



Rıdvan Çolak¹, Haydar Ali Erken², Osman Genç³

¹Ardahan Üniversitesi, Beden Eğitimi ve Spor Yüksekokulu, Ardahan, Türkiye

²Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

³Dumlupınar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Kütahya, Türkiye

colak.ridvan@gmail.com

ORIGINAL ARTICLE

SIÇANLARDA NORMOBARİK HİPOKSİ ANTRENMANLARININ ELEKTRİK UYARISI İLE OLUŞTURULAN İSKELET KAS YORGUNLUĞUNA ETKİSİ

Özet

Amaç: Sunulan çalışmada sıçan iskelet kasında elektriksel uyarı ile oluşturulan zirve kas kuvveti ve yorgunluğu üzerinde, normobarik hipoksi (yükselti) antrenmanlarının etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Toplam 22 adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçan rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol (LL, n=5), düşük yükseltide (normoksi) yaşam ve antrenman (LLTL, n=6), hipoksidede yaşam ve hipoksidede antrenman (LHTH, n=5), hipoksidede yaşam ve düşük yükseltide antrenman (LHTL, n=6). LHTH grubu 4 hafta sürekli hipoksidede kalırken, LHTL grubu 4 hafta boyunca 12 saat hipoksik, 12 saat normoksik ortamda barındırıldı. Hipoksi O₂ seviyesinin %15'e düşürülmesi ile sağlandı (8850 SUMMIT, Altitude Tech., Kanada). Antrenman protokolü, maksimal egzersiz testi sonucunda, maksimal egzersiz kapasitesinin %60-70'ine denk gelen şiddette uygulandı. Kullanılan egzersiz testi basamaklı egzersiz testi olup, LHTH grubu için 0.3 km/s diğer gruplar için 0.6 km/s başlangıç hızında ve her 3 dakikada 0.3 km/s hız artışı sağlanarak %0 eğitimde sıçanın koşu bandında (MAY-TME 9805, Commat, Ankara, Türkiye) koşu konumunu koruyamadığı noktaya kadar devam ettirildi. Maksimal egzersiz kapasitesinin % değeri egzersiz şiddetinin tespitinde kullanılarak her sıçan günde 20-35 dk, haftada 4 gün ve 4 hafta boyunca egzersize tabi tutuldu. Antrenman periyodu bitiminin 2. günü düşük yükseltide maksimal egzersiz testi tekrarlandı. Egzersiz testi sonrası sıyatik sinire verilen elektriksel uyarı (0.2-60Hz, 6V, 2msn) ile gastrokinemius kasında tetanik kontraksiyon oluşturularak zirve kuvvet ve yorgunluk verileri elde edildi. Çalışmada elde edilen veriler Kruskal-Wallis ve Man Whitney U testi kullanılarak, 0.05 anlamlılık düzeyinde değerlendirildi. Sonuçlar: Elde edilen zirve kuvvet değerleri açısından, LLTL ve LHTL grupları LL grubuna göre daha yüksek zirve kuvvet değerine sahip iken (p=0.004; p=0.0017) LLTL grubu ile LHTH grubu arasında fark istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0.017). Buna karşın kassal yorgunluk değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu sonuçlar LHTH grubunun diğer gruplara göre daha dezavantajlı olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Hipoksi, antrenman, zirve kuvvet, kassal yorgunluk

