

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SICAK STRESİNİN EKZENTRİK EGZERSİZİN NEDEN
OLDUĞU KAS HASARINA ETKİSİ**

Sultan HARBİLİ

Spor Bilimleri ve Teknoloji Programı
DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Haydar A. DEMİREL

ANKARA

2007

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda, zaman kavramı gözetmeksizin her türlü desteği sağlayan, karşılaşılan problemlerin çözümünde değerli katkıları ve yönlendirmelerinden dolayı danışmanım Prof. Dr. Haydar A. Demirel'e teşekkür ederim.

Tezin biyokimyasal analizlerinin bir kısmının yapılmasında değerli katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Fizyoloji ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Gülriz Ersöz ve Arş. Gör. Ercan Gencer'e teşekkür ederim.

Araştırma grubunun oluşturulmasında desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Yeşim Bulca'ya, çalışmadaki desteğinden dolayı Arş. Gör. Zambak Şahin'e teşekkür ederim.

Göstermiş oldukları destek ve sabırlarından dolayı eşim Erbil Harbili'ye ve oğlum Orhun Alp Harbili'ye teşekkür ederim.

ÖZET

Harbili, S. Sıcak stresinin ekzentrik egzersizin neden olduğu kas hasarına etkisi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri ve Enstitüsü Spor Bilimleri ve Teknolojisi Programı Doktora Tezi, Ankara, 2007. Bu çalışmanın amacı, sıcak stresinin, insanlarda sıcak şoku proteini HSP70 artışında ve kas hasarının önlenmesi veya şiddetinin azaltılmasında etkin olup olmadığını belirlemektir. Çalışmaya 22 erkek denek gönüllü olarak katılmıştır. Denekler sauna (SAU, n= 10) ve kontrol (KONT, n=12) olmak üzere rastgele yöntemle iki gruba ayrılmıştır. SAU grubu 85 derece sıcaklık ve % 50 nem oranında 2x20 dakika SAU uygulamasına maruz bırakılmıştır. KONT ve SAU grubunda SAU uygulamasının 24. saatinde, 8 set 10 tekrar 60 derece/saniye açısal hızla maksimal ekzentrik diz fleksiyonu uygulanmıştır (180 derece tam ekstensiyondan 90 derece fleksiyona). SAU grubunda SAU önce ve SAU 24. saatte, KONT grubunda ise egzersiz öncesinde plazma HSP70 seviyesi belirlenmiştir. Aynı zamanda SAU önce, sonra, 3. saat, 24. saat (egzersiz önce) ve her iki grupta egzersiz önce, sonra, 3. saat, 1., 2., 3., 4. ve 7. günlerde alınan kan örneklerinden kreatin kinaz (KK), laktat dehidrogenaz, (LDH), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzimleri ölçülmüştür. Fmlp ile indüklenen nötrofil kemiluminesansı, Adenozin di fosfat (ADP) ve kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonu egzersiz sonrası 24. saate kadar takip edilmiştir. Ağrı skorları enzimlerle eş zamanlı olarak, diz eklemi ekstansör ve fleksör izometrik kuvvet ölçümleri egzersizi takip eden 3. saat 1., 2., 3., 4. ve 7. günlerde 90 derecelik açıda gerçekleştirilmiştir. SAU ve KONT grubunun dinlenim plazma HSP70 seviyeleri arasında fark olmadığı ($p>0.05$), SAU sonrası 24. saatte plazma HSP70 seviyesinin % 94 arttığı ($p<0.05$) bulunmuştur. KK enzim aktivitesi egzersiz sonrası her iki grupta da artmıştır ($p<0.01$), ancak SAU ve KONT grubu arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$). LDH, ALT ve AST enzim aktivitelerinde her iki grupta da egzersiz sonrası herhangi bir değişim oluşmamıştır ($p>0.05$). Ekzentrik egzersiz sonrası her iki grupta izometrik ekstansör kuvvette azalma gözlenirken ($p< 0.01$), SAU grubunda izometrik fleksör kuvvetin değişmediği ve egzersiz sonrasında diğer gruptan yüksek olduğu görülmüştür ($p< 0.05$). Kas ağrısının her iki grupta da egzersiz sonrası arttığı ($p<0.01$), SAU grubunda KONT grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). SAU grubunda nötrofil kemiluminesans değerlerinin egzersiz sonrası azaldığı ($p<0.01$) ve KONT grubundan düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.01$). ADP ile indüklenen trombosit agregasyonunun SAU grubunda egzersiz sonrası 24. saatte arttığı ($p<0.05$), ancak gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$). Kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonunun her iki grupta da egzersiz sonrası değişmediği görülmüştür ($p>0.05$). Bu çalışmanın sonucunda sauna sıcak stresi uygulamasının plazma HSP70 indüklenmesini arttırdığı, kas kuvvetinde sınırlı azalmaya neden olduğu, nötrofil fonksiyonlarını azalttığı bulunmuştur. Bu sonuçlar kas hasarının önlenmesinde sıcak stresinin etkili olduğu hipotezini kısmi olarak desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Sıcak şoku proteini HSP70, Ekzentrik egzersiz, Kas hasarı, Nötrofil kemiluminesansı, Trombosit agregasyonu, Sauna.

ABSTRACT

Harbili, S. The effects of heat stress on eccentric exercise induced muscle damage. Hacettepe University Institute of Health Sciences, Ph.D. Thesis in Sport Sciences and Technology, Ankara, 2007. The purpose of this study was to determine the effect of heat stress on increasing HSP70 and preventing or reducing the degree of muscle damage in human subjects. A total of 22 males participated in the study as volunteers. Participants were randomly assigned to either sauna (SAU, n= 10) or control (CONT, n=12) groups. SAU group was exposed to SAU twice for 20min at a temperature of 85 °C and 50% humidity. Participants in both groups performed 8 sets of 10 repetitions maximal eccentric knee flexion (from a 180 degree full extension to 90 degree flexion) at a velocity of 60 rad degrees/s 24 hours after sauna exposure. Plasma HSP70 level was measured in SAU before and 24 hours after SAU exposure, and in CONT just before exercise. In addition, plasma creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) enzymes were determined by analysing the blood samples taken before, immediately, 3 and 24 hours after SAU exposure in SAU group, and before, immediately and 3 hours after exercise, and 1, 2, 3, 4, and 7 days postexercise in both groups. Neutrophil chemiluminescence, ADP and collagen induced thrombocyte aggregation were monitored until 24 hours after exercise. Muscle pain scores were determined simultaneously as with the determination of enzyme levels. Isometric knee flexion and extension strengths were measured 3 hours after exercise, and 1, 2, 3, 4, and 7 days postexercise at a joint angle of 90 degree. There was no significant difference in resting plasma HSP70 level between SAU and CONT ($p>0.05$). However, plasma HPS70 level increased by 94% in SAU 24 hours after SAU exposure ($p<0.05$). Although CK activity significantly increased in both groups following exercise ($p<0.01$) there was no significant between the groups ($p>0.05$). There was no significant change in LDH, ALT or AST enzyme activities following exercise in either group ($p>0.05$). Isometric extension strength decreased following eccentric exercise in both SAU and CONT ($p<0.01$), while there was no change in isometric flexion strength in SAU which was higher than that of CONT ($p>0.05$). Muscle pain increased in both groups after eccentric exercise ($p<0.01$). It was higher in SAU compared to CONT ($p<0.05$). Neutrophil chemiluminescence values decreased after exercise in SAU ($p<0.01$), which was also lower than that of CONT ($p<0.01$). ADP induced thrombocyte aggregation increased 24 hours after exercise ($p<0.05$), however, there was no significant group differences ($p>0.05$). On the other hand, no significant change was observed in collagen induced thrombocyte aggregation after exercise ($p>0.05$). According to the results of this study, we concluded that heat stress by sauna method results in increased level of plasma HSP70 and prevention of mild degree muscle damage, decreased neutrophil function. This result partially contributes that heat stress is effective to preventing of muscle damage.

Key Words: Heat shock protein70 HSP70, Eccentric exercise, Muscle damage, Neutrophil chemiluminescence, thrombocyte aggregation, Sauna.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	117
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam	11
1.2. Amaç ve Varsayım	15
1.3. Araştırmanın Önemi	16
2. GENEL BİLGİLER.....	17
2.1. Kas Hasarı ve Kas Hasar Mekanizmaları.....	17
2.1.1. Kas hasarına neden olan mekanik faktörler.....	18
2.1.2. Yapısal protein hasarı	20
2.1.3. Kalsiyum homeostazisindeki bozulmalar.....	22
2.1.4. Kas hasarında inflamasyon mekanizması ve nötrofillerin rolü	23
2.1.5. Kas hasar belirtileri.....	26
2.2. Strese Karşı Hücrel Cevap	34
2.2.1. Stres proteinleri.....	35
2.2.2. Sıcak şoku proteinleri	36
2.2.3. Sıcak şoku proteinlerinin sentezlenmesi.....	37
2.2.4. HSP'lerin sınıflandırılması	38
2.2.5. HSP indüklenmesine neden olan faktörler	43
2.3. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres	44
2.3.1. Kas hasarında oksidatif stresin rolü	45
2.4. Ekzentrik Egzersiz ve Trombosit Agregasyonu.....	46
2.5. Kas Hasarından Korunmada Sıcak Stresinin Rolü.....	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	49

3.1. Ön Çalışmalar	49
3.2. Denekler	50
3.3. Sıcak Stres Protokolü	51
3.4. Egzersiz Protokolü ve Kuvvet Ölçümü	52
3.5. Biyokimyasal Ölçümler.....	53
3.6. Ağrı Skorlarının Belirlenmesi	55
4. BULGULAR	57
4.1. Ön Çalışmalar	57
4.2. Sauna Uygulamasının Plazma HSP70 Düzeylerine Etkisi.....	62
4.3. Kas Hasarına İlişkin Bulgular	64
4.4. Ağrı skorlamasına ilişkin bulgular	70
4.5. Nötrofil kemiluminesansı ve trombosit agregasyon bulguları	72
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	95
KAYNAKLAR	98

SİMGELER VE KISALTMALAR

KONT	Kontrol grubu
SAU	Sauna grubu
HSP	Sıcak stres proteini
SP	Stres proteini
KK	Kreatin kinaz
LDH	Laktat dehidrogenaz
ALT	Aspartat aminotransferaz
AST	Alanin aminotransferaz
I/R	İskemi/Reperfüzyon
ÖNÇ1	Ön çalışma 1
ÖNÇ2	Ön çalışma 2
SR	Serbest radikal
ROT	Reaktif oksijen türleri
O ₂ ⁻	Süperoksit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
GAS	Genel adaptasyon sendrom
GKA	Gecikmeli kas ağrısı

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1. Sarkomerin şematik gösterimi	22
Şekil 2.2. Kas hasar ve yenilenme mekanizmasında nötrofillerin rolü.....	25
Şekil 2.3. GAS sendromu ile SP indüklenmesi arasındaki ilişki	35
Şekil 3.1. Deney dizaynı	51
Şekil 3.2. İzokinetik dinamometre	53
Şekil 3.3. Görsel ağrı skalası.....	55
Şekil 4.1. ÖNÇ2 İzometrik kuvvet değişimleri.....	59
Şekil 4.2. ÖNÇ2 KK, LDH enzim aktivitesi.....	60
Şekil 4.3. ÖNÇ2 AST, ALT enzim aktivitesi	60
Şekil 4.4. Trombosit agregasyonu.....	61
Şekil 4.5. Dinlenim ve sıcak stresi sonrası HSP70 değerleri	64
Şekil 4.6. Ekstensör kuvvet.....	65
Şekil 4.7. Fleksör kuvvet.....	66
Şekil 4.8. KK enzim aktivitesi	67
Şekil 4.9. LDH enzim aktivitesi.....	68
Şekil 4.10. ALT enzim aktivitesi	69
Şekil 4.11. AST enzim aktivitesi.....	70
Şekil 4.12. Ağrı skoru	71
Şekil 4.13. Nötrofil kemiluminesansı	73
Şekil 4.14. ADP- Trombosit agregasyonu	74
Şekil 4.15. Kollajen-Trombosit agregasyonu	75

TABLOLAR

Sayfa

Tablo 2.1. Ekzentrik egzersiz sonrası zamana bağlı değişimler.	31
Tablo 2.2. Memelilerde HSP ailesinin hücresel lokasyonu ve fonksiyonları.	43
Tablo 2.3. HSP indüklenmesine neden olan faktörler.....	44
Tablo 3.1. Deneklerin yaş, vücut ağırlığı, boy değerlerinin ortalama ve standart sapması ($Ort \pm Ss$)	51
Tablo 4.1. Sauna öncesi, sauna arası ve sonrasında bir denekten elde edilen rektal vücut sıcaklığı değerleri.....	58
Tablo 4.2. ÖNÇ2 grubuna ait egzersiz önce ve tekrarlayan ölçümlerde ekstensör ve fleksör kuvvet (Nm) ortalama (X) ve standart sapma (Ss) değerleri	58
Tablo 4.3. ÖNÇ2 grubuna ait egzersiz önce ve tekrarlayan ölçümlerde KK, LDH, ALT, AST enzim aktivitesi (U/L) ortalama (X), standart sapma (Ss) değerleri ve tek yönlü ANOVA sonuçları.	59
Tablo 4.4. ÖNÇ2 grubuna ait egzersiz önce ve egzersiz sonra trombosit ADP ve trombosit Kollajen hızı (ohm) ortalama (X), standart sapma (Ss) ve Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek test sonuçları.....	61
Tablo 4.5. Deneklerin sauna uygulaması öncesi ve sonrasında vücut ağırlıkları ortalama (X), standart sapma (Ss) ve tek yönlü ANOVA sonuçları.	62
Tablo 4.6. Sauna önce, kontrol önce ve sauna 24 saat sonra HSP70 değerlerinin ortalama (X), standart sapma (Ss), Mann-Whitney U ve Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek test sonuçları.	63
Tablo 4.7. Egzersiz önce, 3 saat sonra ve tekrarlayan ölçümlerde izometrik ekstensör ve fleksör kuvvet (Nm) ortalama (X), standart sapma (Ss), ANOVA ve Mann-Whitney U testi sonuçları.....	65
Tablo 4.8. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde KK enzim aktivitesi (U/L) ortalama (X), standart sapma (Ss) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.....	67
Tablo 4.9. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde LDH enzim aktivitesi (U/L) ortalama (X), standart sapma (Ss) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.....	68

Tablo 4.10. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde ALT enzim aktivitesi (U/L) ortalama (X), standart sapma (Ss) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.	69
Tablo 4.11. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde AST enzim aktivitesi (U/L) ortalama (X), standart sapma (Ss) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.	70
Tablo 4.12. Egzersiz sonrası ağrı skorları ortalama (X), standart sapma (Ss) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.....	71
Tablo 4.13. Sauna ve egzersizden önce, sonra, 3., ve 24. saatlerde nötrofil kemiluminesans hızı (cm) ortalama (X), standart sapma (Ss), ANOVA ve Mann-Whitney U testi sonuçları.	72
Tablo 4.14. Sauna ve egzersizden önce, sonra, 3., ve 24. saatlerde ADP ve kollajen ile indüklenen trombosit agregasyon hızı (ohm) ortalama (X), standart sapma (Ss) ve ANOVA sonuçları.....	73

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarı, kas kuvvetinde azalma, ağrı ve artmış serum enzim düzeyleri ile karakterizedir. Yoğun ve alışılmadık egzersizlerden sonraki ilk bir kaç günde kasta oluşan bu durum gecikmeli kas ağrıları (GKA) olarak da tanımlanır. Kas hasarı daha çok kasın boyunun uzadığı kasılma şekli olan ekzentrik kasılma sonrasında gözlenir. Bunun nedeni ekzentrik kasılmanın kas uzunluğunda artışa neden olmasıdır (17). Ekzentrik egzersizin hayvan kaslarında optimum kas uzunluğunun % 140'ına varan uzamalarla birlikte alışılmamış bir mekanik gerilmeye sebep olduğu bildirilmiştir (29). Bunun yanı sıra sıçan iskelet kasının tek lifinde yapılan bir çalışmada, zarar gören sarkomerlerin diğerlerinden daha fazla uzadığı gösterilmiştir (108). Bu sebeple ekzentrik egzersiz sırasında kas uzunluğunda gözlenen değişimlerin kas hasar sürecinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Kasın bu mekanik özelliği, yapısında bulunan iskelet proteinlerinden kaynaklanmaktadır. Kasın kasılabilen en küçük birimi olan sarkomerin yapısında miyozin ve aktin gibi kontraktil proteinlerin yanı sıra, kontraktil proteinleri stabilize eden ve gerimin uzunlamasına ve yanlamasına aktarımını sağlayan yapısal proteinler bulunmaktadır. Bu proteinlerden titin, nebulin ve desmin hem kontraktil proteinlerin hem de komşu Z disklerinin birbirine bağlanmasında ve sarkomerin bütünlüğü ve gerginliğinin korunmasında görev alırken, distrofin sarkolemmada yerleşerek membran stabilitesinde rol oynar (2, 119). Egzersizin şiddeti sarkomerin fizyolojik gerilme sınırını aşarsa bu proteinlerde kısmi hasarlar veya tamamen kopmalar meydana gelmektedir. Bu proteinlerin kopması Z ve A bandı düzensizlikleri, bölgesel myofilament ve T-tübülüs organizasyonsuzluğu, bozulan bölgelerde mitokondri kaybı gibi yapısal bozuklukların oluşmasına neden olmaktadır (119). Bu yapısal bozulmalar sonucu oluşan ağrı, fonksiyon kaybı, sertlik, şişlik ve bazı kas enzimlerinin dolaşım seviyelerinin artması ile oluşan durum *ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarı* olarak tanımlanır.

Ekzentrik egzersiz sonrası oluşan ağrı, kas hasarının subjektif belirtileri içerisinde en başta gelenidir. Genellikle ekzentrik egzersizden 24-48 saat sonra pik yaptığı için gecikmeli kas ağrısı olarak tanımlanır. GKA her ne kadar geçici de olsa, gelişmekte olan bu ağrıya, giderek kas hassasiyeti ve sertliği de eklenir. Ağrı ilave bir aktivite olmaksızın 5-7 gün kadar devam eder (7, 88). Kas hasarının oluşmasında ilk basamağın, yukarda anlatıldığı gibi kasın mekanik yapısından kaynaklanan yapısal proteinlerdeki bozulma olduğu düşünülürken, hasar sürecinin sonraki basamaklarında Ca^{+2} homeostazisindeki bozulmalar ve inflamasyon mekanizmasının etkili rol oynadığı bilinmektedir. Aşırı gerilen sarkomerde sarkoplazmik retikulum veya kas membranındaki hasar, sarkoplazmik retikulumun kalsiyumu geri almasını engelleyerek intrasellüler kalsiyum (Ca^{+2}) miktarını artırır ve kalsiyum duyarlı degradative mekanizmaları aktive eder. Kas hasarı sonucunda inflamatuvar hücrelerin kasa invazyonu hızlı ve ardışık bir şekilde artar. Bu hücrelerin invazyonu kasın iyileşme, yenilenme ve büyüme sürecinde günler ve haftalar boyu devam edebilir. Kas tamiri ve yenilenmesi ile inflamasyon arasındaki bu ilişkinin yararlı olabileceği gibi yaklaşımlar mevcutken inflamasyonun kas hasarını arttırdığı ve kasın yeniden yapılandırılmasında yararlı olmadığına dair görüşler de mevcuttur (167).

Artan kas kullanımı veya kas hasarı sonrası nötrofiller kas dokusuna ilk infiltre olan hücrelerdir. Egzersizi takip eden 1 saat içinde nötrofillerin invazyonu başlar ve 5 gün yüksek kalabilir. Nötrofillerin kasta hasar yapıcı bir egzersiz sonrası veya iskemi/reperfüzyon sonrası arttığı gösterilmiştir (127,168). Nötrofillerin kanda ve hasarlı dokuda artmasına rağmen hasarda ve iyileşme sürecindeki rolleri tam olarak açık değildir (28). Nötrofillerin süperoksit bağımlı mekanizma yolu ile kas hücre membranında doğrudan lizise neden olduğu bildirilmiştir (127). Süperoksit radikalinin hızla hidrojen peroksit, hipoklorus gibi daha etkili radikallere dönüştüğü bilinmektedir (93). Bu yüzden egzersiz sonrası nötrofillerin hasar gören kasta ve dolaşımında artması, kas hasarını daha fazla arttıran bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır.

Egzersiz sonrası trombosit agregasyonunun arttığı bir çok araştırmada gösterilmiştir (42, 50, 51, 79, 121, 177). Egzersiz sonrası trombosit

agregasyonundaki bu artışın düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir (171). Trombosit agregasyonu ile ilişkili çalışmalarda uygulanan egzersizlerin akut ve şiddetli egzersizler olduğu görülmekle birlikte maksimal ekzentrik egzersiz çalışmaları sınırlıdır. Maksimal ekzentrik egzersizi takiben trombosit aktive edici faktörün arttığını gösteren bir çalışmada trombosit agregasyonunun kas hasar sürecinde etkili olduğu belirtilmiştir (116). Egzersizle indüklenen trombosit yanıtlarına ilişkin mekanizmalar tam ve kesin olarak anlaşılabilmiş olmasa da akut ve kronik egzersiz programlarının oksidan stres üzerinden trombosit fonksiyonlarını etkilediği düşünülmektedir.

Ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarının önlenmesinde antrenmanlarda pasif gerdirme, izometrik ve ekzentrik egzersizlerin kullanılması (147), masaj ve soğuk uygulama (66, 155) gibi pratiğe dönük bir çok yaklaşım mevcuttur. Bunların yanı sıra, hasar oluşumunda rol oynadığı düşünülen mekanizmaların engellenmesine ilişkin bazı yaklaşımlar söz konusudur (30). Bu amaçla hasar sürecinde etkili olduğu düşünülen, oksidatif stres, inflamasyon hücreleri ve kas hasarının mekanik uyarı olan yapısal proteinleri de kapsayan bir çok yaklaşım mevcuttur. Bunlardan birisi de sıcak şoku proteinleri (HSP) olarak adlandırılan proteinlerdir.

Çalışmalar, organizmanın yaşaması için gerekli optimal sıcaklığın 5-10 °C üstünde bir sıcak stresine maruz kalan hücre grubu yada dokuda bir grup proteinin yapımının arttığı ve miktarlarının sıcak uygulamasını takiben 24. saatte pik değere ulaştığı bildirmiştir (86, 101, 103). Sonraki çalışmalarda bu proteinlerin yalnızca sıcak stresi değil, ATP düzeyinin azalması, oksidan stres, pH'ın düşmesi, kalsiyumda artma, amino asit ve glikoz analogları, etanol, kokain, çeşitli iyonoforler, arsenik vb. zehirler, glikoz eksikliği gibi farklı bir çok fizyolojik stres sonucunda arttığı bildirilmiştir (144). Bu nedenle, oluşan yanıt daha genel anlamda “stres yanıtı” ve indüklenen proteinler ise “stres proteinleri” olarak da adlandırılmaktadır. Bununla birlikte, en sık uygulanan ve en belirgin HSP artışına rastlanan stres modeli sıcak uygulamasıdır. Sıcak stresi ile yapımı artan HSP'lerin daha sonra karşılaşılan herhangi bir stres durumunda proteinlere bağlanarak, proteinlerin yapısında meydana gelebilecek bozulmaları engellediği bildirilmiştir (36, 102). Hayvan çalışmalarında

sıcak stresi yolu ile arttırılan stres proteinlerinin kas hasarı sırasında sarkomer içinde bulunan ve ekzentrik egzersizlerin yarattığı aşırı gerim sonucunda zarar gören ve hatta kopmalar gözlenen iskelet (hücre iskeleti) proteinlerini koruduğu (83, 92, 145), insan çalışmalarında ise egzersiz (122, 164, 165), mikrodalga diatermi (137) uygulamaları yolu ile arttırılan HSP'lerin kas hasarını azalttığı gösterilmiştir. İnsan ve hayvanlarda termotolerans farklılığından dolayı sıcak stres protokolleri genellikle hayvanlar üzerinde uygulanmaktadır. Hayvanlarda vücut sıcaklığı, yaşam için gerekli optimal sıcaklığın 5-10 derece üstüne çıkarılabilmekte ve bu nedenle HSP artışlarında daha net sonuçlar gözlenmektedir. Ancak insanlarda bu vücut sıcaklıklarına ulaşmak mümkün olmamaktadır. Bununla birlikte insanlarda uygulanan sıcak stresi sonrası oral ve deri vücut sıcaklarının ortalama 2.4-3 derece artarken, sıcak stresini takiben lökositler HSP70 miktarlarının ciddi olarak arttığı gösterilmiştir (90, 138). Benzer bir şekilde 75 derece sıcaklıktaki sauna uygulaması sırasında rektal sıcaklığın 1.5 derece yükseldiği gösterilmiştir (6). Bu nedenle sporcular tarafından sıklıkla kullanılan sauna uygulaması vücut iç sıcaklığını arttırarak plazma HSP70 seviyesinde bir artışa neden olabilir. Bütün bunların sonunda plazma HSP70 düzeyinin arttırılması ile ekzentrik egzersizin neden olduğu kas hasarının önlenebileceği düşünülebilir.

Bu nedenle, bu çalışma insanlarda sıcak stresi yolu ile arttırılan plazma HSP70'in ekzantrik egzersizin neden olduğu kas hasarı üzerine etkisini incelemek amacı ile planlanmıştır.

1.2. Amaç ve Varsayım

Bu çalışmanın amacı, ekzentrik egzersiz öncesi sıcak uygulamasının kas hasarı üzerine etkisinin incelenmesidir. Hipotezimiz, sıcak (sauna) uygulamasının kas dokusunda HSP70 artışına yol açarak, kas hasarını önleyeceği veya azaltacağıdır.

Sauna uygulamasının dışarıdan sıcak stresi oluşturarak vücut iç ısını 1.5 derece arttırdığı daha önce gösterilmiş olduğundan, bu çalışmada sıcak stres protokolü olarak sauna kullanılacaktır. HSP70'deki artışın sıcak stresini takip eden 24. saatte zirve yaptığı göz önüne alındığında, saunadan sonraki 24. saatte plazma HSP70 seviyesindeki artışın, saunanın 24. saatinde uygulanacak ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarından korunması veya şiddetini azaltması beklenmektedir. Keza saunayı takiben 24. saatte alınan kan örneklerinden yapılan analizlerde HSP70 değerlerinin deney grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması, koruma mekanizmasının bu proteinler üzerinden olabileceği varsayımımızı güçlendirecektir. Bu nedenle sauna uygulamasını takiben sıcağa duyarlı HSP70 proteinlerinde artış meydana gelmesi beklenmektedir. Deney grubunun tekrarlanan ölçümlerinde kas hasarının tayininde kullanılan KK, LDH, AST ve ALT değerlerinin kontrol grubundan anlamlı ölçüde düşük bulunması sıcak uygulamasının ekzentrik kaynaklı kas hasarını önleyeceği veya azaltacağı hipotezini destekleyecektir. Aynı zamanda kas hasarının fizyolojik belirteçlerinden ekstensör ve fleksör kuvvetteki egzersiz sonrası oluşacak düşüşün sıcak stresi grubunda görülmemesi veya kontrol grubundan daha az olması beklenmektedir. Kas hasarının subjektif belirtilerinden olan ağrı skorlarının da sıcak stresi grubunda daha düşük olması beklenmektedir. Benzer şekilde kas hasar mekanizmasında rol oynayan nötrofil fonksiyonu ve trombosit agregasyonunun sıcak stresi grubunda daha düşük bulunması beklenmektedir.

Bu nedenle, sıcak stresi uygulanan ve uygulanmayan gruptaki kas hasar belirteçleri ve kas hasarını önlediği düşünülen parametrelerdeki değişimler sıcak stresinin ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarı üzerindeki etkisini test etmede kullanılacaktır.

1.3. Araştırmanın Önemi

Kas hasarının engellenmesi ya da gecikmeli kas ağrısının süre ve şiddetinde meydana gelen azalma, sporcularda performans kayıplarının önlenmesinde ciddi önem taşımaktadır. Böylece sporcunun şiddetli müsabaka ya da antrenmanları takiben bir sonraki antrenman ya da müsabakaya katılabilmesi için gereken süre azalacağı gibi antrenman kalitesi ve müsabaka performansı da olumlu olarak etkilenecektir. Bunun yanısıra bu çalışmadan elde edilecek veriler herhangi bir nedenle oluşabilecek kas hasarının önlenmesi, kas atrofisi vb. durumlarda meydana gelen yıkım mekanizmalarının aydınlatılması, özellikle iskelet kasında cerrahi girişimler sonrasında ortaya çıkan doğrudan oluşan kas hasarı ile iskemi-reperfüzyon hasarının önlenmesi gibi konulara da ışık tutacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kas Hasarı ve Kas Hasar Mekanizmaları

Yoğun ve alışılmadık bir egzersiz sonrası kaslarda güçsüzlük, tükenme ve fonksiyon kaybı meydana gelir. Özellikle kasın boyunun uzadığı kasılma şekli olan ekzentrik kasılmalardan sonraki ilk bir kaç günde kasta oluşan bu durum gecikmeli kas ağrıları (GKA) veya kas hasarı olarak tanımlanır. GKA şiddetli egzersizden 24-48 saat sonra zirve yapan, kasta ağrı ve rahatsızlık yaratan bir durumdur. Egzersizin kasta hasara neden olduğu Hough tarafından ilk kez 1902 yılında tanımlanarak, kas hasarı ile ilgili ilk çalışma yayınlanmıştır (29). Bu tarihten itibaren bir çok çalışmada alışılmamış ve şiddetli bir egzersizin kas hücrelerinin yapısına ve ekstrasellüler matriks bozulmalarına neden olarak kas fonksiyonlarını engellediği gösterilmiştir (28, 178, 180, 181). Bununla beraber, insanlarda kas hasarını gösteren somut bulgular ilk kez egzersizden sonraki 2 ve 7. günlerde soleus kasından alınan biyopsilerle gösterilmiştir (56). İskelet kas hasarları egzersizin şiddetiyle ilgili olmakla birlikte daha çok alışılmamış egzersizler sonrasında belirgindir. Asmussen, 1952-1956 yılları arasında kas hasarı ile ekzentrik egzersiz arasında doğrudan ilişki olduğunu çalışmalarında göstermiştir (59). Konsantrik egzersizin metabolik olarak daha fazla stres oluşturduğu ve daha fazla laktik asit ürettiği bilinmektedir. Bu yüzden ekzentrik egzersizin niçin daha fazla kas hasarına neden olduğu sorusunun yanıtı şiddetten daha fazla egzersizin türü ve kas hasarına neden olan diğer faktörlerle açıklanabilir.

Kastaki ekzentrik aktiviteden sonra meydana gelen hasarın mekanizmasını anlamak için kas kasılma mekanizmasını anlamak gereklidir. Bütün fiziksel aktiviteler izometrik, konsantrik ve ekzentrik kas kasılmalarının kombinasyonundan oluşur. Bir ağırlığı yer çekiminin zıt yönünde hareket ettirdiğimizde yeterli kuvveti üretmek için kas kasılır ve kasın boyu kısalır. Bu kasılma türü konsantrik olarak tanımlanırken, aynı ağırlığı yer çekimi yönünde hareket ettirdiğimizde ise aynı kas grupları kullanılmasına rağmen bu kez kuvvet kasın boyunun uzaması ile elde edilir. Bu kasılma türü ise ekzentrik kasılma olarak tanımlanır. Yapılan çalışmalarda hem konsantrik hem de ekzentrik egzersizlerin (24, 54, 134) kas hasarına yol açtığı

gösterilmesine rağmen, kasın mekanik özelliklerinden dolayı ekzentrik egzersizin daha fazla kas hasarına neden olduğu ortaya konmuştur. Kas hasarı ve yenilenme sürecinin etiyojisi ile ilgili olarak; mekanik faktörler, intrasellüler kalsiyum homeostasisinin bozulması, inflamasyon ve oksidatif stres cevabı gibi faktörleri de içine alan bir çok açıklayıcı mekanizma ortaya atılmıştır (83). Mekanik faktörler hasarı başlatırken, kalsiyum ve bazı inflamasyon mediatörleri, egzersizi takip eden günlerde hasarı şiddetlendirir (11, 28). Aşağıda kas hasar mekanizmasında ve kasın yeniden yapılandırılmasında etkili olan bu faktörler ayrıntılı olarak açıklanacaktır.

2.1.1. Kas hasarına neden olan mekanik faktörler

Bir çok insan ve hayvan çalışması antrenmansız iskelet kasının ekzentrik kasılmaya bağlı kas hasarına duyarlı olduğunu göstermektedir. Kaslarda ekzentrik kasılmalar konsantrik kasılmalardan daha fazla hasara neden olur. Bunun sebebi ekzentrik kasılmalar sırasında daha fazla motor ünitenin devreye girmesine ihtiyaç duyulmasıdır. Bu yüzden ekzentrik kasılmada kasın daha büyük çapraz kesit alanı aktive olur. Ekzentrik kasılma sırasında devreye giren çapraz köprü sayısının arttığı, izometrik bir kasılmada ise çapraz köprü sayısının değişmediği gösterilmiştir (98). Ancak kas hasarının çapraz köprü sayısından daha çok kas boyundaki uzama ile ilişkili olduğu hipotezi bir çok çalışmada test edilmiştir. Buna göre, ekzentrik kasılmada çapraz köprüler kasın boyunda oluşan değişime direnç göstererek aktif bölgelere tutunmaya çalışır. Ekzentrik kasılma sırasında kasta diğer kasılmalardan daha fazla *tension* (gerim) üretildiği bilinmektedir. Ekzentrik kasılmada gerim oluşumunda iki ayrı faz olduğu Katz (1939) tarafından ortaya atılmıştır. İlk fazda kas gerim üretmek için kasılır, daha sonra ilave gerim üretirken dış kuvvetler tarafından pasif olarak gerilir (59). Kasın pasif geriminin belirleyicisinin titin izoformu olduğu ve titin izoformunun aynı tür içinde farklı çizgili kaslar arasında bile farklılıklar sergilediği ortaya konmuştur (176). Kas uzunluğuna bağlı olarak artan kas gerimi, optimum tork için eklem açısını belirlemede kullanılan pratik bir yöntemdir. Ekzentrik egzersizlerden sonra uzunluk-gerim ilişkisinin değiştiği ve maksimal tork'un daha uzun kas uzunluklarında olduğu gözlenmiştir. Sarkomerdeki seri elemanların uyumlarının artması kasın aktif uzunluk-gerim eğrisinin kaymasına yol

açmaktadır. Böyle bir kayma Katz tarafından tanımlandıktan sonra, kurbağa (118) ve insan iskelet kası lifinde de gösterilmiştir (16, 72).

