

Değişik zaman süreçlerinde oluşturulan iskemi ve aşırı yüklemenin kas kütlesi ve lifleri üzerine etkileri

Durmuş DEVECİ*, Filiz ŞANLI YILMAZ*, Yakup GÜVEN**, Metin ACIEL***, Ahmet ÜNAL*

* Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı,

** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı,

*** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi Anabilim Dalı, SİVAS

ÖZET

Amaç: Bu çalışma; değişik zaman süreçlerinde, iskemik ve normal koşullarda ekstensor digitorum longus (EDL) ve ekstensor hallucis proprius (EHP) kasları aşırı yüklendiği zaman, kas hipertrofinin nasıl etkilendiğini ve ayrıca aynı kas içerisindeki farklı çaptaki kas liflerinin buna nasıl bir cevap verdiğini gözlemlemek üzere planlanmıştır. **Yöntem:** Deneylerde 87 erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol, iliak arterin bağlanmasıyla oluşturulan iskemik, TA kasının çıkarılmasıyla diğerlerinden EDL ve EHP'nin üzerine ek yükün bindiği aşırı yüklenen (AY), ve aşırı yüklenen ve aynı zamanda iskemik (AY+I) olan olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Histolojik incelemeler kriyostad kesitler üzerinde yapıldı. **Bulgular:** EDL de ilk dört hafta boyunca hipertrofiye aynı oranda cevap gözlendi ($P<0.05$), küçük kas EHP de ise bu süre içerisinde zamanla artan oranlarda hipertrofi meydana geldi ($P<0.01$). Altıncı haftada ise EDL kasındaki hipertrofik artış diğer zaman dilimlerinden daha fazlaydı. Aynı kas içerisinde AY ile oluşturulan hipertrofiye, küçük çaplı kas lifleri, büyük çaplı olanlara göre daha fazla cevap verdi ($P<0.01$), ve büyük çaplı kas liflerindeki hipertrofi anlamsız olurken atrofi ise anlamlı olarak ortaya çıktı. İskemi EDL kasında her zaman atrofiye neden olurken, EHP kasında ise atrofi anlamsızdı. A+I kasda kısa sürelerde ortaya çıkan hipertrofideki artışlar AY'e göre daha az olurken 6. haftada bu artış her iki kasta da eşitlendi. Bunun olası nedenleri arasında yeni kan damarlarının oluşması (anjyogenezis) gösterilebilir. **Sonuç:** Aynı işlevli kaslardan biri alındığı zaman geride kalanlardan küçük olanı daha fazla hipertrofiye olmakta ve aynı kas içerisinde de küçük liflerin hipertrofisi daha fazla olmaktadır. Ayrıca, iskemik kaslarda atrofiyi önleyebilmek ve anjyogenezisi stimüle edebilmek için sıçanların AY+I kaslarında görüldüğü gibi egzersizin ilk dönemlerinde ağrının oluşmasına rağmen kontrollü olarak kasların kullanılmasının gerekliliği vurgulandı.

Anahtar Kelimeler: İskelet kası, aşırı yükleme, iskemi, hipertrofi, atrofi.

SUMMARY

The effects of ischaemia and overload on muscle mass and fibre size over time.

Purpose: Extensor digitorum longus (EDL) and extensor hallucis proprius (EHP) muscles were overloaded in ischaemic and normal muscle in order to determine how muscle hypertrophy occurred under these conditions, and to what extent fibres of different size in the same muscle responded to overload during different time courses.

Methods: In this experiment 87 male rats were used and divided into control (C), ischaemic (I) achieved by unilateral ligation of the common iliac artery, overloaded (O) achieved by unilateral ablation of the synergist tibialis anterior, and overloaded plus ischaemic (O+I) groups. Histological analysis was performed on cryostat sections.

Results: In EDL hypertrophy occurred at the same level during the first 4 weeks ($P<0.05$ vs. C), while in the smaller EHP hypertrophy occurred progressively over this time ($P<0.01$). After 6 weeks, hypertrophy of the EDL was clearly greater than at earlier time points. In the EDL muscle the response to hypertrophy was greatest in the smaller muscle fibres ($P<0.01$). While hypertrophy was not significant in the larger fibres, atrophy was significant during ischaemia ($P<0.01$). When overloaded muscle was made ischaemic there was less hypertrophy compared to non-ischaemic muscle during the first 4 weeks but it reached the same level by 6 weeks, possibly due to angiogenesis in this time.

Conclusions: There was greater hypertrophy in the smaller muscle when a synergist muscle was removed, and there was also greater hypertrophy in the smaller fibres within same muscle. It is postulated that in order to prevent atrophy and stimulate angiogenesis in the ischaemic muscle, as was shown in the O+I muscle, careful exercise is required although possible pain during the initial period may limit the response.

Key Words: Skeletal muscle, overload, ischaemia, hypertrophy, atrophy, muscle fibres.

İskelet kasları değişen koşullara karşı büyük bir adaptasyon özelliğine sahip bir dokudur. Kaslar artan yüklerle hipertrofiye ve yükün azalmasıyla da atrofiye olarak çok büyük bir plastisite özelliğine sahiptir (1).

Genellikle kaslar denerve edildiği, iskemik yapıldığı, kullanılmadığı ya da aktiviteleri normalin altına düşürüldüğünde veya tenotomi yapıldığı zaman genellikle tüm kas lifleri, özellikle de sürekli (tonik

Haberleşme Adresi: Dr. Durmuş DEVECİ, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, SİVAS

Geliş Tarihi : 27.05.2002

Yayına Kabul Tarihi : 06.09.2002

olarak) aktif olan kasların lifleri atrofiye olmaktadır (2-5). Bunlara ilave olarak hayvanlar akut olarak aşırı (5°C gibi) soğuğa maruz bırakıldığı zaman iskelet kaslarının hem oksidatif hem de glikolitik liflerinin atrofiye olduğu gösterilmiştir (6). Bununla birlikte kaslar, üzerine aşırı yük bindirildiğinde ya da kısa süreli anaerobik egzersiz yapıldığı zaman hipertrofiye olmaktadır (7-12).