THE EFFECT OF NORMOBARIC HYPOXIC TRAINING ON ELECTRICAL STIMULATION INDUCED SKELETAL MUSCLE FATIGUE IN RATS

Abstract

Objective: The aim of this study was to investigate the effect of normobaric hypoxic training (altitude training) on skeletal muscle fatigue and peak force induced by electrical stimulation in rats. Material and Method: A total of 22 Sprague Dawley male rats were randomly divided into 4 groups: Control (LL, n=5), live low-train low (LLTL, n=6), live hypoxia-train hypoxia (LHTH, n=5), live hypoxia-train low (LHTL, n=6). LHTH groups, were exposed to hypoxia for 4 weeks. LLTL, were exposed to 12 hours hypoxia and 12 hours normoxia a day for 4 week. Hypoxia is maintained by reducing 15% O₂ level (8850 SUMMIT, Altitude Tech, Canada). The training protocol corresponded to 60-70 % of maximal exercise capacity by means of maximal exercise test. This test consisted of graded exercise on treadmill, with increments of 0.3 km/h for LHTH group, and 0.6 km/h LLTL and LHTL groups, every 3 min, starting with 0.3 km/h up to maximal intensity attained for each rat. Rats in the training groups ran on the rat treadmill (MAY-TME 9805, Commat, Ankara, Turkey) for 20-35 min a day, 4 day a week for 4 week. At the end of the experimental period, maximal exercise test was repeated at 2nd day of low altitude. For peak force and muscular fatigue, the electrical stimulation was administered with an intensity of 6-7 V and pulses of 2 msec duration. To induce a tetanic contraction, the frequency was raised from 0.2 to 60 Hz and kept there until the muscular force fell to 50% of its value at the onset of that particular contraction. Kruskal Wallis and Mann-Whitney U tests were used for the differences between groups, p values <0.05 accepted as statistically significant. Results and Conclusion: As a result of study, LLTL and LHTL groups peak force are more high than LL groups (p=0.004; p=0.0017) also there is a significant difference between LLTL and LHTH groups (p=0.017). The muscular fatigue values of LHTH is lower than LLTL and LHTL, but these values did not reach a significant difference. As a result of this study, LHTH group is more disadvantaged than other training groups.

Keywords: Hypoxia, training, peak force, muscular fatigue

GİRİŞ

Günümüzde, üst düzey sporcular gerek gerçek yükselti ortamı gerekse yapay olarak oluşturulan hipoksik ortamlarda egzersiz yaparak ya da orada bulunarak, egzersiz performansında artışlar elde etmeyi hedeflemektedir. Yorgunluk egzersiz performansını sınırlayan temel faktörlerden biridir. Kassal yorgunluk, kasın maksimal kuvvet üretiminde azalma olarak tanımlanır ve kasın iş yapabilme yeteneğinde düşüş ile karakterize edilir (Fitss, 1994; Powers ve Howley, 2007). Kassal yorgunluğun önlenmesi amacıyla sıvı takviyesi, vitamin C (Thompson ve ark., 2001), kreatin (Mujika ve Padilla, 1997), arjinin (Santos ve ark., 2002) ve düşük seviyede lazer uygulaması (Lopes-Martins ve ark., 2006), sporcularda ve bazı hasta gruplarında, kullanılmıştır. Günümüzde yükselti antrenmanlarının yeni formu olan yüksekte yaşam-alçakta antrenman (LHTL) yaklaşımının klasik yükselti antrenmanından daha üstün olduğu savunulmaktadır (Levine ve Stray-Gundersen, 1997; Stray-Gundersen ve ark., 2001). Yükselti antrenmanlarında performansa etki ettiği düşünülen pek çok faktör (maksimal oksijen tüketimi, egzersiz performansı, tükenme zamanı, hormon düzeyi, enzim aktivitesi,

laktik asit seviyesi, serbest radikal hasar, eritrosit ve hemoglobin düzeyleri vb) incelenmiş olmasına karşın, yorgunluk faktörünü inceleyen çalışmaların sayısı çok azdır (Richalet ve Gore, 2008).

Bu nedenle bu çalışmanın amacı, sıçan iskelet kasında elektriksel uyarı ile oluşturulan zirve kas kuvveti ve yorgunluğu üzerinde normobarik hipoksi (yükselti) antrenmanlarının etkisini araştırmaktır.

YÖNTEM

Deney Grupları

Çalışma için Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alındıktan sonra, 22 adet, 8 haftalık, erkek, Sprague Dawley cinsi sıçan rastgele 4 gruba ayrıldı: Kontrol (LL, n=5), düşük yükseltide (normoksi) yaşam ve antrenman (LLTL, n=6), hipokside yaşam ve hipokside antrenman (LHTH, n=5), hipokside yaşam ve düşük yükseltide antrenman (LHTL, n=6). LHTH grubu 4 hafta boyunca sürekli hipoksik ortamda (%15 O₂) bulunurken, LHTL grubu 4 hafta boyunca 12 saat hipoksik ortamda, 12 saat ise normoksik ortamda barındırıldı. LLTL ve LL grupları ise 24 saat boyunca normoksik ortamda barındırıldılar.