Ekzentrik egzersiz kasta yapısal bozuklukların ortaya çıkmasına neden olan mekanik bir stres yaratır (56, 124). Ekzentrik egzersizde sarkomerin ve yarı sarkomerin aşırı gerildiği bilinmektedir (17, 94). Ekzentrik egzersizin hayvan kaslarında optimum kas uzunluğunun % 140'ına varan uzamalara ve alışılmamış bir mekanik gerilmeye sebep olduğu gösterilmiştir (29). Sıçan iskelet kasının tek lifinde yapılan çalışmada, aktif gerilmeden önce ve sonra sarkomer uzunlukları ölçülerek, zarar gören sarkomerlerin diğerlerinden daha fazla uzadıkları bildirilmiştir (108). Sarkomerdeki bu aşırı uzamanın güçsüz olan bazı sarkomerlerde kopmalara neden olduğu (pop) ortaya atılmıştır (117). Daha sonra Talbot ve Morgan (1996) tarafından zayıf sarkomerlerin ekzentrik egzersiz sonrası yapısal olarak değişimlere uğradığı, kuvvetli sarkomerlerin ise değişmediği bildirilmiş ve bu bulgu kas hasarında aşırı gerilen sarkomerin varlığını destekleyen bir kanıt olarak gösterilmiştir. Bununla birlikte kas hasarının kasın uzunluğundan daha çok kasın güç üretim miktarından etkilendiğini ve gerimin büyüklüğünden ziyade, kasın yüksek güçlere maruz kalmasının hasar mekanizmasında daha etkin rol oynadığı bildirilmiştir (94, 178). Bu çalışmalarda bir çok mekanik parametre ile kas hasarı ilişkisi incelenerek, kas hasarı ve maksimum güç üretimi sırasında ulaşılan gerilme arasında yüksek ilişki bulunmuştur.

Hasar sürecinin ilk basamağı sarkomeri de içeren kas hücresi, kas iskeleti ve sarkolemanın mekaniksel hasarıdır. Daha sonra da uyarılma kasılma döngüsünde değişimler meydana gelir. Ekzentrik egzersizden sonra sarkomerde aşırı gerilme ve Z bandı düzensizlikleri görülmektedir. Sarkomerdeki bu bozulmalar tek bir myofibrilin tek bir sarkomerinde oluşabileceği gibi, tüm kas lifi sarkomerlerinin büyük çoğunluğunda da gözlenebilir. Kas kasılmaları sırasında kas lifi uzaması kasın optimum sarkomer uzunluğunu aşmasına neden olmaktadır (17).

2.1.2. Yapısal protein hasarı

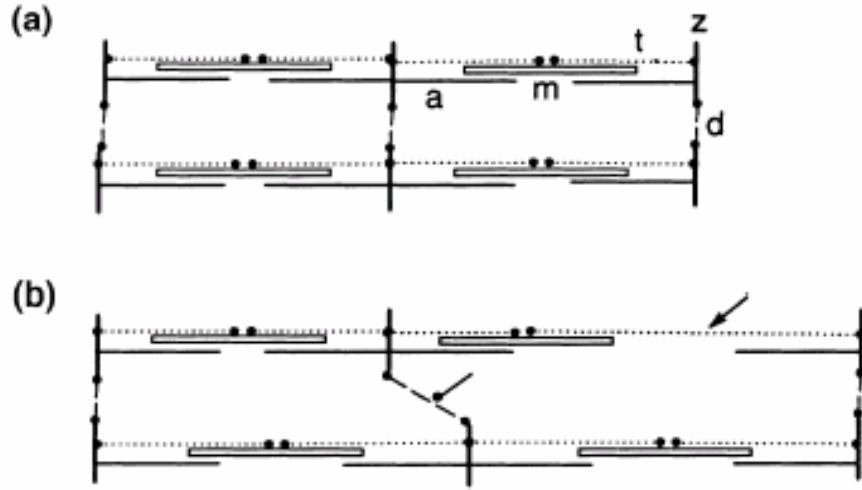
İskelet kasında uzunlamasına ve enine gerimin aktarımı ile kontraktıl proteinlerin stabilizasyonunda görev alan kas iskeleti proteinleri (yapısal proteinler) bulunmaktadır. Ekzentrik egzersizler sonucu kasın aşırı gerilmesi bu proteinlerin lokalizasyonunun değişmesine ve sarkomer yapısında bozulmalara neden olur. Kasta meydana gelen yapısal bozuklukların başında Z bandı bozulmaları, kalın myoflamentlerin kaybolması, aşırı gerilen sarkomerde bölgesel myofilament ve T-tübülüs organizasyonsuzluğu, A bandı düzensizlikleri, bozulan bölgelerde mitokondri kaybı gelmektedir (119). Egzersizden 24-48 saat sonra alınan biyopsilerde, egzersizden hemen sonra alınan biyopsilerden daha fazla kas hasarı gözlenmektedir. Sarkomerin yapısında kalın (miyozin) ve ince (aktin) olmak üzere kontraktıl filamentler bulunmakla birlikte, kontraktıl proteinleri stabilize eden ve gerimin uzunlamasına ve lateral olarak aktarımını sağlayan yapısal proteinler bulunmaktadır. Kontraktıl filamentler yapısal proteinler aracılığı ile Z bandına tutunur. Bu yapısal proteinlere seri elamanlarda denmektedir. Titin miyozini, desmin ise iki komşu Z diskini birbirine bağlayan iskelet proteindir (2). Titin çok büyük moleküler ağırlığa sahip olan bir proteindir. Dinlenme durumunda kas lifinin geriminden ve aynı zamanda miyozinin sarkomerin merkezinde lokalize olmasından sorumludur. Normal sarkomer uzunluğunda titin küçük gerimler üretir. Kas sarkomer uzunluğu yaklaşık $> 4 \mu\text{m}$ gerildiği zaman miyozin molekülünün titine tutunması kayar ve daha fazla serbest titin molekülü oluşur. Bu yüzden titin, sarkomerin uzamasından ve tekrarlayan ekzentrik kasılmalara bağlı miyozin çapraz köprüsünün aktinle yeniden bağlantılanmasında çok önemli bir moleküldür (176).

Desmin Z diskine yerleşmiş iki komşu Z diskini birbirine bağlayan yapısal protein olduğu için gerimin lateral olarak aktarımını sağlar. Örneğin bir myofibrildeki sarkomerlerin uzunlamasına ileticileri hasar görmüşse gerim lateral ileticiler tarafından komşu myofibrillere iletilirler. Desminin daha az üretildiği *transgenic* farelerde myofibriler düzensizlikler oluştuğu görülmektedir. Desminin ekzentrik egzersizden sonra kas hasarındaki rolünü belirlemek amacıyla yapılan bir

çalışmada immünohistokimyasal olarak belirlenen desmin değerlerinin egzersizden sonraki 1. gün % 23, 3. gün % 35, 7. günde ise % 10 negatif olduğu ifade edilmiştir. Aynı çalışmada, desmin negatif bulunurken membran yüzeyinin zarar gördüğünü işaret eden fibronektin pozitif olarak bulunmuştur (95). Bununla birlikte özellikle 1. gün desmin negatifken fibronektininde negatif bulunması hasar gören hücrelerde desmin kırılmasının başlayabileceğini göstermektedir. Aynı araştırmacılar daha sonraki çalışmalarında desmin negatif olan hücrelerde titin dejenerasyonunun da arttığını göstermişlerdir (96). Bu sonuçlar aşağıdaki hipotezlerin ortaya atılmasına neden olmuştur (97): i- Aşırı gerilen sarkomer lokal Ca^{+2} artışına neden olur, ii- artan Ca^{+2} kalpain gibi proteazların aktivasyonuna ve desminin hidrolizine neden olur, iii- desminin yapısal desteğinin kaybı sarkomer bozulmalarını birlikte getirir. Bu hipotezin geçerliliğini kanıtlamak zordur. Artan intrasellüler Ca^{+2} konsantrasyonunun 5-10 dakika içinde desmin hidrolizine neden olacak miktarda kalpaini hızlı ve yeterli bir şekilde aktive edebileceği açık bir şekilde ortaya konulmamıştır. Bu çalışmada desminin negatif bulunmasının nedeni olarak immünohistokimyasal boyamada antibokora bağlanmasının baskılanması veya bu bağlanmanın normalden daha kısa sürmesi gösterilmiştir.

Bu sonuçlar desmin kaybının hücre hasarının bir parçası ve proteazların aktivasyonu ile ilişkili olduğunu gösterirken, desmin kaybının sarkomer düzeyinde kas hasarının erken ve spesifik habercisi olup olamayacağı sorusunu gündeme getirmiştir.

Distrofin, glikoprotein yapısında olan ve aktin filamentine bağlı bir şekilde sarkolemmada yerleşmiş bir proteindir. Distrofin'in kesin fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte, yapılan çalışmalarda distrofini az olan farelerde ekzentrik egzersize bağlı kas hasarının daha şiddetli olduğu gözlemlenmiştir (67, 143).



Şekil 2.1. Sarkomerin şematik gösterimi

- a) Normal sarkomer:** 'a' ince filament, 'm' kalın filament, 'z' z diskleri, 't' titin 'd' desmin
b) % 30 gerilme sonrası sarkomer: Aşağıdaki sarkomer çift taraflı gerilirken yukarıdaki sarkomer sadece tek taraflı gerilmiştir. Şekilde hem titin hem de desminin aşırı gerildiği görülmektedir (2).

2.1.3. Kalsiyum homeostazisindeki bozulmalar

Kas hasarından sorumlu mekanizmanın sarkomerin aşırı gerilmesi olduğu şeklinde görüşlerle birlikte hasar mekanizmasının başlangıç noktasının uyarılma-kasılma döngüsünün (E-C coupling) bir bileşeni olduğu şeklinde görüşler de mevcuttur. Warren ve diğ. (179) ekzentrik egzersizden sonra kas kuvvetindeki % 75'den daha fazla olan azalmanın uyarılma-kasılma döngüsündeki başarısızlığına bağlanabileceğini rapor etmişlerdir. Bu bulgu bir çok çalışmada farelerde doğrulanmasına rağmen *amphibian ve toad* kaslarında kas hasarı ile Ca^{+2} arasında ilişki bulunamamıştır (180). Aşırı gerilen sarkomerde sarkoplazmik retikulum veya kas membranındaki hasar, sarkoplazmik retikulumun kalsiyumu geri almasını engelleyerek intrasellüler kalsiyum (Ca^{+2}) miktarını artırır ve kalsiyuma duyarlı degradatif mekanizmaları aktive eder. Tepe aşağı ekzentrik egzersiz protokolü ile mitokondrial kalsiyum konsantrasyonunun hayvanlarda arttığı gözlenmiştir (41). İlk çalışmalarda kalsiyumun hücre içine akımının artması ile kas hasarının tamponlanabileceği yönünde iken sonraki çalışmalar bunun tersini göstermektedir (105). Ekzentrik kas hasarının farelerde sitozolik serbest kalsiyum oranını arttırdığı belirtilmiştir (180). Hücre içi kalsiyumun artmasının sebebi kas liflerindeki artan

gerimin membrandaki gerim-duyarlı Ca^{+2} kanalları tarafından algılanması ve bu kanalların aktive olması ile kas hücresi içine Ca^{+2} akışının artmasıdır (96).

Kalpain non-lizozomal, kalsiyum aktivasyonlu nötral proteazdır. Memeli hücrelerin çoğunda en az iki kalpain izozimi bulunur. Bu sitoplazmik proteazomların aktivitesi bütünü ile kalsiyuma bağımlıdır. Kalpain sarkomerde I ve Z bantlarına yerleşik bir şekilde kas hasar sürecinde önemli bir rol oynamaktadır (14). Kalpainin desmin, α -aktinin, vimentin gibi yapısal proteinlere yapışması bu proteinlerin degrede olmasına, sarkomer yapısı ve sarkolemmada bozulmalara neden olur. Farelerin kaslarında, egzersiz sonrası meydana gelen gerim azalmasının kafein ekleri verilerek önlendiği çalışmada, kalsiyumun kas hasarındaki rolü gösterilmiştir (178, 184). Kalsiyum ve kalsiyum duyarlılığındaki düşüş ile gerim azalması arasında ilişki vardır. Ekzentrik egzersizden sonra oluşan kuvvet kayıpları, izometrik egzersizden sonra oluşan kuvvet kayıplarından çok fazladır. Bu iki farklı egzersiz protokolünden önce uygulanan kafein desteği iki grupta eşit kuvvet kayıplarına neden olmuştur (184). Bu bulgular, kas hasar mekanizmasında Ca^{+2} un önemli bir rolü olduğunu düşündürmesine rağmen, çalışmaların farklı ekzentrik protokollerde, farklı kaslar üzerinde ve farklı türlerde yapılması Ca^{+2} ve kas hasarı ile ilgili farklı sonuçların ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

2.1.4. Kas hasarında inflamasyon mekanizması ve nötrofillerin rolü

İnflamasyon patolojik bir olay olmasına rağmen egzersize bağlı olarak da gelişir. Aşağıda inflamasyonun aşamaları maddeler halinde verilmiştir: i- Doku yaralanması, ii- yaralanan dokuda vazoaktif maddelerin salınımı, iii- vazodilatasyon, iv- lökosit adezyonu, v- yaralanan bölgeye kandan lökosit göçü, vi- doku yenilenmesi (167). İnflamasyon sürecinde kas ve kanda KK, interlökin-6 ve interlökin-1 gibi maddelerle kas ödemi ve gecikmiş kas ağrısının birlikte görülmesi, özellikle şiddetli ve ekzentrik kasılmalar içeren fiziksel egzersizin kas inflamasyonuna neden olduğunun bir kanıtı olarak kabul edilebilir (181). Kas hasarı zarar gören dokuya kan akımının artması ve hücrelerin transferinden kaynaklanan inflamasyon cevabına bağlı olarak oluşur. Hasar sonrası artan sıvı miktarı karakteristik bir şişlik oluşturur. Spesifik kemotaktik ajanlar endotel çizgiye doğru

lökositlerin göç etmesine neden olurlar. İşaretlenmiş lökositlerin ekzentrik egzersizden 4-20 saat sonra hasarlı dokuda arttığı gösterilmiştir (106).

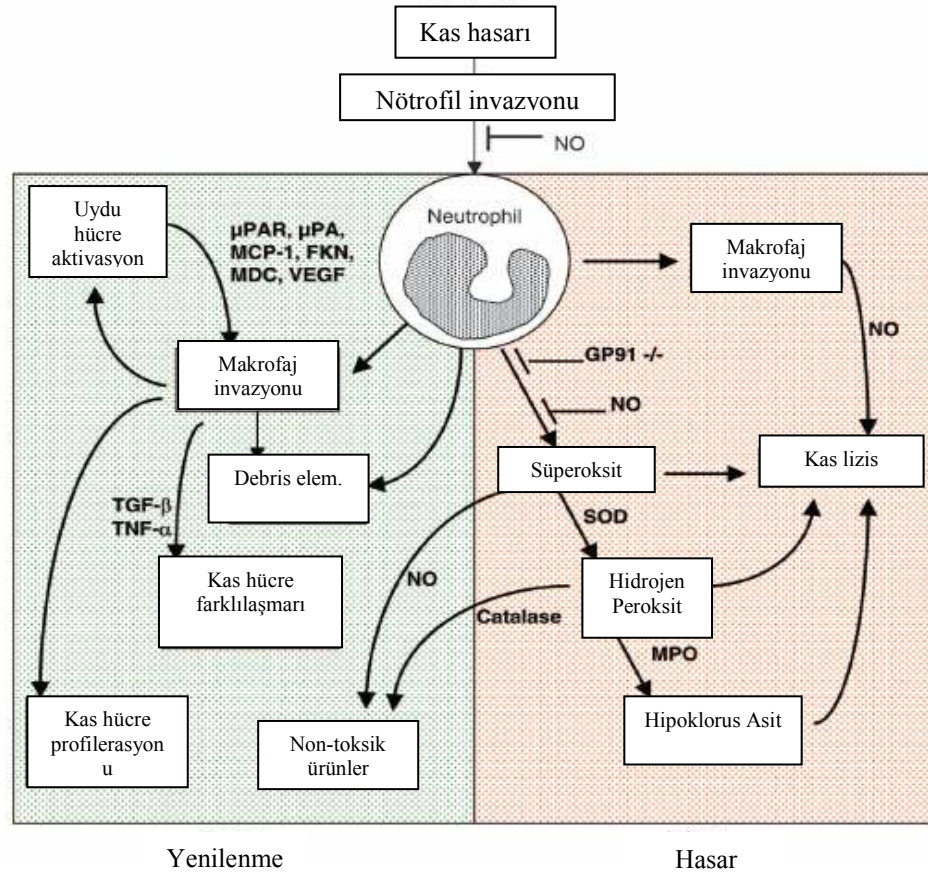
Kas hasarı sonucunda inflamatuvar hücrelerin kas içi invazyonu hızlı ve ardışık bir şekilde artar. Bu hücrelerin invazyonu kasın iyileşme, yenilenme ve büyüme sürecinde günler ve haftalar boyu devam edebilir. Kas tamiri ve yenilenmesi ile inflamasyon arasındaki bu ilişkinin yararlı olabileceği gibi yaklaşımlar mevcutken bunun kas hasarını arttırdığı ve kas gelişiminde tamamen yararlı olmadığına dair çalışmalar da mevcuttur (166). Bu çalışmalarda orta şiddetli veya hasar yapıcı bir egzersiz sonrası temel inflamasyon cevabında makrofajların ve nötrofillerin dominant rol oynadığı ortaya konulmaktadır.

Nötrofillerin kas hasarını arttırdığı deneysel çalışmalarda gösterilmesine rağmen, kasın tamir ve yenilenme sürecindeki fonksiyonları açık bir şekilde ortaya konulmamıştır. Artan kas kullanımı veya kas hasarı sonrası nötrofiller kas dokusunda ilk infiltre edilen hücrelerdir. Egzersizi takip eden 1 saat içinde nötrofillerin invazyonu başlar ve 5 gün yüksek kalabilir. Nötrofillerin fagositik olabileceği işaret edilirken aynı zamanda proteaz salgılanmasına neden olarak kas hasarı sonrası artan hücresel artıkların degradasyonunda görev alabileceği belirtilmektedir. Bunun yanında nötrofillerin sitolitik ve sitotoksik moleküller salgıladığı ve bu yolla kasta veya diğer sağlıklı dokularda hasara neden olduğu da bildirilmiştir (168). Nötrofillerin süperoksit bağımlı mekanizma yolu ile kas hücre membranında doğrudan lizise neden olduğu bilinmektedir. Keza nötrofil kaynaklı süperoksitin, iskemi-reperfüzyon veya modifiye kas kullanımı sonrasında kas hücre membran lizisinde büyük rol oynadığı ve kas hücre membran lizisinin süperoksit dismutaz (SOD) enziminin eklenmesi ile önlendiği gösterilmiştir (127). Süperoksit (SO) diğer serbest radikaller tarafından çabuk bir şekilde uzaklaştırılan veya SOD enzimi ile hidrojen peroksite (HP) dönüşen ılımlı bir radikaldir. Ancak HP lipid peroksidasyon kapasitesi SO'dan daha güçlü olan ve hücre membranına daha fazla zarar veren bir oksidandır. Bununla birlikte HP hidroksil radikali gibi daha yüksek reaktif serbest radikallere veya hipoklorüs asit gibi radikal olmayan oksidanlara hızlı bir şekilde dönüşebilir. Miyeloperoksidaz (MPO) HP'yi su ve oksijene dönüştürmek için katalaz

(KAT) enzimi ile yarışır. Bu yüzden MPO'ın aktivitesi ve ekspresyonundaki değişimler SO üretimi ve bunun yol açtığı potansiyel litik, radikal olmayan oksidantları belirlemek açısından önemlidir (167).

MPO nötrofiller tarafından salınır. Kas kullanımı veya hasarı sonrası kasta MPO aktivitesinin artması nötrofil invazyonunu tipik bir şekilde yansıtır. Egzersizle birlikte nötrofil MPO aktivitesinin arttığı bilinmektedir (159). Bu yüzden egzersiz sonrası nötrofillerin, hasar gören kasta ve dolaşımında artması kas hasarını daha fazla arttıran bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Nötrofiller kanda ve hasarlı dokuda artmasına rağmen hasarda ve iyileşme sürecindeki rolleri tam olarak açık değildir (28).

Nötrofil ile yönlendirilen kas hasarının kas kontraktilesinde bozulmalara neden olduğu ile ilgili bir çalışmada İ/R modeli uygulanmış ve İ/R öncesi nötrofil azaltılmıştır. İ/R sonrası nötrofil azaltılan sıçanlarda azaltılmayan sıçanlara göre izometrik kuvvet kayıplarının daha düşük olduğu gözlenmiştir (174).



Şekil 2. 2. Kas hasar ve yenilenme mekanizmasında nötrofillerin rolü (8).

2.1.5. Kas hasar belirtileri

Ekzentrik egzersizi takiben kasta oluşan ilk değişiklikler kuvvette azalma, gerim oluşturmada optimum kas uzunluğunun artmasıdır. Daha sonraki değişiklikler ise plazma protein seviyelerinin artması, kasta şişlik, sertlik, inflamasyon ve ağrıdır (119). Oluşan kas hasarının, daha sonra yapılacak aynı veya daha şiddetli bir egzersizin oluşturacağı hasardan kası koruduğu bilinmektedir. Bu nedenle kas hasarı için adaptif mikrotravma terimi de kullanılmaktadır.

Kas hasarının ortaya konmasında bir çok doğrudan ve dolaylı yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler kendi aralarında bazı avantajlar ve dezavantajlar içermektedir. Hasarın görsel ve miktarsal olarak tanımlanabildiği manyetik rezonans imaging (MRI) yöntemi ve ışık ya da elektron mikroskobu ile biyopsi bulgularının değerlendirildiği histokimyasal yöntemler kas hasarının tanımlanmasında kullanılan doğrudan yöntemlerdir (56, 73). Bu yöntemlerden biyopsi yöntemi invaziv olduğu için biyopsi sırasında kasta hasar oluşabilme ihtimalide oldukça yüksektir. 7 günlük periyotta biyopsi alınan kontrollerle ekzentrik egzersiz yapan deney grubu arasında nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda benzer değişimler gözlenmiştir. Bu durum biyopsinin meydana getirdiği hasarın yanlılıkla egzersiz kaynaklı kas hasarına yorulabileceğini göstermektedir (109). Bununla birlikte biyopsi alınan bölge kasın küçük bir bölümü olduğundan dolayı tüm kası yansıtması açısından hata yapabilme olasılığı yüksektir.

MRI tekniğinde tüm kastaki ödem belirlenir. Noninvaziv olmasına rağmen bu yöntem kas hasarının boyutu hakkında net bir sonuç vermeyebilir. Bu nedenle sık sık dolaylı yöntemlere başvurulmaktadır. 1999 yılına kadar yapılan kas hasar çalışmalarında kullanılan ölçüm yöntemlerinin değerlendirildiği bir çalışmada, kas hasarının değerlendirilmesinde % 63 kas ağrısı, % 52 kan proteinleri, % 50 de maksimal istemli kasılma gücü kullanıldığı belirtilmiştir (181). Kolay ve subjektif değerlendirme olan kas ağrısı ile objektif ama pratikte pek uygun olmayan histolojik değerlendirme arasında kas hasarını tanımlamak ve boyutlarını ortaya koymak için

çeşitli parametreler vardır. Gerek fonksiyonel parametreler, eklem hareket genişliği (ROM), ortaya konan kuvvet ve gerekse biyokimyasal parametreler (bazı serum enzim ve proteinlerinin varlığı) özellikle histokimyasal verilerin alınmadığı durumlarda kas hasarı tayininde kullanılmaktadırlar.

Kuvvet Kaybı

Ekzentrik egzersiz sonrası kas kuvvetindeki kayıplarının nedeni genel olarak aşağıdaki maddelerde verilmiştir.

- i- Merkezi sinir sistemi, motor sinirler ve nöromusküler kavşakta meydana gelen değişimler.
- ii- Büyük boyutlu hüresel zarar sonrasında uyarılamayan kas hücreleri.
- iii- Kalsiyum salınımının azalması ya da salınımda oluşan bir bozukluk.
- iv- Kalsiyum duyarlılığında değişimler.
- v- Kontraktıl mekanizma bozukluğu.

Ekzentrik egzersizden sonra devam eden güç kaybı insanlarda kas hasarının geçerli ve güvenilir dolaylı bir göstergesidir. Ekzentrik egzersizden sonraki kuvvet kayıplarının kasta oluşan yüksek gerilmeler sonucu olduğu bildirilmiştir (94). Egzersizden hemen sonra oluşan güç kayıpları kas hasarından kaynaklanmayan, metabolik ve nöral yorgunluğa bağlı olarak gelişen ve egzersizden bir kaç saat sonra düzelen bir bulgudur. Konsantrik protokollerde tipik bir şekilde % 10-30 arasında kuvvet kaybı oluşurken, şiddetli ekzentrik egzersizlerden hemen sonra egzersiz öncesine göre % 50-60 oranında kuvvet kayıpları gözlenmektedir. Bununla birlikte kaybedilen kuvvet konsantrik kasılmadan bir kaç saat sonra restore edilirken, ekzentrik egzersizden sonraki 10 gün veya daha uzun bir sürede tekrar kazanılabilmektedir (27, 150). Kas hasarının en az gözlendiği tepe aşağı koşu protokolünde egzersizden hemen sonra % 10-30 arasında kuvvet kayıpları gözlenmektedir. Egzersizden 24 saat sonra kuvvet kaybı ekzentrik egzersiz sonrasında, konsantrik egzersiz sonrasına göre daha fazladır. Yüksek şiddetli ekzentrik egzersiz, daha fazla güç kaybına neden olurken daha uzun toparlanma süresi gerektirir. Hayvan ve insan çalışmalarında kasın başlangıç uzunluğu ile kuvvet

kayıplarının ilişkili olduğu gösterilmiştir. Daha uzun kas uzunlukları ile kasılmaya başlamak kuvvet kaybını arttırmaktadır. Dirsek fleksörleri ile kısmen daha dar eklem aralıklarında (tam dirsek fleksiyonundan 60 derece ekstensiyona) yapılan egzersizde % 10 kuvvet kaybı gözlenirken, daha uzun kas uzunluğunda (45 derece fleksiyondan tam ekstensiyona) yapılan egzersizde % 30 kuvvet kaybı gözlenmiştir (126). Bu çalışma, daha uzun kas uzunluğu ile egzersize başlamanın, kas liflerinde daha fazla bir zorlanma yarattığını göstermektedir. Saxton ve diğ. (150)'nin çalışmasında ekzentrik egzersizlerden önce zirve güç üretimi 90 derecede iken egzersizden sonraki 10. günde zirve güç üretiminin 160 dereceye kaydığı gösterilmiştir. Bu pik güç üretimi için gerekli optimum uzunluğun ekzentrik egzersizlerden sonra daha uzun kas uzunluklarına kaydığını gösteren bir bulgudur. Kas ağrısının kuvvet kayıplarında bir diğer faktör olduğu düşünülmektedir. Ancak ağrı tek başına kuvvet kayıplarından sorumlu bir mekanizma değildir. Çünkü ağrı algılanmasından önce egzersizden hemen sonra kuvvet kayıpları gözlenmektedir. Ekzentrik egzersizden sonraki kuvvet kayıplarının mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte kas yavaşça uzarken sarkomerde *uniform* bir gerilme oluşur. Fakat bu uzama ani ve yüksek güçte ise sarkomerde *nonuniform* bir gerilme meydana gelir. Bu gerime bazı zayıf sarkomerler dayanamaz ve kopmalar oluşur. Morgan tarafından 1990'da ortaya atılan bu teoriye *Popping-sarkomer* teorisi adı verilir (30).

Düşük frekans yorgunluğu

Egzersizden sonra kas kuvvetinin baskılanması bir diğer sebebi de düşük frekans yorgunluğudur. Egzersize bağlı oluşan kas hasarından sonra düşük uyarı frekanslarında kasın kuvvet üretme kapasitesi azalır. Örneğin 10-20 Hz uyarıda egzersiz öncesi ve sonrası arasındaki kuvvet kaybı 50-100 Hz uyarıdaki kuvvet kaybindan daha fazladır (68). Bu durum yüksek enerji fosfatlarının kaybolması ve merkezi yorgunlukla birlikte uyarılma kasılma döngüsünün başarısızlığı sonucunda kontraktıl aktivasyonun azalmasından kaynaklanmaktadır. Uyarılma kasılma döngüsündeki başarısızlık sarkoplazmik retikulum kalsiyum miktarının azalmasından kaynaklanmaktadır. Çalışmalar, sarkoplazmik retikulum kalsiyum miktarının egzersiz kaynaklı kas hasarı sonucunda azaldığını işaret etmektedir (68, 74, 183).

Kas ağrısı

Kas ağrısı, hasar yapıcı bir egzersizden sonra gözlenen bir bulgudur, ancak egzersizi takip eden 24.-48. saatlerde zirve yapar. Ağrının nedeni ve gecikmeli olarak ortaya çıkmasının altında yatan mekanizma açık bir şekilde ortaya konmamış olmakla birlikte inflamasyon mekanizması ile ilişkili olduğunu öne süren teoriler mevcuttur. Kas veya bağ dokunun zarar görmesi dolaşımdaki nötrofillerde artışa neden olur. Nötrofiller ve arkasından monositler hasarlı bölgeye göç eder. Monositlerin sayısı egzersizden 48 saat sonra algılanan ağrı ile yaklaşık aynı zamanda zirve yapar. Monositler büyük oranda prostaglandin (PGE) sentezler. PGE2 kasta ağrıyı algılayan afferent sinir kavşaklarında sentezlenir ve palpasyonda veya harekette ağrı duygusunu algılayan ve Tip III and IV ağrı aracılarını aktive eder (154). Histamin, bradikinin gibi zararlı kimyasallar ağrı duyusunun oluşumunda etkindir. Kas dokusu zarar gördüğünde bu kimyasallar serbestlenerek kastan merkezi sinir sistemine ağrı mesajını taşıyan tip III ve IV efektörlerini aktive ederler. Bununla birlikte tepe aşağı koşu egzersizinin 7. günü, veya 9-14. günleri arasında yapılan kas biyopsilerinde mononükleer hücre akışının hala yüksek olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu durum zirve makrofaj hücre konsantrasyonunun her zaman kas ağrısı ile ilişkili olmadığını ve ağrının başka mekanizmalara cevap olarak ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

Ödem

Kas hasarının neden olduğu inflamasyon cevabı zarar gören dokuya hücre ve sıvı transferini artırır. Artan sıvı hasarlı bölgede bir şişlik oluşturur. Ödem kas basıncını arttırarak ağrıya neden olduğu düşünülen başka bir faktördür. Ekzentrik egzersizden sonra kas içi basıncın arttığı biyopsi örneklerinde gösterilmiştir (34). Bununla birlikte üst kol distal biceps bölgesinden alınan ölçümlerde egzersiz sonrası şişliğin dereceli olarak arttığı ve 5. günde zirve yaptığı gözlenmiştir. Bu dönem ağrının yatıştığı döneme denk gelmektedir ve şişliğin ağrı mekanizmasını açıklamakta yeterli olmadığını göstermektedir (26).

Kas hasarının biyokimyasal belirtileri

Kas proteinlerinin kandaki seviyelerinin ölçülmesi biyopsi tekniği kullanmadan kas hasarı boyutlarının belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bir çok çalışmada kas proteinlerinin ve enzimlerinin ekzentrik egzersizden sonra kanda arttığı gösterilmiştir (93). Kas hasarı indikatörü olarak kullanılan başlıca kas enzimleri kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz ve karbonik anhidrase izoenzyme II dir. Diğer kas proteinleri ise miyogloblin, kalp yağ asidi bağlayıcı protein, troponin, ve miyozin ağır zinciridir. Bütün bu enzimlerin ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarı sonrasında arttığı farklı çalışmalarda gösterilmiştir (58). Kanda bu proteinlerin artması membran yırtılmaları sonucunda enzimlerin kas liflerinden dışarı çıkarak dolaşıma karışmalarından kaynaklanmaktadır (27, 133, 152). Bu parametreler içinde hasar boyutlarını belirlemede kullanılan KK en çok çalışılan ve kabul gören enzim olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun sebebi relatif olarak en fazla artışın KK'da gözlenmesidir. Büyük miktardaki KK artışlarında yaş, ırk, vücut kompozisyonu, KK inhibisyonu ve antrenman gibi faktörler etkili olmakla birlikte bu artışların mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmalarda düşük yüklerle yapılan ekzentrik egzersizden sonra KK'nın % 36 , tepe aşağı koşu sonrası % 351 değiştiği step egzersizi sonrası ise bazı deneklerde 2-3 kat artış gözlenirken bazılarında 70-100 kat artışlar bildirilmiştir (44). Bu durum KK'nın konsantrasyonundan çok enzim aktivitesinin ölçülebilmesine ve denekler arasındaki farklılıklara bağlanmaktadır. Kas hasarı ile dinlenme KK konsantrasyonunun anlamlı bir şekilde ilişkili ($r=0.79$) olduğu gösterilmiştir (93).

Enzimlerin ve proteinlerin dolaşım seviyelerinin artması ile ilgili bir çok yaklaşım söz konusudur. Bunlardan biri ekzentrik egzersizin konsantrik egzersize göre kas içi basıncı % 50 daha fazla artırmasıdır (57). Artan kas içi basınç sarkolemmal Na-K-ATPazı baskılayarak hücre içinde ödemin artmasına ve kas zarının yırtılmasına neden olmaktadır. Bir diğeri ise, ATP azalması sonucu bu pompanın görevini yapamamasıdır. Bütün bu yaklaşımların geçerlilikleri sınanarak sonuçta kas hasarının kas membranına zarar verdiği ve kas içi enzimlerinin ve proteinlerinin membrandan dışarı sızarak dolaşım konsantrasyonlarının arttığı sonucuna varılmıştır.

Tablo 2.1. Ekzentrik egzersiz sonrası zamana bağlı değişimler (29).

	Ağrı	KK	Ödem	Kuvvet	İnflamasyon	
					Akut	Kronik
Egzersiz uyararı				↓↓↓	↑	
Egzersiz sonrası 1-2 saat				↓↓↓	↑↑↑	
Egzersiz sonrası 24 saat	↑↑↑	↑	↑	↓↓↓	↑	
Egzersiz sonrası 48 saat	↑↑↑	↑	↑	↓↓		↑
Egzersiz sonrası 3-5 gün	↑	↑↑	↑↑	↓		↑↑
Egzersiz sonrası 5-7 gün	↑	↑↑↑	↑↑↑	↓		↑↑↑
Egzersiz sonrası 7+ gün		↑↑	↑↑	↓		↑↑

2.1.6. Kas hasarının önlenmesi

Egzersize bağlı kas hasarının azaltılmasında antrenmanın etkisi 40 yılın üzerinde bir süredir çalışılmaktadır. Tek bir seans ekzentrik egzersiz iskelet kas hasarına neden olurken, aynı ya da benzer bir egzersiz, kas hasar septomlarında önemli bir azalmaya neden olur. Tek bir egzersiz sonrası gözlenen bu koruyucu adaptasyon “*repeated bout effect*” (tekrarlanan uygulama etkisi) olarak tanımlanır (129). Antrene kasta oluşan yapısal ve metabolik değişikliklerin, bu korunmada rol oynadığı düşünülmektedir. Tekrarlayan egzersiz uygulamasından sonra kuvvette hızlı toparlanma, eklem hareket genişliğinde daha küçük sınırlanma, kas ödeminde ve ağrısında azalma, MRI veya ultrasonda daha az anormallikler ve ılımlı immün cevaplar gözlenir (131). Aynı şiddette uygulansa bile, ilk antrenmandan sonra yapılan ikinci ekzentrik antrenmana bağlı kas hasarının ilk antrenmandan daha düşük olduğu bilinmektedir (8, 26). Tekrarlanan uygulama, hem insan hem de hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. İlginç bir şekilde dirsek fleksörlerinde 10, 6 hatta 2 tekrar maksimal ekzentrik kasılmanın daha sonra uygulanan hasar protokolüne karşı koruyucu adaptasyona neden olduğu bildirilmiştir (18, 131). Bununla beraber tekrarlayan uygulamalar, yüksek şiddetli kasılmalar içeriyorsa koruyucu etkinin gözlenebilmesi için başlangıç uygulamasındaki kasılmaların şiddeti kesinlikle maksimal olmalıdır. Sekiz haftalık submaksimal (1 maksimal tekrarın % 50’si ile

yapılan) ekzentrik antrenmanın, maksimal ekzentrik egzersize karşı koruyucu adaptasyon oluşturmadığı bildirilmiştir (135).