Kas kütlesinin artması kas liflerinin (hücrelerinin) enine kesit alanlarında da bir artmaya neden olur (hipertrofi) (13,14). Bu artışlar doğumdan başlayıp gelişim ve olgunlaşmaya paralel olarak devam etmekte ve ileri yaşlarda (ihtiyarlıkta) ise normal şartlar altında durmaktadır; hatta kas kütlesi azalmakta (atrofi), bu da kasların gücünde bir zayıflığa (sarkopenia) neden olmaktadır (15-17). Özellikle deneysel amaçlı olarak kasları hipertrofik yapmak için sık kullanılan yöntemlerden biri, aynı işlevli (sinerjist) kaslardan bir tanesinin operasyonla çıkarılıp diğerlerinin üzerine aşırı yük bindirilmesiyle oluşturulmaktadır (10,13,18). Kasların hipertrofiye olmasında; kas hücrelerinde bulunan yapısal ve işlevsel proteinlerin çoğalmasının yanısıra, kasta bulunan satelit hücrelerinin çoğalması ve mevcut kas lifleri ile birleşmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (7,19-21). Aşırı yüklenen kasta proteinlerin yıkımı azalmakta buna karşılık protein sentezi artmaktadır. Kontraktıl ve yapısal proteinlerdeki artışla birlikte miyofibrillerin de artması kas liflerinin enine kesit alanını (LEKA) arttırmaktadır (7,20).

Tibialis anterior (TA), ekstensor digitorum longus (EDL) ve ekstensor hallucis proprius (EHP) kasları bacağın anterior kompartmanında yer alan ekstensor kaslardır. Kütle olarak en büyüğü TA'dur. Bunu EDL ve EHP takip etmektedir. TA cerrahi işlemlerle yerinden çıkarıldığında EDL ve EHP üzerine binen yük artmaktadır. EDL kasında 3 tip kas lifi bulunmaktadır ki bunlar; tip-I (yavaş oksidatif), tip-IIA (hızlı oksidatif) ve tip-IIB (hızlı glikolitik) lifleridir. Bunlardan tip-IIB, enine kesit alanı en büyük olan kas lifidir ve tüm kas liflerinin yaklaşık % 75'ini oluşturmaktadır. Bununla birlikte tip IIB lif'i, aynı kas içerisinde her bulunduğu yerde aynı büyüklükte değildir (22). Bundan dolayı yaptığımız çalışmada EDL kasının enine kesit alanında, kas liflerinin çaplarına ve muhtemel bölgesel farklılıklarına kontrol ve deney gruplarında bakılmıştır.

Bu çalışmada değişik zaman dilimleri içerisinde yaptığımız deneylerde en büyük kas olan TA

yerinden alındığında geride kalanlardan küçük (EHP) ya da büyük kaslardan (EDL) hangisinin hipertrofiye ilk yanıtı vereceği ve hipertrofi derecesinin hangi kasta daha fazla ortaya çıkabileceğinin araştırılması amaçlanmıştır. Buna ek olarak kas içerisindeki farklı çaptaki kas liflerinin, aşırı yüklemeye oluşturulan hipertrofiye ya da iskemiye aynı oranda cevap verip vermeyecekleri de incelendi. Ayrıca iskemik yapılan kasın ya da kas liflerinin çaplarında bir değişiklik olup olmayacağı ve aşırı yüklemeye oluşturulan hipertrofinin iskemiden nasıl etkilenebileceği de incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Wistar türü toplam 87 erkek sıçan kullanıldı. Deneyde sıçanlar 4 gruba ayrıldılar: bunlardan birisi kontrol (K) grubu, diğeri sol bacadan TA kasının çıkarılması (ektirpasyonu) ile EDL ve EHP kası üzerine aşırı yük bindirilmesiyle oluşturulan aşırı yüklenen (AY) grup, bir diğeri iliak arterin abdominal aortadan ikiye ayrıldığı yerden bağlanarak kan akımının engellendiği iskemik (I) grup ve bir başka grup da hem TA kasının ektirpasyonu ile aşırı yük bindirilen ve hem de iliak arterin bağlanmasıyla oluşturulan iskemik artı aşırı yüklenen (AY+I) gruptur. Çalışmamızın amaçlarından birisi, değişik zaman sürelerinde kas kütlesinin ve lif çaplarının bundan nasıl etkilendiğini gözlemektir. Bundan dolayı deneysel çalışmalar tüm gruplar için 1, 2, 4, ve 6 haftalık zaman sürelerinde yapıldı. Deneyde kullanılan tüm sıçanlar deneye başlandığında yaklaşık aynı yaş ve ağırlıkta idiler. Deneyde kullanılan sıçanlar deney süresince yiyecek ve içeceğe serbestçe ulaşabildiler ve deney süresince herhangi bir ölüm vakası görülmedi.

Cerrahi işlemler:

Deneyler anestezi altında yapıldı (Xylanın 3-10 mg/kg ve Ketalar 90 mg/kg karışımı). Deney grubunda tüm sıçanların sol bacaklarındaki TA kası cerrahi işlemlerle alındı ve açılan yara yerleri hem açılmadan önce hem de kapatıldıktan sonra biotin ile temizlendi. Ayrıca cerrahi işlemde kullanılan cerrahi malzemeler deneyden önce glüteraldehit ile steril edildi ve kullanılmadan önce de steril serum fizyolojik ile birkaç kez yıkandı. Operasyondan sonra cerrahi işlemin yapıldığı gün subkutan olarak antibiyotik injekte edildi ve gün aşırı cerrahi işleme maruz kalan kısımlara bir hafta süre ile biotin sürüldü. İliak arter (aşırı yüklenen kası besleyen taraf) abdominal aortadan hemen ayrıldığı yerden ipek bir iplik (4/0) ile bağlandı. Bu

bağlanmanın geçerliliği, deneysel çalışmalarının bitiminden sonra hayvanlar öldürüldüğünde (post-mortem) iliak arterin bağlı olup olmadığı kontrol edilerek tesbit edildi (10,12).