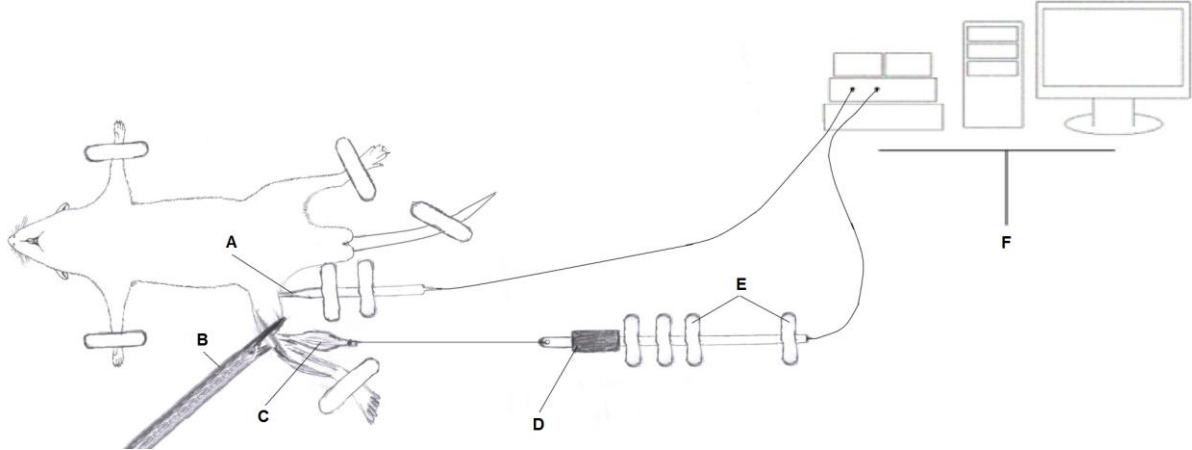
Veri Toplama Araçları

Egzersiz için sıçan koşu bandı (MAY-TME 9805, Commat, Ankara,Turkiye) kullanıldı. Hipoksi çadırı ve hipoksi jeneratörü (8850 SUMMIT, Altitude Tech, Kanada) kullanılarak ortamdaki O₂ düzeyinin %15'e düşürülmesi ile hipoksi maruziyeti sağlandı. Hipoksi çadırındaki O₂ ve CO₂ düzeyi ise, O₂ (IBRID MX6, Industrial Scientific Co., ABD) ve CO₂ dedektörü (Testo 435, Testo AG, Almanya) ile izlendi. Ortamdaki CO₂, CO₂ filtresi (Altitude Tech. Co., Kanada) kullanılarak temizlendi. Kassal kuvvet değerleri PowerLab/8SP veri kazanım sistemi (ADIstruments, Castle Hill,. Avustralya) ve Scope 3.7.5 paket program kullanılarak analiz edildi.

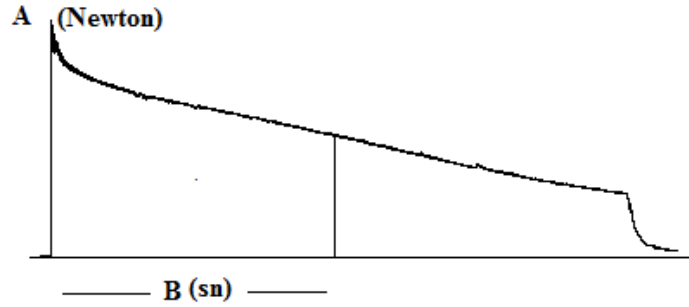
DeneySEL Prosedür

Sıçanlar doğumlarından sonraki 8. haftadan itibaren önce 1 hafta koşu bandına alıştırdı. Daha sonra 4 hafta, haftada 3-4 gün, 15-30 dk arasında egzersiz uygulandı. 4. haftanın sonunda sıçanların 1.5 km/saat hızda 30 dk boyunca koşabilir konuma geldiği gözlemlendi. Sıçanlar deniz seviyesindeki 4 haftalık ön hazırlıktan sonra rastgele 4 grubuna