Tek bir ekzentrik egzersizin koruyuculuk süresinin ortalama 1 ay olduğu bilinmekle birlikte (11) bu süre ile ilgili 9-12 haftaya ve 6 ay'a uzanan çalışmalar mevcuttur. Koruyuculuk süresinin 6 aya kadar uzadığı işaret edilmekle birlikte bu çalışmalarda kullanılan denek sayısının yetersizliği vurgulanmaktadır (128, 130). Serum KK ve myoglobin seviyesinin ilk egzersizden sonraki 6. haftada yapılan egzersizde daha düşük olduğu fakat 9. haftada ilk antrenmandan farklı olmadığı gözlenmiştir (20). Nosaka ve diğ. (133) ise bu sürenin en az 6 ay olduğunu ve 9-12. aylar arasında kaybolduğunu belirtmişlerdir. Tek seans ekzentrik egzersiz ile uzun süreli antrenmanın koruyucu etkisi arasındaki farklar net bir şekilde ortaya konulamamıştır. Bunun yanında antrenmana kas adaptasyonunun özgünlüğünden dolayı, ekzentrik antrenmanların konsantrik antrenmanlara göre koruyuculuğunun daha fazla olması beklenmektedir. Bazı çalışmalarda konsantrik antrenmanların kas hasarını azaltmadığı veya önlemediği bildirilmesine rağmen, kas hasarının önlenmesinde konsantrik antrenman ve ekzentrik antrenman arasında fark olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (135). Diğer yandan Eston ve diğ. (43) tepe aşağı koşudan 2 hafta önce yapılan 100 maksimal izokinetik ekzentrik egzersizin kas ağrısını, KK aktivitesini ve kuvvet kaybını azalttığını göstermişlerdir. Bu çalışma aynı kas grubuna yönelik farklı tipteki ekzentrik hareketlerin kas hasarından koruyucu rol oynadığını göstermektedir.

Kas hasarının önlenmesinde kullanılan yöntemler

Kas hasarının önlenmesinde bir çok koruyucu mekanizma olduğu bilinmektedir. Yukarda da bahsedildiği üzere antrenman önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmakla birlikte, antrenmanın içeriğine pasif gerdirme egzersizleri, isometrik kontraksiyonlar ve ekzentrik egzersizlerin eklenmesi önerilmektedir. Egzersizden önce ısınma ve germe, egzersiz bitiminde ise masaj yapılması ile karakterize kombine uygulamanın kan KK ve Mb düzeylerindeki artışı engellediği, maksimal izometrik kuvvet ve eklemden ROM'u koruduğu ve gecikmeli kas ağrısı (GKA)'nı engellediği bildirilmiştir (147). Bununla birlikte, kas hasarı sadece sportif

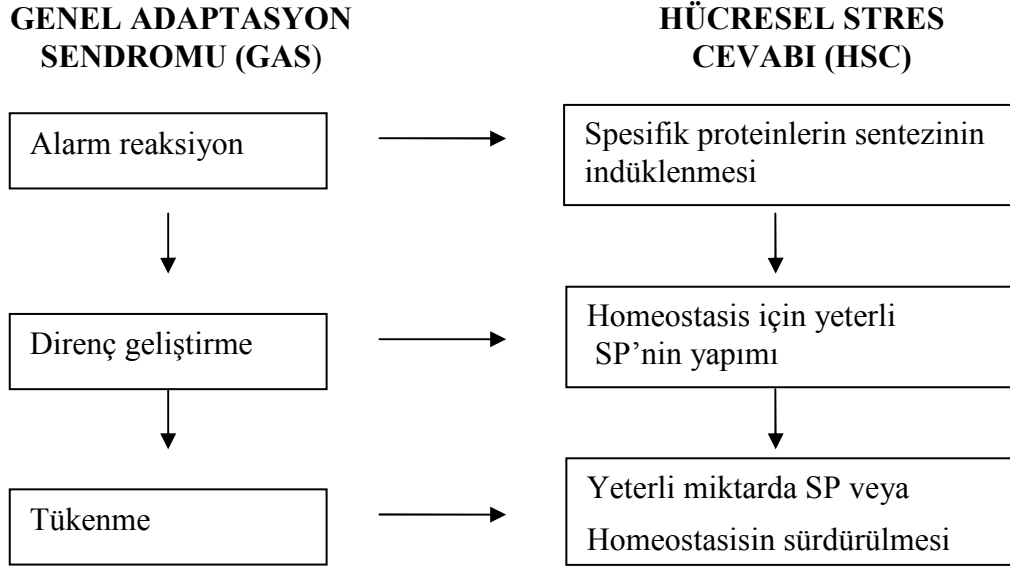
aktivitelerde değil herhangi bir cerrahi müdahale, iskemi reperfüzyon vb. gibi farklı nedenlere bağlı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bundan dolayı, kas hasarının önlenmesinde hasar oluşumunda rol oynadığı düşünülen mekanizmalara ilişkin yaklaşımlar da kullanılmaktadır. Bu amaçla, farmakolojik ajanlar kalsiyum kanalı antagonistleri, vitamin E, koenzim Q₁₀, östrojen, tamoksifen, kortikosteroidler yaygın olarak kullanılmaktadır. Kalsiyum antagonistlerinin, koşu sonrası hasarı azalttığı bildirilmiştir (4). Vitamin E, CoenzimQ₁₀, östradiol ve tamoksifen membran stabilizatörü olarak rol oynar. Vitamin E yetersizliğinin erkek sıçanlarda hasara yatkınlığı arttırdığı tamoksifenin ise in vitro modelde soleus KK salınımının azalmasına yol açtığı bildirilmiştir (84). Kas hasarının önlenmesinde uygulanan diğer bazı yöntemlerden ağrıyan kasa kesik-kesik hava basıncı uygulaması, soğuk uygulama, masaj ve ultrasonun sınırlı bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (66, 155). Bu uygulamalarda, gecikmeli kas ağrısı üzerindeki azaltıcı etkiden sorumlu olan ana faktörlerden biri, sıcaklık artışı olarak gösterilmiştir (151). Diğer yandan hasardan korunmada nöral, mekanik, hücresel ve diğer farklı adaptasyon (HSP) süreçlerinin rol aldığı tartışılmaktadır.

Son yıllarda sıcak şoku proteinleri (HSP) olarak adlandırılan bir grup proteinin herhangi bir stres anında diğer proteinlere bağlanarak, stresten kaynaklanan protein hasarını önlediği bildirilmiştir (36, 102). En sık uygulanan ve en belirgin HSP artışına rastlanan stres modeli sıcak uygulamasıdır. Bu proteinlerin miktarlarındaki artış sıcak uygulamasını takiben 24. saatte pik değere ulaşmaktadır. Kas hasarının sebepleri arasında, aşırı gerilen sarkomerdeki yapısal proteinlerdeki hasarlar hatta kopmalar olduğu daha önce belirtilmiştir. Bu açıdan bakıldığında, ekzentrik egzersizin getirdiği fizyolojik strese bağlı kas hasarından korunmada HSP'lerin etkin rol oynayabileceği düşünülmektedir. Aşağıda bu proteinlere ilişkin kısa bir literatür özeti verilecektir.

2.2. Strese Karşı Hücresel Cevap

Stres; organizma homeostazisinde (iç denge) bozulmalara neden olan, çevresel veya içsel uyarılarla tetiklenerek bir çok uyum mekanizmanın çalışmasına yol açan faktörlerin genel adıdır. Homeostazisteki bozulmalar hücrede, dokuda, organda, organ sistemlerinde ve tüm organizmada gözlenebilir. Homeostatik bozulmalar hem stresin şiddetine hemde süresine bağlıdır. Organizmada stresle başa çıkabilmek için bir çok farklı uyum mekanizması gelişmiştir. Bu mekanizmalar, hücresel düzeyde, geçici gen ekspresyon değişiklikleri olabildiği gibi, sürekli olumsuz etkilerle başa çıkabilmek için hücre yapısı ve fonksiyonunun değiştirilmesine varan daha kalıcı mekanizmalar olarak ta gelişebilir. Bir çok stressör ilk önce hücresel seviyede etkindir ve başlangıçta hücre homeostazisinde bozulmaya yol açar. Organ veya sistemlerde bu stressörler aynı seviyede etkili olmayabilir. Stres sırasında hücrenin hayati organlarının homeostazisini sürdürme yeteneği azalır. Bununla birlikte hücresel homeostazisteki küçük bozulmalar ve hücresel homeostazisin sürdürülmesi bütün organizmanın çeşitli stres formlarının karşısında direnme yeteneğini arttırmakta veya desteklemektedir (104).

Stresin fizyolojik tanımlaması ilk kez Hans Selye tarafından (1976) yılında yapılmıştır. Selye'ye göre stresin hem yararı hemde zararı vardır. Stresle karşılaşan organizmada 3 basamaklı stres cevabı oluşur. Selye, bu teoriye genel adaptasyon sendrom (GAS) teorisi adını vermiştir. Bu basamaklarda eğer stresle başa çıkabilecek direnç geliştirilemezse tükenme kaçınılmaz olarak karşımıza çıkacaktır (104).



Şekil 2. 3. GAS sendromu ile SP indüklenmesi arasındaki ilişki (104).

2.2.1. Stres proteinleri

Hücrese seviyede, proteinler hücrese homeostazisin sürdürülmesinde önemli rol oynarlar. Herhangi bir proteinin yok olması veya yeni bir polipeptidin sentezlenmesi hücrese homeostaziste bozulmalara sebep olur. Strese maruz bırakılan bütün hücrelerde strese uyumu sağlayan bir grup protein hızla sentezlenmeye başlar ve hücrese konsantrasyonu artar. Bu proteinler stres proteinleri (SP) olarak adlandırılır. Strese karşı oluşan bu biyolojik yanıt hücrese stres cevabı olarak adlandırılır (103). SP'lerin bütün fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte SP'nin atırılması ile birlikte öldürücü stresler karşısında hücrenin dayanma yeteneğinin arttığı bilinmektedir. Organizma bir çok stres faktörü ile karşılaşabilir. Bu bilinen faktörlerin bazıları; reaktif oksijen türlerinin artması, iskemi, anormal proteinlerin oluşması, kalsiyum homeostazisinde bozulma, pH'da değişim ve glikoz azalmasıdır. SP'ler genel olarak ikiye ayrılırlar. Sıcak şoku proteinleri HSP'ler ve ikinci grup glikoz düzenleyici proteinler olan GRP'ler dir.

Stres proteinleri içinde son derece spesifik bir protein grubu olan sıcak şoku proteinlerinin hücresel yerleşimi düzenlenmesi ve fonksiyonu yoğun olarak çalışılmıştır. HSP'ler bakteriler ve maya hücresinden insana kadar bütün organizmalarda bulunan ubiquitous proteinlerdir. Bu proteinler hem prokaryotik hem ökaryotik hücrelerde bulunur ve yüksek koruyuculuk özelliklerinden dolayı temel hücresel süreçlerde önemli rol oynar (86). Organizmada sıcak stresi dışında farklı stres faktörleri de HSP'lerin indüklenmesi artmaktadır. Bundan dolayı oluşan yanıt daha genel anlamda “stres yanıtı” ve indüklenen proteinler ise “stres proteinleri” olarak da tanımlanabilmektedir (81, 86, 144). Bu faktörler; ATP düzeyinin azalması, oksidan stres, kalsiyumda artma, pH'ın düşmesi, amino asit ve glikoz analogları, etanol, kokain, çeşitli iyonoforerler, arsenik vb. zehirler, glikoz yoksunluğu gibi faktörlerdir (81, 144). Ancak üzerinde en fazla araştırma yapılan stres tipi, sıcak stresi olduğu için bu proteinler daha çok sıcak şoku proteinleri olarak adlandırılır. Sıcak stresi hücrenin yaşamını devam ettirmesi için gerekli olan optimal sıcaklığın 5-10 °C üstündeki sıcaklığa maruz bırakılması olarak tanımlanır (144). Organizmanın yüksek ısıya maruz bırakılması (Sıcak şoku) sonucunda hücre yaşamının kolaylaşması ve hücrenin programlanmış ölümünün başlaması gibi bazı sinyal mekanizmalarının tetiklendiği gözlenmektedir. Eğer bu mekanizmalardan yaşamsal sinyal mekanizması ölüm sinyal mekanizmasına galip gelirse, hücrenin sıcak şokuna maruz bırakılması sıcak şokuna ve diğer streslere karşı hücrenin yaşam toleransını arttırmaktadır (60). HSP'lerin sistemik ve hücresel stresin arttığı koşullarda, aynı zamanda da normal fizyolojik koşullarda güçlü hücre koruyucu etkilerinin olduğu ve bir çok düzenleyici mekanizmada rol oynadığı bilinmektedir. Bundan dolayı HSP'lerle ilgili çalışmalar çok geniş bir çerçeveye yayılmıştır.

2.2.2. Sıcak şoku proteinleri

Sıcak şoku, intrasellüler proteinlerde yoğun denatürasyon ve agregasyona neden olur. Bu yüzden ilk çalışmalar sıcak şokuna maruz kalınca hücre ölümüne yol açan labil kritik proteinlere odaklanmıştır. Bu proteinler nükleer matriksin ve sitoskeletonunun önemli komponentleri olan büyük proteinlerdir ve kolayca

denatüre ve agrege olabilmektedirler. Fakat hücre ölümü ile bu proteinlerin hasarı arasında doğrudan ilişki kurulamamıştır (60).

Sıcak stresi yanıtı ilk kez Ritossa (1962) tarafından *Drosophila Busckii* larvalarında rapor edilmiştir. Yüksek ısıya (sıcak şoku) maruz bırakılan *Drosophila* larvalarının salya bezi hücrelerinden izole edilen kromozomlarda genişleme (puffing) gözlenmiştir. Kromozomlardaki bu genişlemenin transkripsiyonel aktivite bölgelerinin belirleyicisi olduğu ve sıcak şokunun bir grup proteinin sentezinde mRNA artışına yol açtığı bildirilmiştir. Daha sonra, Tissieres ve diğ. (1974) tarafından sığağa maruz bırakılan *Drosophila* salya bezlerinde yeni sentezlenen bir çok HSP proteini ve HSP sentezini kontrol eden gen tanımlanmıştır. Bu çalışmalarda ilk stres kaynağı “sıcak şoku” olduğu için sentezlenen proteinler “sıcak şoku proteinleri” olarak isimlendirilmiştir (182). Daha sonra diğer streslerin de sıcak şoku proteinlerinin sentezlenmesini arttırdığı gözlemlenmiş olması sonucunda bu proteinler “stres proteinleri” olarak tanımlanmıştır. Zamanla stres proteinlerinde farklı şekilde düzenlenen iki ayrı tip stres geni bulunduğu ve stres proteinlerinin de kendi aralarında en az iki spesifik gruba ayrıldığı görülmüştür. Bunlar Sıcak şoku proteinleri (HSP) ve glikoz tarafından düzenlenen proteinler (GRP)’dir. HSP sentezinin sıcak şoku dışında diğer stres durumlarında da uyarıldığı, GRP’lerin ise glikoz yetersizliği, anoksia, kalsiyum iyonoforleri ve glikoz analogları ile indüklenirken sıcak stresinden etkilenmedikleri bildirilmiştir (60). Hatta stres proteinleri ile ilgili çalışmalarda sadece stres durumunda değil normal koşullarda da hücrede bulunduğu, hücre proteinlerinin % 5’ini oluşturduğu ve birçok hücre fonksiyonda rol oynadığı görülmüştür (49). Bundan dolayı stres proteinlerine “moleküler şaperon” adı verilmiştir. HSP ve GRP’lerin bir çoğu organizmada moleküler şaperon olarak görev yapar (101).

2.2.3. Sıcak şoku proteinlerinin sentezlenmesi

Hücrede strese karşı HSP sentezlenmesi son derece süratli ve fazladır. Hatta total hücre proteinlerinin % 20’ sinden fazlasını oluşturabilir (101).

Sıcak şoku genleri, sıcak şoku transkripsiyon faktörü (HSF) tarafından düzenlenir. Stresiz koşullarında HSF hücrede monomer halinde bulunur ve DNA'ya bağlanma yetisine sahip değildir. Stresle birlikte HSF oligomer formuna dönüşür ve DNA'ya bağlanabilme kapasitesi kazanır. HSP genlerinin promotor bölgesinde sıcak şoku elemanı (HSE) denilen bir bölge mevcuttur. Oligomer formuna geçen HSF, promotor bölgedeki HSE'ye bağlanır. Bunun sonucunda HSP'leri kodlayan genlerin transkripsiyonlarında artış meydana gelir. Sıcak şokunu takiben çok kısa bir sürede HSF-HSE bağlanması gözlenir ve bu bağlanma HSP transkripsiyonu ile orantılıdır. Sıcak şoku diğer stresler sonrasında, hücre içerisinde degrade proteinlerin miktarı artar ve HSP72 ile bağlanma açısından, bozulmuş proteinler ile HSF arasında bir yarış başlar. Bunun sonucunda HSP72 HSF'den ayrılarak bozulmuş proteinlere bağlanması sonucunda, HSF serbest kalır. HSF oligomerizasyonu, HSF-DNA bağlantısına ve HSP72 mRNA ve HSP72 proteininin sentezinin artmasına yol açar (102).

2.2.4. HSP'lerin sınıflandırılması

HSP'ler, moleküler ağırlıklarına göre 8 kDa ile 110 kDa arasında değişirler ve büyüklüklerine göre 5 ana grupta toplanırlar.

Küçük HSP ailesi (8-32 kDa);

50-60 kDa HSP ailesi;

70 kDa HSP ailesi;

90 kDa ailesi; ve

100 kDa ve üstü HSP ailesidir (182).

Farklı kDa HSP aileleri hücrede sitoplazma, mitokondri, endoplazmik retikulum ve çekirdek gibi farklı bölgelerinde yerleşik olarak bulunurken, aynı zamanda bu ailelerin herbirinin hücrede farklı işlevleri vardır. Ancak memelilerde en fazla çalışılan sıcak şoku proteinleri 60, 70, 90 ve 110 kDa moleküler ağırlığa sahip olanlarıdır (86). Bunun yanında özellikle son yıllarda küçük HSP proteinlerinin hücresel korumadaki rolü ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada HSP70 incelenmiştir.

Küçük sıcak şoku proteinleri stres koşullarında indüklenen ve dokuya spesifik ekspresyon gösteren bir yapı sergilerler (53, 101). Küçük HSP ekspresyonu memeli hücrelerinden daha fazla bitki ve drosophila hücrelerinde gözlemlenir (182). Bu protein ailesinin tamamı dokuz proteinden oluşur. En küçük HSP üyesi ubiquitin ~8 kDa moleküler ağırlığında bir proteindir. İnsan iskelet kasında eksprese edilmiştir (104). Ubiquitin kromatin yapısında ve proteinlerin yıkımında rol oynayan yüksek içerikli (cocerved) bir proteindir. Hücre içi proteinleri yıkıma uğramadan önce ubiquitin tarafından kovalent modifikasyona uğrarlar (104). Stresten sonra ubiquitin seviyesindeki artma strese bağlı oluşan denatüre proteinlerin hedefini bulmasını ve uzaklaştırılmasını kolaylaştırır. Ubiquitin ile birleşmiş olan proteinler yıkım için işaretlenmiş olarak nonlizozomal yollarla hücreden uzaklaştırılırlar (182).

HSP20 (HSP 20 yada p20), sıçan ve insan iskelet kasından izole edilmiştir. Kasta total hücresel proteinlerin % 1.3'üne ulaşabilir. HSP20'nin ekspresyonunun kas kasılmasıyla, özelliklede yavaş kasılan kasla ilişkili olduğu gösterilmiştir (70). Amino asit dizilişi HSP27 ve α B-crystallin ile büyük benzerlik göstermektedir (182). HSP20'nin biyolojik fonksiyonları tam olarak açık bir şekilde ortaya konulamamıştır.

İskelet kasında diğer önemli küçük HSP ise α -crystallindir, α A-crystallin ve α B-crystallin olmak üzere iki farklı tipi vardır. α A-B-crystallinlerin ikisinde aynı geni taşımalarına rağmen buldukları dokular farklıdır. α A-crystallin özellikle lenste bulunurken, α B-crystallin bir çok farklı dokuda bulunur ve stres ile indüklenebilir. α B-crystallin 22-kDa moleküler ağırlığa sahip olup, kalp ve tip I iskelet kası gibi yüksek düzeyde mitokondri içeren dokularda ve beyin ve dalak dokularında yer alır (76). α B-crystallin moleküler şaperon olarak hizmet ederken aynı zamanda stres sonucu denaturasyona uğramış olan proteinlerin agregasyonunu önler. Stresin ortadan kalkmasıyla birlikte de, bu proteinlerin hücre içi katlanmış yapısına geri dönmelerini sağladığı bildirilmiştir (182).

HSP27, insan iskelet kaslarında ve farelerde (analoğu HSP 25) ekspresse edildiği çalışmalarda gösterilmiş olup kanser hücreleri de dahil olmak üzere tüm insan hücrelerinde bulunmaktadır. Kadın üreme sisteminin östrojen hedefli organlarında HSP27 miktarı fazladır (76). Hücrede nukleus ve sitoplazmada lokalize olmuştur, ancak hücredeki lokalizasyonu, hücrenin karşılaştığı stresin tipi ve şiddetine göre ve hücrenin fizyolojik koşullarına göre değişiklik gösterir. Stresiz koşullar altında sitozolde yerleşmiştir ve stres sırasında nukleusun içine lokalize olurlar. Bu proteinler normal hücrelerde relatif olarak düşük ekspresse edilirken stresten sonra hücrede indüklenmesi 15-20 kat artar (120). HSP27'nin en büyük fonksiyonu mikrofilamentlerin stabilizasyonu ve sitokin sinyal transdüksiyonudur. HSP25 veya HSP28 olarak da tanımlanmış olup hücre içi miktarının hücrenin büyüme ve gelişmesi tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir (182).

40-50-60 kDa Sıcak Şoku Proteinleri

HSP40'ın fonksiyonu tam olarak açıklanmamakla birlikte HSP70 ile yardımcı-şaperon olarak çalışmaktadır. Aynı zamanda DnaJ ailesi olarak ta adlandırılan 100'den fazla üyesi bulunan bir grup sıcak şoku proteindir (53). HSP50 ve HSP60 ailesi üyeleri yeni sentezlenen mitokondrial proteinlerin doğru katlanmalarına yardımcı olduklarından dolayı moleküler şaperon olarak adlandırılırlar (53, 101). Her iki proteinin lokalizasyonu mitokondri (86) olmakla birlikte HSP60 sitoplazmada prekürsör olarak sentezlenir ve mitokondriye yerleşerek olgun formuna mitokondride ulaşır. HSP60 proteinlerin katlanmasını ve toplanmasını kolaylaştırır ve stres anında mitokondride önceden var olan proteinlerin stabilizasyonunu sağlar. Bunun yanında denatüre olmuş proteinlerin agregasyonunu önlerler ve proapoptotik işleve sahiptirler (101). GRP75 gibi HSP60'ta kasta mitokondriyal içerik oranı ile orantılı bir şekilde bulunur. İskelet kasında dayanıklılık antrenmanı sonrasında mitokondriyal enzim aktiviteleri ile ilişkili olarak HSP60 ve GRP75'te artışlar bildirilmiştir (111).

70 kDa Sıcak Şoku Proteinleri

Hücresel stresle en fazla indüklenen ve üzerinde en fazla çalışma yapılan HSP70 ailesidir. Tüm organizmada yer almakla birlikte, hücrede farklı

lokalizasyonlara sahiptirler. Bütün HSP 70 ailesi üyeleri hem ATP'ye hem de polipeptidlere bağlanma yeteneğine sahiptir. N-terminal domain ATP'ye bağlanmasından sorumlu iken C-terminal domain polipeptidlere bağlanmasından sorumludur (103). Hücrede protein katlanmasında ve diğer hücresel fonksiyonlarda rol alırlar. Memelilerde 70 kDa sıcak şoku protein ailesinin 4 farklı izoformu bulunmaktadır. Bu proteinler HSP72, HSP 73, HSP75 ve HSP78'dir (86, 182). HSP75 ve HSP78 glikoz düzenleyici proteinler (GRP75, GRP78) olarak adlandırılırlar. Çünkü bu proteinler sadece sıcak stresi ile değil, glikoz azalması ve kalsiyum influksu durumunda indüklenen proteinlerdir (101, 103). GRP 78 sarkoplazmik ve endoplazmik retikulumda yerleşmiştir ve proteinlerin katlanmasında rol oynarlar. GRP75 mitokondriye özel bir proteindir. Prekürsör proteinlerin mitokondri membranına yerleşmesinde ve mitokondri içerisinde sabitlenmesinde görev alır.

HSP73 olarak ta bilinen HSC70 hücrede stressiz koşullarda sitoplazmada yerleşik olarak bulunurken stres anında hücrenin nükleusuna ve nukleolusuna doğru göç ederler. HSP73'ün stresle birlikte indüklenmesi çok düşük miktardadır. HSP73 hücrede denatüre olan ya da yeni oluşan pre-ribozomal peptidlere bağlanarak uygun formlarının korunmasını sağlar. HSP73 yokluğunda ribozom translokasyonu azaldığı için protein sentezi uzar (101). HSP73'ün tersine HSP72, stressiz koşullarda hücre lokalizasyonu çok düşüktür, stres koşullarında ise üretimi hızla artar. HSP72 indüksiyonu organizmada daha sonra karşılaşılan hipoksi, iskemi, asidoz, enerji yoksunluğu gibi çeşitli streslere karşı direnci artırmaktadır. Stres altındaki bir hücrede HSP72 esas koruyucu rolü üstlenen sıcak şoku proteindir. Stres koşullarında hücrenin sitoplazmasında hızla sentezlenir ve nukleolusa göç ederek buradaki protein ve diğer yapılara bağlanırlar. Stres, hücre içi proteinlerin yıkılımına yol açtığı için artan HSP72'nin proteinlere bağlanarak onların yıkılımını önlediği, renatürasyonunu sağladığı, veya tümüyle yıkıma uğramış proteinlerin bir an önce hücreden uzaklaştırılmasında görev aldığı bilinmektedir (49).

Sitozolik HSP70 formu çok sayıda yeni oluşan proteinle kompleks oluşturarak protein olgunlaşmasının ilk basamaklarını kolaylaştırır. HSP'ler hücre

içerisinde henüz üretilmiş olan yeni proteinlere eşlik ederek onların proteazlar aracılığı ile yok edilmelerini önlerler (12). Böyle bir etkileşim geçici görünmektedir. Çünkü yeni sentezlenen protein-HSP70 kompleksinin ömrü 15 –30 dakikadır. Bu etkileşimde özellikle ribozomal senteze giren proteinler hedef proteinlerdir (12). HSP70'in tüm bu görevlerinin sonucunda normal koşullarda veya stres koşullarında anormal yapıda protein oluşumu önlenmekte ve proteinlerin hücre içindeki gerçek lokalizasyonlarına güvenli bir şekilde ulaşmaları sağlanmaktadır (49).

90-100 kDa Sıcak Şoku Proteinleri

HSP90 ailesi HSP90 α , HSP90 β ve GRP94 olmak üzere farklı izoformlara sahiptir. Bakterilerden insanlara kadar bütün organizmalarda yaygın olarak bulunurlar ve hücrede daha çok sitoplazma, nukleus ve endoplazmik retikuluma lokalize bir şekilde bulunurlar. HSP90 kısmen katlanmış olan proteinlere bağlanarak agregasyonlarını önler ve diğer proteinlerle (tirozin kinaz ve steroid hormon gibi) spesifik kompleksler oluşturarak bağlandıkları proteinlerin fonksiyonlarını düzenlerler (182). HSP90'in en önemli özelliklerinden biri östrojen, progesteron, glukokortikoid ve androjen gibi steroid hormon reseptörlerine bağlanarak reseptörlerin düzenlenmesinde rol almasıdır. Hormonun yokluğunda reseptöre bağlanarak inaktif formda kalmasını sağlar. Hormonun varlığında ise reseptör HSP90 kompleksi ayrılarak reseptörün DNA bağlamasına izin verir (101).

HSP100 ve HSP110, hücrede sitoplazma, nukleus ve ve nukleolusta yerleşmiştir (182). Normal memeli hücre yapısında düşük miktarlarda bulunurlar ve sıcak şoku ile indüklenebilme, polipeptid ve ATP bağlama özellikleri bulunmaktadır (53, 101). Bu HSP ailesi organizmanın aşırı stresler karşısında hayatta kalmasına yardım eder (53). Proteoliz dahil olmak üzere çok farklı fonksiyonlarda yer alırlar. Hücre içerisindeki biyokimyasal rolleri net olarak bilinmemekle beraber yapısal benzerlikleri, diğer sıcak şoku proteinlerine benzer işlevler üstlendiklerini düşündürmektedir.

Tablo 2.2. Memelilerde HSP ailesinin hücresel lokasyonu ve fonksiyonları (86).

HSP Ailesi	Hücresel Lokasyon	Fonksiyonları
HSP 27(sHSP)	Sitozol, nükleus	Mikroflament stabillizasyonu, antiapoptetik
HSP 60	Mitokondri	Proteinlerin dönüşümü, agrege ve denat. önlemek, Proapoptetik
HSP 70 ailesi		Antiapoptetik
HSP72 (hsp 70)	Sitozol, nükleus	Protein katlanması, cytoprotection
HSP73 (hsc70)	Sitozol, nükleus	Moleküler şaperon
HSP75 (mhsp70)	Mitokondri	Moleküler şaperon
HSP78 (GRP 78)	ER	Cytoprotection, Moleküler şaperon
HSP90	Sitozol,ER, nükleus	Steroid hor. reseptör düzenlenmesi, protein translokasyonu
HSP110/104	Sitozol	Protein katlanması

ER; endoplazmik retikulum. sHSP; küçük HSP

2.2.5. HSP indüklenmesine neden olan faktörler

Egzersiz kasta birçok hücresel sinyal mekanizmasının aktif veya inaktif hale gelmesine neden olur. Egzersiz sırasında, vücut sıcaklığının artması, pH'ın düşmesi, Ca^{+2} konsantrasyonunun artması, hipoksi gibi fizyokimyasal değişimler, SP arttıran ve HSF'leri aktive eden stresörlerle benzerdir (15). Tek bir seanslık tükenme egzersizinin ratlarda HSP72 ve HSP90 düzeyini arttırdığı bulunmuştur (102). Egzersizde ısının artmasından kaynaklanan proteinlerin kısmi denatürasyonu, mitokondrial “*uncoupling*” nedeniyle reaktif oksijen türlerinin oluşması, membran geçirgenliğindeki değişimler, intrasellüler kalsiyumda artış, epinefrin ve norepinefrin salınımının artması yine egzersize bağlı HSP artışını uyaran faktörlerdir. Son olarak egzersize bağlı kas gerilmesi (101) ya da inflamasyona ve sitokinlerin salgılanmasına neden olan kas hasarı HSP üretimini arttıran bir faktördür (163). Salo ve diğ. (149) sıçanlarda tüketici egzersizin mRNA akümülyasyonunu arttırdığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada egzersiz kaynaklı hiperterminin mitokondrial *uncaupling*'e neden olduğu ve süperoksit (O_2^-) üretimini arttırdığı bildirilmiştir. O_2^- ve arkasından H_2O_2 'nin artması HSP72 ve diğer SP ekspresyonunu uyaran bir mekanizma olabilir.

İnsanlarda ise tek bir seans uygulanan ekzentrik egzersizden 48 saat sonra alınan kas biyopsilerinde HSC/HSP ve HSP27'nin arttığı gösterilmiştir (163). Bunun yanında konsantrik tüketici bisiklet egzersizi sırasında dahi HSP72 mRNA'sının akut olarak attığı gösterilmiştir (45). Bu çalışmalar bu açıdan bakıldığında egzersiz sırasında ve takiben hücresel homeostazisin sürdürülmesi veya tekrar kazanılmasında stres cevabı çok önemli olabilir.

Tablo 2.3. HSP indüklenmesine neden olan faktörler (86).

Egzersiz ve kasılma kaynaklı stres

Serbest kalsiyum birikimi
Elektro-mekanik çiftlenme
İntermediet filamentlerde stress

Enerji metabolizması

Glikojen azalması
ATP azalması
Laktat birikimi
Asidozis
Oksidatif serbest radikaller

Metabolik ve stres ilişkili araçlar

Hormonlar: epinefrin, norepinefrin, kortizol
Sitokinler: IL-6, TNF-a

Perfüzyon ve oksijen alımı

Sistemik hipoksemi
Egzersize bağlı hipoperfüzyon
İskemi

Hipertermi

2.3. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Serbest radikal (SR), dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan bir atom veya moleküldür. Moleküler oksijen, iki eksene paralel eşleşmemiş elektron içerir. Bu yüzden bir radikaldir ve aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağıdır. Bazı reaktif metabolitler redüksiyondan kurtulurken, biyolojik yapıları zarar görür ve reaktif oksijen türleri (ROT) oluşur. Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olarak süperoksit ($O^{\cdot-}$) radikali açığa çıkar. Bu radikalden spontan olarak veya enzimatik dismutasyon ile ikinci bir ara ürün olan hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. Özellikle mitokondri içinde ise diğer radikal, hidroksil radikali (OH^{\cdot}) açığa çıkar. Proteinler,

sitozolik moleküller, hücre zarı ve DNA gibi organizmanın farklı yapılarına zarar verdiklerinden dolayı kas yorgunluğunda, bir çok hastalıkta ve yaşlanmada oksidanların rolü olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında bazı metabolik fonksiyonlar ve immün sistem üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinmektedir (93).

2.3.1. Kas hasarında oksidatif stresin rolü

İlk kez 1982 yılında Davies tarafından egzersize bağlı olarak serbest radikallerin arttığı gösterilmiştir (93). Bu tarihten sonra egzersizin oksidatif stres üzerinde etkisi cazip bir çalışma konusu olmuştur (64). Bu çalışmaların çoğunda koşu, yüzme ve bisiklet gibi aerobik egzersiz protokolleri kullanılmıştır (1, 139, 173). Bunun sebebi aerobik egzersizler sırasında artan O₂ kullanımının SR oluşumunu arttırdığı yönünde bulgulardır. Ancak >% 50 VO₂ egzersiz şiddetlerinde SR üretiminin artmaması sonucunda SR üretiminin egzersizin türünden çok şiddetinden etkilendiğini düşündürmüştür (139). VO₂ ile SR üretimi arasında yüksek ilişki gözlenen çalışmaların yanında SR üretimi ile egzersiz şiddetinin ilişkisi olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (9). Bu çelişkili sonuçlar antioksidan beslenme durumuna bağlanmıştır. Bununla birlikte SR üretiminin sadece aerobik değil anaerobik egzersizler yolu ile de artacağı gösterilmiştir (52). Anaerobik egzersizlerde SR oluşumu aerobik egzersizlerde olduğu gibi elektron birikimi, Ksantin oksidaz üretimi, iskemi reperfüzyon ve fagositik aktiviteler sonucunda oluşabilir. Bunun yanında supramaksimal egzersizler sonrası artan laktik asit, asidozis, katekolaminler ve egzersiz sonrası inflamasyonun, SR oluşumunu tetikleyen diğer faktörler olabileceği belirtilmektedir (65, 78).