Kas liflerinin çaplarının incelenmesi:

Deney sürelerinin bitimi olan 1., 2., 4. ve 6. haftaların sonunda sıçanlar aşırı doz anestezi altında iken TA kasının ekstirpe edildiği sol bacadan ve kontrolateral (karşı taraftaki) bacadan EDL ve EHP kasları çıkarıldı, hassas dijital terazide (Sartorius marka ve 0,0000g hassasiyetinde) hemen tartıldı ve hızlı bir şekilde Tissue Tek gömme materyali kullanılarak sıvı azot gazıyla soğutulmuş izopentane içerisinde donduruldu. Analiz yapılana kadar -70 oC de tutuldu. Histolojik incelemeler için 10 µm kalınlığında kriostat kesitler (-20 oC) alındı. Kas liflerini gösterebilmek için kesitler süksinik dehidrojenaz (SDH) yöntemi ile boyanınca bu kesitlerde kas lifleri içerdikleri mitokondrial enzimlerinin miktarına göre açık ya da koyu bir görünüm gösterdiler. Bu yöntemlerle elde edilen preparatlar çizme kolu bulunan bir ışık mikroskopu altında kas lifleri EDL kası için sayıldı. Sayma işlemi aralarında yaklaşık eşit mesafe kalacak şekilde enine kesit alanının orta hattı boyunca daha fazla oksidatif alandan daha az oksidatif alana doğru 4 bölgede yapıldı. Kas liflerinin çapı steriyolojik sayım

metoduna göre yapıldı ve bilgisayar yardımıyla lif çapları hesaplandı (23).

İstatistik:

Deney sonuçlarının istatistiksel karşılaştırılması faktöriyel ANOVA ve hem aynı kasın kontrolateral taraftaki aynı kaslarla (Student's eşleştirilmiş t testi) ve hem de ayrıca bir kontrol grubu kullanılarak aynı bacadaki EDL ve EHP kasları ile yapıldı (Student's eşleştirilmemiş t testi). Sonuçlar Macintosh bilgisayarında StatView adlı istatistik programı kullanılarak elde edildi. Veriler ortalama ± Standart hata olarak verildi ve istatistiksel açıdan anlamlılık P<0.05 olarak kabul edildi.

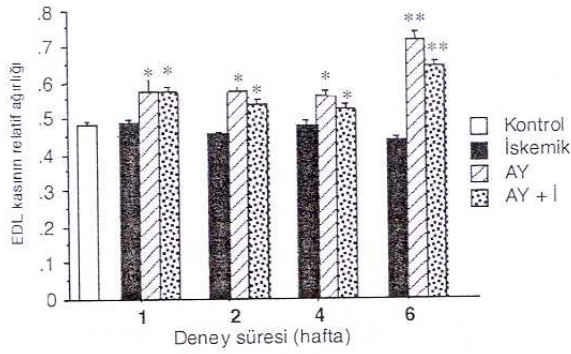
BULGULAR

Ekstensor dijitorum longus (EDL) ve ekstensor hallus proprius (EHP) kasları için farklı deney sürelerinde elde edilen sonuçlar mutlak ağırlık olarak Tablo 1'de ve relatif ağırlık (kas ağırlığı/vücut ağırlığı) olarak ise Şekil 1 ve 2'de verilmiştir. Bütün deney süreleri için sıçanların yaş ve ağırlıklarının, yaşın deneye etkisinden kaçınılmak için aynı olmasına dikkat edildi ve bundan dolayı da daha kısa süreli gruplardaki hayvanların vücut ve kas ağırlıkları daha düşük olarak ortaya çıktı (Tablo 1). Bu nedenle karşılaştırmalarda kasların mutlak ağırlıklarının yanı sıra relatif ağırlıkları da kullanıldı (Şekil 1 ve 2).

Tablo 1. Kontrol grubu ile değişik zaman süreçlerinde çalışılan grupların deneysel ekstensor dijitorum longus (EDL) ve ekstensor hallus proprius (EHP) kasları ve kontrolateralollerinin mutlak ağırlıklı değerleri ile bütün grupların vücut ağırlık değerleri.

	Deney süresi (Hafta)	Aşın Yüklene - Kontrolateral	AY+I - Kontrolateral	İskemik - Kontrolateral
Vücut ağırlığı, (g)	1. Hafta	232±4	204±3	226±3
EDL (mg)		132.8±5.8 - 113.6±4.5*	116.6±3.1# - 109.8±3.3	110.6±2.9# 119.4±3.5
EHP (mg)		13.0±0.8 - 9.7±0.3	9.7±0.6# - 7.6±0.2	10.5±0.2# - 11.1±0.2
Vücut ağırlığı, (g)	2. Hafta	274±5	255±7	250±11
EDL (mg)		157.0±4.1 - 134.8±3.7*	137.4±8.1# - 126.0±5.5*	114.9±7.4# - 125.1±11.1*
EHP (mg)		15.1±0.5 - 9.2±0.5*	12.5±0.8# - 9.9±0.7*	10.4±1.0# - 10.4±0.9
Vücut ağırlığı, (g)	4. Hafta	310±6	304±7	280±2
EDL (mg)		174.4±4.5 - 144.5±4.1*	158.4±5.1# - 147.8±5.5*	134.2±4.1## - 145.2±4.2*
EHP (mg)		19.8±1.4 - 11.6±0.6*	18.6±0.4 - 12.3±0.9*	12.4±0.6## - 12.2±0.6
Vücut Ağırlığı, (g)	6. Hafta	308±7	314±4	299±9
EDL (mg)		222.1±12.3 a - 162.5±5.2*	202.1±4.6 a - 162.7±4.3*	132.1±7.1## - 142.2±8.3
EHP (mg)		24.4±1.5 a - 15.8±1.1*	23.2±1.3 a - 14.4±0.6*	11.2±0.4## - 13.1±0.6
Vücut ağırlığı, (g)	Kontrol	301±5		
EDL (mg)		146.2±5.1		
EHP (mg)		12.9±0.5		

aP<0.01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; #P<0.01 Aşın yüklenen ile karşılaştırıldığında; ##P<0.01 Aşın yüklenen ve AY+I grupların aynı deneysel kasları ile karşılaştırıldığında; *P<0.01 gruplar kendi içinde kontrolateraleri ile karşılaştırıldığında, (ortalama ± standart hata). AY, Aşın yüklenen; I, iskemik.



