilidir.⁶² İnsanlarda kas yitimi aslında 30' lu yaşlarda başlar ve yaşam boyu sürer. İskelet kasları, yaşlandıkça küçülür ve güçsüzleşir. Nedeni tam olarak bilinmese de, 45 yaşından başlayarak 90' lı yaşlara gelindiğinde özel önlemler alınmazsa kas kitlesinin %50' si yitilir.^{63,64} Kas kitlesi azalmasının en önemli nedeni kas lif sayısının azalmasıdır. Kısmen önlenemez bir şekilde ortaya çıkan iskelet kas yitimleri sarkopeni olarak adlandırılır. Sarkopeninin nedeni yaşla birlikte azalan iskelet kaslarının yenilenme yetisidir.^{65,66,67} Kas kitlesinin azalmasının bir diğer önemli nedeni ise GH ve testosteron miktarının azalmasıdır. Bugüne değin edinilen veriler, iskelet kas hasarının oluşum düzeneğini tam olarak açıklayamamaktadır. Serbest radikallerin oluşumundaki artışın, iskelet kasının bir uyum yanıtı oluşturmada uyaran olarak görev yaptığını düşündürmektedir.⁶⁸

Birçok çalışma satellit hücrelerin, doğum sonrası yaşamda kas gelişim ve onarımını sağlayan esas hücreler olduğunu göstermiştir.^{69,70} Kas hücrelerinin yenilenmesi kas dokusunda bulunan

satellit hücrelerce salınan IGF-I ile sağlanabilmektedir.⁷¹ Satellit hücrelerin çoğalma yetisi engellenirse, genç sıçanlardaki kas hipertrofisi durmaktadır.^{72,73} Satellit hücre sayısının yaşa koşut azalması insan⁷⁴ ve kemirgenlerde⁷⁵ iskelet kaslarında atrofi ile sonuçlanır.^{68,76}

Kasta yaşlanma sonucu oluşan değişiklikler, kasın fizyolojik işlevini de azaltır. Kasların kesit alanı belirgin olarak düşer ve bu düşüşe kasılabilir doku oylumunun azalması eşlik eder. Bununla birlikte α -motor nöron sayısının azalmasıyla, kaslarda bulunan motor birim sayısı da düşer. Sonuçta kasın uyarılabilirliği de azalır ve işlev yitimi belirginleşir.⁷⁷ Yaşa koşut olarak fiziksel erkin düşmesi de özellikle hastalıklar sırasında kas kitlesinin daha da azalmasına yol açar.^{78,79}

Bizim çalışmamızda da, doğum öncesi evreye ait iskelet kas örnekleri incelendiğinde, kas lifi demetlerinin son derece ince olduğu ve hücrelerin az gelişkinliği dikkati çekti. Çekirdeklerin yerleşim yerleri ve şekilleri tam olarak belirgin değildi. Çekirdekler, oval şekilli idi ve kromatin dağılımı daha çok çekirdek zarı altında yoğunlaşmıştı. Büyük büyültmelerde yapılan değerlendirmelerde, gelişmiş iskelet kası liflerinin yanı sıra gelişmekte olan tüp yapısındaki hücreler de belirlendi. Bu bölgelerde tek hücrelerin lifleri oluşturmak üzere geliştiği belirgin olarak ayırt edildi. Kas lifleri arasındaki bağ dokusunun oldukça fazla olduğu ilgiyi çekti. Bağ dokusunda yuvarlak şekilli bağ doku hücrelerinin yanı sıra iri ve oval şekilli çekirdeğe sahip kas hücre öncüllerinin dağılımı saptandı. Kas liflerinde enine çizgilenmeler belirsizdi ve düzenli değildi. Ancak bazı kas liflerinde düzenli çizgilenmeler izleniyordu. Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde; iskelet kas lifi demetlerinin biraz daha kalınlaştığı, ancak ara bağ dokusunun hala yoğun olduğu görüldü. Demetlerde yer alan enine çizgilenmeler bir önceki gruba benzer olarak düzensizdi. Kas liflerinde

çekirdeklerin çoğunlukla sarkolemma altında yerleşim gösterdiği izleniyordu. 1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; önceki gruplara karşın kas lifi demetlerinin biraz daha gelişkin olduğu gözlemlendi. Bu grupta iskelet kas lifi demetlerinin erişkindeki yapısını aldığı, miyofibril ve enine çizgilenmelerin gelişkin olduğu saptandı. 6 aylık gruba ait incelemelerde; kas lifi demetlerinin gelişkin olduğu ara bağ dokusu hücrelerinin ise yoğunlaştığı dikkati çekti. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde ise; ara bağ dokusunun belirgin olarak arttığı görülürken, enine çizgilenmelerin de belirgin olduğu ayırt edildi.

Yaşlı bir kasta, skleroz olarak adlandırılan anormal fibröz doku büyümesine koşut olarak kasın kalınlaşması ya da sertleşmesi ile yağ artışı oluşur. İnce, normal ya da hipertrofik lifler bir arada bulunabilir.⁸⁰ Yaşlılıktaki kas değişiklikleri tip II kas liflerinde ve miyozin zincirindeki mRNA düzeylerindeki azalmayı da içerir. Bu görünüm yaşa koşut tüm vücut protein döngüsünde, ortak kas protein sentezi ve mitokondriyal protein sentezindeki azalmayla uyumlu olarak gerçekleşmektedir.⁸¹ Sonraki süreçlerde ortaya çıkan önemli noktalar, farklı organ ve dokularda yaşlılıkla ilgili daha çok oksidatif doku hasarının ortaya çıkması gibi, yaşlılığa karşı bazı yanıtların gözlenmesidir.⁸² Özellikle sarkopenide bu değişiklikler kısmen apoptozise bağlıdır. Apoptozisle kaslar arasında da hızlı ve yavaş giden bazı değişimlerle ilgili olarak farklılıklar gözlenebilir.⁸³

Kalp kasının ise bundan birkaç yıl öncesine değin, post-mitotik bir yapı olduğu ve kendisini yenileme yeteneğinin olmadığı düşünülmekteydi. Ancak, multipotent kalp kök hücrelerinin miyosit ve koroner arterleri ömür boyu yenileme yeteneğinde olduğunun bulunması, kalbin yaşlanma biyolojisine farklı bir yaklaşım getirmiştir. Son yıllarda yapılan kök hücre çalışmalarında kalp kasının ve koroner arterlerin

yenilenmesini sağlayan düzeneklerin olabileceğinin ortaya konulması bu konuda son derece önemli bilgiler edinilmesini sağlamıştır.⁸⁴

Normal bir yaşlının kalbi aslında çok iyi çalışır. Genç bir kalp ile yaşlı bir kalp arasındaki fark önemsizdir. Aradaki fark egzersiz ya da hastalık sırasında ortaya çıkmaktadır. Yaşlı kalbi genç kalbi kadar çabuk hızlanamaz. Bununla birlikte kardiyovasküler hastalıklar yaşlılarda hala mortalite ve morbiditeyi en çok etkileyen hastalıklardır. Kalbin yapısındaki ve işlevindeki yaşa koşut genetik kökenli değişiklikler de en çok kalp kasında oluşan harabiyet sonucu ge ekleşmektedir. Ancak bu genetik yapı ve kalp kası yaşlanmasının moleküler düzenekleri, henüz tam olarak ortaya konulamamıştır.⁸⁵

Bizim  alışmamızda ise kalp kasında yaşa bağlı değişiklikler incelendiğinde, doğum öncesi evreye ait örneklerde; liflerin oldukça gelişkin olduğu görüldü. Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde özellikle epikardiyum tabakasının gelişkin olduğu dikkati çekti. 1 aylık grupta ise; epikardiyum ve endokardiyuma ek olarak kalp kası hücrelerinin arasını dolduran bağ dokunun da arttığı belirlendi. 6 aylık grupta; kalp kası katmanının erişkin düzenleniminde olduğu, kas hücrelerinin gelişkin yapı kazandığı ve organizasyonunu tamamladığı izlendi. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde ise endokard ve perikard tabakalarının düzenleniminin erişkin görünümde olduğu saptandı.

Bugüne değin yapılan pek çok çalışmada iskelet kasında farklı tipte kollajenlerin bulunduğu gösterilmiştir. Yaşlılıkla birlikte fibroblastlar daha çok Tip I Kollajen ve daha az Tip III Kollajen oluşturmak

üzere farklılaşırlar. Sonuçta erişkinde daha çok Tip I Kollajen ve daha az Tip III Kollajen bulunur.

Bizim çalışmamızda da, doğum öncesi evreye ait iskelet kas örneklerinde Tip I Kollajen immünreaktivitesi incelendiğinde, tutulumun genelde sarkolemma düzeyinde olduğu gözlemlendi. Ara bağ dokusunda kollajen tutulumunun zayıf olduğu ilgiyi çekerken, bağ doku hücrelerinde yer yer orta dereceli reaktivite görüldü. Bu genelde sitoplazmik düzeydeydi. Kas öncül hücrelerinde ise immünreaktivite daha fazlaydı. Yenidoğan grubunda ise Tip I Kollajen immünreaktivitesi sarkolemmada yoğun izlenmekle birlikte, sarkoplazmada orta-kuvvetli derecedeydi. Bağ dokuda izlenen Tip I Kollajen immünreaktivitesi ise doğum öncesi gruba eşdeşti. 1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde, Tip I Kollajen immünreaktivitesinin sarkolemmada yoğun olduğu, sitoplazmik tutulumun ise azaldığı dikkati çekti. Bağ dokuda Tip I Kollajen tutulumu kuvvetliydi. Damar endotelinde de reaktivite yaygındı. Tutulumun daha yoğun olarak damar çevresinde enlemesine düzenlenmiş kollajen liflerde olduğu ve bunun damar adventisyası ile devam ettiği görüldü. Bağ doku hücrelerinde de tutulum oldukça kuvvetliydi. 6 aylık gruba ait incelemelerde; ara bağ dokusu hücrelerinin kuvvetli Tip I Kollajen immünreaktivitesi gösterdiği dikkati çekti. Sarkolemmada tutulum orta dereceliydi. Sarkoplazmada reaktivite oldukça zayıftı. Enine kesitlerde de sarkolemmanın oldukça kuvvetli tutulum gösterdiği saptandı. Doku genelinde koyu ve açık lifler izlendi. Açık liflerde immünreaktivite azken, koyularda sarkolemmadan sitoplazmaya gidildikçe tutulumun zayıfladığı dikkati çekti. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde ise; ara bağ dokusunun belirgin olarak arttığı ve kuvvetli Tip I Kollajen tutulumu gösterdiği ayırt edildi. Bağ doku hücrelerinde de reaktivite yaygındı. Enine kesitlerde sarkolemmanın kuvvetli immünreaktivite gösterdiği belirlenirken yer yer enine

izgilenmeler ilgiyi çekti. Doku genelinde en yoğun tutulumun bu grupta olduğu belirlendi.

Çalışmamızda yaptığımız Western blot analizlerinde, Tip I Kollajen değerlendirmesinde, protein bant yoğunlukları karşılaştırıldığında doğum öncesi evreye ait iskelet kas örneklerinde Tip I Kollajen yoğunluğunun diğer tüm gruplara karşın az olduğu belirlendi. 12 aylık gruba gelinceye dek protein bant yoğunluğunun tüm gruplarda artış gösterdiği saptandı. Gruplar arası karşılaştırmada, Tip I Kollajen ifadenmesinin doğum öncesi gruba karşın, yenidoğan grubunda 2,93 kat arttığı görüldü. 1 aylık ve 6 aylık grupta sırasıyla 3,64 ve 3,82 kat artış olduğu saptandı. Yaşa koşut artış gösterdiği belirlenen Tip I Kollajen ifadenmesinin, 12 aylık grupta 5,24 kat artış gösterdiği ilgiyi çekti.

Yapılan kaynak taramalarında, iskelet kası gibi kalpte de kollajenlerin varlığının çeşitli çalışmalarda ortaya konulduğu görülmüştür. Perikardiyum bol miktarda kollajen içeren yaprak şeklindeki bir düzenlenime sahiptir. Perikardiyumun aksine miyokardiyumdaki kollajen miktarı daha azdır.⁸⁶ Tip I ve Tip III Kollajenin miyokardiyumdaki kollajen ağının temel bileşenleri olduğu bilinmektedir. Bally ve arkadaşları yaptıkları çalışma sonucunda, miyokardiyumda Tip I Kollajenin %85 oranında ve Tip III Kollajenin ise %15 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir.⁸⁷ Elektroforetik olarak yapılan çalışmalarda da sıçanlar ve primatlarda Tip I ve Tip III Kollajenin varlığı gösterilmiştir.⁸⁸

Kalbin kollajen ağı, mekaniksel işlevini yerine getirebilmesi için gereklidir. Sistol sırasında miyositler duvar stresine etkin kalırlar. Ancak çevredeki kollajen ağı miyosit düzenlenmesine yardımcı olur.

Diastolde ise perimisyumda bulunan kollajen ağı miyositlerin aşırı gerilmesini önler.⁸⁶

Yaşla birlikte kas, tendon, karaciğer ve akciğer gibi birçok organda kollajenin nitelik ve nicelik miktarı değişmektedir. Yaşla birlikte kollajen makromoleküllerinin arasındaki çapraz bağlar artar.⁸⁹ İnsanlarda da genç ve yaşlı kalpler arasında kollajen miktarı ve içeriği açısından belirgin farklar vardır. Kollajen içeriği erişkinden yaşlıya doğru gidildikçe artar.⁹⁰ Yaşlanmayla birlikte intrakardiyak bağ dokusunun endo ve perinöryumu çevreleyen kollajen lifleri tip III' den tip I' e dönüşür ve kalınlaşır. Yapılan çalışmalarda bu farklanmalar, pikrosirius polarizasyon yöntemiyle farklı canlı türlerinde ve insanda gösterilmiştir.^{4,5} Yapılan diğer çalışmalarla da, sıçanlarda da yaşlanmayla birlikte miyokardiyal kollajen içeriğinin arttığı gösterilmiştir.^{91,92}

Debessa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, erişkin sıçanlarda picrosirius red yöntemi ile perimisyumda sarı ya da kırmızı renkte Tip I Kollajeni ve yeşil renkte Tip III Kollajeni göstermişlerdir. Çalışmada kalın olan lifler Tip I Kollajen, ince olanlar ise Tip III Kollajen olarak belirlenmiştir. Endomisyumunda hemen hemen aynı düzenlenimde ancak daha çok Tip III Kollajenin bulunduğu gösterilmiştir. Aynı sonuçlar yaşlı kalplerde de belirlenmekle birlikte yaşlı kalplerde sıkıca paketlenmiş, kalın ve kırmızı renklerdeki Tip I Kollajenin perimisyum ve endomisyumda baskın olduğu belirlenmiştir. Kollajenler yaşlandıkça bir araya gelerek daha kalın bir görünüme kavuşurlar. Bu sonuçlara göre erişkin yaşam süresince kalpteki kollajen liflerin düzenleniminin sürdüğü anlaşılmaktadır.⁹⁰

Yaşlanmayla birlikte kollajen miktarının neden arttığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak bununla birlikte iyi tanımlanan bir durum miyosit hücrelerinin yaşa koşut olarak yitimidir. Bunun nedeni normal koşullarda miyositlerin mitoz geçirmemesi ve öldüklerinde yerlerine yenilerinin gelmemesidir. Olasılıkla miyositlerde oluşan bu kayıp kollajen liflerle düzeltilmeye çalışılmaktadır.⁹³

Bunu açıklayan bir diğer düzenek de kollajenin parçalanmasının aşamalı olarak baskılanmasıdır. Yaşla birlikte kalp içi basınç artmaktadır. Sistolik basınç arttıkça kalbe binen yük de artmaktadır. Aslında bu basınç nedeniyle kollajenin parçalanması söz konusudur. Ancak kalp de buna karşıt bir düzenekle parçalanmayı engellemeye çalışmaktadır. TGFβ-1 fibroblastlar gibi pek çok hücrede aktif olarak bulunur. Kalpte basınç artışıyla birlikte TGFβ-1' in mRNA' sı artar. TGFβ-1 artışının uyarılmasıyla da hücre dışı matrikste kollajen yapımı artar.⁹⁴ Eghbali ve arkadaşları yaptıkları çalışmayla, genç sıçanlarla karşılaştırıldığında yaşlı sıçanların kalplerinde büyük fibrozis alanlarının olduğunu göstermişlerdir.⁹⁵ Bu çalışmayı destekler nitelikteki bir başka çalışmada ise, TGFβ-1 mutant farelerde, normal farelere karşı yaşla birlikte miyokardiyal fibrozisin daha az olduğu bildirilmiştir.⁹⁶

Bizim çalışmamızda da doğum öncesi evreye ait kalp kası örnekleri değerlendirildiğinde; liflerin oldukça gelişkin olduğu görüldü. Endokardiyum ve perikardiyumu oluşturacak bölgelerde daha belirgin bir Tip I Kollajen immünreaktivitesi saptandı. Liflerdeki Tip I Kollajen tutulumunun her hücrede çekirdek ve sitoplazma düzeyinde olduğu ve sitoplazmik boyanmanın ise granüler şekilde dağılım gösterdiği dikkati çekti. Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde epikardiyumun gelişkin olduğu ve Tip I Kollajen tutulumunun arttığı izlendi. Kalp kası

hücrelerindeki reaktivitenin doğum öncesi grubuna karşın daha yoğun olduğu ayırt edildi. 1 aylık grupta epikardiyum ve endokardiyuma ek olarak kalp kası hücrelerinin arasını dolduran bağ dokuda da Tip I Kollajen tepkimesinin varlığı izlendi. Kas hücrelerinde sitoplazmik olarak belirlenen tutulumunun diğer gruplara karşın daha da yaygınlaştığı görüldü. 6 aylık gruba ait incelemelerde ise 1 aylık gruptan ayrıcalıklı olarak endokardiyumda Tip I Kollajen tutulumunun arttığı dikkati çekti. Tip I Kollajen immünreaktivitesinin; bazı liflerde daha az bazılarında ise oldukça yoğun olduğu gözlemlendi. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde de; perikardiyum ve endokardiyum katmanlarında belirgin bir boyanma saptandı. Tip I Kollajen tutulumunun çekirdek düzeyinde orta dereceli, buna karşın sitoplazmada granüler düzeyde olduğu gözlemlendi.

