

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ KOORDİNATÖRLÜĞÜNE

Proje Türü : Lisansüstü Tez Projesi (Yüksek Lisans)
Proje No : 13L3330020
Proje Yöneticisi : Prof. Dr. Emine Koç
Proje Başlığı : Ratlarda Farklı Emlerdeki Eksantrik Egzersizin Kas Hasarına Etkisi

Yukarıda bilgileri yazılı olan projemin kesin raporunun e-kütüphanede yayınlanmasını;

ST YORUM

STEM YORUM GEREKÇESİ :

..... / / 20
Prof. Dr. Emine Koç

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
SONUÇ RAPORU

Ratlarda Farklı Eklemlerdeki Eksantrik Egzersizin Kas Hasarına Etkisi

Prof. Dr. Emine Koç

Yrd. Doç. Dr. Ali Doğan DURSUN - Evrim Gökçe

13L3330020

07.02.2014 - 07.02.2015

27.07.2015

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - 2015

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri

Türkçe Adı : Ratlarda Farklı Eğimlerdeki Eksantrik Egzersizin Kas Hasarına Etkisi

İngilizce Adı : The effects of different incline downhill eccentric exercise on muscle injury in rats

Özetleri

: Eksantrik Egzersizde Farklı E imlerin Kas Hasarına Etkisi

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

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

Çalı manın amacı, yoku a a ı ko u egzersizi sırasında a ırlıklı olarak eksantrik olarak çalı an sıçan soleus kası ve plazmada; farklı e imlerdeki hasar yanıtlarının incelenmesi, e im artı mın hasar ile ili kili olup olmadı mın ortaya çıkarılmasıdır. Çalı mada, 12 haftalık 32 erkek Wistar sıçanı; kontrol, -16° , -8° eksantrik egzersiz (yoku a a ı ko u) ve 0° (düz ko u) grubu olarak 4 ayrı gruba ayrılmıştır.

Denekler, 10 günlük, 15 dakikayı geçmeyen ko u bandına alı ma amaçlı yapılan alı tırma protokolünün ardından; 3 gün dinlenmeye alınmış sonrasında 5 gün, 0° , -8° , -16° e imlerde 90 dk boyunca, 20-25 m/dk hız ile ko u bandında antrenman yapmışlardır. Son egzersizden 48 saat sonra sakrifiye edilen sıçanlarda, serum örneklerinde kreatin kinaz, total antioksidan ve total oksidan seviyeleri, HSP70 ve soleus kasında total antioksidan ve total oksidan seviye tayini yapılmıştır.

Sonuçlarda; plazma CK -16° yoku a a ı ko u grubunda yükselmiş, soleus kası TOS de erleri yoku a a ı ko u antrenman gruplarının her ikisinde de (-16° , -8°) yükselmiş, e im artı ı ile soleus TOS de i iklikleri arasında paralel bir durum bulunmuştur.

Soleus kası histoloji sonuçlarında; antrenman gruplarında mononükleer hücre infiltrasyonu, kapiller sayısında artı görülmü ; e im artı ı ile sonuçlar arasında paralel bir durum ortaya çıkmıştır. Ek olarak, -16° antrenman grubu soleus liflerinde, di er antrenman grupları ve kontrol grubunda görülmeyen kırılmalar gözlenmiştir.

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

Çalı mada; eksantrik egzersiz modeli olan yoku a a ı ko u antrenmanı sonucunda kas hasarı meydana geldi i, hasar belirteci olan bir dizi parametredeki artı ların, e im artı ıyla paralel oldu u sonucuna varılmıştır.

Effects of different inclinations to muscle damage at eccentric exercise

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

Muscle damage indications are seen at the muscle after the period of eccentric exercise. Sarkomer losses, muscle detachments, rising plasma creatin kinase level have been seen after eccentric exercise that is experienced by the untrained people. The purpose of this study is; to investigate the muscle damage responses at different inclinations for soleus muscle that predominantly works as eccentrically while downhill running.

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

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

histological changes at soleus were assessed.

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

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

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

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

II. Amaç ve Kapsam

Amaç ve kapsam

Günlük yaşamda iskelet kasının eksantrik kasılma modeli, kişiler tarafından sıklıkla deneyimlenmektedir. Bu kasılma tipinin gerçekleştirmede diğer planlamasının ve mimarinin de etkisi vardır.

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

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

Eksantrik kasılma modeli, günlük yaşamın önemli bir parçası, antrene sporcularda yaralanmayı engelleyen ve kuvvet artırımını sağlayan, öte yandan kas hasarına da neden olabilen, çevre düzenlemesi-kentsel mimari tercihler nedeniyle günlük yaşamımızda uyguladığımız ve antrenman protokolleri ile olan ilişkisi dolayısıyla araştırmaya değerdir.

Bu minvalde çalışmamızda eksantrik kas kasılma tipinin, kas hasarı ile olan ilişkisini kurmayı, farklı eylemlerde kasta oluşması muhtemel fizyolojik/histolojik/histopatolojik değişimlere; total oksidan/total antioksidan durumlara ve genellikle kas hasarı belirteci olarak kullanılan plazma kreatin kinaz seviyelerine etkisini ve oluşması muhtemel ısı ok proteinlerinin miktarını belirlemeyi ve kasta oluşabilecek yapısal değişiklikleri karıştırmayı amaçladık.

III. Materyal ve Yöntem

Materyal ve yöntem

1. Deney Hayvanları

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

2. Deney Grupları

Deney hayvanları ortam adaptasyonu sürecinden sonra rastgele, her grupta 8 deney hayvanı olacak şekilde kontrol grubu ve 3 farklı antrenman grubu olmak üzere 4 ayrı gruba ayrıldı. Antrenman grupları; 0°, -8°, -16° e imde koacak gruplar olarak planlandı. Deneyler Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektronik Mühendisliği Bölümü tarafından tasarlanmış ve imal edilmiş olan hız, e im ve ceza kontrolü yapılabilen küçük deney hayvanları için bilgisayarlı motorize ko u bandında gerçekleştirildi.

2.1. Alı tırma ve Antrenman Grupları

Antrenman gruplarındaki hayvanlar, 10 günlük bir "ko u bandı ve egzersiz alı tırma" protokolüne tabi tutuldular (Dursun ve ark., 2013). 10 günlük alı tırma protokolünün ardından, antrenman grupları 3 günlük bir dinlenme periyoduna alındılar.

Dinlenme sürecinin ardından, 14, 15, 16, 17, 18. günde hayvanlar dahil oldukları gruptaki antrenman programına katıldılar. Denekler, 0° ile -8°, -16° e imde, ardı ık 5 gün boyunca ilk 15 dakikası artan hız ve e imde hedeflenen e ime ulaşana dek 15 dk, hedef e imde 75 dk, 20-25 metre/dakika hız ile, toplamda 90 dk antrenman programına alındılar.

