T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

İSKELET KASLARINDA TİTİN İLE AKTİF FİLAMANLAR ETKİLEŞİMİNİN MODELLENMESİ VE BİYOMEKANİK ANALİZİ

FARUK ÖRTEŞ

DANIŞMAN
Prof. Dr. YUNUS ZİYA ARSLAN

Makine Mühendisliği Anabilim Dalı

Makine Mühendisliği Programı

Aralık, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Faruk ÖRTEŞ tarafından, **Prof. Dr. Yunus Ziya ARSLAN** danışmanlığında hazırlanan **"İSKELET KASLARINDA TİTİN İLE AKTİF FİLAMANLAR ETKİLEŞİMİNİN MODELLENMESİ VE BİYOMEKANİK ANALİZİ"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **23/12/2022** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	**Sonuç**
DANIŞMAN	Prof. Dr. Yunus Ziya ARSLAN Türk-Alman Üniversitesi Robotik ve Akıllı Sistemler Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Can A. YÜCESOY Boğaziçi Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Nazif Ekin AKALAN İstanbul Kültür Üniversitesi Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Yüksel HACIOĞLU İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Makine Mühendisliği Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Yener TAŞKIN İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Makine Mühendisliği Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez çalışmasını dünyanın en fedakâr insanına, anneme ithaf ediyorum…

BÜTÇE DESTEKLERİ

İSKELET KASLARININ MODELLENMESİ VE BİYOMEKANİK ANALİZİ

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) 2214-A destek programı kapsamında 1059B141601488 numaralı TÜBİTAK-BİDEB projesi ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Herşeyden önce akademik hayatımın yanında kişisel gelişimimde de büyük katkıları olan, her konudaki yardımlarını hiçbir zaman esirmeyen hocam Prof. Dr. Yunus Ziya ARSLAN'a teşekkür ederim, kendisine her zaman minettar kalacağım.

Tez çalışmamın yurtdışında yürütülen bölümlerinde sağladığı katkılar, yönlendirme ve yardımları için Calgary Üniversitesi İnsan Performansı Laboratuvarı'ndan Prof. Dr. Walter HERZOG'a ve modelleme çalışmalarındaki yardımlarından dolayı Calgary Üniversitesi'nden Azim JINHA ve Alexander Wen CHEN'e de teşekkürlerimi sunarım. Çalıştığım dönemdeki ziyaretçi öğrenci arkadaşlarıma da teşekkür ederim. Kanada'da bulunduğum dönemde birlikte geçirdiğimiz güzel günler için Müge Bulat ve Osman Darıcı'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışması için finansal destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu TÜBİTAK'a ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Görüşlerinden çok faydalandığım tez izleme komitemdeki hocalarım Prof. Dr. Can YÜCESOY ve Prof. Dr. Ekin AKALAN'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Akademik hayatta birlikte öğrendiğimiz ve birlikte paylaşarak büyüdüğümüz asistan arkadaşım Derya KARABULUT'a büyük bir teşekkürü borç bilirim.

Makine Mühendisliği bölümünden asistan arkadaşım Bahar ALANBEN ERSİN'e bütün nazik yardımları ve yorumları için çok teşekkür ederim.

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Makine Mühendisliği bölümünden hocalarım ve asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamın zorlu dönemlerinde desteğini ve sevgisini esirgemeyen Şule AYENGİN'e kocaman bir teşekkür ederim.

Beni yetiştiren ve bugünlere getiren anne ve babamın şefkat ve emekleri, kardeşlerimin de sonsuz sevgisi için kendimi her zaman şanslı sayıyorum. İyi ki varsınız.