Çalışmamızda yaptığımız Western blot analizlerinde, Tip I Kollajen değerlendirmesinde, protein bant yoğunlukları karşılaştırıldığında doğum öncesi evreye ait kalp kası örneklerinde Tip I Kollajen yoğunluğunun diğer tüm gruplara karşın az olduğu belirlendi. 12 aylık gruba gelinceye dek Tip I Kollajen protein ifadenmesinin yaşa koşut olarak artış gösterdiği saptandı. Gruplar arası protein ekspresyonu karşılaştırıldığında doğum öncesi gruba karşın yenidoğan grubunda 1,08 kat artış oluğu saptandı. Bu artış 1 aylık grupta da sürüyordu ve 1,97 kattı. 6 aylık grupta protein ifadesinin 3,64 kat arttığı belirlendi. 12 aylık grupta ise 5,88 artış görüldü ve tüm gruplar arasındaki en çok artış bu gruptaydı.

İskelet kas gelişimi birçok büyüme faktörünce düzenlenir. FGF ve IGF en iyi bilinen olumlu düzenleyicilerdir. Bu moleküller gelişimsel büyümede ve çalışmaya bağlı olarak görülen kas hipertrofisinde önemli bir rol oynamaktadırlar.⁹⁷

FGF' ler heparin bağlayıcı polipeptid büyüme faktör ailesine ait ve hücre çoğalması ve farklanmasında rol olan moleküllerdir. Günümüzde nematodlardan insanlara değin değışen türlerde 23 farklı FGF tipi tanımlanmıştır.⁹⁸ Boyutlarına göre bu faktörler sınıflandırıldığında omurgalılarda 17-34 kDa, drosofilalarda ise 84 kDa' dan büyük olduğu bulunmuştur. FGF' ler geniş bir aralıkta ifadelenir. FGF-I 140 amino asitli bir polipeptittir ve 154 amino asit içeren FGF-II ile %50 benzerlik gösterir. Her iki peptid grubu da miyokardiyum, beyin, hipofiz, böbrek, karaciğer, makrofaj, endotel ve kas hücrelerini de içeren geniş bir grup dokudan salınır.⁹⁹

Bunların in vivo (yaşamsal) ve in vitro (deneysel) yaşamda embriyolojik gelişim sırasında hücre çoğalması, farklanması ve göçünden sorumlu olduğu bildirilmiştir.^{100,101} Erişkinde ise doku tamiri, yara iyileşmesi ve tümör anjiyogenezi önemli rollerindendir. Bugün bilinen 4 reseptörü, birden dörde kadar adlandırılmıştır ve bunların arasında protein düzeyinde %72 benzerlik vardır.¹⁰² Bu reseptörler osteoogenezis, kondroogenezis, anjiyogenezis, yara iyileşmesi ve apoptozisi de içeren birçok biyolojik olayda önemli rol oynar.¹⁰³

FGF-2 miyoblastları uyarak, onların farklanmasına ve iç şekilli, çok çekirdekli miyotüplere dönüşmesine neden olmaktadır. Miyoblastlar üzerinde olan bu prolifer edici etkisini, reseptörü olan FGFR-I aracılığıyla gerçekleştirmektedir.^{104,105}

FGF-2 iskelet kas hücrelerinde, mitojenik etki gösterir.⁵² İn vitro olarak fibroblastlarda IGF-1 yapımını artırdığı bilinmektedir.¹⁰⁶ Adams ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ilginç olarak, FGF-2 uyarısının kas

IGF-I yoğunluğu ve toplam DNA miktarında artış yapmasına karşın kas protein içeriğini etkilemediği bildirilmiştir.¹⁰⁷ Bununla birlikte FGF-2 miyojenik hücrelerin miyoblastlara dönüşümünde antagonistik etkiye sahiptir.^{52,53} Bu aşama hipertrofi oluşumunda kritiktir. FGF-2' nin yarattığı DNA artışı satellit hücre ya da fibroblast hücre oluşumunu artırır.

Bizim çalışmamızda da, doğum öncesi evreye ait iskelet kas örnekleri incelendiğinde, iskelet kası liflerinde ve bağ dokuda FGF-2 tutulumunun sitoplazmik düzeyde ve yaygın olduğu belirlendi. Yeni oluşan tüplerde sarkolemma, sarkoplazma ve çekirdek boyanması oldukça zayıfken, enine çizgilenmelerdeki belirgin tepkime dikkati çekti. Tüpleri oluşturacak olan öncül iskelet kası hücrelerinin genellikle iğ biçimli olduğu çekirdek ve sitoplazmanın ise oldukça yoğun boyandığı ayırt edildi. Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde, iskelet kas yapısı ve FGF-2 immünreaktivitesi doğum öncesi grubuna eşdeşti. Küçük ve büyük büyültmelerde ara bağ dokusunun oldukça fazla olduğu ve bu bağ dokusunda yeni hücreleri oluşturacak öncül hücrelerde FGF-2 immünreaktivitesinin olduğu saptandı. Benzer şekilde yeni tüpleri oluşturacak hücrelerde de FGF-2 tutulumu belirgindi. Tek olan kas hücre öncüllerinde sitoplazma ve çekirdek reaktivitesinin daha yoğun olduğu dikkati çekti. Ancak yeni oluşan miyotüplerde tepkime biraz daha zayıftı. 1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; önceki gruplara karşın kas lifi demetlerinin biraz daha gelişkin olduğu gözlemlendi. FGF-2 immünreaktivitesi ise sitoplazmik ve granüler şekildedeydi. 6 aylık gruba ait incelemelerde; iskelet kasının olgun yapısını kazandığı ayırt edilirken, FGF-2 tutulumunun sarkolemma ve enine çizgilenmeler düzeyinde gözlemlenmesi ilgiyi çekti. Çekirdek boyanması diğer gruplara karşın daha zayıftı. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; kas lifleri koyu ve açık renkliydi. Açık olanlarda belirgin bir FGF-2 tutulumu izlenmezken koyu liflerin yoğun bir FGF-2 immünreaktivite göstermesi ilgiyi çekti.

FGF-2 kalpte ise miyosit ve diğer hücreler tarafından üretilmektedir. Aynı zamanda parakrin ve otokrin etki göstermektedir.¹⁰⁸ Birbirini destekleyen çalışmalar asıl işlevini geliştirmek ve erişkin olan miyokardiyumda otokrin etki üzerinden gösterdiğini ortaya koymuştur. Fare ve tavuk ventrikül kasında, hiperplazinin de içinde olduğu hızlı gelişim evresinde FGF-2, FGF-9 ve FGF reseptörü-I saptanmıştır.¹⁰⁹ Erken kalp hücrelerinin gelişimi sırasında en çok FGF-2 ifadelenmektedir. Birbirini destekleyen çalışmalarda, FGF-2 özel antikolarla baskılanırsa hücreyel çoğalmanın düştüğü rapor edilmiştir.^{110,111}

Kalp miyositlerinin tüm gelişim aşamalarında görülen FGF-2'nin mitojenik etkileri, hücre membranında bulunan tirozinkinaz erkine sahip reseptörlerce olur. Kalp kasında FGF reseptör-I izoformu en çok bulunandır.¹¹²

Bizim çalışmamızda da doğum öncesi evreye ait kalp kası örnekleri değerlendirildiğinde; FGF-2 immünreaktivitesinin çekirdek ve sitoplazma düzeyinde olduğu görüldü. Tutulumun ortadan zayıfa değiştiği ilgiyi çekti. Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde; FGF-2 immünreaktivitesinin bir önceki gruba karşın doku genelinde oldukça yaygın ve sitoplazmik düzeyde olduğu belirlendi. Tutulum aynı zamanda doğum öncesi grubuna karşın yoğunlu. 1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; FGF-2 boyanmasının bazı kas liflerinde oldukça yoğunken bazılarında doğum öncesi evreye benzediği ayırt edildi. İmmünreaktivitenin zayıf-orta dereceli olduğu saptandı. 6 aylık gruba ait incelemelerde; FGF-2 immünreaktivitesin 1 aylık grup ile aynı olduğu görüldü. Tutulum bazı liflerde az bazılarında ise çoktu. 12 aylık grupta ise; FGF-2 immünreaktivitesinin yoğun ve sitoplazmik olduğu, çekirdek düzeyinde ise düzenli olarak arttığı dikkati çekti.

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), miyogenezis ve iskelet kası metabolizmasında düzenleyici olarak işlev görmektedir. Bu büyüme faktörü etkilerini otokrin, parakrin ve endokrin yollarla göstermektedir.¹¹³ Birbiriyle uyumlu birçok çalışma, IGF-I' in iskelet kasında birçok sistemi kullanarak, hücrel çoğalma ve farklılaşmayı da içeren anabolik yanıtlar verdiğini bildirmektedir.^{52,114} IGF-I eksikliğinde ciddi kas distrofileri ile karşılaşmaktadır.¹¹⁵ Aşırı IGF yapımında ise musküler hipertrofi oluşmaktadır.¹¹⁶

GH doğum sonrası vücut gelişiminde IGF-I gen ekspresyonu üzerinden tüm vücut gelişimini uyarır.¹¹⁷ Karaciğer büyüme hormonu, bağımlı IGF-I yapımının olduğu ana organdır. Ayrıca GH böbrek, kemik, bağırsaklar ve iskelet kasları gibi diğer karaciğer dışı organlarda da IGF-I gen ekspresyonunu artırır.¹¹⁸

IGF-I geni üç farklı izoformdan oluşur ve bunlardan en az iki tanesinin insan iskelet kasında ifadelendiği gösterilmiştir. Bu üç izoform IGF-IEa,^{97,119,120} IGF-IEb¹²¹ ve IGF-IEc^{97,119,120} olarak adlandırılmıştır. IGF-IEa, karaciğerden salınan esas IGF-I' in benzeridir. IGF-IEb yine karaciğerden salınmakta ancak genel olarak kaslardaki rolü bilinmemektedir. IGF-IEc ise mekono büyüme faktörü (MGF) olarak bilinir ve mekanik uyarılara yanıt olarak salınır.^{97,119,120}

IGF-I memelilerde somatik gelişim sırasında önemli bir büyüme faktörüdür. Dolaşımdaki IGF-I düzeyleri ve büyüme oranları birçok türde pozitif ilişki gösterir.^{122,123,124} Kas dokusu domuzlarda IGF-I' in en önemli kaynağıdır.^{125,126} IGF' ler ve reseptörleri fetal kas gelişiminde son derece fazladır.¹²⁷ Doğum öncesi evrede IGF-I iskelet kası için potent bir

büyüme uyararı ve anabolik faktördür. Ayrıca kas kitlesi ve kasa özel proteinlerin yapımını da artırır.¹²⁸

Yapılan çalışmalarda IGF-II' nin temelde embriyonik büyümede, IGF-I' in ise doğum öncesi ve sonrası gelişimin tamamında etkili olduğu görülmüştür. İskelet kasındaki gelişme sırasında, miyoblastlar hücre döngüsünden geri çekilir ve miyotübüllere farklılaşırlar. IGF-I ve II bu olayda rol oynar. Miyoblastlar döngüden çekildikten sonra IGF-I, miyogenik düzenleyici faktörler (MyoD ve myogenin) ile efektörlerinin (P21) ifadesi ve aktivitesine neden olarak kas farklılaşmasını ilerletirler. Fernandez ve arkadaşları farelerde yaptıkları çalışmada kas hücre artışı ile P38, P21, MyoD miyogenin immünreaktivite düzeylerindeki artışın aynı zamanlarda olduğunu saptamışlardır.¹²⁹ Florini ve arkadaşları da, IGF-I' in miyogenezis sırasında miyotüplerin birleşmesi ve proliferasyonunda, bir antiapoptotik faktör olarak görev alan miyogenin ekspresyonunu artırdığını bildirmişlerdir.⁵²

Bir başka çalışmada Götz ve arkadaşları 28, 77, 151, 181 ve 199 günlük domuzlarda immunohistokimyasal bir çalışma yapmış ve sonuçta IGF-I, IGF-I-R, IGFBP-1 ve -3' ün kas liflerinde, endomisyum bağ dokusunda, damar duvarlarında ve sarkolemmada bulunduğunu, sadece IGFBP-1' in kas fibrillerinde bulunmadığını ancak diğer yerlerde olduğunu saptamışlardır. Boyanmanın 77. ve 151. günlerde yoğun olduğunu, 181 ve sonraki günlerden alınan biyopsilerde immünreaktivitenin giderek azaldığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada immunohistokimyasal boyanmanın en yoğun olduğu dönemlerin, IGF-I' in plazmadaki en yüksek düzeyleriyle ve kasın yoğun büyüdüğü evreler ile uyumlu olduğu saptanmıştır.⁶

Harridge ve arkadaşları ise, kas hücre kültür çalışmalarında IGF-I' in miyotübül çapında artış, protein yitimini baskılama, aminoasit alımı ve protein sentezini arttırma gibi rollerinin olduğu açıkça göstermişlerdir. Yaş arttıkça, dolaşımdaki GH ve IGF-I düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir.⁷

IGF-I' in dokuda olduğu kadar dolaşımda da bulunduğu bilinmektedir. Kraemer ve arkadaşları da 30 yaş ile 62 yaş grubundaki insanların plazma IGF-I düzeylerini karşılaştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda da 62 yaş grubundaki deneklerde IGF-I düzeyinin azaldığı görülmüştür. Daha sonra deneklere 10 haftalık egzersiz uygulaması yaptırılmış, ancak her iki grupta da plazma IGF-I düzeyinin değişmediği saptanmıştır.¹³⁰ Benzer şekilde Elikiam ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, kas içi IGF-I düzeyinin egzersiz ile arttığını bildirmişlerdir. Bu durumu ise plazma IGF-I düzeyinin egzersiz ile değişmediği ancak kas dokusu IGF-I düzeyinin egzersize koşut değişmesi ile açıklamışlardır.¹³¹

Adams ve arkadaşları yaptıkları çalışmada yük altında kalan kaslarda IGF-I miktarının arttığını ve bu durumun kas hipertrofisi ile sonuçlandığını bildirmişlerdir.¹³² Aynı araştırmacılar daha sonra yaptıkları bir diğer çalışmada ise, egzojen olarak verilen IGF-I' in kas hipertrofisi oluşturduğunu göstermişlerdir. Bu etkinin kas DNA içeriğinin artmasına koşut olarak gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.¹⁰⁷

Hormonal olarak yaşlanmanın, aslında dolaşımdaki GH ve IGF-I düzeyinin azalmasıyla ilişkili olduğu söylenebilir.¹³³ Birçok çalışmada GH' in yüksek düzeyli salınımının azalması ve onun anabolik mediatörü olan plazma IGF-I miktarının azalmasının, yaşlanmaya neden olan en

önemli endokrin değişiklik olduğu bildirilmektedir.¹³⁴ Yapılan bir çalışmada bir ay süresince her gün GH uygulaması yapılan yaşlı bireylerde kas dokusundaki IGF-I mRNA düzeylerinin arttığı gösterilmiştir.^{119,135} Ancak bireylerdeki IGF-I düzeyleri beslenme durumu, fiziksel erk, eşlik eden diğer hastalıklar, alkol alımı ve karaciğer işlevlerinden de etkilenebilmektedir.^{136,137}

Çalışmalarda, in vivo ektopik IGF-I salınımının, fare iskelet kas hücrelerinde hipertropiyi uyardığı ve yaşlanmaya bağlı normal kas kitlesi azalmasını engellediğı gösterilmiştir. Birbirini destekleyen çoğu çalışma genel olarak, ifadelenmenin kas sayısını değil kas boyutlarını arttırdığını belirtmektedir.^{116,138,139}

Bizim alışmamızda da doğum öncesi evreye ait iskelet kas örneklerindeki IGF-I immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; tutulumun sarkolemma düzeyinde yoğun ancak sarkoplazmada biraz daha zayıf olduğu gözlemlendi. Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde, kas lifi demetlerinin biraz daha kalınlaştığı izlenirken, IGF-I immünreaktivitesinin sarkolemma ve sarkoplazma düzeyinde biraz daha artmış olduğu belirlendi. 1 aylık grupta sarkolemma'nın ve çekirdeklerin ortadan zayıfa değişen boyanma gösterdiğı saptandı. Bu grupta enine çizgilenmelerin belirginleştiğı görüldü. Çekirdek yerleşimi sarkolemma'nın hemen altındaydı. Ara bağ doku azalmıştı, ancak bağ doku hücreleri oldukça kuvvetli IGF-I tepkimesi gösteriyordu. 6 aylık gruba ait incelemelerde; kas liflerinin tümüyle erişkin yapısını aldığı ve sarkolemma ile çekirdek dışında IGF-I tutulumunun belirsizliğı izlendi. Ara bağ dokuda bazı hücrelerin çekirdeklerinde ve damarlarda IGF-I immünreaktivitesi ayırt edildi. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; kas liflerinde koyu ve açık hücreler

ilgiyi çekti. Bu gruba ait IGF-I immünreaktivitesinin ise açık hücrelerde daha zayıf, koyu hücrelerde ise oldukça yoğun olduğu görüldü.