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

2.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu denekleri, deney programının başlaması ile 18 gün boyunca serbest sıvı ve besin alarak 12 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünde kafeslerinde tutuldular.

3. Dokuların Alınması

Deneylerin bitiminden 48 saat sonra, tüm deneklere sodyum tiyopental 50 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak enjekte edilerek anestezi uygulandı. Denekler a ırlı uyarana cevap vermedi inde usulüne uygun şekilde gö üs kafesleri açıldı. Sternum ve kostaların ekartasyonunu takiben kalbin büyük damarları klempe edilerek kalp çıkarılarak sakrifiye edildi.

Çalı mada kullanılmak üzere kalpten 4-5 ml kan, bilateral soleus kası, sonraki ara tırma ve projelerde kullanılmak üzere bilateral gastrocnemius kası, plantaris kası, böbrekler, karaci er ve sa /sol ventrikül olarak ayrılmı kalp örnekleri alındı. Soleus kası, postural bir kas olması (Roy ve ark., 1991; Tsivitsve ve ark., 2003; Bombardier ve ark., 2009) ve ısı ok proteini çalı malarında tercih edilmesi (Milne ve Noble 2002; Uehara ve ark., 2004; Selsby ve ark., 2007) nedeniyle seçildi.

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

Bilateral olarak çıkarılan soleus kaslarının hassas terazide ya ırlık ölçümleri yapıldı, sa /soleus kasları histolojik ara tırma için her gruptan 2' er kas olacak şekilde formaldehit ve gluteraldehit tesbit solüsyonlarına alındı, sol soleus kasları, plantaris kası, böbrekler, karaci er ve sa /sol ventrikül örnekleri ise moleküler çalı ma yapılabilmeye dek sıvı azotla dondurularak -80 °C'de saklandı.

3.1. Dokuların Homojenizasyonu

Moleküler çalı maların yapılabilmesi için doku örneklerinden öncelikle homojenizasyon aracılığı ı homojenatlar elde edildi:

- 80°C dondurucuda tutulan dokulardan 100-110 mg alındı. Porselen havanda sıvı azot varlı ında ezildi. Toz halindeki dokular homojenizasyon tüpüne aktarılıp üzerlerine 1ml homojenizat buffer eklendi. Teflon uçlu ezici parçalayıcı ile 2 dakika süre ile 30 dönü /dakika (rpm) hızda

homojenizasyon işlemi tamamlandı. Homojenizata 9 ml solüsyon (deiyonize suda çözünmüş 140 µmol KCl) eklendi. Homojenizat eppendorf tüpe aktarıldı, 3000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Supernatant yeni bir eppendorf tüpe eklendi, tüpler parafilm aracılığıyla kapatılıp +4 °C'de ileri a amalarda kullanılmak üzere dondurucuda saklandı.

4. Total Oksidan Seviye Ölçümü

Total Oksidan Seviye (TOS) ölçümü tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (Erel ve ark., 2004). Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon bile kesini ferrik iyon oksitlerler. Oksidasyon reaksiyonu, ortamda bulunan hızlandırıcı moleküllerle uzamaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda kromojen ile renkli bir bile ke olu tururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ili kili olan rengin iddeti spektrofotometrik olarak ölçülür .

Standart solüsyonu 20 µmol H₂O₂ Eqv. / L eklindedir.

Soleus kasından elde edilen homojenatlar ve plazma örneklerinde, yaklaşık 1 mikrolitrelik (µl) örneklerin çalılabilirli spektrofotometre e li inde Total Oksidan Kiti içeri i ile, 530 nanometre dalgaboyunda, 37 °C'de absorbans de erleri ölçüldü.

Abs örnek

$$\text{Sonuç} = \frac{\text{Abs örnek}}{\text{Abs standart}} \times \text{standart konsantrasyonu}$$

formülü ile ise TOS sonuçlarına ula ıldı.

5. Total Antioksidan Seviye Ölçümü

Total Antioksidan Seviye (TAS) ölçümü için; testin prensibi ABTS radikalinin olu turdu u mavi-ye il rengin, ortama eklenen numunedeki antioksidanlar ile azalması esasına dayanmaktadır. 660 nm dalgaboyunda ölçülen de i im hesaplanırken E vitamini analogu olan Trolox standart olarak kullanılmı tır. Sonuçlar µmol / L cinsinden elde edilmi tir.

Soleus kasından elde edilen homojenatlar ve plazma örneklerinde, yaklaşık 1 mikrolitrelik (ml) örneklerin çalılabilirli spektrofotometre e li inde Total Oksidan Kiti içeri i ile, 660 nanometre dalgaboyunda, 37 °C'de absorbans de erleri ölçüldü.

(Abs H₂O) - (Abs örnek)

$$\text{Sonuç} = \frac{\text{(Abs H}_2\text{O) - (Abs örnek)}}{\text{(Abs H}_2\text{O) - (Abs standart)}}$$

formülü ile ise TOS sonuçlarına ula ıldı.

6. Histolojik Tayin

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

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

6.1. I ık Mikroskobu (IM) ncelemeleri için Yapılan Çalılmalr

Kontrol ve çalılma gruplarından alınan dokular tespit amacıyla %10'luk fosfat tamponlu formalin solüsyonunda 48-72 saat süreyle fikse edildi. Fikse olan dokularının takip i lemleri a a ıdaki protokole göre yapıldı.

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

Ksilen ile deparafinizasyon, %100, %96 ve %75 etanol serisi ile hidratasyon, yıkama (çe me suyunda), hematoksilen solüsyonu (1 dakika), yıkama (çe me suyunda), eozin solüsyonu (1 dakika), yıkama (çe me suyunda), %75, %96 ve %100 etanol serisi ile dehidratasyon, ksilen ile effaflandırma, entellan kullanarak lamelle kapama

Boyanan preparatlar, Zeiss Axio Scope A1 marka 1 ık mikroskobuyla incelendi ve foto raflandı.

6.2. Transmisyon Elektron Mikroskopik (TEM) ncelemeler için Yapılan Çalışmalar

Kontrol ve çalış ma gruplarına ait kas dokularından 1 mm³ hacmindeki bir parça %2,5'luk gluteraldehit içerisinde alındı. TEM için tespit ve takip i lemleri a a ıdaki sıra ile uygulandı.

- 1. Tespit (ön tespit): 0,2 M fosfat tamponu içerisinde % 2,5 gluteraldehit ve % 2 paraformaldehit (pH=7.2-7.4) (+4 C' de 2-4 saat)
- 1. Yıkama: 0,1 M fosfat tamponunda (2 x 15 dakika, rotatorda)
- 2. Tespit: 0,1 M fosfat tamponunda % 1 OsO₄ (rotatorda ve karanlıkta, 2 saat)
- 2. Yıkama: 0,1 M fosfat tamponunda (3 x 20 dakika)
- Distile su ile yıkama
- Blok boyama: % 70 etanolde % 0,05 uranil asetat ve % 1 fosfotungstik asit (rotatorda ve karanlıkta, 2 saat)
- Dehidratasyon: % 70, % 96, %100 etanol, propilenoksit
- 1:1propilen / Araldite (rotatorda 1 saat)
- Araldite (2 saat)
- Bloklama: blok kalıbı içerisinde aort örnekleri konuldu, üzerine araldite eklendi.
- Polimerizasyon: hazırlanan bloklar 80 C' de 1 gece süre ile tutuldu, sonrasında etüv kapatılarak bloklar kendi halinde so umaya bırakıldı.