Aralık 2022 **Faruk ÖRTEŞ**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**
BEYAN ..... **iv**
BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **vi**
TEŞEKKÜR ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **viii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **x**
TABLO LİSTESİ ..... **xii**
ÖZET ..... **xv**
ABSTRACT ..... **xvii**
1. GİRİŞ **1**
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE GENEL BİLGİLER **6**
2.1. İSKELET KASLARININ YAPISI VE FONKSİYONLARI 6
2.2. KAS KASILMASI VE KUVVET ÜRETİM ÇEVRİMİ 10
2.3. KASLARIN MEKANİK ÖZELLİKLERİ 12
2.3.1. KUVVET-UZUNLUK İLİŞKİSİ 12
2.3.2. KUVVET-HIZ İLİŞKİSİ 14
2.3.3. KASLARIN GEÇMİŞ BAĞIMLI (HISTORY-DEPENDENT) ÖZELLLİKLERİ 16
2.4. KASLARIN MODELLENMESİ VE HUXLEY TİPİ ÇAPRAZ-KÖPRÜ MODELLERİ 24
3. YÖNTEM **31**
3.1. İKİ DURUMLU (TWO-STATE) ÇAPRAZ KÖPRÜ MODELİ 31
3.2. ÜÇ DURUMLU (THREE-STATE) ÇAPRAZ KÖPRÜ MODELİ 36
3.3. TITIN MODELİ 42
3.4. DENEYSEL VERİLER 43
4. BULGULAR **45**
5. TARTIŞMA **54**
6. SONUÇ VE ÖNERİLER **58**

KAYNAKLAR **59**
EKLER **68**
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI **70**
ETİK KURUL İZİN YAZISI **71**
KURUM İZNİ YAZILARI **72**
ÖZGEÇMİŞ **73**

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Kas yapısının farklı seviyelerdeki organizasyonu ve miyofilamanların yerleşimi….7

Şekil 2.2. Sarkomer yapısındaki miyofilamanlar a)Miyozin b) Aktin c)Titin [46-48]……...9

Şekil 2.3. Kasılma esnasında gerçekleştirilen kuvvet üretim çevrimi……..11

Şekil 2.4. Kas kuvveti-uzunluk ilişkisini gösteren eğri ve miyofilamanların eğri üzerindeki konfigürasyonu[13] ……...…...12

Şekil 2.5. Farklı türler için kas kuvveti-kas boyu ilişkisi[19]……...13

Şekil 2.6. Elastik elemanlardan kaynaklanan pasif kuvvetin toplam kas kuvvetine etkisi [58]……14

Şekil 2.7. Kas kuvveti-kasılma hızı ilişkisi ……...……...15

Şekil 2.8. Kasların geçmiş bağımlı özelliklerinin gösterimi a) Kalıntı kuvvet düşüşü [67] b) Kalıntı kuvvet artışı[22]……...……. ……...18

Şekil 2.9 : Kas aktivasyonunun titin katılığı üzerine etkisi a) Aynı sarkomer uzunluklarında kalsiyumun titin kuvveti-uzunluk ilişkisi, b) Miyofibril için pasif, aktif ve titin elimine edilmiş durumlardaki gerilme-uzunluk ilişkisi [72]]……...…….21

Şekil 2.10. Titinin pasif ve aktif davranışı a) Pasif, aktif ve aktin etkileşimli titin kuvvet-uzunluk eğrileri b) Farklı boylarda aktifleştirilen titin için kuvvet cevabının kuvvet-uzunluk eğrisindeki değişimi[71]]……...…….22

Şekil 2.11. Sarım filaman yaklaşımı: a)pasif uzama b) aktif uzama [44] ……..……24

Şekil 2.12. Huxley tipi (1957) kas modelinin şematik gösterimi, oran fonksiyonları ve durumlar arası geçişler (M: miyozin başı, A: aktin bağlanma bölgesi, *f*: bağlanma oran fonksiyonu ve *g:* çözülme oran fonksiyonu, *n(x,t):* bağlı çapraz köprülerin dağılımı)[23]……...27

Şekil 2.13. İskelet kaslarında boy değişimi sonrası izometrik kuvvette görülen hızlı toparlanma (T_1: Kısalma sonrası görülen minimum kuvvet, T_2: Hızlı toparlanma periyodu sonrasında ulaşılan kuvvet değeri)[25].]……...…….28

Şekil 2.14. Huxley 1971 modelinin şematik gösterimi. Çapraz köprünün rotasyon ile ürettiği kuvveti değiştirmesi (solda) ve durumlar arası geçişler (sağda) (A_1 ve A_2: Bağlanma durumları, D:Çözülme durumu, *k*: oran fonksiyonları)[25]]……..……..…….29