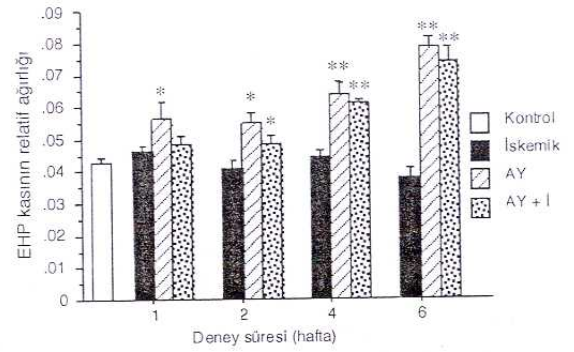
Şekil 1. Kontrol ve deney grubu sıçanların ekstensor digitorum longus (EDL) kaslarının relatif (Kas ağırlığı, mg / vücut ağırlığı, g) ağırlıkları. AY, aşırı yüklenen; İ, iskemik. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ aynı zaman diliminde iskemik grup ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, (ortalama \pm standart hata).

Aşırı yüklenen kas mutlak ağırlık olarak kontrolateral ile karşılaştırıldığında, sadece 1. haftada EHP kasında görülen hipertrofi hariç bütün sürelerde gerek EDL kası gerekse EHP kası kütlelerinde (ağırlıklarında) anlamlı olarak artışlar görüldü (Tablo 1, $P < 0.01$). İskemik grup kontrolateral ile karşılaştırıldığında sadece 2. ve 4. haftalardaki gruplar anlamlı olarak atrofi gösterdi ($P < 0.01$, Tablo 1). İskemik grup 1. ve 2. haftalarda sadece aşırı yüklenen ile karşılaştırıldığında, 4. ve 6. haftalarda ise hem aşırı yüklenen hem de AY+I grupla karşılaştırıldığında her iki kas için de (EDL ve EHP) anlamlı atrofi gösterdi ($P < 0.01$, Tablo 1).

AY+I grup aşırı yüklenen grup ile karşılaştırıldığında 1. ve 2. haftalarda hem EDL hem de EHP, ancak 4. haftada ise sadece EDL kası aşırı yüklenen gruptan anlamlı olarak daha az hipertrofi gösterdi. Altıncı haftada ise her iki kas için de anlamlı bir farklılık görülmedi (Tablo 1).

EDL kası için aşırı yüklenen ve AY+I deney gruplarının relatif ağırlıkları tüm deney sürelerinde hem kontrol grubundan hem de iskemik gruptan anlamlı olarak daha yüksektir ($P < 0.01$, Şekil 1). Bu sonuçlar EHP kası için de 1. haftada AY+I hariç aynıdır ($P < 0.01$, Şekil 2).

Şekil 3'de EDL ve EHP kaslarındaki yüzdelik değişimler görülmektedir. Hem aşırı yüklenen hem de AY+I gruplar; kontrolateral bacakta aynı kaslar ile karşılaştırıldığında, küçük olan EHP kasındaki yüzdelik artışlar büyük olan EDL kasındakinden daha fazladır. Aşırı yüklemeye oluşturulan hipertrofiye, EHP kası daha erken dönemlerde daha yüksek oranda cevap vermektedir (Şekil 3). EDL kası 1., 2. ve 4.



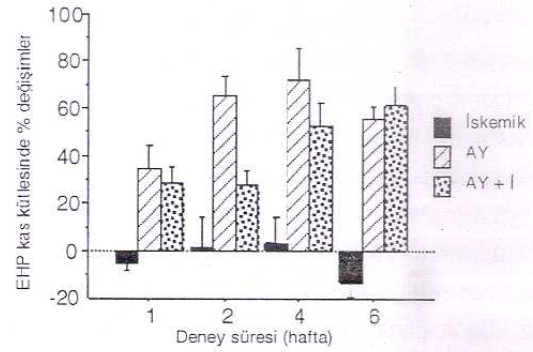
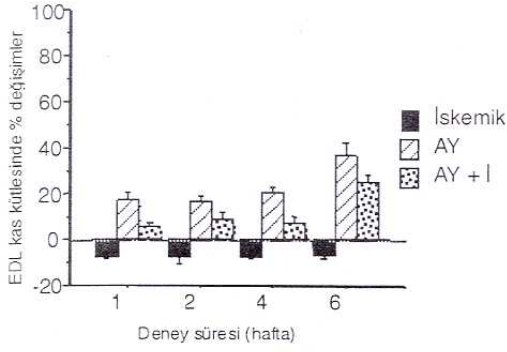
Şekil 2. Kontrol ve deney grubu sıçanların ekstensor hallucis proprius (EHP) kaslarının relatif (Kas ağırlığı, mg / vücut ağırlığı, g) ağırlıkları. AY, aşırı yüklenen; İ, iskemik. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ aynı zaman diliminde iskemik grup ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, (ortalama \pm standart hata).

haftalardaki değerleri birbirine daha yakın iken 6. haftada aşırı yüklemeye en yüksek oranda cevap vermekte, EHP kası ise ikinci haftada hemen hemen en yüksek cevabı vermekte 6. haftada ise EDL'nin aksine hipertrofideki artışta azalma göstermektedir (Şekil 3). EDL kasının iskeminin her aşamasında ya da deney süresince atrofiye olduğu fakat EHP'da bunun değişken olduğu görülmektedir (Şekil 3). Ayrıca, AY+I gruptaki hayvanlar ilk iki hafta süresince operasyonlu ayağı kullanarak yürüdüklerinde üzerine bastıktan sonra ayaklarını kaldırdıklarından dolayı ağrı hissettikleri anlaşıldı. Bu özellikler hayvanlar kafes içerisinde biraz daha hızlı harekete zorlandıkları zaman daha bariz bir şekilde görüldü. Bununla birlikte iki hafta sonra ayaklarını normal şekilde kullanmaya devam ettiler. Bu özellik aşırı yüklenen grupta görülmedi.