Yarı nce Kesit Boyama Protokolü;

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

Boyanan preparatlar kuruduktan sonra Zeiss Axio Scope A1 marka 1 ık mikroskobuyla incelendi ve foto raflandı.

7. Plazma Kreatin Kinaz Tayini

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

Test kitinde, bir mikrotabaka üzerindeki kuyular, HSP70'e spesifik antikor ile önceden kaplanmı tır. Kuyulara standart ve örnekler pipetle enjekte edildi. Ardından Biotin antikor kuyulara ilave edildi yıkamanın ardından HRP-avidin kuyulara eklendi. Her adımda inkübasyon yapılmaktadır. Tekrar yapılan yıkamanın ardından, serumda antijene uygun antikor var ise antijene ba lanmı oldu. Enzime uygun bir kromojen substrat eklendi. Sisteme ba lanmı enzim bu substratı parçaladı ında ortaya çıkan renk, kolorimetrik yöntemlerle ölçüldü.

8. Plazma HSP70 Tayini

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

IV. Analiz ve Bulgular

statistiksel Analizler

statistiksel analiz sonuçları için SPSS 16.0 paket programında (Kinnear ve Gray, 1995) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey ve Bonferroni post-hoc testi kullanıldı. $P < 0,05$ de erleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. De erler ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak verildi.

Bulgular

1. A ırlık

10 günlük alı tırma protokolünün ardından, antrenman grupları 3 günlük bir dinlenme periyoduna alındılar. Ortalama vücut a ırlıkları 0° grubunda $245 \pm 12,31$ gram, -8° grubunda $233 \pm 7,45$ gram, -16° grubunda $231 \pm 11,65$ gram olarak ölçüldü.

Kontrol grubu sıçanların ortalama vücut a ırlıkları; $241 \pm 6,24$ gram olarak saptandı.

2. Soleus Total Oksidan Seviye - Total Antioksidan Seviye Sonuçları

Sıçanlarda soleus kası TOS de erleri; $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden -16° grubunda $14,16 \pm 3,09$, -8° grubunda $9,31 \pm 3,52$, 0° grubunda $3,84 \pm 2,72$, kontrol grubunda ise $4,45 \pm 2,23$ ekinde bulunmu tur.

-16° antrenman grubunda; di er gruplara oranla anlamlı bir TOS artı ı oldu u (Oneway ANOVA $p < 0,05$) gözlemlenmi tir.

-8° grubu TOS artı ı ise, 0° grubu ve kontrol grubuna göre anlamlı bir artı göstermi tir.

Kontrol grubu ve 0° grubu arasında ise anlamlı bir fark bulunmamı tir.

Soleus kası TAS de erleri kar ıla tırıldı ında ise $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden; -16° grubunda $2,80 \pm 2,29$, -8° grubunda $1,57 \pm 1,74$, 0° grubunda $1,44 \pm 0,89$, kontrol grubunda ise $2,88 \pm 1,02$ sonuçlarına ula ılmı tir.

Sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamı tir (Oneway ANOVA $p:0,157$).

3. Plazma Total Oksidan Seviye - Total Antioksidan Seviye Sonuçları

Plazma TOS de erleri; $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden -16° grubunda $13,62 \pm 4,34$, -8° grubunda $12,97 \pm 4,64$, 0° grubunda $9,8 \pm 3,92$, kontrol grubunda $10,41 \pm 4,54$ sonuçlarına ula ılmı tir.

Sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamı tir (Oneway ANOVA $p:0,242$).

Plazma TAS de erleri $\mu\text{mol/L}$ birim cinsinden; -16° grubunda $4,57 \pm 1,12$, -8° grubunda $2,41 \pm 1,14$, 0° grubunda $2,8 \pm 1,92$, kontrol grubunda $3,41 \pm 1,54$ sonuçlarına ula ılmı tir.

Sonuçlar arasında anlamlı bir fark bulunmamı tir (Oneway ANOVA $p:0,159$).

4. Plazma CK Sonuçları

Plazma CK de erleri için U/L cinsinden; -16° grubunda $192,56 \pm 30,58$, -8° grubunda $121,5 \pm 40,12$, 0° grubunda $114,43 \pm 56,66$, kontrol grubunda $97,87 \pm 21,46$ sonuçlarına ula ılmı tir.

Gruplar arasında anlamlı bir fark (Oneway ANOVA $p < 0,05$) bulunmu tur.

-16° grubu; -8° , 0° , ve kontrol grubuna göre anlamlı ekinde daha yüksek CK de erine sahiptir, -8° , 0° ve kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark bulunmamı tir.

5. Plazma HSP70 Sonuçları

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

HSP70 artı ı -16° grubunda en yüksek bulunmu , e im azaldıkça oranı azalmı olmakla birlikte, fark anlamlı bulunmamı tir ($p:0,263$).

6. Soleus Kası Histoloji Sonuçları

Kontrol grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin çekirdekleri periferik yerle imli olarak gözlenmi tir. Kas liflerinin çevresinde endomisyumda az sayıda fibroblast çekirde i izlenmektedir.

Kas lifleri arasında tendona ait düzenli sıkı ba dokusu yapısında kollajen lif demetleri ve kılcak kan

damarları dikkat çekmi tir.

Kontrol grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin enine kesitlerinde sarkolemması altına periferik yerle imli çekirdekler görülmü tür. Sitoplazmada gözlenen miyofibrillerin enine kesitleri gözlenmi olup, kas liflerinin çevresinde az sayıda fibroblast çekirde i dikkat çekmektedir.

0o antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin endomisyumunda hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmi ir. -8o antrenman grubunda, kas liflerinin endomisyumunda mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmi tir. -16o antrenman grubuna ait mikrografta ise endomisyumunda belirgin mononükleer hücre infiltrasyonu izlenmi tir.

0o antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin enine kesitlerinde, endomisyumda hafif derecede mononükleer hücre infiltrasyonu ve kılcal kan damarları izlenmektedir.

-16o antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinin enine kesitlerinde, endomisyumda anlamlı derecede mononükleer hücre infiltrasyonu ve kılcal kan damarları izlenmektedir.

-16o antrenman grubuna ait mikrografta çizgili iskelet kası liflerinde kırılmalar dikkat çekmektedir.

Kontrol grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde miyofilamanlarca olu turulan enine çizgilenme, periferik yerle imli kas hücresi çekirdekleri ile kas liflerinin çevresinde az sayıda kapiller ve mononükleer hücre izlenmektedir.

