T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
İZMİR ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
2.ORTOPEDİ VE TRAVMATOLOJİ KLİNİĞİ
Klinik Şefi: Prof. Dr. Osman Arslan BORA

İMMOBİLİZASYON VE DENERVASYON ATROFİLERİNİN HİSTO-MORFOLOJİK KARŞILAŞTIRILMASI

(DENEYSEL ÇALIŞMA)

UZMANLIK TEZİ

Dr. Önder CEYLAN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Osman Arslan BORA
İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
2.Ortopedi ve Travmatoloji Klinik Şefi

İzmir, 2009

İÇİNDEKİLER

Teşekkürler	i
1. Giriş	1
2. Genel Bilgiler	3
2a. Kaslar	3
2b. Kas Kasılma Mekanizması	12
2c .Kas Atrofisi	13
3. Gereç Yöntem	25
4. Bulgular	36
4a .Histo-patolojik Bulgular	45
5. Tartışma	56
6. Özet	61
7. Kaynaklar	62

GİRİŞ

Kas lifi sayısında değişiklik olmaksızın lif boyutlarının küçülmesi olarak tanımlanan kas atrofisi açlık(1),uzun süreli yatak isitrahati(2,4),mekanik yükün ortadan kalkması, sinirsizleştirme, kullanmama, yada azalmış yerçekimi(2,3,5,6),ve yaşlılık(7) gibi koşulların yanı sıra çeşitli patoljik koşullarda (sepsis,kronik böbrek yetmezliği,diyabet,kronik kalp yetmezliği,kronik obstüriktif akciğer hastalıkları,kanser vb.) oluşan (9)önemi uzun süre gözden kaçmış ciddi bir komplikasyondur.

Kas atrofisi, kas kuvveti ve dayanıklığının azalmasına ve fiziksel yetersizliğe neden olarak yaşam kalitesini düşürmekte hastalık progresini olumsuz etkilemekte, hastane kalış süresini uzatmakta, morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır(4).

Kas atrofisine yol açan fizyolojik koşullarda temel etkenlerin kassal inaktivite ve kassal uyarım eksikliğinin olduğu anımsanırsa kas kitlesinin korunması ve atrofini önlenmesinde ayrı yeri olduğu açıktır. Öte yandan, kas kaybına yol açan katabolik koşullarda uygun egzersiz programının kas kitlesi, kuvveti ve dayanıklılığını artırarak kişilerin günlük yaşam aktivitelerinde daha bağımsız olmalarını sağladığı bildirilmiştir(4).

Kas atrofisinin tam anlaşılması için farklı koşularda ve yöntemlerde çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda kliniktede en çok atrofi nedenlerinden, kullanmama ve kassal inaktivasyona neden olan periferik denervasyon modelleri kullanılmıştır. Deneysel çalışma modellerinde daha çok insan iskelet kası benzerlik gösteren sıçanlar üzerinde yapılmıştır.

Ağırlık vermeme (deney hayvanın kuyruktan aslıması) veya diğer kullanmama modellerinde iskelet kası liflerinde, konnektif doku, kemik ve mineral metobalizma değişiklikleri meydana gelmektedir.Bu farklı adaptasyon mekanizmaları için sıçan modellerinde kuyruktan asma, arka baçağın alçı, eksternal fixasyon,flaster ile immobilizasyon yöntemleri kullanılmıştır(4).

Daha önceki çalışmalar, immobilizasyon atrofisi esnasında kasta oksidatif streslerin arttığını ve buna bağlı olarak gelişen zararlı etkileri açıklanmıştır. immobilizasyon esnasında dokuda meydana gelen oksidatif stres kas atrofisine neden olan mekanizmalardan biridir(4).

İnaktivasyon modeli için kullanılan yöntem gene uygulama ve takip kolaylığı açısında sıçanlar seçilmiştir.Sıçanların siyatik siniri diseksiyon sonrası yaklaşık 1 cm'lik kısmı rezeksiyon yapılmıştır(35).

Yapılan bu çalışma modellerinde, oluşturulan atrofilerin mikroskobik çalışmaları yapılmış ancak kas atrofilerinin morfolojik değişiklikleri üzerinde yakın dönemde fazla durulmamıştır.

Bu çalışmamızda oluşturduğumuz immobilizasyon ve denervasyon atrofisi modellerinin morfolojik değişikliklerini karşılaştırmayı bu bilgiler ışığında kas transferleri sonrası rejenerasyon kapasitesi, kasılabilirlik ve kayma miktarı hakkında ki bilgilerimize yararı olabileceğini düşünüyoruz.

GENEL BİLGİLER

Kaslar

Bütün insan hareketleri, göz kırpmadan maraton koşmaya kadar, iskelet kaslarının uygun fonksiyonlarına bağlıdır. Hayvan ve insanları bitkilerden ayıran en önemli özellik, amaca yönelik hareketler ve istemli kas kontraksiyonlarıdır.

Hareket sistemimizin temelini iskelet ve kas oluşturur. Yaklaşık vücut ağırlığımızın %50 sini kaslar oluşturmaktadır. Işık mikroskobunda enine çizgilere göre kaslar, çizgili ve düz kaslar olarak ikiye ayrılmaktadır. Çizgili kaslar (kalp kası hariç) istemli kaslardır ve daha hızlı kasılabilme yeteneğine sahiptir .

Kas dokusu:

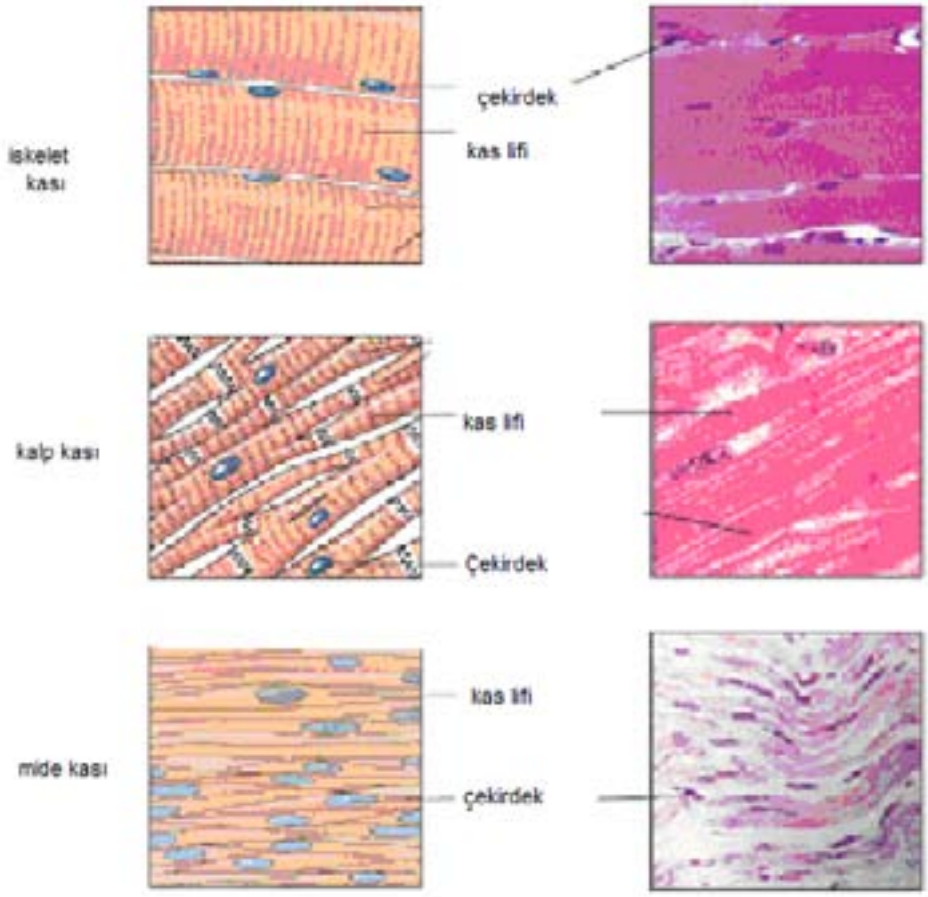
Vücudun hareketinden sorumlu, ince uzun biçimli kas hücrelerinden oluşan bir dokudur.

Kas hücre stoplazmalarında kasılabilen protein iplikciklerinin(miyofibril) çok miktarda bulunuşu hücreye kasılabilme özelliği kazandırır. fonksiyone ve yapısal özelliklerine göre 3 tip kas dokusu mevcuttur(şekil 1),

1-Çizgili kas: Kemikleri birbirine bağlar, istemli olarak kasılır. spinal sinirlerle innerve olur.

2-Düz kas: Çoğunlukla içi boş organların duvarlarında bulunur. İstemsiz kasılır. Otonomik sinirlerle innerve olur.

3-Kalp kası: Kalp ve Kalbe giren büyük damarların duvarında bulunur.

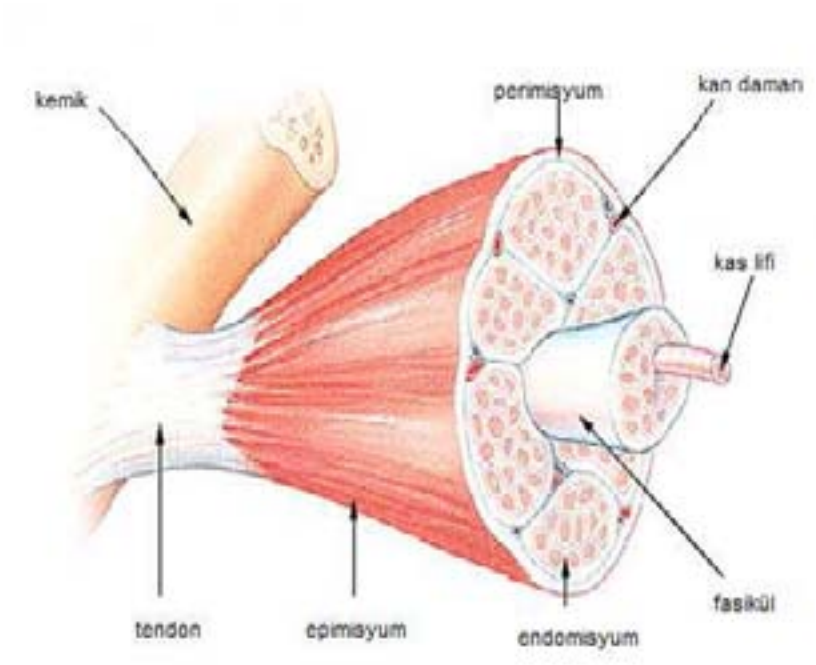


Şekil–1*: Kas dokularının mikroskopik yapısı

İskelet Kası:

Çok sayıda birbirine paralel kas hücreleri kas fasikulusunu oluşturur. Fasikulusların çevresini saran dokuya perimisyum denir. Birçok kas fasikulusu bir çizgili kası yapar.Üzerini yapan bağ dokusuna epimisyum denir(şekil 2).

*:Prof.Dr.Nurten Galip 2002 yılı fizyoloji ders notları sunumu



Şekil -2*: İskelet kas yapısı

Kas Lifi Tipleri: Memelilerde çizgili kaslar, enzim aktiviteleri ve fonksiyonları yönünden farklılık gösterir. Bu farklılığı, yapılarında bulunan beyaz (hızlı) ve kırmızı (yavaş) liflerin oranları oluşturur . Kemiricilerde yapılan çalışmalarda, iskelet kasında üç tip lif ayırt edilmistir.

1. Kırmızı lifler (Tonik): Miyozin ATPaz aktivitesi ve glikolitik enzim aktivitesi düşük, oksidatif enzim aktivitesi yüksektir. Ekstra oksijen gereksinimlerine bağlı olarak, kapillerleri ve mitokondri sayıları artmıştır. Çok sayıda oksijen taşıyan myoglobin ve Fe+ taşıyan enzim içerirler. Bunlarda lipid metabolizması çok yüksektir ve yavaş lifler olarakta bilinirler .

2. Beyaz lifler (Fazik): Myozin ATPaz ve glikolitik enzim aktivitesi yüksek, oksidatif enzim aktivitesi düşük liflerdir. Lifleri büyüktür. Ca2+ iyonlarının hızlı salınıp, geri çekilebilmesi için sarkoplazmik retikulumları çok gelişmiştir.

*:Prof.Dr. Nurten Galip 2002 yılı fizyoloji ders notları sunumu

Myoglobin içeriği ve lipid metabolizması düşüktür. Hızlı ve ince hareketler için özelleşmişlerdir .

3. İntermediate lifler: Kırmızı, hızlı liflerdir. Hem glikolitik hemde oksidatif metabolizma enzimleri yüksektir. Myoglobin içeriği ve lipid metabolizması orta derecelidir .

İskelet Kasının Fizyolojik Anatomisi

Kas hücresi diğer hücrelerden farklı olarak uzun, iğ seklindedir ve fibril adını alır. Kas hücresi farklı yapılardan meydana gelmektedir .

Sarkolemma: Sarkolemma, kas lifinin hücre membranıdır. Plazma membranı denilen gerçek hücre membranı ile birçok ince kollajen fibril içeren bir polisakkarit tabakasından meydana gelen dıs kılıftan ibarettir. Kas lifinin ucunda, sarkolemmanın bu yüzey tabakası bir tendon lifiyle kaynasır. Daha sonra tendon lifleri kas tendonunu oluşturmak üzere demetler halinde birleşir ve kemiğe yapışırlar (34).

Sarkoplazma: Myofibriller kas lifinde sarkoplazma denilen intrasellüler maddelerden olusan bir matriks içinde asılıdır. Sarkoplazma sıvısı potasyum, magnezyum, fosfat ve protein yapıda enzimler içerir (34).

Sarkoplazmik Retikulum: Sarkoplazma içerisinde bulunan zengin endoplazmik retikuluma kas lifinde sarkoplazmik retikulum denir. Retikulumun kas kasılmasının kontrolünde oldukça önemli bir rolü vardır. Hızlı kasılan kas tiplerinde sarkoplazmik retikulumun özellikle yogun olması bu yapının hızlı kas kasılmasında önemli olduğunu gösterir (34).

Mitokondriler: Hücrenin enerji santralleri olarak bilinir. Mitokondriler olmadan hücre besinler ve oksijenden önemli miktarda enerji elde edemez ve sonuçta tüm hücresel işlevler durur. Mitokondriler tüm sitoplazma bölümlerinde bulunurlar ama hücre içindeki sayıları hücrenin gereksinim duyduğu enerji miktarına göre yüz ile birkaç bin arasında değişebilir. Ayrıca mitokondriler hücrede enerji metabolizmasının yoğun olduğu bölgelerde toplanırlar. Biçim ve boyutları da farklı

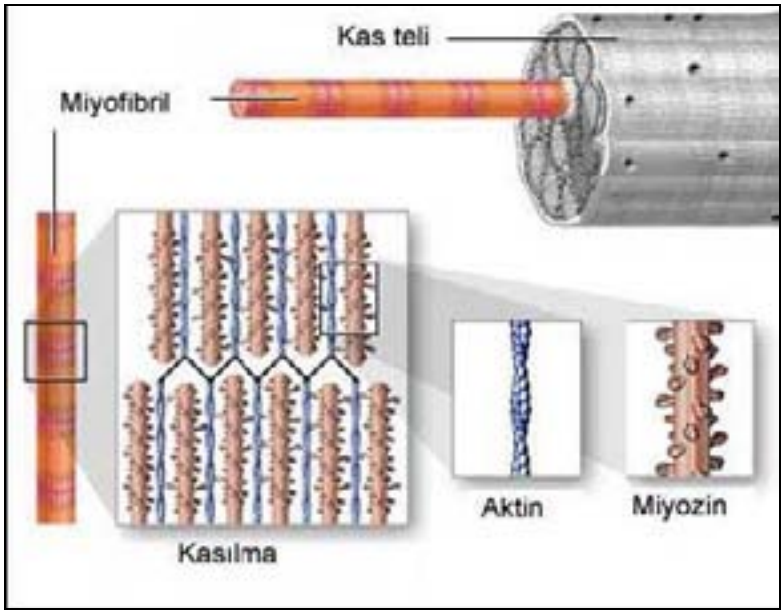
olabilir, bazıları birkaç yüz nanometre çapında ve globüler biçimde olabilir, bazıları da dallanmış ve flamentöz yapıda olabilir.

Mitokondrinin yapısında lipid çift kat proteinden oluşmuş iki zarı vardır. iç membranın oluşturduğu kıvrımlara oksidatif enzimler tutunur. Mitokondri içindeki boşluk, besinlerden enerji elde edilmesi için gerekli olan çözünmüş enzimleri içeren bir matriksle doludur. Bu enzimler iç membrana tutunmuş olan enzimlerle işbirliği halinde çalışarak besinlerin oksidasyonunu, sonuçta su ve karbondioksit olusumunu ve bunlarla es zamanlı olarak enerji serbestlemesini sağlarlar. Açığa çıkan enerji, adenozin trifosfat (ATP) adı verilen yüksek enerjili bir bileşiğin sentezlemesi için kullanılır.

Mitokondriler kendilerini çoğaltabilirler; hücrede enerji gereksinimi arttığında bir mitokondriden iki, üç mitokondri oluşabilir.

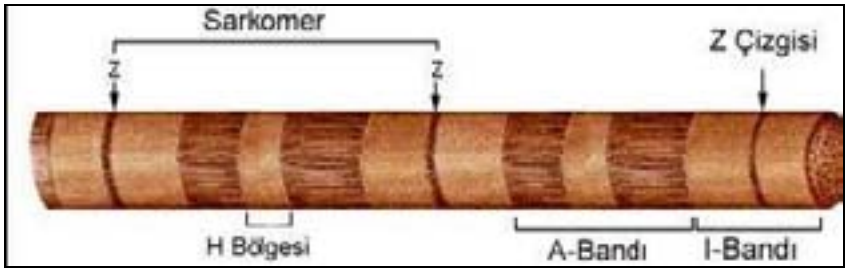
İskelet Kasının Kontraktil Elemanları

Her kas lifi birkaç yüz ile birkaç bin arasında myofibril içerir. Her myofibrilde yan yana uzanan yaklaşık 1500 myozin flamenti ve 3000 aktin flamenti vardır. Bunlar kas kasılmasından sorumlu olan büyük polimerize proteinlerdir(şekil-3)



Şekil- 3*: Kas lifinin ince yapısı

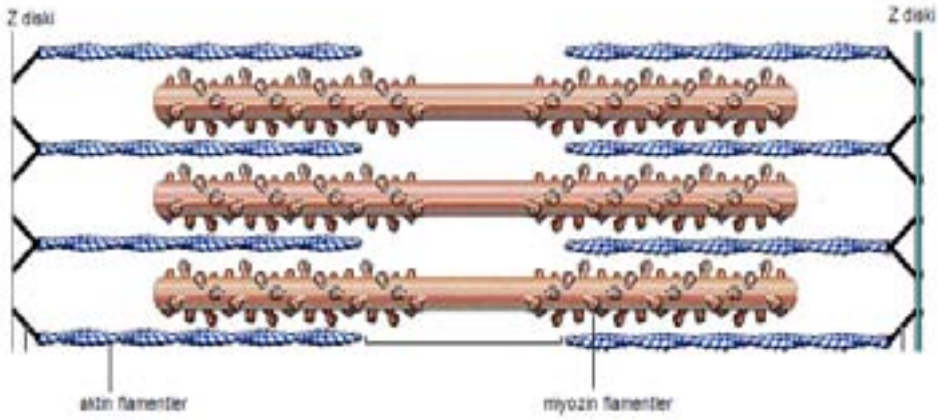
*:Prof.Dr. Nurten Galip 2002 yılı fizyoloji ders notları sunumu



Şekil-4*: Kas miyofibril yapısı

Şekil 3'de gösterildiği gibi miyozin ve aktin flamentlerinin kısmen iç içe girmesi nedeniyle myofibriller birbirini izleyen koyu ve açık bantlar oluştururlar (Şekil 4). Açık bantlar sadece aktin flamentlerini içerir ve I bandı adını alır. Çünkü polarize ısıga izotropiktirler. Koyu bantlar myozin flamentleri ile aralarına giren aktin flamentlerinin uçlarını içerir. Koyu bantlara A bandı denir, çünkü polarize ısıga anizotropiktirler. Ayrıca myozin flamentlerinin yan taraflarından çıkan küçük çapraz köprüler bulunur (Şekil 1).Çapraz köprüler flament boyunca tam orta bölümler dışında yüzeyden çıkıntılar yaparlar. Çapraz köprülerle aktin flamentleri arasındaki etkilesme kasılmaya neden olur (34).