Kas Liflerindeki Değişimler:

Tablo 2 de görüldüğü gibi normal bir sıçanın EDL kasında enine kesit alanlarındaki 4 farklı bölgelerden alınan sonuçlarda, kas liflerinin enine kesit alanlarının (LEKA) 1., 2. ve 3. bölgelerinde hemen hemen aynı olduğu, fakat 4. bölgede ise diğer bölgelerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha büyük olduğu görülmektedir. Dördüncü bölge diğer bölgelerle (1-3) karşılaştırıldığında kontrol grubunda 4. bölgedeki LEKA'nın % 44 daha fazla olduğu, deney gruplarından iskemik grupta bu farklılığın % 31, aşırı yüklenen grupta % 21 ve AY+I grupta ise % 11 olarak giderek azaldığı görülmektedir.

Küçük çaplı kas liflerinin büyük çaplı olanlardan anlamlı olarak daha fazla hipertrofiye olduğu ortaya çıkmıştır (Tablo 2). Özellikle 4. bölgedeki kas lifleri



Şekil 3. Değişen zaman dilimlerinde çalışılan farklı gruptaki sıçanların deneysel kasları A) ekstensor dijitorum longus (EDL) ve B) ekstensor hallucis proprius (EHP) kontrolateraleri ile karşılaştırıldıklarında kütlelerindeki yüzdelik değişimler. AY, aşırı yüklenen; I, iskemik.

Tablo 2. Kontrol grubu ile 6 haftalık deney grubunun deneysel ve kontrolateral ekstensor dijitorum longus kasının enine kesit alanının değişik bölgelerinde kas liflerinin çapları (μm^2).

	1. Bölge	2. Bölge	3. Bölge	4. Bölge
Kontrol	1640±58	1752±70	1738±52	2460±98
İskemik	1374±143 ##	1329±80 a##	1501±89 a##	1917±167 a##
Kontrolateralı	1453±80	1491±44	1687±31	2303±141
Aşırı Yüklenen	2136±145 *a	2110±167 *	2224±118 *a	2625±184 *
Kontrolateralı	1486±43	1660±83	1770±64	2090±134
AY + I	2145±115 *a	2271±149 *a	2185±118 *a	2567±105 *
Kontrolateralı	1430±83	1618±81	1561±32	2099±102

aP<0.01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, *P<0.01 kendi içinde kontrolateralı ile karşılaştırıldığında, ##P<0.01 hem aşırı yüklenen hem de aşırı yüklenen + iskemik grupla karşılaştırıldığında, (ortalama ± standart hata). AY, aşırı yüklenen; I, iskemik.

kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir hipertrofi göstermemektedir ($P>0.05$). Bununla birlikte, kontrolateral bacaktaki aynı kas ile karşılaştırıldığında LEKA anlamlı olarak büyüktü ($P<0.01$, Tablo 2). Ancak bu büyüklük LEKA'daki artıştan değil, kontrolateral bacaktaki kasların 4. bölgelerindeki kas liflerinin kontrol bacaktakine göre daha küçük olmasından kaynaklanmaktadır.

İskemik grubun EDL kasında, hem kontrol hem de diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında, hemen hemen bütün bölgelerde anlamlı olarak atrofi gözlenmiştir ($P<0.01$, Tablo 2). Aşırı yüklenen ve AY+I grubun her ikisinin incelenen bütün bölgelerinde hem kontrol hem de kontrolateral bacaktaki kaslar ile karşılaştırıldığında anlamlı artışlar gözlenirken, sadece 4. bölgede kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı artışlar gözlenmemiştir (Tablo 2).

TARTIŞMA

Tüm kas kütlesi:

Sinerjistiği alınarak geride kalan kaslar üzerine aşırı yük bindiği zaman aşırı yüklenen kaslar hipertrofiye olmaktadır (9-12,21). Bu hipertrofi derecesinin büyük (EDL) ve küçük (EHP) kaslar üzerine nasıl etkili

olduğu ve ayrıca dişi ve erkek sıçanlarda bunun farklılık gösterip göstermediği, daha önceki 6 haftalık deneysel çalışmamızda incelenmiş ve küçük kasın hipertrofinin daha büyük olduğu gösterilmiştir (12). Ayrıca, sadece iskemi oluşturulan kaslarda atrofi gözlenmiş fakat iskemik kas aynı zamanda aşırı yüklenerek hipertrofiye teşvik edildiğinde kan akımı engellenmemiş kasta görülen hipertrofi ile hemen hemen aynı oranda hipertrofi gözlenmiştir (12). Bu çalışmamızda değişik zaman süreçlerinde ya da aşırı yüklemenin ve iskeminin daha erken safhalarında kasların buna nasıl bir cevap verdiği ve ayrıca 6 haftalık bir deneyde kas liflerinin bundan nasıl etkilendiği de araştırılmıştır. İncelemeler sonunda farklı kasların ve farklı kas liflerinin hipertrofiye verdikleri cevabın da farklı olduğu gözlenmiştir.

Aşırı yüklenen ve aynı zamanda iskemik yapılan (AY+I) kaslarda görülen yavaş hipertrofinin muhtemel nedenleri arasında iskeminin yanısıra bu hayvanların ilk dönemlerde operasyonlu bacağı kullanamamaları ya da daha az kullanmaları sayılabilir. İlk iki hafta süresince bu gruptaki hayvanların operasyonlu bacaklarını ya üzerine basamayarak ya da sekerek kullandıkları gözlenmiştir. Bu görüşler Goldberg ve

ark (7)'nin, operasyonlu hayvanlara egzersiz de yaptırıldıklarında kas hipertrofinde daha fazla artış gözledikleri çalışmanın sonucuyla uyumludur.