IGF-I asıl olarak karaciğer ve böbreklerde sentezlenmekle birlikte, parakrin ve otokrin yolla, endotel, vasküler düz kas ve kalple ilgili olarak kardiyak miyositlerce de salınmaktadır.¹⁴⁰

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, IGF-I' in büyümenin anahtar moleküllerinden biri olduğu ve doku onarımında da önemli rolü bulunduğu gösterilmiştir. GH' ın birincil araçlarından olan IGF-I' in hücre çoğalması ve farklılaşmasını sağladığı, ayrıca apoptozis ve nekrozisin engellenmesinde de etkili olduğu bilinmektedir. Hipofiz bezi yetmezliği olan hastalarda gelişen GH ve IGF-I yetmezliğine koşut olarak, endotelin işlevini kaybetmesi ve öncü damar sertliği gibi olgular gerçekleşebilmektedir. Bazı araştırmacılar bu etkinin GH tedavisiyle geri döndürülebileceğini savunmaktadırlar. Yeni yapılan epidemiyolojik çalışmalar, düşük serum IGF-I düzeylerinin kalp krizi ve koroner ateroskleroz riskini artırdığını göstermektedir. Araştırmacılar bu sonucu, IGF-I düzeyi ve biyoaktivitesinin yaşlanmaya koşut azalmasıyla, kardiyovasküler hastalıkların risk olasılığının artmasına bağlamışlardır.¹⁴¹

GH ve IGF-I eksikliği, insanlarda kardiyak hacim ve ventriküler duvar kalınlığının azalmasına neden olan önemli potansiyel bir etmendir.¹⁴² GH eksikliği olan erişkinlere rekombinant GH verilmesi, sol ventrikül duvar kalınlığı ve kas kitlesini artırmaktadır. Ancak GH ve IGF-I tedavisi miyokardiyal gelişim ve işleve her zaman olumlu etki göstermez. Hayvan modelleri ve sol ventrikül hipertrofisi olan hipertansif hastalarda yapılan çalışmalarda, TGF- β 1 ve IGF-I düzeylerinin arttığı birçok

çalışmada gösterilmiştir. İdiopatik hipertrofik kardiyomiyopatisi olan hastalarda, kardiyomiyositler içindeki artmış TGF- β 1 ve IGF-I mRNA düzeyleri, bu maddelerin kardiyak hipertrofinin düzenlenmesinde önemli rolü olduğunu göstermektedir.¹⁴³

IGF ve GH' ın, hücre içi Ca' la ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, kardiyak işlevlere GH' ın hiçbir akut etkisinin olmadığı, ancak IGF-I' in herhangi bir hücre içi Ca düzeyi değişikliği yapmadan, miyokard kasılabilirliğini artırdığı bildirilmiştir.¹⁴⁴ Bir başka çalışmada ise IGF-I' in yapmış olduğu artmış kasılabilirliğin, hücre içi Ca düzeyinin artışına değil, miyofilamentlerin Ca' a duyarlılığının artışına bağlı olduğu rapor edilmiştir.¹⁴⁵

Anversa ve arkadaşları ise yaptıkları çalışmada, IGF-I' in iskelet kası gelişimine benzer olarak, kalpteki sınırlı ifadesine karşın, ventriküler miyositlerin gelişiminin artmasına, miyosit ölümünü azaltmaya ve miyopati gelişimini geciktirmeye yardımcı olduğunu söylemişlerdir.¹⁴⁶ Rice ve arkadaşları farelerde yaptıkları çalışmada, kardiyomiyosit hücre sayısında ve bununla birlikte olan kalp ağırlığının artışında kalbe özel IGF-I' in aşırı ifadelendiğini saptamışlardır.¹⁴⁷ Yapılan bir diğer çalışmada ise kalpte IGF-I' in aşırı ifadelenişle birlikte, yaşlanmaya koşut oluşan diastolik işlev kaybının engellendiği bildirilmiştir.¹⁴⁸

Daha önceki araştırmalar miyokard infarktüsü ve koroner arter tıkanıklığı sonrasında miyosit gelişiminin yerel olarak, IGF-I ve IGF-I reseptörü arasındaki otokrin etkileşimle yönetildiğini göstermiştir. Cheng ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, strese girmiş hücrelerde adaptasyon sürecinde büyümeye yanıtın, IGF ve reseptörü arasındaki etkileşimle

olduğunu göstermeyi amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda yaşlanmanın, miyositlerin adaptasyon yanıtını azaltmadığını bildirmişlerdir. Yapılan değerlendirmelerde, genç ve yaşlı gruplarda IGF ve IGF-III' ün dolaşımdaki etkisinin de azalmadığını söylemişlerdir.¹⁴⁹

Noble ve arkadaşlarının atlarda yaptıkları başka bir çalışmada, IGF-I miktarının yaş arttıkça serumda dereceli olarak azaldığı gösterilmiştir. İnsanlarda da benzer şekilde oluşan bu azalmanın erkeklerde farklılık gösterdiği bilinmektedir. Erkeklerde yaşla birlikte IGF-I miktarındaki bu azalmanın, seks steroidlerine bağlı olarak daha az olduğu söylenmektedir.¹⁵⁰

Bizim çalışmamızda kalp kasında yapılan değerlendirmelerde ise, doğum öncesi evrede IGF-I immünreaktivitesinin, doku genelinde endokardiyumu oluşturacak olan bölgede zayıftan ortaya değiştiği izlendi. Diğer katmanlarda tutulum görülmedi. Yenidoğan grubunda ise özellikle perikardiyum ve ventriküler miyokardda immün tepkime ayırt edildi. Doğum öncesi gruba karşın artan IGF-I immünreaktivitesi dikkati çekti. 1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; miyokard düzeyinde tutulumunun belirgin şekilde arttığı görüldü. Boyanma bir önceki gruba eşdeğer olarak perikartda belirginken, ventriküldeki immün tutulumun arttığı saptandı. Buna koşut olarak atriyal kalp kası hücrelerinde de immün tutulum belirgin olarak artmıştı. 6 aylık gruba ait incelemelerde; IGF-I immünreaktivitesin; 1 aylık gruba benzer dağılımda ancak daha zayıf olduğu ilgiyi çekti. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; tutulumun doku genelinde yer yer kuvvetli yer yer zayıf olduğu belirlendi.

TGF- β ailesine dahil olan GDF-8, kas büyümesinin negatif düzenleyicisidir. Embriyogenezin erken aşamalarında, miyojenik öncül hücrelerden ve erişkin iskelet kaslarından salındığı bilinmektedir. GDF-8 ifadesi geç evrede gelişen iskelet kaslarında da izlenebilmektedir.⁵⁷ GDF-8 insan da dahil olmak üzere her canlıda ve her yaşta iskelet kasının artışı koruyan bir faktördür.

Birbirini destekleyen birçok çalışmada, yüksek düzeydeki GDF-8' in gelişen sığır ve kemirgen iskelet kasında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmalarda mRNA ekspresyonu çeşitli kaslarda bireysel olarak saptanmıştır. Bu faktör kas lifinin kendisince üretilir ve daha sonra hücre dışı alana salınarak, ya kendisi üzerine ya da hemen çevresindeki hücrelere etki eder. GDF-8' in iskelet kasında kümeleştiği ve işlevinin iskelet kasının gelişiminde yeniden yapılanmayı sağlamak olduğu bilinmektedir.¹⁵

Zhu ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, GDF-8' in gelişmekte olan ve erişkin iskelet kasında ifadelendiğini göstermişlerdir. GDF-8' den yoksun farelerde iskelet kası kitlesinde, hiperplaziye ve hipertrofiye bağlı olarak, GDF-8' e sahip olan farelere karşı 2-3 kat artış görülmüştür. Bu çalışmada GDF-8' in kas büyümesinde negatif düzenleyici olarak işlev gördüğü bildirilmiştir. GDF-8 ifadesi erken embriyogenezis sırasındaki miyojenik öncüllerde ortaya çıkar ve doğum sonrası iskelet kasında da sürer. Farelerde GDF-8' in eksikliğinde iskelet kasının gelişiminde büyük artış olur. Bu miyofibril çapı ve sayısında artış sağlanarak gerçekleşir. GDF-8, kalp kası büyümesi ve değişiminde de önemli rol oynar.¹⁰

Mcpherron GDF-8' in iskelet kasındaki rolünü belirlemek için, GDF-8 proteinini kodlayan geni engellemiş ve işlevini yitirmesini sağlamıştır. Sonuçta elde edilen transgenik farelerin soyunda mutant genleri içermeye homozigot (mutant genleri taşıyan), yabancı tip genleri içeren (normal işlev gören genlere sahip olan) ya da heterozigot genlere sahip soylar elde edilmiştir. Bu fenotiplere sahip deneklerdeki belirgin farkın ise kas ağırlığı olduğu görülmüştür. Tüm grupların görünüşte sağlıklı, erişkinliğe ulaşmış ve fertil bireyler olduğu belirlenmiştir. Homozigot mutant farelerin, heterozigot ve yabancı farelere karşı cinsiyet ve yaş yönünden %30 daha büyük olduğu görülmüştür. Erişkin mutant farelerin normal olmayan vücut şekilleriyle, geniş kalça ve omuzlarla karakterize oldukları saptanmıştır. Bu gruptaki yağ içeriğinin yabancı tipten benzerlik gösterdiği dikkati çekmiştir. Yapılan ölçümlerde mutant farelerin her bir kasının yabancı tipe karşı 2-3 kat daha çok olduğu bulunmuştur. Histolojik sonuçlara göre artan kas ağırlığının nedeninin, hiperplazi ve hipertrofinin sonucu olduğu açıklanmıştır. Mcpherronun fare ve sığır modellerinde yaptığı diğer çalışmalardan da, GDF-8 yokluğunun iskelet kas hipertrofisi oluşturduğu anlaşılmaktadır. Ancak bu çalışma normal iskelet kasında fizyolojik ekspresyonun ne olduğunu tam olarak açıklamamaktadır.⁶¹

Ji ve arkadaşları, domuzlarda iskelet kasında GDF-8' e benzer mRNA' yı izlerken bağ dokuda bu mRNA' yı belirleyememişlerdir. Bu ve benzer birçok çalışmada GDF-8 mRNA' larının doğum öncesi deneklerde yüksek düzeylerde olduğu, doğumla birlikte daha da azaldığı gösterilmiştir. GDF-8' in doğum sonrasındaki düzenleyici işlevinin ise miyoblasttaki büyüme, farklılaşma ve kas hücrelerinin birleşmesi olduğu bildirilmiştir.¹⁴

Türler arasında yapılan çalışmalarda da, GDF-8 sığır ve farelerde karşılaştırıldığında, sığırlarda daha ılımlı kas artışı izlenmiştir. Bu artış sığırlarda %20-25 iken, farelerde %200-300 olarak belirlenmiştir. GDF-8 mutasyonu olan sığırlarda, iç organların boyutlarında azalma, dışı fertilitesinde kısıtlanma, seksüel olgunlaşmada gerileme ve düşük düzeyde soy oluşumu görülmüştür. Organ ağırlığındaki azalmanın iskelet kas artışı getirdiği belirtilse de bu düzenek kesin olarak açıklanamamıştır.⁶¹

Bugüne değin elde edilen kanıtlar GDF-8' in liflere göre özelleşmiş olduğunu göstermektedir. Kısa boylu domuzlarda, normalden daha düşük düzeyde doğum ağırlığı vardır. Bunların özelleşmiş kaslarında Tip I iskelet kas lifleri daha düşük düzeydedir. Benzer gözlemler sıçanlarda da yapılmış ve atrofi olan farelerde, örneğin soleus kasında GDF-8 mRNA düzeylerinin belirlenemeyecek düzeylerde olduğu bildirilmiştir.¹⁵¹

Domuz ve farelerde GDF-8 ifadesi metabolik etkilerin yokluğunda da izlenmiştir. İskelet kasındaki myostatin mRNA düzeyleri domuz ve farelerde besin kısıtlaması yapıldığında değişmemektedir. Beslenme farklılıkları ve ekzojen GH varlığı gelişen domuzlarda GDF-8 ifadesini geliştirmemiştir. Bu ve benzer çalışmalar GDF-8' in rolünün, doğum öncesi kas gelişiminde miyoblastların çoğaldığı, farklandığı ve kas liflerini oluşturmak için birleştiği durumlarda etkisinin olduğu konusunda hemfikirdir.^{14,151}

GDF-8 etkisini otokrin ve parakrin yolla gösterse de serum GDF-8' in belirlenmesiyle, dolaşıma katıldığı da gösterilmiştir. İnsan serumundaki GDF-8 genellikle GDF-8' in aktif halidir.