Şekil 2.15. 3-durumlu Huxley modelinde durumlar arası biyokimyasal çevrimlerin şematik gösterimi (A: Aktin, M:Miyozin, ATP: Adenozin Trifosfat, ADP: Adenozin Difosfat, P_i =Fosfat, A_1 ve A_2:Bağlanma durumları, D: Çözülme durumu).]……..……..30

Şekil 3.1. İki durumlu kas modelinin şematik gösterimi, sabit ve hareketli eksenler, oran fonksiyonları ve durumlar arası geçişler (M: miyozin başı, A: aktin bağlanma bölgesi, *f*: bağlanma oran fonksiyonu ve *g:* çözülme oran fonksiyonu, $n(\xi,t)$ ve $n(x,t)$: bağlı çapraz köprülerin dağılımı)……..32

Şekil 3.2. Çapraz-köprü çevrimi ve oran fonksiyonları: Bağlı (A_1 ve A_2 - attachment) ve ayrık (*D*-detachment) durumları ve geçişleri gösteren oran fonksiyonları……36

Şekil 3.3. Durumlar için serbest enerji diyagramı: Bağlı (A_1 ve A_2 - attachment) ve çözülmüş (*D*-detachment) durumlar için belirlenen enerji seviyeleri ……..……37

Şekil 3.4. Durumlar arasındaki geçişler için belirlenen oran fonksiyonlarının grafiksel gösterimi ……40

Şekil 3.5. Sarım Filaman Titin Modeli [43, 96] ……...42

Şekil 3.6. Model performanslarının değerlendirilmesi için kullanılan deneysel veri [80]…...44

Şekil 4.1. İki-durumlu model için çapraz-köprü dağılım sonuçları: a) izometrik, b) konsantrik, c) eksantrik kasılma durumları……..46

Şekil 4.2. İki durumlu modelden elde relatif kuvvetlerin Distribution-Moment (D-M) model, ile elde edilen relatif kuvvetlerle karşılaştırılması……47

Şekil 4.3. İki durumlu modelin farklı kasılma hızlarındaki kuvvet cevapları (Eksantrik kasılma için v=+10, +20 nm/s, +30 nm/s ve konsantrik kasılma için v=-10, -20 nm/s, -30 nm/s)……..47

Şekil 4.4. Titin etkileşimli iki-durumlu modelden elde edilen çapraz-köprü dağılımları: İzometrik (üstte) ve eksantrik (altta) kasılma durumları. ……48

Şekil 4.5. Titin etkileşimli iki durumlu modelden elde edilen kuvvetlerin deneysel kuvvetlerle karşılaştırılması ……49

Şekil 4.6. Üç durumlu modelin izometrik kasılmasında bağlı çapraz-köprü popülasyonları……...50

Şekil 4.7. Üç durumlu modelden eksantrik kasılma esnasında elde edilen çapraz-köprü dağılımlarındaki değişimler……..51

Şekil 4.8. Titin etkileşimli üç durumlu modelden elde edilen kuvvetlerin deneysel kuvvetlerle karşılaştırılması……..…52

Şekil 4.9. Titin katılığının(*k*) titin entegre edilmiş çapraz-köprü modelinin kuvvet cevabı üzerine etkisi……53

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1. İki-durumlu çapraz-köprü modeli simülasyonlarında kullanılan parametrelere ait sayısal değerler……....……35

Tablo 3.2. Üç-durumlu çapraz-köprü modeli simülasyonlarında kullanılan parametreler ve sayısal değerleri ……39

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler **Açıklama**

F_0 : Maksimum izometrik kuvvet
F : Anlık kas kuvveti
$f(x)$: İki durumlu çapraz köprü modelinde bağlanma oran fonksiyonu
$g(x)$: İki durumlu çapraz köprü modelinde çözülme oran fonksiyonu
h : İki durumlu çapraz köprü bağlanma mesafesi
D/Dt : Materyal türev
k_{cb} : Çapraz-köprü katılığı
k_{ij} : Üç durumlu çapraz köprü modelinde bağlanma oran fonksiyonları
k_{ji} : Üç durumlu çapraz köprü modelinde çözülme oran fonksiyonları
E_{min} : Minimum enerji seviyesi
α : Oran sabiti
β : Oran sabiti
T : Mutlak sıcaklık
k_B : Boltzmann sabiti
m : Birim hacimdeki çapraz-köprü sayısı
σ : Kas kesitinde meydana gelen gerilme
Δx : Deplasman adımı
s : Sarkomer uzunluğu
Δt : Zaman adımı
v : Kasılma hızı
$n(x,t)$: Bağlı çapraz-köprü dağılımı