Kasların relatif ağırlıkları dikkate alınarak karşılaştırılma yapıldığında; ilk dört hafta boyunca aşırı yüklenen ve AY+I kasların hipertrofinde artış olmakla birlikte bu artışlar EDL kasında 1. hafta ile 4. hafta arasında büyük farklılıklar göstermemektedir. Daha küçük olan EHP kasındaki artışlar ise giderek artan oranlarda devam etmektedir. Bununla birlikte 6. haftada hipertrofiye artışı her iki kasta da belirgin şekilde ortaya çıkmıştır (Şekil 1 ve 2). Küçük ve büyük kaslardaki farklı cevapların muhtemel nedeni; TA kası alındığı zaman küçük kas olan EHP kası üzerine daha fazla yük binmesidir. Bu görüşümüzü Şekil 3'deki sonuçlar desteklemektedir; çünkü bu şekilde 6. haftadaki EDL ve EHP deki değişimlere bakıldığında EDL kası diğer haftalara göre daha fazla hipertrofiye olmuş ve buna paralel olarak da EHP kasının hipertrofi azalma eğilimi göstermiştir ve muhtemelen bunun nedeni de EDL'nin hipertrofiyle EHP'nin üzerine binen yükü azaltmış olmasından kaynaklanmaktadır. Genel olarak ilk dönemlerde küçük kas EHP'de görülen daha fazla hipertrofinin muhtemel nedeni EDL'ye göre daha fazla yük binmesi ve muhtemelen hipertrofiye sorumlu tutulan insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)'in de daha fazla salınmış olması olabilir (24-28). EDL kasında altıncı haftada, daha önceki haftalardan belirgin bir şekilde daha fazla hipertrofi gözlenmesinin muhtemel nedenlerinden birisi de yeni kan damarlarının, muhtemelen de kapillerlerin oluşmasıyla, kas hipertrofi için gereken oksijen ve besin maddelerinin daha verimli bir şekilde elde edilmesi olabilir (29,30). Bu çalışmada AY+I grup sadece aşırı yüklenene göre kontrolateraleri ile karşılaştırıldığında hipertrofindeki yüzdelik artışlar daha azdır. Bu da kanlanmanın veya besin ihtiyacının karşılanmasının ya da metabolik son ürünlerin uzaklaştırılmasının hipertrofiye önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. İlerleyen zaman sürecinde aşırı yüklenen ile AY+I grup arasındaki farklar giderek azalmaktadır ki, bu durum da yeni kan damarlarının oluşmasıyla açıklanabilir. Daha önce aynı koşullarda yaptığımız bir çalışmada 6. haftada gerek aşırı yüklenen gerekse AY+I kasta anjiyojenenezisin (anjiyojenenezis, yeni oluşan kan damarlarının önceden var olanlardan oluşması) olduğu gözlenmişti (29,30).

Kas liflerinin enine kesit alanları:

Büyük çaplı kas lifleri (özellikle tip IIB lifleri) iskemik koşullarda diğerlerine göre % 5 daha fazla atrofiye olmuştur. Bu adaptasyonel cevabın faydası, iskemik koşullarda intrasellüler alanlara oksijen iletimi az olduğunda kas liflerinin bunu telafi edebilmek için atrofiye olarak oksijenin difüzyon mesafesini azaltmalarındadır (31). Aşırı yüklenme ile hipertrofiye teşvik edilen EDL kasında; daha küçük çaplı kas lifleri daha fazla hipertrofiye olurken, daha büyük çaplı kas lifleri hipertrofiye meyil göstermekle beraber anlamlı bir artış göstermemiştir. Bu sonuçlar aynı işlevli kaslardan birinin çıkarılmasıyla oluşturulan aşırı yüklemeye küçük kas EHP (~12 mg)'nin, büyük kas olan EDL (~145 mg)'den daha fazla etkilenmiş olmasıyla aynı paralelliği göstermektedir. Bununla birlikte EDL kütlesi olarak anlamlı bir artış gösterirken, EDL içindeki büyük çaplı kas lifleri göstermemiştir. Bu sonuçlar da, EDL kasındaki kütle artışının, küçük kas liflerinin çaplarındaki anlamlı artışlardan kaynaklandığını göstermektedir. Bu da küçük çaplı kas liflerinin plastisite kapasitelerinin hipertrofiye olabilmeye yönünde, aksine büyük çaplı kas liflerinin de atrofiye olma yönünde büyük olduğunu yansıtabilir. Bununla birlikte aynı Wistar türü sıçanlar üzerinde yapılan soğuğa aklimasyon çalışmasında TA kasının, kas lifi çaplarının büyük olduğu yerlerde (tip IIB liflerinin büyük ve yoğun olduğu yerlerde) hipertrofinin daha büyük olduğu gözlenmiştir (31). Benzer bir sonuçta Roy ve ark (21) tarafından yapılan bir çalışmada aşırı yüklenen kasa sahip sıçanlara egzersiz de yaptırıldığında, büyük çaplı tip IIB liflerinin aşırı yüklemeye ek olarak daha fazla hipertrofiye olduğu gösterilmiştir. Bu muhtemelen hipertrofiye teşvik eden stimulusların farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir. Soğğun, spesifik olarak yüzeye yakın olan büyük çaplı lifleri istemsiz titreme şeklinde olan uyarmasından, bu çalışmadaki sonucun ise aynı oranda eşit olarak aşırı yüklenme ile küçük liflerin lif başına düşen iş yükünün büyüklere oranla daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Aşırı yüklenme ile normal sıçanların EDL kas liflerinin çaplarındaki heterojenitenin azaltıldığı görülmektedir. Gerçekten de normal EDL kasında 1-3 bölgelerin toplamı ile 4. bölge arasındaki % 44 olan LEKA'daki farklılık deney gruplarında % 11'e kadar azalmıştır. Benzer sonuçlar yine sıçanlar üzerinde fakat plantaris kası aşırı yüklenildiğinde gözlenmiştir. Ancak plantaris kasında görülen bu sonuç kas liflerinin çapına göre değil de,

kas liflerinin tipi göz önüne alınarak yapılmıştır (21). Adı geçen bu çalışmada çapı büyük olan tip IIB liflerinin hipertrofisi, tip I ve tip IIA'ya göre daha az olmuş, dolayısıyla hipertrofiye olan plantaris kasındaki LEKA'ları eşitlenmiştir. Küçük çaplı liflerin büyüklere oranla daha fazla hipertrofiye olması muhtemelen, küçük çaplı kas lifleri üzerine binen aşırı yük büyüklere göre daha fazla olduğu için, bunlardan salınan IGF-1'in daha fazla salınması, bunun da bu liflerin daha fazla hipertrofiye olmasını ve dolayısıyla bu faktörün otokrin ya da parakrin etkili olduğunu yansıtır (24-28).