Şekil 4'de ayrıca aktin flamentlerinin ucunun Z disklerine tutunduğu görülmektedir. Aktin flamentleri bu diskten iki yöne doğru uzanarak myozin flamentlerinin arasına girer. Aktin ve myozin flamentlerinden farklı flamentöz proteinlerden oluşan Z diski, myofibriller arasında çapraz uzanır ve kas lifi boyunca da açık ve koyu bantlar görülür.bu bantlar iskelet ve kalp kasına çizgili görünüm verir(34).



Şekil -5: Sarkomerin** Yapısı

*/**:Prof.Dr. Nurten Galip 2002 yılı fizyoloji ders notları sunumu

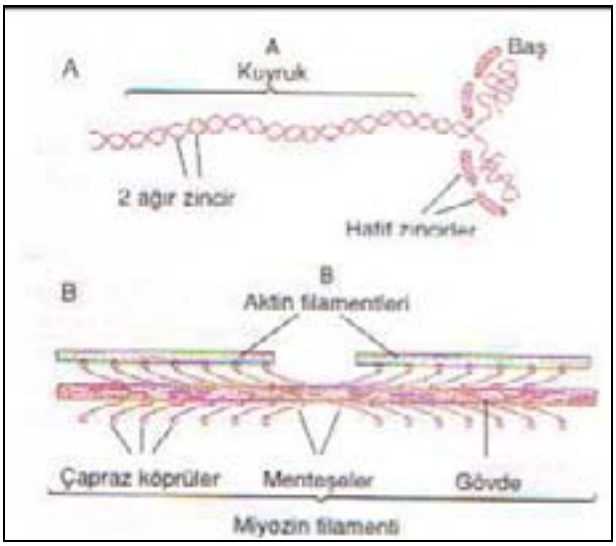
İki Z çizgisi arasında kalan myfibril (veya tüm kas lifi) bölümüne sarkomer denir. Kas lifi istirahatte normal, tam gergin durumunda iken sarkomer boyu yaklaşık 2 mikrometredir. Bu boyda aktin flamentleri miyozin flamentlerinin üzerini örter ve karşılıklı olarak birbiri üzerine gelirler. Sarkomer en büyük kasılma gücünü bu boyda oluşturabilir (34).

Miyozin Flamenti

Miyozin flamenti her birinin ağırlığı 480,000 kadar olan birçok myozin molekülünden oluşmuştur. Şekil 4, tek bir molekülü ve myozin flamentini oluşturan moleküllerin organizasyonunu ve aktin flamentinin uçlarıyla etkileşimini göstermektedir.

Miyozin molekülü, herbirinin molekül ağırlığı 200,000 kadar olan iki agır zincir ile molekül ağırlıkları 20,000 olan dört hafif zincir olmak üzere altı polipeptid zincirinden oluşmaktadır. İki ağır zincir bir çift sarmal oluşturmak üzere birbiri etrafına spiral olarak sarılır. Myozin molekülünün bu sarmalına kuyruk adı verilir. Bu zincirlerden herbirinin bir ucu kıvrılarak miyozin bası denen globüler polipeptid yapıyı meydana getirir. Dolayısıyla, çift sarmal miyozin molekülünün bir ucunda yan yana uzanan iki serbest bas vardır; sarmalın devam eden kısmına kuyruk denir. İkisi bir basa ait olmak üzere, dört hafif zincirde miyozin basının kısımlarıdır. Bu hafif zincirler kas kasılması sırasında basın fonksiyonunu kontrol etmeye yardım eder.

Miyozin flamenti yaklaşık 200 miyozin molekülünden oluşmuştur. Miyozin molekülünün kuyrukları demet halinde toplanarak flamentin gövdesini oluşturmaktadır; birçok bas ise gövdeden dışarı doğru sarkmıştır. Ayrıca, her miyozin molekülünün sarmal basla beraber yana doğru uzanır ve bası vücuttan uzatan bir kol oluşturur. Dışarı doğru uzanan kollar ve baslara birlikte çapraz köprü denir. Her çapraz köprünün menteşe denen, biri basın miyozin flamentinden ayrıldığı, diğeri iki basın kolla birleştiği yer olmak üzere iki noktada bükülebilir olduğu düşünülmektedir. Bu menteşeli kollar basların, hem miyozin flamentinin gövdesinden dışarı doğru uzaklaşmasını, hem de gövdeye doğru yaklaştırılmasını sağlar (34)(şekil -6).



Şekil 6*: Miyozin molekülü. B. Miyozin filamentini olusturan çok sayıda miyozin molekülü birleşimi.

Her miyozin flamentinin toplam uzunluğu aynı olup, hemen hemen tam olarak 1,6 mikrometredir. Miyozin flamentinin tam ortasında, yaklaşık 0,2 mikrometrik bir mesafede çapraz köprü basları yoktur, çünkü menteşeli kollar miyozin flamentinin ortasından iki ucuna doğru uzanır. Ayrıca miyozin flamenti kendi etrafında döner ve her çapraz köprü seti ve önceki setten 120 derece aksiyal olarak yer değiştirir. Bu durum çapraz köprülerin filamentin etrafında her yönde uzanmasını sağlar (34).

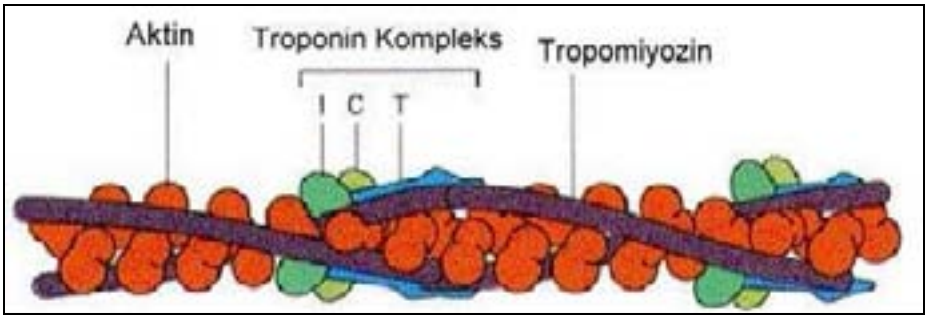
Miyozin başının ATP'az aktivitesi:

Miyozin başının kas kasılması için temel olan diğer özelliği ATP'az enzimi olarak fonksiyon görmesidir. Bu özellik ATP'nin yıkılmasını ve ATP'ın yüksek enerjili fosfat bağlarından elde edilen enerjiyi sağlar.

Aktin Filamenti

Aktin filamenti de üç protein bileşeninden oluşmuş bir komplekstir: aktin, tropomyozin, troponin. Aktin flamentinin bel kemiği, Sekil 5'de gösterilen çift sarmal F-aktin protein molekülüdür. _ki iplik miyozin molekülündekine benzer şekilde sarmal yapar.

*:Guyton Fizyoloji Ders Dotları sf 76.şekil 6-5



Şekil 7*: Aktin iplikleri ve tropomyozin kompleksi

Çift F-aktin sarmalındaki ipliklerin her bir, molekül agırlıgı 42,000 kadar olan polimerize G-aktin moleküllerinden olusmustur. Sarmalın her ipliginin bir döngüsünde bu moleküllerden yaklasık 13 tane vardır. Her G-aktin molekülüne bir adenozin difosfat (ADP) molekülü tutunmustur. Bu ADP moleküllerinin, kas kasılması sırasında aktin flamentlerinin myozin flamentlerinin çapraz köprüleriyle etkilestigi aktif bölgeler oldugu düsünülmektedir. Çift sarmalın iki F-aktin ipligi üzerindeki aktif bölgeler, aktin flamenti boyunca yaklasık her 2,7 nanometrede bir aktif bölge bulunacak sekilde zigzak biçiminde yerlesmistir.

Aktin flamenti yaklasık 1 mikrometre uzunlugundadır. Aktin flamentinin tabanları Z disklerinin içine kuvvetle yerlesirken, diger uçlar her iki yönde komsu sarkomerlerdeki myozin molekülleri arasındaki bosluklara dogru uzanırlar.

Aktin flamentleri tropomyozin denen farklı bir proteinide içerir. Her tropomyozin molekülünün molekül agırlıgı 70,000 ve uzunlugu 40 nanometredir. Bu moleküller F-aktin iplikleri ile zayıf sekilde birlesmis ve F-aktin sarmalının kenarları etrafına spiral olarak sarılmıstır. Dinlenme durumunda tropomyozin moleküllerinin aktin ipliklerinin aktif bölgelerini kapattıgı, dolayısıyla aktin ile myozin arasında kasılmaya neden olacak çekimi engelledigi düsünülür.

Tropomyozin molekülünün bir ucuna tutunmus troponin denen bir baksa protein daha vardır. Troponin gerçekte, her birinin kas kasılmasının kontrolünde

*:Guyton Fizyoloji Ders Dotları sf 77.şekil 6-6

özgül bir rol oynayan, zayıf baglı üç protein alt biriminden olusmus bir komplekstir. Alt birimlerden biri (troponin I) aktin için, digeri (troponin T) tropomyozin için, üçüncü (troponin C) ise kalsiyum iyonları için kuvvetli etkilesim kapasitesine sahiptir. Bu kompleksin tropomyozini aktine bagladıgı düsünülür. Troponinin kalsiyum iyonlarına kuvvetli etkilesim kapasitesi kasılma islemini baslatır (34).

Kas kasılmasının genel mekanizması

Kas kasılmasının başlangıç ve oluşum mekanizmaları aşağıdaki sıra ile olmaktadır.

1-Aksiyon potansiyeli motor sinir boyunca kas lifindeki sonlanmasına kadar yayılır.

2-Her sinir ucundan nörotransmiter olarak az miktarda asetilkolin salınır.

3-Kas lifi membranında lokal bir alanda etki gösteren asetilkolin,membrandaki asetilkolin kapılı kanalları açar.

4-Asetilkolin kanallarının açılması, kas lifi membranından çok miktarda sodyum iyonun içeri girmesini sağlar. Bu olay kas lifinde aksiyon potansiyelini başlatır.

5-Aksiyon potansiyeli sinir membranında olduğu gibi kas lifi membranı boyunca da yayılır.

6-Aksiyon potansiyeli kas lifi membranını depolirize eder ve kas lifi içine doğru yayılarak, sarkoplazmik retikulumda depolanmış olan kalsiyum iyonlarının büyük miktarlarda miyofibrile serbestleşmesine neden olur.

7-Kalsiyum iyonları, kasılma olayının esası olan filamentlerin kaymasını sağlayan aktin ve miyozin filamentleri arasındaki çekici güçleri başlatır.

8-Sonra saniyenin bölümleri içinde kalsiyum iyonları sarkoplazmik retikuluma geri pompalanır. Yeni kas aksiyon potansiyeli gelinceye kadar burada depolanır, kalsiyum iyonlarının uzaklaştırılması kasılmanın sona ermesine neden olur.(34)

Kas kasılmasının moleküler mekanizması:

Kasılmanın kayma mekanizması:

Şekil 6 da kas kasılmasının temel mekanizmasını göstermektedir.Üstte sarkomerin gevşek durumu görülmektedir,altta kasılmış durumu görülmektedir.Gevşek durumda iki ardışık Z diskinden çıkan aktin flamentlarin uçları,ancak birbiri üstüne binmeye başlarken,aynı zamanda miyozin flamentlerine komşu olarak uzanmakdadır.Kasılı durumda ise aktin flamentleri miyozin flamentleri arasında ortaya doğru çekilmiş,dolayısıyla büyük oranda üst üste binmiştir.Z diskleri de aktin flamentleri tarafından miyozin flamentlerinin uçlarına kadar çekilmiştir.Şiddetli kasılma sırasında,aktin flamentleri miyozin flamenlerini uçlarını bükecek kadar kuvvetle çekebilir.Böylece kas kasılması kayan flamentleri mekanızmasıyla oluşur.

Aktin flamentlerini miyozin flamenteleri arasında içe doğru kaydıran çaba nedir? Bunu miyozin flamentlerinin çapraz köprüleri ile aktin flamentlerinin etkileşimi sonucunda oluşturulan mekanik gücler yaratır. İstirahat koşulunda bu güçler inhibe edilmiştir ancak bir aksiyon potansiyelinin kas lifi membrnında yayılması sarkoplazmik retikulumdan kalsiyumun hızla serbestleşmesine neden olur. Bu kalsiyum iyonu miyozin ile aktin flamentleri arasındaki güçleri aktive eder ve kasılma başlar. Bu enerji ATP'nin yüksek enerjili fosfat bağlarından elde edilir.

Kas Kasılmasının Moleküler Mekanizması

Kasılmayı Sağlayan Miyozin, Aktin Flamentleri ve Kalsiyum iyonları Etkilesimi: Troponin-Tropomyozin kompleksi olmadığı zaman saf aktin flamenti,myofibrilde bol miktarda bulunan magnezyum iyonları ve ATP varlığında, miyozin Moleküllerinin başlarına hemen kuvvetle bağlanır. Troponin-Tropomyozin kompleksi aktin flamentine eklenirse, bu bağlanma oluşmaz. Dolayısıyla gevsek kasta normal aktin flamentlerindeki aktif bölgelerin troponin-tropomyozin kompleksi tarafından inhibe edildiği veya kapatıldığı düşünülür. Ayrıca, bölgeler kasılma için miyozin flamentlerinin başlarına tutunamaz. Kasılma olmadan önce troponin tropomyozin kompleksinin inhibitör etkisi engellenmelidir.

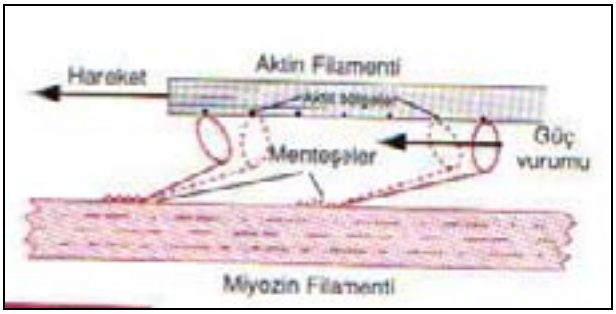
Bu, kalsiyum iyonlarının rolünü gündeme getirir. Büyük miktarda kalsiyum iyonlarının varlığında, troponin-tropomyozin'in aktif flamentlerine inhibitör etkisi baskılanır.Bunun mekanizması bilinmemekle birlikte ortak kanı; kalsiyum iyonları,

troponin C molekülleri ile birleştiğinde, troponin kompleksi biçim değişikliğine uğrar ve tropomyozin molekülüne uygulandığı kuvvetle onu iki aktin ipliği arasındaki oluğa çeker. Aktin'in aktif bölgeleri açığa çıkar ve kasılma gerçekleşebilir. Bu hipotetik bir mekanizma olsa da, troponin-tropomyozin kompleksi ile aktin arasındaki normal ilişkinin kalsiyum iyonları ile değiştiği ve bu durumun kasılmaya neden oldugu vurgulanmaktadır (39).

Kasılma esnasında ince filamentlerle kalın filamentler daha fazla yan yana gelirler, ancak ne inde filamentlerin nede kalın filamentlerin uzunluğunda bir değişme olmaz.(34)

"Aktif" Aktin Flamenti ile Myozin Çapraz Köprüleri Arasındaki Etkilesme Kasılmanın "Boyunca Yürüme" Teorisi:

Aktin flamenti kalsiyum iyonları ile aktive olur olmaz, miyozin flamentinin çapraz köprü basları aktin flamentinin aktif bölgelerine çekilir ve bu yolla kasılmaya neden olur. Buna kasılmanın "boyunca yürüme" veya disli çark teorisi denir.



Şekil 8*:Kas kasılmasında "boyunca yürüme" mekanizması

Şekil 6, kasılma için varsayılan "boyunca yürüme" mekanizmasını göstermektedir. Bu sekil iki çapraz köprü basının aktin flamentinin aktif bölgeleri ile birleşmesi ve ayrılmasını göstermektedir.

*:Guyton Fizyoloji Ders Dotları sf 78.şekil 6-7

Basın bir aktif bölgeye tutunmasını, bas ile çapraz köprü kolu arasındaki intramoleküler güçlerde belirgin değişikliğe neden olduğu kabul edilmektedir. Kuvvetlerdeki bu yeni düzenleme, basın kola doğru eğilmesine ve aktin flamentlerini beraberinde çekmesine neden olur. Basın eğilmesine güç vurumu yada kürek hareketi denir. Eğilmeden hemen sonra, bas otomatik olarak aktif bölgeden uzaklaşır ve normal düşey doğrultusuna döner.

Bu pozisyonda, daha ilerideki aktin flamentinde yeni bir aktif bölgeyle birleşir, yeni bir kürek hareketi yapmak için yeniden eğilir ve aktin flamenti başka bir adıma geçer. Dolayısıyla, çapraz köprü baslarının ileri geri eğilerek aktin flamenti boyunca adım adım yürümesi, aktin flamentlerinin uçlarını miyozin flamentlerinin ortasına doğru çeker. Kasılmanın gerçeklestirilebilmesi için ortamda enerji maddesi olan ATP'ın bulunması gerekmektedir. Hücrelerdeki gerekli enerji, mitokondri tarafından sağlanmaktadır (34).

KAS kasılması için enerji kaynağı

Kas kasılması ATP den elde edilen enerjiye bağlıdır.bu enerji aktin flamentlerinin çektiği yürüme mekanizması için gereklidir,fakat az miktarı kasılmadan sonra kalsiyumu sarkoplazmik retikulluma pompalamak,aksiyon potansiyelinin yayılması için uygun iyonik ortamı devam ettirmek üzere kas lifi membranında sodyum potasyum iyonlarını pompalamak için kullanır.