Kısaltmalar **Açıklama**

A : Bağlanma (Attachment)
ATP : Adenozin trifosfat
ADP : Adenozin Difosfat

CB : Çapraz-köprü (Cross-bridge)

CE : Kasılma elemanı (Contractile element)

D : Çözülme (Detachment)

D-M : Dağılım-Moment (Distribution-Moment)

E : Enerji (Energy)

RFE : Kalıntı kuvvet artışı (Residual force enhancement)

RFD : Kalıntı kuvvet düşüşü (Residual force depression)

F : Kuvvet (Force)

FNIII : Fibronectin

FE : Kuvvet artışı (Force enhancement)

FD : Kuvvet düşüşü (Force depression)

WFM : Sarım filaman modeli (Winding filament model)

Ca^{2+} : Kalsiyum

pCa4 : Maksimum kas aktivasyonu

pCa9 : Minimum kas aktivasyonu

Pi : Fosfat

IG : Immunoglobulin

ODE : Adi diferansiyel denklem (Ordinary differential equation)

mm : Milimetre

nm : Nanometre

µm : Mikrometre

P : Mekanik güç (Power)

ps : Kuvvet stroku (Power stroke)

ts : Titin yayı (Titin spring)

ss : Seri yay (Serial spring)

ÖZET

DOKTORA TEZİ

İSKELET KASLARININ MODELLENMESİ VE BİYOMEKANİK ANALİZİ

Faruk ÖRTEŞ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Makine Mühendisliği Anabilim Dalı

Program Adı

Danışman : Prof. Dr. Yunus Ziya ARSLAN

İskelet kasları hareketin gerçekleştirilmesinde gerekli olan eklem momentlerinin üretimi ve diğer birçok fonksiyonun yerine getirilmesinde rol oynarlar. Kas yapısındaki kuvvet üretimi kayan filamanlar teorisi ile açıklanmıştır. Kasların farklı koşullarda gösterdikleri dinamik davranışların ve deneysel olarak gözlemlenen bir takım kas özelliklerinin simüle edilmeleri amacıyla matematiksel kas modelleri kullanılmaktadır. Huxley tipi modeller aktin-miyozin etkileşimini referans alan ve çapraz köprü teorisine dayanan matematiksel bir yaklaşımdır. İskelet kaslarının geçmiş bağımlı özelliklerinden olan ve aktif eksantrik uzama sonrası ortaya çıkan kalıntı kuvvet artışları kayan filamanlar ve çapraz-köprü teorileri ile açıklanamamaktadır. Kalıntı kuvvet artışlarının potansiyel sebeplerinden biri olarak gösterilen ve sarkomer yapısındaki ana filamanlardan olan titinin kasın hem pasif hem de aktif davranışında etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ancak literatürde titin ve aktif eleman etkileşimini modelleyen çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu çalışmada klasik çapraz-köprü modelleri ve bunlara entegre titinin etkileşiminin modellenmesi amaçlanmıştır. Bunu gerçekleştirmek için iki-durumlu ve üç durumlu çapraz köprü modelleri geliştirilmiş ve bir sarım filaman titin modeli ile entegre edilerek kalıntı kuvvet artışlarının simülasyonlarındaki performansları değerlendirilmiştir.

Model çıktıları dikkate alındığında titin entegre edilmiş üç-durumlu çapraz-köprü modelinin hem büyüklük hem de örüntü bakımından deneysel sonuçlara daha yakın kuvvet cevapları ürettiği görülmüştür. ----------

Aralık 2022 , 92 sayfa.