Hipertrofiye neden olan etkenler ya da faktörler neler olabilir? Bu sorunun cevabını verebilmek için farklı yaklaşımlar ileri sürülebilse de bunun muhtemel nedenleri arasında başta büyüme faktörleri gelmektedir. Bunlar arasında en önemlilerinden birisi IGF-I'dir (24-27). Bunu aynı oranda büyüme hormonu (GH) izlemekte ve ayrıca fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) de kaslarda hipertrofiye sebep olmaktadır. Fakat FGF-2'nin etkisinin, IGF-I ve GH'na göre az olduğu bildirilmiştir (20). IGF-I ve GH kaslarda DNA ve protein miktarını artırarak hipertrofiye neden olurken FGF-2 ise DNA miktarını artırırken protein miktarını değiştirmemiştir (20). Aşırı yüklenerek hipertrofik yapılan sıçan kaslarında IGF-I'in arttığı ve ayrıca bu faktörün kaslarda anabolik bir özelliğe de sahip olduğu gösterilmiştir (26,27). Hipertrofiye olan kaslarda nukleusların artması; satellit hücrelerinin çoğalabilme, farklılaşma ve mevcut kas lifi ile birleşme özelliğinin olduğunu göstermektedir (25,32). Ayrıca kas liflerinin çapı ile nukleus sayısı arasında paralel bir ilişkinin olduğu da belirtilmiştir (33). Adams ve Haddad (26)'ın hipertrofiye olan kaslarda IGF-I'i belirlemeleri, bu faktörlerin lokal etkili olabileceğini düşündürmüş ve bunu test etmek için IGF-I'i sağlam hipertrofiye teşvik edilmemiş tibialis anterior kası üzerine özel bir pompa aracılığıyla 2-3 hafta infüze etmişler ve IGF-I'in kasta hipertrofiye neden olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca GH ve anlamsız derecede hipertrofiye neden olan FGF-2, IGF-I'in lokal olarak salınımına neden olarak hipertrofik yönde etkili olmuşlardır (20). FGF'lerin hipertrofiye olan kasların ekstrasellüler matriksinde olduğu bildirilmektedir (34). FGF'ler muhtemelen anjiyojenezise neden olduğundan dolayı hipertrofiye olan kaslarda bulunmaktadır, çünkü daha önceki bir çok araştırmacıların gözlediği gibi bizim çalışmamızda da hipertrofiye olan kaslarda anjiyojenezis gözlenmiştir

(10,30,34,35). Son yıllarda hipertrofidan sorumlu olan başka bir faktör de bildirilmektedir. Bu faktör IGF-1 geni tarafından meydana getirilen ve IGF-1'in bir değişik formu olan ve mekano büyüme faktörü olarak adlandırılan bir faktördür (36). Bu faktör ya da faktörler nasıl adlandırılırsa adlandırılısın yaptığımız çalışmada aynı kas içerisinde farklı büyüklükteki kas liflerinin farklı şekilde hipertrofiye teşvik edilmesinden yola çıkarak, bu faktör ya da faktörlerin lokal olarak salındığı ve otokrin ve/veya parakrin etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak; sinerjistiği alınarak hipertrofiye teşvik edilen kaslardan küçük olan EHP'nin büyük olan EDL kasına göre hipertrofiye cevabı daha büyük olmuştur. Buna paralel olarak aynı kas içerisinde aşırı yüklenerek oluşturulan hipertrofiye, küçük çaplı kas lifleri, büyük çaplı olanlara göre daha fazla cevap vermiştir. Deneyin ilk haftalarında büyük kas EDL'de hipertrofiye cevap fazla değişmezken küçük kas EHP'de zamanla artan oranlarda hipertrofi gözlenmiş; fakat 6. haftaya gelince kasların hipertrofiye cevapları bunun tam tersi olarak ortaya çıkmıştır. Tek başına iskemik EDL kasında her zaman atrofiye neden olurken, EHP kasında ise atrofi anlamsız bulunmuştur. Aşırı yüklenen kas aynı zamanda iskemik yapıldığında kısa sürelerde hipertrofideki artışlar tek başına aşırı yüklemeye göre daha az olurken 6. haftaya varıldığında bu artış EHP kasında eşitlenmiş, EDL kasında ise aradaki fark anlamsız bulunmuştur. Bu da iskemik kasta zamanla oluşan anjiyojenezis ile açıklanabilir. Aşırı yüklenerek hipertrofiye teşvik edilen kasların hipertrofisinde muhtemelen IGF-1'in rolünün büyük olduğu bildirilmiştir. İskemik kas elektriksel stimülasyonlarla kuvvetli bir şekilde stimüle edildiğinde kasların yapısının bozulduğu, atrofiye olduğu ve yeni kan damarlarının oluşmadığı gözlenmiştir (37). Bununla birlikte bu çalışmanın sonuçları iskemik kaslarda atrofiyi önleyebilmek ve anjiyojenezisi stimüle edebilmek için kasları aşırıya kaçmadan, istemli ve kontrollü olarak kullanmaya devam etmek gerektiğini yansıtabilir.

Teşekkür: Bu çalışmada yardımlarını esirgemeyen deney hayvanları laboratuvarı çalışanlarına ve Üniversitemizin farklı bölümlerinden bu çalışma için yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarımıza ve ayrıca herhangi bir şekilde bu araştırmanın yapılabilmesine katkıda bulunan veya yardımcı olan herkese teşekkürlerimizi bir borç biliriz.