Mosher ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada tazi köpeklerinde yeni bir GDF-8 mutasyonu saptamış ve bu mutasyonun çift kaslılığa neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu fenotipe sahip bireyler GDF-8 geninin 3. ekzondaki iki baz çifti delesyonun iki kopyasını taşımaktadır. Bu mutasyon, 313. konumdaki amino asidin durdurucu kodona dönüşmesine neden olmaktadır. Sadece bir kopyayı taşıyan bireyler ortalama olarak normal tipteki bireylerden daha kaslı olmakta ve normal tip genotip içeren bireyler ile oranlandığında çok daha hızlı koşabilmektedirler. Çalışmada iskelet kasında güç üretimine GDF-8' in olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir.¹⁵²

GDF-8 eksikliği iskelet kasları büyümesini arttırmakta ve aktivitesinin engellenmesi çeşitli kas hastalıklarının tedavisinde önerilmektedir. Amthor ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, GDF-8 genlerinde zararlı mutasyonlar oluşturulan, temelden etkisiz (Mstn-/-) ve birleşik (BEH c/c) olarak iki bağımsız fare incelenmiştir. Burada yaşa bağlı olarak eşleştirilmiş normal tipteki farelerin kas kitlelerinde artış olmasına karşın, maksimum tetanik güç üretiminde herhangi bir artış gözlenmemiş ancak GDF-8 bakımından eksik farelerin kaslarında normal deneklere karşın azalma izlenmiştir. Buna ek olarak, Mstn-/- kas kasılması ve gevşemesinin, tek kas uyarılması durumunda daha hızlı gerçekleştiği ve bu hayvanlarda kontrol grubuna yakın olarak Tip II liflerinin sayısında da arttığı belirlenmiştir. Bu değişim tübüler toplanma içeren Tip-IIb lif türlerinde önemli derecede artış ile birlikte aynı anda ortaya çıkmaktadır. Buna ek olarak mitokondriyal DNA 'nın çekirdek DNA' sına oranı ile

mitokondriyon sayısı, GDF-8 bakımından yetersiz kaslarda azalarak mitokondriyal azalmayı ortaya çıkarmaktadır. Sonuç olarak GDF-8 eksikliği, iskelet kaslarının oksidatif özelliklerinin yitmesini ve bu yitim ile güç üretimini tehlikeye atmaktadır.¹⁵³

İlginç olarak, HIV ile enfekte erkekler ile normal erkeklerin karşılaştırıldığı bir diğer çalışmada da GDF-8 proteini incelendiğinde, gruplar arasında kas harabiyeti değerlendirildiğinde, HIV' li erkeklerde GDF-8 proteinin daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür.¹⁵⁴

Dennis ve arkadaşları, 32 ve 72 yaş ortalamasına ait deneklerde yaptıkları incelemelerde, GDF-8 gen ifadesinin yaşlı grupta ortalama 0,5 iken, genç grupta ortalama 1,0 olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar GDF-8 gen ifadesinin yaşlanmayla birlikte azaldığını saptamışlardır. Aynı araştırmacılar her iki gruba egzersiz uygulaması yaptırmışlar ve 72 saat sonra her iki grupta da kas GDF-8 mRNA ifadesinin %50 oranında azaldığını rapor etmişlerdir.¹⁵⁵

Kawada ve arkadaşları farelerde yaşlanma sırasında mekanik kuvvet uygulanan ve uygulanmayan iskelet kasında, GDF-8 içeriği ve yerleşimini, Western blot analizi ve immunohistokimyasal yöntemler kullanarak incelemişlerdir. Sonuçta GDF-8' in mekanik kuvvet uygulanmadığı koşullarda ve yaşa bağlı oluşan kas atrofisinde etkili olmadığını düşündüklerini bildirmişlerdir. Ancak kasılmaya bağlı hipertrofide, GDF-8 yoğunluğunun azalmasıyla bazı gelişim düzenleyici faktörlerin aktif hale geldiğini ve bunun aracılığıyla da satellit hücrelerinin çoğalmasının sağlandığını düşünmüşlerdir. Bu çalışmada kasta GDF-8 oranının yaşla birlikte değişim gösterdiği de bildirilmiştir. GDF-8' in

sarkoplazmada bölgesel konsantrik toplanmalar şeklinde yerleşim gösterdiği saptanmıştır. Yaşa koşut yapılan bu çalışmada, büyümenin ilk zamanlarında daha ileriki evrelere göre GDF-8 düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bir önceki çalışmanın aksine erişkinlikte oldukça yükselen GDF-8 düzeyinin, yaşlanma ile birlikte yüksek olarak sürdüğü bildirilmiştir.¹⁵

Bizim çalışmamızda da doğum öncesi evreye ait iskelet kas örneklerindeki GDF-8 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; yeni oluşan miyotüplerde tutulumun daha orta dereceli olduğu ilgiyi çekerken biraz daha kalınlaşmış liflerde zayıf tutulum olduğu ayırt edildi. Yenidoğan grubunda da GDF-8 immünreaktivitesinin, gelişkin demetlerde sarkolemma düzeyinde yoğunlaştığı ayırt edildi. 1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; GDF-8 immünreaktivitesinin gelişkin demetlerde sarkolemma düzeyinde yoğunlaştığı belirlendi. Sarkoplazmada ise bazı liflerde tutulum yoğun bazılarında daha zayıftı. 6 aylık gruba ait incelemelerde GDF-8 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde; tutulumun 1 aylık gruba karşın biraz daha yoğunlaştığı ve sarkolemma ile sarkoplazma düzeyinde olduğu görüldü. Enine kesitlerde açık liflerde sarkoplazmik tutulum zayıftı. Buna karşın sarkolemma tutulumu yaygındı. Koyu liflerde ise sarkolemma ve sarkoplazma boyanması oldukça yoğundu. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde de; GDF-8 immünreaktivitesinin bir önceki gruba benzer olarak koyu liflerde daha yoğun olduğu ayırt ediliyordu.

Çeşitli çalışmalarda GDF-8' in doğum öncesi kas gelişiminde etkili olduğunu gösterilmişse de, kas regenerasyonu ile ilişkisi hakkında çok az şey bilinmektedir. GDF-8 aktivitesinin, büyüme faktörlerinin sentez ve salgılanma noktasında düzenlendiği düşünülmektedir. Bu düzenleyici

düzenekler pozitif ve negatif kontroller altında işlev görür. Bu düzenlenime kalp kası da dahildir. TGF- β ailesi kalp kası hücrelerinin gelişimi ve erişkinliğinde de izlenmektedir. Kalp gelişiminde TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere bilinen üç TGF- β izoformu da ifadelenmektedir. Bu izoformların bulunuşu, doku gelişimi ve büyümesinde her birinin farklı rollerinin olmasından kaynaklanmaktadır.

Bugüne dek yapılan çalışmalarda GDF-8 ifadesinin tavuk, fare, sıçan, koyun ve sığır miyokardiyum dokusunda bulunduğu bildirilmiştir. Sharma ve arkadaşları koyun ve ineklerde, kalp dokusundaki DNA sırasının, iskelet kasıyla birebir örtüştüğünü belirlemişler ve bu dokularda GDF-8 varlığını bildirmişlerdir.^{156,157,158}

Gelişen tavuk kalbinde GDF-8 ifadesinin erken dönemde tespit edilmesi ve morfogenez tamamlanana kadar aşamalı olarak arttığının bulunmasıyla, iskelet kası GDF-8' ine benzer şekilde kalp gelişiminde de işlevsel bir rolü olduğu belirlenmiştir. Sığırlarda yapılan bir çalışmada GDF-8 olmayan deneklerde herhangi bir kalp anomali olmasa da, kalbin daha küçük olduğu belirlenmiştir.

Sharma ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, GDF-8 proteinini koyun kalbinde, özellikle Purkinje hücrelerinde gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar deneysel olarak oluşturulmuş miyokard infarktüsü sonrasında GDF-8 geninin kalpte aşırı aktive olduğu bildirmişlerdir.¹⁵⁷ Shyu ve arkadaşları da yaptıkları çalışma sonucunda, hacim artışı kalp yetmezliğinde de miyokardiyal GDF-8' in kalpteki miktarının arttığını söylemişlerdir.¹⁵⁹

Başka bir çalışmada Artaza ve arkadaşları, kalbin hacmine ve işlevine GDF-8' in etkisi çok net anlaşılamadığı için, 2007 yılında bir çalışma planlamışlardır. Bu amaçla GDF-8' in aşırı yapıldığı (transgenik) ve bu genin engellendiği (knockout) fareler kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan farelerin hepsi, miyokardiyal işlev açısından farklılık olmaması için, 7 haftalık ve seksüel olgunluğa erişmiş farelerden seçilmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar GDF-8' in aşırı yapıldığı grupta, sol ventrikülde kas kitlesinin azaldığını ancak bu farkın kalbe işlevsel olarak bir etkisinin bulunmadığını görmüşlerdir. Benzer şekilde GDF-8 geninin engellendiği grupta, GDF-8 ifadesinin düşmesinin, artmış miyokard değişikliği yaptığını ancak kalpte yine işlevsel olarak bir fark yaratmadığını bulmuşlardır.¹⁶⁰

Primer fare kardiyomiyoblastlarındaki yüksek düzeyli GDF-8, düşük proliferatif indeksle bağlantılıdır. Rekombinant olarak uygulanan GDF-8 kardiyomiyoblast hücre kültürlerinde gelişimi inhibe etmiş ancak apoptozis sürecini etkilememiştir. GDF-8' in fenilefrin ve IGF-I ile oluşturulan kardiyomiyosit hipertrofisini de etkilediği bilinmektedir.^{156,159}

Kalpdeki GDF-8 ifadesi sadece fizyolojik değil patofizyolojik durumlarda da artabilir. Miyokard infarktüsü temel alınarak planlanan bir başka çalışmada araştırmacılar kalpte GDF-8' i immünohistokimyasal olarak göstermeyi amaçlamışlardır. Çalışmanın sonucunda özellikle infarkt doku çevresinde artmış immünreaktivite gözlemlenmiştir. Araştırmacılar bu artışın yaklaşık 1 ay süresince sürdüğünü bildirmişlerdir.¹⁵⁷

Bizim çalışmamızda da doğum öncesi evreye ait kalp kası örnekleri değerlendirildiğinde; doğum öncesi gruptan itibaren GDF-8 tutulumu gözlemlendi. Embriyolojik dönemde yoğun düzenleyici olarak işlev

gören GDF-8 immünreaktivitesinin, doğum öncesi grupta son derece kuvvetli olduğu görüldü. Yenidoğan grubunda yapılan incelemelerde; GDF-8 immünreaktivitesinin bir önceki gruba karşı daha zayıf ve sitoplazmik düzeyde olduğu belirlendi. 1 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; bir önceki gruba benzer olarak perikardiyumda yaygın GDF-8 tutulumu izlenirken, miyokarddaki tutulumun yerel alanlarda yoğunlaştığı saptandı. 6 aylık gruba ait incelemelerde; GDF-8 immünreaktivitesin miyokard genelinde yaygın olduğu saptandı. Tutulum orta dereceli ve sitoplazmikti. 12 aylık grupta yapılan değerlendirmelerde; boyanma endokard ve perikarda fazlaydı. Bazı kalp kası hücrelerinde zayıf bazılarında ise ortadan kuvvetliye değişen immün tepkime belirlendi. Kuvvetli tutulum gösteren kas hücrelerinin gruplar oluşturduğu dikkati çekti.

İskelet ve kalp kasıyla ilgili olarak moleküler düzeyde yapılan çalışmalar kadar, elektron mikroskopik çalışmalar da yaşa bağlı değişimlerin hücresel düzeyde anlaşılabilmesi için oldukça önem taşımaktadır. Araştırmacılar geçen yıllarda, her iki kas dokusuyla ilgili olarak ince yapı düzeyinde yaptıkları çalışmalarda, birbirleriyle uyumlu olduğu kadar çelişen sonuçları da kaynaklara kazandırmışlardır.

2011 yılında yapılan bir çalışmanın sonucunda, bazal laminanın elektron mikroskopik değerlendirmesinde, yaşla birlikte kalınlaştığı bildirilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak da desteklenen çalışmada, bu bulguya ek olarak tip IV kollajen ve laminin immünreaktivitesinin de yüksek olduğu görülmüştür.¹⁶¹

Kasılma için gerekli olan enerjiyi sağlayan mitokondriyonlar kas lifinde çok fazladır. Sarkolemma altında ve miyofibriller arasında yoğun olarak bulunurlar. Bu nedenle yaşlanma da dahil olmak üzere çoğu değişimden sıklıkla etkilenen organellerin başında gelirler. Beregi ve arkadaşları yaşa koşut olarak, iskelet kasında ince yapı düzeyinde yaptıkları incelemelerde, yapısal değişiklikleri mitokondriyal şişme ve kristolizis olarak belirlemiş ve tüm bu değişikliklerin yaşlılarda artan düzeyde olduğunu bildirmişlerdir.¹⁶² Orlander ve arkadaşları ise çalışmalarında, mitokondriyonun iskelet kasındaki oylum oranının yaşlandıkça düştüğünü göstermişlerdir.¹⁶³ Tate ve Herbener 9, 18 ve 36 aylık farelerin kalp kaslarında elektron mikroskopik olarak yaptıkları incelemelerde, yaşa bağlı olarak mitokondriyal kristallerin da azaldığını rapor etmişlerdir.¹⁶⁴

Araştırmacılar tarafından iskelet kası ile ilgili olarak ince yapı düzeyinde yapılan çalışmalarda, yaşlanmanın gelişiminde iyi bilinen sonuçlar, tüm vücut kas kitlesinin ve iskelet kası mitokondriyon içeriğinin azalması olarak belirlenmiştir. Ek olarak lipit metabolizmasının da son derece önemli ölçüde değiştiği, hatta gelişmekte olan ülkelerde buna bağlı olarak diyabet oranının da arttığı bildirilmiştir.¹⁶⁵

Yaşlanma ile birlikte iskelet ve kalp kası liflerinde azalan işlevsel yeti, hücrelerin yapısal düzensizliğinden kaynaklanır ve bu da sonuç olarak hastalık ve ölüm oranlarındaki artış ile ilişkilidir. Corsetti ve arkadaşları 16 adet 2 aylık genç ve 16 adet 11 aylık yaşlı olarak belirlenen 32 fareden iskelet ve kalp kası örnekleri alarak morfometrik analizler yapmışlardır. Her örnekte ortalama $600 \mu\text{m}^3$ lük alan tarayarak $100 \mu\text{m}^3$ lük alanda kaç mitokondriyon olduğunu bulmuşlardır. İskelet kası için genç ve yaşlı kontroller arasında yapılan karşılaştırmalarda, gençlerde

154.71±72.07 olan sayının, yaşlı kontrollerde 53.90±50.01 olduğunu, yani yaklaşık olarak 3 kat olarak azaldığını bulmuşlardır. Kalp kasında ise gençlerde 141.40±26,02 olan sayının, yaşlılarda 93,79±25,91' e düştüğünü belirlemişlerdir.¹⁶⁶

Crane ve arkadaşları 12 erkek/12 kadın olmak üzere 24 genç ve 10 erkek/10 kadın olmak üzere 20 yaşlı denekte yaptıkları çalışmada, mitokondriyon boyutlarını değerlendirdiklerinde, yaşa ya da cinsiyete bağlı anlamlı bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Ancak yaptıkları ölçümlerde μm^2 başına düşen mitokondriyon sayısının, gençlerde yaşlılara karşın daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Toplam alanda ve subsarkolemmal bölgelerde mitokondriyonların sırasıyla en çok genç erkeklerde, genç kadınlarda, yaşlı erkeklerde ve yaşlı kadınlarda olduğunu saptamışlardır. Mitokondriyonların özellikle subsarkolemmal bölgelerde, gençlerde daha çok olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar bu bulgulara ek olarak, iskelet kasında kas hücresi içi lipit içeriğinin de yaşlanmayla birlikte arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışma yaşlı erkeklerde hücre içi lipit içeriğinin artışına, mitokondriyon azalmasının eşlik ettiğini göstermiştir. Bununla birlikte bu çalışmanın önemi, yaşlanmayla birlikte mitokondriyon sayısının düştüğünü ancak mitokondriyon boyutlarında herhangi bir değişiklik olmadığını göstermesidir.¹⁶⁷

Ciena ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 10 tanesi 4 aylık, 10 tanesi 24 aylık Wistar tipi 20 adet erkek sıçan iki gruba ayrılarak iskelet kası örnekleri değerlendirilmiştir. Elektron mikroskopik incelemelerde, 4 aylık grupta, uzunlamasına yerleşim gösteren elektron yoğun miyofibriller, arada elektron geçirgen lifler ve sarkomer yapıları ayırt edilmiştir. Subsarkolemmal alanda farklı hacimde ve çok sayıda bolca mitokondriyon izlenmiştir. Mitokondriyonların dokudaki yerleşimleri ve şekilleriyle ilgili

olarak da detaylı açıklamalar yapılmıştır. Mitokondriyonların miyofibrillerin arasında, sarkoplazmik retikulumlarla ilişkide ve oval ya da uzunlamasına yerleşim gösterdikleri belirlenmiştir. 24 aylık grupta ise, miyofibriller arasında açıklıklar olduğu görülmüştür. Bu açıklıklarda ve subsarkolemmal alanda görülen mitokondriyonlarda da şekil değişiklikleri saptanmıştır. Yapılan değerlendirmede genç grupta mitokondriyonların miyofibrillere koşut, A-I bandı yakınında yerleştikleri görülmüştür. Yaşlılarda ise mitokondriyonların bu kadar düzgün yerleşimli olmadıkları, Z bandına yakın oldukları aynı zamanda, daha küçük çaplı ve şekillerinin değişik oldukları bulunmuştur.¹⁶⁸ Bu çalışmanın öncesinde, 2009 yılında Boncompagni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, iskelet kasındaki mitokondriyonlar incelenmiş ve bu çalışmaya benzer bulgular elde edilmiştir.¹⁶⁹

Daha önce yapılan çalışmalarda iskelet kası glikojeni ve mitokondriyonlarının yerleşimlerinin belirgin olduğu ancak, bu yerleşime göre görevlerinin belirsiz olduğu rapor edilmiştir. Nielsen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, iskelet kasının kullanılmaması durumunda yaşlılıkla birlikte ne gibi değişiklikler olduğu elektron mikroskopik olarak gösterilmek istenmiştir. Mitokondriyonların subsarkolemmal, intermiyofibriller ve intramiyofibriller yerleşimlerinde meydana gelen değişiklikler ortaya konulmuştur. 5 genç ve 5 yaşlı aktif erkeğin quadriceps kası 2 hafta süresince immobilize edilmiştir. Biyopsi materyalleri immobilizasyon süreci öncesi ve sonrasında vastus lateralis' ten alınmıştır. Uygulanan immobilizasyonun, her iki grupta da intramiyofibriller alanda glikojen içeriğini %54 oranında azalttığı bulunmuştur. Ancak intermiyofibriller ve subsarkolemmal glikojenin değişmediği görülmüştür. Yine tüm yaş gruplarında immobilizasyonu izleyerek subsarkolemmal mitokondriyonların %33 oranda azalmasına karşın intermiyofibriller mitokondriyon miktarının değişmediği görülmüştür. Sonuç olarak yaşlı ve genç bireylerde iskelet

kasının glikojen ve mitokondriyon içeriklerinin immobilizasyona göre lokalizasyon bağımlı uyum gösterdiği saptanmıştır. Bu durumda, iskelet kaslarının kısa süreli kullanılmamasının özellikle miyofibril içinde yerleşik glikojeni etkilediği düşünülmüştür. Mitokondriyonlardaki değişikliklerde ise fibril sınırına olan uzaklığın önemli olduğu bildirilmiştir.¹⁷⁰