Anahtar kelimeler: Kas modelleri, Huxley tipi modeller, çapraz köprü teorisi, titin

ABSTRACT

[Ph.D. THESIS]

[MODELING AND BIOMECHANICAL ANALYSIS OF SKELETAL MUSCLES]

[Faruk ÖRTEŞ]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Mechanical Engineering

Mechanical Engineering

[Supervisor : Academic Title Name SURNAME
Co-Supervisor: Academic Title Name SURNAME]

[Skeletal muscles play a role in the generation of required joint moments for movement as well as the implementation of many other functions. Force production in the muscle structure is accounted for employing the sliding filament theory. Mathematical muscle models are used to simulate a bunch of muscle properties observed experimentally and their dynamic behaviors. Huxley type muscle models represent a mathematical approach based on cross-bridge theory and actin-myosin interaction. Residual force enhancement, which is one of the history-dependent properties of skeletal muscles and appears following active stretch, cannot be explained by the cross-bridge and sliding filament theories. Titin, which is accepted as a potential cause of residual force enhancement, is effective in both the passive and active behaviors of muscles. However, there are a very limited amount of studies including the models of titin and active filaments. Therefore, it was aimed to model the interaction of the classical cross-bridge model and the integrated titin model. In order to perform this task, two-state and three-state cross-bridge models were developed and integrated to a winding filament titin model, and their performances in the simulations of residual force enhancement were evaluated.

Considering the models outputs, it was observed that titin integrated three-state model produced more consistent results with the experimental measurements than the ones obtained from the two-state model in terms of both force patterns and magnitudes.

December 2022, 92 pages.

Keywords: Muscle models, Huxley type models, the cross-bridge theory, titin

1. GİRİŞ

İskelet kaslarında üretilen kuvvet, tendonlar aracılığıyla kemiklere iletilir ve eklemlerde ihtiyaç duyulan moment üretilerek lokomotor sistemin hareketi sağlanır. İstemli hareketin esası olan kuvvet üretimi fonksiyonunun gerçekleştirilmesi için kasların oldukça hiyerarşik ve karmaşık yapısı çeşitli biyokimyasal ve biyomekanik süreçleri takip etmektedir. Bu sebeple iskelet kaslarının ürettiği kuvvetler hem yapıları hem de kasılma koşulları ile yakından ilişkilidir. Buna bağlı olarak, kas kuvvetlerinin üretim mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalarda kas kasılmasının kimyasal ve mekanik süreçleri de göz önüne alınarak bu kuvvetlerin değişken (dinamik) karakterlerinin deneysel ve teorik olarak açıklanması amaçlanır. Kas kuvvetlerinin üretim süreçleri ve kasların deneysel olarak gözlemlenen bir takım mekanik özelliklerinin anlaşılması, organizmanın hareketini ve buna bağlı olan birçok parametreyi (kuvvet, rijitlik, güç, performans, yaralanma vb.) kavramak açısından gereklidir. Yine bu özelliklerin açıklanabilmesi çok sayıda klinik ve mühendislik uygulaması için de gereklidir. Bunların içinde kas bozuklarının (miyopati) teşhis ve tedavisi, spor biyomekaniğinde sporcuların performanslarının tespiti ve artırılması, insan-makine etkileşimi sağlayan dış iskelet (exoskeleton) tasarımları, kas-iskelet modellerinin geliştirilmesi, yapay ve biyonik kas çalışmaları ve robotik gibi alanlar yer alır.

Kasların mekanik davranışları ile ilgili çalışmalar öncelikle kasların enerji, iş ve ısı üretimleri üzerine yoğunlaşmıştır [1-3]. Yine aynı dönemde deneysel çalışmalar vasıtasıyla kasların güç, kuvvet-hız ilişkileri, kasılma sırasında harcanan iş ve ısı salınımı gibi mekanik özellikleri belirlenebilmiştir [3-6]. Ardından faz kontrast mikroskoplarının kullanımları ile günümüzde halen kasılmayı açıklamak için benimsenen yaklaşım olan kayan filamanlar teorisi (*the sliding filament theory*) ortaya konmuştur [7,8]. Buna göre kas yapısı içinde birbirine paralel biçimde ve iç içe geçmiş şekilde uzanan filamanların (aktin ve miyozin) uyarım (excitation) ile birbirlerine göre relatif (göreli) hareketi sonucu kasılma meydana gelir ve kas kuvveti üretilir. Kuvvet üretiminde rol olan bu filamanlar aynı zamanda kas içerisindeki konumlanmaları dolayısıyla mikroskop altında görülen çizgili (striated) yapıyı da meydana getirirler.