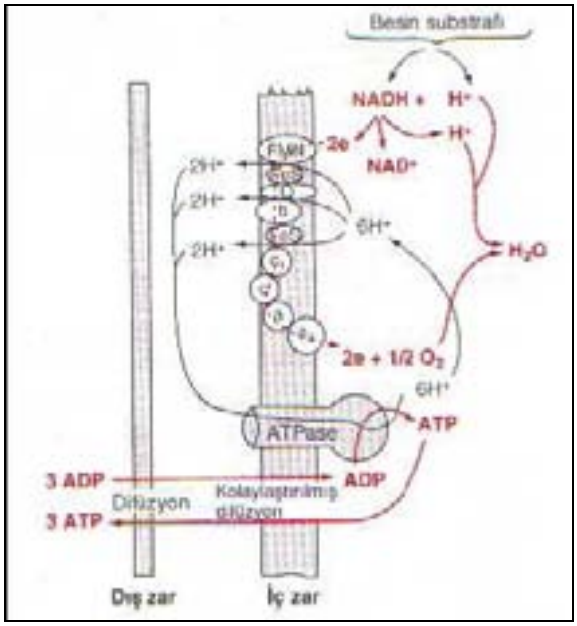
ATP ve fosfokreatini yeniden oluşturmak için gerekli ikinci enerji kaynağı kas hücrelerinde depolanmış glikojendir. Glikojenin piruvik asit ve laktik asite hızlı yıkımı sonucunda açığa çıkan enerji ile ATP yeniden sentezlenir ve bu ATP kasılam için kullanılır.

Son enerji kaynağı oksidatif metaolizmadır.kas için gerekli enerjinin %90 bu yolla sağlanır.(34)

Hidrojenin iyonizasyonu, Elektron Transport Zinciri ve Su Olusumu

Mitokondrideki oksidatif fosforilasyonun ilk basamagı besinlerden ayrılan hidrojen atomlarının iyonizasyonudur. Bu hidrojen atomları çift çift ayrılır: bunlardan biri derhal H+ iyonuna dönüsür; digeride nikotinamide adenine dinukleotid (NADH) olusturmak üzere NAD+ ile baglanır. Daha sonra ilk olarak NADH'dan hidrojen atomunun da ayrılmasıyla bir H+ iyonu daha olusur; ayrılan NAD+ da bu süreçte tekrar tekrar kullanılır (Sekil 7).

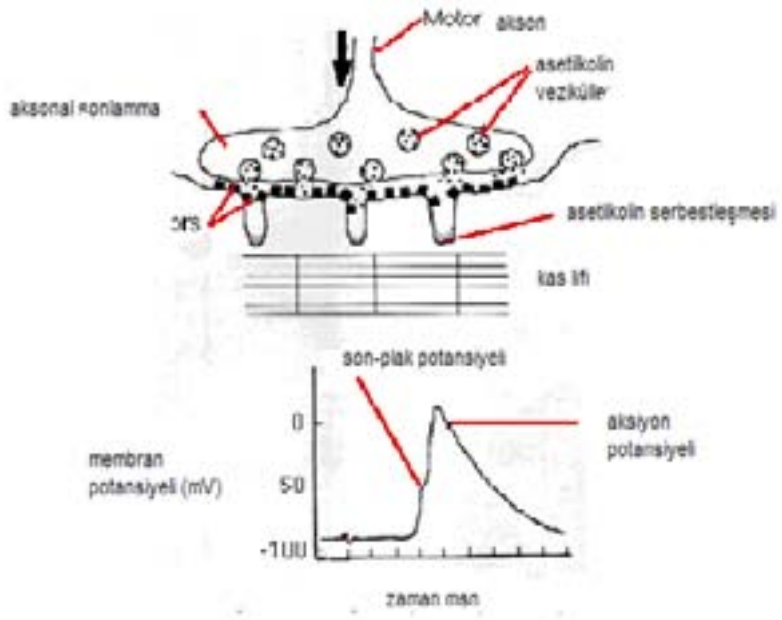
Hidrojen atomlarından ayrılarak iyonizasyona neden olan elektronlar derhal, mitokondrinin iç membranının bir integral parçası olan elektron alıcılarının elektron transport zincirine girerler. Elektron alıcıları elektron alıp vererek geri dönüslü olarak redüklenir ya da oksitlenirler. Elektron transport zincirinin önemli elemanları arasında flavoprotein, birçok demir sülfit proteinleri, ubikinon ve sitokrom B, C1, A ve A3 bulunur. Her bir elektron bu alıcılar arasında birinden ötekine geçerek nihayet sitokrom A3'e ulasır. Bu alıcıya sitokrom oksidaz adı verilir. Zira iki elektron vererek oksijen elementini iyonik oksijene indirger ve daha sonra bu oksijen iyonları su olusturmak için hidrojen iyonlarıyla birlesir (34).



Şekil -9: Mitokondrial oksidatif fosforilizasyon mekanizması.

İskelet kası innervasyonu

İskelet kas lifleri omuriligin ön boynuzunun büyük motor nöronlarından başlayan büyük miyelinli sinir lifleri ile inerve edilir. Hücre gövdesi omurilikte bulunan her sinir lifi normalde uç kısmında miyelin kılıfını kaybederek birçok kez dallanır ve üç ila birkaç yüz kas lifini uyarmak üzere kas lifinin içine doğru girer,fakat plazma zarının dışında kalırlar. Bu yapının tamamı bir motor ünite olarak adlandırılır. Motor nörondan gelen elektriksel bilginin iskelet kasına kimyasal bilgi olarak aktarıldığı bu sinapsa sinir-kas kavşağı denir. Elektriksel bilgi son plakta, motor nöron aksonundan salınan kolin esteri olan nörotransmitter asetilkolin (ACh) formunda kimyasal sinyalle iletilir. Bir sinir uyarısı sinir-kas kavşağına geldiğinde aksonda veziküller içinde depolanmış olan ACh sinaptik aralıga boşaltılır. Kas hücre zarında çok sayıda asetilkolin reseptörü bulunur. Bunlar gerçekte asetilkolin kapılı iyon kanallarıdır ve asetilkolin veziküllerinin sinaptik aralığa boşaldığı alanlardaki kıvrımların ağzında yerleşmişlerdir. Asetilkolinin reseptörüne bağlanması ile pozitif yüklü iyonlar (sodyum, potasyum, kalsiyum) kas hücresi zarından içeri girer ve zar potansiyelini düşüren, son plak potansiyeli denilen lokal bir potansiyel değişikliği oluşturur. İskelet kas lifleri çok büyük olduğu için membranda oluşan bu potansiyel değişiklik lifin derin kısımlarında akım oluşturamaz. Olusan aksiyon potansiyelinin miyofibril boyunca yayılması kas lifi boyunca bir yandan diger yana uzanan transvers tübüllerle (T tübülleri) taşınması ile sağlanır. T tübülü aksiyon potansiyeli, kas lifi boyunca dağılımı olan yüksek konsantrasyonda kalsiyum iyonu içeren sarkoplazmik retikulumun kalsiyum kanallarının hızla açılmasına neden olur. Kas kasılmasından sorumlu olan kalsiyum iyonları miyofibrillerin bulunduğu sarkoplazmaya verilir ve komsu fibrillere de difüze olarak troponin C'ye bağlanıp kas kasılmasını başlatır (34).



Şekil-10*: motor ünite

Kas adaptasyon tipleri

Kas dokusu kendisine gelen uyarılara göre cevap verme potansiyeline

Kas hipertrofisi: Kas lifi sayısında ve tipinde değişiklik olmaksızın liflerin hacminde artış olmasıdır.

Kas hiperplazisi: Kas lifinde sayısında ve hacminde artış olmasıdır.

Kas atrofisi: Kas lifi sayısında değişiklik olmaksızın kas lifi hacmindeki azalma olmasıdır.

Satellit hücre:

İskelet kası embriyonik dönemde miyoblastların bir araya gelmesi ile oluşturduğu çok çekirdekli kas liflerinden oluşur. Satellit hücreler embriyonik dönemde çok çekirdekli kas lifini oluşturmak ve gelişiminden sorumluyken, yetişkin dönemde de plazma zarı ile farklılaşmış kas lifini saran bazal lamina altında yerleşerek olası kas dokusundaki herhangi bir hasara karşılık yeni kas lifi oluşturmak için verilecek rejeneratif cevaptan sorumlu hücrelerdir (19,22,24). Satellit hücreler akut hasarı takiben çoğalıp, aktive olup ,yeni lifler oluşturarak kas dokunun tamirini büyük ölçüde gerçekleştirir.(24,36)

*:Prof.Dr. Nurten Galip 2002 yılı fizyoloji ders notları sunumu

Satellit hücrelerin rejeneratif cevabı oluşturduğu bu çoğalma ve farklılaşma sürecinde asimetrik bir bölünme izlemesi, bir kısım satellit hücrenin farklılaşmasıyla sonuçlanırken, bir kısmının ise sessiz (quiescent) kalması ile bir yandan rejenerasyon sağlanırken bir yandan da satellit hücre havuzunun korunması sağlanır (19,20)1. Satellit hücreler çoğalması, farklılaşması ve bir yandan dokudaki potansiyelini koruması bakımından dokuya spesifik kök hücre olarak düşünülmektedir (19,20).

Satellit hücrelerin bu islevleri yerine getirmesi sıkı bir genetik kontrole ihtiyaç gösterir. Miyogenez sürecinde satellit hücreler hücre döngüsünün ilerleyişinin kontrolünü, kendilerini çevreleyen nisten aldıkları sinyaller ile gerçekleştirilir.

Bu süreçte, spesifik genlerin transkripsiyonu sıkı kontrollü bir genetik programla indüklenmesi veya baskılanması seklinde düzenlenir . Bu genler arasında satellit hücre belirleyicisi olarak da kabul edilen Pax3, Pax7, NCAM, M-kaderin, MyoD, Myf5 transkriptleri sayılabilir.(20)

Kas atrofisi:

Kas lifi sayısında değişiklik olmaksızın lif boyutunun küçülmesi olarak tanımlanan kas atrofisi, açlık (1), uzun süreli yatak istirahatı (2,4), denervasyon, immobilizasyon, mekanik yükün ortadan kalkması ya da mikro yerçekimi (2,3,5,6) ve yaşlılık (7) gibi koşulların yanı sıra çeşitli patolojik durumlarda (sepsis, kronik böbrek yetmezligi, diyabet, kronik kalp yetmezligi, kronik obstrüktif akciger hastalıkları, kanser, vb) oluşan, önemi uzun süre gözden kaçmış ciddi bir komplikasyondur (9).

Kas atrofisinin

Kas atrofisi, kas kuvveti ve dayanıklılığın azalmasına ve fiziksel yetersizliğe neden olarak yasam kalitesini düşürmekte, hastalığın seyrini olumsuz etkilemekte, hastanede kalış süresini uzatmakta, morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır (4).

İskelet kası kitlesinin korunması, protein sentezi ve protein yıkım hızının dengelenmesi ile mümkündür. Protein sentezindeki düşüş ve/veya protein yıkım hızındaki minimal bir artış dahi önemli düzeyde kas atrofisi ile sonuçlanır(4).

Kas atrofisinin tam anlaşılması için farklı koşullarda ve yöntemlerde çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır.(10,11,12,13) Bu çalışmalarda klinikte de en çok atrofi nedenlerinden, immobilizasyon ve kassal inaktivasyona neden olan periferik

denervasyon modelleri kullanılmıştır.(10,12) Deneysel çalışma modelleri daha çok insan iskelet kasına benzerlik gösteren sıçanlar üzerinde yapılmıştır(10,14,31).

Ancak, iskelet kası atrofisinde protein sentez hızında azalma gözlenmekle beraber belirleyici etken protein yıkım hızındaki artıştır . Yatak istirahatinin incelendiği çalışmalarda üriner nitrojen atılımı besinci günden itibaren artar. Bu sonuç immobilizasyonda protein yıkımının artmış olduğunu göstermektedir. Negatif nitrojen dengesi en güçlü insanda bile yatak istirahati uzadığında gelişecek belirgin kas atrofisinin erken bir göstergesidir (4).İnsanlarda iskelet kası atrofisine yol açan fizyolojik koşullar immobilizasyon, yatak istirahati, uzay uçusları ve diyafragmanın mekanik ventilasyon yoluyla devre dısı bırakılmasıdır (4,7,8,).

Gerek fizyolojik gerekse katabolik koşullarda protein yıkım mekanizmalarını tetikleyerek kas atrofisinin oluşmasında rol alan çeşitli uyaranlar vardır. Bu uyaranladan bazıları; proinflamatuar sitokinlerin ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF-alfa) miktarında artış, hormonal dengenin bozulması, nöromusküler uyarım eksikliği, inaktivite, reaktif oksijen radikalleri, miyostatin ve NF-kappaB'dir (4,9).

Bütün bu uyaranlar gerek protein sentez hızını azaltarak gerekse protein yıkım hızını artırarak kas atrofisine yol açmaktadır. Atrofi başlangıcında ilk olarak Ca2+ homeostazisinde bozulmalar meydana gelir . Ca 2+, hücre biyokimyasında ve fizyolojisinde çok önemli rolleri olan ekstrasellüler bir katyondur . Sinaps bölgelerinde nörotransmitter salınımında, hormon aktivitelerinde ikinci haberci olarak, kassal olmayan yapıların mobilitesinde ve kastaki protein döngüsünde bazı enzim ve proteazların sentezlerinde koenzim olarak mekanizmaları tetikleyen önemli görevleri vardır. Hücre içi Ca2+'un çoğunluğu endoplazmik retikulumda depolanır. Ca2+, hücre içine voltaj ve ligand bagımlı kanallarla girer. Hücre dısına ise H+ ve Na+ antiportu yoluyla tasınır (4,21,37).

Sarkoplazmik retikulumda Ca2+ - ATPazın Ca2+ ile etkileşim kapasitesi yüksektir. Na+ - Ca2+ değiş tokuş sistemi ise düşük etkileşim kapasitesi olan bir sistemdir. Mitokondri Ca2+ regülasyonunda önemli rol oynar. Patolojik şartlarda sitozolik Ca2+ artmasında mitokondrial geri alım sisteminde bir bozukluk önem kazanmaktadır . Musküler inaktivite nedeniyle sarkoplazmik retikulum Ca2+-ATPaz aktivitesi azalmakta ve organellerde Ca2+ alımı düşmektedir , ayrıca sarkolemmal ve mitokondrial membran yapıları bozulmaktadır. Sarkolemmanın yapısal harabiyetinde fosfolipidlerin de bütünlüğü bozulmakta ve muhtemelen ekstrasellüler Ca2+'un

stoplazma içine salınımı artmaktadır . Sitozolik Ca2+'un yükselmesi ise, Ca2+'a bağlı fosfolipaz A2 aktivitesini, PG sentezini ve protein döngüsünü stimüle etmektedir (4,37).

Musküler aktivitedeki değişmeler, PG biyosentezinde de değişikliklere neden olmakta ve aktiviteye bağlı olarak PG'ler protein sentezini veya yıkımını stimüle etmektedirler. Membran yapısının bozulmasına baglı olarak ortaya çıkan mitokondrial dejenerasyonlar, ATP sentezinde azalmalara yol açarak, sarkoplazmik retikulum aktif pompasının yetersiz çalışmasına ve bu depolardan büyük miktarlarda Ca2+'un hücreye boşalmasına yol açar (4,37).

İntramitokondrial Ca2+ konsantrasyonunun yükselmesi ile pek çok proteolitik enzimin stimüle olduğu ve bunların otoproteolitik aktivitelerinin mitokondrial proteinlerde de, kas proteinlerine paralel giden bir azalmaya yol açtığı gösterilmiştir . Kas atrofisine neden olan mekanizmalar incelendiğinde, son yıllarda serbest radikallerin etkilerini inceleyen çalışmaların arttığı görülmektedir.

Kas hasarı oluşturmak için uygulanan yöntemler:

Kas dejenerasyonuyla ilgili çalışmalarda akut kas hasarı modeli olarak; notexin/kardiotoksin, mekanik hasar veya soğuk/sıcak hasarı ile oluşturulmuş modeller kullanılabilirken, kronik kas dejenerasyonu modeli olarak immobilizasyon sağlayan arka ekstremite süspansiyonu, tenotomi veya spinal kord kesisi ve denervasyon gibi modeller hayvanlar üzerinde deneysel olarak kullanılmaktadır (7,10,23,35,36).

İmmobilizasyonun neden olduğu kas atrofisi 1944'den beri bilinmektedir.(14).Ekstermiteye yük verilmediği süre içerisinde iskelet kaslarının fonksiyon ve yapısında çok ciddi değişiklikler görülmektedir. Ekstermitenin immobilizasyonu sonucu o ekstremite kaslarında atrofi meydana geldiği pek çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir.(2,7,16) İmmobilizasyon kaynaklı atrofide protein sentezinde azalma ve yıkımında artış olduğu bildirilmiştir.(17).

Booth ve diğerlerinin yaptığı çalışmada immobilizasyon sonrası soleus kasında moleküler düzeydeki değişikliğin; immobilizasyonun beşinci saatinde protein sentezinde azalma olduğu tespit edilmiştir.(18)

Denervasyon atrofisi, denerve edilen kasın zamanla artan ağırlık kaybı ve kas lifi çapının azalmasıyla histolojik olarak gözlenebilen kas dejenerasyonudur. Kas atrofisinin hızı soleus gibi yavas kasılan (tip-I) kaslarda yüksek iken, extensor

digitorum longus (EDL) gibi hızlı kasılan (tip-II) kaslarda görece daha yavaş seyirlidir ve atrofi bütün kas tiplerini homojen olarak etkilememektedir. Benzer şekilde denervasyon sonrası atrofi hızı ve yaygınlığı hayvanın yası ve türüne göre de değişmektedir.(10)

Denervasyondan bir kaç hafta sonra kas dokusunda bir rejenerasyon benzeri cevap gelismektedir. Bu süreçte, sıçan ve kobaydaki kas liflerine bakıldığında sıçanda tip II liflerde artış olduğu görülürken, kobayda bu artış tip I liflerde görülmüştür (10).

Denervasyon sonrası gözlenen yapısal değişiklikler incelendiğinde sarkomerik organizasyon bozukluğu, miyofibril yıkımı, ribozom ve mitokondri sayı ve ebadında değişiklikle beraber sarkoplazmik retikulum morfolojisinde değişiklikler gözlenmiştir (19).

Denervasyondan sonraki birkaç gün içerisinde kas tonusunun azalması en belirgin dinamik değişiklik olup, bu değişiklik tip-II kaslarda tip-I kaslara göre daha belirgindir. İnerve kasın aldığı elektriksel uyarılarla sahip olduğu kas gerilimi ve kasılma kuvveti denervasyon sonrasında giderek azalır. Kasılma gücünün azalmasıyla direkt korelasyon gösteren kontraktil eleman kaybı ve atrofi ortaya çıkar (10).

Sinir sistemi, kas aktivitesine bağlı olarak aldığı motor uyarılarla (kas kontrolünün nöromotor bileşeni) ve aktiviteden bağımsız olarak motor nöronca salınan kimyasal faktörlerle (nörotrofik bilesen) kasa ait özelliklerin kazandırılmasını ve korunmasını sağlamaya çalısır. Denervasyonda olusan nöromotor aktivitenin kaybı, klinik olarak da tanımlı kasın kullanılmamasına bağlı (yatak istirahatı, tenotomi gibi) gelisen fizyolojik özelliklerin kaybıyla sonuçlanır. Elektriksel uyarı kontraktil eleman kaybını önleyip miyofibriller içerigin korunmasını sağlarken, denervasyonla gerçeklesen tip-I liflerden tip-II liflere transformasyonun olmasını önleyerek, kas lifi tipinin orijinal kalıbının korunmasında etkilidir ve periferik sinir hasarı olan hastalarda tedavi amaçlı olarak da kullanılmaktadır .