0o antrenman grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde periferik yerle imli kas hücresi çekirdekleri ile kas liflerinin çevresinde kapiller ve mononükleer hücreler izlenmektedir.

-8o antrenman grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde periferik yerle imli kas hücresi çekirdekleri, muskulotendinöz bile ke devamında tendon, kas liflerinin çevresinde kapiller ve mononükleer hücreler izlenmektedir.

-16o antrenman grubuna ait yarı ince kesitte kas liflerinde periferik yerle imli kas hücresi çekirdekleri ile kas liflerinin çevresinde artmı sayıda kapiller ve mononükleer hücreler izlenmektedir.

V. Sonuç ve Öneriler

Sonuç ve öneriler:

Yapılan çalı mada, eksantrik egzersizin yok u a a ı ko u sırasında farklı e imlerde kasta yaratt ı hasar tabloları incelenmi , hasar art ının e im art ıyla ili kili oldu u gösterilmi tir.

Ara tırmamızda son antrenman programının bitiminden 48 saat sonra alınan plazmada ölçülen CK oranları, -16° antrenman grubunda, -8°, 0° ve kontrol grubuna göre artm ı bulunmu tur. Eksantrik egzersizin CK oranını arttırdı ı önermesi desteklenmi tir.

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

Armstrong ve arkadaş ları (1983), çalı mamızda kullandı ımız antrenman programı ile -16° e imde plazma CK oranının arttı nı bildirmi ler, aralıksız 90 dakikalık ko u protokolünde en yüksek CK oranını, 36. saatte ölçmü lerdir. Magalhaes ve arkadaş ları ise, eksantrik egzersizden 48 saat sonra ölçtükleri CK oranını, kontrol grubu verilerine göre yüksek bulmu lardır. Lollo ve arkadaş ları, 6. saatin sonunda, -7°'de yapılan yok u a a ı ko u ekindeki eksantrik antrenman sonuçlarında da CK oranında kontrol grubu ve horizontal ko u yapan gruba göre anlamlı farklara ula mı tir.

Bir ba ka görü olarak ise; Touchberry ve arkadaş ları (2013), aynı e imle yapılan aralıklı 90 dakikalık ko u protokolünün (5dk ko u, 2 dk dinlenme, 18 set) ardından 48 saat sonra CK de erinin normal seviyeye döndü ünü belirtmi tir.

Newham ve arkadaş ları (1988), eksantrik egzersiz sırasında kasın boyunun uzama derecesinin kuvvet kaybını etkiledi ini, uzama oranı ile kuvvet kaybı arasında do ru orantı oldu unu iddia etmi lerdir.

Ara tırmamızda elde edilen CK de i im oranlarının da, kuvvet kaybı oranları gibi kasın boyunun uzama derecesi, dolayısıyla antrenman sırasındaki e im miktarı ile ili kilendirilebilece i dü ünülebilir.

Eksantrik egzersiz sonrası CK de i imindeki art ın, egzersiz sırasında aktive oldu u dü ünülen tip II kas liflerinden kaynaklanan glikojenolizle ili kili oldu u iddiası, ara tırmamızla uyumluluk göstermemektedir. Ara tırmamızda kullandı ımız sıçan soleus kasının lif tipi da ılımının a ırlıklı olarak Tip I olması (Delp ve ark., 1996), bu iddia ile örtü memektedir.

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

Serbest radikallerin hasar sürecinin parçası oldu u belirtilmi tir (Warren ve ark., 1992; Duarte ve ark., 1994). Serbest radikaller lipidmembranlarınainfiltrate olarak hasara neden olabilmekte, hücre nekrozu geli ebilmektedir. Warren ve arkadaş ları (1992), serbest radikallerin eksantrik egzersiz sonrası geli en kuvvet kaybının sorumlusu olabilece ini belirtmi tir.

Halliwell ve arkadaş ları (1993) oksidatif strese neden olan mekanizmanın, antioksidan savunma sistemini baskılayarak hasarın geli imini tetikledi ini ileri sürmektedirler.

Ara tırmamızda, soleus kas örneklerinde eksantrik egzersizle beraber, e imle paralel ekilde TOS sonuçlarında art ı izlenmi tir. -16° antrenman grubu deneklerinde, di er gruplardan anlamlı bir ekilde daha fazla bulunan soleus TOS de eri, e imin oksidatif stresle de ili kilendirilece ini göstermektedir.

Bu iddiaya kar ın; Armstrong ve arkadaş larının (1981) yaptı ı bir çalı mada; -16° antrenmanda, 16°'ye göre maksimum oksijen tüketiminin %25, dü z ko uya göre ise %7 daha az oldu u belirtilmektedir. Bu durumda, dü z ko u yapan 0° grubunda daha yüksek bulunması beklenen TOS de eri, ara tırmamızla uyumlu görülmemektedir. Ara tırmamızda, dü z ko u yapan denekler ve kontrol grubu TOS de erleri arasında anlamlı bir fark bulunamamı tir.

nflamatuar yanıtların meydana geli i ile azalm ı serum TAS de erleri arasında bir korelasyon oldu u belirtilmektedir (Whitehead ve ark., 1992). nflamatuar yanıtın gözlenmesine ra men serumda TAS sonuçları de i meyen çalı malar ile (Child ve ark., 1999) ara tırmamızın sonuçları arasında bir uyum ortaya çıkm ı ; serum TAS de erleri arasında antrenman grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark meydana gelmemi tir.

Egzersiz sonrası kasta TAS art ı oldu unu belirten insan çalı maları, bu durumu kasın koruma-adaptasyon yanıtı olarak açıklamaktadır (Duarte ve ark., 1994; Rajguru ve ark., 1994). Ancak

çalı mamızda eksantrik egzersiz tablosunda böyle bir de i iklik gözlenmemi olup, TAS de erleri soleus kasında anlamlı bir de i im göstermemi tir. Öte yandan kas lifi-hücre dı ı infiltrasyon tablosunun 4-7 gün arası geli ti ini iddia eden çalı malar bulunmaktadır (Jones ve ark., 1986; Round ve ark., 1992). TAS sonuçlarına ili kin bir dizi literatür verisi ile uyumsuz görünüm; egzersiz modelinin, seçilen kasın, insan-hayvan çalı malarının bu tablo ile ili kilendirilebilece ini dü ündürmektedir. Bununla birlikte, deneklerin sakrifikasyon sürelerinin 48 saat olmasının da literatür TAS sonuçları ile uyumsuz tablo ile ili kilendirilebilece i dü ünülebilir.

Maruhashi ve arkadaş ları (2007), dü ük dozda eksantrik egzersizin antioksidan kapasiteyi dü ürmedi ini belirtmi tir. Benzer ekilde Nikolaidis ve arkadaş ları (2008)da hasar yapan egzersiz modeline ba lı antioksidan kapasitedeki de i imin çok sınırlı oldu unu iddia etmektedir.