Son yıllarda ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarında oksidatif stres ve reaktif oksijen türlerinin etkisi bir çok araştırmada çalışılmıştır ve bu araştırmalarda oksidatif stres indikatörleri ile kas hasar indikatörleri arasında ilişki olduğu ortaya konmuştur (93, 185). Bununla birlikte böyle bir ilişkinin olmadığını belirten çalışmada vardır (64). Araştırmalarda farklı sonuçlar gözlenmesinin nedeni kas hasarı ile ilgili çalışmalarda ekzentrik, oksidatif stres çalışmalarında ise daha çok konsantrik kasılmaların egzersiz modeli olarak kullanılması olabilir. Ekzentrik egzersizin oksidatif stres üzerindeki etkisini mitokondrial fonksiyon bozukluğu

ve/veya oksijen transportunu baskılayarak yaptığı yönünde görüşler mevcuttur. Ekzentrik egzersizin kas fibrilleri üzerine yaptığı yapısal değişikliklerin, sağlam hücrede dahi oksidatif fonksiyonlar üzerinde potansiyel bir kısıtlayıcı etki yaratarak, mitokondrial fonksiyonların yeterli seviyede sürdürülmesini engelleyebileceği düşünülmektedir (175). Ekzentrik egzersiz sonrası ödem veya artmış kas içi basıncının, lokal kan akımını kısıtlaması oksijenin diffüzyon mesafesini artırır. Bu durum oksijenin transportunu veya elde edilebilirliğini azaltarak oksidatif fonksiyonları kısıtlar (170).

2.4. Ekzentrik Egzersiz ve Trombosit Agregasyonu

Akut ve kronik egzersiz programlarının oksidatif strese ve oksidan/antioksidan dengesinde değişikliğe yol açarak trombosit fonksiyonlarını etkilemesi muhtemeldir. Egzersiz sonrası trombosit agregasyonunun arttığı bir çok araştırmada gösterilmiştir (43, 50, 51, 79, 121, 177). Bu çalışmalarda, egzersize bağlı olarak trombosit yanıtlarında meydana gelen değişimin artan serbest radikaller nedeniyle oksidatif olarak modifiye olmuş LDL ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Çalışmalarda, akut şiddetli egzersizin okside-LDL nin trombositlerde nitrik oksit (NO) sentaz aktivitesi ve L-arginin alımını bozarak NO yapımını azalttığı, membran reseptörlerine tutunup membran akışkanlığını ve buna bağlı iyon homeostazisini değiştirdiği, Tromboksan A₂ (TxA₂) üretimini artırdığı, ayrıca endotelden NO salımını engelleyerek trombosit aktivasyonunu artırdığını ileri sürmüşlerdir (171). Buna karşın orta şiddetli egzersizin oksidatif stresi uyarmada yetersiz kaldığı, böylece kanda LDL oksidatif modifikasyona uğramamakta ve trombosit içi Larginin/ NO yolu etkilenmemektedir. Buna ek olarak akut egzersizde trombosit aktivasyonundaki artışa total antioksidan kapasitede azalmanın eşlik ettiğini göstermişlerdir (50, 171). Ancak ekzentrik egzersizin trombosit agregasyonu üzerinde etkisi gösteren çok az çalışma mevcuttur (116). Oksidatif parametrelerle ilişkisi göz önüne alınırsa ekzentrik egzersiz sonrası trombosit agregasyonunun belirlenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

2.5. Kas Hasarından Korunmada Sıcak Stresinin Rolü

Küçük HSP'ler koruma mekanizmasında nasıl rol aldığı tam olarak bilinmemekle birlikte denatüre proteinlere bağlanarak proteinler arasındaki zararlı etkileşimi önler ve bu proteinlerin tekrar dönüşümü veya degradasyonu sırasında rehberlik eder (83). Yapısal elementler ve glutasyon sistem yolu ile rol alırlar. Egzersiz küçük HSP'lerin artmasına neden olur. Mekanik veya oksidatif stres egzersize bağlı HSP atışında potansiyel kaynaktır. Bu artışın mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İskelet kasında *hindlimb* yüksüzleştirilmesi sonucunda α B-crystallinin azaldığı ve pasif gerdirme ile düzeldiği gözlenmiştir. Bu durum mekanik stresin küçük HSP'lerin ekspresyonunu etkilediğini göstermektedir (10). Küçük HSP'ler iskelet kasında egzersize bağlı koruma rolünü aşırı stres durumunda Z diski yakınlarında lokasyonunu arttırarak gerçekleştirir. Hem HSP27 hem de α B-crystallin aktine bağlanarak cytochalasin kaynaklı depolimerizasyona karşı aktini stabilize ettiği ve HSP27'nin aktin filamentindeki ısıya bağlı bozulmaları azalttığı gösterilmiştir. Bunun yanında bu çalışmada incelenen HSP70'in indüklenen formu HSP72'nin hücrel koruma mekanizması sıcak toleransı üzerinden gerçekleşmektedir. Sıcak toleransı; ölümcül olmayan sıcak stresi uygulanması sonucunda artan HSP72'nin daha sonra karşılaşılan ölümcül bir sıcak stresine ve başka bir strese karşı hücreyi korumasıdır. Sıcak stresi ile arttırılan HSP72'nin stresten sonraki sürede seviyesinin tekrar başlangıç düzeyine gerilediği ve sıcak toleransının da ortadan kalktığı gösterilen çalışmalarda, HSP72'nin sıcak toleransı ile doğrudan ilişkisi olduğu vurgulanmıştır. Hatta bazı çalışmalarda (5) SP ve sıcak toleransı arasındaki ilişki gösterilememesine rağmen, hücrel korumada sıcak tolerans mekanizmasının etkili olduğu genel kanıdır. Sıcak stresi ile arttırılan HSP72'nin daha sonra karşılaşılan farklı streslere karşı hücreyi koruduğu, keza farklı stresler yolu ile arttırılan HSP72'nin de daha sonra karşılaşılan sıcak stresine karşı hücreyi koruduğu bilinmektedir. Bu durum karşı tolerans olarak tanımlanmaktadır.

Sonuç olarak başta sıcak stresi olmak üzere çeşitli tip stresler aracılığı ile hücrede miktarları artan bu proteinlerin daha sonra şiddetli ve ölümcül bir stresle karşılaşan aynı hücre grubunda önemli ölçüde koruyucu rol oynadığı, gerek hücre

kültürü çalışmalarında ve gerekse kalpte iskemi-reperfüzyon hasarı gibi çeşitli hasar protokollerinde gösterilmiştir (38, 39).

Dışarıdan uygulanan sıcak stresinin lökositlerde HSP70 miktarlarının ciddi olarak arttığı, pilot kabininde 1 saat süreyle 50 derecelik bir sıcaklığa maruz kalan pilotlarda Kumar ve diğ. (90), hemde sıcak banyosu ile vücut sıcaklığının 39 dereceye çıkarıldığı çalışmada ohler ve diğ.(138) tarafından gösterilmiştir. Bütün bu nedenlerle, sauna uygulamasını takiben HSP70 miktarında bir artış oluşması gelmesi beklenmektedir. Sauna sıcak stresi yolu ile arttırılan HSP'nin kros tolerans mekanizması yoluyla, oluşacak olası bir hasara karşı kas dokusunu koruması beklenmektedir. Bu nedenle sauna uygulamasını takiben 24. saatte yapılacak olan ekzentrik egzersiz sonrası, kas dokusunda artmış olan HSP70'in kas hasarını önlemesi veya şiddetini azaltması beklenmektedir. Koruyuculuk özelliği en iyi bilinen ve hayvan ve insan deneylerinde kas dokusu, ayrıca insan deneylerinde lökositlerde artışı gösterilmiş olan HSP70 bu çalışmada incelenecektir.

Bu nedenle bu tez çalışmasında öncelikle sauna uygulamasının, plazma HSP70' üzerine etkisi, aynı zamanda HSP70'in ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarının önlenmesinde veya şiddetinin azaltılmasında etkisinin olup olmadığı hipotezi test edilecektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Ana düşünce olarak sauna uygulamasının sıcak stresi proteinlerini artırarak ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarını önleyeceği veya azaltacağı hipotezini test etmek amacıyla gerçekleştirilen bu doktora çalışması için Hacettepe Üniversitesi İnsan ve İlaç Çalışmaları Etik kurulundan (Tarih:06.04.2006 Karar no:HEK 05/106) izin alınmıştır. Çalışmada deneklere uygulanacak olan ekzentrik egzersizin şiddeti ile sauna uygulamasındaki süre ve sıcaklığı belirleyebilmek için 2 adet ön çalışma (ÖNÇ1 ve ÖNÇ2) gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yöntemi aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

3.1. Ön Çalışmalar

Tez çalışmasında deneklere uygulanacak olan ekzentrik egzersizin şiddeti ve sauna uygulamasındaki süre ve sıcaklığı belirleyebilmek için gerçekleştirilen 2 adet ön çalışmanın yöntemleri aşağıda sunulmuştur.

Ön çalışma 1 (ÖNÇ1)

Bu ön çalışmanın amacı sauna uygulamasındaki süre ve sıcaklığı belirleyebilmektir. Bu nedenle 1 sağlıklı erkek (yaş: 34 yıl, boy:180 cm vücut ağırlığı: 80 kg) denek çalışmaya alınmıştır. Sauna uygulamasının rektal vücut sıcaklığı üzerine etkisi phisitemp termometre kullanılarak ölçülmüş olup, sauna protokolü 80 °C derece sıcaklık ve % 50 nem oranında, 10 dakika aralıklı olarak 2 x 15 dk uygulanmıştır. Rektal ısının ilk 15 dakikalık uygulama sonrasında 0.9 °C arttığı, ikinci 15 dakikalık sürenin sonunda ise rektal sıcaklığın başlangıç değerine göre 1.8 °C lik bir artış gösterdiği saptanmıştır. Bu ön çalışmaya ilişkin elde edilen veriler ayrıntılı olarak bulgular bölümünde verilmiştir (Bkz. tablo 4.1). Bu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda saunada kalma süresi her seans için 5 dk uzatılarak tez çalışmasındaki sauna süresi 2x20 dk ve sauna sıcaklığı ise 85 °C olarak düzenlenmiştir.

Ön çalışma 2 (ÖNÇ2)

Bu ön çalışmadaki esas amaç ekzentrik egzersiz şiddetinin belirlenmesidir. Bu nedenle 11 sağlıklı erkek (yaş: 21.45 ± 0.93 yıl, boy: 178.52 ± 5.14 cm, vücut ağırlığı: 78.40 ± 7.85 kg) denek çalışmaya alınmıştır. Bu ön çalışmada 60 derece/sn açısal hızda, diz eklemi 180 derece tam ekstansiyondan 90 derece fleksiyona gelecek şekilde 90 derecelik hareket genişliğinde 6 set 8 tekrarlı maksimal ekzentrik egzersiz protokolü uygulanmıştır. Bu egzersiz protokolünün kas hasarına etkisi izometrik kuvvet, enzim ve trombosit agregasyon parametrelerine bakılarak değerlendirilmiştir.

İzometrik kuvvet ölçümleri: Ekstensör ve fleksör izometrik kuvvet ölçümleri 90 derecelik diz açısında, egzersiz öncesi ve takip eden 2, 3, 5 ve 7. günlerde tekrarlanmıştır.

Biyokimyasal parametreler: Kreatin kinaz (KK), laktat dehidrogenaz (LDH), aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzimleri egzersiz öncesinde, egzersizden hemen sonra ve egzersizi takip eden 2, 3, 5 ve 7. günlerde trombosit agregasyonu ise egzersiz öncesi ve egzersizden hemen sonra alınan kan örneklerinden belirlenmiştir.

Bu ön çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda (Bkz. Tablo 4.2, 4.3, 4.4, Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4) egzersiz protokolünün 8 set 10 tekrarlı maksimal ekzentrik egzersiz olarak uygulanmasına ve ölçüm aralıklarının sıklaştırılmasına karar verilmiştir.

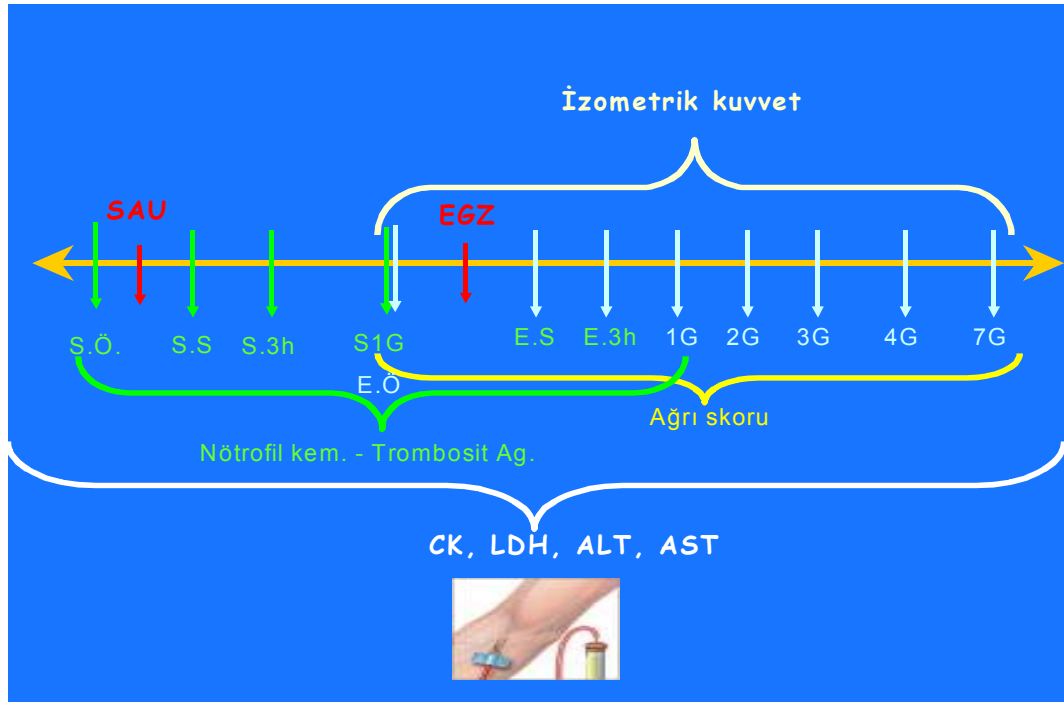
3.2. Denekler

Doktora tez çalışmasına 22 erkek denek gönüllü olarak katılmıştır. Deneklerde 6 ay içinde hiç bir kuvvet egzersizine katılmamış, son iki haftada herhangi bir ilaç almamış olma ve sigara kullanmama koşulu aranmıştır. Rastgele yöntemle kontrol (KONT, n= 12) ve sauna (SAU, n= 10) olmak üzere iki gruptan birisine atanan deneklere ait tanımlayıcı bilgiler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Deneklerin yaş, vücut ağırlığı, boy değerlerinin ortalama ve standart sapması (Ort ± Ss)

	KONT (n= 12)	SAU (n= 10)
Yaş (yıl)	23.00 ± 2.21	24.90 ± 1.91
Vücut ağırlığı (kg)	77.63 ± 8.96	76.59 ± 8.74
Boy (cm)	176.39 ± 4.17	174.20 ± 4.95

Bu tez çalışmasında toplam çalışma süresi SAU grubunda sekiz KONT grubunda yedi gündür. Her iki grupta yapılan ölçümler, ölçüm sırası ve aralıkları aşağıdaki deney dizaynında (şekil 3.1) ayrıntılı olarak görülmektedir.



Şekil 3.1. Deney dizaynı

3.3. Sıcak Stres Protokolü

Sıcak stres protokolü 85 °C sıcaklık ve % 50 nem oranında saunada gerçekleştirilmiştir. Denekler 10 dakika aralıklı olmak üzere 2 x 20 dakika sıcak stresine maruz bırakılmışlardır. Su kaybını önlemek için sauna uygulaması

öncesinde, sauna seansları arasında ve sonrasında tartılan deneklere, sauna öncesinde 250 ml, her 20 dakikalık uygulamanın hemen sonrasında ise kaybettikleri vücut ağırlıklarının % 10 fazlası kadar su içirilerek deneklerin dehidrate olmaları önlenmiştir.

3.4. Egzersiz Protokolü ve Kuvvet Ölçümü

Isınma

Denekler ekzentrik egzersize başlamadan ve daha sonraki izometrik kas kuvvet ölçümlerinden önce bisiklet ergometresinde (Monark 834 E) herhangi bir direnç uygulanmaksızın 50 devir sayısında 5 dakika süre ile ısındırılmıştır.

Ekzentrik egzersiz protokolü

Denekler, izokinetik dinamometreyi tanıyabilmeleri ve ekzentrik egzersiz ile kas kuvveti ölçüm protokollerini öğrenebilmeleri için ekzentrik egzersiz uygulamasından bir hafta önce laboratuvara davet edilerek egzersiz ve kuvvet ölçüm protokollerini izokinetik dinamometrede ciddi bir kuvvet uygulamadan gözden geçirmeleri sağlanmıştır. Ekzentrik egzersiz ve izometrik kas kuvveti ölçümlerinde izokinetik dinamometre (Şekil 3.1. Cybex-Norm, CSMI, U.S.A) kullanılmıştır. Maksimal ekzentrik egzersiz protokolü, 60 derece/sn açısal hızda, diz eklemi 180 derece tam ekstansiyondan 90 derece fleksiyona gelecek şekilde 90 derecelik hareket genişliğinde 8 set 10 tekrar ve setler arası 1 dk dinlenme verilerek gerçekleştirilmiştir. Kısaca, deneklerden yerçekimi yönünde ilerleyen kuvvet koluna maksimal derecede karşı koymaları istenmiş olup yalnızca ekzentrik olarak egzersiz yapmaları sağlanmıştır.

Ekzentrik egzersizin 8 set 10 tekrarlı maksimal ekzentrik egzersiz protokolü şeklinde uygulanmasının nedeni set sayısı farklı olmakla birlikte (6x10) aynı kas grubunda, aynı açısal hızda ve aynı hareket genişliğinde yapılan egzersiz protokolü ile belirli ölçülerde kas hasarının oluşturulduğunun gösterilmiş olmasıdır (Paschalis ve diğ., (140).

İzometrik kuvvet ölçümleri

Ekzentrik egzersizlerin oluşturduğu kas hasarının fizyolojik göstergelerinden birisi olan kas kuvvetinde azalmanın olup olmadığını saptamak için deneklerin izometrik kuvvetleri egzersiz öncesi ve takip eden 3. saat, 1., 2., 3., 4., ve 7. günlerde değerlendirilmiştir. Ölçümler deneklerin fiziksel özelliklerine uygun mekanik ayarlar yapıldıktan sonra quadriceps kaslarının hem ekstensör hem de fleksör izometrik kuvvetlerinin 90 derecelik diz ekleme açısında gerçekleştirilmiştir. Her ölçüm için 2 denemeyi takiben 3 ölçüm yapılmış olup en iyi derece alınmıştır. Bulgular en iyi iki derece arasında % 5 den daha fazla fark olmadığını göstermiştir.



Şekil 3.2. İzometrik dinamometre

3.5. Biyokimyasal Ölçümler

Kan örnekleri

Deneklerin egzersiz öncesinde, egzersizden hemen sonra ve egzersizi takip eden 3. saat, 1., 2., 3., 4. ve 7. günlerde antekübital venlerinden 10 ml venöz kan örneği alınarak 5'er mililitrelik EDTA'lı ve % 3.8 Na sitrat içeren silikonize iki ayrı tüpe konulmuştur. Alınan kan örnekleri dakikada 2500 devirde 10 dakika santrifüj edilerek ayrılan plazmalar çalışılincaya kadar -20 derecede saklanmıştır.

Enzim ölçümleri

Kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz ve alanin aminotransferaz enzim aktiviteleri Spektrofotometrede (Spectro Max pro 4.6.), kit (Spinreact, S.A) prosedürlerine uygun olarak 340 nm dalga boyunda kinetik olarak okutuldu. Elde edilen değerler kit prosedüründe belirtildiği gibi her enzim için belli sabit sayılarla çarpılarak enzim aktiviteleri (U/L) belirlenmiştir.

HSP70 ölçümü

Plazma HSP70 konsantrasyonu enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile ELİSA Kiti (Stress-Gen Biotechnologies, [EKS-700], Victoria, British Columbia, Canada) kullanılarak ölçüldü. Örnekler ve standartlar (0,78-50 nm/ml) daha önceden antikor ile kaplı plakalara yerleştirildikten sonra 2 saat inkübe edildi. Daha sonra biotinle konjüge ikincil antikorla inkübe eklenen örneklerin konjüge avidin–peroxidazın TMB substratı ile verdiği reaksiyondaki absorbanları 450 ve 540 nm’de ölçüldü. Ölçülen absorban değerleri, standartlardan elde edilen absorban değerlerinin oluşturduğu doğruya uydurularak serum HSP70 konsantrasyonları belirlendi.

Trombosit agregasyonu

Trombosit agregasyonu Agregometre cihazında (Whole-Blood Aggro-Meter Model 560 Chrono-Log Corporation, PA, USA) impedans tekniği ile bakıldı. Teknik, örneğe daldırılan iki platin elektrot arasında oluşan direncim ölçümüne dayanır. Önce iki elektrot üstüne trombositler bir tabaka halinde yapışır. Agonist madde ile aktive olan trombositler elektrodlar üzerinde tabakalaşarak kümelenmekte ve artan trombosit sayısı elektrodlar arasında direnci artırmaktadır (21).

900 µl trombositten zengin plazma ya da trombosit süspansiyonu 1000 µl’lik silikonize küvetlere alındı. Örnekler konulan teflon kaplı karıştırıcılar dakikada 1000 devir hızıyla döndürüldü. Cihaz, grafik üzerinde 8 cm 20 ohm’luk dirence

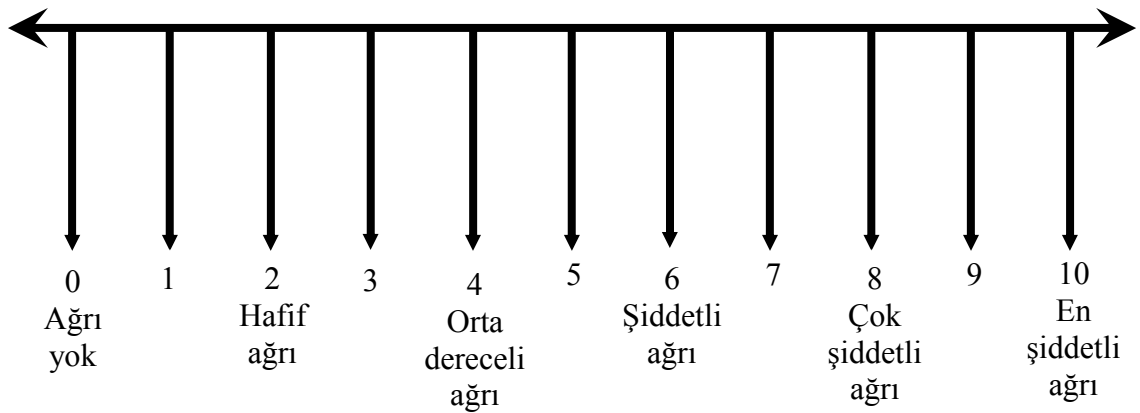
karşılık gelecek şekilde ayarlandı. Trombosit agregasyonu ADP (10 µmol), kollajen (2 µg/ml) Chronolog Reagent ile indüklendi. Elde edilen eğri üzerinde maksimum ve minimum dirençler arasındaki fark ohm cinsinden agregasyonun şiddeti olarak değerlendirilmiştir.

Nötrofil kemiluminesansı

Nötrofil serbest radikal üretimi: $5 \times 10^{-7} M$ konsantrasyondaki N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine (fMLP) ile uyarılan nötrofillerde Whole-Blood Aggro-Meter (Model 560WB, Chrono-Log Corporation, PA, USA) kullanılarak, membran bağımlı NADPH oksidaz ve granül kökenli miyeloperoksidaz aktivitesi ile süperoksit anyonunun luminal ile reaksiyonu sonucu oluşan kemiluminesans değerlendirildi. Yüzde 50 sulandırılmış 1000 µl tam kan örnek içine dakikada 400 devir hızında dönen manyetik karıştırıcı eklendi. Örnekler 500µM/ml final konsantrasyonunda kemiluminesan yanıtını amplifiye eden luminol eklendi. Elde edilen eğri üzerinde maksimum sapma kemiluminesansın (cm) şiddeti olarak değerlendirilmiştir (3,13).

3.6. Ağrı Skorlarının Belirlenmesi

Deneklere 0'dan 10'a kadar skorlanan ağrı skalası gösterilerek (0= ağrı yok, 10= çok şiddetli ağrı) kaslarını palpe etmeleri ve hissettikleri ağrıyı 0 ile 10 arasında skorlamaları istenmiştir (25).



Şekil 3.3. Görsel ağrı skalası

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada tek denek kullanılmasından dolayı ön çalışma 1'den elde edilen verilere istatistiksel analiz uygulanmamıştır. Ön çalışma 2'den elde edilen veriler tekrarlayan ölçümlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Tez çalışmasında ise deneklerin egzersizden önce, egzersizden hemen sonra ve tekrarlayan ölçümleri arasındaki farklar grup içinde tek yönlü varyans analizi testi ile gruplar arasında ise iki yönlü varyans analizi testi ile SPSS 12.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistiksel farklılığın gösterilmesi için post hoc Bonferroni düzeltmesi kullanılmıştır. Gruplar arası farkın gösterilmesi için bağımsız ölçümlerde parametrik olmayan Mann-Whitney U testi kullanıldı. İlişkili ölçümlerde ön test ve son test analizleri Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ile değerlendirilmiştir. Veriler normal dağılım göstermediklerinden dolayı nonparametrik testler seçilmiştir. $P \leq 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Değerler ortalama (\bar{X}) \pm standart sapma (SD) olarak verilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışma, insanlarda sıcak stresi uygulamasının (SAU), sıcak şoku protein70 (HSP70)'i indükleyerek kas hasarının önlenmesi veya şiddetinin azaltılmasında etkin olup olmadığını belirlemek amacı ile yapılmıştır. Çalışmada deneklere uygulanacak sauna protokolünün süre ve sıcaklığını, aynı zamanda ekzentrik egzersizin şiddetini belirleyebilmek için 2 adet ön çalışma gerçekleştirilmiştir. Aşağıda ön çalışmalara ait bulgular verilmiştir.

4.1. Ön Çalışmalar

Çalışmada sauna sırasında rektal vücut sıcaklığının ölçülmesi ön çalışma 1 (ÖNÇ1) ve ekzentrik egzersiz şiddetinin belirlenmesi ön çalışma 2 (ÖNÇ2) olarak tanımlanmış ve ön çalışmalara ait bulgular aşağıda verilmiştir.

Sauna uygulaması sırasında rektal vücut sıcaklığı (ÖNÇ1)

Sauna uygulamasının rektal vücut sıcaklığına etkisi ön çalışma olarak tek bir denek üzerinde ölçülmüştür (Tablo 4.1). Bu uygulamada denek 85 °C sıcaklık ve % 50 nem oranında 15 dakika süreyle saunada tutulmuş ve 10 dakika için sauna dışına 23 °C sıcaklık ve % 45 nem ortamına alınan denekte rektal sıcaklık ölçülmüştür. 10. dakikanın sonunda denek tekrar saunaya alınarak 15 dakika süreyle saunada tutulmuş ve uygulamayı takiben rektal sıcaklığı yeniden ölçülmüştür. Tablo 4.1'de sauna uygulamasının denegin rektal vücut sıcaklığına etkisi verilmiştir. Buna göre 2x15 dakikalık sauna uygulaması sonunda denekte rektal vücut sıcaklığı başlangıç değerinin 1.8 °C üzerine ulaşmıştır. Ayrıca bu sonuçlar denegin ikinci 15 dakikalık uygulamaya başlarken, uygulama öncesine göre 1 °C daha yüksek rektal vücut sıcaklığına sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. 1. Sauna öncesi, sauna arası ve sonrasında bir denekten elde edilen rektal vücut sıcaklığı değerleri.

	1. seans Önce	1.seans Sonra	2 seans Önce	2.seans Sonra
Rektal vücut sıcaklığı (°C)	36.6	37.5	37.6	38.4

Ekzentrik egzersiz şiddetinin belirlenmesi (ÖNÇ2)

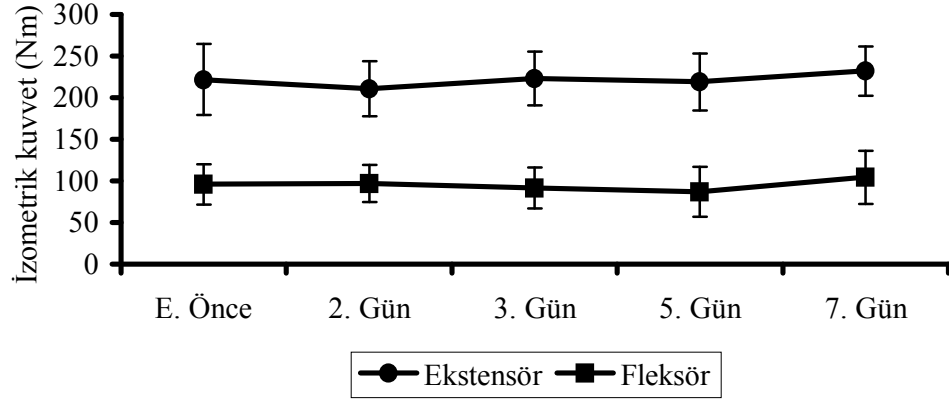
Ekzentrik egzersiz şiddetinin belirlenmesi için 60 derece/sn hızda, diz eklemi 180 derece tam ekstansiyondan 90 derece fleksiyona gelecek şekilde 90 derecelik hareket genişliğinde 6 set 8 tekrarlı maksimal ekzentrik egzersiz protokolüne verilen kuvvet, enzim ve trombosit agregasyon cevapları aşağıdaki tablo ve şekillerde verilmiştir (Bkz. Tablo 4.2, 4.3, 4.4 ve Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4).

ÖNÇ2 grubunda ekstensör ve fleksör kas kuvveti egzersiz öncesi, egzersizi takip eden 2., 3., 5. ve 7. günlerde 90 derecelik diz açısında izometrik olarak ölçülmüştür. Tablo 4.2 ve Şekil 4.1’de izometrik kuvvet değerleri görülmektedir.

Tablo 4.2. ÖNÇ2 grubuna ait egzersiz önce ve tekrarlayan ölçümlerde ekstensör ve fleksör kuvvet (Nm) ortalama (\bar{X}) ve standart sapma (S_s) değerleri

Tork (Nm)	E.Ö.	2. Gün	3. Gün	5. Gün	7. Gün
	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$
Ekstensör	221.82 ± 42.75	210.73 ± 33.31	223.09 ± 32.62	218.91 ± 34.34	232.09 ± 29.53
Fleksör	95.82 ± 24.33	96.82 ± 22.23	91.73 ± 24.80	86.91 ± 30.06	104.45 ± 31.99

Tablo 4.2’de ÖNÇ2 grubuna ait izometrik ekstensör ve fleksör kuvvet değerleri görülmektedir, egzersiz önce ve tekrarlayan ölçümler arasında hem izometrik ekstensör kuvvette [$F_{(4-40)} = 1.93$ p> 0.05], hem de izometrik fleksör kuvvette [$F_{(4-40)} = 1.81$ p> 0.05] fark olmadığı bulunmuştur.



Şekil 4.1. ÖNÇ2 İzometrik kuvvet değişimleri

ÖNÇ2 grubunun egzersiz önce, egzersizden hemen sonra ve egzersizi takip eden 2., 3., 5. ve 7. günlerde KK, LDH, ALT ve AST enzim aktiviteleri aşağıda verilmiştir.

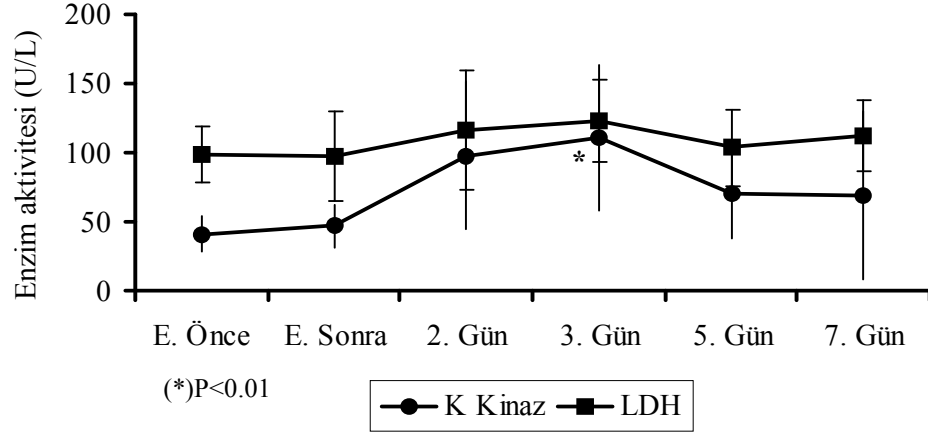
Tablo 4. 3. ÖNÇ2 grubuna ait egzersiz önce ve tekrarlayan ölçümlerde KK, LDH, ALT, AST enzim aktivitesi (U/L) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s) değerleri ve tek yönlü ANOVA sonuçları.

Enzim (U/L)	E.Ö.	E.S.	2. Gün	3. Gün	5. Gün	7. Gün
	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$
KK	40.76 ± 12.91	46.94 ± 15.84	97.33 ± 53.39	110.40 ± 52.82*	69.70 ± 32.09	68.97 ± 61.25
LDH	98.71 ± 20.23	97.72 ± 32.42	116.25 ± 42.68	122.80 ± 30.20	103.96 ± 27.75	112.47 ± 25.47
ALT	4.45 ± 1.77	4.92 ± 1.29	5.20 ± 3.64	4.11 ± 1.24	4.72 ± 2.81	3.96 ± 1.83
AST	6.20 ± 3.86	8.23 ± 3.20	9.02 ± 4.57	7.31 ± 2.99	6.54 ± 2.95	5.83 ± 1.92

*p<0.01 E.Ö.'den farklı

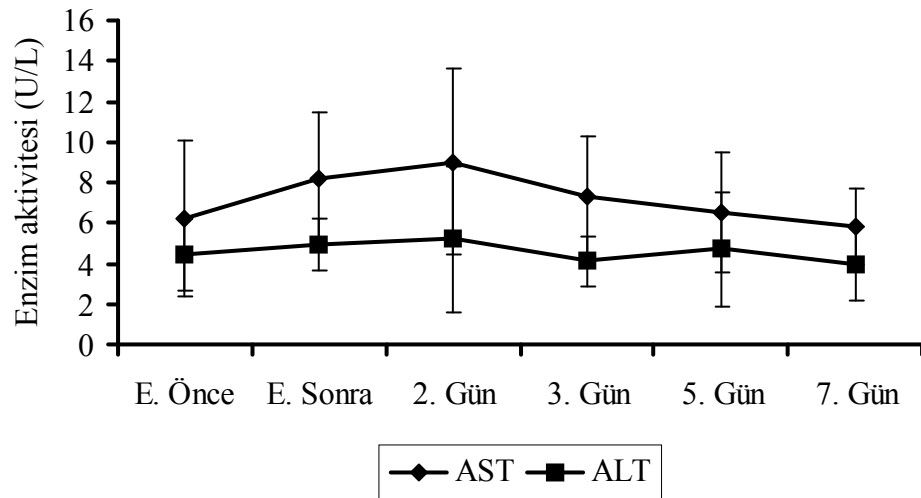
Tablo 4.3'de ÖNÇ2 grubunun KK, LDH, ALT ve AST enzim aktiviteleri incelendiğinde egzersiz öncesi sonrası ve tekrarlayan ölçümler arasında KK enzim aktivitesinde fark bulunurken [$F_{(5-50)} = 5.87, p < 0.01$], diğer enzim aktivitelerinde

herhangi bir değişim bulunmamıştır LDH [$F_{(5-50)} = 1.29, p > 0.05$], ALT [$F_{(5-50)} = 0.78, p > 0.05$], AST [$F_{(5-50)} = 2.13, p > 0.05$].