ayrılarak (LL, LLTL, LHTH, ve LH TL), antrenman grupları maksimal egzersiz kapasitesi (MEK) testine tabi tutuldu. LHTH grubu normobarik hipoksik (%15 O₂) ortamda diğer gruplar ise düşük yükseltide (~350m) egzersiz testine alındı. Egzersiz testi LHTH grubu için 0.3km/s diğer gruplar için 0.6 km/s başlangıç hızında ve her 3 dakikada 0.3 km/s hız artışı sağlanarak %0 eğimde sıçanın koşu bandında koşu konumunu koruyamadığı noktaya kadar devam ettirildi (Lambertucci ve diğ., 2007; Miyazaki ve Sakai 2000). Test sonucu elde edilen MEK'nin % değeri egzersiz şiddetinin tespitinde kullanıldı (Goret ve diğ., 2005; Lambertucci ve diğ., 2007). Buna göre sıçanlar, 1. hafta MEK'in % 60, 2. hafta % 65, 3. ve 4. hafta ise %70 şiddetine denk gelen koşu hızlarında, ilk hafta 20 dk, ikinci hafta 25 dk, üçüncü hafta 30 dk ve son hafta 35 dk süre ile antrene edildi. Antrenman periyodu bitiminin 2. günü düşük yükseltideki sıçanlara, intraperitoneal yolla anestezi madde (Ketamin/Ksilazin; 75mg/kg-10mg/kg, sırasıyla) verilerek siyatik sinir ve gastrokinemius kası açığa çıkarıldı ve elektrotlar yerleştirildi. Siyatik sinire verilen elektriksel uyarılar (0.2-60 Hz, 6V, 2 msn) ile gastrokinemius kasında tetanik kontraksiyon oluşturularak zirve kuvvet ve yorgunluk verileri elde edildi (Şekil 1). Yorgunluğun değerlendirilmesinde, zirve kuvvetin (Newton) %50'ye düştüğü süre kullanıldı (Lopes-Martins ve diğ.,2006) (Şekil 2).



Şekil 1: Kayıt düzenegi (A: Uyarıcı elektrot; B: Fiksator; C: Gastrokinemius kası, D: Kaydedici elektrot; E: Fiksator; F: Veri kazanım sistemi).



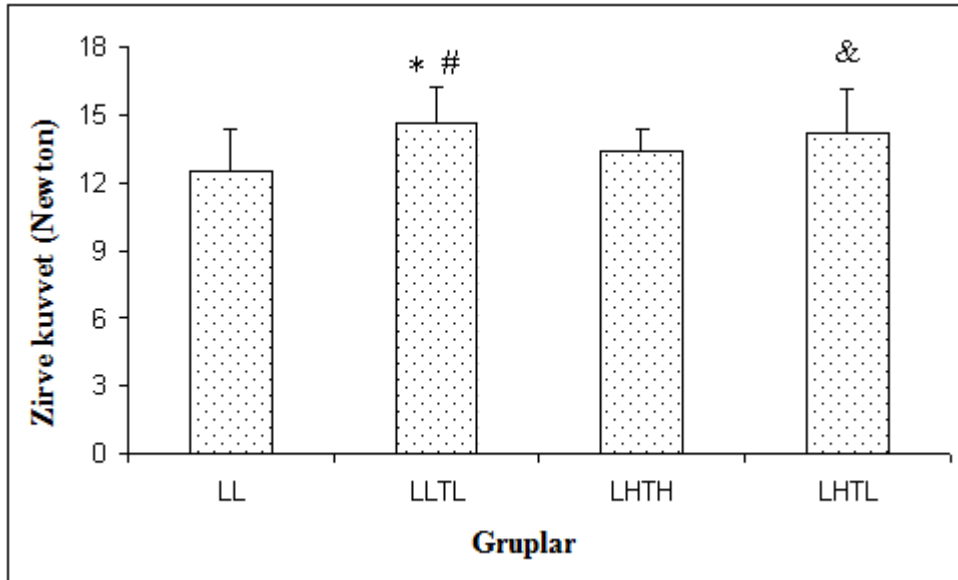
Şekil 2: Sıçan gastrokinemius kasında elektriksel uyarı ile oluşturulan tetanik kasılma sonucu elde edilen kayıt örneği [A: Tetanik kasılma sonucu elde edilen zirve kuvvet (Newton); B: Zirve kuvvetin %50' ye düştüğü süre (sn)].

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin analizi Kruskal-Wallis ve Man Whitney U testi ile yapıldı ve 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.