Ara tırmamızda, plazma ve soleus kas örneklerinde yapılan TAS de erlendirmeleri sonucunda, eksantrik antrenman, dü z ko u ve kontrol grubu arasında bu iddialarla örtü ecek ekilde anlamlı bir fark bulunamamı tır.

Eksantrik egzersizi takip eden nötrofil hareketlili inin ise, oksidatif stres sonuçlarına etki etmedi i, sonuçlardaki de i imin nötrofillerle ili kili olmadı ı dü ünülmektedir.

Eksantrik egzersize ba lı, kaslarda geli en histolojik de i iklikler bir dizi çalı mada nötrofilinfiltrasyonu, Z bandı kesintileri, mononükleer hücre kümelenmeleri, t tübülü anomalileri, sarkomer kopmaları, desmin kaybı olarak belirtilmektedir (Friden ve ark., 1981; Newham ve ark., 1983; Takekura ve ark., 2001; Morgan ve Allen, 1999).

Mononükleer hücreler, ba ı klık-savunma sisteminin bir bile eni olarak, hasar belirteci olarak yorumlanabilir. Soleus kas örneklerinde, e imle paralel bir ekilde artan mononükleer hücre infiltrasyonları, ara tırmamızda kar ımıza çıkan bir sonuç olmu tur. -16° ve -8° antrenman grubu soleus örneklerinde, 0° antrenman ve kontrol grubu örneklerine göre belirgin ekilde fazla mononükleer hücreler izlenmi tir, -16° antrenman grubu mononükleer hücre sayısı da enine ve boyuna kesitlerde -8° antrenman grubuna göre fazla görülmü tür. Bu tablo, e im artı mının hasarla ili kilendi ine bir kanıt olarak nitelendirilebilir.

Ara tırmamızda -16° ve -8° antrenman grubu muskulotendinöz bile ke hattında yaygın mononükleer hücreler izlenmi tir. Muskulotendinöz bile ke hattında hasarın yaygın görüldü ü görü ü (Armstrong ve ark., 1983), ara tırmamızı desteklemektedir.

Talbot ve Morgan (1996), sarkomer hattında kırılmalar gözlemlemi , bu gözlemle uyumlu sarkomer kırılmaları ara tırmamızda da görülmü tür. -16° antrenman grubunda; di er antrenman grupları ve kontrol grubunda olmayan kırılmalar, soleus kas lifleri hattı üzerinde izlenmi tir.

Kastaki kan akımının artı ı, dokunun metabolik talebi ile do rudan ili kilidir, eksantrik egzersiz sırasında konsantrik egzersize oranla metabolik yük daha azdır (Clifford ve ark., 2004). Eksantrik egzersiz daha az sistemik O₂ talep etse de, kasın lokal oksijenizasyonu egzersiz sonrasında de i kenlik gösterebilir, lokal oksijenizasyon ve metabolik yük do ru orantı göstermeyebilir. (Davies ve ark., 2008; Muthalib ve ark., 2010).

Bulgularımızda, kas liflerinin çevresindeki kapiller sayısında, e imle paralel bir ekilde artı izlenmi tir; -16° grubunda, -8° grubuna göre kapiller sayısı daha fazla görülmü tür. Bu durumun eksantrik egzersiz sonrası mikrosirkülasyon disfonksiyonu veya inflamatuvar vazodilatatör yanıtlarla ili kilendirilebilece i dü ünülebilir.

Perimisyum ve endomisyum çevresinde görülen mononükleer hücre kümelenmeleri ekinde elde etti imiz veriler, insan çalı maları ile uyumlu ekilde (Stauber ve ark., 1990; Round ve ark., 1987) antrenman gruplarında daha belirgin ekilde izlenmi tir. Kümelenme sayısı; e imle paralel ekilde artmaktadır. Bu durum egzersize ba lı konnektif doku hasarı etkisini dü ündürmektedir.

Elektron mikroskobu verileri, t tübülü hasarları, anomalileri (fazla sayıda longitudinal t tübülü gibi) hakkında daha ayrıntılı bilgi vermektedir ancak ara tırmamızda ı k mikroskobu verileri kullanılmı olup, sarkomerdeki hasarın ayrıntılı taraması gerçekte tirilememi tir. Soleus kas örnekleri, ileride yapılacak elektron mikroskobu taramaları için, uygun histolojik yöntem kullanılarak korunmaktadır.

Literatürde, egzersize verilen biomekanik ve moleküler stres yanıtlarından birinin de kas hücrelerinin HSP üretimi oldu u belirtilmi ; fonksiyonel yüklenme e li inde sıçan ve insan iskelet kaslarında yapılan çalı malarda HSP oranının artı ı gözlenmi tir (Huey ve ark., 2006; Locke ve ark., 2008; O'Neill ve ark., 2006; Ogata ve ark., 2005; Gjovaag ve ark., 2006; Paulsen ve ark., 2007).

Egzersize verilen hasar yanıtı olarak HSP artı ı, protein sentezindeki rolleri bilinen bu proteinlerin,

kasın adaptasyon sürecinde rol aldığını düşündürmektedir. Yapılan çalışmalar protein sentezi, protein içeriği, kas ağırlığı, lif büyüklüğüne; HSP'nin artışı yönünde etki ettiğini göstermiştir (Ohno ve ark., 2010; Goto ve ark., 2003; Kobayashi ve ark., 2005; Oishi ve ark., 2009).

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

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

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

Touchberry ve arkadaşlarının (2012) yaptığı bir çalışmada, HSP ve eksantrik egzersiz ile ilgili araştırmaları, yokuşa ağırlıklı koşu egzersizinden 2 saat sonra soleus kasında yapılan HSP ölçümlerinde artış izlenirken, 48 saat sonra yapılan ölçümlerde bir artış izlenmemiştir. Bu bilgiyle birlikte ele alındığında, araştırmamızda elde ettiğimiz HSP sonucunun, sakrifikasyon zamanlaması ile de ilgili olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak;

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

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

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

Araştırmada elde edilen sonuçlar doğrultusunda önerilerde bulunulabilir;

- Kentle menin önemli ayaklarından biri olan mimari tercihlerin, sağlıklı kişilerde günlük yaşam aktivitesi olan yürüme ile dahi kas hasarı yaratacak sonuçlar doğurabileceği göz önünde bulundurulursa, bu konuda gerekli disiplinlerin bilgi paylaşımında bulunması halk sağlığı açısından gereklidir. Egzersiz fizyologları, çevresel mimarinin halk sağlığına uygun düzenlenmesi için danışılması gereken profesyoneller olabilir.
- Antrene olmayan bireylerde; tendinopati, ön çapraz bağ yaralanmaları gibi ortopedik yaralanmaların tedavilerinde kullanılan eksantrik egzersiz modalitelerinin seçimleri doğru yapılmalı, eğim artışının tedavi protokolünde yaratabileceği olumsuz etki göz önünde bulundurulmalıdır.
- Araştırmada HSP70 sonuçları kasta izlenmemiştir, kasın iyileşme süreci ve egzersize adaptasyon döneminde yapabileceği olası etkiler gözlenmemiştir. Bu sonuçları izleme amacıyla, soleus kasında ek analiz ve istatistiksel yöntemler kullanılabilir.