Nörotrofik faktörler bakımından incelendiğinde denervasyonda kas kullanılmamasına (immobilizasyon) bağlı duruma göre nörotrofik faktörlerin eksikligi sebebiyle daha ciddi bir kas atrofisi gelismektedir . Deneysel olarak uygulanan dejenerasyon modelleri içinde denervasyon ve inaktif kas modeli olarak kullanılan tenotomi modellerinde dejenerasyon süreçleri karsılaştırıldığında, denervasyonda tipik olarak kasın uyarılma zamanı uzayarak yavaslatıcı etki

gösterdigi, tenotomide ise kasın *pre-load* gerilimi azalarak etki gösterdigi görülmüstür. Her iki modelde de ilk haftadan sonra miyofibriller bilesenlerin etkilendigi ve fibrillerin tip-I lif'den tip-II life transforme olduğu gözlenmiştir . Kas kullanılmamasına bağlı gelişen dejenerasyon modeli olarak kullanılan diğer bir hayvan modeli olan spinal kord izolasyonunda (SI) yapılan çalışmalarda, nörotrofik faktörlerin islevsel olmamasına bağlı olarak atrofinin denervasyon modelindekine göre daha az olduğu görülmüştür . Her iki modelde de gelişen kas lifi atrofisine karsı satellit hücre aktivasyonu ile gelisen rejeneratif cevapta, soleus kasında (tip-I) atrofinin düzeyinin benzer olduğu fakat miyojenik düzenleyici faktörlerden (MRF) MyoD ve myogenin ifadesinin denervasyon modelinde, SI modeline göre daha erken dönemde arttığı görülmüştür . Satellit hücrelerin yeni kas lifleri oluşturmak üzere gösterdiği mitotik aktivite neonatal dönemde denerve edilen sıçanda görüldüğü gibi satellit hücre popülasyonunun zamanla azalması ve sonunda tamamen kaybolması nedeni ile yeni lif oluşumu için sinir uyarılarına ihtiyaç olduğu göstermiştir . Postnatal dönemde, denervasyon ile gelisen atrofinin rejenerasyon sürecinde, benzer şekilde satellit hücrelerin aktivasyonu ile oluşan yeni kas liflerinde sadece tip-II miyofibriller izoformlarının ifade edilmesiyle tip-I kas dokusunun orijinal paterni korunamamaktadır .

Kas atrofisi ölçüm yöntemleri :

Kas atrofisi ölçümlerinde kliniklerde sıklıkla antropometrik ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır. Antropometrik ölçümler çevre, uzunluk, çap ve yağ dokusu ölçümlerini içermektedir.

Çevre Ölçümü: Vücut kitlesinin çevresel ölçümlerinin belirlenmesinde önemlidir . Ölçümlerde gulick şeridi kullanılması önerilmektedir . Çevre ölçümü yöntemi izole kas atrofisini değerlendirmek mümkün olmadığı ve güvenilirliği düşük bir yöntem nedeniyle altın standart olarak kabul edilen farklı yöntemler kullanılmaktadır .

Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRI): Kas kitlesinin enine kesit alanı tespit edilmektedir .

Ultrasongrafi (US)

Bilgisayarlı Axial Tomografi .

İğne Biopsisi: Kastan alınan örnek uygun işlemlerden geçirildikten sonra mikroskopik yöntemler ile enine kesit alanı ölçülür . Hayvan deneylerinde kullanılan

atrofi ölçüm yöntemleri ise, ilgili kas tam olarak diseke edilir, bağ dokusu, fasya ayrıldıktan sonra kasın bütünü tartılır veya alınan kas örneği uygun işlemlerden sonra sterolojik ölçüm yöntemleri ile değerlendirilir.

Gereç yöntem:

Gruplar:

Çalışmaya toplan 60 tavuk dahil edildi.30 tavuk immobilizasyon (grup 1) grubuna,30 tavuk denervasyon (grup2) grubuna alındı.

Çalışmada ağırlıkları 850–1100 gram arası değişen ross–800 cinsi hibrit tavuklar kullanıldı. Tavuklar standart oda sıcaklığında,12 saatlik karanlık ve 12 saat aydınlık ortamda tutuldu. Tüm grupların istedikleri ölçüde su ve yeme ulaşmalarına olanak verildi.

Deneyde Kullanılacak Olan Malzemeler:

1adet gr/100 hassasiyetinde hassas terazi,

1 adet mm/100 hassasiyetinde dijital cetvel,

1 adet ml/100 hassasiyetinde beher.

16 büyütme mikroskop.

Pens, penset, bistüri sapı

1.2 mm kalınlığında 10 cm uzunluğunda kischner teli.

Kas uzamasını ölçmede kullanmak için hazırlanmış düzenek,

50 gr-200 gr arasında ağırlıklar

Anestezik ilaç(ketamin)

Profilaktik antibiotik(1 kuşak sefelosporin,gentamisin)

Analjezik(metamizal sodyum)

30 adet 15 numara bistüri

15 adet 3/0 prolen

5 lt %9'luk NaCl

Cerrahi saha sterilizasyonu için povidon iyot.

Deneyin aşamaları:

Birinci aşama; Deney hayvanları immobilizasyon ve denervasyon atrofisi grupları olmak üzere 2 guruba ayrılması ortama adaptasyon süreci.(3 gün)

İkinci aşama:İmmobilizasyon atrofisi ve denervasyon atrofisi için gruplara uygulanacak olan cerrahi işlem.

Üçüncü aşam: Cerrahi işlem uygulanmış deney hayvanları 3 haftalık süre sonunda sakrifikasyonu ve histo-morfolojik ölçümlerinin yapılması.

Dördüncü aşama: Histo-potolojik kesitler alınması, H&E ile boyama ve değerlendirilmesi. Yağ ve kas oranlarının noktaçık (pixel) ölçme yöntemi için Yıldız Teknik Üniversitesine Harita Mühendisliğine fotoğrafların gönderilmesi.

Beşinci aşama: Elde edilen verilerin istatiksel olarak değerlendirilmesi.

I. Aşama:

Deney Hayvanlarının Gruplanması ve Ortama Adaptasyon Süreci;

Deney hayvanları immobilizasyon ve denervasyon atrofisi grupları için 30 'arlı 2 gruba ayrıldı. Deney hayvanlarının sonraki işlem öncesi 3 gün ortama adaptasyonu için beklendi. Her iki grup cerrahi işlem için hazırlandı.

II.Aşama:

Deney Hayvanlarına Cerrahi İşlem Uygulanması;

İmmobilizasyon atrofisi grubu:

Deney hayvanlarına HCL 50 mg/kg'ma olacak şekilde kas içi uygulama ile solunum baskılanmadan anestezi sağlandı. Cerrahi girişim öncesi ve sonrası, tavukların sularına 200mg ampisilim sulbaktam grubu antibiyotik ilave edilerek cerrahi profilaksi yapıldı.

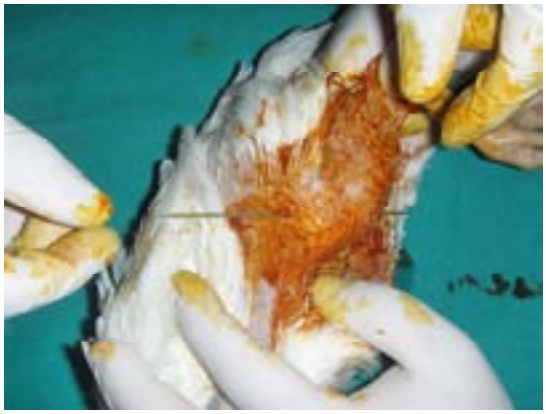
Anestezi sonrası tavukların arka bacakları ayakbileği ve diz eklemini hareketsizleştirmek için 1,2 mm'lik Kischner telleri (tel uzunlukları 10 cm) hazırlandı. Ayakbileği tespitinde sterilizasyon sağlandıktan son kalkaneustan tibiaya doğru olacak şekilde 1 adet kischner teli ile tespit sağlandı.(Resim 1-a)(Resim 1-b) Diz eklemi için sterilizasyon sağlandı ve sonra femur lateral kondilden tibia platosunu çaprazlayacak şekilde 1 adet kischner teli ile tespit edildi.(Resim–2).

Telleri diplerine pansuman yapıldı. Tellerin uçları büküldü. Flasterle sarıldı.(Resim 3 a-b).

Cerrahi girişim uygulanan tavuklara postop 1cc gentamisin(80 mg/cc) ve metamizol sodyum (5mg/kg) kas içine 1 defa uygulandı.

Resim-1a:Ayak bileği sterilizasyonu

Resim-1b**:** Kischner teli ile ayakbileğinin sabitlenmesi



Resim2:Diz ekleminin sterilizasyon sonrası sabitlenmesi.

Resim-3a: Tellerin uçları bükülmüş

Resim-3b:Tellerin uçları pansuman sonrası flaster ile sarıldı.

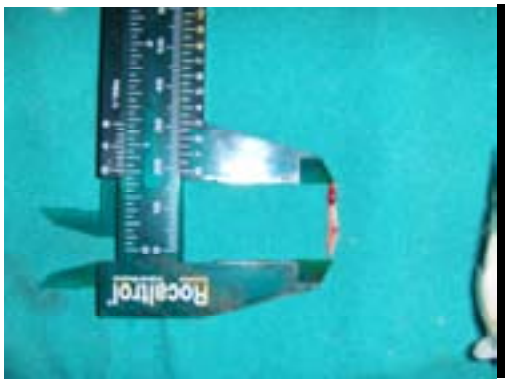
Denervasyon atrofisi grubu:

Grup 3'deki hayvanlara Ketamin HCL 50mg /kg'a kas içi uygulama ile solunum baskılanmadan anestezi sağlandı. Tavuklara cerrahi girişim öncesi ve sonrası 200 mg ampisilim sulbaktam grubu antibiyotik ilave edilerek preop ve postop profilaksi yapıldı.

Anestezi sonrası tavukların sol arka bacakları bölgesel cerrahi saha hazırlığı yapıldıktan sonrası uyluk postero-medialden transvers insizyon ile cilt geçildi.(Resim–4) Optimus marka 8*10 cm büyütmelik mikroskop ile 6 büyütmede gluteus maksimus arasından siyatik sinire ulaşıldı.(Resim–5). Sinir, çevre kas ve damar yapılarına zarar vermeden serbestleştirldi. Sinirin yaklaşık 1,5 cm'lik kısmı çıkartıldı(Resim–6). Ortam yaklaşık 30 cc serum fizyolojik ile yıkandı. Cilt 3/0 prolen ile sütüre edildi. Pansuman yapıldı. Cerrahi girişim uygulanan tavuklara postop 1cc gentamisin (80 mg/cc) ve metamizol sodyum (50 mg/kg) kas içine 1 defa uygulandı.

Resim–4:Kesi yapılacak olan cildin İşaretlenmesi.

Resim–6:Cilt kesisi sonrası siyatik sinir.



Resim–6:Uzaklaştırılan siyatik sinir.

Resim–7:Cildin kapanmış hali

III.Aşama:

Deney Hayvanlarının Sakrifikasyonu ve Histo-Morfolojik Ölçümlerinin Yapılması;

Deney hayvanları 3 hafta standart oda sıcaklığında,12 saatlik karanlık ve 12 saat aydınlık ortamda tutuldu. Tüm grupların istedikleri ölçüde su ve yeme ulaşmalarına olanak verildi.

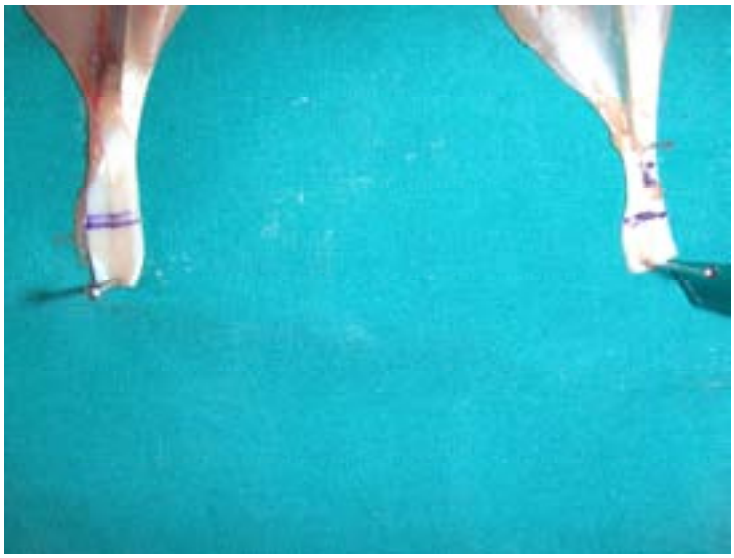
3 hafta sonunda deney hayvanlarının servikal dislokasyon oluşturularak sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrası her deney hayvanın arka bacakları kalça eklemine uçkesme(dezartikülasyon) uygulandı. Heriki arka bacak serum fizyolojik sıvı içeren kapta korundu. Bacakların önce aşil tendonları bulundu ve serbestleştirildi. Gastrekinemius kası origosuna kadar altındaki bükücü kaslardan akzarı(faysa) ile sıyrıldı(Resim–8). Serbestleşen gastrokinemius kasının önce aşil tendon uzunlu ve çapı ölçüldü.

Kasların hacimleri ise 30 cc distile su konduktan sonra beherde (1/100 ml'lik) hacim farkları ölçüldü. Tüm bu ölçümler, tüm gruplara aynı araştırıcı tarafından uygulandı.

Bu ölçümler istatiksel olarak Mann-Wityney U testi ile değerlendirildi.

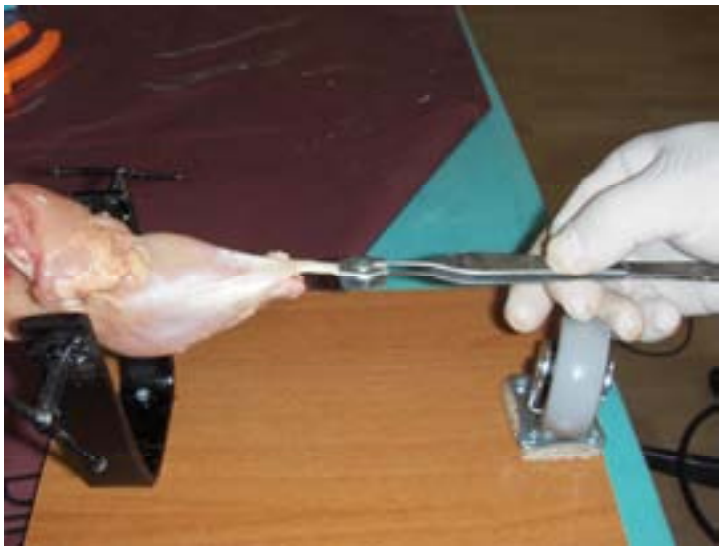
Denervasyon grubuna ait deney hayvanların arka bacakları. Sağdaki normal bacak. Soldaki 3 hafta sonunda atrofiye uğramış bacak.

İmmobilizasyon grubuna ait bacaklar. sağdaki normal bacak, soldaki diz ve ayakbileğinde tel ile hareketsizleştirilen bacak.



Resim–8:Deney hayvanları uzama miktarları ölçüm öncesi aşil tendonlarının serbestleştirlmesi

Resim 9:Aşil tendonu serbeştleştirilmiş ve femur lateral ve medial kondilden birer adet pullu vida tespiti yapılmış görüntü. Traksiyon cihazında uzama miktarları ölçümü için hazır kas.



Resim 10:Traksiyon cihazına mengeneden tespit edilmiş ve aşil tendonuna ağırlıkların asılması için aşile tespit edilmiş pullu vida sistemi.

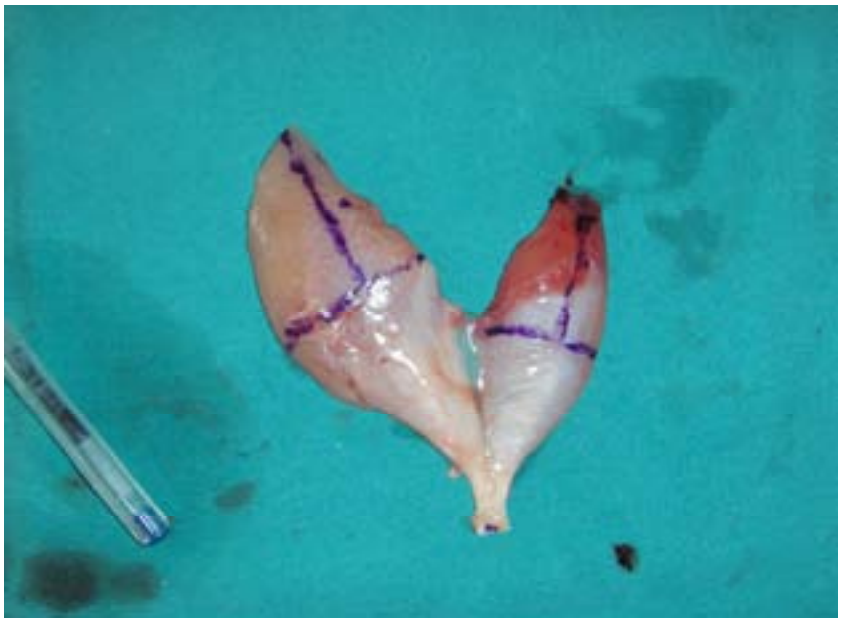
Resim 11:Kasın traksiyon cihazına tespit sonrası kasın ağırlıklarını asma öncesi kas boyunun dijital kumpas ile uzama miktarının ölçülmesi

Resim 11a:Kasın 50 gr ile uzama miktarının ölçülmesi

Resim 11b:Kasın 100 gr ile uzama miktarının ölçülmesi

Resim 11c: Kasın 150 gr ile uzama miktarının ölçülmesi

Resim 11d:Kasın 200 gr ile uzama miktarının ölçülmesi



Resim 12:Atrofik ve Normal kasların kas boy ve çaplarının ölçüm yerlerinin işaretlenmesi.

Atrofi oluşturulan kasın ölçümleri öncesi gastroknemiusun kısa ve uzun başların kasın origosundan çıkartılması sonrası her iki başın yaklaşık 4 cm ve kas karınlarının en kalın yerinden çaplarının işaretlenmesi ve kasların boylarının ayrı ayrı origodan aşile kadar ölçümleri yapıldı.

Kaslar histo-patolojik olarak değerlendirilmek için formol içinde patoloji laboratuvarında değerlendirildi. Kasların her iki başından da en kalın olan kas bölgelerinden enine ve boyuna makroskopik kesitler alındı. Aynı kas grubundan muskulotendinöz bileşkeden flep şeklinde ve tendondan enine kesitler alındı.Alınan kesitler H&E ile boyandı.Boyalı preparatlar kodlandı.Preparatlar olympus marka mikroskopta aynı patolog tarafından değerlendirildi.

Değerlendirilen preparatlardan noktacık(piksel) sayma yöntemi için fotoğraflar çekildi. Çekilen fotoğraflar Yıldız Teknik Üniversitesi Harita Mühandisliğine gönderildi.