Roth ve arkadaşları insanlarda yaptıkları çalışmada, 29 adet sağlıklı erkek ve kadını incelemişlerdir. 7 genç erkek ve 7 genç kadın (20-30 yaş arası) ile 8 yaşlı erkek ve 7 yaşlı kadın (65-75) gönüllünün vastus lateralis' inden ince iğne biyopsisi ile, her iki bacadan birer tane olacak şekilde kas örneklerini alarak satellit hücre yapısı ve oranını değerlendirmişlerdir. Histolojik olarak yaşlı ve genç denekler karşılaştırıldığında en önemli farkın, yaşlılarda satellit hücrelerin gençlere karşın daha çok lipofuksin granülü içermesi olduğunu bildirmişlerdir. Yaşlı erkek ve kadınlar karşılaştırıldığında ise lipofuksin granüllerinin kadınlarda daha çok olduğunu göstermişlerdir. Kesitlerdeki satellit hücrelerde, silyalar ender görülmüş ve görülmesinde yaş ya da cinsiyet farkı izlenmemiştir. Diğer histolojik değişiklikler ise hücresel erke bağılı olarak endoplazmik retikulum, mitokondriyon ve ribozomlarda belirlenmiştir. Satellit hücrelerin ortalama %6' sında bu tip hücresel erk artışına koşut bulgular izlenmekle birlikte, gruplar arasında bir fark saptanmamıştır. Her dört grupta da satellit hücrelerin mitokondriyonları kas liflerinin mitokondriyonlarına karşın daha yuvarlak ve daha az kristaya sahip olarak izlenmiştir. Satellit hücre oranlarının istatistiksel değerlendirmesinde, genç erkeklerde $2,8 \pm 0,5$ ' ten yaşlı erkeklerde $1,7 \pm 0,5$ ' e düştüğü bildirilmiştir.¹⁷¹

Bizim çalışmamızda ise, her iki kas tipi SEM ve TEM olmak üzere iki farklı mikroskopta incelenerek elektron mikroskopik olarak değerlendirildi. Bu çalışmada diğer çalışmalardan ayrıcalıklı olarak tüm

değerlendirmeler, sadece genç ve yaşlı gruplar arasında değil, belirli bir periyod takip edilerek doğum öncesi, yenidoğan, 1 aylık, 6 aylık ve 12 aylık gruplar arasında, ayrı ayrı ve karşılaştırmalı olarak yapıldı.

İskelet kasında doğum öncesi, yenidoğan ve 1 aylık grupta yapılan SEM incelemelerinde kas liflerinin biraz daha ince olduğu, miyofibrillerin 1. aydan itibaren enine çizgilenme gösterdiği, diğer gruplarda ise dağınık oldukları belirlendi. 6 aylık grupta, iskelet kası liflerinin daha da gelişkin olduğu ve enine çizgilenme gösteren düzenli miyofibrillerin varlığı ilgiyi çekti. TEM incelemelerinde ise, özellikle doğum öncesi evreye ait grupta, çekirdekler sarkolemma'nın hemen altında oval şekilli izlenirken, mitokondriyonların o bölge sitoplazmasına yayılmış olduğu dikkati çekti. Yenidoğan grubunda ise, miyofibril düzenleniminin doğum öncesi gruba eşdeğer olduğu ayırt edildi. 1 aylık grupta, mitokondriyonların, miyofibriller arasındaki boşluk dizilimleri ve diğer gruplara karşın daha uzun ve daha yoğun matriksli oldukları saptandı. 6 aylık grupta miyofibril düzenleniminde A, I ve Z çizgilerinin belirgin olduğu görüldü. Çekirdek zarı altında yoğun kromatin birikimi orta bölge ise daha ökromatik yapıdaydı. Yer yer bazı satellit hücrelerdeki lipofuksin pigmenti benzeri yapılar dikkati çekti. 12 aylık grupta kas lifleri erişkin yapısı ile izlenirken, diğer gruplara karşın ara bağ dokusunun biraz daha çok olduğu ayırt edildi.

Çalışmamızda, iskelet kası örneklerinde gruplara göre mitokondriyon sayıları istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirmeler iskelet kasında subsarkolemmal ve intermyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede yapıldı. Subsarkolemmal bölgede yapılan sayımlarda, gruplar arası mitokondriyon sayılarında sadece 12 aylık grupta 6 aylık gruba karşın azalma olduğu görüldü ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

İntermiyofibriller bölgede ise, doğum öncesi grubuna karşın 1, 6 ve 12 aylık gruplarda mitokondriyon sayısında istatistiksel olarak artış saptandı. Yenidoğan grubunda ise 1 ve 6 aylık gruplara karşın anlamlı bir azalma vardı. Yapılan değerlendirmelerde diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farka rastlanmadı.

Çalışmamızda mitokondriyon çap ölçümleri de subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede yapıldı. Buna göre subsarkolemmal bölgede yapılan ölçümlerde 12 aylık grupta, doğum öncesi gruba karşın mitokondriyon çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı. Benzer olarak 12 aylık gruba karşın yenidoğan grubunda da mitokondriyon çaplarının daha küçük olduğu belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Yapılan değerlendirmelerde intermiyofibriller bölgede ise, subsarkolemmal bölgede yapılan değerlendirmelerden ayrıcalıklı olarak doğum öncesi ve 6 aylık grup arasında da artış belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Benzer şekilde intermiyofibriller bölgede, subsarkolemmal bölgeden farklı olarak, yenidoğan grubunda da 6 aylık gruba karşın mitokondriyon çaplarının azaldığı görüldü. Yine intermiyofibriller bölgede yapılan ölçümlerde, 12 aylık grupta da 1 ay ve 6 aylık gruplara karşın mitokondriyon çaplarının arttığı belirlendi.

Çalışmamızda kalp kasında yapılan SEM değerlendirmelerinde, iskelet kasında olduğu gibi enine çizgilenmelerin ancak 1. ayda belirgin hale geldiği dikkati çekti. Yenidoğan ve 1 ay grubunda miyofibrillerin biraz daha demetler oluşturarak, tüm sitoplazmaya dağıldığı izlendi. 6 aylık grupta, kalp kası liflerinin erişkin yapısını kazandığı ve bu görünümün 12 aylık grupta da sürdüğü izlendi. TEM düzeyinde yapılan değerlendirmelerde ise, doğum öncesi grupta,

çekirdeklerde hetereokromatin kümeler olmasına karşın, diğer bölgelerde kromatinin ökromatik olduğu, çekirdekciklerin ise bazı bölgelerde belirgin olduğu görüldü. Yenidoğan grubunda miyofibrillerin biraz daha fazla olduğu ve sitoplazmada gelişigüzel dağılmış yoğun demetler halinde görüldüğü belirlendi. Mitokondriyonlar da miyofibriller arasına dağılmış şekildeydi. 1 aylık grupta miyofibrillerde enine çizgilenmelerin belirginleştiği saptandı. Z çizgileri de belirgin olarak ayırt edildi. Diğer gruplardan ayrıcalıklı olarak bu grupta diskus interkalarislerin de belirgin olduğu saptandı. Çekirdekler de diğer gruplara karşın daha ökromatiktir. 6 aylık grupta ise miyofibril düzenlenimi, Z çizgileri ve diskus interkalarisler, A ve I bantları da belirgin olarak görüldü. Çekirdek çevresi ve miyofibriller arasında yerleşik mitokondriyonlar, uzamış, oval ve yuvarlak şekilleri ve yoğun matriksleri ile ayırt edildi. Bazı bölgelerde lipofuksin pigmenti benzeri yapılar ilgiyi çekti. 12 aylık grupta, olgun kas lifi yapısı belirgin olarak görülmekle birlikte çekirdek yapısı bazı liflerde biraz daha çentikli hale dönüşmüştü. Bu grupta da, bir önceki gruba benzer olarak sitoplazmada yer yer lipofuksin pigmenti birikimi saptandı. Bu grupta diğer gruplardan ayrıcalıklı olarak bazı bölgelerde lipit damlacıkları da ayırt edildi.

Kalp kası örneklerinde de iskelet kası örneklerinde olduğu gibi gruplara göre mitokondriyon sayıları istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirmeler kalp kasında subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede yapıldı. Subsarkolemmal bölgede yapılan sayımlarda mitokondriyon sayısının 6 aylık grupta doğum öncesi, yenidoğan ve 1 aylık gruba karşın arttığı saptandı ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı. 12 aylık grupta ise 6 aylık gruba karşın azalma belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı. İntermiyofibriller bölgede yapılan değerlendirmelerde ise, subsarkolemmal bölgeden ayrıcalıklı olarak, yenidoğan grubunda doğum öncesi gruba karşın azalma olduğu saptandı.

Yenidoğan grubuna göre 1,6 ve 12 aylık gruba gelinceye dek tüm gruplarda mitokondriyon sayısında artış olduğu belirlendi ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı. 12 aylık grupta ise 6 aylık gruba karşın bir azalma söz konusuydu. Bu azalmanın aynı grubun subsarkolemmal bölgesinde belirlenen azalmaya benzer olduğu dikkati çekti.

Çalışmamızda iskelet kasına benzer olarak kalp kasında da subsarkolemmal ve intermiyofibriller bölge olmak üzere iki farklı bölgede mitokondriyon çap ölçümleri yapıldı. Buna göre subsarkolemmal bölgede yapılan ölçümlerde, iskelet kasından farklı olarak doğum öncesi ile 1 aylık, 6 aylık ve 12 aylık gruplarda mitokondriyon çaplarının anlamlı olarak arttığı belirlendi. Yine yenidoğan grubunda da 6 aylık ve 12 aylık gruba karşın mitokondriyon çaplarının daha küçük olduğu görüldü ve farklar istatistiksel olarak anlamlıydı. 1 aylık grupta, 6 ve 12 aylık gruplara karşın mitokondriyon çaplarının daha küçük olduğu belirlendi. Yapılan değerlendirmelerde 6 aylık gruba karşın, 12 aylık grupta mitokondriyon çaplarının arttığı görüldü ve fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Kalp kasında intermiyofibriller bölgede mitokondriyon çapları değerlendirildiğinde ise, subsarkolemmal bölgeden ayrıcalıklı olarak doğum öncesi ve 1 aylık grup arasında artış görülmesine karşın istatistiksel olarak anlamlı değildi. Diğer bulgulardan ayrıcalıklı olarak ise 6 aylık ve 12 aylık grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmedi. Bu karşılaştırmada doğum öncesi, yenidoğan ve 1 aylık grubun ayrı ayrı 6 ve 12 aylık gruba karşın mitokondriyon çaplarının anlamlı olarak daha küçük olduğu belirlendi.

İskelet ve kalp kasında subsarkolemmal bölgede mitokondriyon sayıları karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde ise, kalp kasından ayrıcalıklı olarak, iskelet kasında sadece 6 ve 12 aylık gruplar

arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmesi ilgiyi çekti. İntermiyofibriller bölgede yapılan değerlendirmelerde ise, kalp kasında, iskelet kasından ayrıcalıklı olarak doğum öncesi ve 1 aylık grup arasında mitokondriyon sayısı bakımından fark olmadığı görüldü.

İskelet ve kalp kası subsarkolemmal bölgede mitokondriyon çapları karşılaştırıldığında ise, kalp kasında hemen hemen tüm gruplarda anlamlı bir fark belirlenmekle birlikte, iskelet kasında sadece doğum öncesi ve yenidoğan gruplarının, 12 aylık gruba karşın anlamlı fark göstermesi dikkati çekti. İntermiyofibriller bölgede ise iskelet kasında 6 ve 12 aylık gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasına karşın, kalp kasında bu gruplar arasında anlamlı bir fark olmaması ilgiyi çekti.

6. SONUÇ

Mezodermal kökenli olduğu bilinen iskelet ve kalp kası gelişiminde işlevsel olduğu düşünülen, sitokin ve büyüme faktörlerinin yaşa koşut değişimlerini tanımlayabilmek ereğiyle planladığımız çalışmamızda her iki dokuda da belirtilen moleküllerin ifadeleri saptanmıştır.

İskelet kasında yapılan incelemelerde Tip I Kollajen ifadenmesinin immünohistokimyasal ve Western blot yöntemleriyle yapılan değerlendirmesinde, yaşa koşut arttığı saptandı. Doğum öncesi grupta, Tip I Kollajen tutulumunun son derece zayıf olduğu görülürken, yaşla birlikte tüm gruplarda boyanmanın arttığı ayırt edildi. Özellikle 12 aylık grupta, perimisyumda kuvvetli immünreaktivite olduğu dikkati çekti. Aynı dokudaki FGF-2 tutulumu ise, tüm gruplar arasında yenidoğan grubunda, özellikle yeni tüpleri oluşturacak hücrelerde belirgindi. Bu bulgunun, FGF-2' nin prolifer edici etkisiyle, miyoblastları uyatarak, farklanmalarını ve iç şekilli, çok çekirdekli miyotüplere dönüşmelerini sağlamasının kanıtı olabileceği kabul edildi. 1 aylık gruba kadar artış gösteren IGF-I immünreaktivitesinin 6 aylık grupta sarkolemma ile çekirdek dışındaki belirsizliği dikkati çekti. Bu molekülün yaşa koşut olarak iskelet kas dokusunda farklanmayı bir süre ilerletmesine karşın, yine yaşla, dolaşımdaki düşüşüne koşut olarak dokuda da azalmış olabileceği kanısına varıldı. GDF-8 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde ise, yeni oluşan miyotüplerde orta dereceli olmasına karşın biraz daha kalınlaşmış liflerde daha zayıfladığı ayırt edildi. 6 aylık gruba ait incelemelerde 1 aylık gruba karşın daha yoğun GDF-8 immünreaktivitesi görüldü. Bu etkinin iskelet kası gelişimi tamamlandıkça artan GDF-8 ifadesinin, yaşla birlikte artması sonucu olabileceği kanısına varıldı. Doğum öncesi gruptan

itibaren GDF-8 immünreaktivitesinin görülmesi, 12 aylık grupta yine bazı liflerde yoğun tutulumunu sürdürmesi, bu molekülün her yaşta iskelet kas artışını koruyan bir faktör olduğunu düşündürdü.

Çalışmamızda kalp kasında da iskelet kasına benzer olarak, Tip I Kollajen ifadesinin yaşa koşut artış gösterdiği belirlendi. Bu bulgu miyositlerin yaşa koşut olarak yitimi sonucunda, kaybın kollajen liflerle düzeltilmeye çalışılmasının sonucu olarak değerlendirildi. Kalp kasındaki FGF-2 immünreaktivitesi, yenidoğan grubunda doğum öncesi gruba karşın yoğundu. Miyositlerce üretildiği bilinen FGF-2' nin, kalp miyositlerinin tüm gelişim aşamalarında görülen mitojenik etkisi sonucunda bunun gerçekleşmiş olabileceği kanısına varıldı. IGF-I immünreaktivitesinin ise 1 aylık grupta, miyokard düzeyinde belirgin şekilde arttığı dikkati çekti. 6 aylık grupta ise 1 aylık gruba benzer dağılımda ancak daha zayıf olduğu görüldü. 12 aylık grupta ise tutulum doku genelinde yer yer kuvvetli yer yer zayıftı. IGF-I' in kalpteki sınırlı ifadesine karşın yaşa koşut tüm gruplarda görülmesi, yaşlanmayla birlikte, miyosit ölümünü azaltarak miyositleri korumaya yönelik IGF-I ifadesinin sürdüğünü düşündürdü. Embriyolojik dönemde yoğun düzenleyici olarak işlev gören GDF-8 immünreaktivitesi doğum öncesi grupta son derece kuvvetliydi. Yenidoğan grubundaki tutulum doğum öncesi gruba karşın daha zayıftı. 1 aylık grupta perikardiyumda yaygın GDF-8 tutulumu izlenirken, miyokarddaki tutulumun yerel alanlarda yoğunlaştığı saptandı. Bu bulgulara koşut, GDF-8 ifadesinin morfogenez tamamlanana değin aşamalı olarak arttığı kanısına varıldı.