Şekil 4.2. ÖNÇ2 KK, LDH Enzim aktivitesi

Şekil 4.2’de KK ve LDH enzim aktivitesi görülmektedir. Egzersiz sonrası LDH enziminde herhangi bir değişim gözlenmezken, KK enziminin egzersiz sonrası 2. günden itibaren arttığı, 3. gün KK değerlerinin egzersiz öncesi KK değerlerinden yüksek olduğu, egzersiz sonrası 5. ve 7. günlerde başlangıç seviyelerine döndüğü görülmektedir.



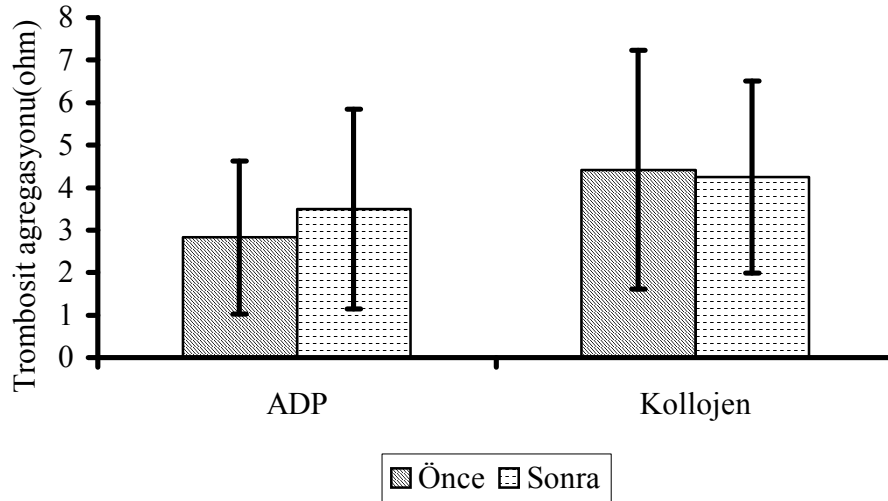
Şekil 4.3. ÖNÇ2 AST, ALT Enzim aktivitesi

Şekil 4.3’de ALT ve AST enzim aktivitelerinin egzersiz sonrası ve takip eden günlerde değişmediği görülmektedir.

Tablo 4.4. ÖNÇ2 grubuna ait egzersiz önce ve egzersiz sonra trombosit ADP ve trombosit Kollajen hızı (ohm) ortalama (\bar{X}), standart sapma (Ss) ve Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek test sonuçları.

Trombosit agregasyonu (ohm)	E.Ö.	E.S.	Z	P
	$\bar{X} \pm Ss$	$\bar{X} \pm Ss$	$\bar{X} \pm Ss$	$\bar{X} \pm Ss$
ADP	2.83 ± 1.80	3.50 ± 2.35	-0.67	0.49
Kollajen	4.42 ± 2.81	4.25 ± 2.26	-0.07	0.93

ÖNÇ2 grubunun egzersiz öncesi ve egzersiz sonrası hem ADP ile indüklenen hem de kollajen ile indüklenen trombosit agregasyon değerleri arasında fark bulunmamıştır; ADP ($Z = -0.67, P > 0.05$) kollajen ($Z = -0.07, P > 0.05$).



Şekil 4.4. Trombosit agregasyonu

Ön çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda sauna ve ekzentrik egzersiz protokolleri saptanmıştır. SAU grubu ekzentrik egzersizden 24 saat önce 10 dakika aralıklarla 2x20 dakika sıcak stresine maruz bırakılarak, egzersiz öncesi HSP70 sıcak

stres proteini düzeylerinin artırılması amaçlanmıştır. Aşağıda sırasıyla sauna uygulamasının vücut ağırlığına ve plazma HSP70 indüklenmesine etkileri verilmiştir.

Sauna Uygulamasının Vücut Ağırlığı'na Etkisi

SAU grubundaki deneklerin vücut ağırlıkları 20 şer dakikalık her iki sauna uygulamasının hemen önce ve sonrasında ölçülmüş olup Tablo 4.5'de deneklerin vücut ağırlıkları verilmektedir. Sauna uygulamasının vücut ağırlığı üzerine etkisi, sauna öncesi, 1. seans sonrası, 2. seans öncesi ve 2. seans sonrasında tek yönlü ANOVA ile değerlendirilmiş olup sauna uygulaması sırasında vücut ağırlıklarında değişim bulunmamıştır (SAUNA=[$F_{(3,27)} = 5.49, p>0.05$).

Tablo 4.5. Deneklerin sauna uygulaması öncesi ve sonrasında vücut ağırlıkları ortalama (X), standart sapma (S_s) ve tek yönlü ANOVA sonuçları.

	1. seans Önce	1. seans Sonra	2. seans Önce	2. seans Sonra	F	P
	$X \pm S_s$	$X \pm S_s$	$X \pm S_s$	$X \pm S_s$		
Vücut ağırlığı (kg)	76.11 \pm 9.02	75.80 \pm 9.13	76.39 \pm 8.91	76.16 \pm 8.95	5.49	p>0.05

4.2. Sauna Uygulamasının Plazma HSP70 Düzeylerine Etkisi

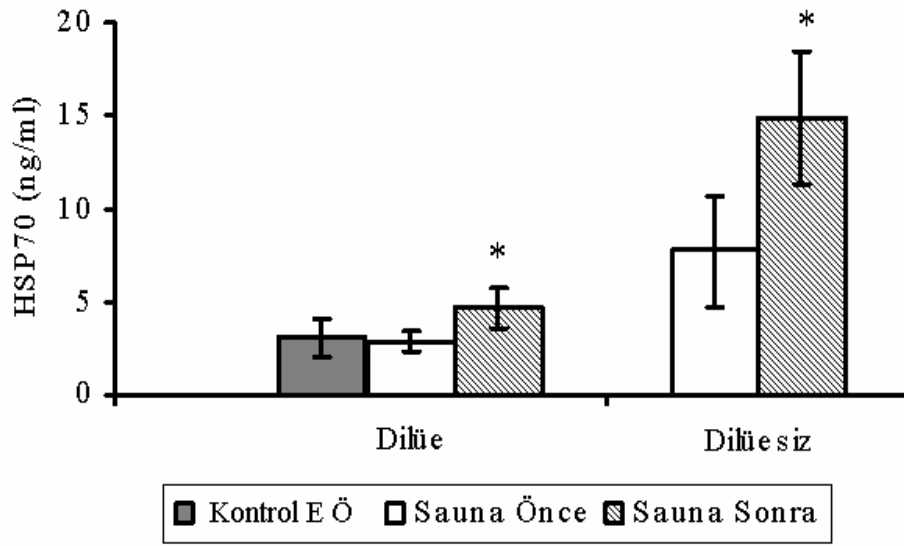
Sauna uygulamasının HSP70 sıcak şoku proteini üzerine etkisini araştırmak için uygulamayı takip eden 24. saatte deneklerden alınan kan örneklerinde HSP70 düzeyleri incelenmiştir. Örneklerde incelemenin 24. saatte yapılmasının nedeni, deneklerin ekzentrik egzersiz protokolünü uygulayacakları anda, HSP70 düzeylerinde artış olup olmadığının belirlenmesidir. Sauna grubunda sauna uygulamasından hemen önce alınan kan örnekleri ile her iki grupta ekzentrik egzersize başlamadan den hemen önce alınan kan örneklerinden (sauna grubunda saunayı takip eden 24. saate karşılık gelmektedir) değerlendirilen plazma HSP70 düzeyleri Tablo 4.6'da ve Şekil 4.5'de görülmektedir. Kullanılan HSP70 ELİSA Kit'inde (Stressgen, EKS-700) önerildiği gibi ölçümler önce 1/5 oranında dilüe edilerek gerçekleştirilmiştir. Buna göre sauna öncesi ve kontrol grubunun egzersiz

öncesi değerleri ilişkisiz ölçümlerde Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmış ve her iki grubun başlangıç HSP70 değerlerinin farklı olmadığı bulunmuştur (U= 57, p>0.05). Sauna grubunda 24. saatte alınan kan örneklerinden yapılan ölçümlerde plazma HSP70 düzeylerinin anlamlı olarak arttığı görülmüştür (Z= -2.49; p<0.05). Daha sonra ölçümler bu kez dilüe edilmeyen serumda kontrol açamlı olarak yeniden çalışılmıştır. Kontrol grubu ve sauna öncesi grubun değerlerinin dilüe örneklerde benzer olması (sırasıyla 2.84 ± 0.54 ve 2.88 ± 1.01 ng/ml) ve kullanılan EKS-700 kitinin sınırlı sayıda ölçüme izin vermesi nedeniyle bu kez sadece sauna grubuna ait deneklerde sauna öncesi ve sonrası plazma örnekleri kullanılmıştır. Dilüe örneklerde olduğu gibi dilüe olmayan örneklerde de sauna uygulamasının plazma HSP70 düzeylerini artırdığı (Z= -2.380, p< 0.05) görülmüştür.

Tablo 4.6. Sauna önce, kontrol önce ve sauna 24 saat sonra HSP70 değerlerinin ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s), Mann-Whitney U ve Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek test sonuçları.

HSP70 (ng/ml)	S. Ö.	24. saat	Z	P
	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$		
Dilüesiz	7.71 ± 3.03	$14.96 \pm 3.56^*$	-2.380	0.017*
Dilüe HSP70	2.84 ± 0.54	$4.69 \pm 1.09^*$	-2.49	0.013*
	S. Ö.	K.Ö.	U	P
Dilüe HSP70	2.84 ± 0.54	2.88 ± 1.01	60.00	1.00

(*) Sauna önceden farklı, S.Ö: sauna önce; S.S:sauna sonra; K.Ö: Kontrol egzersiz önce



Şekil 4.5. Dinlenme ve sıcak stresi sonrası HSP70 değerleri

4.3. Kas Hasarına İlişkin Bulgular

ÖNÇ2 sonrasında KK dışında biyokimyasal parametrelerde değişim gözlenmezken, fonksiyonel parametrelerden izometrik ekstensör kuvvetin egzersiz sonrası 7. günde egzersiz öncesinden yüksek olduğu gözlenmiştir. Buradan hareketle uygulanacak ekzentrik egzersiz tekrar sayısı artırılarak ölçüm aralıkları sıklaştırılmıştır. Uygulanan protokolün kas hasarına neden olup olmadığı kas hasarının fizyolojik göstergelerinden olan kas kuvvetinde azalma, biyokimyasal göstergelerden olan bazı enzim aktivitelerinde artma ve subjektif gösterge olarak kabul edilen ağrı ölçümleri ile belirlenmeye çalışılmıştır. Kas kuvveti, serum enzimleri ve ağrı değişikliklerine ait bulgular ile kas hasarı göstergelerinden inflamatuvar etkiyi gösteren nötrofil kemiluminesansı ve trombosit agregasyon bulguları aşağıda verilmiştir.

Kas kuvvetine ilişkin bulgular

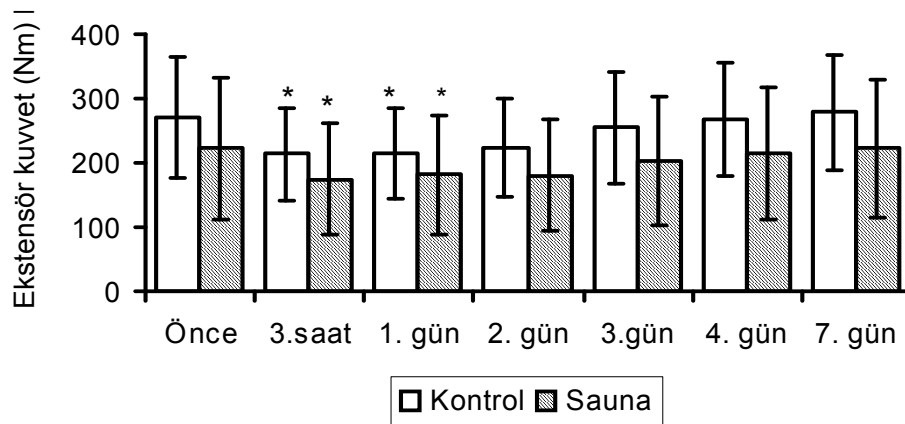
İzometrik ekstensör ve fleksör kas kuvveti egzersiz öncesi, egzersizi takip eden 3. saat, egzersizden sonra sırasıyla 1, 2, 3, 4 ve 7. günlerde 90 derecelik diz açısında KONT ve SAU grubunda ölçülmüştür. İzometrik ekstensör ve fleksör kuvvetteki değişimler Tablo 4.7’de, ayrıca bar grafik olarak da sırasıyla Şekil 4.6 ve 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7. Egzersiz önce, 3 saat sonra ve tekrarlayan ölçümlerde izometrik ekstensör ve fleksör kuvvet (Nm) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s), ANOVA ve Mann-Whitney U testi sonuçları.

Kuvvet Nm	E.Ö	3. Saat	1. Gün	2. Gün	3. Gün	4. Gün	7. Gün
SAU (10)	\bar{X} S_s	\bar{X} S_s	\bar{X} S_s	\bar{X} S_s	\bar{X} S_s	\bar{X} S_s	\bar{X} S_s
Ekstensör	284.80 52.96	225.00* 30.66	226.20* 35.90	236.40 42.86	272.30 48.00	280.00 43.08	288.90 51.05
Fleksör	117.10 30.060	111.00‡ 20.23	100.10 22.52	102.00 26.50	103.10 30.54	111.50 30.24	129.16 31.06
KONT (12)							
Ekstensör	292.83 64.16	216.25* 47.88	223.41* 45.22	253.58 47.49	271.91 63.20	292.16 63.10	321.75 69.08
Fleksör	120.50 28.74	92.75* 21.57	101.75* 26.35	99.33 16.84	113.33 20.95	119.08 31.87	114.40 31.60

(*) Egzersiz önceden farklı, $p < 0.01$; (‡) Diğer gruptan farklı, $p < 0.05$

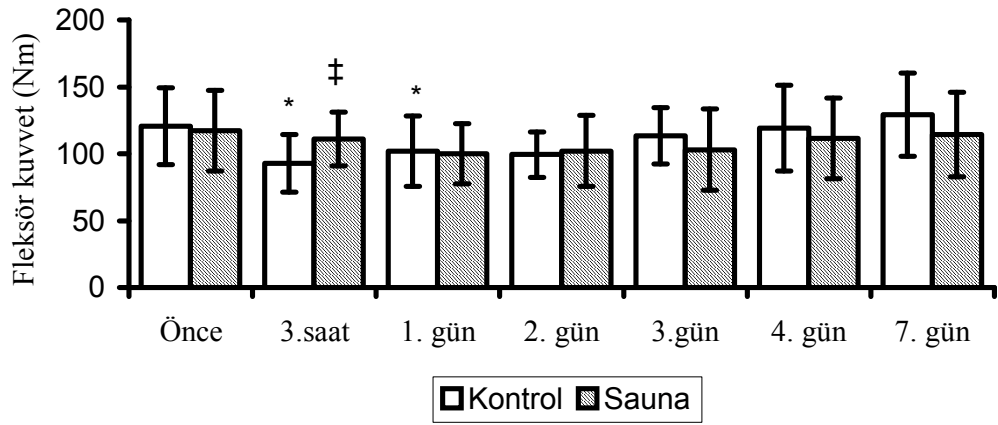
Tablo 4.7’de İzometrik ekstensör ve fleksör kuvvetteki egzersiz sonrası değişim görülmektedir. İzometrik ekstensör kuvvetin her iki grupta da egzersiz sonrası 3. saatte çok keskin bir düşüş gösterdiği, bu düşüşün egzersiz sonrası 2. güne kadar devam ettiği ve daha sonra tekrar kazanılmaya başladığı görülmektedir (SAUNA= $F_{(6-54)} = 19.341$. $p < 0.01$; KONTROL= $F_{(6-66)} = 27.986$. $p < 0.01$). Bunun yanında tekrarlayan ölçümlerde SAUNA ve KONTROL grubu arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($F_{(6-120)} = 1.93$. $p > 0.05$). SAU ve KONT grubundaki ekstensör kuvvet değişimleri benzerdir. SAU ve KONT grubuna ait izometrik ekstensör kuvvet değişimleri Şekil 4.6’da sunulmuştur.



Şekil 4.6. Ekstensör kuvvet

(*) Egzersiz önceden farklı, $p < 0.01$

Tablo 4.7’de egzersiz sonrası ve tekrarlayan ölçümlerde SAU grubunun izometrik fleksör kuvvetinin değişmediği ($[F_{(6-54)}=2.518, p>0.05]$), ancak KONT grubunun egzersiz sonrası fleksör kuvvetlerinde azalma olduğu görülmüştür ($[F_{(6-54)} = 12.088, p< 0.01]$). SAU ve KONT grubunun tekrarlayan ölçümlerinde izometrik fleksör kuvvette iki grup arasında fark bulunmuştur ($[F_{(6-120)} = 3.62, p< 0.05]$). İlişkisiz ölçümlerde Mann-Whitney U testi sonucunda bu farkın sadece egzersiz sonrası 3. saate olduğu görülmüştür. Grup içindeki anlamlı farklılıklar tablo değerlerinin sağ üst köşesinde gösterilmiştir. SAU ve KONT grubuna ait izometrik fleksör kuvvet değişimleri Şekil 4.7’de sunulmuştur.



Şekil 4.7. Fleksör Kuvvet

(*) Egzersiz önceden farklı, $p<0.01$

(‡) Diğer gruptan farklı, $p<0.05$

Serum Enzimlerine İlişkin Bulgular

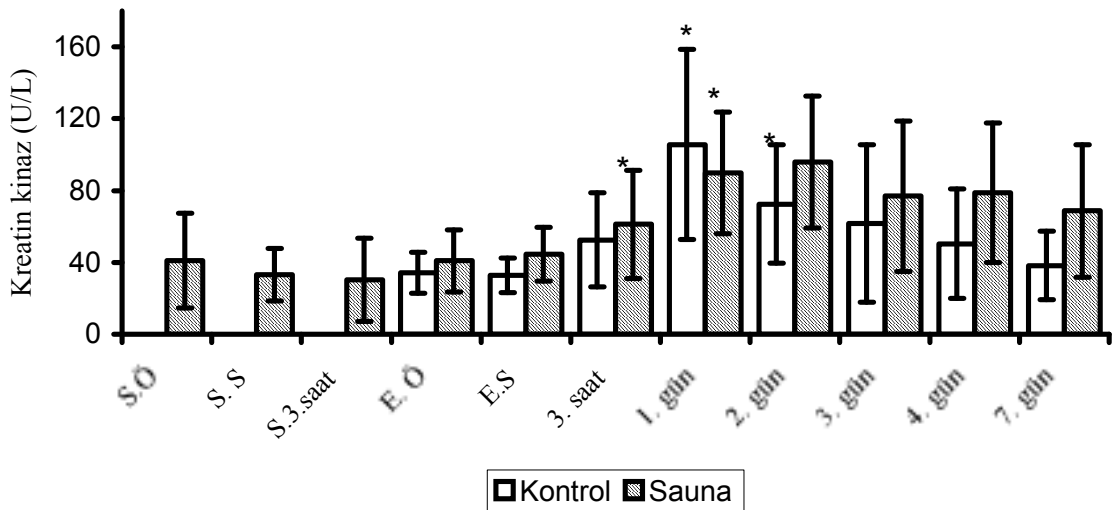
Kas hasarının biyokimyasal belirteçlerinden olan KK, LDH, ALT, AST enzim aktiviteleri sauna ve egzersiz sonrası tekrarlayan ölçümlerde hem gruplar arası hem de grup içi değişimleri aşağıda sırasıyla Tablo 4. 8, 4.9, 4.10 ve 4.11 ile Şekil 4.8, 4.9, 4.10, 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4. 8. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde KK enzim aktivitesi (U/L) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.

KK	S.Ö	S.S	S.3.	E.Ö	E.S	E.S.3.	E.S.1.	E.S.2.	E.S.3	E.S.4.	E.S.7.
U/L			Saat		Saat		Gün	Gün	Gün	Gün	Gün
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s
SAU	41.00	33.04	30.33	40.91	44.55	61.22*	89.79 *	95.79	76.85	78.67	68.62
(10)	26.45	14.62	23.25	17.21	14.87	30.19	33.84	36.75	41.84	38.80	36.87
KONT	-	-	-	34.20	32.72	52.50	105.67*	72.45*	61.60	50.40	38.21
(12)				11.54	9.64	26.17	53.07	33.04	43.76	30.52	19.02

*Egzersiz önceden farklı, $p < 0.01$

Sauna ve egzersiz öncesi sonrası ve tekrarlayan ölçümlerde KK enziminin zamana bağlı olarak her iki grupta arttığı bulunmuştur (SAUNA= $F_{(10,90)} = 7.751$, $p < 0.001$; KONTROL= $F_{(7,77)} = 11.291$, $p < 0.001$). SAU grubunda egzersiz sonrası 2. gün, KONT grubunda ise 1. günlerde KK maksimal değerlere ulaşmıştır. SAU grubu KONT grubuna göre daha yüksek maksimal değerler sergilemesine rağmen SAU ve KONT grubu karşılaştırıldığında tekrarlayan ölçümlerde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır ($F_{(7, 140)} = 1.65$, $p > 0.05$). SAU ve KONT grubuna ait KK değişimleri şekil 4.4'de sunulmuştur.



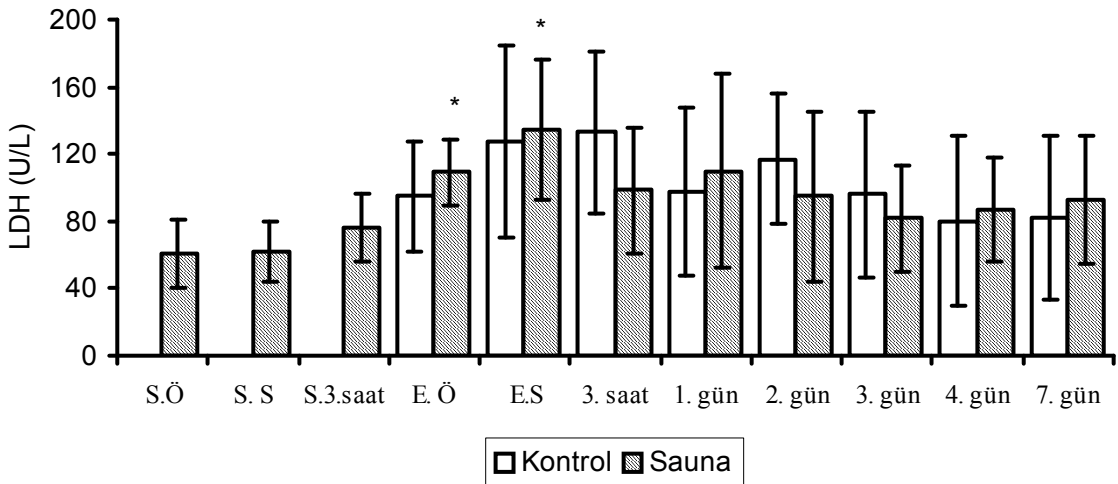
Şekil 4.8. KK enzim aktivitesi

*Egzersiz önceden farklı, $p < 0.01$

Tablo 4.9. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde LDH enzim aktivitesi (U/L) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.

LDH (U/L)	S.Ö	S.S	S.3.	E.Ö	E.S	E.S.3.	E.S.1.	E.S.2.	E.S.3.	E.S.4.	E.S.7.	
	saat			gün								
	\bar{X}	S_s	\bar{X}	S_s	\bar{X}	S_s	\bar{X}	S_s	\bar{X}	S_s	\bar{X}	S_s
SAU	60.40	62.32	76.24	108.97*	134.34*	98.41	110.02	94.70	81.99	87.13	93.20	
(10)	20.29	18.02	20.36	19.48	41.46	37.54	58.13	50.23	31.49	31.06	38.34	
KONT	-	-	-	94.87	127.34	132.75	97.59	116.94	96.34	79.86	82.37	
(12)				32.79	57.56	48.41	50.18	38.77	49.33	50.68	48.98	

Tablo 4.9’da sauna grubunun LDH enziminin SAU sonrası 24. saat (E.Ö) ve egzersiz sonrasında başlangıçtan anlamlı yüksek olduğu görülmektedir (SAU=[$F_{(10,90)} = 4.269$, $p < 0.05$]). Kontrol grubunda ise egzersiz sonrası tekrarlayan ölçümler arasında fark olmadığı gözlenmiştir (KONT=[$F_{(7,77)} = 2.081$, $p > 0.05$]). Bununla birlikte egzersiz sonrası tekrarlayan ölçümlerde gruplar arasında fark bulunmamıştır [$F_{(7,140)} = 0.981$, $p > 0.05$]. SAU ve KONT grubuna ait LDH değişimleri Tablo 4.9’da sunulmuştur.



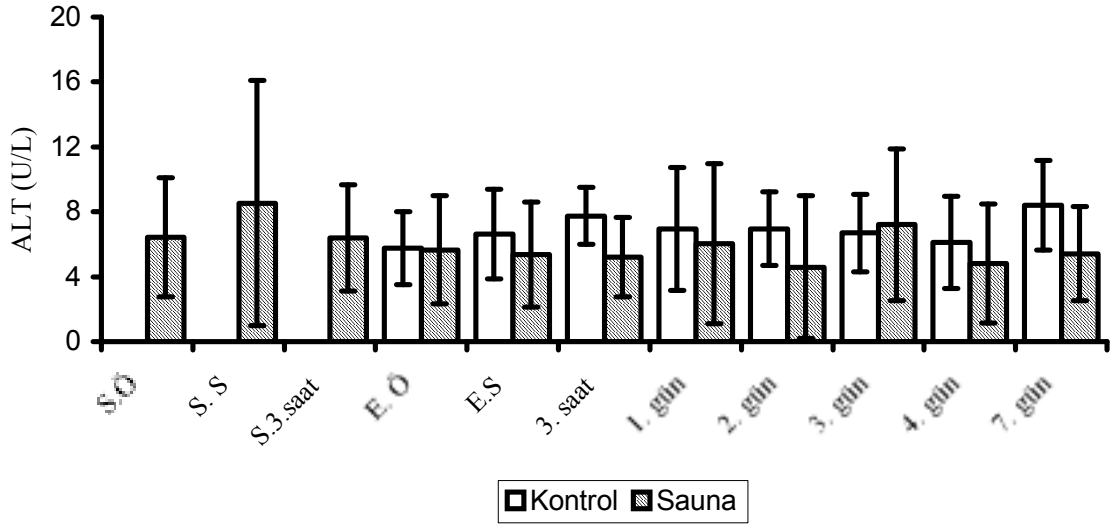
Şekil 4.9. LDH enzim aktivitesi

(*) Sauna önceden farklı, $p < 0.05$

Tablo 4.10. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde ALT enzim aktivitesi (U/L) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.

ALT (U/L)	S.Ö	S.S	S.3.	E.Ö	E.S	E.S.3.	E.S.1.	E.S.2.	E.S.3.	E.S.4.	E.S.7.
			saat			saat		gün	gün	gün	gün
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s
SAU (10)	6.43	8.53	6.38	5.66	5.35	5.19	6.03	4.59	7.20	4.82	5.42
	3.66	7.55	3.28	3.35	3.24	2.44	4.93	4.41	4.69	3.68	2.89
KONT (12)	-	-	-	5.76	6.62	7.74	6.94	6.96	6.70	6.11	8.41
				4.06	3.77	5.46	7.19	4.48	5.82	5.41	6.20

ALT enziminin hem grup içinde hem de gruplar arasında değişim göstermediği gözlenmiştir. ALT grup içi (SAU=[$F_{(10,90)} = 0.972$, $p > 0.05$] ; KONT=[$F_{(7,140)} = 0.556$, $p > 0.05$]). ALT gruplar arası [$F_{(7,140)} = 7,14$, $p > 0.05$]. SAU ve KONT grubuna ait ALT değişimleri Şekil 4.10'da sunulmuştur.

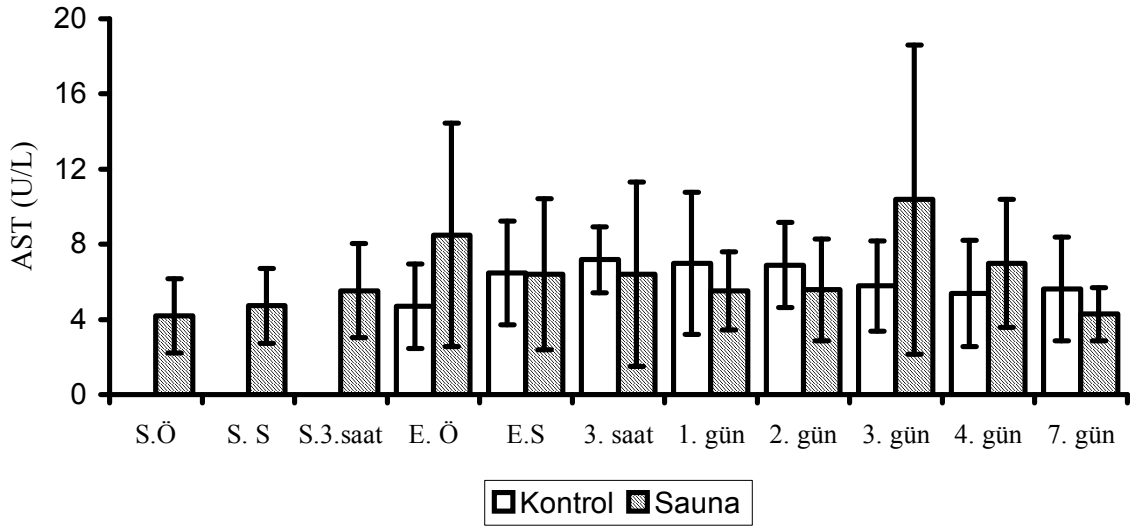


Şekil 4.10. ALT enzim aktivitesi

Tablo 4.11. Sauna ve egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde AST enzim aktivitesi (U/L) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s) ve iki yönlü ANOVA sonuçları.

AST (U/L)	S.Ö	S.S	S.3.	E.Ö	E.S	E.S.3.	E.S.1.	E.S.2.	E.S.3.	E.S.4.	E.S.7.
			saat			saat	gün	gün	gün	gün	gün
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s
SAU (10)	5.08	10.04	5.87	5.08	4.62	5.73	7.48	8.53	6.61	6.62	6.76
	3.00	7.74	3.46	3.14	0.74	1.95	2.05	5.86	3.85	4.25	2.87
KONT (12)	-	-	-	4.70	6.47	7.18	7.00	6.89	5.78	5.39	5.62
				2.25	2.76	1.75	3.78	2.26	2.40	2.83	2.76

AST enzimlerinin hem grup içinde hem de gruplar arasında değişim göstermediği gözlenmiştir. AST grup içi (SAU=[$F_{(10,90)}=1.79, p>0.05$] ; KONT=[$F_{(7,77)}=2.46, p>0.05$]). AST gruplar arası [$F_{(7,140)}=1.37, p>0.05$]. SAU ve KONT grubuna ait AST değişimleri Şekil 4.11’de sunulmuştur.



Şekil 4.11. AST enzim aktivitesi

4.4. Ağrı skorlamasına ilişkin bulgular

Tüm deneklere ekzentrik egzersizden önce, hemen sonra 3. saat, 1.,2.,3.,4. ve 7. gün uygulanan ağrı skoru bulguları tablo 4.12’ ve Şekil 4.12’de verilmiştir.

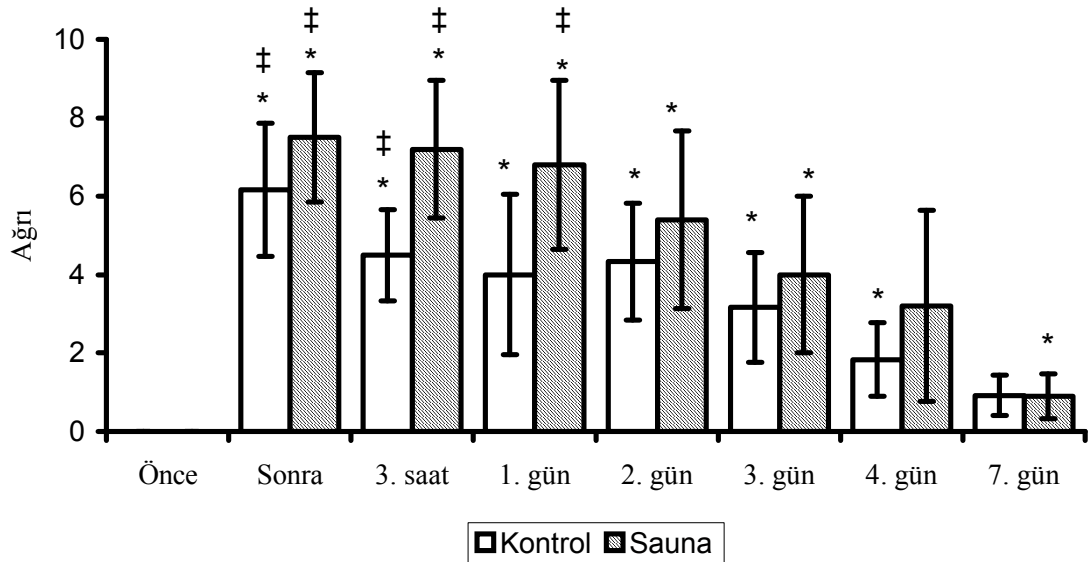
Tablo 4.12. Egzersiz sonrası ağrı skorları ortalama (X), standart sapma (Ss) ve iki yönlü ANOVA sonuçları

Ağrı	E.Ö	E.S	E.S.3.	E.S.1.	E.S.2.	E.S.3.	E.S.4.	E.S.7.
			saat	Gün	gün	gün	gün	gün
		$X \pm Ss$	$X \pm Ss$	$X \pm Ss$	$X \pm Ss$	$X \pm Ss$	$X \pm Ss$	$X \pm Ss$
SAU	0	7.5±1.16 ^{**‡}	7.2 ±1 ^{**}	6.8 ±2.1 ^{**‡}	5.4 ±2.2 [*]	4.0 ± 2 [*]	3.2 ± 2.4	0.9 ± 0.5 [*]
KONT	0	6.1 ±1.6 ^{**‡}	4.5 ±1.1 ^{**}	4.0 ±2.0 ^{**‡}	4.3 ± 1.4 [*]	3.1 ± 1.4 [*]	1.8 ± 0.9 [*]	0.9 ± 0.5

(*) Egzersiz önceden farklı, $p < 0.01$

(‡) Diğer gruptan farklı, $p < 0.05$

SAU ve KONT grubunun egzersiz sonrası ağrı skorlarının hem grup içinde (SAU=[$F_{(7,63)} = 34.83$, $p < 0.01$] ; KONT=[$F_{(7,77)} = 36.20$, $p < 0.01$]), hem de gruplar arasında [$F_{(7,140)} = 3.35$, $p < 0.05$] farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. Ağrı skorları egzersizden hemen sonra her iki grupta artmış ve egzersizin 2. gününe kadar yüksek kalmıştır. Gruplar arasındaki farklılık ilişkisiz ölçümlerde Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir, E.S, ES3.saat, E.S.1.gün ağrı değerlerinde gruplar arasında fark bulunmuştur sırası ile ($Z = -2.61$, $P < 0.01$; $Z = -3.07$, $P < 0.01$; $Z = -2.60$, $P < 0.01$). SAU ve KONT grubuna ait ağrı skorlarına ait değişimler şekil 4.12’de sunulmuştur.