BULGULAR

Deney hayvanlarının, denervasyon ve immobilizasyon atrofisi modeli 3 hafta sonra sonlandırıldı. Her deney hayvanın, her iki bacağının gastrokinemius kası origo ve insersiosundan ayrıldıktan sonra uzama miktarları, yaş ağırlığı, hacmi, kısa ve uzun baş uzunlukları ve kas karın çapları, aşil tendon uzunluğu ve aşil tendon çapı ölçümleri yapıldı. Elde edilen ölçümlerin ortalama değerleri ve standart sapmaları tablo 1 ve tablo 2'de verilmiştir.

Tablo1:İmmobilizasyon Grubu ve Kontrol Grublarının Ortalamaları

	Kontrol Grubu (n=14)		**İmmobilizasyon Grubu (n=14)**	
	Ort ± SS	**Min.-Max.**	**Ort ± SS**	**Min.-Max.**
Ağırlık (mg)	16,32±4,04	6,18-23,08	9,37±2,05	6,0-12,60
Hacim (ml)	167±30	117-227	96±21	52-124
G.K.K.B.U(mm)	60,50±5,91	53,28-72,75	57,19±4,08	48,50-64,32
G.K.U.B.U (mm)	76,41±6,75	70,87-87,62	67,71±5,19	59,18-64,32
A.T.U (mm)	9,83±2,19	6,76-13,53	7,77±1,89	4,72-11,84
G.K.K.B.Ç(mm)	21,08±2,70	15,54-26,27	14,34±2,03	10,25-17,16
G.K.U.B.Ç(mm)	29,96±4,00	23,35-38,24	21,63±3,27	16.70-27,67
A.T.Ç (mm)	6,19±0,87	4,87-7,92	5,16±1,59	4,13-10,36

P<0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ,Mann-Whitney u testi

***G.K.K.B.U.:**Gastrokinrmius kası kısa başı uzunluğu,**G.K.U.B.U**:Gastroknemius kası uzun başı uzunluğu,**A.T.U**:Aşil tendon uzunluğu,**G.K.K.B.Ç**:Gastroknemius kası kısa baş çapı,**G.K.U.B.Ç**:Gastroknemius kası uzun baş çapı,**A.T.Ç**:Aşil tendon çapı

Tablo 2: Denervasyon grubu ve kontrol grubunun ortalamaları

	Kontrol grubu(n=16)		Denervasyon grubu(n=16)	
	Ort ± SS	**Min-Max**	**Ort ± SS**	**Min-Max**
Ağırlık(g)	22,41±6,32	9,77-30,96	10,44±3,11	5,12-14,39
Hacim(ml)	216±47	136-30	101±26	49-147
G.K.K.B.U(mm)	68,05±7,50	58,67-84,95	60,01±8,29	49,68-73,62
G.K.U.B.U(mm)	84,30±10,41	67,27-107,4	67,31±7,84	54,67-82,90
A.T.U(mm)	10,32±8,67	15,76-7,14	9,80±3,09	4,95-14,23
G.K.K.B.Ç(mm)	23,24±2,99	18,35-29,71	15,87±4,83	11,23-29,22
.K.U.B.Ç	33,51±3,58	25,62-40,46	22,86±4,21	16,86-33,39
A.T.Ç (mm)	7,83±1,97	5,72-12,60	4,76±0,54	4,63-7,27

P<0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ,Mann-Whitney u testi

G.K.K.B.U.: Gastroknemius kası kısa başı uzunluğu,**G.K.U.B.U**:Gastroknemius kası uzun başı uzunluğu,**A.T.U**:Aşil tendon uzunluğu,**G.K.K.B.Ç**:Gastroknemius kası kısa baş çapı,**G.K.U.B.Ç**:Gastroknemius kası uzun baş çapı,**A.T.Ç**:Aşil tendon çapı

Elde edilen değerler kontrol grupları ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında immobilizasyon ve denervasyon gruplarındaki tüm değerler Mann-Whitney u testi analizinde p değeri 0,05'den küçük bulunmuştur.

İmmobilizasyon ve denervasyon gruplarının kontrol gruplarına göre atrofi farklarının ortalamaları tablo 3 de verilmiştir.

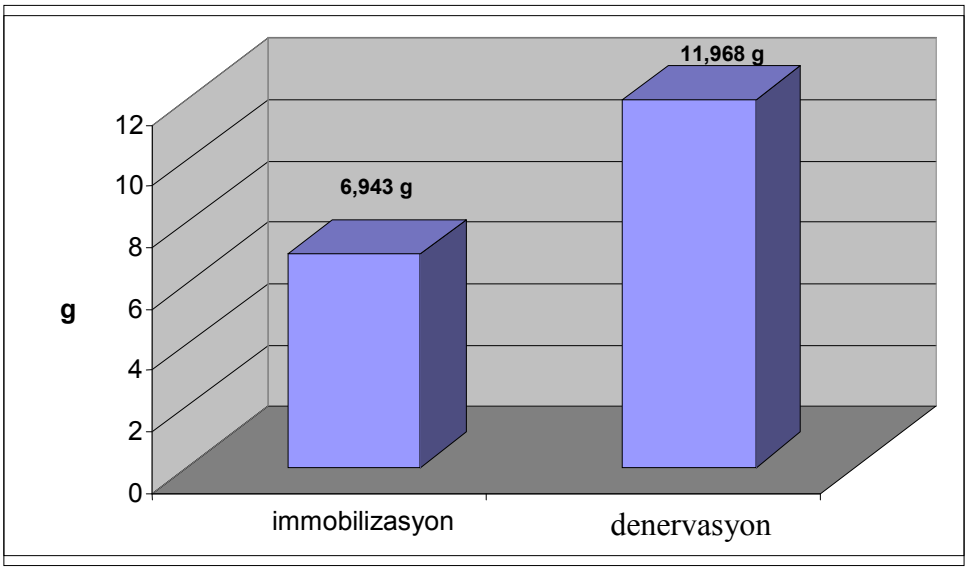
Tablo 3: İmmobilizasyon ve Denervasyon Gruplarında Atrofi Farklarının Ortalaması

		İmmobilizasyonGrubu (n=14)	Denervasyon Grubu(n=16)	
		Ort ± SS	**Ort ± SS**	**p**
Ağırlık farkı	(g)	6,943 ± 3,504	11,968 ± 4,463	**0,005***
Hacim farkı	(ml)	71 ±30	114 ± 36	**0,013***
G.K.K.B.A.F	(mm)	4,880±2,071	8,040±4,49	**0,036***
G.K.U.B.A.F	(mm)	8,731 ± 6,565	16,993±6,946	**0,005***
A.T.A.F	(mm)	2,057±1,734	1,355±3,320	0,484
G.K.K.B.Ç.A.F	(mm)	6,737 ± 2,310	7,373±2,862	0,299
G.K.U.B.Ç.A.F	(mm)	8,327 ± 3,916	10,650±5,110	**0,044***
A.T.Ç.A.F	(mm)	1,818 ± 1,317	2,022 ± 1,82	0,983

*** p <0,05 düzeyinde istatistiksel olaraka anlamlı, Mann-Whitney u testi**

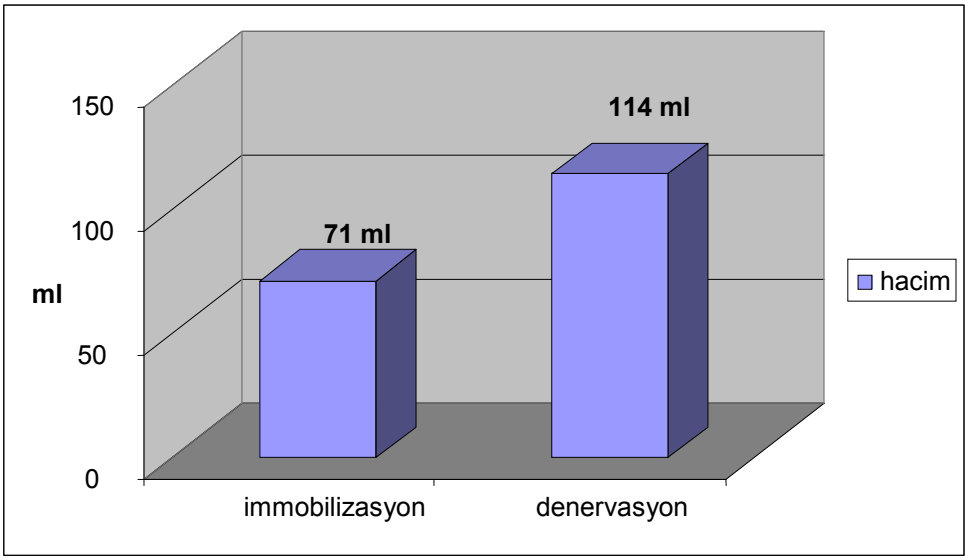
G.K.K.B.U.F.: Gastroknemius kası kısa başı atrofi farkı,**G.K.U.B.U.F**:Gastroknemius kası uzunbaşı atrofi farkı,**A.T.U.F**:Aşil tendon atrofi farkı.**G.K.K.B.Ç.F**:Gastroknemius kası uzun baş çapı atrofi farkı **G.K.U.B.Ç.F**:Gastroknemius kası uzun baş çapı atrofi farkı **A.T.Ç.F**:Aşil tendon çapı atrofi farkı

İmmobilizasyon ve denervasyon gruplarının ağırlık(mg) kayıplarının karşılaştırılması grafik 1 de verilmiştir.



Grafik 1: İmmobilizasyon ve denervasyon atrofisi gruplarının ağırlık(g) kayıplarının karşılaştırılması

İmmobilizasyon ve denervasyon gruplarının hacim kayıplarının karşılaştırılması grafik 2 de verilmiştir.



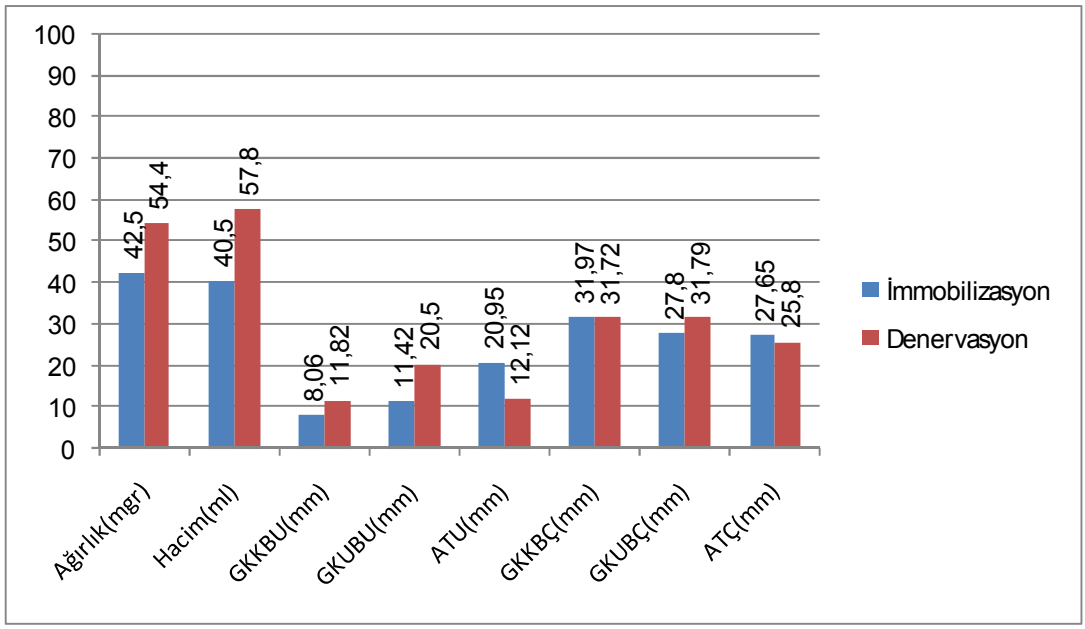
Grafik 2: İmmobilizasyon ve denervasyon atrofisi gruplarının hacim (dl) kayıplarının karşılaştırılması

İmmobilizasyon ve denervasyon gruplarının atrofi yüzdeleri tablo 4 de verilmiştir.

Tablo 4: İmmobilizasyon ve Denervasyon Grupları Atrofi Yüzdeleri

	İmmobilizayon (%)	**Denervasyon (%)**	**p**
Ağırlık(mg)	42,5	54,4	**0,000***
Hacim (ml)	40,5	57,8	**0,000***
G.KK.B.U (mm)	8,06	11,82	**0,024***
G.K.U.B.U (mm)	11,42	20,50	**0,002***
A.T.U (mm)	20,95	12,12	0,500
G.K.K.B.Ç (mm)	31,97	31,72	0,897
G.K.U.B.Ç (mm)	27,80	31,79	0,603
A.T.Ç (mm)	27,65	25,80	0,802

P<0,05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ,Mann-Whitney u testi



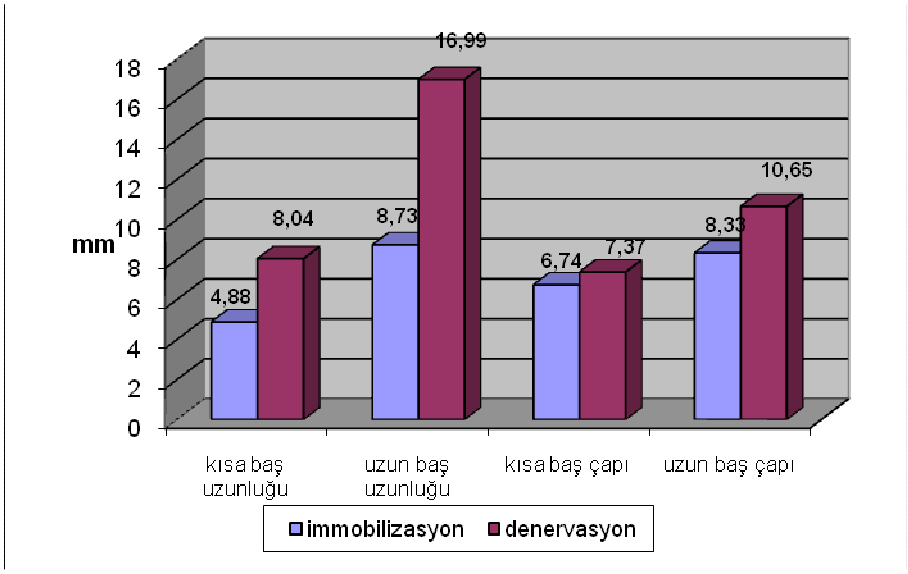
Grafik 3: İmmobilizasyon ve Denervasyon Gruplarının Atrofi Yüzde Dağılımı

G.K.K.B.U.: Gastrokinemius kası kısa başı uzunluğu,**G.K.U.B.U**:Gastroknemius kası uzun başı uzunluğu,**A.T.U**:Aşil tendon uzunluğu,**G.K.K.B.Ç**:Gastroknemius kası kısa baş çapı,**G.K.U.B.Ç**:Gastroknemius kası uzun baş çapı,**A.T.Ç**:Aşil tendon çapı

— Gastroknemius kası kısa baş uzunluk kaybı denervasyon grubunda ,immobilizasyon grubuna göre daha fazla olması

— Gastroknemius kası uzun baş uzunluk kaybı denervasyon grubunda ,immobilizasyon grubuna göre daha fazla olması

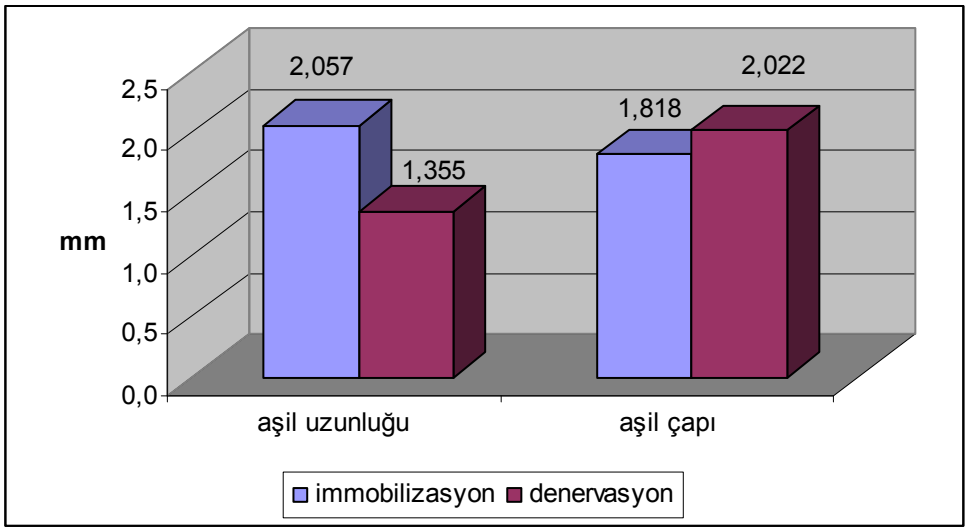
— Gastroknemius kası uzun baş çap kaybı denervasyon grubunda ,immobilizasyon grubuna göre daha fazla olması istatistiksel olarak anlamlı idi. ($p<0,05$) (Grafik 4).



Grafik 4:İmmobilizasyon ve denervasyon atrofisi grublarında gastroknemius kası kısa ve uzun baş uzunlukları ile çaplarının atrofi miktarlarının karşılaştırılması

İmmobilizasyon ve denervasyon atrofisi gruplarının aşil tendon uzunluk kaybı ve çap kaybı karşılaştırılması garfik 5 de verilmiştir.

Aşil çapları arasındaki farkların ortalaması ise istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,983 ve p> 0,05) (Grafik 5).



Grafik 5:İmmobilizasyon ve denervasyon atrofisi grubunda aşil tendonu uzunluk ve çap kayıplarının karşılaştırılması

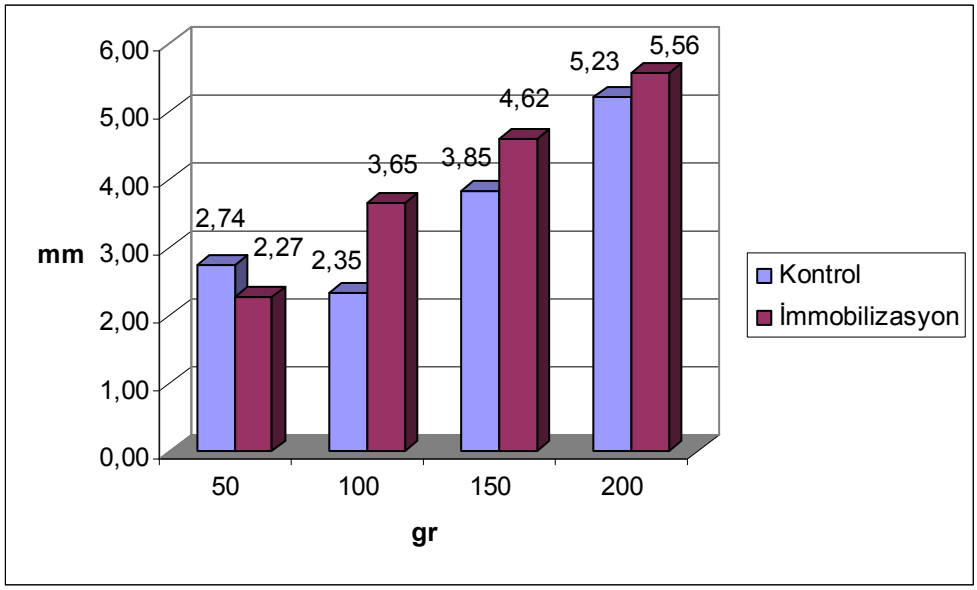
İmmobilizasyon ve Denervasyon gruplarının uzayabilirlikleri tablo 5-6' da verilmiştir.