Kasların kasılabilir (contractile) en küçük kuvvet üretim birimleri olan sarkomerlerin içerisindeki aktin ve miyozin filamanları kasların aktifleştirilmesi ile birbirlerine bağlanarak

çapraz köprüler (cross-bridges) oluşturur ve bu çapraz köprüler vasıtasıyla aktin filamanı sarkomer merkezine doğru çekilerek kuvvet üretimi gerçekleştirilir [9,10]. Sarkomer yapısı ve filamanların pozisyonlanmaları ile kasılma üzerinde etkili olan ATP gibi parametrelerin yanında kasların hem gevşek (relax) hem de aktif (contracted) durumları deneysel olarak incelenmiştir [11,12]. Kasların farklı koşullarda ürettikleri kuvvet cevapları, kas kuvvetlerinin özellikleri ve miyofilamanların kuvvet üretimindeki rolleri de çok sayıda deneysel çalışma ile araştırılmıştır [13-16].

Kaslar istemli biçimde izometrik (sabit boy), konsentrik (kısalma) ve eksantrik (uzama) olarak kasılırken ürettikleri kuvvetler oldukça değişken ve non-lineer (doğrusal olmayan) özelliktedir. Kas kuvvetlerinin form ve büyüklükleri aktivasyon seviyesi, kasılma hızı ve kas boyu ile yakından ilişkilidir [5,13, 17,18]. Kasların aktif kuvvet üretiminde rol alan mikro yapıları (aktin ve miyozin) ve pasif davranışlarında etkili oldukları düşünülen yapısal elemanlar (fascia, endomisyum, perimisyum vb) kasların kuvvet cevapları üzerinde belirleyicidir [19]. Bunların yanında kas yapısında bulunan ve kuvvet üretimi (pasif ve aktif) ile birlikte kas stabilitesinin sağlanması gibi başka rolleri de bulunan titin miyofilamanı da özellikle eksantrik kasılmadaki kuvvet karakteristiği üzerinde etkilidir [20-22].

Kasılmanın ve kasılma boyunca gerçekleşen kuvvet üretiminin ardındaki mekanizma ile miyofilamanlar arasındaki ilişkiler Huxley tarafından çapraz köprü teorisi (*cross-bridge theory*) olarak bilinen hesaplamalı bir yaklaşım ile açıklanmaktadır [23]. Çapraz köprü teorisi kasılmayı ve miyofilamanların birbirlerine göre kaymalarını, kayan filamanlar teorisindeki yapısal özellikleri de göz önünde bulundurarak, kuvvet üretimi ile ilişkilendirmektedir. İleriki bölümlerde fizyolojik ve matematiksel ayrıntıları verilecek olup bu yaklaşım temel olarak aşağıdaki varsayımları referans almaktadır: i) Kas kasılması miyozin (kalın filaman) ve aktin (ince filaman) proteinlerinin birbirlerine göre relatif (göreli) kayması veya yer değiştirmesi ile gerçekleşir, ii) Kuvvet-üretimi ve miyofilamanların kayması aktin-miyozin proteinlerinin bağlantısı ile oluşan çapraz köprüler aracılığıyla meydana gelir ve bir çapraz köprü ancak aktin molekülüne bağlı iken kuvvet üretir, iii) Çapraz köprülerin kuvvet üretim çevriminde ATP'nin (Adenozin trifosfat) hidrolizi ve parçalanması etkilidir. Kuvvet üretimindeki biyokimyasal ve mekanik etkileşimler aracılığıyla çapraz-köprüler kasılmayı meydana getirerek toplam kas kuvvetini üretmektedirler [18, 23, 24].

Huxley tipi çapraz köprü modelleri kas yapısının ve kasılma esnasında fizyolojik olayların matematiksel olarak ifade edildikleri bir yaklaşım olduklarından yapısal model olarak da bilinirler. Çapraz köprü modelleri kasılmanın mekanik özelliklerini (kuvvet, güç, rijitlik vb) anlamak ve deneysel olarak gözlemlenen birçok kas özelliğini simüle edebilmek için kullanılmaktadırlar. Modeller, zaman içinde deneysel çalışmaların da etkisiyle modifiye edilmiş ve simulasyon performansları artmıştır [25]. Kasların yapısında gözlemlenen hiyerarşiye uygun olacak şekilde sarkomer, miyofibril, fiber ve farklı kas seviyeleri için geliştirilen çapraz köprü modelleri bulunmaktadır [26-28].