VI. Kaynaklar

- ABRAHAM, WM. (1977) Factors in delayed muscle soreness. *Medical Science Sports* 9:11-20
- ALLEN, DG. (2001) Eccentric muscle damage: mechanism of early reduction of force. *Acta Physiologica Scandinavica* 171:311-319
- ARMSTRONG, RB., OGILVIE, RW., SCHWANE, JA. (1983) Eccentric exercise-induces injury to rat skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 54:80-93
- BAHR, R., BJORN, F., SVERRE, L., ENGBRETSSEN, L. (2006). Surgical treatment compared with eccentric training for patellar tendinopathy(jumper's knee). *Journal of Bone and Joint Surgery*, 88(8) 1689-1698
- BALNAVE, CD., THOMPSON, MW. (1993) Effect of training on eccentric-induced muscle damage. *Journal of Applied Physiology* 75: 1545-1551
- BELCASTRO, Interaction of cysteine with Cu²⁺ and group IIb (Zn²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺) metal cations: a theoretical study. M., MARINO, T., RUSSO, N., TOSCANO, M. (2005) *J Mas Spectrom. Mar*;40 (3):300-6.
- BOMBARDIER, E., VIGNA, C., IQBAL, S., TIIDUS, PM., TUPLING, AR. (2009) Effects of ovarian sex hormones and downhill running on fiber-type-specific HSP70 expression in rat soleus. *Journal of Applied Physiology* 106(6):2009–2015
- BROCKETT, CL., MORGAN, DL., PROSKE, U. (2001) Human hamstring muscles adapt to eccentric exercise by changing optimum length. *Medical Science Sports Exercise* 33:783–790
- BUTTERFIELD, TA., HERZOG, W. (2005) Differential serial sarcomere number adaptations in knee extensor muscles of rats is contraction type dependent. *Journal of Applied Physiology*
- CARLSON, CJ., FAN, Z., GORDON, SE., BOOTH, FW. (2001) Time course of the MAPK and PI3-kinase response within 24 h of skeletal muscle overload. *Journal of Applied Physiology* 91(5):2079–2087
- CHEN, TC., CHEN, HL., LIU, YC., NOSAKA, K. (2014) Eccentric exercise-induced muscle damage of pre-adolescent and adolescent boys in comparison to young men. *European Journal of Applied Physiology* 114(6):1183-95.
- CLEAK, MJ., ESTON, RG. (1992) Muscle soreness, swelling, stiffness and strength loss after intense eccentric exercise. *Br J Sports Med. Dec*; 26(4): 267–272.
- CLIFFORD, PS., HELLSTENN, Y. (2004) Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* 97:393–403
- COWELL JF, CRONIN J, BRUGHELLO M. (2012) Eccentric muscle actions and how the strength and conditioning specialist might use them for a variety of purposes. *Strength Cond J* 34: 33–48.
- CRAMERI, RM., AAGARD, P., QVORTRUP, K., LANGBERG, H., OLESEN, J., KJAER, M. (2007) Myofibre damage in human skeletal muscle: effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. *The Journal of Physiology* 583:365-380
- DAVIES, ROSEMARY C., ESTON, ROGER G., POOLE, DAVID C., ROWLANDS, ANN V., DIMENNA, FRED., WILKERSON, DARYL P., TWIST, CRAIG., JONES, ANDREW M. (2008) Effect of eccentric exercise-induced muscle damage on the dynamics of muscle oxygenation and pulmonary oxygen uptake *Journal of Applied Physiology* Vol. 105 no. 5,1413-1421
- DELP, MD., DUAN, C. (1996) Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J Appl Physiol.* 80, 261–270.
- DURUSUN, AL DO AN., FIÇICILAR, HAKAN., BA TU , MET N., TEK N, DEMET. (2013) Kısa dönem antrenmanın iskelet kasında kaveolin ve VEGF ekspresyonu üzerine etkisi. *Spor Bilimleri Dergisi* 24 (1), 11-24
- EREL, ÖZCAN. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions.(2004) *Journal of Clinical Biochemistry* 37: 112-9
- FEN, MA., ZHANG, Y., WEISS, Y., L.M. (2004). Identification and charecterisation of a regulatory region in the *Toxoplasma gondii* hsp70 genomic locus. *International Journal of Parasitology* 9; 34 (3):333-346.
- FITTS, RH., COURTRIGHT, JB., KIM, DH., WITZMANN, FA. (1982) Muscle fatigue with prolonged exercise: contractile and biochemical alterations. *American Journal of Physiology* 242:C65–73
- FRIDEN, J., SFAKIANOS, PN., HARGENS, AR. (1989) Blood indices of muscle injury associated

with eccentric muscle contractions. *Journal of Orthopedic Research* 7: 142-145

FRIDEN, J., LIEBER, R.L. (1998) Segmental muscle fiber lesions after repetitive eccentric contractions. *Cell and Tissue Research* 293: 165-171

FRIDEN, J., LIEBER, R.L. Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibres components. (2001) *Acta Physiology Scand* 171:321-326

GERBER, J.P., MARCUS, R.L., DIBBLE, L.E., GRESIS, P.E., BURKS, R.T., LASTAYO, P.C. (2009) Effects of early progressive eccentric exercise on muscle size and function after ACL reconstruction: A 1-year follow-up study of a randomized clinical trial. *Journal of Physical Therapy*. 89(1): 52-59

GHISELLI, A., SERAFINI, M., NATELLA, F. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*; 29(11): 1106-14.

GJOVAAG TF, Dahl HA. (2006) Effect of training and detraining on the expression of heat shock proteins in m. triceps brachii of untrained males and females. *Eur J Appl Physiol* 98(3):310-22

GUILHEM, G., CORNU, C., GUEVEL, A. (2010) Neuromuscular and muscle-tendon system adaptations to isotonic and isokinetic eccentric exercise. *Ann Phys Rehabil Med* 53: 319-341

HARRY, J.D., WARD, A.W., HEGLUND, N.C., MORGAN, D.L., MCMAHON, T.A. (1990) Cross bridge cycling theories cannot explain high-speed lengthening behavior in frog muscle *Biophys J* 57: 201-208

HERZOG, W. (2013) Mechanisms of enhanced force production in lengthening (eccentric) muscle contractions. *J Appl Physiol*. 116(11):1407-17

HERZOG, W. (2014) The role of titin in eccentric muscle contraction *J Exp Biol*. Aug 15;217(Pt 16):2825-33.