Tablo 5:İmmobilizasyon Grubunda Uzama Farkları dağılımı

	Kontrol (n=14)	Min-Max	İmmobilizasyon(n=14)	Min-Max
Uzama 50 (gr)	2,740±2,842	0,6-11,3	2,267±2,378	0,8-10,0
Uzama 100 (gr)	2,349±4,020	4,08-8,09	3,650±2,259	1,67-10,45
Uzama 150 (gr)	3,847±3,791	4,120-10,80	4,615±2,295	2,22-11,16
Uzama 200 (gr)	5,288±3,745	2,26-12,10	5,664±2,259	2,45-11,50

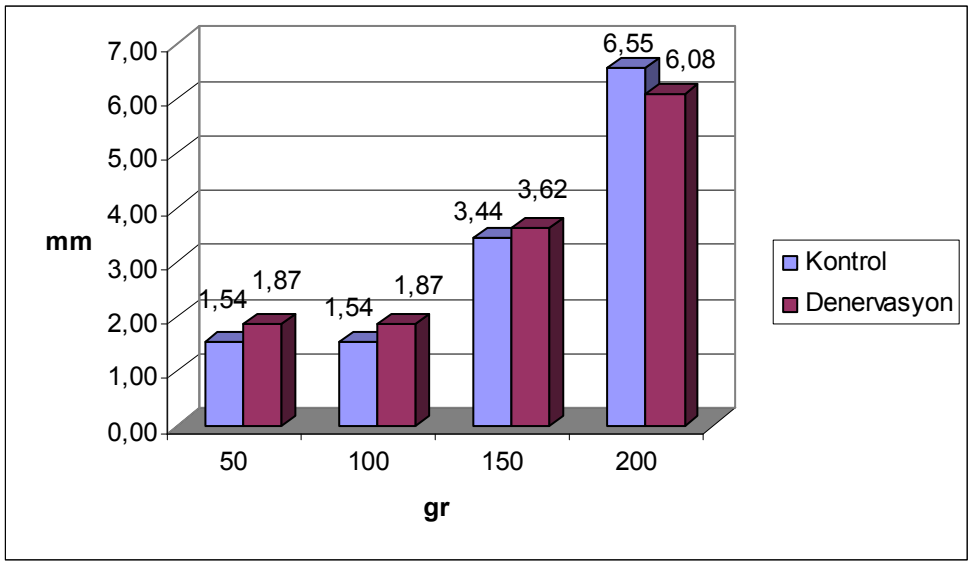
Tablo 6: Denervasyon Grubunda Uzama Farkları dağılımı

	Kontrol(n=16) Ort.	Min-Max	Denervasyon Ort	Min-Max
Uzama 50 (gr)	1,541±0,672	0,5-2,9	1,872±0,792	0,9-3,8
Uzama 100 (gr)	1,541±0,672	0,5-2,9	1,872±0,792	09-3,8
Uzama 150 (gr)	3,442±1,910	1,27-9,24	3,616± 1,460	1,75-6,23
Uzama 200 (gr)	6,543±2,286	3,23-11,60	6,081±1,813	3,18-9,01



Grafik 6: İmmobilizasyon grubunda uzama farklılıklarının karşılaştırılması

İmmobilizasyon grubunda uzama farkları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. (p=0,035, 0,000 ve p<0,05) (Grafik 1).



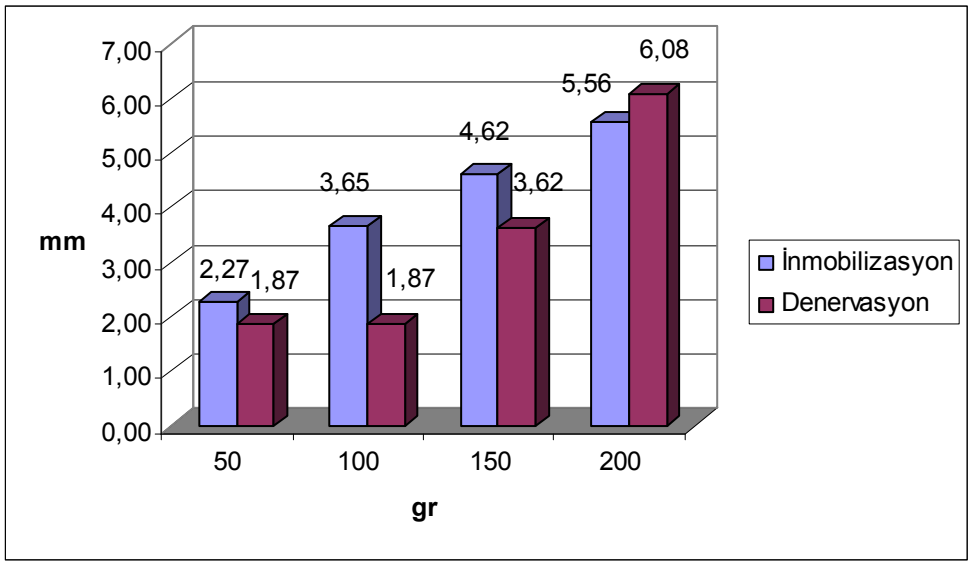
Grafik 7: Denervasyon grubunda Uzama Farklılıklarının Karşılaştırılması

Denerve ve normal gruptaki uzama farkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. (p >0,05) (Grafik 2)

Tablo 7: İmmobilizasyon ve Denervazyon grupları Uzama farklılıkları karşılaştırılması

	İmmobilizasyon (n=14)	**Denervasyon (n=16)**	
	Ort ± SS	**Ort ± SS**	**P**
Uzama 50 gr	2,267±2,378	1,872±0,792	**0,036***
Uzama 100 gr	3,650±2,259	1,872±0,792	**0,026**
Uzama 150 gr	4,615±2,295	3,616± 1,460	**0,027**
Uzama 200 gr	5,664±2,259	6,081±1,813	0,073

*** p <0,05 düzeyinde istatistiksel olaraka anlamlı , Mann-Whitney u testi**



Grafik 8: İmmobilizasyon ve Denervasyon Gruplarının Uzama Farklılıkları Karşılaştırması

İmmobilizasyon grubundaki uzama farklarının 50-100 -150 ve 200 gramlarında denervasyon grubuna göre daha fazla olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ($p<0,05$) (Grafik 3)

Histo-patolojik değerlendirme:

Histopatolojik değerlendirme için aynı sürede elde edilen kaslar formalde saklandıktan sonra her kasın, kısa ve uzun başından önce, kasın en kalın yerinden enlemesine ve uzunlamasına yaklaşık 2mm kalınlığında kesitler alındı. Sonra muskulotendinöz bileşkeden flep şeklinde ve tendon yapısından ayrı yarı kesitler alındı. Alınan kesitler H&E(Hemotoxilen-Eosin) ile boyandı.

Histopatolojik değerlendirme yaparken her preparat en küçük büyütmede (4*0.10 büyütme) 5 mm çapındaki kesit alanı değerlendirmeye alındı. Kas kesitlerinde atrofiyi değerlendirmek için yağlanma miktarı, kas liflerindeki dejenerasyon(hafif-şiddetli),fibrozis,(hafif-şiddetli)ve inflamasyon(yok-var)dereceler incelendi.

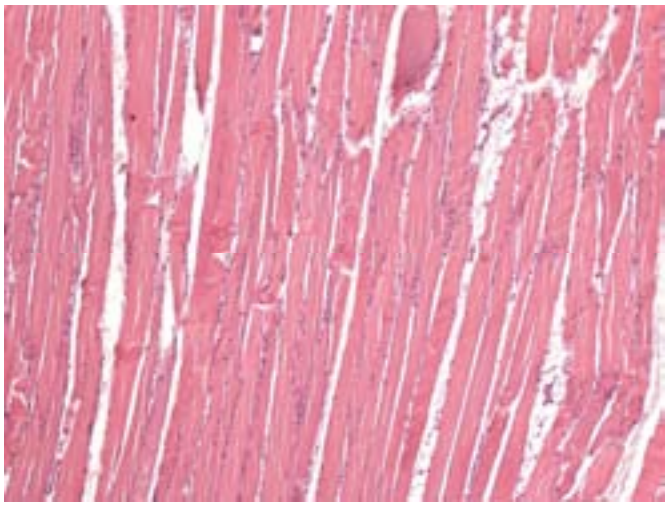
Yağlanma miktarı değerlendirilirken en küçük büyütmede (4* 0.10 büyütme) 5 mm çapdaki alanda en fazla yağ ve kas dokusunun olduğu kesitsel alan değerlendirilmeye alındı. Bu alanın Olympus B* 51 marka mikroskopta dijital fotoğrafı çekildi. Çekilen fotoğralar Yıldız Teknik Üniversitesi Harita Mühendisliği Bölümüne gönderildi. Burda kas dokusu ve yağ dokusu için renk ayrımı yapıldı. Renk ayrımı yapılan fotoğrafın noktacık(piksel) sayımı yapıldı. Farklı renklerden oluşan kas ve yağ dokusunu oluşturan noktacıkların sayısı belirlendi. Bu değer istatistiksel olarak Mann-Whitney u testi ile analiz edildi.

Kas dejenerasyonu değerlendirirken gene en küçük büyütmede en fazla yağ ve kas dokusu olan alan tespit edildikten sonra en büyük büyütmede (40*0.65) kas lifinde meydana gelen dalgalanmalar, düzensizlikler, burkulmalar, nukleus boyut farkları, organizasyon bozulması, diskohezyon derecesine göre değerlendirildi. Değerlendirme hafif- şiddetli şeklinde katagorize edildi.

Fibrozis değerlendirilirken preparat baştan sona incelendi ve hafif-şiddetli şeklinde yorumlandı.

İnflamasyon değerlendirilirken gene en küçük büyütmede en fazla yağ ve kas dokusunun olduğu alandaki yangısal cevap var-yok şeklinde değerlendirildi.

Normal kas dokusunun boyuna kesitinde kas lifleri düzenli, dejenerasyon bulgusu olarak değerlendirilen ayrılma ve burkulma yok. Kas lifleri arasında ve çevresinde yağ dokusu gözlenmemektedir. İnflamasyon hücreleri izlenmemekte ve fibrozis gözlenmemektedir*(Resim-13).*

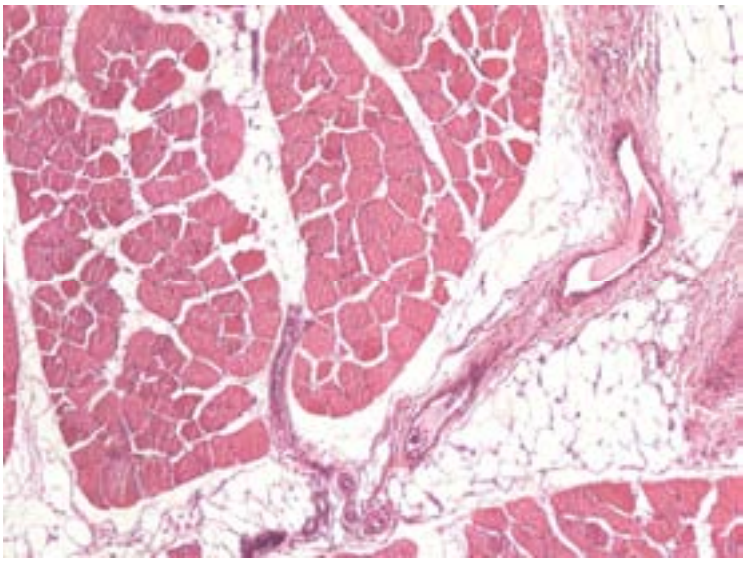


Resim–13:Düzenli kas lifleri izlenmekte. Liflerde ayrılma, burkulma, düzensizlik yok. Kas lifleri arasına dağılmış yağ dokusu adacıkları yok. Fibrozis ve inflamasyon izlenmemekte.(4*0.10 büyütme)

Normal kas dokusunın enine kesitinde Kas liflerinde dejenerasyon bulgusu olarak değerlendirilen düzensizlik, burkulma ve ayrılma yok. Kas lifi arasında yağ dokusu gözlenmemekte. Fibrozis ve İnflamasyon bulgusu izlenmemekte*(Resim–14).*

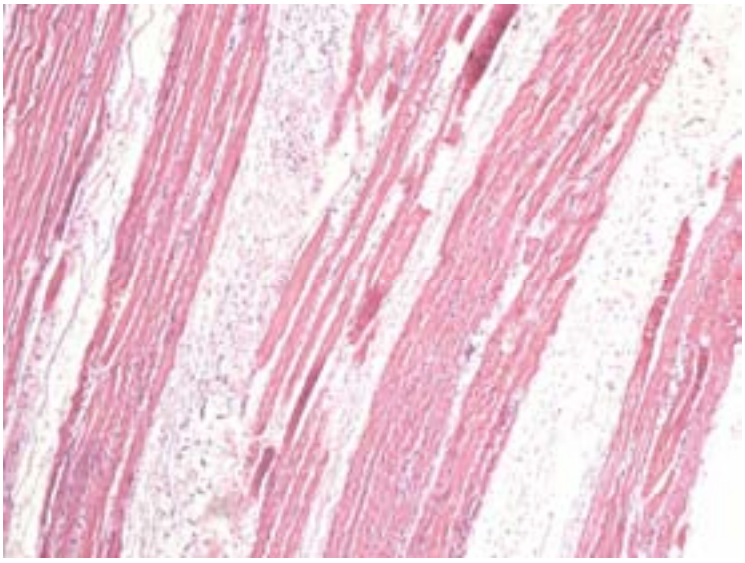
Resim 14:Normal kasın enine kesiti.Kas lifleri düzenli şekilde adacıklar oluşturmuş.lifler arası yağ dokusu kümelenmeleri yok.Fibrozis ve inflamasyon hücreleri gözlenmemekte.(4*0.10 büyütme)

İmmobilizasyon atrofisi oluşturulmuş kas dokusunun enine kesitinde kas liflerinin enine kesitlerindeki düzensizlik lifler arası ayrılma ve lifler arasındaki artmış yağ dokusu gözlenmekte. Ayrıca kesitlerde artmış vaskuler yapı ve bu vaskuler yapı etrafında ve kas lifleri arasında inflematuvar hücreler izlenmekte. Gene kas lifleri arasında fibroziste izlenmekte. *(Resim–15)*



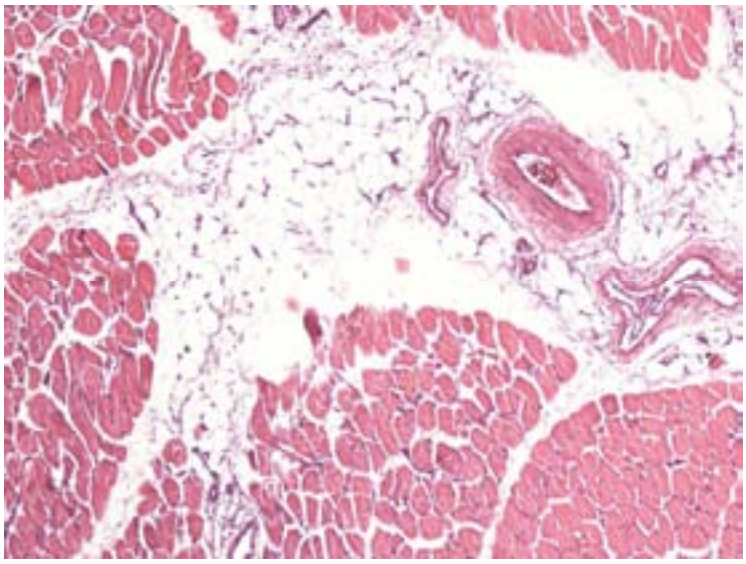
Resim-15:Kas lifleri arasında artmış yağ dokusu ve kas liflerinde düzensizlik mevcut.Vasküler proliferasyon ve artmış fibrotik doku izlenmekte.(4*0.10 büyütme)

İmmobilizasyon atrofisine ait kas dokusunun boyuna kesitinde de kas liflerindeki düzensizlikler, burkulmalar ve kırılmalar, organizasyon bozulmaları, diskohezyon(ayrılma) izlenmekte. Kas lifleri arasındaki artmış yağ dokusu izlenmekte.(Resim–16)



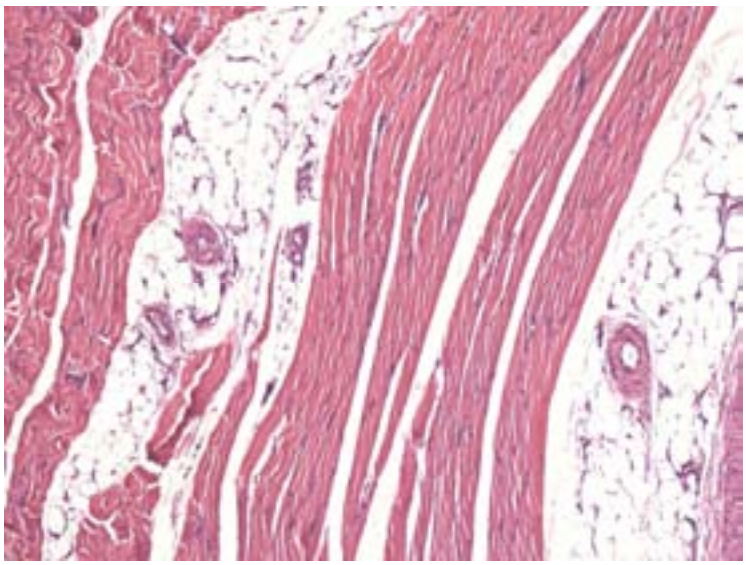
Resim–16:Kas liflerindeki düzensizlik ve liflerde burkulma yer yer ayrılma izlenmekte. Lifler arasındaki yağ dokusu adacıkları görülmekte. İnflematuvar hücreler izlenmekte.(4*0.10 büyütme)

Denervasyon atrofisi grubuna ait kas dokusunun enine kesitinde de kas liflerindeki düzensizlik izlenmekte ve kas lifleri arasındaki artmış yağ dokusu dikkati çekmektedir. Gene artmış vaskularite ve inflematuvar hücrelerin varlığı dikkat çekici.*(Resim–17)*



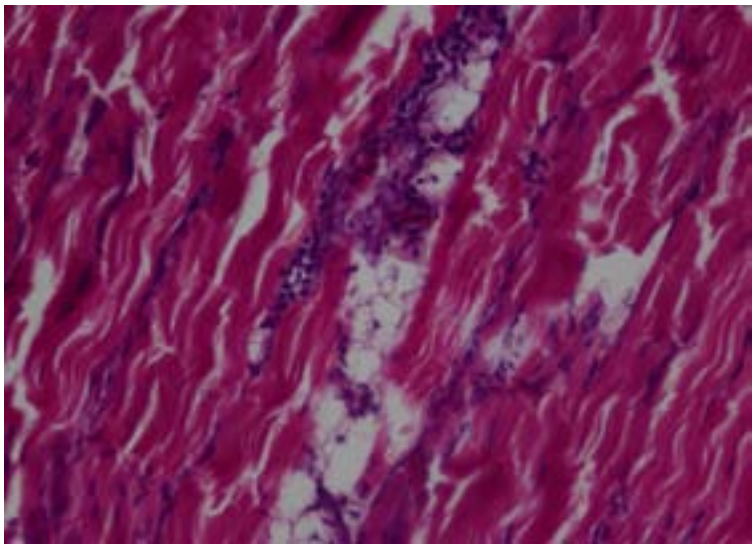
Resim 17:Kas liflerindeki düzensizlik ve kırılmalar ve liflerin ayrılmaları bu grupta daha belirgindir. Kas lifleri arasına dağılmış olan yağ hücreleri adacıkları izlenmekte. Artmış vaskülarizasyon ve fibrozis belirgin.(4*0.10 büyütme)