İskelet kasında doğum öncesi, yenidoğan ve 1 aylık grupta yapılan SEM incelemelerinde kas liflerinin biraz daha ince olduğu, miyofibrillerin 1. aydan itibaren enine çizgilenme gösterdiği belirlendi. TEM

incelemelerinde ise, özellikle doğum öncesi evreye ait grupta, mitokondriyonların o bölge sitoplazmasına yayılmış olduğu dikkati çekti. Yenidoğan grubunda, miyofibril düzenleniminin doğum öncesi gruba eşdeğer olduğu ayırt edildi. 1 aylık grupta, mitokondriyonların, miyofibriller arasındaki koştut dizilimleri ve diğer gruplara karşın daha uzun ve daha yoğun matriksli oldukları saptandı. 6 aylık grupta miyofibril düzenleniminde A,I ve Z çizgilerinin belirginleştiği görülmekle birlikte yer yer bazı satellit hücrelerdeki lipofuksin pigmenti benzeri yapılar dikkati çekti. 12 aylık grupta kas lifleri erişkin yapısı ile izlenirken, diğer gruplara karşın ara bağ dokusunun biraz daha arttığı ilgiyi çekti.

Çalışmamızda kalp kasında yapılan SEM değerlendirmelerinde, iskelet kasında olduğu gibi enine çizgilenmelerin ancak 1. ayda belirgin hale geldiği dikkati çekti. 6 aylık grupta, kalp kası liflerinin erişkin yapısını kazandığı ve bu görünümün 12 aylık grupta da sürdüğü izlendi. TEM düzeyinde yapılan değerlendirmelerde ise, doğum öncesi grubuna karşın yenidoğan grubunda miyofibrillerin biraz daha fazla olduğu ve sitoplazmada gelişigüzel dağılmış yoğun demetler halinde görüldüğü belirlendi. Mitokondriyonlar da miyofibriller arasına dağılmış şekildeydi. 1 aylık grupta miyofibrillerde enine çizgilenmelerin yoğunlaştığı ve diğer gruplardan ayrıcalıklı olarak diskus interkalarislerin de belirgin olduğu saptandı. 6 aylık grupta ise diskus interkalarisler, Z çizgileri, A ve I bantları da belirgin olarak görüldü. Çekirdek çevresi ve miyofibriller arasında yerleşik mitokondriyonlar, uzamış, oval ve yuvarlak şekilleri ve yoğun matriksleri ile ayırt edildi. Bazı bölgelerde lipofuksin pigmenti benzeri yapılar ilgiyi çekti. 12 aylık grupta, olgun kas lifi yapısı belirgin olarak görülmekle birlikte, izlenen lipofuksin pigmentlerine ek olarak bazı bölgelerde lipit damlacıkları da ayırt edildi.

Çalışmamızda İskelet ve kalp kasında subsarkolemmal bölgede mitokondriyon sayıları karşılaştırıldığında, kalp kasından ayrıcalıklı olarak, iskelet kasında sadece 6 ve 12 aylık gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark belirlenmesi ilgiyi çekti. İntermiyofibriller bölgede yapılan değerlendirmelerde ise, kalp kasında, iskelet kasından ayrıcalıklı olarak doğum öncesi ve 1 aylık grup arasında mitokondriyon sayısı bakımından fark olmadığı görüldü.

İskelet ve kalp kası subsarkolemmal bölgede mitokondriyon çapları karşılaştırıldığında ise, kalp kasında hemen hemen tüm gruplarda anlamlı bir fark belirlenmekle birlikte, iskelet kasında sadece doğum öncesi ve yenidoğan gruplarının, 12 aylık gruba karşın anlamlı fark göstermesi dikkati çekti. İntermiyofibriller bölgede ise iskelet kasında 6 ve 12 aylık gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmasına karşın, kalp kasında bu gruplar arasında anlamlı bir fark olmaması ilgiyi çekti.

Sonuç olarak tüm bu bulgular ışığında, iskelet ve kalp kası gelişiminden itibaren yaşa koşut farklılık gösterdiği düşünülen önemli moleküllerin, çeşitli yöntemlerle değerlendirildiği, SEM ve TEM bulgularıyla desteklenen çalışmamızda, iskelet kasının kalp kasına karşın yaşlanma sürecini daha etkin yaşadığı, kalp kasının ise erişkin dönemden sonra yaşlılık dönemine değin kendini stabilize ettiği kanısına varılmıştır. Bu bulgular iskelet kasının istemli ve düzenli olmayan çalışmasına karşın kalp kasının istemsiz ve düzenli çalışmasının bir sonucu olarak değerlendirilmiştir.

7. ÖZET

İskelet ve Kalp Kası Dokusunda Yaşa Bağlı Değişikliklerin İmmünohistokimyasal ve Western Blotting Yöntemleri Kullanılarak Karşılaştırmalı Olarak Değerlendirilmesi

Yaşlanma süreci doğumla birlikte başlayan, zamana koşut artarak organizmanın ölümüne neden olan hücresel değişimlerin tümüdür. Yaşlanma sırasında belirli dokularda azalan ya da artan moleküllerin ve bu moleküllerin etki düzeneklerinin belirlenmesi bu sürecin işleyişini anlamamıza önemli bir katkı sağlayacaktır. Bu nedenle çalışmamızda, Tip I Kollajen, FGF-2, IGF-I ve GDF-8' in iskelet ve kalp kasında, değişik yaş gruplarında immünohistokimyasal ve Western blotting yöntemleri kullanılarak, SEM ve TEM bulgularıyla da desteklenerek karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda, doğum öncesi ve sonrası farklı yaş gruplarından, her grupta 6 adet sıçan olacak şekilde 5 grup oluşturuldu. Gruplar kas gelişiminde önemli olabilecek günler dikkate alınarak, doğum öncesi grubu (20. gün), yenidoğan grubu, 1 aylık grup (prepubertal evre), 6 aylık grup (erişkin evre) ve 12 aylık grup (yaşlılık dönemi başlangıcı) olarak belirlendi. Tüm gruplarda Tip I Kollajen, FGF-2, IGF-I ve GDF-8 immünreaktiviteleri belirlendi. Western blot analizi ise iskelet ve kalp kasında tüm gruplarda Tip I Kollajen için değerlendirildi. Tüm bulgular SEM ve TEM incelemeleriyle desteklendi.

Çalışmamızda kalp kasında da iskelet kasına benzer olarak, Tip I Kollajen ifadesinin yaşa koşut artış gösterdiği belirlendi. FGF-2 ifadesi ise, iskelet ve kalp kasında yenidoğan grubunda yoğunlu. IGF-I immünreaktivitesinin 6 aylık grupta sarkolemma ile çekirdek dışındaki belirsizliği dikkati çekti. GDF-8 ifadesinin tüm gruplarda morfogenez tamamlanana değin aşamalı olarak arttığı görüldü.

Sonuç olarak tüm bu bulgular ışığında, iskelet ve kalp kası gelişiminden itibaren yaşa koşut farklılık gösterdiği düşünülen önemli moleküllerin, çeşitli yöntemlerle değerlendirildiği, SEM ve TEM bulgularıyla desteklenen çalışmamızda, iskelet kasının kalp kasına karşın yaşlanma sürecini daha etkin yaşadığı, kalp kasının ise erişkin dönemden sonra yaşlılık dönemine değin kendini stabilize ettiği kanısına varılmıştır. Bu bulgular iskelet kasının istemli ve düzenli olmayan çalışmasına karşın kalp kasının istemsiz ve düzenli çalışmasının bir sonucu olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İskelet kası, Kalp kası, Yaşlanma.

8. SUMMARY

Evaluation of Changes by Age in Skeletal and Heart Muscle Via Using Western Blotting and Immunohistochemistry

Aging process beginning with the birth contains all cellular changes which cause death of the organism in parallel with time. Determining decreasing or increasing molecules in particular tissues during aging and the effect mechanism of these molecules will contribute to our understanding of functioning of this process significantly. Because of this reason, our study aims at comparative examination of Type I Collagen, FGF-2, IGF-I and GDF-8 in the skeletal and cardiac muscle in the different age groups through the methods of immunohistochemical, SEM, TEM and Western blotting.

In our study 5 groups were formed from prenatal and postnatal different age groups, 6 rats were put in each group. Groups were determined as the prenatal group (20th Day), neonatal group, 4-week group (prepubertal period), 6-month group (mature period) and 12-month group (begining of old-age period). Type I Collagen, FGF-2, IGF-I and GDF-8 immunoreactivities were identified in all groups. Western blotting analysis was evaluated for Type I Collagen in all groups in the skeletal and cardiac muscle. All findings are supported by research and analyzes of SEM and TEM.

In our study, heart muscle as well as skeletal muscle, similar age related type-1 collagen increments were determined. On the other

hand FGF-2 was intense in skeletal and heart muscle at newborn group. In 6th month group, IGF-1 immunoreactivity was not certain except sarcolemma and nucleus. GDF-8 expression was seen in all groups increased gradually until complete morphogenesis.

Consequently, in the light of these findings, in our study in which important molecules in parallel with the aging were evaluated through the various methods as of the development of the skeletal and cardiac muscle it has been estimated that the skeletal muscle lives the aging process more effectively in comparison to the cardiac muscle, the cardiac muscle stabilize itself from the adult period to the old age period. These findings have been evaluated as result of the voluntary and irregular mobilization of the skeletal muscle in comparison to involuntary and regular working of the cardiac muscle.

Key words: Skeletal muscle, Heart muscle, Aging.

9. KAYNAKLAR

1. Meyer K.C.: Aging., Proc Am Thorac Soc, 2005; 2: 433-439.
2. Sadler T.W.: Langman's Medikal Embriyoloji, Türkçe çeviri; A. Can Başaklar, 9. Baskı, Palme Yayıncılık, 2005, Ankara.
3. Listrat A., Picard B., Geay Y.: Age-related changes and location of type I, III and IV collagens during skeletal muscle development of double-muscled and normal bovine fetuses., Journal of Muscle Research and Cell Motility., 1998, 19: 1-14.
4. Gilbert S.J., Wotton P.R., Bailey A.J., Sims T.J., Duance V.C.: Alterations in the organisation, ultrastructure and biochemistry of the myocardial collagen matrix in Doberman pinschers with dilated cardiomyopathy., Research in Veterinary Science., 2000, 69, 267–274.
5. Souza R.R.: Aging of myocardial collagen., Biogerontology, 2002, 3:325–335.
6. Götz W., Dittjen O., Wicke M., Biereder S., Krüger U., von Lengerken G.: Immunohistochemical detection of components of the insulin-like growth factor system during skeletal muscle growth in the pig., Anat Histol Embryol., 2001, Feb; 30(1): 49-56.
7. Harridge S.D.R.: Aging and local growth factors in muscle., Scand. J. Med. Sci. Sports., 2003, 13: 34-39.
8. Lombardi G., Colao A., Marzullo P., Ferone D., Longobardi S., Espoto V., Merola B.: Is growth hormone bad for your heart? Cardiovascular impact of GH deficiency and of acromegaly., Journal of Endocrinology., 1997, 155(1): S33-37.

9. Salerno M.S., Thomas M., Forbes D., Watson T., Kambadur R., Sharma M.: Molecular analysis of fiber type-specific expression of murine myostatin promoter., *Am J Physiol Cell Physiol.*, 2004, 287: C1031-C1040.
10. Zhu X., Hadhazy M., Wehling M., Tidball J.G., McNally E.M.: Dominant negative myostatin produces hypertrophy without hyperplasia in muscle., *FEBS Letters.*, 2000, 474: 71-75.
11. Jackson MF, Luong D, Vang DD, Garikipati DK, Stanton JB, Nelson OL, Rodgers BD.: The aging myostatin null phenotype: reduced adiposity, cardiac hypertrophy, enhanced cardiac stress response, and sexual dimorphism., *J Endocrinol.* 2012 Jun;213(3):263-75.
12. Moore K.L., Persaud T.V.N.: Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi, Çev. Ed.: Yıldırım M., Okar İ., Dalçık H., 1. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 2002, İstanbul.
13. Carlson B.M: Human Embryology and Developmental Biology, Fourth edition, Mosby Elsevier, 2009, Philadelphia.
14. Ji S., Losinski R.L., Cornelius S.G., Frank G.R., Willis G.M., Gerrard D.E., Depreux F.F., Spurlock M.E.: Myostatin expression in porcine tissues: tissue specificity and developmental and postnatal regulation., *Am J PhysFzhuiol.*, 1998 Oct; 275 (4 Pt 2): R1265-73.
15. Kawada S, Tachi C, Ishii N: Content and localization of myostatin in mouse skeletal muscles during aging, mechanical unloading and reloading, *Journal of Muscle Research and Cell Motility*; 2001, 22: 627-633.
16. Gartner L.P., Hiatt J.L.: Renkli Histoloji Atlası, Çev. Ed.: Dağdeviren A., Müftüoğlu F.S., Karabay G., 4. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, 2009, Ankara.

- 17.Ross M.H., Kaye G.I., Pawlina W.: Histology A Text and Atlas, 4th ed., Lippincot Williams&Wilkins, 2003, Printed in USA.
- 18.Spach M.S., Heidlage J.F., Barr R.C., Dolber P.C.: Cell size and communication: Role in structural and electrical development and remodeling of the heart., Heart Rhythm., 2004, Oct;1(4): 500-15.
- 19.Gökmen F.G.: Sistematik Anatomi, İzmir Güven Kitabevi, 2003, İzmir.
- 20.Martini F.H., Timmons M.J., Tallitsch R.B.,: Human Anatomy, 6th edition, Pearson Benjamin Cummings, 2009, San Francisco, USA.
- 21.Dere F.: Anatomi Atlası ve Ders Kitabı, Cilt 1, 5. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, 1999, Adana.
- 22.Cumhur M.: Temel Anatomi, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim, 2001, Ankara.
- 23.Ulutaş İ.: Dolasım Sistemi ve İç Salgı Bezlerinin Anatomisi, 3. Baskı, Ege Üniversitesi Yayınevi, 1977, İzmir.
- 24.Snell R.S., Yıldırım M. (çev. ed.): Klinik Anatomi., 6. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, 2004, İstanbul, s. 77-136.
- 25.Aliev R.R., Panfilov A.V.: A simple two-variable model of cardiac excitation, Chaos, Solutions and Fractals, 1996, Vol. 7, 293–301.
- 26.Drake R.L., Vogl W., Mitchell A.W.M.: Gray' s Anatomy for Students, 1st published, Churchill Livingstone, 2005, Printed in Spain.
- 27.Arıncı K., Elhan A.: Anatomi., 2. cilt., Güneş Kitabevi, 1995, Ankara.
- 28.Streeter D.: Gross morphology and fiber geometry of the heart: In Handbook of Physiology, vol. 1: The Heart, Sec. 2: The

- Cardiovascular System, ed: Bathesta B., Williams&Wilkinson, s. 61-112,1979.
- 29.Solomon E.P: Introduction to Human Anatomy and Physiology, 2nd ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, s. 159-168.
- 30.Sağlam M., Aştı R.N., Özer A.: Genel Histoloji, 6. Baskı, Yorum Matbaacılık, 2001, Ankara.
- 31.Kierszenbaum A.L.: Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş, Çev. Ed.: Demir R., Palme Yayıncılık, 2006, Ankara.
- 32.Gartner L.P., Hiatt J.L.: Color Textbook of Histology, 3rd ed., Lippincot Williams&Wilkins, 2000, Printed in USA.
- 33.Young B., Heath J.W.: Wheater's Functional Histology, A Text and Colour Atlas, Churchill Livingstone, 2000, London.
- 34.Ovalle W.K., Nahirney P.C.: Netter Temel Histoloji, Çev. Ed.: Müftüoğlu S, Kaymaz F., Atilla P., Güneş Tıp Kitabevleri, 2009, Ankara.
- 35.McArdle W.D., Katch F.I, Katch L.V.: Exercise Physiology, Energy, Nutrition&Human performance., Lippincott Williams & Wilkins, 2007, Philedelphia.
- 36.Mescher A.L.: Junqueira' s Basic Histology, Text and Atlas, Mc Graw Hill, 12th ed., 2010, International edition.
- 37.Guyton A. C., Hall J. E.: Textbook of Medical Physiology, 12th ed., International Edition, Saunders Elsevier, 2011, printed in USA.
- 38.Erdoğan D., Hatiboğlu T., Görgün M., Ilgaz C.: Genel Histoloji., 3. Baskı, Hatipoğlu Yayınevi, 2008, Ankara.