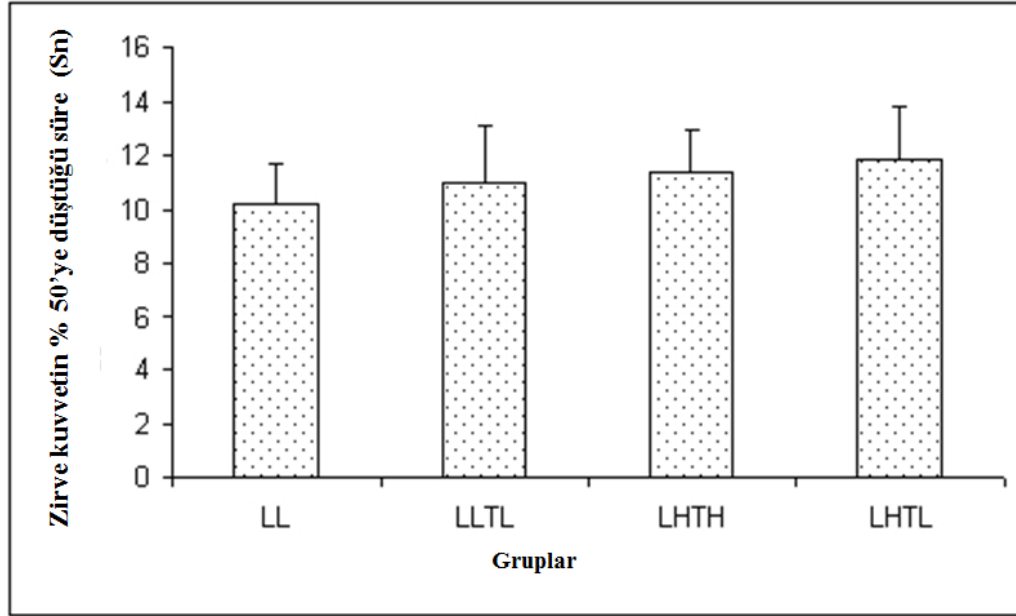
BULGULAR

LLTL ve LHTL gruplarının zirve kuvvet değerleri, LL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (sırasıyla $p=0.004$; $p=0.0017$). Ayrıca LHTH grubunun zirve kuvvet değeri, LLTL grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p=0.017$) (Şekil 3).



Şekil 3: Gastrokinemius kasında elektriksel uyarı ile oluşturulan tetanik kasılmanın zirve kuvvet değerleri (Newton). *: LHTH grubundan fark ($p=0.017$); #: LL grubundan fark ($p=0.004$); &: LL grubundan fark ($p=0.017$).

Kassal yorgunluk değerlerinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (Şekil 4).



Şekil 4: Tetanik kontraksiyon sonrası oluşan yorgunluk değerleri. (Zirve kuvvetin %50' ye düşme zamanı-Sn).

TARTIŞMA

İskelet kasının kuvveti, miyozin ve aktin proteinlerinin oluşturduğu, güçlü çapraz köprü oluşumuna bağlıdır (Power ve Howley, 2007). Diğer taraftan, hipoksik koşulların, iskelet kasında protein miktarında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Westerterp ve ark., 2000; Erken ve ark., 2010). Ayrıca yüksek irtifada yapılan kuvvet antrenmanlarının deniz seviyesinde yapılan antrenmanlara göre, kas kitlesinde daha az artış meydana getirdiği bildirilmiştir (Schena ve ark., 1993). Bu çalışmada kas protein düzeyi ve kas atrofisi incelenmemiş olmasına karşın, LHTH grubunda gözlenen düşük zirve kuvvet değeri, hipoksinin iskelet kas proteinleri üzerindeki olumsuz etkisinden kaynaklanmış olabilir. Nitekim, önceki bir çalışmamızda, 28 gün boyunca normobarik hipoksik ortamda (%14 O₂) barındırılan yetişkin sıçanlarda, iskelet kası total protein miktarında azalma meydana geldiği gösterilmiştir (Erken ve ark., 2010). Hipoksiye bağlı kas protein düzeyindeki azalmanın, gerek egzersiz performansı gerekse zirve kuvvet değeri üzerinde etkisinin ne düzeyde olduğunun tespiti için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Deney grupları, kassal yorgunluk değerleri açısından, en geç yorulandan en erken yorulana doğru sıralandığında LHTL, LHTH, LLTL ve LL olmasına karşın, gruplar arası

farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşamamıştır. İnsanlar (Bailey ve ark., 1997; Levine ve Gundersen, 1997; Stray-Gundersen ve ark., 2001) ve sıçanlarda (Miyazaki ve Sakai, 2000) yapılan çalışmalarda, egzersiz performansı dikkate alındığında LHTL yaklaşımının, LHTH ve LLTL yaklaşımlarına göre daha üstün olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca, önceki çalışmalarda, LHTH yaklaşımının deniz seviyesindeki egzersiz performansını artırmadığı bildirilmiştir (Bailey ve ark., 1998; Gore ve ark., 1997; Levine ve Gundersen, 1997). Yükseltide yaşam ve yükseltide antrenman yaklaşımının, deniz seviyesindeki egzersiz performansını artırmadığını gösteren çalışmalar, bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Sonuç olarak, yükseltide yaşam ve deniz düzeyinde antrenman yaklaşımının egzersiz performansına katkısı diğer antrenman yaklaşımlarına göre daha yüksek görünmektedir.

KAYNAKLAR

- Bailey, DM ve Davies B. (1997). Physiological implications of altitude training for endurance performance at sea level: A review, *Br J Sports Med*, 31 183–190.
- Erken, H.A., Çolak, R., Erken, G., Genç, O. (2010). Normobarik hipoksida egzersiz ve dokosaheksaenoik asitin sıçan soleus kasında total protein ve protein oksidasyonu üzerine etkisi. *Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 36. Ulusal Fizyoloji Kongresi-Özet Kitapçığı*, P6, S:78.
- Fitts, R.H. (1994). Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiological Reviews*, 74, 49-94.
- Goret, L., Reboul, C., Tanguy, S., Dauzat, M., Obert, P. (2005). Training does not affect the alteration in pulmonary artery vasoreactivity in pulmonary hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology*. 527, 121-128.
- Lambertucci, R.H., Levada-Pires, A.C.O., Rossoni, L.V., Curi, R., Pithon-Curi, T.C. (2007). Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. *Mechanisms of Ageing and Development*. 128(3), 267-275.
- Levine, B.D., Stray-Gundersen, J. (1997). "Living high-training low": effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *Journal of Applied Physiology*. 83(1), 102-112.
- Lopes-Martins, R.A., Marcos, R.L., Leonardo, P.S., Prianti, A.C. Jr., Muscará, M.N., Aimbire, F., Frigo, L., Iversen, V.V., Bjordal, J.M. (2006). Effect of low-level laser (Ga-Al-As 655 nm) on skeletal muscle fatigue induced by electrical stimulation in rats. *Journal of Applied Physiology*. 101(1), 283-288.
- Miyazaki, S., Sakai, A. (2000). The effect of "living high-training low" on physical performance in rats. *International Journal of Biometeorology*. 44, 24-30.

- Mujika, I., Padilla, S. (1997). Creatine supplementation as an ergogenic acid for sports performance in highly trained athletes: a critical review. *International Journal of Sports Medicine*. 18, 491-496.
- Powers, S.K., Howley, E.T. (2007). *Exercise Physiology: Section III: Physiology of Performance*. (6th Ed.). McGraw-Hill.
- Richalet, J.P., Gore, C.J. (2008). Live and/or sleep high:train low, using normobaric hypoxia. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 18(Suppl 1), 29-37.
- Rusko, H.R. (1996). New aspects of altitude training. *The American Journal of Sports Medicine*. 24(6 Suppl), S48-S52.
- Santos, R.S., Pacheco, M.T.T., Lopes-Martins, R.A.B., Villaverde, A.B., Giana, H.E., Baptista, F., Zangaro, R.A. (2002). Study of the effect of oral administration of L-arginine on muscular performance in healthy volunteers: An isokinetic study. *Isokinetics and Exercise Science*. 10(3), 153-158.
- Schena, F., Guerrini, F., Tregnaghi, P., Kayser, B. (1992). Branched-chain amino acid supplementation during trekking at high altitude. The effects on loss of body mass, body composition, and muscle power. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 65(5), 394-398.
- Stray-Gundersen, J., Chapman, R.F., Levine, B.D. (2001). "Living high-training low" altitude training improves sea level performance in male and female elite runners. *Journal of Applied Physiology*. 91(3): 1113-1120.
- Thompson, D., Williams, C., Kingsley, M., Nicholas, C.W., Lakomy, H.K., McArdle, F., Jackson, M.J. (2001). Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *International Journal of Sports Medicine*. 22, 68-75.
- Westerterp, K.R., Meijer, E.P., Rubbens, M., Robach, P., Richalet, J.P. (2000). Operation Everest III: energy and water balance. *Pflugers Archiv*. 439(4): 483-488.