Denervasyon atrofisine ait kas dokusunun boyuna kesiti. Bu gruptaki kas liflerindeki düzensizlik dalgalanmalar, burkulma ve kırılmalar kullanmama atrofisinden daha fazla olduğu gözlenmekte. Kas lifi arasındaki artmış yağ dokusu izlenmekte. Gene bu kesitte de artmış vaskuler yapılar ve artmış inflematuvar hücreler dikkat çekicidir.(Resim-18)



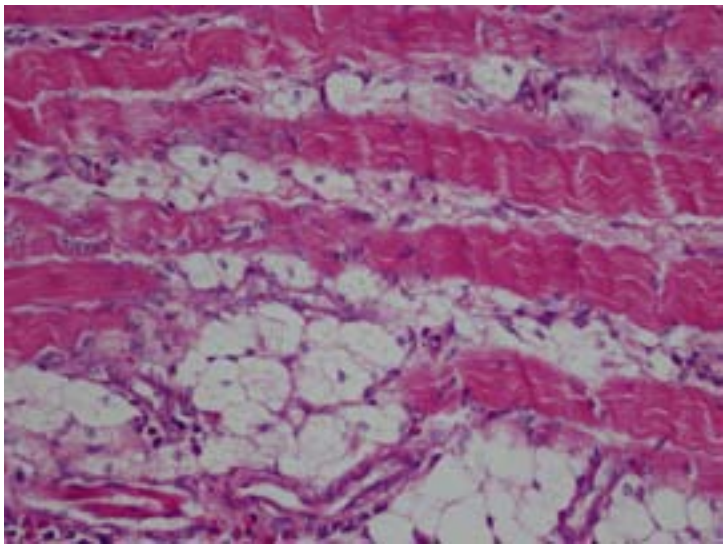
Resim 18:Kas liflerindeki düzensizlik kırılma, ayrılmalar ve burkulmamalar izlenmekte. Bu kesitte de artmış ve dağılmış yağ dokusu adacıkları ve vaskuler çoğalmalar izlenmekte.(4*0.10 büyütme)

40*0.65 büyütmede kas liflerindeki burkulmalar,kırılmalar,düzensizlikler,ayrılmalar dalgalanmalar daha net izlenmektedir.(Resim–19)



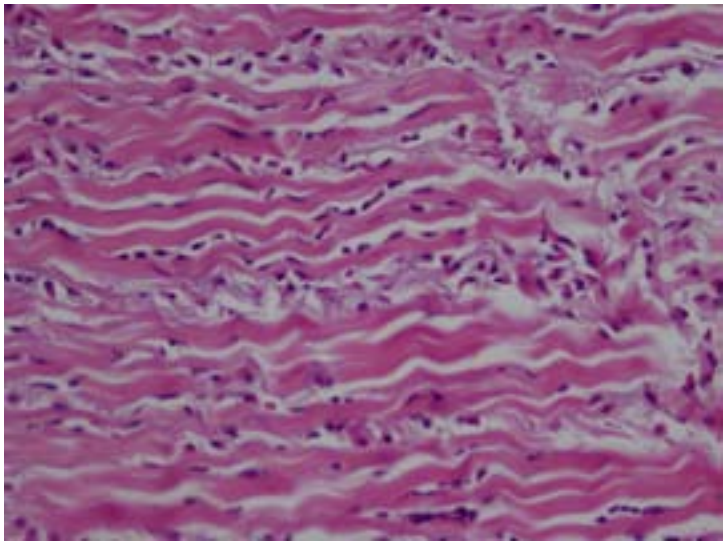
Resim 19:İmmobilizasyon atrofisinde kas lifindeki düzensizlikler lifler arasındaki yağ hücreleri ve inflematuvar hücreler izlenmekte.(40*0.65)

Denervasyon atrofisi grubundaki kas lifleri 40*0.65 büyütmede daha net izlenmekte.Ayrıca kullanmama atrofisine oranla lifler arasındaki yağ adacıkları daha fazla olduğu görülmekte.Lifler arasındaki artmış fibroz doku daha net olarak izlenmekte. *(Resim -20)*



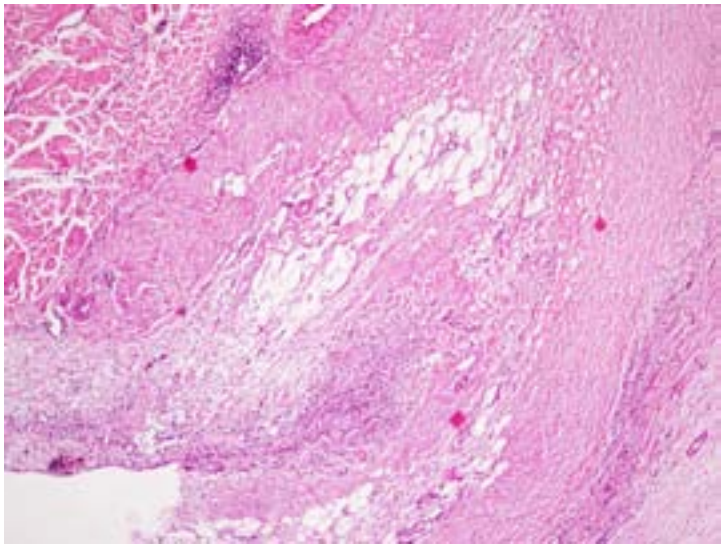
Resim 20:Denervasyon atrofisinde kas liflerindeki artmış düzensizlikler ve kullanmama atrofisine oranla artmış kas lifi arasındaki yağ adacıkları ve fibrozis.(40*0.65 büyütme)

Tendon kesitlerinde de tendon liflerinde düzensizlikler izlenmekteydi.Dalgalanmalar 40*0.65 büyütmede daha net görülmekteydi.*(Resim–21)*



Resim 21:Tendon liflerindeki düzensizlikler çok net izlenmekte.(40*0.65 büyütme).

Muskulotendinöz bileşkedeki değişiklikler ise kas lifleri ile tendon lifleri arasındaki artmış yağ dokusu varlığı ve kas ve tendon liflerindeki düzensizlik idi.(Resim–22)



Resim 22:Muskulotendinoz bileşkedeki artmış yağ adacıkları fibröz değişiklikler.(4*0.10 büyütme)

Histo-patolojik bulgularımız tablo 8 da verilmişir.Histopatlojik bulgularımız morfolojik bulgularımızı destekler nitelikteydi.Kasların her iki başından alınan boyuna ve enine kesitlerin ayrı ayrı değerlendirilmesi yapıldı.

Tablo 8: Kaslardaki histo-patolojik bulgular

	Hafif	**Şiddetli**	
	n (%)	**n (%)**	**p**
Yağlanma			0,037*
Denervasyon	5 (19,2)	21 (80,8)	
İmmobilizasyon	12 (46,2)	14(53,8)	
Dejenerasyon			0,005*
Denervasyon	7 (26,9)	19 (73,1)	
İmmobilizasyon	18 (69,2)	8 (30,8)	
Fibrozis			0,007*
Denervasyon	19 (79,2)	5 (20,8)	
İmmobilizasyon	17 (94,4)	1 (5,6)	
	Yok	**Var**	
	n (%)	**n (%)**	
Yangı			**0,027***
Denervasyon	11 (42,3)	15 (57,7)	
İmmobilizasyon	3 (11,5)	23 (88,5)	

Tablodan da anlaşılabileceği gibi denervasyon grubundaki kasların yağlanma, dejenerasyon, fibrozis ve inflemasyon yüzdesi immobilizasyon grubuna göre istitistiksel olarak anlamlı fark vardı.

Diğer bir kesit alanımız tendonlardı. Burada da dejenerasyon ve fibrozisi değerlendirdik(Tablo–9)

Tablo 9: **Tendon**

	Yok	**Hafif**	**Şiddetli**	
	n(%)	**n(%)**	**n(%)**	**p**
Dejenerason				0,423
Denervasyon	4 (30,8)	9 (69,2)	(-)	
İmmobilizasyon	2 (15,4)	10 (76,9)	1 (7,7)	
Fibrozis				(-)
Denervasyon	(-)	6 (100,0)	(-)	
İmmobilizasyon	(-)	8 (100,0)	(-)	

Tendonlarda ise hem immobilizasyon ve hemde denervasyon grubundaki histo-patolojik değişiklikler hafif düzeydeydi. Bu elde edilen bulgularda bizim önceki elde ettiğimiz morfolojik bulguları açıklamaktadır. Morfolojik olarak tendonların çap ve uzunluk ölçümlerinin karşılaştırılmasını yaptığımızda da anlamlı fark bulamamıştık. Tendon yapılarındaki mikroskopik değişiklikleri hafif düzeydeydi.

Diğer değerlendirmeye aldığımız bölge muskulotendinöz bileşkeydi. Bu bölgede de yağlanma kaslardaki dejenerasyonlar ve fibrozisti. Sonuçlar tablo 10'de verilmiştir.

Tablo 10: **Muskulotendinöz bileşke**

	Yok	Hafif	Şiddetli	
	n(%)	n(%)	n(%)	p
Yağlanma				**0,041***
Denervasyon	(-)	7 (63,6)	4 (36,4)	
İmmobilizasyon	(-)	11 (84,6)	2 (15,4	
Dejenerason				0,822
Denervasyon	2(15,4)	8 (61,5)	3 (23,1)	
İmmobilizasyon	1 (7,7)	9 (69,2)	3 (23,1)	
Fibrozis				**0,006***
Denervasyon	6 (60,0)	1(10,0)	3 (30,0)	
İmmobilizasyon	(-)	6 (85,7)	1 (14,3)	

	Yok	var	
	n (%)	n (%)	p
Yangı			0,411
Denervasyon	10 (76,9)	3 (23,1)	
İmmobilizasyon	7 (53,8)	6 (46,2)	

Muskulotendinöz bileşkedeki yağlanma denervasyon grubunda %36 gibi bir oranla daha şiddetli bulunmuştur. Ancak immobilizasyon grubunda da yağlanma mevcuttur. Yalnız bu hafif düzeydeydi. Fibrozis de denervasyon grubunda daha fazla idi. Yangının immobilizasyon grubunda fazla olduğunu bulduk. Bunun da telin yabancı cisim reaksiyonuna neden olduğunu ve bu sebebten dolayı yangısal sürecin kullanmama grubunda daha fazla olduğunu düşündük.

Tüm bu yukardaki değerlerimiz subjektif değerlerdi. Bunun objektif bir şekilde değerlendirme yöntemi olarak noktacık(piksel) sayma yöntemini kullandık.Bu metodu bu çalışma için sadece kas ve yağ dokusu için kullanabildik. Sonuçlarımız tablo–11 ‘de verilmiştir.Her fotoğrafta toplam 270.000 noktacık vardı.

Tablo 11:Kontrol ,Denervasyon ve İmmobilizasyon Kas Gruplarının Noktacık(Piksel) Karşılaştırılması

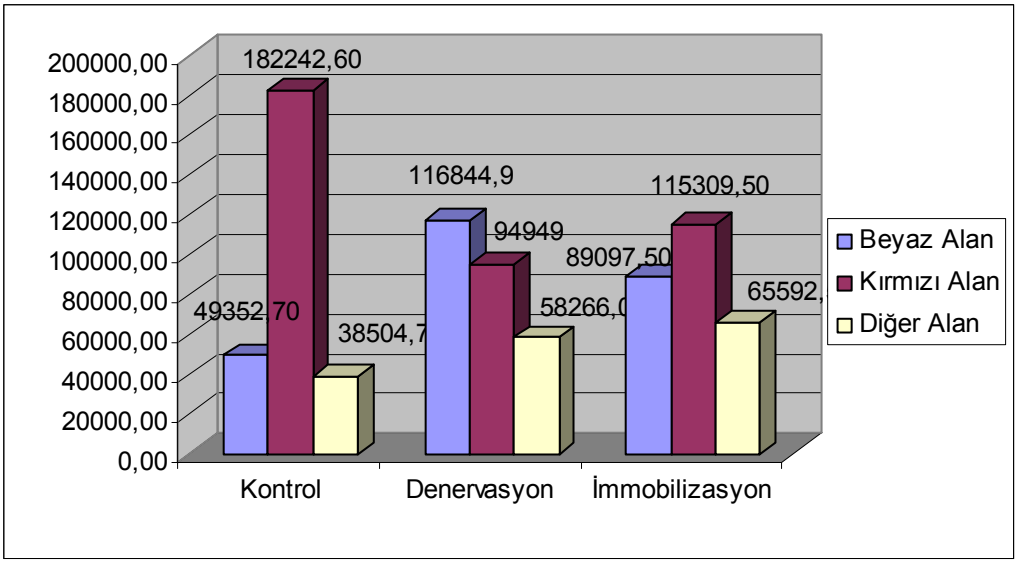
	Kontrol Ort.±SS	Denervasyon Ort.±SS	İmmobilizasyon Ort.±SS
Beyaz alan	49.352,7±12149,6	116.844,9±14487,9	89.097,5±19467,04
Kırmızı alan	182.242,6±21541,7	94.949,0±26166,1	115.309,5±30045,2
Diğer alan	38.504,7±10788,3	58.206,0±181493,4	65.592,5±22014,8

Her iki grubun istatistiksel olarak karşılaştırılması tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 12:İmmobilizasyon ve denervasyon grubunun piksel karşılaştırılması

	Denervasyon Ort.±SS	İmmobilizasyon Ort.±SS	p
Beyaz alan	116.844,9±11487,9	89.097,5±19467,04	**0,000***
Kırmızı alan	94.949,0±26166,1	115.309,5±30045,2	**0,001***
Diğer alan	58.206,0±181493,4	65.592,5±22014,8	**0,023***

Bu tablodan anlaşılacağı üzere denervasyon grubunun yağlı alanları(beyaz),immobilizasyon grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı idi.(Grafik 6)



Grafik 9: Kontrol,İmmobilizasyon ve Denervasyon grupları piksel değerleri

TARTIŞMA

İskelet kaslarının temel fonsiyonları hareket, postur davranışı ve solunumdur. Çizgili kaslar çeşitli fizyolojik (yaşlanma) ve patolojik uyaranlarda (kullanmama, denervasyon ve yerçekimsiz ortam) ölümcülde olabilen atrofi modelleri oluşturur.

Bu çalışmada immobilizasyon ve denervasyon atrofilerinin histo-morfolojik karşılaştırılması yapılmıştır.

Atrofilerin incelendiği deneysel modellerde tavşanlar, ratlar, kedi ve tavuklar kullanılmıştır.(23,37). Charlotte ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada belirtilği gibi tavuk kaslarının homojen hızlı kasılan ve glikotik enzim özelliğinde olan kas yapısında olması(37), Robert ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada beyaz kas liflerinde atrofinin kırmızı kas liflerine oranla daha fazla olması ve oluşturulan denervasyon ve immobilizasyon tekniğinin kolay uygulanabilmesi açısında tavuklar çalışmada denek olarak seçilmiştir.(23,30,37)

Robert ve arkadaşlarının tavuklara uygulamış olduğu alçı ile immobilizasyon yerine (30),bu çalışmada ayakbileğini ve diz eklemini eksternal tespit (Kıschner teli tespit) ile immobilizasyon yöntemini kullandık. N.Zarzhevsky ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada vurguladıkları gibi daha sıkı immobilizasyon sağladık(7).İmmobilizasyon yöntemleri ile yapılan atrofi modellerinde ekstermitenin tespit edildiği pozisyonun önemi Tabara ve arkadaşlarını yapmış olduğu çalışmada vurgulanmıştır.(16,27).Bu çalışmada immobilizasayon grubunda diz ve ayakbileği eklemini nötrol pozisyonda tespit ettik. İmmobilizasyon için kullandığımız yöntem de bazı deneklerde (3 hayvan) çivi dibi enfeksiyonu görüldü. Çivi dibi enfeksiyonu ayakbileğini tespiti için kullandığımız tellerde görüldü. Diz eklemini tespit ettiğimiz tel diplerinde enfeksiyon bulgusu yoktu.Bu denekler çalışmadan çıkartıldı.

Denervasyon grubuna Anna ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada değinildiği gibi siyatik sinir, çevre dokulardan özenle disseke edildikten sonra yaklaşık 1 cm'lik bölümü rezeke edildi (35,39).Bu sayede denervasyon sonrası oluşabilecek reinnervasyon önlenmiş olundu.

Bu çalışmadaki denekler genç hayvanlardı.Zarzhevsky ve arkadaşlarının immobilizasyon atrofisinin genç ve yaşlı sıçanlardaki etkileri ve remabilizasyon sonrası düzelmenin karşılatırıldığı çalışmada yaşlı sıçanlardaki kas kütlesi kaybını %52 iken ,genç sıçanlarda %49 olarak bulmuşlardır(7).Toshiya ve arkadaşlarının ,yaşlı ve genç farelerde atrofi hızının araştıldığı çalışmada aynı sürede farelerin soleus kasında atrofi derecesi açısından herhangi bir fark bulamamışlar(33). Sunderland ve arkadaşlarını farklı hayvan türlerinde denervasyon atrofisinin sonuçlarının karşılaştırmışlardır. Bazı tavşan ve rat türlerinde ilk 30 günde atrofinin daha hızlı (%60) oranda olduğunu, maymun ve kedilerde aynı sürede meydana gelen atrofinin daha yavaş (%10–40) değiştiğini vurgulamışlardır(26). Deneklerimizin kaslarının beyaz liflerden(hızlı kasılabilen) oluşması atrofnin daha hızlı olmasını sağlamış olabilir.

Üç hafta sonra deneyimizi sonlandırdığımızda denervasyon grubuna ait hayvanların kendi sağlam taraflarına oranla %54.4, immobilizasyon grubu ise kendi kendi sağlam taraflarına % 42.5 ağırlık kaybı vardı.