KAYNAKLAR

1. Gordon T, and Pattullo MC. Plasticity of muscle fiber and motor unit types. *Exer Sport Sci Rev* 1993; 21:331-33-62.
2. Mackova E, Hnik P. Time course of compensatory hypertrophy of slow and fast rat muscles in relation to age. *Physiol Bohemos* 1972; 21: 9-17.
3. Baker JH, Matsumoto DE. Adaptation of skeletal muscle to immobilization in a shortened position. *Muscle Nerve* 1988; 11: 231-44.
4. Martin TP, Edgerton VR, Grindeland RE. Influence of spaceflight on rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1988; 65: 2318-25.
5. Hoppeler H, Hudlicka O, Uhlmann E, Claassen H. Skeletal muscle adaptations to ischemia and severe exercise. *Clin J Sport Med* 1992; 2: 43-51.
6. Suzuki J, Ming G, Ohinata H, Kuroshima A, Koyama T. Chronic cold exposure stimulates microvascular remodelling preferentially in oxidative muscle in rats. *Japn J Physiol* 1997; 47: 513-20.
7. Goldberg AL, Etlinger JD, Goldspink DF, Jablecki C. Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal muscle. *Med Sci Sport* 1975; 7: 248-61.
8. Frischknecht R, Vrbova G. Adaptation of rat extensor digitorum longus to overload and increased activity. *Pflügers Arch* 1991; 419: 319-26.
9. Degens H, Turek Z, Hoofd LJC, Hof MAV. The relationship between capillarisation and fibre types during compensatory hypertrophy of the plantaris muscle in the rat. *J Anat* 1992; 180: 455-63.
10. Egginton S, Hudlicka O, Brown MD, Walter H, Weiss JB, Bate A. Capillary growth in relation to blood flow and performance in overloaded rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1998; 85: 2025-32.
11. Plyley MJ, Olmstead BJ, Noble EG: Time course of changes in capillarisation in hypertrophied rat plantaris muscle. *J Appl Physiol* 1998; 84: 902-7.
12. Deveci D. Sıçanların küçük ve büyük kaslarında ekstrezyonla oluşturulan kas hipertrofisi üzerine cinsiyet farklılığı ve iskeminin etkisi. *Ç Ü Tıp Fak Derg* 2001; 26: 116-24.
13. Armstrong RB, Marun P, Tullson P: Acute hypertrophic response of skeletal muscle to the removal of synergist. *J Appl Physiol* 1979; 46: 835-42.
14. Saltin B, Gollnick PD: Skeletal muscle adaptability: significance for metabolism and performance. In: *Handbook of physiology*, section 10, skeletal muscle, Ed:LD Peachey, RH Adrian, SR Geiger. Williams & Wilkins Cop. Baltimore, 1983, p555-631.
15. Brown M: Change in fibre size, not number, in aging skeletal muscle. *Age and Aging* 1987; 16: 244-8.
16. Holloszy JO, Chen M, Cartee GD: Skeletal muscle atrophy in old rats: differential changes in the tree fibre types. *Mech Ageing Dev* 1991; 60: 199-213.
17. Lexell J: Human aging, muscle mass, and fibre type composition. *J Geront* 1995; 50A (special issue): 11-3.
18. Lanuzzo CD, Chen V, Armstrong RB: An experimental model to study chronically hypertrophied skeletal muscle. *Adv Physiol Sci* 1980; 24: 279-90.
19. Rosenblatt JD, Yong D, Parry DJ. Satellite cell activity is required for hypertrophy of overloaded adult rat muscle. *Muscle Nerve* 1994; 17: 608-13.
20. Adams GR, McCue SA. Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. *J Appl Physiol* 1998; 84: 1716-22.
21. Roy RR, Monke SR, Allen DL, Edgerton VR. Modulation of myonuclear number in functionally overloaded and exercised rat plantaris fibers. *J Appl Physiol* 1999; 87: 634-42.
22. Deveci D: Muscle and cardiovascular responses to cold acclimation in rodents. PhD Thesis. The University of Birmingham. 1999.
23. Deveci D, Marshall JM, Egginton E. Relationship between capillary angiogenesis, fibre type, and fibre size in chronic systemic hypoxia. *AM J Physiol* 2001; 281:H241-52.
24. Chahravathy MV, Davis BS, Booth FW. IGF-I restores satellite cell proliferative potential in immobilized old skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2000; 89: 1365-79.
25. Allen RE, Boxhorn LK. Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by transforming growth factor-beta, insulin like growth factor I, and fibroblast growth factor. *J Cell Physiol* 1989; 138: 311-5.
26. Adams GR, Haddad F. The relationships between IGF-I DNA content, and protein accumulation during skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 1996; 81: 2509-16.
27. Florine JR, Ewton DZ, Coolican SA. Growth hormone and insuline-like growth factor system in myogenesis. *Endocr Rev* 1996; 17: 481-517.
28. Adams GR, Haddad F, Baldwin KM. Time course of changes in markers of myogenesis in overloaded rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1999; 87: 1705-12.
29. Deveci D. Sinerjistiği alınarak hipertrofiye teşvik edilen kasın anjiyogenezisi ve hipertrofisi üzerine iskeminin etkisi. *Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 27. Kongresi Bidiri Özetleri Kitabı* 8-12 Ekim 2001; İstanbul, Türkiye, p. 21.
30. Deveci D, Egginton E. Overload-induced angiogenesis is effective during chronic skeletal muscle ischaemia in rats. *J Physiol (London)* 2002; 539: 83-4P.
31. Deveci D, Egginton E. Differing mechanisms of cold-induced changes in capillary supply in m. Tibialis anterior of rats and hamsters. *J Exp Biol* 2002; 205: 829-40.
32. Schultz E, McCormick KM. Skeletal muscle satellite cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1994; 123: 213-57.
33. Allen DL, Monke SR, Talmadge RJ, Roy RR, Edgerton VR. Plasticity of myonuclear number in hypertrophied and atrophied mammalian skeletal muscle fibers. *J Appl Physiol* 1995; 78: 1969-76.
34. Yamada S, Buffinger N, Dimario J, Strohman RC. Fibroblast growth factor is stored in fiber extracellular matrix and plays a role in regulating muscle hypertrophy. *Med Sci Sports Exerc* 1989; 21: S173-80.
35. Degens H, Turek Z, Hoofd LJC: Capillary proliferation related to fibre types in hypertrophied aging rat m. plantaris. *Adv Exp Med Biol* 1994; 345:669-76.
36. Goldspink G. Changes in muscle mass and phenotype and the expression of autocrine and systemic growth factors by muscle in response to stretch and overload. *J Anat* 1999; 194: 323-34.
37. Hudlicka O, Brown MD, Egginton S, Dawson JM. Effect of long-term electrical stimulation on vascular supply and fatigue in chronically ischaemic muscles. *J Appl Physiol* 1994; 77: 1317-24.