Şekil 4.12. Ağrı skoru

(*) Egzersiz Önceden farklı, $p < 0.01$; (‡) Diğer gruptan farklı, $p < 0.05$

4.5. Nötrofil kemiluminesansı ve trombosit agregasyon bulguları

Kas hasar sürecinde etkin bir rol oynadığı düşünülen inflamasyonun ve dolaylı olarak oksidatif stresin bir belirteci olan nötrofil kemiluminesansına ilişkin bulgular Tablo 4.13 ile Şekil 4.13'de, aynı zamanda inflamasyon sürecinde nötrofille birlikte değişen ADP ve kollajen ile indüklenen trombosit agregasyon şiddeti ölçülmüştür. Nötrofil kemiluminesans ve trombosit agregasyon hızları SAU grubunda sauna önce, sauna sonra, sauna 3. saat, egzersiz önce, egzersiz sonra , egzersiz 3. saat ve egzersiz 24. saatte, KONT grubunda ise egzersiz önce, egzersiz sonra , egzersiz 3. saat ve egzersiz 24. saatte değerlendirilerek bulgular Tablo 4.13, 4.14 ve Şekil 4.13, 4.14, 4.15'de verilmiştir.

Tablo 4.13. Sauna ve egzersizden önce, sonra, 3., ve 24. saatlerde nötrofil kemiluminesans hızı (cm) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s), ANOVA ve Mann-Whitney U testi sonuçları.

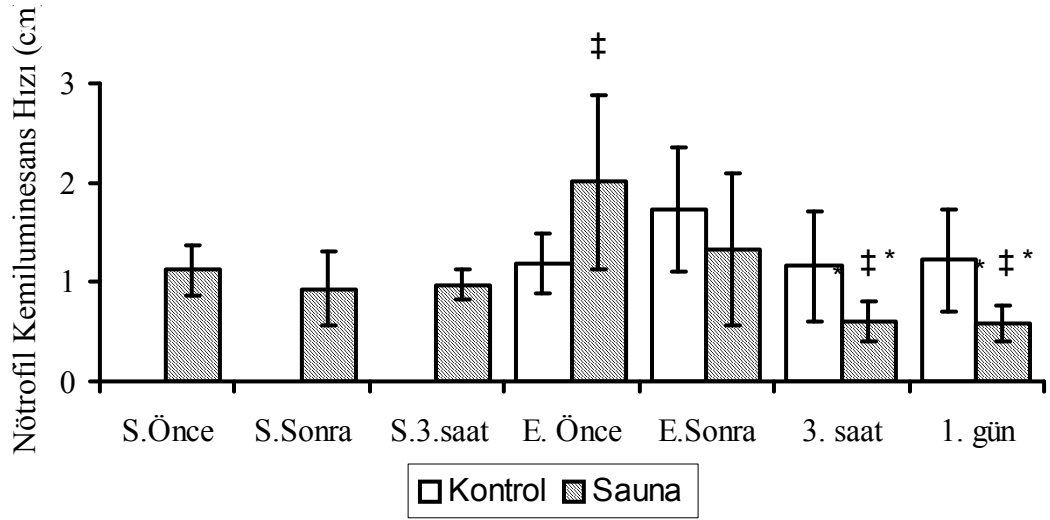
Nötrofil K (cm)	S.Ö	S.S	S.3. Saat	E.Ö	E.S	E..3.Saat	E.1.gün
	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s	S_s
SAU	1.12	0.93	0.97	2.01 ‡	1.32	0.61 *‡	0.60 *‡
	0.25	0.37	0.14	0.87	0.76	0.20	0.17
KON	-	-	-	1.18	1.73	1.15	1.22
				0.30	0.62	0.54	0.51

(*) Egzersiz önceden farklı, $p < 0.01$

(‡) Diğer gruptan farklı, $p < 0.05$

Egzersiz ve sauna önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde nötrofil kemiluminesansı değerleri SAU grubunda zamana bağlı olarak değişim gösterirken [$F_{(6,48)} = 13.10$, $p < 0.01$], KONT grubunda grup içinde değişim bulunmamıştır [$F_{(3,33)} = 3.48$, $p > 0.05$]). Nötrofil kemiluminesansının gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdiği bulunmuştur [$F_{(3,60)} = 10.20$, $p < 0.01$]. Gruplar arasındaki farklılık ilişkisiz ölçümlerde Mann-Whitney U testi ile değerlendirilerek E.Ö, ES3.saat, E.S.24.saat nötrofil değerlerinde gruplar arasında fark bulunmuştur sırası ile ($Z = -1.94$, $P = 0.050$;

Z=-2.881, P<0.01; Z=-3.551, P<0.01). SAU ve KONT grubuna ait Nötrofil kemiluminesans değişimleri Şekil 4.13’de sunulmuştur



Şekil 4.13. Nötrofil kemiluminesansı

(*) Egzersiz önceden farklı

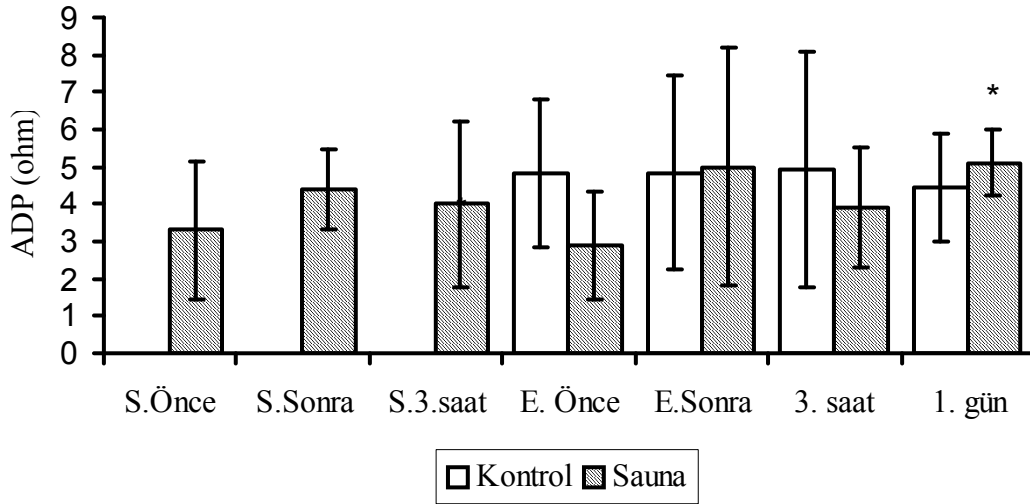
(‡) Diğer gruptan farklı

Tablo 4.14. Sauna ve egzersizden önce, sonra, 3., ve 24. saatlerde ADP ve kollajen ile indüklenen trombosit agregasyon hızı (ohm) ortalama (\bar{X}), standart sapma (S_s) ve ANOVA sonuçları.

	S.Ö	S.S	S.3. Saat	E.Ö	E.S	E..3.Saat	E.1.gün
SAU (10)	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$	$\bar{X} \pm S_s$
ADP	3.30±1.83	4.40±1.08	4.00±2.21	2.90±1.45	5.00±3.20	3.90±1.60	5.10±0.88*
Kollajen	4.80±2.62	6.40±1.35	5.33±2.73	6.20±2.10	5.10±2.28	5.30±3.62	6.10±1.91
KONT (10)							
ADP				4.82 ±1.99	4.83 ±2.59	4.92 ±3.15	4.45 ±1.44
Kollajen				4.55 ±2.73	5.75±3.22	6.33±2.27	5.09±1.81

* Egzersiz önceden farklı, p<0.05

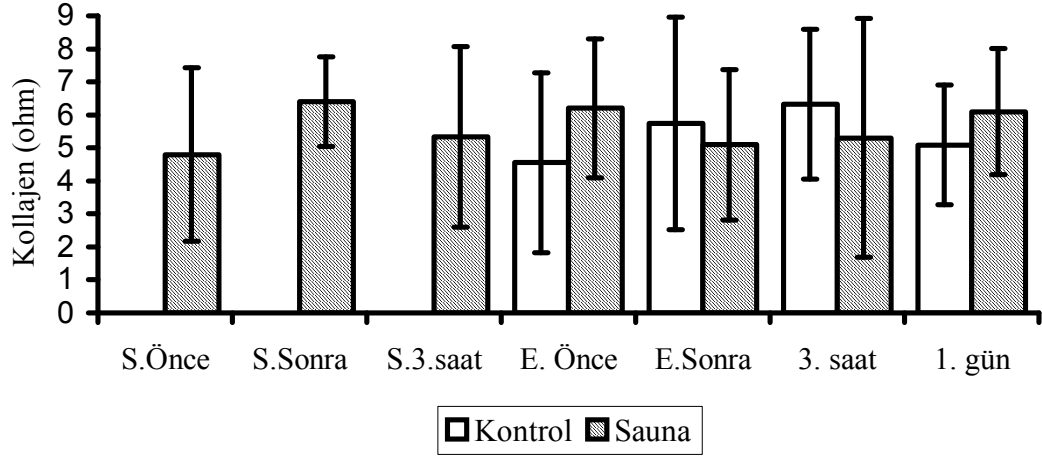
SAU ve KONT grubunun egzersiz ve sauna önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde ADP ile indüklenen trombosit gregasyon değerleri SAU grubunda grup içinde anlamlı değişim göstermiştir [$F_{(6,54)} = 2.64, p < 0.05$]. Sauna sonrası 24. saat (E.Ö) ADP trombosit gregasyon değeri en düşük seviyede ve egzersiz sonrası 7. günden farklı olarak bulunmuştur ($p < 0.05$). KONT grubunun egzersiz önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerdeki ADP trombosit gregasyon değerlerinde grup içinde değişim gözlenmemiştir [$F_{(3,27)} = 0.56, p > 0.05$]. Bunun yanında gruplar arasında [$F_{(3,54)} = 0.382, p > 0.05$] anlamlı farklılık bulunmamıştır. SAU grubu egzersize daha düşük ADP trombosit gregasyon değeri ile başlamıştır.



Şekil 4.14. ADP- Trombosit agregasyonu

(*) E.Ö'den farklı ($P < 0.05$)

Kollajen Trombosit yanıtı iki grupta da hem grup içindeki tekrarlı ölçümlerde (SAU [$F_{(6,30)} = 1.52, p > 0.05$], KONT ([$F_{(3,27)} = 0.505, p > 0.05$]), değişmediği, hem de gruplar arasında fark olmadığı bulunmuştur [$F_{(3,54)} = 1.01, p > 0.05$]. Bu bulgu Trombosit kollajen değişkeninin sauna ve egzersiz protokollerinden etkilenmediğini göstermektedir. Şekil 4.15'de Kollajen ile indüklenen trombosit agregasyon değerleri görülmektedir.



Şekil 4.15. Kollajen-Trombosit agregasyonu

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, sıcak stresi ile artan sıcak şoku proteini HSP70'in, ekzentrik egzersizin neden olduğu kas hasarının önlenmesinde veya şiddetinin azaltılmasında etkin olup olmadığını belirlemek amacı ile yapılmıştır. Bu amaçla SAU uygulamasının HSP70 konsantrasyonuna etkisi SAU öncesi ve SAU 24. saatte değerlendirilmiştir. SAU uygulamasına tabi tutulan ve tutulmayan deneklerde kas hasarının biyokimyasal göstergelerinden olan KK, LDH, AST ve ALT enzim aktivitesi ekzentrik egzersiz sonrası, 3. saat ve takip eden 1., 2., 3., 4. ve 7. günlerde, nötrofil ve trombosit aktivasyonu etkisi egzersiz sonrası, 3. saat ve takip eden 24. saatte, kas hasarının fizyolojik göstergelerinden izometrik kuvvet ekzentrik egzersizi takip eden 3. saat ve 1., 2., 3., 4. ve 7. günlerde, subjektif belirtilerinden ağrı skoru üzerine etkisi ise enzim değerleri ile eş zamanlı olarak değerlendirilmiştir. Ekzentrik egzersiz protokolünün kas hasarı yarattığı, SAU uygulamasının plazma HSP70 değerlerinde artışa neden olduğu görülmüştür. SAU uygulamasının fizyolojik kas hasar belirteçlerinden izometrik ekstensör kuvvet kayıplarını önlemediği, ancak fleksör kuvvetteki azalmayı önlediği, egzersiz sonrası enzim aktivitesine etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Bununla birlikte egzersiz sonrası nötrofil aktivitesini azalttığı, yalnızca ADP ile indüklenen trombosit agregasyonunu egzersiz sonrası 24. saatte arttırdığı ve ağrı algılamasını arttırdığı görülmüştür. Çalışmanın bulguları ayrıntılı olarak aşağıda tartışılmıştır.

DeneySEL Desenin Eleştirisi

Bu çalışmada SAU grubu ekzentrik egzersize sauna uygulamasını takip eden 24. saatte alınmıştır. Bunun gerekçesi, sıcak stresini takiben 24. saatte HSP70 indüklenmesinin plato yapıyor olmasıdır (104).

SAU sırasında olası bir su kaybının egzersiz performansını ve çalışmanın bulgularını etkileyeceği düşünülerek su kaybının önlenmesi için sauna sırasında ve arada deneklere sıvı takviyesi yapılmıştır. SAU uygulaması sırasında ve sonrasında deneklerin vücut ağırlığında herhangi bir değişim gözlenmemesi sıvı takviyesinin yeterli olduğu ve sıvı kaybını önlendiğini işaret etmektedir (Bkz., Tablo 4.1).

Bu çalışmada sıcak stresi oluşturmak için uygulanan saunanın sıcaklık, nem ve süresine bir denekle gerçekleştirilen ön çalışma sonucu elde edilen rektal sıcaklık değerleri ve deneğin sıcak stresine toleransı incelenerek karar verilmiştir. Bu ön çalışmaya göre deneğin rektal vücut ısısı 85 derecelik sıcaklıkta % 50 nemde 15 dk'lık ilk seans sonunda 1 °C, ikinci 15 dk sonunda ise 1.8 °C artmıştır. Pilot kabininde 1 saat süreyle % 30 nem ve 55 derecelik bir sıcaklığa maruz kalan pilotların oral ve deri vücut sıcaklarının ortalama 2.4 derecelik yükselişle birlikte lökositler HSP70 miktarlarının da anlamlı olarak arttığının gösterilmesi (90), doğrudan vücut iç ısısı anlamına gelen rektal sıcaklıktaki 1.8 °C lik artışın HSP70 indüklenmesini arttıracığı kanaatine varmamıza neden olmuştur.

Bu çalışmada SAU uygulamasının kas HSP70 düzeylerini artırması ve bu artışın kas hasarına etkisi araştırılmakla beraber, çalışmada HSP70 düzeyleri plazma örneklerinden incelenmiştir. Egzersizin etkisini inceleyen insan çalışmalarının bir kısmında ve farklı streslerin kasta HSP70 indüklenmesine etkisini araştıran çok sayıda çalışmada aynı şekilde kas örneği yerine plazma örneklerinden HSP70 düzeyleri incelenmiştir (35, 55, 48, 160). Nitekim egzersiz uygulamasının sıçanlarda HSP70 indüklenmesine etkisini tartışan çalışmalarda bu uygulamanın yalnızca iskelet kas dokusunda değil, adrenal, kalp, karaciğer gibi organlarda da arttığı gösterilmiştir (46, 82). Keza sıcak uygulaması iskelet kası yanı sıra, karaciğer, akciğer, kalp kası, adrenal bez, plazma, gibi dokularda HSP70 düzeylerini arttırmaktadır (61, 85, 123). Bu çalışmada HSP70 artışı plazmada gösterilmesine rağmen, yukarıdaki çalışmalardan hareketle, iskelet kası veya diğer dokularda da HSP70 indüklenmesinin artabileceği ve kas hasarı üzerinde koruyucu etkisinin olacağı beklenmektedir.

Çalışmada uygulanan ekzentrik egzersiz protokolünün denekler arasında oluşturabileceği hasarı olabildiğince eş düzeyde tutmak için literatürdeki kas hasar çalışmalarına benzer şekilde egzersiz protokolü izokinetik dinamometrede uygulanmıştır (19, 35, 107, 112, 140, 158). Uygulanan ekzentrik egzersiz protokolünün kas hasarı oluşturmaya yetecek, aynı zamanda da tüm deneklerin

tamamlayabileceği bir protokol olmasına dikkat edilmiştir. Bu amaçla ön çalışma olarak 11 kişiden oluşan ayrı bir denek grubuna diz eklemine 60 derece/sn hızda 6 set 8 tekrarlı izokinetik egzersiz protokolü uygulanmış ve bu protokol sonrası elde edilen hasar göstergelerinin değerlendirilmesi sonucu bu çalışmada gerçekleştirilen 60 derece/sn hızda 8 set 10 tekrarlı egzersiz protokolüne karar verilmiştir. Deneklerin tümü egzersiz protokolünü sonuna kadar tamamlayabilmişlerdir. Ayrıca kontrol grubunda egzersizi takip eden günlerde KK enzim aktivitelerinin artmış olması ile izometrik ekstensör ve fleksör kas kuvvetinde egzersizi takip eden bazı zaman dilimlerinde azalmanın görülmesi uygulanan protokolün hasara yol açtığını ortaya koymaktadır.

Sıcak Stresi ve HSP70 İndüksiyonu

SAU grubuna HSP70'in arttırılması amacıyla egzersizden 24 saat önce sıcak stresi uygulanmıştır. SAU grubunun sauna öncesi ile KONT grubunun egzersiz öncesi HSP70 konsantrasyonları, dinlenim HSP70 konsantrasyonları olarak kabul edilmiştir. SAU grubunun sıcak stresi öncesi ile KONT grubunun egzersiz öncesi HSP70 miktarlarının benzer olduğu, bir başka deyişle dinlenim HSP70 konsantrasyonları arasında gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür. Sauna uygulamasının HSP70 üzerine etkisi ise sauna uygulamasını takip eden 24. saatte alınan plazma düzeylerinden ölçülmüştür. Buna göre SAU uygulaması HSP70 miktarının sıcak stresini takip eden 24. saatte anlamlı bir şekilde arttırmıştır (% 94). Bu bulgu sıcak şoku proteini HSP70'in indüklenmesinde SAU uygulamasının etkili bir stres modeli olduğunu ortaya koymaktadır (Bkz., Tablo 4.6, Şekil 4.5).

Sıcak stresinin HSP70 artışına neden olduğu bir çok hayvan çalışmasında (38, 39, 123, 162), in vitro insan çalışmalarında (55, 138) ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda vücut sıcaklığının 40-42 derecelere yani optimal vücut sıcaklığının yaklaşık 5-7 derece üzerine çıkarılabilmesi ve ölçümlerin çoğunlukla kas dokusu veya doğrudan hedef doku üzerinde yapılması HSP70 indüklenmesi ile ilgili sonuçların daha net değerlendirilmesine neden olmaktadır. Sıcak stresi; sıcak su banyosu, sıcak çadır, infrared lambaları, ısıtıcı battaniye gibi farklı yöntemlerle

uygulanabilmektedir. Buna ilaveten egzersiz de HSP70 indüklenmesinde sıkça kullanılan bir stres modeli olarak karşımıza çıkmaktadır. Egzersiz hem vücut sıcaklığını, hem de diğer HSP indüklenmesini tetikleyen stresörleri artırıcı etkisinden dolayı çalışmalarda sıkça kullanılmaktadır. Bununla birlikte egzersiz-sıcak stres modelinin, çevre-sıcak stres modelinden daha düşük strese yol açtığı ve daha düşük HSP indüksiyonuna yol açtığı bildirilmiştir (38, 91, 175).

Egzersizin hem hayvanlarda (37, 39, 82, 149), hem de insanlarda (45, 100, 146, 163, 165) HSP70 indüklemesine neden olduğu belirtilmektedir. Ancak bizim çalışmamıza benzer olarak insanlarda dışarıdan uygulanan sıcak stresi ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan biri yukarıda da bahsi geçen pilot kabininde uygulanan sıcak stresi modelidir. Pilot kabininde 1 saat süreyle % 30 nem ve 55 derecelik bir sıcaklığa maruz kalan pilotların oral ve deri vücut sıcaklarının ortalama 2.4 derece, sıcak stresini takiben lökositler HSP70 miktarlarının ise anlamlı artışlar gösterdiği bildirilmiştir (90). Bahsedilen çalışmada sıcak stresi bu çalışmadan daha uzun bir süre uygulanmış, ancak sıcaklığın ve nem oranının daha yüksek olmasından (sıcaklık 85 derece, nem oranı % 50) dolayı bu çalışmada süre daha düşük tutulmuştur. Bununla birlikte yukarıdaki çalışmada HSP70 konsantrasyonu izole edilen lökositlerde değerlendirilmiş ve HSP70 miktarının yaklaşık olarak 3.5 kat arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada ise HSP70 konsantrasyonu plazmada ölçülerek SAU uygulaması sonrası HSP70'de % 94 artış kaydedilmiştir.

Bilindiği gibi yüksek ateş sırasında insanlarda vücut sıcaklığı optimal sıcaklığın üzerine çıkmaktadır, yüksek ateşin lökositler üzerindeki etkisi insanlarda hem in vitro hemde in vivo olarak çalışılmıştır. Oehler ve diğ., (138) sağlıklı insanlardan alınan kan örneklerini yüksek ateşe benzer farklı sıcaklıklarda (39 °C, 41 °C, ve 42 °C) 2 saat tutuktan sonra 37 °C'de 3 saat bekleterek HSP70 konsantrasyonundaki değişim in vitro olarak ölçülmüştür. Aynı zamanda sağlıklı bireylerde tüm vücut sıcaklığı sıcak banyo ile (39 °C) artırılarak lökositler HSP'lerde değişimler gözlenmiştir. İn vitro sonuçlarda HSP70 artışının hücre tipine ve sıcaklık derecesine göre değiştiği, 41°C'in üstünde lenfositlerde ve polimorfonükleer lökositlerde düşük miktarda artışlar varken, monositlerde bu artışın 39 derecede çok

yüksek miktarda olduğu, bununla birlikte in vivo koşullarda HSP70'in bütün lokositlerde artışlar gösterdiği ve daha az hücre tipine özel varyasyonlar sergilediği belirtilerek, vücut sıcaklığındaki sistemik artışların periferik HSP70 ekspresyonunu tetiklediği bildirilmiştir. Yukarıdaki çalışma sıcak stresinin lokal değilde sistemik olarak artırılmasının HSP70 indüklenmesinde daha etkili olduğunu göstermesi açısından önemlidir. Sıcak stresinin vücut sıcaklığına etkisini gösteren başka bir çalışmada süre belirtilmemiş olmakla birlikte, erkek deneklerde 75 derece sıcaklıktaki sauna uygulaması sırasında rektal ısının 1.5 derece yükseldiği gösterilmiştir (6). Bizim çalışmamızda deneklerin vücut sıcaklığı sauna sırasında ölçülmemiş olmakla birlikte daha önce yapılan ön çalışmada rektal vücut ısısının 20 dk'lık ilk seans sonunda 1 °C arttığı, 2. seans sonunda ise 1.8 °C arttığı gözlenmiştir. Yukarıda sunulan çalışmalarda insanlarda dışardan uygulanan sıcak stresinin vücut iç sıcaklığını artırarak HSP70 artışına neden olduğu görülmektedir. Bu çalışmada vücut sıcaklığı SAU grubundaki deneklerde ölçülmemiş olmasına rağmen yapılan ön çalışmadan yola çıkılarak, literatürle benzer bir şekilde sauna sıcak stresinin vücut iç sıcaklığında artışa neden olduğu ve bunun sonucunda HSP70 miktarını arttırdığı düşünülebilir.

Egzersiz HSP70 indüklenmesinde önemli bir rolü olduğundan daha önce bahsedilmiştir. Literatürde aerobik egzersizlerden sonra HSP artışları (45, 100) yanı sıra kuvvet egzersizinin de HSP'leri iskelet kasında arttırdığı gösterilmiştir (163). Bu çalışmada tek bir seans ekzentrik direnç egzersizinden 48 saat sonra biceps brachii kasının HSC/HSP70 ve HSP27 içeriğinin kontrol tarafa göre anlamlı bir şekilde arttığı (sırasıyla % 1064 ve % 234) belirtilmiştir. HSP'deki bu artışların, kas hasarının morfolojik ve indirekt belirtilerindeki artış ile eş zamanlı olduğuna dikkat çekilmiştir (163). Bu çalışmanın ardından aynı araştırmacılar tarafından arka arkaya yapılan iki farklı egzersizden (dirsek ekleminde dirence karşı fleksiyon ve -10 derece eğimde tepe aşağı koşu) 48 saat sonra HSP 27 ve HSP70 düzeylerinin biceps kasında anlamlı olarak arttığı, vastus lateralis kasında ise değişim göstermediği belirtilmiştir. Bu bulgular tek bir seans direnç egzersizinin HSP düzeylerinde artış gösterdiğini ve HSP düzeylerindeki artışın sistemik değil lokal ve egzersize özel olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda egzersiz öncesinde HSP70 konsantrasyonunun

arttırılması ile kas hasarından korunmak amaçlandığından egzersiz sonrası HSP değişimi her iki grupta da ölçülmemiştir. Yukarıdaki çalışmalardan yola çıkılırsa iki grupta da egzersiz sonrasında (24. saatlerde pik yapan) bir artış beklenmesi muhtemeldir.

Öte yandan bu çalışmada HSP70, plazma örneklerinden ELİSA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Plazma örnekleri kit prosedüründe belirtildiği gibi 1:5 oranında sulandırılarak HSP70 konsantrasyonu belirlenmiştir. Ancak bu konsantrasyonun oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sebeple serum örnekleri sulandırılmadan tekrar ölçülerek daha yüksek HSP70 konsantrasyonları elde edilmiştir. Literatürde HSP70 konsantrasyonu ile ilgili değerlendirmeler kişisel varyasyonlar dolayısı ile genellikle oransal olarak verilmekle birlikte, bu çalışmada elde edilen HSP70 konsantrasyonunun literatürde aynı kit kullanılarak yapılan bazı çalışmalarla benzer olduğu gözlenmiştir (47, 82).

Kas hasarı

Çalışmada kas hasarı belirteçleri olarak izometrik ekstensör ve fleksör kuvvet, kas ağrısı, KK, LDH, AST ve ALT enzim aktiviteleri ve oksidatif stresin bir göstergesi olan nötrofil kemiluminesansı ve trombosit agregasyonu kullanılmıştır. Uygulanan 8x10 tekrar ekzentrik egzersiz protokolü sonucunda, her iki grubun kuvvet parametrelerinde azalma, KK, ağrı, nötrofil parametrelerinde artış, trombosit agregasyonu ve LDH enziminde yalnızca SAU grubunda değişim gözlenirken, ALT ve AST enziminde her iki grupta da herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Bununla birlikte gruplar arası karşılaştırmalarda SAU ve KONT grubu arasında her parametre için anlamlı farklılık bulunmamıştır. Tüm kas hasarı belirteçleri aşağıda ayrıntılı olarak tartışılacaktır.

İzometrik kuvvet

Bu çalışmada sauna uygulamasının 8x10 tekrarlı ekzentrik egzersiz sonucu oluşan ekstensör kas kuvvet kayıplarını önlemediği (Bkz., Tablo 4.7, Şekil 4.6), ancak fleksör kas kuvvet kayıplarını önlediği görülmüştür (Bkz., Tablo 4.7, Şekil 4.7). Kas kuvvetindeki azalma kas hasarının fizyolojik göstergelerinden biri olarak kabul edildiğinden bu sonuçlar sauna uygulamasının fleksör kaslarda kas hasarını engellediğini, ekstensör kaslarda ise kas hasarını engelleyemediğini göstermektedir.

İzometrik kuvvet ölçümleri kas hasarının önemli bir fonksiyonel belirticidir ve genellikle izometrik maksimal istemli kasılma ile ölçülebilir (181). Bu çalışmada her iki grubun izometrik ekstensör kuvvetlerinin egzersiz sonrası 3. saatte çok keskin bir düşüş gösterdiği, bu düşüşün egzersiz sonrası 2. güne kadar devam ettiği ve daha sonra tekrar artmaya başladığı görülmektedir. Ekzentrik egzersizin kuvvet kayıplarına neden olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (23, 93, 135, 153). Ancak bu çalışmalarda uygulanan egzersiz şiddeti, egzersizin türü (direnc, tepe aşağı koşu), egzersiz uygulanan bölge vb. etkilerden dolayı farklı sonuçlara rastlanmaktadır. Ekzentrik egzersizin konsantrik egzersize göre daha şiddetli kas hasarına neden olduğu bilinmektedir (54). Bunun yanında kuvvet kayıpları açısından ekzentrik çalışmanın konsantrik çalışmalardan farkının olmadığı yönünde çalışmalar da mevcuttur (132).

Literatürde izometrik kuvvetteki azalmanın egzersizden hemen sonra başladığı (124), genellikle egzersizi takibeden 1. ve 2. günler içinde daha yüksek şiddetli olduğu (62, 69), hatta 1 hafta ve daha uzun bir süre devam edebileceği belirtilmektedir (31). İzometrik kuvvette her ne kadar 1. saatte azalmalar kaydedilse de genel olarak egzersizin hemen ardından ortaya çıkan kuvvet kayıplarının merkezi sinir sistemi aktivasyonunda meydana gelen bir bozukluktan kaynaklandığı ve hasarlı fiberlerde bir “bypass” söz konusu olabileceği EMG çalışmalarında gösterilmiştir (125). Ani kuvvet kayıplarının başka bir nedeni de ekzentrik egzersizin sarkomerde aşırı uzamalara neden olarak çapraz köprü sayısını azaltmasıdır. Nitekim aşırı uzayan sarkomerlerde daha yüksek kuvvet kayıpları olduğu doğrulanmıştır (126). Bu

çalışmada ekstensör kuvvetin egzersiz sonrası 3. saatten başlayarak düşmesi ve 2. güne kadar devam etmesi literatürdeki kas hasar çalışmaları ile benzerdir. Ancak SAU ve KONT grupları arasında fark bulunamamıştır. Literatürde ekstensör kuvvet kayıpları ve sıcak stresinin etkisi ile ilgili doğrudan çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada diz ekstensörleri ekzentrik olarak çalıştırılmıştır. Benzer bir çalışmada diz ekstensörlerine 10, 30, 50 maksimal istemli ekzentrik kasılma uygulanmış ve 3 hafta sonra bu grupların hepsine tekrar 50 maksimal istemli kasılma uygulanarak koruyuculuk etkisine bakılmıştır. Sözü edilen çalışmada düşük tekrarlarda olsa hepsinde kas hasarı olduğu ve tekrar sayısının koruyuculukta çok önemli olmadığı bulunmuştur (18). Byrne ve Eston (19) diz ekstensörlerine vücut ağırlığının % 70'i ile yapılan 10x10 barbell squat egzersizinden sonra izometrik, konsantrik ve ekzentrik kuvvette egzersiz sonrası 4 gün azalma gözlemlendiği, ancak bu azalmanın büyüklüğünde gruplar arasında fark olmadığı bildirilmiştir. Yukarıdaki çalışmalar bu çalışmada uygulanan tekrar sayısının kas hasarı için yeterli olduğunu aynı kas grubunda göstermesi açısından önemlidir. Kas hasarı çalışmalarının bir çoğunda günlük hayatta ekzentrik olarak çok az çalıştırıldığından dolayı kol kasları kullanılmaktadır. Kol kaslarına göre bacak kasları günlük hayatta daha az ekzentrik çalıştırılmasına rağmen daha büyük kas grubu olduğundan bu çalışmada kas hasarının sistemik etkilerinin daha net gözlemlenebilmesi amacı ile tercih edilmiştir.

Bir çok çalışmada antrenmanın koruyucu etkisi olduğu ve tek bir ekzentrik egzersizin, çok değişik süreler belirtilmekle birlikte 1-6 ay arasında kas hasarından koruduğu (63), hatta konsantrik çalışmanın dahi koruyucu etkisinin olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında daha önce yapılan ekzentrik içerikli antrenmanların kuvvet kayıplarını azaltmadığı yönünde çalışmalar da mevcuttur (135). Bu amaçla çalışmaya katılan deneklerde son 6 ay içinde direnç egzersizi yapmama ve düzenli olarak fiziksel aktivitelere katılmama koşulu aranmıştır.

Bununla birlikte her iki grupta da egzersiz sonrası ekstensör kuvvet kayıpları gözlenmesi bu şiddette yapılan ekzentrik egzersizin kas hasarının fonksiyonel belirteçlerinden ekstensör kuvvet üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Ancak

kuvvet ölçümlerinde sauna ve kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır. Bu bulgu ise SAU grubunda sıcak stresinin ekstensör kuvvetteki kayıpları önlemediğini göstermektedir.

İzometrik ekstensör kuvvete benzer bir şekilde ekzentrik egzersiz sonrası izometrik fleksör kuvvette de önemli kayıpların olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada SAU grubunun egzersiz sonrası izometrik fleksör kuvvet değerlerinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Kontrol grubunda ise anlamlı bir azalma kaydedilmiştir. Ekzentrik egzersiz sırasında yalnızca ekstensörler çalıştırılmasına rağmen fleksör kaslar antagonist olarak kasılmaktadır. Bundan dolayı egzersiz sonrası fleksör kuvvetteki azalmalar kaçınılmazdır. Ancak SAU grubunda böyle bir azalmanın gözlenmemesi sauna uygulamasının fleksör kuvvet kayıplarını önlediğini göstermektedir. Kas hasarı ve sıcak stresi çalışmalarında lokal sıcak stresinin izometrik kuvvet kayıplarını önlediğini (137) veya önlemediğini (161) gösteren çelişkili bulgular kaydedilmiştir. Bununla birlikte insanlarda tüm vücuda uygulanan sıcak stresi ve kuvvet parametreleri ile ilişkili çalışma bulunmaması bu bulgunun yorumlanmasını güçleştirmektedir.

Bu çalışmada asıl çalışma ekstensör kaslarda gerçekleştirildiğinden fleksörlere göre daha ciddi bir hasar oluşması kaçınılmazdır. Nitekim ekstensör kaslarda 3. saatteki kuvvet kaybı (SAU: % 20.77, KONT: % 26.07) olduğu gözlenirken, fleksör kaslarda (SAU: % 5.20, KONT: % 23.02) kuvvet kaybı gözlenmiştir. HSP70 düzeyinin artması daha az bir hasarın varlığında etkili olurken daha şiddetli hasar oluşan ekstensör kaslardaki kuvvet kaybını, diğer deyişle kas hasarını engelleyememiştir.