Hacim kayıpları karşılaştırdığında denervasyon grubunda %57.5, immobilizasyon grubunda ise %40.5 oranında hacim kaybı vardı. Ağırlık ve hacim kayıp oranları birbirine yakındı. N.Zarzhevsky ve arkadaşlarının sıçanlarda 4 haftalık eksternal tespit yöntemiyle immobilizasyondan sonra kas kütlesinde %32–42 oranında azalma bulmuşlardır(7).Sunderland ve arkadaşlarının, denervasyon atrofisinin çizgili kaslar üzerindeki etkisinin değerlendirildiği uzun dönem çalışmada, ilk 30 gün sonunda sıçanlarda yaklaşık %40-60 kas kütlesinde azalma bulmuşlardır.(26)

Bu çalışmada denervasyon grubundaki ağırlık(%54.4) ve hacim(57.5) kaybının, immobilizasyon grubuna(%42.5 ,%40.5) göre daha fazla olduğunu bulduk. Bulgularımızı histo-patolojik olarak değerlendirmemizde Sunderland ve arkadaşlarının, çizgili kaslarda denervasyonun etkilerini araştırdıkları çalışmada kasların enine ve boyuna kesitler almışlar ve bunları hematoxilen-eosin ile boyadıktan sonra ışık mikroskobunda dokudaki çizgilenmelere, konnektif doku değişikliklerine, liflerdeki düzensizlikleri değerlendirmişlerdir(26).Sarkoplazmada vokulasyon,kas liflerinde düzensizlik,kollaps,disintegrasyon ve konnektif doku

artışı,fibrozis tespit etmişlerdir. Bu çalışmada immobilizasyon ve denervasyon grubuna ait kas dokusunun en kalın yerinden 2 mm lik enine ve boyuna kesitleri alındıktan sonra H&E ile boyandı. Işık mikroskobunda kas liflerindeki kırılmalar, düzensizlikler çevre doku kas lifleri arasındaki yağlanma, fibrozis ve yangısal cevap değerlendirildi. Preparatların genel olarak değerlendirildiğinde denervasyon grubuna ait örneklerde yağlanmanın %80,kas lifindeki dejenerasyonun %73 oranında idi. İmmobilizasyon grubunda yağlanma % 53 oranında, kas lifindeki dejenerasyonun %30 oranında idi. Konnektif doku değişikliği olarak değerlendirdiğimiz fibrozis ise denervasyon grubunda % 20.8, immobilizasyon grubunda ise %5.6 idi. Bu çalışmada hem morfolojik hemde histo-patolojik bulgularımızda Toshıya ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada vurgulandığı gibi en şiddetli atrofinin denervasyon grubunda olduğunu gözlemlenmiştir.

Kaslarda meydana gelen dejerasyon sürecini önlemek ve kasın yeniden normal fonksiyonunu kazanmasında satellit hücrelerin varlığı, sayısı ve aktivasyonun önemi bilinmektedir.(4,9,15,19,22,24). Denervasyon grubundaki atrofik süreçteki rejenerasyon kapasitesi , immobilizasyon grubuna oranla daha az olabilir. Denervasyon grubunda ,immobilizasyon grubuna göre oluşan ağırlık ve hacim kayıplarının fazla olmasını bu hücre içi mekanizmaya bağlıolabilir.

Gastroknemius kasının kısa ve uzun baş uzunluk ve çap atrofileri değerlendirildiğinde denervasyon grubunda kısa baş uzunluğu %11.82, uzun baş uzunluğunda % 20.50 atrofi oluşmuştur. İmmobilizasyon grubunda ise bu değerler kısa baş uzunluğunda %8.06,uzun baş uzunluğunda ise %11.42 atrofi oluşmuştur. Denervasyon grubundaki atrofi, immobilizasyon grubuna oranla daha fazladır.

Dokuların muskulotendinöz bileşkeden ve tendondan aldığımız örneklerini Kannus ve arkadaşlarının immobilizasyon ve remobilizasyon sonrası tendondaki etkilerini araştırdıkları çalışmada(13),immobilizasyon sonrası tendonda ödem, yarılma parçalanma, düzensizlik kollajen çaplarında azalma bulmuşlardır. Bu çalışmada morfolojik ölçümlerimizde aşil çapında ve uzunluğunda kontol grubuna oranla immobilizayon grubunda %20,denervasyon grubunda %12 azalma bulunmuştur. Tendon çaplarında ise immobilizasyon grubunda %27.65, denervasyon

grubunda %25.80 oranında azalma bulunmuştur. İmmobilizasyon grubundaki değişikliklerin denervasyon grubuna göre daha şiddetli olduğunu gördük. Muskulotendinöz ve tendon yapıların histolojik bulgularında tendon liflerindeki değişiklikler immobilizasyon grubunda % 7.7 oranında şiddetli iken denervasyon grubunda hiçbir örnekte şiddetli değildi. Denervasyon grubunda tendondaki değişiklikler daha çok hafif (%69.2) düzeydeydi. İmmobilizasyon grubundaki değişiklikler %76.9 oranında hafif düzeydeydi. Morfolojik ölçümlerimiz ve histolojik-patolojik bulgularımız immobilizasyon grubundaki atrofik değişiklikler, birbirini destekler nitelikteydi. Kas fibrillerindeki atrofik değişiklikler daha çok denervasyon grubunda çarpıcı iken tendon ve muskulotendinöz bileşkedeki atrofik değişikliklerin immobilizasyon grubunda fazla olmasını; muskulotendinöz bileşkedeki histo-patolojik bulgularımızla açıklıyoruz. Bu bölgedeki değişiklikler denervasyon grubunda, yağlanma %36.4 , fibrozis %30 idi. İmmobilizasyon grubunda ise yağlanma %15.4,fibrozis %14.3 idi. Denervasyon grubundaki yağlanmanın fazla olması aşil çapını arttırdığını ,fibrozisin ise aşil tendon uzunluğunda kısalmaya neden olabilir.

Goldspink ve arkadaşlarının kedilerde yapmış olduğu, denervasyonun kaslardaki uzayabilme ve sarkomer adaptasyonun incelendiği 4 haftalık çalışmada , denerve olan kasta ,kas fibrilleindeki dejenerasyon sonucunda sarkomer uzunluğunda değişiklik kontrol grubuna göre anlamlı değilken ,sarkomer sayısında kontrol grubuna göre anlamlı azalma olduğunu bununda uzayabilme kabiliyetini etkilediğini bulmuşlardır(40).Tabaray ve arkadaşlarının kediler üzerinde farklı pozisyonlarda immobilize ettikleri bacakların uzayabilme kabilyetini değerlendirdikleri çalışmada kısa pozisyonda immobilize edilmiş kasta sarkomer sayısının %40 gibi azaldığını,uzun pozisyonunda immobilize edilen kasta ise %20 oranında azalma bulmuşlardır.Kısa pozisyondaki uzayabilme miktarı nötrol pozisyona oranla daha az bulmuşlardır(16).Bu çalışmada immobilizasyon ve denervasyon grubundaki uzama miktarları karşılaştırıldığında immobilizasyon grubunun uzayabilme miktarı %4.8 ,denervasyon grubun uzayabilme miktarı %2.5 idi. Goldspink ve Tabaray'ın yapmış oldukları çalışmada belirtikleri gibi sarkomer sayısının uzayabilme miktarının etkilediğini vurgulamışlardır.Bu çalışmada denervasyon grubundaki kaslarda dejenerasyonun daha fazla olduğunu bulduk. Denervasyon grubunda immobilizasyon grubuna göre sarkomer sayısı daha fazla azalmış olabilir.. Diğer bir etkenin de

immobilizasyon grubundaki deneklerin bacaklarını nötral pozisyonda tespit etmemizin sarkomer sayısında çok anlamlı bir düşüşe neden olmaması ve sonuçta uzayabilme kabiliyetinde denervasyon grubuna göre daha iyi olmasının nedeni olabilir.

Histopatoljik değerlendirmede kullandığımı yöntemde örneklerimizi H&E boyadıktan sonra küçük büyütmede en fazla yağlanmanın ve dejenerasyonun olduğu alanlar değerlendirmeye alındı. Değerlendirmede verilen değerler tamanen öznel idi. Suat Toroman ve arkadaşının yapmış olduğu histopaolojik imgelerde istenen hücrelerin alanın otomatik belirlenmesi adlı çalışmada kullanılan yönteme benzer yöntemi bu çalışmada kullandık(41).Bu yöntemde küçük büyütmede belirlediğimiz alanın fotoğrafı çekildi ve bu alandaki yağ hücrelerinin oluşturduğunun düşündüğümüz beyaz alanların ile kas liflerinin oluşturduğunun düşündüğümüz kırmızı alanların hesaplamasın için alanların rengi bilgisayarda tanımlandı Her bir örnek için noktacık (piksel) türünden sayı elde edildi.Kesit alanlarımızın hepsi 270.000 noktacıktan oluşuyordu.Kontrol grubunda %18 oranında beyaz alan mevcut iken ,denervasyon grubunda %42 ,immobilizasyon grubunda %22 idi.Kırmızı alanların yüzdeleri ise kontrol grubunda %67 iken denervasyon grubunda %34, immobilizasyon grubunda %42 olarak hesaplandı.Burda da görüldüğü gibi denervasyon grubunda yağlanma,immobilizasyon grubuna oranla daha fazla idi.Bu yöntemi daha sonraki çalışmalarda özel boyalarla tespit ettiğimiz hücrelerin sayısını tespit etmede kullanıbilecektir.

Bu çalışmada literatürde çok sık kullanılan atrofi modellerini, hem morfolojik hemde histopatolojik olarak karşılaştırma imkanı bulduk. Denerve edilen kastaki morfolojik ve histo-patolojik değişikliklerin, immobilize edilen kastaki atrofinin istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla olduğunu gördük.

ÖZET

Amaç: Oluşturduğumuz deneysel modelde immobilizasyon ve denervasyon atrofilerinin karşılaştırması amaçlandı.

Yöntem:30 adet tavuk 2 eşit gruba ayrıldı.İmmobilizasyon atrofisi için 1.grubun arka bacağı diz ve ayak bileği ekleminden birer adet kischner teli ile tespit edildi.Denervasyon grubu için siyatik sinir rezeksiyonu yapıldı.Üç hafta sonunda kasların yaş ağırlıkları,hacimlari,boyları çapları,uzaya bileme miktarları hassas ölçüm aletleri ile ölçüldü.Kasların histo-patolojik değerlendirmesi için H&E boyama yapıldı.Değerlendirme yapılan preparatların fotoğrafları çekildi. Noktacık sayma yöntemi için Yıldız Teknik Üniversitesi Harite Mühandisliği bölümüne gönderildi.Tüm veriler Mann-Whiney u testi ile analiz edildi.

Bulgular: Yapılan morfolojik değerlendirmede denervasyon grubundaki hacim,ağırlık,kas uzunluk kayıpları ,immobilizasyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı bulunmuştur($p<0.05$).Aşil tendon çapları ve uzunluk farkları ayrıca kısa kas baş çapı farkları istatistiksel olarak anlamlı değildi.Fakat denervasyon grubundaki farklar immobilizasyon grubuna göre farklı idi.Histo-patolojik değerlendirmede denervasyon grubuna ait değerler immobilizasyon grubuna göre yağlanma,dejenerasyon,fibroziste istatistiksel olarak anlımlı farklılık vardı.($p<0.05$)

Noktacık sayma yöntemindeki bulgularımızda denervasyon grubundaki yağ dokusu alanları noktacık sayıları immobilizasyon grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı.($p<0.05$)

Sonuç: Bu deneysel çalışmamızda 3 haftada her iki grupta atrofi oluşturabildik.Denervasyon grubundaki atrofi bulgularının sinirsizleştirme grubuna göre daha fazla olduğunu bulduk.Yeni yöntem olarak kullandığımız noktacık sayma metodu ile histo-patolojik bulgularımızı objektif olarak değerlendirebildik..Bu çalışmanın bir sonraki basamaklarında çalışma modelleri çeşitlendirilebilinir.

Kaynaklar

1-.**Busquets, S.,alvarez,B. ,Lopez-SorinoF.C.&Argiles,J.M. Branched**-Chain aminoacids:A role in skeletal proteolysis in catabolic states? J. Cellular Physiology,191,283-289 (2002).

2-**R.Gallego,M.Kuno,Nunez and D.Snıder** ;Dependece of motoneurone properties on the length of immobilization muscle.J.Physiollogy 291:179-189 (1979)

3-**A.R.S. Gomez,E.L. Countinho,C.N. Franca J.Polonio**. Effect of one strecth a week applied to the immobilization soleus muscle on rat muscle fiber morphology . Brazilian Journal of Medicine and Biological Research 37: 1473- 1480 ,(2004)

4- **N. Koşar, H. A. Demirel.** Kas Atrofisi Mekanizmaları. Hacettepe Spor Bilimleri Dergisi. 15(3)167-190 ,2004

5- **R.S. Gomez,E.L. Countinho,C.N. Franca** .Effect of passive strecth on the immobilized soleus muscle fiber morfology . Brazilian Journal of Medicine and Biological Research 37:1853-1861 (2004)

6-**F.Pıcquet L.stevens G.S. Butker Y.Mouıner** :Differential effects of a six day immobilization on newborn rat soleus muscle at two developmental stages : Journal of muscle research cell motility 743-755/1988

7-**N.Zarzhevsky, E.Carmelli, D.Fuchs, R.Coleman, H.Stein.** Recover of muscle of old rats after hindlimb immobilization by external fixation is impaired compared with those young rats. Experimental Gerantology 36:125–140(2001).

8-.**Fitsh. R.H:Danny,R.R**.Functional and structural adaptation of skeletal muscle to microgravity.The Journal of Experimantal Biology.204, 3201-3208 (2001)

9-**LM Scwart** Muscle atropy and cell oppaptozis.Cell Death and Differentiation 15,1163-1169.(2008)

10-. **-Da-Xing lu,Shı-Kaı Huang and Bruce M. Carlson.**Electron microscopic study of long term denervated rat skeletal muscle.The Anatomical record 248:355-365 (1997)

11- **Elizabeth R Barton ,Jonathan A. Gimbel, Gerald R. Williams**. Rat supraspinatus muscle atropyh after tendon detachment J.Orthopaedic Research 23;259-265 (2005)

12-.**Y.Itai., Y.Karia and Y.Hoshino**..Morphological changes in rat hindlimb muscle fibers during recovery from disuse atrophy. Acta Physiol.Scand 181:217-224 (2004)

13-**L. Jozsa,P. Kannus ,J. Thörıng ,A. Reffy,M. Jarvinen,M. Kvıst** ;The effect tenotomy and immobilization on ıntramuscular connective tıssue.J.Bone Joint Surgery (Br.)72-b:293-7 (1990)

14-**N Zarzhevsky,R Coleman,G.Volpin,D Fush** . Exteraman fixastion by immobilization after recovery in muscle . Journal of Bone and Joint Surgery :301-321 (1999).

15-**S.S.Jejurikar and W.M.Kuzon**. Satellit cell depletion in degenerative skeletal muscle.Apoptozis 8:573-578 (2003).

16-**B.J.Tabary,C.Tabary, C.Tardıeu** ;Physiologıcal and structural changes in the cats soleus muscle due to immobilization at differt lengths by plaster casts..J.Physio 224:231-244 (1972).

17-**Per A.Tesch,Ferdinad von Walden ,Thomas Gutafsson,Richard M,Linnehan and Tood A.** Trappe. Skeletal muscle proteolysis in response to short term unloading in humans. J.Appl Physiol 105(3):902-906 (2008).

18-**G. Bajotto and Y. Shımomura** .Determinants of dısuse induced skeletal muscle atrophy exercise and nurtition Countermeasures to prevent protein loss J.Nurt.Sci,Vitaminol 52: 233-247 (2006)

19-**J. Ehrhard and J. Morgan.** Regenerative capacity of skeletal muscle. Current Opinion in Neurology 18:548-553 (2008).

20-**Sophie B.P.Charges and Michael A. Rudnicki**.Cellular and molecular regulation of muscle regeneration ..Physiol Rew. 84 :209-238 (2004).

21-**Menotti Midro,Daniela Danieli-Betto.Aram Megighian** .Early effects of deneravtion on sarcoplazmic retculum properties of slow-Twich rat muscle fibers .Pflügers Arch Eur J Physiology 434: 398-405 (1997).

22-**S.S Jejurikar And M. Kuzon**. Degeneration skelatal muscle on stellit cell deplation Apoptosis 8: 573-578 (2003).

23-**Charles R.Shear .** Effects of dıduse on growing and adult chick skeletal muscle . J.Cell Sci. 48:35-54 (1981).

24-**Fabien le Grand and Michael Rudnicki** .Growth of muscle and repair stem cell and satellit cell. Development 134: 3953-3957 (2007).

25-**O.Booyarom and K. Inui**.Atrophy and hypertrophy of skeletal muscle strctural and functiona aspects.. Acta Physiol.188: 77-89 (2006).

26-S.**Sunderland and J.Ray.** Denervation changes in mammalian striated muscle depertmant of anatomy and histology . J.Neural.Neusurgr.Pychiat.13:159 (1950).

27-**Dominic C. Meyer,Christoph Pirk ,Christian W.A.Pfirrmann ,Marco Zanetti. Christian Gerber**.Asymmetric atrophy of supraspinatus muscle following tendon tear.h Journal of Orthopaedic Research 23: 254-258 (2005).

28 –**T.J. Koesterer,S.L.Dodd and Scott Powers .**İncreased antioxidant capasity dones not atteuate muscle atrophy caused by unweigting. J.App. Physiology 93:1959-1965(2002).

29-**M.midro ,D.Daniel-Betto.,A.Megighian, C.Velussi ,C.Catani and U. Carro**.Slow to Fast tarnformation of deneravted soleus muscle of the rat in the presence of an antifibrilltory drug European Journal of Physiology 420: 446-459 (1992).

30-**Robert J. Tomanek and Donald Kund**. Degeration of diferent types of skeletal muscle fibers deneravtion .J.Anatomy 116: 395-407 (1973).

31 – **Chritine A.Vıguıe ,Da –Xıng Lu, Shı Kaı Huang ,Hema Rengen** . Quantitavie study of the effects of long term denervation on the extensor digitorum longus muscle of the rat Anatomıcal Record 248: 346-354 (1997).

32-**Sameer S. Jejurikar,Cynthia L. Marcelo,William M .Kuzon.** Skeletal muscle denervation increases satellet cell suspectibiliyt to apoptosis.Plastic and Reconstructine Surgery 110:160-168 (2002).

33-**Toshiyaka Tanaka ,Yuseı Karıya and Yuıchı Hoshıno**. Histochemical study on the changes in muscle fibers in relation to effects of againg on recovery from muscular atrophy caused dısuse in rats. J.Ortopaedic Science 9: 76-85 (2004).

34-**Guyton & Hall.**Tıbbı Fizyoloji. Nobel Tıp Kitabevi.(1998)

35- **Ana Cristina Camillo,Rorigo de Carvalho Rocho ,Renato Paulo Chopard.** Structural and microvascular study of soleus muscle of wıstar rats after section nevre sciativ nevre .. Arq.Neuropsiguiart 62(3-B): 835-838 (2004).

36- **Mıchel J.Castro,Davit F. Apple,Rober S. Staron** :Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle 6 mo. of injury.Amerıcan Physiologıcal Society .7587/99(1999).

37-**Charlotte A. Tate, Roger J. Bıck, Tim D. Myers ,Barry J. R. Pıtts, W. Bary Van Winkle and Mark Etman** :Altertion of sarcoplazmic retikulum after denervation chicken pektorolis mucle. Biochem.J.210: 339-344 (1983).

38-**By J. C. Eccless,** Invvestigation on muscle atrophy arısıng from dısuse and tenotomy. J. Physiol. :103, 253-266 (1944).

39-**G.Goldspink ,C.Yabaray,C.Tradıeu and G. Tardıeu** :Effect of denervation on the adaptation of sarcomers number and muscle extensıbılıty to the functıonal length of the muscle.J.Physiol 236:733-742 (1974).

40-**Suat Toraman,İbrahim Türkoğlu**.Histopatolojik imgelerde istenen hücrelerin alanın otomatik belirlenmesi.5.Uluslararası İleri Teknolojiler Sempozyumu 13-15 Mayıs 2009 Karabük / Türkiye .