HOUGH, T. (1902) Ergographic studies in muscle soreness. *Am J Physiol* 7:76-92

HYLDAHL, ROBERT D., HUBAL, MONICA J. (2013) Lengthening our perspective: Morphological, cellular and molecular responses to eccentric exercise.

ISNER-HOROBETI, M., DUFOUR, S.P., VAUTRAVERS, P., GENY, B., COUDEYRE, E., RICHARD, R. (2013) Eccentric exercise training: modalities, applications and perspectives. *Sports Med* 43: 483–512

ISNER-HOROBETI, M., RASSENEUR, L., LONSDORFER, WOLF E., DUFOUR, S.P., DOUTRELEAU, S., BOUITBIR, J., ZOLL, J., KAPCHINSKY, S., GENY, B., DAUSSIN, F.N., BURELLE, Y., RICHARD, R. (2014) Effect of Muscle Nerve 50(5):803-11. eccentric versus concentric exercise training on mitochondrial function.

KANDA, K., SUGAMA K., HAYASHIDA H., Sakuma, J., Kawakami, Y., MIURA, S., YOSHIDA, R., MORI, Y., SUZUKI, K. (2013) Eccentric exercise-induced delayed-onset muscle soreness and changes in markers of muscle damage and inflammation. *Exerc. Immunol. Rev.* 19: 74-87

KAYHAN, E.F., ATASAYAR, Z. (2010). Sucul Organizmalarda Isı ok Proteinlerinin Önemi ve Termotolerans, *Journal of Fisheries Sciences* 4(3): 246-253

KHALIL, A.A., KABAP, N.F., DERAZ, S.F., SMITH, C. (2011) Heat shock proteins in oncology: Diagnostic biomarkers or therapeutic targets? *The Journal of Physiology* 412: 415-427

KINNEAR, P.R., GRAY, C.D. (1995) *SPSS for Windows Made Simple*. Lawrence Erlbaum Associates, East Sussex, UK, 275s.

KJAER, M. (2004) Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* 84:649-698.

KOH, T.J., HERZOG, W. (1998) Eccentric training does not increase sarcomere number in rabbit dorsiflexor muscles. *J Biomech* 31:499-501

LASTAYO, P.C., WOOLF, J.M., LEWEK, M.D., SNYDER-MACKLER, L., REICH, T., LINDSTEDT, S.L. (2003) Eccentric muscle contractions: their contribution to injury, prevention, rehabilitation, and sport. *J Orthop Sports Phys Ther* 33: 557–571

LAURITZEN, F., PAULSEN, G., RAASTAD, T., BERGERSEN, L.H., OWE, S.G. (2009) Gross ultrastructural changes and necrotic fiber segments in elbow flexor muscles after maximal voluntary eccentric action in humans. *J Appl Physiol* 107: 1923-1934

LIEBER, R.L., SCHMITZ M.C., MISHRA, D.K., FRIDEN, J.K. (1994) Contractile and cellular remodeling in rabbit skeletal muscle after cyclic eccentric contraction of 25% strain. *J Appl Physiol* 70:2498-2507

LIEBER, RL., THORNELL, L-E., FRIDEN, J. (1996) Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 minutes of cyclic eccentric contraction. *Journal of Applied Physiology* 80: 278-284

LIEBER, RL., FRIDEN, J. (2002) Morphologic and mechanical basis of delayed-onset muscle soreness. *J Am Acad Orthop Surg* 10:67-73

LINDSTEDT, SL., LASTAYO, PC., REICH, TE. (2001) When active muscles lengthen: properties and consequences of eccentric contractions. *News in Physiological Science* 16: 256–261.

LIU, Y., GAMPERT, L., NETHING, K., STEINACKER, JM. (2006) Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. *Frontiers in Bioscience* 11: 2802-2827

LOLLO, CB PABLO., S.MOURA, CAROLINA., MORATO, N.PRISCILA., AMAYA FARFAN, JAIME. (2013) Differential response of heat shock proteins to uphill and downhill exercise in heart, skeletal muscle, lung and kidney tissues. *Journal of Sports Science Medicine* 12(3):461-466

LYNN, R., MORGAN, DL. (1994) Decline running produces more sarcomeres in rat vastus intermedius muscle fibers than does incline running. *Journal of Applied Physiology* 77:1439-1444

MACKAY, AL., DONNELLY, AE., TURPEENNIEMI-HUJANEN, T., ROPER, HP. (2004) *Journal of Applied Physiology* 97:197-203

MAGALHAES, J., FRAGA, M., LUMINI-OLIVEIRA, J., GONCALVES, I., COSTA, M., FERREIRA, R., OLIVEIRA, PJ., ASCENSAO, A. (2013) Eccentric exercise transiently affects mice skeletal muscle mitochondrial function. *Appl Physiol Nutr Metab.* 38(4):401-9.

MAIR, J., KOLLER, A., ARTNER-DWORZAK, E., HAID, C., WICKE, K., JUDMAIER, W., PUSCHENDORF, B. (1992) Effects of exercise on plasma myosin heavy chain fragments and MRI of skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 72:656-663

MARUHASHI, Y., K. KITAOKA, Y., YOSHIKI, R. NAKAMURA, A., OKANO, K., NAKAMURA, T., TSUYAMA, Y., SHIMA and K, TOMITA. (2007) ROS scavenging activity and muscle damage prevention in eccentric exercise in rats. *J. Physiol. Sci.* 57: 211-216

MCHUGH, MP., CONNOLLY, DA., ESTON, RG., GLEIM, GW. (1999) Exercise-induced muscle damage and potential mechanism for the repeated bout effect. *Sports Medicine* 27:157-170

MILNE, KJ., NOBLE, EG. (2002) Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *Journal of Applied Physiology* 93(2):561–568.

MORGAN, DL., ALLEN, DG.(1999) Early events in stretch-induced muscle damage. *Journal of Applied Physiology* 87:2007-2015

NEWHAM, DJ., MCPHAIL, G., MILLS, KR., EDWARDS, RH. (1983) Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *Journal of Neurological Sciences* 61: 109-122

NEWHAM, DJ., JONES, DA., EDWARDS, RHT. (1986) Plasma creatin kinase changes after eccentric and concentric contractions. *Muscle-Nerve* 9: 59-63

NEWHAM, DJ., JONES, DA., GHOSH, G., AURORA, P. (1988) Muscle fatigue and pain after eccentric contractions at long and short length. *Clinical Science* 412; 415-427.

NIKOLAIDIS, MG., JAMURTAS, AZ., PASCHALIS, V., FATOUROS, IG., KOUTEDAKIS, Y., KOURETAS, D. (2008) The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Med.* 38(7):579-606.

OGATA, T., OISHI, Y., ROY, RR., OHMORI, H. (2005) Effects of T3 treatment on HSP72 and calcineurin content of functionally overloaded rat plantaris muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 17;331(4):1317-23.