Ekzentrik egzersiz sonrası enzim değerleri

Bu çalışmada egzersiz sonrası kas hasarının biyokimyasal belirteçlerinden KK enzim aktivitesinin her iki grupta da egzersizi takiben arttığı, ancak SAU grubunda daha düşük değerler sergilediği, LDH enzim değerlerinin ise SAU sonrası 24. saat (EÖ) ve egzersiz sonrasında başlangıçtan yüksek olduğu, kontrol grubunda

ise egzersiz sonrası LDH enziminin değişmediği görülmüştür. ALT ve AST enzim aktivitelerinde her iki grupta egzersiz sonrası herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Aşağıda enzim aktiviteleri ayrı ayrı tartışılmıştır.

Literatürde plazma enzim aktivitelerindeki artışı inceleyen çalışmalarda genellikle farklı açısal hızların tercih edildiği görülmektedir. Son dönemde hareketin açısal hızının kas hasarının büyüklüğünü etkilediği yönünde çalışmalar mevcuttur. Chapman ve diğ. (22) 30 ve 210 derece/sn açısal hızlarla yapılan, aynı tekrar sayılı maksimal istemli ekzentrik kasılma sonrası, 210 derece/sn açısal hızın 30 derece/sn açısal hızdan daha fazla kas hasarına neden olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada 60 derece/sn açısal hız kullanılmıştır. Bu açısal hız bir çok kas hasar çalışmasında kullanılmış ve kas hasarına neden olduğu bildirilmiştir (18, 35, 140). Bununla birlikte hasar yapıcı ekzentrik egzersiz çalışmalarında genellikle maksimal istemli kasılma protokollerinin kullanıldığı (18, 19, 35, 107, 112, 140, 158), böylelikle kas hasarının belirleyicisinin daha çok tekrar sayısı olduğu dikkat çekmektedir. Keza literatürde 10 tekrardan 300 tekrara (18, 19, 107) uzanan ve çalışmanın amacına bağlı olarak değişen tekrar sayıları dikkati çekmektedir. Bu çalışmada saunanın kas hasarının önlenmesinde veya şiddetinin azaltılmasında koruyucu etkisi incelendiğinden, çok yüksek tekrarlı ekzentrik egzersiz seçilmemiş olmakla birlikte uygulanan tekrar sayısının kas hasarı yaratacak düzeyde olduğu KK değerlerindeki artışla gösterilmiştir.

KK enzimi her iki grupta da egzersiz sonrası artmıştır. Bu artışın gruplar arasında farklı olmadığı gözlenmiştir. SAU grubunda egzersiz sonrası 2. gün, KONT grubunda ise 1. günlerde KK maksimal değerlere ulaşmıştır. SAU grubu KONT grubuna göre daha yüksek değerler sergilemesine rağmen bu fark anlamlı değildir (Bkz., Tablo 4.8, Şekil 4.8).

Literatürle benzer bir şekilde ekzentrik egzersiz protokolü her iki grupta KK artışına neden olmuştur, bir çok çalışmada ekzentrik egzersiz sonrası plazma KK aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (25, 93, 153). Bu çalışmada uygulanan egzersiz protokolü 60 derece/sn açısal hızda 8x10 maksimal istemli ekzentrik diz

fleksiyonundan (90 derece) oluşmuştur. Bu şiddette uygulanan egzersiz protokolünün kas hasarı belirteçlerini arttırdığı benzer çalışmalarda gösterilmiştir. Aynı egzersiz türü ve aynı kas grubu kullanılarak 60 derece/sn açısal hızda 60 (6x10) ekzentrik diz fleksiyonunun KK aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (140). Başka bir çalışmada ise izokinetik dinamometre 50 maksimal istemli kasılma sonrası KK enzim aktivitesinin egzersiz sonrası 3. gün arttığı bildirilmiştir (18). Bunun yanında tekrar sayısı arttığında KK değerlerinin daha yüksek olduğu ve daha kısa sürede dolaşım konsantrasyonunun anlamlı olarak yükseldiği bildirilmiştir (19). Bahsi geçen çalışmada çok tekrarlı ekzentrik egzersiz sonrası KK aktivitesinin egzersizden sonraki 1. saatte yaklaşık % 150 arttığı, 1. günde ise bu artışın % 600 civarında olduğu gösterilmiştir.

Bu açıdan bakıldığında uygulanan egzersiz protokolü ve türü KK cevapları için önemlidir. Ancak egzersizin türüne göre KK cevapları farklılıklar göstermektedir. KK' ın maksimal ekzentrik egzersiz sonrası 2-4 günde zirve değerlere ulaşırken, yüksek şiddetli ekzentrik egzersiz sonrası 5. günde, tepe aşağı koşu sonrası ise daha erken zirve değerlere ulaştığı ve maksimal ve yüksek şiddetli ekzentrik egzersize göre daha düşük seviyede olduğu bildirilmektedir (43). Tepe aşağı koşu sırasında daha fazla kas grubunun çalışmasına rağmen değerlerin düşük olması ve zirve zaman farklılıklarının altında yatan mekanizma açık değildir. Farklı egzersiz modellerinde zirve KK cevabının zamansal farklılıklar sergilemesi, egzersiz modeline bağlı olarak kas hasarının farklı formlar sergilediğini düşündürmektedir. Bu çalışmada maksimal ekzentrik egzersiz protokolü uygulanmış ve KK' ın iki grupta farklı zamanlarda zirve değerlere ulaştığı gözlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında her iki gruba aynı egzersiz modeli ve aynı tekrar sayıları uygulanmasına rağmen, kontrol grubunun sauna grubuna göre daha erken pik değere ulaştığı görülmüştür. Bu bulgudan hareketle KONT grubunda egzersizin daha etkin olarak hissedilmiş olabileceği yorumu yapılabilir. Ancak özellikle tekrar sayısı daha fazla olan ekzentrik kasılmaların daha şiddetli KK cevaplarına neden olduğu bildirilmektedir (25).

Bu çalışmada egzersiz sonrası KONT ve SAU grubunun LDH enzim aktivitesine bakıldığında KONT grubunun LDH değerlerinin egzersiz sonrasında değişmediği gözlenmiştir. Bununla birlikte SAU grubunda LDH değerlerinin sauna sonrası 24. saatte (EÖ) ve egzersiz sonrasında sauna öncesine göre arttığı gözlenirse de, egzersiz sonrası LDH değişimleri açısından SAU ve KONT grubu arasında fark olmadığı görülmektedir (Bkz., Tablo 4.9, Şekil 4.9).

LDH enzimi kas hasarının değerlendirilmesinde kullanılan bir başka enzimdir. Bu enzimde ekzentrik egzersiz sonrası artışlar olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (18, 23, 77, 116, 172). İzometrik dinamometrede tek bacak 50 maksimal istemli kasılma sonrası LDH enzim aktivitesinin 3. günde KK ile birlikte zirve değere ulaştığı bildirilmiştir (18). 60 derece/sn açısız hızda 60 (6x10) ekzentrik diz fleksiyonunun LDH aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (140).

Bu çalışmada hem ALT hem de AST enzimlerinin SAU ve KONT gruplarında sauna ve egzersiz sonrası değişim göstermediği gözlenmiştir (Bkz., Tablo 4.10, 4.11, Şekil 4.10, 4.11). Literatürde bu çalışmaya benzer bir şekilde ekzentrik egzersiz sonrası bu enzimlerin değişmediği (73), veya aksine ekzentrik egzersiz sonrası arttığını gösteren (77, 172) çalışmalar mevcuttur. Ancak bu çalışma da uygulanan ekzentrik egzersiz protokolünün her iki enzimde de herhangi bir etki yaratmadığı gözlenmiştir. Yukarıda artış olduğu bildirilen Kayashima ve diğ. (77) çalışmasında AST ve ALT enzimlerindeki artışın egzersiz sonrası % 90 artan periferik kan lökositozisi ile yüksek ilişkisi gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalışmada ayrıca KK ve LDH enzimleri ile lökositozisin ilişkisi olduğu belirtilmiştir.

Ağrı skoru

SAU ve KONT grubunun egzersiz sonrası ağrı skorlarının hem grup içinde hem de gruplar arasında farklılıklar gösterdiği bulunmuştur. Ağrı skorları egzersizden hemen sonra her iki grupta artmış ve egzersizin 2. gününe kadar yüksek kalmıştır. ES, ES 3.saat, ES 1.gün ağrı değerlerinde SAU grubunun ağrı skorlarının KONT grubundan yüksek olduğu gözlenmiştir (Bkz., Tablo 4.12, 4.12).

Ekzentrik egzersiz sonrası ağrının arttığı bir çok çalışmada belirtilmiş olmakla birlikte ağrı subjektif bir hasar belirteci olarak kabul edilmektedir (26, 63, 113). Buna ilaveten ağrının kas kसरını yansıtmadığını ve yüksek tekrar sayılarının daha yüksek ağrı skorlarına neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (135). Ağrı skorları genellikle 0-10, 1-10 arasında değişen görsel skala ile belirlenmektedir (27, 140) ancak 0-50 arasında değişen skalalarla ve palpasyon, fleksiyon ve ekstensiyonda ağrı skorlaması ayrı ayrı yapılabilmektedir (132). Bu çalışmada palpasyonda ve günlük yaşantı sırasında hissedilen ağrı değerlendirilmeye alınmıştır. Her iki grupta da ağrı skorları artmıştır. Ancak SAU grubunda KONT grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bilindiği gibi ağrı monositlerin hasarlı bölgede artması sonucu oluşur. Monositler büyük oranda prostaglandin sentezler (PGE2), PGE2 kasta ağrıyı algılayan afferent sinir kavşaklarında sentezlenir ve palpasyonda veya harekette ağrı duygusunu algılayan tip III ve IV ağrı efektörlerini aktive eder (154). Bu çalışmada monositlerin düzeyine bakılmamış olmakla birlikte SAU grubunun nötrofillerinin egzersiz öncesi diğer gruptan yüksek olduğu görülmüştür. Monositler ve lokositlerin eş zamanlı olarak arttığına bildirilmiş olması (33), SAU grubunda ağrı algılamasını arttırabileceğini düşündürmektedir.

Başka bir çalışmada KK konsantrasyonu ile ağrı skorları arasında yüksek ilişki olduğu, ekzentrik egzersiz sonrası yüksek ve orta derecede KK aktivitesine sahip deneklerle düşük KK değerine sahip deneklerin ağrı değerleri arasında fark olduğu ancak kuvvet değerleri ile KK arasında böyle bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (33). Bu çalışmanın ağrı bulguları literatürle benzer olarak egzersiz sonrası artmıştır. Ancak ağrı bireysel eşik değerlerinden kaynaklanan subjektif bir kas hasarı belirteci olup, her iki grubun ağrı skorları arasındaki farkın tartışılmasında bu noktanın gözden uzak tutulmaması gerekir.

Nötrofil kemiluminesansı ve trombosit agregasyonu

Kas hasar sürecinde oksidan stresin rolü bir çok araştırmanın konusu olmuştur (93, 114, 115, 185). Bu amaçla nötrofil kemiluminesansı oksidan stresin bir

göstergesi olarak bu çalışmada SAU grubunda sauna önce, hemen sonra, 3. saatte, SAU ve KONT grubunda ise egzersiz önce, hemen sonra, 3. saatte ve 24. saatte ölçülmüştür. Egzersiz ve sauna öncesi, sonrası ve tekrarlayan ölçümlerde nötrofil kemiluminesansı değerleri SAU grubunda zamana bağlı olarak değişim gösterirken, KONT grubunda grup içinde değişim bulunmamıştır. Bununla birlikte egzersiz öncesi Nötrofil kemiluminesansının SAU grubunda KONT grubundan daha yüksek olduğu, ancak SAU grubunun egzersiz sonrası 3. saat, ve 24. saat nötrofil kemiluminesans değerlerinin KONT grubundan daha düşük olduğu görülmüştür. SAU grubu egzersize daha yüksek nötrofil kemiluminesans değerleri ile başlamasına rağmen egzersiz sonrası daha düşük değerler sergilemiştir (Bkz., Tablo 4.13, Şekil 4.13).

İmmün sistemin bir çok hücresinin kas kasılmasına, özellikle ekzentrik kas kasılmasına duyarlı olduğu ve reaktif oksijen türlerini (ROT) arttırdığı bilinmektedir. Ekzentrik kas aktivitesini takiben ROT üretiminin arttığı hayvan çalışmalarında (115) ve insan çalışmalarında gösterilmiştir (32, 163). Ayrıca bir çok çalışmada oksidatif stres indikatörleri ile kas hasar indikatörleri arasında ilişki olduğu ortaya konmuştur (93, 185).

Literatürde nötrofillerin ROT üretme kapasitelerinin yüksek olduğu (156) ve şiddetli yada uzun süreli egzersizin dolaşımdaki nötrofil sayısını ve süperoksit radikal üretim kapasitesini artırdığı gösterilmiştir. Egzersiz sırasında açığa çıkan HOCl, luminol ile amplifiye edilen kemiluminesansı arttırmaktadır (142). Buna ilaveten ekzentrik egzersizden hemen sonra nötrofillerin dolaşımında (33, 141) ve hasarlı dokuda (87, 148) egzersizi takiben hızlı bir artış sergilediği bildirilmektedir. Ekzentrik egzersiz sonrası Technetium-99'la işaretlenmiş nötrofillerin egzersiz yapan bacakta diğer bacağına göre anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir (107). Sözü edilen çalışmada radyonükleik aktivite ölçülmüş ve dokudaki artış değerlendirilmiştir (107). Doku ve dolaşım konsantrasyonları farklı da olsa hem dokuda hem de dolaşımda nötrofilin hızlı bir kas hasar belirteci olabileceği ve nötrofil kökenli oksidatif ürünlerin kas hasarında etkili bir mekanizma olabileceği öne sürülmektedir (142).

ROT'ların, kas hasar sürecindeki etkisi ile ilgili çelişkili bulgular söz konusudur. Son zamanlarda, adaptif mekanizmaların gelişmesinde önemli bir rolü olduğu yönünde çalışmalar mevcuttur. Antioksidan destekleri verilerek yapılan kas hasarı çalışmalarında, antioksidanların kas hasarını önlemediği sadece ROT aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (32). Yine aynı araştırmacılar kas hasar belirteçlerinin egzersiz sonrası daha geç ortaya çıkmasına rağmen nötrofil ve benzeri ROT kaynaklarının egzersizden hemen sonra arttığını göstermişlerdir (33). Benzer bir çalışmada da enflamasyonun kas hasarı üzerine etkisi antienflamatuvar bir ilaç ve plasebo verilerek değerlendirilmiştir (169). Hem plasebo alan hem de almayan grupta ekzentrik egzersiz sonrası kuvvet kayıplarının olduğu ancak kuvvet kayıpları arasında fark olmadığı gösterilmiştir. Ancak 2. egzersiz sonrası sadece antienflamatuvar ilaç alanlarda kuvvet kayıplarının olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar ROT üretimi ve inflamasyonun kas hasarının önlenmesinden çok kasın yeniden modellenmesinde ve tamir sürecinde etkili olabileceklerini gösteren çalışmalardır. Bu konuya ilişkin başka bir kanıtta ROT'un bir çok transkripsiyonel faktörü özellikle HSF1 ve bazı cytoskeletal proteinlerin ekspresyonunu uyardığının gösterilmiş olmasıdır (71). HSP'lerin artması ile süperoksit anyonu artışı arasında ilişki olduğu belirtilerek, hasar yapıcı bir egzersiz olmaksızın egzersiz kaynaklı ROT'ların HSP'lerin artmasında rolü olduğu gösterilerek, iskelet kası hasar ve yenilenme sürecinde ROT'ların rolünün tartışmalı olduğu belirtilmiştir (80, 93).

SAU grubunun egzersiz öncesi nötrofil kemiluminesans değerlerinin saunanın 24. saatinde yani egzersiz öncesinde, KONT grubundan daha yüksek olduğu, sauna sıcak stresinin nötrofil kemiluminesansını arttırdığı görülmektedir. Ancak egzersiz sonrasında SAU grubu daha düşük nötrofil kemiluminesans değerleri sergilemiştir. Bu sonuçlar sauna uygulamasının nötrofil kemiluminesansını arttırırken, ikinci bir stres olarak egzersize daha düşük cevaplar verdiğini düşündürmektedir. Yukarıdaki çalışmalardan yola çıkılarak SAU uygulamasının ekzentrik egzersiz sonrası nötrofil kaynaklı ROT üretimini azalttığı söylenebilir. Ancak SAU uygulamasının nötrofil kemiluminesansını arttırdığı gözlenmiştir. Hiperterminin hücrede önemli biyokimyasal değişikliklere yol açarak kalsiyum ve süperoksit anyonunun hücresel konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (149).

Nötrofil kaynaklı kas hasarının kas kontraktilitesinde bozulmalara neden olduğu ile ilgili bir çalışmada iskemi reperfüzyon (İ/R) modeli uygulanmış ve İ/R öncesi nötrofil azaltılmıştır. İ/R sonrası nötrofil azaltılan ratlarda, azaltılmayan ratlara göre izometrik kuvvet kayıplarının daha düşük olduğu gözlenmiştir. Ancak literatürde sıcak stresi ve nötrofil kemiluminesansı ile ilişkili çalışma sayısının azlığı sıcak stres uygulamasının nötrofil kemiluminesansı üzerine etkisini değerlendirmeyi sınırlamaktadır.

Egzersiz sonrası trombosit agregasyonunun arttığı bir çok araştırmada gösterilmiştir (42, 50, 51, 79, 121, 177). Bu çalışmada hem sıcak stresinin hem de ekzentrik egzersizin trombositler üzerine etkisi trombosit agregasyonu hızı ölçülerek değerlendirilmiştir.

SAU ve KONT grubunun egzersiz ve sauna önce, sonra ve tekrarlayan ölçümlerde KONT grubunda hem ADP hem de kollajenle indüklenen trombosit agregasyonunun egzersiz sonrasında değişmediği, SAU grubunda ise ADP ile indüklenen trombosit agregasyon hızının egzersiz sonrası 24. saatte arttığı, kollajenle indüklenen trombosit agregasyon hızında ise değişim olmadığı görülmüştür (Bkz., Tablo 4.14, şekil 4. 14, 4.15).

Aterosklerozis ve kardiyovasküler hastalıklardaki rollerinden dolayı trombosit agregasyonu ile ilgili çalışmalarda genellikle egzersiz ve antrenmanın etkisi incelenmektedir (79, 121, 177). Egzersizle indüklenen trombosit yanıtlarına ilişkin mekanizmalar tam ve kesin olarak anlaşılabilmiş olmasa da akut ve kronik egzersiz programlarının oksidan stres üzerinden trombosit fonksiyonlarını etkilediği düşünülmektedir. Akut şiddetli egzersizin LDL'nin oksidatif modifikasyonu ile trombosit aktivasyonunu arttırdığı (171), bir başka çalışmada ise koşu bandı egzersizi sonrası kollajenle indüklenen trombosit sekresyonunun arttığı gösterilmiştir (50). Aynı araştırmacılar tarafından yapılan bir diğer araştırmada 3 günlük kısa süreli koşu bandı antrenmanının trombosit aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir (51). Bu çalışmalarda trombosit aktivasyonunun total antioksidan kapasitesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Tek bir şiddetli egzersizin hem adp hem kollajen ile indüklenen

trombosit agregasyonunu arttırdığı belirtilmiştir (40). Maksimal ekzentrik kol egzersizinden sonra trombosit aktive edici faktörün arttığı gösterilmiş ve kas hasar sürecinde trombosit aktivasyonunun etkili olduğu belirtilmiştir (116). Bu çalışmanın bulguları yukarıdaki çalışmalardan farklı olarak kollajenle indüklenen trombosit agregasyonunun KONT grubunda egzersiz sonrası değişmediğini göstermiştir. Ancak SAU grubunda egzersizin 24. saatinde egzersiz öncesine göre trombosit agregasyonunun arttığı gözlenmiştir. Ancak bu durumun SAU'nın 24. saatinde istatistiksel olarak farklı olmasa da sauna öncesine göre daha düşük trombosit agregasyon değerlerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu bulgu sıcak stresinin trombosit agregasyonunu önlediğini işaret etmektedir. Nitekim bu çalışmada ölçülmemiş olmakla birlikte bir çok çalışmada küçük sıcak stres proteinlerinin trombosit agregasyonunu önlediği Kano ve Matsuno (75) tarafından bildirilmiştir. Bu açıdan bakarsak sauna sonrasında daha düşük trombosit agregasyonu değerlerinin gözlenmesi kaçınılmazdır.

HSP70 ve kas hasarı

HSP'ler ve kas hasarı ilişkisi genellikle iskemi reperfüzyon sonrası hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (36, 89, 102). Bu çalışmalarda daha önce sıcak stresi yolu ile arttırılan HSP70'in reperfüzyon sırasında oksijen radikal kaynaklı kas hasarından korunmada etkili olduğu belirtilmiştir. HSP70'in kalsiyum kaynaklı kas hasarından koruduğu, doku HSP70 içeriğinin daha önce arttırılması ile rat kalbinde I/R sonrası hasarı takiben oluşan kalsiyum paradoksunun azaldığı myotube kültür çalışmasında gösterilmiştir (110). Yukardaki çalışmaların bir çoğu kalp kasında ve I/R sonrası hasarın önlenmesinde HSP70'in etkisini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte HSP'lerin sadece iskemi reperfüzyon sırasında değil, oksidatif stres, laktik asit birikiminden kaynaklanan düşük pH gibi egzersizden kaynaklanan streslere karşı da iskelet kasını koruduğu bilinmektedir (61). Hipertermi yolu ile arttırılan HSP'lerin ekzentrik egzersiz sonrası artan KK aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (137). Bu çalışmada kas hasarından korunmada HSP70'in etkisi insanlarda kuvvet parametrelerinden ve bazı enzim parametrelerinden dolaylı olarak belirlenmiştir. Bilindiği gibi düşük frekans yorgunluğu kas hasarının dolaylı göstergelerinden

biridir. Ekzentrik egzersiz sonrası oluşan düşük frekans yorgunluğunun önlenmesinde sıcak stresinin etkili olmadığı Thomas ve Noble (162) tarafından belirtilmiştir. Bahsedilen çalışmada hayvan modeli kullanılması ve in situ olması dolayısı ile paralellik kurmak zor olsa da kas hasarı belirteçleri ile doğrudan ilişki kuran bir çalışma olduğu için önemlidir. Sözü geçen çalışmada 4 gün ve 24 saat önce sıcak stresi uygulanan her iki grupta da HSP'lerin kontrole göre arttığı ancak bu artışın kas hasarını önlemediği sonucuna varılmıştır.

HSP'lerin kas hasarından korunmada etkisini oksidatif stres parametrelerini azaltarak yaptığı yönünde görüşler hakimdir. Bunun yanında oksidan stresin, perfüze edilen rat kalbinde HSP70 mRNA'daki erken artışların doğrudan bir tetikleyicisi olduğu gösterilmiştir. Kukreja ve diğ., (89) tarafından benzer bir HSP artışının iskemi-reperfüzyon sırasında da gözlemlendiği ve bu uyarının süperoksit dismutaz tarafından ortadan kaldırıldığı belirtilmektedir. Salo ve diğ. (149) sıçanlarda tüketici egzersizin HSP70 mRNA akümüülasyonunu arttırdığını ve egzersiz kaynaklı hiperterminin mitokondrial eşleşmemeye neden olduğu için süperoksit (O_2^-) üretimini arttırdığını bildirmişlerdir. O_2^- ve arkasından H_2O_2 'deki bu artışların, HSP70 ve diğer stres proteinlerin artışını uyaran bir mekanizma olabileceği belirtilmiştir. Yukarıdaki çalışmalarda HSP'lerin bir yandan oksidan stres parametrelerini azaltarak etkili olduğu, diğer yandan ise oksidan stresin HSP artışını doğrudan uyaran bir mekanizma olduğu vurgulanmaktadır. Öte yandan süperoksit dismutaz gibi hücrel savunmada etkili mekanizmalardan bağımsız olarak da HSP70'nin oksidatif stresin neden olduğu kas hasarından korunmada etkili olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (36, 157). Oksidatif hasardan korunmada HSP70 ekspresyonunun tamamlayıcı bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (157). Benzer bir çalışmada ise, iskemi reperfüzyon sonrası mitokondriyal lipid peroksidasyonunun önlenmesinde antioksidan etkisi olmaksızın HSP72'nin kardiyak kaslar üzerinde koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (36).

Bununla birlikte sıcak stresi ve kas hasarı ile ilgili çalışmalarda daha çok lokal olarak iç ısıyı arttırılan kasın daha sonra uygulanacak ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarını önleyeceği yönünde çalışmalar yapılmıştır. Ancak kas

hasarının önlenmesinde tek başına pasif ısınmanın etkisinin olmadığı gösterilmiştir (136). Aynı araştırmacı tarafından egzersizden 1 gün önce (16-20 saat) uygulanan sıcak stresi (mikrodalga diatermy) yolu ile dirsek fleksörleri kas içi sıcaklığı 40 dereceye çıkarılmıştır. Sıcak stresi uygulanan grupta kas hasar belirteçlerinin daha düşük seviyede olduğu kaydedilmiştir. Bununla birlikte 4-6 hafta sonra uygulanan ikinci bir egzersizde sıcak stresi grubunda daha düşük koruyucu etki gözlenmiştir (137). Bir gün önce uygulanan pasif hipertermi'nin kas hasarının önlenmesinde profilaktik etkiye sahip olduğu ancak bu etkinin tekrarlanan uygulama kadar etkili olmadığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise 10 dk aralıksız uygulanan ultrasonun kas içi ısını 1.79 derece arttırdığı, ancak kas hasar belirteçlerini azaltmadığı gösterilmiştir (161). Bütün bunların sonucunda I/R modellerinde ve doğrudan hedef doku üzerinde yapılan çalışmalarda HSP70'in hasardan koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiş olmasına rağmen, kas hasarının dolaylı belirteçleri ile yapılan çalışmalarda çelişkili bulgular söz konusudur. İnsanlarda yapılan ekzentrik egzersiz ve sıcak stresi çalışmalarında ise genellikle ekzentrik egzersiz bölgesine yapılan lokal sıcak uygulamalarının kas hasarından korunmada etkisi incelenmektedir. Bu çalışmalarda kas içi ısısının arttığı gösterilirken (161), HSP70 ile ilgili bulgulara rastlanmamaktadır. Ancak literatürde yapılan çalışmalarda ekzentrik egzersiz kaynaklı kas hasarından korunmada HSP70'in etkisini insanlarda dolaylı belirteçler üzerinden değerlendiren çok az çalışma mevcuttur. Bu tez çalışmasının sonucunda SAU sıcak stresinin HSP70'i arttırdığı, kas hasarının fizyolojik belirteçlerden fleksör kuvvetindeki azalmayı ve egzersiz sonrası nötrofil kemiluminesansını azalttığı görülmüştür. Bu sonuçlar kas hasarının önlenmesinde sıcak stresinin etkili olduğu hipotezini kısmi olarak desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, sıcak stresi ile yapımı artan sıcak şoku proteini HSP70'in ekzentrik egzersizin neden olduğu kas hasarının önlenmesinde veya şiddetinin azaltılmasında etkin olup olmadığını belirlemek amacı ile yapılmıştır. HSP70 düzeyinin sıcak stresinden 24 saat sonra zirve değere ulaştığı bilindiğinden ekzentrik egzersiz protokolü sıcak stresini takip eden 24. saatte uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda SAU sıcak stresinin plazma HSP70 konsantrasyonunu arttırdığı, uygulanan ekzentrik egzersiz protokolünün ise kas hasarı oluşturmada etkin olduğu gösterilmiştir. Sıcak stresinin, fizyolojik parametrelerden ekstensör kuvvetteki azalmayı önlemediği, bununla birlikte fleksör kuvveteki azalmayı önlediği, ağrı ve enzimatik kas hasar belirteçlerini azaltmadığı ancak her belirteç için farklı cevaplar sergilediği, egzersiz sonrası oksidatif stres belirteçlerinden nötrofil kemiluminesans cevaplarında gerilemeye neden olduğu, trombosit agregasyonunu ise egzersiz sonrası 24. saatte arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Uygulanan sıcak stresi (SAU) plazma HSP70 konsantrasyonunun artmasında, ekzentrik egzersiz protokolü ise kas hasarının oluşturulmasında etkili olmuştur. Sıcak stresi uygulanan grupta sıcak stresinin plazma HSP70 konsantrasyonunu % 94 arttırdığı belirlenmiştir. Bununla birlikte SAU ve KONT grubunda dinlenim plazma HSP70 düzeylerinin farklı olmadığı görülmüştür.

Ekzentrik egzersiz sonrası her iki grupta da, kas hasarının fizyolojik belirteçlerinden izometrik ekstensör kuvvetin azaldığı, bununla birlikte izometrik fleksör kuvvetin SAU grubunda değişmediği ve egzersiz sonrasında diğer gruptan yüksek olduğu görülmüştür. SAU uygulamasının fleksör kaslarda kas hasarını önlediği görülmüştür.

Kas hasarının biyokimyasal belirteçlerinden KK enzim aktivitesi egzersiz sonrası her iki grupta da artmıştır. KK SAU grubunda 2. günde KONT grubunda ise 1. günde en yüksek değerlere ulaşmıştır. Ancak SAU ve KONT grubu arasında fark göstermemiştir. LDH enziminin SAU grubunda egzersiz öncesinde ve egzersiz

sonrasında SAU öncesine göre daha yüksek olduğu ancak egzersiz sonrası diğer gruptan farklı olmadığı görülmüştür. ALT ve AST enzim aktivitelerinde her iki grupta da egzersiz sonrası herhangi bir değişim oluşmamıştır. SAU uygulamasının enzim aktiviteleri üzerinde etkili olmadığı görülmüştür.

Kas hasarının subjektif belirtilerinden olan kas ağrısının her iki grupta da egzersiz sonrası arttığı, SAU grubunda KONT grubuna göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

SAU grubunun nötrofil kemiluminesans değerlerinin KONT grubunun egzersiz öncesinden yüksek olduğu, egzersiz sonrası nötrofil kemiluminesans değerlerinin SAU grubuna göre daha düşük olduğu görülmüştür. SAU uygulaması egzersiz sonrası nötrofil kemiluminesansını azaltmıştır. SAU grubunda ADP ile indüklenen trombosit agregasyonunun egzersiz sonrası 24. saatte arttığı, egzersiz sonrası gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür. Kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonunun her iki grupta da egzersiz sonrası değişmediği görülmüştür.

Sonuç olarak sıcak stresi uygulamasının plazma HSP70 indüklenmesini arttırdığı, kas kuvvetinde sınırlı azalmaya neden olduğu, nötrofil fonksiyonlarını azalttığı bulunmuştur. Bu sonuçlar kas hasarının önlenmesinde sıcak stresinin etkili olduğu hipotezini kısmi olarak desteklemektedir.

Öneriler

1. Bu çalışmada sauna uygulaması sırasında ön çalışmayla belirlenen vücut iç sıcaklığında oluşan artış SAU uygulanan tüm denekler üzerinde belirlenebilir ve böylece tüm denekler için sıcak stresinin etkileri doğrudan gözlemlenebilir.

2. SAU uygulamasının HSP70 seviyesine etkisi plazmadan değil de kas biyopsi örneklerinden değerlendirilebilir. Kas hasarı oluşturulacak olan bölgede

HSP70 artışının gösterilmesi koruyuculuk etkisinin yorumlanmasında daha net sonuçlar verebilir.

3. KONT ve SAU grubunda egzersiz sonrası HSP70 düzeyleri belirlenerek, sıcak stresi sonrası uygulanan egzersizin HSP70 üzerinde etkisi gözlenebilir. Böylece kas hasarından korunmada egzersiz öncesinde veya sonrasında HSP cevaplarının etkisi ortaya konulabilir.

4. Kas hasarının değerlendirilmesinde dolaylı parametreler yerine doğrudan kas hasarının büyüklüğünü ve şiddetini tanımlayan yöntemler kullanılabilir.

5. Çalışmada oksidatif stres ve antioksidan savunma düzeyi belirlenerek, sıcak stresinin ve egzersizin kas hasarı üzerindeki etkisinde bu sistemlerdeki olası değişikliklerin rolü değerlendirilebilir. Bununla birlikte hem HSP70 hem de nötrofil ve trombosit agregasyon değerleri daha iyi yorumlanabilir.

6. Bu çalışma farklı egzersiz şiddetlerinde ve farklı açısız hızlarda yapılabileceği gibi farklı ekzentrik protokoller (tepe aşağı koşu vb.) kullanılarak da yapılabilir. Böylece farklı egzersiz tiplerinde sıcak stresinin etkisi gözlenebilir.

7. Aynı çalışma antrenmanlı deneklerde yapılabilir ve kas hasarının önlenmesinde antrenman ve sıcak stresinin etkisi birlikte gözlenebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Alessio, H.M., Exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc.*, 25 (2): 218-24,1993.
2. Allen, D.G., Eccentric muscle damage: mechanisms of early reduction of force. *Acta Physiol Scand*, Mar;171(3):311-9. Review, 2001
3. Allen, R., Phagocytic Leukocyte Oxygenation Activities and Chemiluminescence: A Kinetic Approach to Analysis. *Methods In Enzymology*; 133;449-93, 1986.
4. Amelink, G.J., Kamp, H.H., Bär, P.R., Creatine kinase isoenzyme profiles after exercise in the rat. Sex linked differences in leakage of CK-MM. *Pflügers Arch.* 412: 417-21, 1988.
5. Anderson, W.A., Hedges, N.D., Jones, M.V., Cole, M.B., Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* studied by differential scanning calorimetry. *J Gen Microbiol.* Jun;137(6):1419-24, 1991.
6. Armada-da-Silva P.A., Woods, J., Jones, D.A., The effect of passive heating and face cooling on perceived exertion during exercise in the heat. *Eur J Appl Physiol.* May; 91(5-6):563-71, 2004.
7. Armstrong, R.B., Muscle damage and endurance events. *Sports Med.* 3;370-381, 1986.
8. Armstrong, R.B., Warren, G.L. ve Warren, J.A., Mechanisms of exercise induced muscle fiber injury. *Sports Medicine* 12, 184-207, 1991.
9. Ashton, T., Rowlands, C.C., Jones, E., ve diğ., Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human Serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol*; 77 (6): 498-502, 1998.
10. Atomi, Y., Yamada, S., Nishida, T., Early changes of alpha B-crystallin mRNA in rat skeletal muscle to mechanical tension and denervation. *Biochem Biophys Res Commun.* Dec 31;181(3):1323-30, 1991.
11. Balnave, C.D., ve Thompson, M.W., Effects of training on eccentric exercise-induced muscle damage. *JAP*,75,1545-1551, 1993.
12. Beckmann, R.P., Mizzen, L.A., Welch,W.J., Interaction of Hsp70 newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly events. *Science* 248 :850-854, 1990.
13. Bednar, M.M., Gross, C.E., Simple Whole Blood Procedure for Neutrophil Aggregation & Chemiluminescence with the Chrono-Log Whole Blood Lumi-Aggregometer. *Chrono-Log Corporation News*, 2-5, 2001.
14. Belcastro, A.N., Shewchuk, L.D., Raj, D.A., Exercise-induced muscle injury: a calpain hypothesis. *Mol Cell Biochem.* Feb;179(1-2):135-45. Review, 1998.
15. Benjamin, I.J., Kroger,B.,Williams, R.S., Activation of heat shock transcription factor by hypoxia in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87(16); 6263-7, 1990.