39. Ganong W.: Ganong's Review of Medical Physiology, Ed: Barrett K. E., Barman S. M., Boitano S., Brooks H. L., 23rd Edition, McGraw-Hill Education, 2010, Printed in Singapore.
40. Berne R.M., Levy M. N.: Berne and Levy Physiology, Ed: Koeppen B. M., Stanton B. A., 6th Ed., Mosby Elsevier, 2010, Philadelphia.
41. Perhonen M., Han X., Wang W., Karpakka J., Takala T.E.: Skeletal muscle collagen type I and III mRNA, [corrected] prolyl 4-hydroxylase, and collagen in hypobaric trained rats, J Appl Physiol., 1996 Jun; 80(6): 2226-33.
42. Baum C., Arpey C.: Normal cutaneous wound healing: Clinical correlation with cellular and molecular events; Dermatol Surg, 2005; 31(6): 674-86.
43. Ornitz, D.M., Itoh, N.: Fibroblast growth factors, Genome Biol., 2001, 2: 3005.1-3005.
44. Nugent M.N., Lozzo R.V.: Fibroblast growth factor-2, IJBCB, 2000, 32: 115-120.
45. Wang Y. J., Shahrokh Z., Vemuri S., Eberlein G., Beylin I., Busch M.: Characterization, stability, and formulations of basic fibroblast growth factor" Pearlman, R., Wang Y. J. (derleyenler): Formulation and characterization, and stability of protein drugs, Plenum Press, 1996, New York, London, s.141-180.
46. Bikfalvi A., Klein S., Pintucci G., Rifkin D.B.: Biological roles of fibroblast growth factor-2, Endocrine Rev., 1997, 18, 26-45.
47. Sperinde G.V., Nugent M.A.: Heparin sulfate proteoglycans control bFGF processing in vascular smooth muscle cells., Biochemistry, 1998 Sep 22; 37(38): 13153-64.

48. Mohammadi M., Froum S., Hamby J.M., Schroeder M.C., Panek R.L., Lu G.H., Eliseenkova A.V., Gren D., Schlessinger J., Hubbard S.R.: Crystal structure of an angiogenesis inhibitor bound to the FGF receptor tyrosine kinase domain, *EMBO J.*, 1998,17(10): 5896-5904.
49. Delrieu I.: The high molecular weight isoforms of basic fibroblast growth factor (FGF-2): an insight into an intracrine mechanism, *FEBS Letters*, 2000, 468, 6-10.
50. Okada-Ban M., Thiery J.P., Jouanneau J.: Fibroblast growth factor-2, *IJBCB*, 2000, 32: 263-267.
51. Moroni, E., Dell'Era, P., Rusnati, M., Presta, M.: Fibroblast growth factors and their receptors in hematopoiesis and hematological tumors, *J. Hematother. & Stem Cell Res.*, 2002, 11: 19-32.
52. Florini J.R., Ewton D.Z., Coolican S.A.: Growth hormone and insulin-like growth factor system in myogenesis., *Endocr. Rev.*, 1996, 17: 481–517.
53. Olson E. N.: Interplay between proliferation and differentiation within the myogenic lineage., *Dev. Biol.*, 1992, 154: 261–272.
54. Claus P., Werner S., Timmer M., Grothe C.: Expression of the fibroblast growth factor-2 isoforms and the FGF receptor 1-4 transcripts in the rat model system of Parkinson's disease, *Neurosci. Lett.*, 2004, 360(3): 117-20.
55. Daughaday W.H., Rotwein P.: Insulin-like growth factors I and II: peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum and tissue concentrations, *Endocr Rev.*, 1989, 10: 68-91.

56. LeRoith D., Werner H., Beitner-Johnson D., Roberts C.T.: Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor., *Endocr Rev.*, 1995, 16: 143-163.
57. McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.J.: Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member., *Nature*, 1997, 387: 83-90.
58. Bellinge R.H.S., Liberles, D.A., Laschi S.P.A., Brien O., Tay G.K.: Myostatin and its implications on animal breeding: a review., *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 2005, 36: 1-6.
59. Grobet L., Martin L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Ménéssier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M.: A deletion in the myostatin gene causes double-muscling in cattle., *Natural Genetics*, 1997, 17(1): 71-74.
60. Kambadur R., Sharma M., Smith T. P. L., Bass, J. J.: Mutations in myostatin (GDF-8) in double muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle., *Genome Research*, 1997, 7: 910-915.
61. McPherron A.C., Lee S.J.: Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997 Nov 11; 94(23): 12457-61.
62. Roubenoff R.: Origins and clinical relevance of sarcopenia., *Can J Appl Physiol*, 2001; 26: 78-89.
63. Clark B.C., Manini T.M.: Functional consequences of sarcopenia and dynapenia in the elderly., *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, 2010 May; 13(3): 271-6.
64. Evans W.: Functional and metabolic consequences of sarcopenia., *J Nutr*, 1997; 127 (5 Suppl): 998-1003.

65. Bales C.W., Ritchie C.S.: Sarcopenia, weight loss, and nutritional frailty in the elderly., *Annu Rev Nutr*, 2002; 22: 309-323.
66. Carlson B.M., Faulkner J.A.: Muscle regeneration in young and old rats: effects of motor nerve transection with and without marcadine treatment., *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 1998, 53: B52–B57.
67. Carlson B.M., Faulkner J.A.: Muscle transplantation between young and old rats: age of host determines recovery., *Am J Physiol Cell Physiol*, 1989, 256: C1262–C1266.
68. Chakravarthy M.V., Davis B.S., Booth F.W.: IGF-I restores satellite cell proliferative potential in immobilized old skeletal muscle., *J Appl Physiol*, 2000, 89: 1365-1379.
69. Schultz E., McCormick K.M.: Skeletal muscle satellite cells., *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 1994, 123: 213–257.
70. Seale P., Rudnicki M.A.: A new look at the origin, function and “stem cell” status of muscle satellite cells., 2000, *Dev Biol*, 218: 115–124.
71. Keller H.L., Schneider B.S.P., Eppihimer L.A., Cannon J.G.: Association of IGF-I and IGF-II with myofiber regeneration in vivo., *Muscle Nerve*, 1999, 22: 347-354.
72. Phelan J.N., Gonyea W.J.: Effect of radiation on satellite cell activity and protein expression in overloaded mammalian skeletal muscle., *Anat Rec*, 1997, 247: 179–188.
73. Rosenblatt J.D., Parry D.J.: Gamma irradiation prevents compensatory hypertrophy of overloaded mouse extensor digitorum longus muscle., *J Appl Physiol*, 1992, 73: 2538–2543.
74. Decary S., Mouly V., Hamida C.B., Sautet A., Barbet J.P., Butler-Browne G.S.: Replicative potential and telomere length in human

skeletal muscle: implications for satellite cell-mediated gene therapy., *Hum Gene Ther*, 1997, 8: 1429–1438.

- 75.Dodson M.V., Allen R.E.: Interaction of multiplication stimulating activity/rat insulin-like growth factor II with skeletal muscle satellite cells during aging. *Mech Ageing Dev*, 1987, 39: 121–128.
- 76.Schultz E., Darr K.C., Marius A.: Acute effects of hindlimb unweighting on satellite cells of growing skeletal muscle., *J Appl Physiol*, 1994, 76: 266–270.
- 77.Williams G.N., Higgins M.J., Lewek M.D.: Aging skeletal muscle: physiologic changes and the effects of training., *Phys Ther.*, 2002 Jan; 82(1): 62-8.
- 78.Lamberts S.W., van den Beld A.W., van der Lely A.J.: The endocrinology of aging., *Science*, 1997, 278: 419-424.
- 79.Nair K.S.: Aging muscle., *Am J Clin Nutr.*, 2005; 81: 953-63.
- 80.Roubenoff R.: Sarcopenia: a major modifiable cause of frailty in the elderly., *J Nutr Health Aging*, 2000; 4: 140-142.
- 81.Karakelides H., Sreekumaran Nair K.: Sarcopenia of aging and its metabolic impact., *Curr Top Dev Biol*, 2005; 68:123-148.
- 82.Ji L.L.: Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress?, *Ann N Y Acad Sci*, 2001; 928: 236-247.
- 83.Rice K.M., Blough E.R.: Sarcopenia-related apoptosis is regulated differently in fast- and slow-twitch muscles of the aging F344/N x BN rat model., *Mech Ageing Dev.*, 2006 Aug; 127(8): 670-9.
- 84.Volkova M., Garg R., Dick S., Boheler K.R.: Aging-associated changes in cardiac gene expression., *Cardiovasc Res* , 2005; 66: 194-204.

- 85.Oxenham H., Sharpe N.: Cardiovascular aging and heart failure.,
Eur J Heart Fail, 2003; 5: 427-434.
- 86.Fomovsky G.M., Thomopoulos S., Holmes J.W.: Contribution of
extracellular matrix to the mechanical properties of the heart., J Mol
Cell Cardiol., 2010 Mar; 48(3): 490-6.
- 87.Eghbali M.: Collagen gene expression and molecular basis of
fibrosis in the myocardium., Heart Failure, 1990, 6: 125–128.
- 88.Weber K.T., Janicki J.S., Shroff S.G., Pick R., Chen R.M., Basley
R.T.: Collagen remodeling of the pressure overloaded
hypertrophied non human primate myocardium., Circ Res, 1988,
67: 757–765.
- 89.Akamatsu F.E., de Souza R.R., Liberti E.A.: Fall in the number of
intracardiac neurons in aging rats., Mech Ageing Dev., 1999, 190:
153-161.
- 90.Debessa C.R.G., Maifrino L.B.M., de Souza R.R.: Age related
changes of collagen network of the human heart., Mech Ageing
Dev., 2001, 122: 1049–1058.
- 91.Nguyen C.T., Hall C.S., Scott M.J., Zhu Q., Marsh J., Wickline S.A.:
Age related alterations in cardiac structure and material properties
in Fischer 344 rats., Ultrasound Med Biol., 2001, 27: 611-619.
- 92.Thomas D.P., Zimmerman S.D., Hansen T.R., Martin D.T.,
McCormick R.J.: Collagen gene expression in rat left ventricle:
interactive effect of age and exercise training., J Appl Physiol, 2000,
89: 1462-1468.
- 93.Olivetti G., Melissari M., Capasso J.M., Anversa P.:
Cardiomyopathy of aging human heart. Myocyte loss and reactive
cellular hypertrophy., Circ Res, 1991, 68: 1560-1568.

94. Masson S., Arosio B., Fiordalino F., Gagliano N., Calvillo L., Santanbrogio D., D'aquila S., Vergani C., Latini R., Annoni G.: Left ventricular response to beta adrenergic stimulation in aging rats., *J Gerontol A Biol. Sci. Med. Sci*, 2000, 55(1): 1335-1341.
95. Eghbali M., Blumenfeld O.O., Seifter S.: Localization of the fibers I, III and IV collagen mRNAs in rat heart cells by in situ hybridization., *J Mol Cell Cardiol*, 1989, 21: 103-113.
96. Brooks W.V., Conrad C.H.: Myocardial fibrosis in transforming growth factor β (1) heterozygous mice., *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32(2): 187-195.
97. McKoy G., Ashley W., Mander J., Yang S.Y., Williams N., Russell B., Goldspink G.: Expression of insulin growth factor-1 splice variants and structural genes in rabbit skeletal muscle induced by stretch and stimulation., *J Physiol*, 1999, 516 (2): 583-592.
98. Itoh N., Ornitz D.M.: Evolution of the Fgf and Fgfr gene families., *Trends Genet.*, 2004 Nov; 20(11): 563-9.
99. Efthimiadou A., Asimakopoulos B., Nikolettos N., Giatromanolaki A., Sivridis E., Papachristou D.N., Kontoleon E.: Angiogenic effect of intramuscular administration of basic and acidic fibroblast growth factor on skeletal muscles and influence of exercise on muscle angiogenesis., *Br J Sports Med.*, 2006 Jan; 40(1): 35-9.
100. Detillieux K.A., Sheikh F., Kardami E., Cattini P.A.: Biological activities of fibroblast growth factor-2 in the adult myocardium., *Cardiovasc Res.*, 2003 Jan; 57(1): 8-19.
101. Eswarakumar V.P., Lax I., Schlessinger J.: Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors., *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005 Apr; 16(2): 139-49.

102. Powers C.J., McLeskey S.W., Wellstein A.: Fibroblast growth factors, their receptors and signaling., *Endocr Relat Cancer.*, 2000 Sep; 7(3): 165-97.
103. Ou G., Charles L., Matton S., Rodner C., Hurley M., Kuhn L., Gronowicz G.: Fibroblast growth factor-2 stimulates the proliferation of mesenchyme-derived progenitor cells from aging mouse and human bone., *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 2010 Oct; 65(10): 1051-9.
104. Clegg C.H., Linkhart T.A., Olwin B.B., Hauschka S.D.: Growth factor control of skeletal muscle differentiation: commitment to terminal differentiation occurs in G1 phase and is repressed by fibroblast growth factor., *J Cell Biol.*, 1987 Aug; 105(2): 949-56.
105. Templeton T.J., Hauschka S.D.: FGF-mediated aspects of skeletal muscle growth and differentiation are controlled by a high affinity receptor, FGFR1., *Dev Biol.*, 1992 Nov; 154(1): 169-81.
106. Coleman D.R.: Multiple hormones stimulate the production of somatomedin by cultured human fibroblasts., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1984, 58: 850–856.
107. Adams G.R., McCue S.A.: Localized infusion of IGF-1 results in skeletal muscle hypertrophy in rats., *The American Physiological Society*, 1998, May; 84(5): 1716-22.
108. Speir E., Tanner V., Gonzalez A.M., Farris J., Baird A., Casscells W.: Acidic and basic fibroblast growth factors in adult rat heart myocytes. Localization, regulation in culture, and effects on DNA synthesis., *Circ Res.*, 1992 Aug; 71(2): 251-9.
109. Pennisi D.J., Ballard V.L., Mikawa T.: Epicardium is required for the full rate of myocyte proliferation and levels of expression of myocyte mitogenic factors FGF2 and its receptor, FGFR-1, but not for

transmural myocardial patterning in the embryonic chick heart., *Dev Dyn.*, 2003 Oct; 228(2): 161-72.

110. deAlmeida A., Sedmera D.: Fibroblast Growth Factor-2 regulates proliferation of cardiac myocytes in normal and hypoplastic left ventricles in the developing chick., *Cardiol Young.*, 2009 Apr; 19(2): 159-69.

111. Sugi Y., Sasse J., Lough J.: Inhibition of precardiac mesoderm cell proliferation by antisense oligodeoxynucleotide complementary to fibroblast growth factor-2 (FGF-2)., *Dev Biol.*, 1993 May; 157(1): 28-37.

112. Sheikh F., Hirst C.J., Jin Y., Bock M.E., Fandrich R.R., Nickel B.E., Doble B.W., Kardami E., Cattini P.A.: Inhibition of TGFbeta signaling potentiates the FGF-2-induced stimulation of cardiomyocyte DNA synthesis., *Cardiovasc Res.*, 2004 Dec 1; 64(3): 516-25.

113. Shavlakhadze T., Davies M., White J.D., Grounds M.D.: Early regeneration of whole skeletal muscle grafts is unaffected by overexpression of IGF-1 in MLC/mIGF-1 transgenic mice., *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.*, 2004, 52(7): 873-883.

114. Allen R.E., Boxhorn L.K.: Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor 1, and fibroblast growth factor., *J. Cell. Physiol.*, 1989, 138: 311–315.

115. Powell-Braxton L., Hollingshead P., Warburton C., Dowd M., Pitts-Meek S., Dalton D., Gillet N., Stewart T.A.: IGF-I is required for normal embryonic growth in mice., *Genes Dev.*, 1993, 7: 2609-2617.

116. Coleman M.E., DeMayo F., Yin K.C., Lee H.M., Geske R., Montgomery C., Schwartz R.J.: Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber

hypertrophy in transgenic mice., J Biol Chem, 1995, 270: 12109–12116.

117. Sadowski C.L., Wheeler T.T., Wang L.H., Sadowski H.B.: GH regulation of IGF-I and suppressor of cytokine signaling gene expression in C2C12 skeletal muscle cells., Endocrinology, 2001, 142: 3890-3900.

118. Isaksson O.G., Lindahl A., Isgaard J.: Mechanism of the stimulatory effect of growth hormone on longitudinal bone growth., Endocr Rev., 1987, 8: 426-438.

119. Hameed M., Lange K.H.W., Andersen J.L.: The effect of recombinant human growth hormone and resistance training on IGF-I mRNA expression in the muscles of elderly men., J Physiol, 2003, 555: 231-240.

120. Yang S., Alnaqeeb M., Simpson H., Goldspink G.: Cloning and characterization of an IGF-I isoform expressed in skeletal muscle subjected to stretch., J. Muscle Res Cell motil, 1996, 17: 487-495.

121. Rotwein P.: Two insulin-like growth factor I Messenger RNAs are expressed in human liver., Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83: 77-81.