OISHI, Y., TANIGUCHI, K., MATSUMOTO, H., ISHIHARA, A., OHIRA, Y., ROY, RR. (2002) Muscle type-specific response of HSP60, HSP72, HSP73 during recovery after elevation of muscle temperature. *Journal of Applied Physiology* 92: 1097-1103

O’SULLIVAN, K., MCAULIFFE, S., DEBURCA, N. (2012) The effects of eccentric training on lower limb flexibility: a systematic review. *British Journal of Sports Medicine* 46:838–845, 2012

PAULSEN, G., VISSING, K., KALHOVDE JM., UGELSTAD I., BAYER ML., KADIF., SCHJERLING, P., HALLEN, J., RAASTAD, J. (2007) Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* Published 1 August Vol. 293 no. 2,R844-R853.

PEAKE Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. J, NOSAKA K, SUZUKI K. (2005) *Exerc Immunol Rev.* 11:64-85 Review.

PETERS, D., BARASH, I., BURDI, M., YUAN, PS., MATHEW. L.,FRIDEN, J.,LIEBER, RL. (2001) Asynchronous functional, cellular and transcriptional changes after a bout of eccentric exercise in the rat. *The Journal of Physiology* 553:947-957.

PROSKE, U., MORGAN, DL. (2001) Muscle damage from eccentric exercise; mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *The Journal of Physiology* 537:333-345

SAITHNA, A., GONGA, R., BARAZA, N., MODI, C., SPENCER, S. (2012) Eccentric exercise protocols for patella tendinopathy: should we really be withdrawing athletes from sport? A systematic review. *Open Orthopedic Journal* 6:553-7.

SELSBY, JT., ROTHER, S., TSUDA, S., PRACASH, O., QUINDRY, J., DODD, SL. (2007) Intermittent hyperthermia enhances skeletal muscle regrowth and attenuates oxidative damage following reloading. *Journal of Applied Physiology* 102(4):1702–1707

SHEPPARD, JM., HOBBS, S., BARKER, M., TAYLOR, K., CHAPMAN, D., MCGUIGAN, M., NEWTON, R. (2008) The effect of training with accentuated eccentric load counter-movement jumps on strength and power characteristics of high-performance volleyball players. In *J Sports Sci Coaching* 3: 355-363

SHEPPARD, JM., YOUNG, K. (2010) Using additional eccentric loads to increase concentric performance in the bench throw. *J Strength Cond Res* 24: 2853-2856

SISSON, MARK. (2013) Biomechanical work: Concentric, eccentric, isometric contraction. <http://blog.jimlien.com/tag/mark-sisson/>

SMOLKA, MB., ZOPPI, CC., ALVES, AA., SILVEIRA, LR., MARANGONI, S., PEREIRA, Da-Silva L., NOVELLO, JC., MACEDO, DV. (2000) HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 279(5):R1539–R1545.

SUBUDHI, AW., DAVIS, SL., KIPP, RW., ASKEW, EW. (2001) Antioxidant status and Oxidative stress in elite alpine ski racers. *International Journal Sport Nutrition Exercise Metabolism* 11: 32-41.

TAKEKURA, H., FUJINAM , N., NISHIZAWA, T., OGASAWARA, H., KASUGA, N. (2001) Eccentric exercise-induced morphological changes in the membrane systems involved in excitation-contraction coupling in rat skeletal muscle. *The Journal of Physiology* 533:571-583

TOUCHBERRY, CHAD D., GUPTA, ANISHA A., BOMHOFF, GREGORY L., GRAHAM, ZACHARY A., GEIGER, PAIGE C., GALLAGHER, PHILIP M. (2012) Acute heat stress prior to downhill running may enhance skeletal muscle remodeling. *Cell Stress Chaperones* 17(6): 693-705

TSIVITSE, SK., MCLOUGHLIN, TJ., PETERSON, JM., MYLONA, E., MCGREGOR, SJ., PIZZA, FX. (2003) Downhill running in rats: influence on neutrophils, macrophages, and MyoD + cells in skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology* 90(5–6):633–638.

UEHARA, K., GOTO, K., KOBAYASHI, T., KOJIMA, A., AKEMA, T., SUGIURA, T., YAMADA, S., OHIRA, Y., YOSHIOKA, T., AOKI, H. (2004) Heat-stress enhances proliferative potential in rat soleus muscle. *Japan Journal of Physiology* 54(3):263–271

VIJAYAN, K., THOMPSON, JL., NORENBURG, KM., FITTS, RH., RILEY, DA. (2001) Fiber-type susceptibility to eccentric contraction-induced damage of hindlimb-unloaded rat AL muscles. *Journal of Applied Physiology* 90:770-776.

VOGT, M., HOPPLER, HANS. (2014) Eccentric exercise: mechanisms and effects when used as training regime or training adjunct. *Journal of Applied Physiology* 116: 1446-1454

WIDMAIER, ERIC P., RAFF, HERSHEL., STRANG, KEVIN T. (2010) *Vander nsan Fizyolojisi*. S.Demirgören (Çeviri Editörü) zmir Güven Kitabevi

WARREN, GL., INGALLS, CP., LOWE, DA., ARMSTRONG, RB. (2001) Excitation-contraction uncoupling: major role in contract on-induced muscle injury. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 29:82-87

WARREN, GL., LOWE, DA., HAYES, DA., KARWOSKI, CJ., PRIOR, BM., ARMSTRONG, RB. (1993) Excitation failure in eccentric contraction-induced muscle injury of mouse soleus muscle. *The Journal of Physiology* 468:487-499

VII. Ekler

a) Mali Bilanço ve Açıklamaları:

10.000 TL proje ödeneğinden a) a) da sıralanan sarflar 8.460,12 TL karlılığında alınmış olup kalan 1.539,88 TL kullanılmamış olup BAP hesaplarına iade edilecektir.

1. 32 adet Wistar Albino Rattus Norvegicus (Sıçan),
2. Total antioksidan status(TAS) kiti,
3. Total Oksidan Status (TOS) kiti,
4. Rat Creatine Kinase MB isoenzyme, CK-MB ELISA kit,
- 5 Rat HSP 70 Elisa Kit

b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve Yerindeki Kullanımına Dair Açıklamalar:

Proje kapsamında makine ya da teçhizat alınmamıştır.

c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar:

Teknik açıklamalar yerinde materyal ve yöntem kısımlarında açıklanmıştır. Daha detaylı bilgi sunulan tezde yer almaktadır.

d) Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar):

Sunu 1. 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi Sözlü Sunum Materyali (ppt dosyası) (Yüklenen dosyalar ek 1)

e) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler:

Yayın 1. 2014 Ulusal Fizyoloji Kongresi Sözlü Sunum S07 (kongre kitapçığı, yüklenen dosyalar ek 2)

Yayın 2. Yüksek lisans tezi. Evrim Gökçe. EKSANTRİK EGZERSİZLERDE FARKLİ EĞİMLERİN KAS HASARINA ETKİSİ (yüklenen dosyalar ek 3)