16. Brockett, C.L., Morgan, D.L., Proske, U., Human hamstring muscles adapt to eccentric exercise by changing optimum length. *Med Sci Sports Exerc.* May;33(5):783-90, 2001.
17. Brown, L.M., Hill, L.M., Some observation on variations in filament overlap in tetanized muscle fibres and fibres stretched during a tetanus, detected in the electron microscope after rapid fixation. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 12: 171- 182, 191, 1991.
18. Brown, S.J., Child, R.B., Day, S.H., Donnelly, A.E., Exercise-induced skeletal muscle damage and adaptation following repeated bouts of eccentric muscle contractions. *J Sports Sci.* Apr;15(2):215-22, 1997.
19. Byrne, C., Eston, R., The effect of exercise-induced muscle damage on isometric and dynamic knee extensor strength and vertical jump performance. *J Sports Sci.* May;20(5):417-25, 2002.
20. Byrnes, W.C., Clarkson, P.M., Delayed onset muscle soreness and training. *Clin Sports Med.* Jul;5(3):605-14, Review, 1986.
21. Cardinal, D.C., Flower, R.J., The Electronic aggregometer: A Novel device for Assessing Platelet Behaviour in Blood. *J Pharmacol Met* 3: 135-158, 1980.
22. Chapman, D., Newton, M., Sacco, P., Nosaka, K., Greater muscle damage induced by fast versus slow velocity eccentric exercise. *Int J Sports Med.* Aug;27(8):591-8, 2006.
23. Chen, T.C., Hsieh, S.S., Effects of a 7-day eccentric training period on muscle damage and inflammation. *Med Sci Sports Exerc.* Oct;33(10):1732-8, 2001.
24. Clarkson, P.M., Byrnes, W.C., McCormick, K.M., Turcotte, L.P., White, J.S., Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. *Int J Sports Med.* 7(3):152-5, 1986.
25. Clarkson, P.M., Tremblay, I., Exercise-induced muscle damage, repair and adaptation in humans. *J. Appl. Physiol.* 65(1): 1-6, 1988.
26. Clarkson, P.M., Nosako, K., Braun, B., Exercise- induced muscle damage in humans. *Am.J.Phy.Med.Rehabil.* 81(suppl):52-69, 1992a.
27. Clarkson, P.M., Nosaka, K., Braun, B., Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med. Sci. Sports Exerc.* 24(5):512-20, 1992b.
28. Clarkson, P.M., Sayers, S.P., Etiology exercise- induced muscle damage *J.Appl.Physiol.* 24 (3):234-248, 1999.
29. Clarkson, P.M., Hubal, M.J., Muscle function after Exercise- induced damage and rapid adaptation. *Amed.and Sci. in Sports and Exercise*, 24 (5) 512-520, 2002a.
30. Clarkson, P.M., Hubal, M.J., Exercise- induced muscle damage in humans. *Am.J. Phys. Med. Rehabil.* 81:11 (supply), 2002b.

31. Cleak, M.J., Eston, R.G., Muscle soreness, swelling, stiffness and strength loss after intense eccentric exercise. *Br J Sports Med.* Dec;26(4):267-72, 1992.
32. Close, G.L., Ashton, T., Cable, N.T., Doran, D.A., Holloway, C., McArdle, F., MacLaren, D.P.M., Prolonged ascorbic acid supplementation attenuates post exercise lipid peroxidation but has no effect on delayed onset muscle soreness following downhill running in man. *J. Physiol.* 555, PC65, 2004a.
33. Close, G.L., Ashton, T., Cable, T., Doran, D., MacLaren, D.P., Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *Eur. J. Appl. Physiol.* 91, 615– 621, 2004b.
34. Crenshaw, A.G., Thornell, L.E., Friden, J., Intramuscular pressure, torque and swelling for the exercise-induced sore vastus lateralis muscle. *Acta Physiol Scand.* Nov;152(3):265-77, 1994.
35. Croisier, J.L., Camus, G., Venneman, I., Deby-Dupont, G., Juchmes-Ferir, A., Lamy, M., Crielaard, J.M., Deby, C., Duchateau, J., Effects of training on exercise-induced muscle damage and interleukin 6 production. *Muscle Nerve.* Feb;22(2):208-12, 1999.
36. Demirel, H.A., Powers, S.K., Caillaud, C., Coombes, J.S., Fletcher, L.A., Vrabas, I., Naito, H., Jessup, J.V., and Ji, L.L., Exercise training reduces myocardial lipid peroxidation following ischemia reperfusion. *Med. Sci Sports Exercise.* 30(8):1211-16, 1998.
37. Demirel, H.A., S.K. Powers, H., Naito, N., Tumer., The effects of exercise duration on adrenal HSP72/73 induction in rats. *Acta physiol. Scand.* 167 (3):227-232, 1999.
38. Demirel, H.A., Powers, S.K., Zergeroglu, M.A., Shanely, R.A., Hamilton, K., Coombes, J., Naito, H., Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *J. Appl. Physiol.* 91(5):2205-2212, 2001.
39. Demirel, H.A., Hamilton, K.L., Shanely, R.A., Tumer, N., Koroly, M.J., Powers, S.K., Age and Attenuation of Exercise-Induced Myocardial HSP72 Accumulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* Oct;285(4):H1609-15, 2003.
40. Di Massimo, C., Scarpelli, P., Tozzi-Ciancarelli, MG., Possible involvement of oxidative stress in exercise-mediated platelet activation. *Clin Hemorheol Microcirc.* 30(3-4):313-6, 2004.
41. Duan, C., Delp, M.D., Hayes, D.A., Delp, P.D., Armstrong, R.B., Rat skeletal muscle mitochondrial [Ca²⁺] and injury from downhill walking. *J Appl Physiol.* Mar;68(3):1241-51, 1990.
42. Ersöz, G., Zergeroglu, A.M., Ficicilar, H., Ozcan, H., Oztekin, P., Aytac, S., Yavuzer, S., Effect of submaximal and incremental upper extremity exercise

- on platelet function and the role of blood shear stress. *Thromb Res.* Dec 15;108(5-6):297-301,. 2002.
43. Eston, R.G., Finney, S., Baker, S. and Baltzopoulos, V., Muscle tenderness and peak torque changes after downhill running following a prior bout of isokinetic eccentric exercise. *Journal of Sports Science* 14, 291-299, 1996.
 44. Evans, W.J., Cannon, J.G., The metabolic effects of exercise-induced muscle damage. *Exerc Sport Sci Rev.*;19:99-125. Review, 1991.
 45. Febbraio, M.A., Koukoulas, I., HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J.Appl.Physiol.* 89 ;1055-1060, 2000.
 46. Febbraio, M.A., Ott, P., Nielsen, H.B., Steensberg, A., Keller, C., Krstrup, P., Secher, N.H., Pedersen, B.K., Exercise induces hepatosplanchnic release of heat shock protein 72 in humans. *J Physiol.* Nov 1;544(Pt 3):957-62, 2002.
 47. Febbraio, M.A., Mesa, J.L., Chung, J., Steensberg, A., Keller, C., Nielsen, H.B., Krstrup, P., Ott, P., Secher, NH., Pedersen, Bente, K., Glucose ingestion attenuates the exercise-induced increase in circulating heat shock protein 72 and heat shock protein 60 in humans. *Cell Stress Chaperones.* October; 9(4): 390–396, 2004.
 48. Fehrenbach, E., Niess, A.M., Voelker, K., Northoff, H., Mooren, F.C., Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *Int J Sports Med.* Sep;26(7):552-7, 2005.
 49. Feige, U., ve Polla, B.S., Heat Shock Proteins: the hsp 70 family. *Multi-Author Reviews*, 1994.
 50. Ficicilar, H., Zergeroglu, A.M., Tekin, D., Ersoz, G., The effects of acute exercise on plasma antioxidant status and platelet response. *Thromb Res.*;111(4-5):267-71, 2003.
 51. Ficicilar, H, Zergeroglu, A.M., Ersoz, G., Erdogan, A., Ozdemir, S., Tekin, D., The effects of short-term training on platelet functions and total antioxidant capacity in rats. *Physiol Res.*;55(2):151-6, 2006.
 52. Finaud, J., Scislowski, V., Lac, G., Durand, D., Vidalin, H., Robert, A., Filaire, E., Antioxidant status and oxidative stress in professional rugby players: evolution throughout a season. *Int J Sports Med.* Feb;27(2):87-93, 2006.
 53. Fink, A.L., Chaperone- mediated protein folding. *Physiological Reviews*, 79 (2):425-449, 1999.
 54. Fitzgerald, G.K., Rothstein, J.M., Mayhew, T.P., Lamb, R.L., Exercise-induced muscle soreness after concentric and eccentric isokinetic contractions *Phys Ther.* 71(7):505-13, 1991.
 55. Freedman, M.S., Buu, N.N., Ruijs, T.C., Williams, K., Antel, J.P., Differential expression of heat shock proteins by human glial cells. *J Neuroimmunol.* Dec;41(2):231-8, 1992.

56. Friden, J., Sjoström, M., Ekblom, B., Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *Int. J. Sports Med.* 4:170-176, 1983.
57. Friden, J., Sfakianos, P.N., Hargens, A.R., Muscle soreness and intramuscular fluid pressure: comparison between eccentric and concentric load. *J Appl Physiol.* Dec;61(6):2175-9, 1986.
58. Friden, J., Sfakianos, P.N., Hargens, A.R., Blood indices of muscle injury associated with eccentric muscle contractions. *J Orthop Res.*;7(1):142-5, 1989.
59. Friden, J. ve Lieber, R.L., Eccentric exercise- induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. *Acta. Physiol scand* 171: 321-326, 2001.
60. Gabai, V.L., Sherman, M.Y., Molecular Biology of Thermoregulation Invited review; interplay between molecular chaperones and signaling pathways in survival of heat shock. *J.Appl.Physiol.*92:1743-1748, 2002.
61. Garramone, R.R., Winters, R.M., Das, D.K., Deckers, P.J., Reduction of skeletal muscle injury through stress conditioning using the heat-shock response. *Plast.Reconstr.surg.*93:1242, 1994.
62. Gibala, M.J., MacDougall, J.D., Tarnopolsky, M.A., Stauber, W.T., Elorriaga, A., Changes in human skeletal muscle ultrastructure and force production after acute resistance exercise. *J Appl Physiol.* Feb;78(2):702-8, 1995.
63. Gleeson, N., Eston, R., Marginson, V., McHugh, M., Effects of prior concentric training on eccentric exercise induced muscle damage. *Br J Sports Med.* Apr;37(2):119-25; 2003.
64. Goldfarb, A.H., Antioxidants: Role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med.sci.Sports Exerc.* 25:232-236, 1993.
65. Goldfarb, A.H., Bloomer, R.J., McKenzie, M.J., Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc;* 37 (2): 234-9, 2005.
66. Hasson, S., Mundorf, R., Barnes, W., Effect of pulsed ultrasound versus placebo on muscle soreness perception and muscular performance. *Scan J Rehabil Med.* 22:199-205, 1990.
67. Head, S.I., Membrane potential, resting calcium and calcium transients in isolated muscle fibres from normal and dystrophic mice. *J. Physiol. (Lond.)* 469: 11-19, 1993.
68. Hill, C.A., Thompson, M.W., Ruell, P.A., Thom, W., White, M.J., Sarcoplasmic reticulum function and muscle contractile character following fatiguing exercise in humans. *J. Physiol.* 531(3):871-8, 2001.
69. Hortobagyi, T., Houmard, J., Fraser, D., Dudek, R., Lambert, J., Tracy, J., Normal forces and myofibrillar disruption after repeated eccentric exercise. *J Appl Physiol.* Feb;84(2):492-8, 1998.

70. Inaguma, Y., Hasegawa, K., Kato, K., Nishida, Y., cDNA cloning of a 20 Kda protein (p20) highly homologous to small heat shock proteins: developmental and physiological changes in rat hindlimb muscle. *Gene* 178, 1996.
71. Jackson, M.J., Papa, S., Bolanos, J., Bruckdorfer, R., Carlsen, H., Elliott, R.M., Flier, J., Griffiths, H.R., Heales, S., Holst, B., Lorusso, M., Lund, E., Oivind Moskaug, J., Moser, U., Di Paola, M., Polidori, M.C., Signorile, A., Stahl, W., Vina-Ribes, J., Astley, S.B., Antioxidants, reactive oxygen and nitrogen species, gene induction and mitochondrial function. *Mol. Aspects Med.* 23, 209–285, 2002.
72. Jones, C., Allen, T., Talbot, J., Morgan, D.L., Proske, U., Changes in the mechanical properties of human and amphibian muscle after eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*;76(1):21-31, 1997.
73. Jones, D.A., Newham, D.J., Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage. *J. Physiology.* 375:435-448, 1986.
74. Jones, D.A., High-and low-frequency fatigue revisited. *Acta Physiol Scand.* Mar;156(3):265-70. Review, 1996.
75. Kano, Y., Matsuno, H., The possibility of novel antiplatelet peptides: the physiological effects of low molecular weight HSPs on platelets. *Curr Pharm Des.*;12(7):887-92. Review, 2006.
76. Kato, K., Shinohara, H., Goto, S., Inaguma, Y., Morishita, R., Asano, T., Copurification of small heat shock protein with α B crystallin from human skeletal muscle. *J Biol Chem* 267: 7718-7725, 1992.
77. Kayashima, S., Ohno, H., Fujioka, T., Taniguchi, N., Nagata, N., Leucocytosis as a marker of organ damage induced by chronic strenuous physical exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*;72(1-2):187-8, 1995.
78. Kayatekin, B.M., Gönenç, S., Açıkgöz, O. ve diğ., Effects of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *Eur J Appl Physiol*; 87: 141-4, 2002.
79. Kestin, A.S., Ellis, P.A., Barnard, M.R., Erichetti, A., Rosner, B.A., Michelson, A.D., Effect of strenuous exercise and moderate exercise on platelet activation state and reactivity. *Circulation*; 88:1502-11, 1993.
80. Khassaf, M., Child, R.B., McArdle, A., Brodie, D.A., Esanu, C., Jackson, M.J., Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. *J. Appl. Physiol.* 90, 1031– 1035, 2001.
81. Kilgore, J.L., Musch, T.I., Ross, C.R., Physical activity, muscle, and the HSP70 response. *Can J Appl Physiol.* Jun;23(3):245-60. Review, 1998.
82. Kinnunen, S., Hyypä, S., Lappalainen, J., Oksala, N., Venojärvi, M., Nakao, C., Hanninen, O., Sen, C.K., Atalay, M., Exercise-induced oxidative stress and muscle stress protein responses in trotters. *Eur J Appl Physiol.* 93(4):496-501, 2005.
83. Koh, T.J., Do small heat shock proteins protect skeletal muscle from injury? *Exerc.sport. sci. rev.* 30(3), 117-121, 2002.

84. Koot, R.W., Amelink, G.J., Blankenstein, M.A ve diğ., Tamoksifen and oestrogen both protect the rat muscle membrane against physiological damage. *J.Steroid Biochem. Mol.Biol.* 40: 689-695, 1991.
85. Koşar, Ş.N., Naito, H., Demirel, H.A., Diyabetik Sıçanlarda Sıcak Stresi ve Kas Atrofisi. *Spor Bilimleri Dergisi*, 16(2):77-94, 2005.
86. Kregel, K.C., Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol.* May;92(5):2177-86. Review, 2002.
87. Kuipers, H., Drukker, J., Frederik, P.M., Geurten, P., van Kranenburg, G., Muscle degeneration after exercise in rats. *Int J Sports Med.* Feb;4(1):45-51, 1983.
88. Kuipers, H., Exercise-induced muscle damage. *Int. J. Sports Med.* Apr;15(3):132-5, 1994.
89. Kukreja, R.C., Kontos, M.C., Hess, M.L., Free radicals and heat shock protein in the heart. *Ann N Y Acad Sci.* Sep 30;793:108-22. Review, 1996.
90. Kumar, Y., Chawla, A., Tatu, U., Heat Shock Protein 70 as a Biomarker of Heat stress in a stimulated Hot Cockpit. *Aviation Space Environ Med* 74: 711- 6, 2003.
91. Lancaster, G.I., Moller, K., Nielsen, B., Secher, N.H., Febbraio, M.A., Nybo, L., Exercise induces the release of heat shock protein 72 from the human brain in vivo. *Cell Stress Chaperones.* Autumn;9(3):276-80, 2004.
92. Lavoie, J.N., Lambert, H., Hickey, E., Weber, L.A., Landry, J., Modulation of cellular thermoresistance and actin filament stability accompanies phosphorylation-induced changes in the oligomeric structure of heat shock protein 27. *Mol Cell Biol.* 15(1):505-16, 1995.
93. Lee, J., Goldfarb, A.H., Rescino, M.H., Hegde, S., Patrick, S., Apperson, K., Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc.* Mar;34(3):443-8, 2002.
94. Lieber, R.L., Friden, J., Muscle damage is not a function of muscle force but active muscle strain. *J. Appl.physiol.* 74:520-7, 1993.
95. Lieber, R.L., Schmitz, M.C, Mishra, D.K, Friden, J., Contractile and cellular remodeling in rabbit skeletal muscle after cyclic eccentric contractions. *J Appl Physiol.* ; 77 (4): 1926-34, 1994.
96. Lieber, R.L., Thornell, L.E., Friden, J., Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. *J Appl Physiol.* Jan;80(1):278-84, 1996.
97. Lieber, R.L., Friden, J., Mechanisms of muscle injury after eccentric contraction. *J Sci Med Sport.* Oct;2(3):253-65. Review, 1999.
98. Linari, M., Piazzesi, G., Dobbie, I., Koubassova, N., Reconditi, M., Narayanan, T., Diat, O., Irving, M., Lombardi, V., Interference fine structure and sarcomere length dependence of the axial x-ray pattern from active single muscle fibers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jun 20;97(13):7226-31, 2000.

99. Lindquist, S., Petersen, R., Selective translation and degradation of heat-shock messenger RNAs in *Drosophila*. *Enzyme*;44(1-4):147-66. Review, 1990.
100. Liu, Y., Mary, S., Opitz-Gress, A., Zeller, C., Lormes, W., Baur, S., Lehmann, M., Steinacker, JM. Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. *J Appl Physiol*. 86(1):101-4. 1999.
101. Liu, Y., Steinacker, J.M., Changes in skeletal muscle heat shock proteins: pathological significance. *Front Biosci*. Jan 1;6:D12-25. Review, 2001.
102. Locke, M., Noble, E.G. Stress Proteins: The Exercise Response. *Can.J.Appl. Physiol*. 20(2): 155-177, 1995.
103. Locke, M., The Cellular stress Response to exercise: Role of stress proteins. *Exercise Science Sports Rev*. 25; 105-136, 1997.
104. Locke, M., Overview of stress response. "Exercise and Stress Response."(Ed. M., Locke, E.G., Noble) LLC, USA, 2002.
105. Lowe, D.A., Warren, G.L., Hayes, D.A., Farmer, M.A., Armstrong, R.B., Eccentric contraction-induced injury of mouse soleus muscle: effect of varying [Ca²⁺]. *J Appl Physiol*. Apr;76(4):1445-53, 1994.
106. MacIntyre, D.L., Reid, W.D., Lyster, D.M., Szasz, I.J., McKenzie, D.C., Presence of WBC, decreased strength, and delayed soreness in muscle after eccentric exercise. *J Appl Physiol*. Mar;80(3):1006-13, 1996.
107. MacIntyre, D.L., Sorichter, S., Mair, J., Berg, A., McKenzie, D.C., Markers of inflammation and myofibrillar proteins following eccentric exercise in humans. *Eur J Appl Physiol*. Mar;84(3):180-6, 2001.
108. Macpherson, P.C., Schork, M.A., Faulkner, J.A., Contraction-induced injury to single fiber segments from fast and slow muscles of rats by single stretches. *Am J Physiol*. Nov;271(5 Pt 1):C1438-46, 1996.
109. Malm, C., Nyberg, P., Engstrom, M., Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. *J. Physiol* : 529: 243- 62, 2000.
110. Marber, M.S., Walker, J.M., Latchman, D.S., Yellon, D.M., Attenuation by heat stress of a submaximal calcium paradox in the rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol*. Sep;25(9):1119-26, 1993.
111. Mattson, J.P., Ross, C.R., Kilgore, J.L., Musch, T.I., Induction of mitochondrial stress proteins following treadmill running. *Med.Sci.Sports.Exerc*. 32,365-369, 2000.
112. Mc Hugh, M.P., Connolly, D.A.J., Eston, R.G., Kremenec, I.J., Nicholas, S.J. ve Gleim, G. Electromyographic analysis of exercise resulting in symptoms of muscle damage. *Journal of Sports Sciences*, 18, 163-172, 2000.
113. McHugh, M.P., Tetro, D.T., Changes in the relationship between joint angle and torque production associated with the repeated bout effect. *J Sports Sci*. Nov;21(11):927-32, 2003.

114. McArdle, A., van der Meulen, J.H., Catapano, M., Symons, M.C., Faulkner, J.A., Jackson, M.J., Free radical activity following contraction-induced injury to the extensor digitorum longus muscles of rats. *Free Radic Biol Med.* May;26(9-10):1085-91, 1999.
115. McArdle, A., Pattwell, D., Vasilaki, A., Griffiths, R.D., Jackson, M.J., Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. *Am J Physiol Cell Physiol.* Mar;280(3):C621-7, 2001.
116. Miliadis, G.A., Nomikos, T., Fragopoulou, E., Athanasopoulos, S., Antonopoulou, S., Effects of eccentric exercise-induced muscle injury on blood levels of platelet activating factor (PAF) and other inflammatory markers. *Eur J Appl Physiol.* Dec;95(5-6):504-13. Epub 2005 Sep 6, 2005.
117. Morgan, D.L., New insight into the behavior of muscle during active lengthening, *Biophys. J.* 57, 209-221, 1990.
118. Morgan, D.L., Clafin, D.R., Julian, F.J., The effects of repeated active stretches on tension generation and myoplasmic calcium in frog single muscle fibres. *J Physiol.* Dec 15;497 (Pt 3):665-74, 1996.
119. Morgan, D.L., Allen, D.G., Early events in stretch-induced muscle damage. *J. Appl. Physiol.* 87(6) 2007-2006, 1999.
120. Moseley, P.L., Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. *J. Appl. Physiol.* 83, 1413-1417, 1997.
121. Naesh, O., Hindberg, I., Trap-Jensen, J., Lund, J.O., Post-exercise platelet activation-aggregation and release in relation to dynamic exercise. *Clin Physiol;* 10: 221-30, 1990.
122. Naito, H., N. Tumer., The effects of exercise duration on adrenal HSP72/73 induction in rats. *Acta physiol. Scand.* 167 (3):227-232, 1999.
123. Naito, H., S.K. Powers, Demirel, H.A., Takao, Sugiura, Dodd, S.L., Aoki, J., Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb-unweighted rats. *J. Appl. Physiol.* 88:359-363, 2000.
124. Newham, D.J., Jones, D.A., ve Edwards, R.H., Large delayed plasma creatine kinase changes after stepping exercise. *Muscle and Nerve* 6, 380-385, 1983.
125. Newham, D.J., The consequences of eccentric contractions and their relationship to delayed onset muscle pain. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.*;57(3):353-9, 1988.
126. Newham, D.J., Jones, D.A., Ghosh, G. ve Aurora, P., Muscle fatigue and pain after eccentric contractions at long and short length. *Clinical Science* 74, 553-557, 1988.
127. Nguyen, H.X., Tidball, J.G., Interactions between neutrophils and macrophages promote macrophage killing of rat muscle cells in vitro. *J Physiol* 547(1): 125–132, 2003.

128. Nosaka, K., Clarkson, P.M., McGuiggin, M.E., Byrne, J.M., Time course of muscle adaptation after high force eccentric exercise. *Eur.J.Appl.physiol.* 63:70-76, 1991.
129. Nosaka, K. ve Clarkson, P.M., Muscle damage following repeated bouts of high force eccentric exercise. *Medicine and Science in Sports& Exercise* 27, 1263-1269, 1995.
130. Nosaka, K. ve Clarkson, P.M., Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of elbow flexors. *Med.Sci. Sports Exerc* 28, 953-961, 1996.
131. Nosaka, K., Sakamoto, K., Effect of elbow joint angle on the magnitude of muscle damage to the elbow flexor muscle damage. *Med.Sci. Sports Exerc* 33 (1) 22-29, 2001.
132. Nosaka, K., Sakamoto, K., Newton, M., Sacco, P., How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last. *Med.Sci. Sports Exerc* 33 (9)1490-1495, 2001a.
133. Nosaka, K., Sakamoto, K., Newton, M., Sacco, P., The repeated bout effect of reduced-load eccentric exercise on elbow flexor muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 85 (1-2):34-40, 2001b.
134. Nosaka, K., Newton, M., Concentric or eccentric training effect on eccentric exercise-induced muscle damage. *Med Sci Sports Exercise.* 34(1) 63-69, 2002a.
135. Nosaka, K. Newton, M., Repeated eccentric exercise bouts do not exacerbate muscle damage and repair. *J Strength Cond res.* 16 (1): 117-122, 2002b.
136. Nosaka, K., Sakamoto, K., Newton, M., Sacco, P., Influence of Pre-Exercise Muscle temperature on responses to eccentric exercise. *J Athl Train.* Jun;39(2):132-137, 2004.
137. Nosaka, K., Muthalib, M., Lavender, A., Laursen, P.B., Attenuation of muscle damage by preconditioning with muscle hyperthermia 1-day prior to eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol.* Jan;99(2):183-92, 2007.
138. Oehler, R., Pusch, E., Zellner, M., Dangel, P., Hergovics, N., Homoncik, M., Eliassen, M.M., Brabec, M., Roth, E., Cell type-specific variations in the induction of hsp70 in human leukocytes by feverlike whole body hyperthermia. *Cell Stress Chaperones.* 6(4): 306-315, 2001.
139. Palmer, F.M., Nieman, D.C., Henson, D.A., ve diğ., Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *Eur J Appl Physiol;* 89: 100-7, 2003.
140. Paschalis, V., Giakas, G., Baltzopoulos, V., Jamurtas, A.Z., Theoharis, V., Kotzamanidis, C., Koutedakis, Y., The effects of muscle damage following eccentric exercise on gait biomechanics. *Gait Posture.* May 19, 2006.
141. Paulsen, G., H. B. Benestad, I. Strøm-Gundersen, L. Mørkrid, K. T. Lappegård, And T. Raastad. Delayed Leukocytosis And Cytokine Response

To High-Force Eccentric Exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, Vol. 37, No. 11, Pp. 1877–1883, 2005.

142. Peake J, Suzuki K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev.*;10:129-41. Review, 2004.
143. Petrof, B. J., J. B. Shrager, H. H. Stedman, A.M. Kelly, and H. L. Sweeney., Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 3710–3714, 1993.
144. Powers, S.K., Locke, M., Demirel, H.A., Exercise, heat shock proteins, and myocardial protection from I-R injury *Med. Sci Sports Exercise.* Mar33(3):386-92, 2001.
145. Preville, X., Salvemini F., Giraud S., Chaufour S., Paul C., Stepien, G., Ursini M.V., Arrigo A.P., Mammalian small stress proteins protect against oxidative stress through their ability to increase glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and by maintaining optimal cellular detoxifying machinery. *Exp Cell Res.*25;247 (1):61-78, 1999.
146. Punschart, A., Vogt, M., Widmer, H.R., Hoppoler, H., Billeter, R., HSP70 expression in human skeletal muscle after exercise. *Acta Physiol Scand.* 157, 411-417, 1996.
147. Rodenburg, J.B., Schiereck, P., ve Bär, P.R., Effect of warming up, stretching and massage on muscle damage due to negative work. *Pflügers Arch.* 420: R137, 1992.
148. Round, J.M., Jones, D.A., Cambridge, G., Cellular infiltrates in human skeletal muscle: exercise induced damage as a model for inflammatory muscle disease? *J Neurol Sci.* Dec;82(1-3):1-11, 1987.
149. Salo, D.C., Donovan, C.M., Davies, K.J., HSP70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart, and liver during exercise. *Free Radic Biol Med.*11(3):239-46, 1991.
150. Saxton, J.M., Clarkson, P.M., James, R. ve diğ. Neuromuscular dysfunction following eccentric exercise. *Med. Sci. Sports exercise.* 27: 1185-93, 1995.
151. Saxton, M.J., Donnelly, A.E., Light concentric exercise during recovery from exercise-induced muscle damage. *Int. J. Sports Med.* 16(6), 347-351, 1995.
152. Sayers, S.P., Clarkson, P.M., Lee, J., Activity and immobilization after eccentric exercise: II. Serum CK. *Med. Sci. Sports Exerc.* 32(9):1593-7, 2000.
153. Sayers, S.P., Clarkson, P.M., Short- Term Immobilization after Eccentric exercise. Part: Creatine Kinase and Myoglobin. *Medicine and Science in Sports& Exercise* ; 35: 762-768, 2003.
154. Smith, LL., Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness? *Med Sci Sports Exerc.* May;23(5):542-51, 1991.

155. Smith, L.L., Fulmer, M.A., The impact of a repeated bout of exercise on muscular strength, muscle soreness and creatine kinase. *Br. J. Sp. Med.* 28(4), 1994.
156. Smith, MA, Reid, M.B., Redox modulation of contractile function in respiratory and limb skeletal muscle. *Respir Physiol Neurobiol.* Apr 28;151(2-3):229-41, Review, 2006.
157. Smolka, M.B., Zoppi, C.C., Alves, A.A., Silveira, L.R., Marangoni, S., Pereira-Da-Silva, L., Novello, J.C., Macedo, D.V., HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* Nov;279(5):R1539-45, 2000.
158. Stupka, N., Tarnopolsky, M.A., Yardley, N.J., Phillips, S.M., Cellular adaptation to repeated eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol.* Oct;91(4):1669-78, 2001.
159. Suzuki, K., Sato, H., Kikuchi, T., Abe, T., Nakaji, S., Sugawara, K., Totsuka, M., Sato, K., Yamaya, K., Capacity of circulating neutrophils to produce reactive oxygen species after exhaustive exercise. *J Appl Physiol.* Sep;81(3):1213-22, 1996.
160. Suzuki, K., Peake, J., Nosaka, K., Okutsu, M., Abbiss, C.R., Surriano, R., Bishop, D., Quod, M.J., Lee H., Martin, D.T., Laursen, P.B., Changes in markers of muscle damage, inflammation and HSP70 after an Ironman Triathlon race. *Eur J Appl Physiol.* Dec;98(6):525-34, 2006.
161. Symons, T.B., J.L. Clasey, D.R. Gater, ve J.W. Yates., Effects of deep heat as a preventative mechanism on delayed onset muscle soreness. *J. Strength Cond. Res.* 18(1):155–161. 2004.
162. Thomas, J.A., Noble, E.G., Heat shock does not attenuate low-frequency fatigue. *Can J Physiol Pharmacol.* Jan;77(1):64-70, 1999.
163. Thompson, H.S., Scordilis, S.P., Clarkson, P.M., Lohrer, WA., A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle. *ActaPhysiolScand.* 171(2):187-93, 2001.
164. Thompson, H..S., Clarkson, P.M., Scordilis, S.P., The repeated bout effect and heat shock proteins: intramuscular HSP27 and HSP70 expression following two bouts of eccentric exercise in human. *Acta Physiol Scand.* 174:187-93, 2002.
165. Thompson, H.S., Maynard, E.B., Morales, E.R., Scordilis, S.P., Exercise–induced HSP27 and HSP70 and MAPK responses in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 178:61-72, 2003.
166. Tidball J.G., Interactions between muscle and the immune system during modified musculoskeletal loading. *Clin Orthop Relat Res.* Oct;(403 Suppl):S100-9. Review, 2002.
167. Tidball J.G., Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* Feb;288(2):R345-53. Review, 2005.

168. Tiidus, P.M., Radical Species in inflammation and overtraining . *Can J.Physiol Pharmacol.* 76: 533-538, 1998.
169. Tokmakidis, S.P., Kokkinidis, E.A., Smilios, I., Douda, H., The effects of ibuprofen on delayed muscle soreness and muscular performance after eccentric exercise.*J Strength Cond Res.* Feb;17(1):53-9, 2003.
170. Tonkonogi, M., Harris, B., Sahlin, K., Mitochondrial oxidative function in human saponin-skinned muscle fibres: effects of prolonged exercise. *J Physiol.* Jul 1;510 (Pt 1):279-86, 1998.
171. Tozzi-Ciancarelli, M.G., Penco, M., Di Massimo, C., Influence of acute exercise on human platelet responsiveness: possible involvement of exercise-induced oxidative stress. *Eur J Appl Physiol.* Jan;86(3):266-72, 2002.
172. Van der Meulen, J.H., Kuipers, H., Drukker, J., Relationship between exercise-induced muscle damage and enzyme release in rats. *J Appl Physiol.* Sep;71(3):999-1004, 1991.
173. Vasankari, T.J., Kujala, U.M., Vasankari, T.M., diğ., Effects of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidants defenses. *Free Radic Biol Med;* 22 (3): 509-13, 1997.
174. Walden, D.L., McCutchan, H.J., Enquist, E.G., Schwappach, J.R., Shanley, P.F., Reiss, O.K., Terada, L.S., Leff, J.A., Repine, J.E., Neutrophils accumulate and contribute to skeletal muscle dysfunction after ischemia-reperfusion. *Am J Physiol.* Dec;259(6 Pt 2):H1809-12, 1990.
175. Walsh, R.C., Koukoulas, I., Garnham, A., Moseley, P.L., Hargreaves, M., Febbraio, M.A., Exercise increases serum HSP72 in humans. *Cell Stress Chaperones.* 6(4):386-93, 2001.
176. Wang, K., McCarter, R., Wright, J., Beverly, J., Ramirez-Mitchell, R., Viscoelasticity of the sarcomere matrix of skeletal muscles. The titin-myosin composite filament is a dual-stage molecular spring. *Biophys J.* Apr;64(4):1161-77, 1993.
177. Wang, J.S., Jen, C.J., Kung, H.C., Lin, L.J., Hsiue, T.R., Chen, H.I., Different effects of strenuous exercise and moderate exercise on platelet function in men. *Circulation.* Dec;90(6):2877-85, 1994.
178. Warren, G.L., Hayes, D.A., Lowe, D.A., Prior, B.M., Armstrong, R.B., Materials fatigue initiates eccentric contraction-induced injury in rat soleus muscle. *J Physiol.* May;464:477-89. 1993a.
179. Warren, G.L., Lowe, D.A., Hayes, D.A., Karwoski, C.J., Prior, B.M., Armstrong R.B., Excitation failure in eccentric contraction-induced injury of mouse soleus muscle. *J Physiol.* Aug;468:487-99, 1993b.
180. Warren, G.L., Lowe, D.A., Hayes, D.A., Farmer, M.A., Armstrong, R.B., Redistribution of cell membrane probes following contraction-induced injury of mouse soleus muscle. *Cell Tissue Res.* Nov;282(2):311-20, 1995.

181. Warren, G.L., Lowe, D.A. and Armstrong, R.B. Measurement tools used in the study of eccentric contraction-induced injury. *Sports Medicine* 27, 163-172, 1999.
182. Welch, W.J., Mammalian stress response: Cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiological Reviews*, 72(4):1063-1081, 1992.
183. Westerblad, H., Duty, S., Allen, D.G., Intracellular calcium concentration during low-frequency fatigue in isolated single fibers of mouse skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 75:382-8, 1993.
184. Williams, J.H., Klug, G.A., Calcium exchange hypothesis of skeletal muscle fatigue: a brief review. *Muscle Nerve*. Apr;18(4):421-34. Review, 1995.
185. Zerba, E., Komorowski, T.E., Faulkner, J.A. Free radical injury to skeletal muscles of young, adult, and old mice. *Am. J. Physiol. Cell.* 258:C 429-C435, 1990.