122. Buonomo F.C., Lauterio T.J., Baile C.A., Campion D.R.: Determination of insulin-like growth factor I (IGF-1) and IGF binding protein levels in swine., Domest. Anim Endocrinol, 1987, 4: 23-31.

123. Lamberson W.R., Safranski T.J., Bates R.O., Keisler D.H., Matteri R.L.: Relationship of serum insulin-like growth factor I concentrations to growth, composition, and reproductive traits of swine., J. Anim. Sci., 1995, 73: 3241-3245.

124. Owens P.C., Gatford K.L., Walton P.E., Morley W., Campbell R.G.: The relationship between endogenous insulin-like growth factors and growth in pigs., *J. Anim. Sci.*, 1999, 77: 2098-2103.
125. Hameed M., Orrell R.W., Cobbold M., Goldspink G., Harridge S.D.: Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise., *J Physiol*, 2003, 547: 247-254.
126. Peng M., Pelletier G., Palin M.F., VeÅronneau S., LeBel D., Abribat T.: Ontogeny of IGFs and IGFBPs mRNA levels and tissue concentrations in liver, kidney and skeletal muscle of pig., *Growth Dev. Aging*, 1996, 60: 171-187.
127. Gerrard D.E., Okamura C.S., Ranalletta M.A., Grant A.L.: Developmental expression and location of IGF-I and IGF-II mRNA and protein in skeletal muscle., *J. Anim. Sci.*, 1998, 76: 1004-1011.
128. Svanberg E., Ohlsson C., Kimball S.R., Lundholm K.: rhIGF-I/IGFBP-3 complex, but not free rhIGF-I, supports muscle protein biosynthesis in rats during semistarvation., *Eur. J. Clin. Invest*, 2000, 30: 438-446.
129. Fernandez A. M., Dupont J., Farrar R.P., Lee S., Stannard B., Roith D.L., 2002: Muscle-specific inactivation of the IGF-I receptor induces compensatory hyperplasia in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* Vol:109, Number:, 347-355.
130. Kraemer W.J., Häkkinen K., Newton R.U., Nindl B.C., Volek J.S., McCormick M., Gotshalk L.A., Gordon S.E., Fleck S.J., Campbell W.W., Putukian M., Evans W.J.: Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men., *J Appl Physiol.* 1999 Sep; 87(3): 982-92.

131. Elikiam A., Moromisato M., Moromisato D., Brasel J. A., Roberts C., Cooper D. M.: Increase in muscle IGF-I protein but not IGF-I mRNA after 5 days of endurance training in young rats., *J. Appl. Physiol.*, 1997, 42: 1557–1561.
132. Adams G.R., Haddad F.: The relationships between IGF-I, DNA content and protein accumulation during skeletal muscle hypertrophy., *J Appl Physiol.*, 1996, 81: 2509-2516.
133. Morley A.A.: The somatic mutation theory of aging., *Mutat Res*, 1995, 338: 583-592.
134. Corpas E., Harman S.M., Blackman M.R.: Human growth hormone and human aging, *Endocr Rev.*, 1993; 14: 20–39.
135. Brill K.T., Weltman A.L., Gentili A., Patrie J.T., Fryburg D.A., Hanks J.B., Urban R.J., Veldhuis J.D.: Single and combined effects of growth hormone and testosterone administration on measures of body composition, physical performance, mood, sexual function, bone turnover and muscle gene expression in healthy older men., *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87: 5649-5657.
136. Cappola A.R., Bandeen-Roche K., Wand G.S., Volpato S., Fried L.P.: Association of IGF-I levels with muscle strength and mobility in older women, *J Clin Endocrinol Metab.*, 2001, Sep; 86(9): 4139-46.
137. Kaklamani V.G., Linos A., Kaklamani E., Markaki I., Koumantaki Y., Mantzoros C.: Dietary fat and carbohydrates are independently associated with circulating insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor-binding protein 3 concentrations in healthy adults., *J Clin Oncol*, 1999, 17: 3291–3298.
138. Barton-Davis E.R., Shoturma D.I., Musaro A., Rosenthal N., Sweeney H.L.: Viral mediated expression of insulin-like growth factor I

blocks the aging-related loss of skeletal muscle function., *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 15603–15607.

139. Musaro A., McCullagh K., Paul A., Houghton L., Dobrowlmy G., Molinaro M., Barton E.R., Sweeney H.L., Rosenthal N.: Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle., *Nat Genet*, 2001, 27: 195–200.

140. Hajsadeghi S., Mohseni H., Moradi M., Rahmani E., Kordshakeri K., Manteghi M.J., Tokazebani M., Mollahoseini R.: Evaluating the association between insulin-like growth factor-1 values and short-term survival rates following acute myocardial infarction., *Clin Med Insights Cardiol.*, 2011 Feb 3; 5:7-11.

141. Kaplan R.C., Strickler H.D., Rohan T.E., Muzumdar R., Brown D.L.: Insulin-like growth factors and coronary heart disease., *Cardiol Rev.*, 2005 Jan-Feb; 13(1): 35-9.

142. Amato G, Carella C, Fazio S, La Montagna G, Cittadini A, Sabatini D, Marciano-Mone C, Saccá L, Bellastella A.: Body composition, bone metabolism, and heart structure and function in growth hormone (GH)-deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses., *J Clin Endocrinol Metab.*, 1993 Dec; 77(6):1671-6.

143. Kieć-Wilk B., Stolarz-Skrzypek K., Sliwa A., Zdzienicka A., Kawecka-Jaszcz K.: Peripheral blood concentrations of TGFβ1, IGF-1 and bFGF and remodelling of the left ventricle and blood vessels in hypertensive patients., *Kardiologia Pol.*, 2010 Sep; 68(9): 996-1002.

144. Strömer H., Cittadini A., Douglas P.S., Morgan J.P.: Exogenously administered growth hormone and insulin-like growth factor-I alter intracellular Ca²⁺ handling and enhance cardiac performance. *In vitro*

evaluation in the isolated isovolumic buffer-perfused rat heart., *Circ Res.* 1996 Aug, 79(2): 227-36.

145. Khan A.S., Sane D.C., Wannenburg T., Sonntag W.E.: Growth hormone, insulin-like growth factor-1 and the aging cardiovascular system., *Cardiovasc Res.*, 2002 Apr; 54(1): 25-35.

146. Anversa P.: Aging and longevity: the IGF-1 enigma., *Circ Res.*, 2005 Sep 2, 97(5): 411-4.

147. Reiss K., Cheng W., Ferber A., Kajstura J., Li P., Li B., Olivetti G., Homcy C.J., Baserga R., Anversa P.: Overexpression of insulin-like growth factor-1 in the heart is coupled with myocyte proliferation in transgenic mice., *Proc Natl Acad Sci USA.*, 1996 Aug 6, 93(16): 8630-5.

148. Li Q., Wu S., Li S.Y., Lopez F.L., Du M., Kajstura J., Anversa P., Ren J.: Cardiac-specific overexpression of insulin-like growth factor 1 attenuates aging-associated cardiac diastolic contractile dysfunction and protein damage., *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2007 Mar; 292(3): H1398-403.

149. Cheng W., Reiss K., Li P., Chun M.J., Kajstura J., Olivetti G., Anversa P.: Aging Does Not Affect the Activation of the Myocyte Insulin-Like Growth Factor-1 Autocrine System After Infarction and Ventricular Failure in Fischer 344 Rats, *Circulation Research.*, 1996, 78: 536-546.

150. Noble G.K., Houghton E., Roberts C.J., Faustino-Kemp J., de Kock S.S., Swanepoel B.C., Sillence M.N.: Effect of exercise, training, circadian rhythm, age, and sex on insulin-like growth factor-1 in the horse., *J Anim Sci.*, 2007 Jan; 85(1): 163-71.

151. Carlson J.C., Booth F.W., Gordon S.E.: Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading., *Am J Physiol*, 1999, 277: R601-6.
152. Mosher D.S., Quignon P., Bustamante C.D., Sutter N.B., Mellersh C.S., Parker H.G., Ostrander E.A.: A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs., *PLoS Genet.*, 2007 May 25; 3(5): e79.
153. Amthor H., Otto A., Macharia R., McKinnell I., Patel K.: Myostatin imposes reversible quiescence on embryonic muscle precursors., *Dev Dyn.*, 2006 Mar; 235(3): 672-80.
154. Gonzalez-Cadavid N.F., Taylor W.E., Yarasheski K., Sinha-Hikim I., Ma K., Ezzat S., Shen R., Lalani R., Asa S., Mamita M., Nair G., Arver S., Bhasin S.: Organization of the human myostatin gene and expression in healthy and HIV-infected men with muscle wasting., *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95: 14938-43.
155. Dennis R.A, Przybyla B., Gurley C., Kortebein P.M., Simpson P., Sullivan D.H., Peterson C.A.: Aging alters gene expression of growth and remodeling factors in human skeletal muscle both at rest and in response to acute resistance exercise., *Physiol Genomics.*, 2008 Feb 19; 32(3):393-400.
156. McKoy G., Bicknell K.A., Patel K., Brooks G.: Developmental expression of myostatin in cardiomyocytes and its effect on foetal and neonatal rat cardiomyocyte proliferation., *Cardiovasc Res*, 2007, 74: 304–312.
157. Sharma M., Kambadur R., Matthews K.G., Somers W.G., Devlin G.P., Conaglen J.V., Fowke P.J., Bass J.J.: Myostatin, a TGF-superfamily member, is expressed in heart muscle and is upregulated in cardiomyocytes after infarct., *J Cell Physiol*, 1999, 180: 1–9.

158. Sundaresan N.R., Saxena V.K., Singh R., Jain P., Singh K.P., Anish D., Singh N., Saxena M., Ahmed K.A.: Expression profile of myostatin mRNA during the embryonic organogenesis of domestic chicken, *Res Vet Sci*, 2008, 85: 86–91.
159. Shyu K.G., Lu M.J., Wang B.W., Sun H.Y., Chang H.: Myostatin expression in ventricular myocardium in a rat model of volume-overload heart failure., *European Journal of Clinical Investigation*, 2006, 36: 713–719.
160. Artaza J.N., Reisz-Porszasz S., Dow J.S., Kloner R.A., Tsao J., Bhasin S., Gonzalez-Cadavid N.F.: Alterations in myostatin expression are associated with changes in cardiac left ventricular mass but not ejection fraction in the mouse., *J Endocrinol*, 2007, 194: 63–76.
161. Ramaswamy KS, Palmer ML, van der Meulen JH, Renoux A, Kostrominova TY, Michele DE, Faulkner JA.: Lateral transmission of force is impaired in skeletal muscles of dystrophic mice and very old rats., *J Physiol.*, 2011 Mar 1; 589 (Pt 5):1195-208. Epub 2011 Jan 10.
162. Beregi E, Regius O, Hüttl T, Göbl Z.: Age-related changes in the skeletal muscle cells., *Z Gerontol.*, 1988 Mar-Apr; 21(2):83-6.
163. Orlander J, Kiessling KH, Larsson L, Karlsson J, Aniansson A.: Skeletal muscle metabolism and ultrastructure in relation to age in sedentary men., *Acta Physiol Scand.*, 1978 Nov; 104(3):249-61.
164. Tate EL, Herbener GH.: A morphometric study of the density of mitochondrial cristae in heart and liver of aging mice., *J Gerontol.* 1976 Mar; 31(2):129-34.
165. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H.: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030., *Diabetes Care.*, 2004 May; 27(5):1047-53.

166. Corsetti G, Pasini E, D'Antona G, Nisoli E, Flati V, Assanelli D, Dioguardi FS, Bianchi R.: Morphometric changes induced by amino acid supplementation in skeletal and cardiac muscles of old mice., *Am J Cardiol.*, 2008 Jun 2; 101(11A):26E-34E.
167. Crane JD, Devries MC, Safdar A, Hamadeh MJ, Tarnopolsky MA.: The effect of aging on human skeletal muscle mitochondrial and intramyocellular lipid ultrastructure., *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 2010 Feb;65(2):119-28.
168. Ciená AP, de Almeida SR, Alves PH, Bolina-Matos Rde S, Dias FJ, Issa JP, Iyomasa MM, Watanabe IS.: Histochemical and ultrastructural changes of sternomastoid muscle in aged Wistar rats., *Micron.*, 2011 Dec; 42(8):871-6.
169. Boncompagni S, Rossi AE, Micaroni M, Beznoussenko GV, Polishchuk RS, Dirksen RT, Protasi F.: Mitochondria are linked to calcium stores in striated muscle by developmentally regulated tethering structures., *Mol Biol Cell.*, 2009 Feb; 20(3):1058-67.
170. Nielsen J, Suetta C, Hvid LG, Schrøder HD, Aagaard P, Ortenblad N.: Subcellular localization-dependent decrements in skeletal muscle glycogen and mitochondria content following short-term disuse in young and old men., *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2010 Dec; 299(6):E1053-60.
171. Roth SM, Martel GF, Ivey FM, Lemmer JT, Metter EJ, Hurley BF, Rogers MA.: Skeletal muscle satellite cell populations in healthy young and older men and women., *Anat Rec.*, 2000 Dec 1; 260(4):351-8.

10.EKLER

10.1. Etik Kurul Onay Formu

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı

29/12/2005

SAYI : B.30.2.GÜN.0.EU.00.00/127-19505
KONU:

Sayın

Prof.Dr.Tahir HATİPOĞLU
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

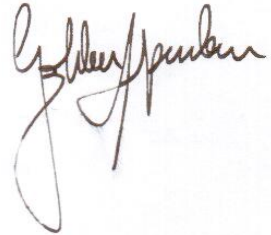
G.Ü.ET-05.084 kod numaralı ve “İskelet ve kalp kası dokusunda yaşa bağlı değişikliklerin immünohistokimyasal ve western blotting yöntemleri kullanılarak karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanmıştır.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

I certify that the research project numbered G.Ü.ET-05.084 and entitled “*Evaluation of changes by age in skeletal and heart muscle via using western blotting and immunohistochemistry*” is in compliance with Gazi University Ethical Council regulations.

With my best regards.

Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Deney Hayvanları Etik Kurul Başkanı



11. TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim boyunca sadece tez çalışmalarım süresince değil, tüm çalışmalarımdaya engin bilgisi ve deneyimleri ile bana daima yol gösteren ve Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında olduğu gibi bir işte başarılı olabilmenin ilk kuralının o işe gönül vermek olduğunu öğreten Anabilim Dalı Başkanımız ve danışmanım Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN' a, çalışma hayatım süresince desteğini daima yanımda hissettiğim Prof.Dr.Celal ILGAZ' a, her türlü çalışmamda bilimsel ve manevi yönden desteğini gördüğüm, doktora öğrenimim süresince bana güvenerek kendime olan güvenimin artmasını sağlayan Doç.Dr.Gülnur TAKE KAPLANOĞLU' na, yüksek lisans öğrenimime başladığım ilk günden itibaren doktora öğrenimim bitinceye dek her zaman ve her konuda bana daima yardımcı ve yanımda olan Doç.Dr.Çiğdem ELMAS' a, yüksek lisans öğrenimimden itibaren pek çok şeyi paylaştığım ve varlığıyla bana daima güç veren arkadaşım Dr.Fatma HELVACIOĞLU' na ve benimle paylaştıkları her şey için çalışma arkadaşlarıma teşekkür ediyorum. Tezimin istatistik değerlendirmeleri sırasında hiçbir yardımı benden esirgemeyen Sağlık Bilimleri Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr.Bülent ÇELİK' e ayrıca teşekkür ediyorum. Doktora öğrenimime başlamaya karar verdiğim an da dahil olmak üzere, tüm eğitim hayatım boyunca aldığım bütün kararları bana inanarak ve en az benim kadar inanarak destekledikleri için aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Son olarak varlığıyla hayatıma anlam üzerine anlam katan, koşulsuz desteğiyle tezimin gelişme sürecinde de daima yanımda olan eşim Uzm.Dr.Tayfun GÖKTAŞ' a yürekten teşekkür ediyorum.

Güleser GÖKTAŞ

Şubat 2013

12. ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Ankara’ da doğdu. 1995 yılında Ankara Özel Evrensel Fen Lisesi’ nden mezun oldu. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’ nden 2001 yılında mezun oldu. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’ ne bağlı Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’ nda 2004 yılında yüksek lisansını tamamladı. Bu bölümde 2005 yılında doktora başladı. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına araştırma görevlisi olarak atandı. Halen bu bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmalarına devam etmektedir. Deney hayvanları ile ilgili tüm manüplasyon beceri ve yöntem uygulamaları, ışık mikroskopik ve ileri immünohistokimyasal tekniklerin uygulanması, transmission ve scannig elektron mikroskop uygulamaları ile biyoterörizm faaliyetlerinin toplumsal ve biyolojik etkilerini incelemek bilimsel ilgi alanlarındandır.