Kasların mekanik özelliklerinden kuvvet-uzunluk (force-length) ilişkisi bir kas veya kas kompartmanının (fiber, miyofibril vb) uygulayabileceği maksimum izometrik kuvvetin kasılmanın gerçekleştiği uzunluğa bağlı olduğunu ifade etmektedir. Farklı türler (insan, kurbağa, tavşan, kedi vb) ve farklı kas grupları (semitendinosus, rectus femoris, gastrocnemius) için belirlenen kas kuvveti-uzunluk ilişkisi iskelet kaslarının sabit, bağımsız ve belirleyici bir özelliğidir[19]. Deneysel olarak kuvvet üretebilecekleri aralık içinde değişik uzunluklar için kasların maksimum aktivasyonla kasılmaları esnasında elde edilen kas kuvveti-uzunluk ilişkisi kayan filamanlar ve çapraz köprü teorileri ile uyum göstermektedir [13,19]. Buna göre çapraz köprü yaklaşımı kullanılarak teorik olarak üretilen kas kuvvetleri deneysel kuvvet-uzunluk eğrilerinin farklı bölgeleri (yükselen, alçalan ve plato bölgeleri) ile uyuşmaktadır [29]. Kas kuvveti-kasılma hızı ilişkisi de iskelet kaslarının kendine özgü mekanik özelliklerinden biridir. Kuvvet-hız ilişkisine göre maksimum aktivasyondaki bir kasın üretebileceği kuvvet, kas boyunun zamanla değişim oranına, yani kasılma hızına bağlıdır [5]. Konsentrik kasılmalarda kuvvet, kasılma hızı ile azalma göstermekte iken eksantrik kasılmalarda ise artan hız ile beraber kas kuvveti maksimum izometrik kuvvetin yaklaşık iki katına kadar ulaşabilmektedir [30, 31]. Kuvvet-hız ilişkisi de farklı tür ve kaslar için değişik deneysel çalışmalar ile belirlenmiş olup[32, 33], sarkomer seviyesinde de veriler elde edilebilmiştir [34,35]. Kas kuvveti-hız ilişkisi çapraz köprü modellerinde kullanılan parametrelerin belirlenmesinde gözönüne alınmıştır ve modellerin kuvvet performansları, özellikle konsentrik ve izometrik kasılmalar için uyumlu bulunmuştur [36]. Bunların yanında çapraz köprü modelleri kullanılarak kuvvet-hız ilişkisinin karakteristiği ve bunu etkileyen parametreler araştırılmıştır [24].

Kasların uzun zamandır bilinen ve kuvvet-uzunluk ile kuvvet-kasılma hızı ilişkileri kadar kas davranışında etkili olan bir diğer mekanik özellikleri de üretilen kas kuvvetlerinin geçmiş bağımlı (history-dependent) olmalarıdır [37]. Aktif bir iskelet kasının kısalma veya uzama

sonrası ulaştığı boydaki ve daimi rejimdeki (steady-state) izometrik kuvveti, aynı kas boyunda ortaya çıkan anlık izometrik kasılma sırasındaki kuvvetten sırasıyla daha düşük veya daha yüksek olur. Bu durum kasların geçmiş bağımlı (history-dependent) kuvvetler ürettiğini göstermektedir. Organizmanın aktiviteleri düşünüldüğünde hareket esnasında kasların büyük çoğunluğu bu tip kuvvetler üretmektedir. Özellikle aktif eksantrik kasılma sonrası izometrik kuvvetin aynı boydaki anlık izometrik kuvvetten büyük olması kasların tüm seviyelerinde deneysel olarak gözlemlenmekte ve bu durum kalıntı kuvvet artışı (residual force enhancement-RFE) olarak adlandırılmaktadır [38, 39]. Aktif eksantrik kontraksiyon hem ortaya çıkardıkları kalıntı kuvvet artışları hem de izometrik ve konsentrik kasılmalara göre daha düşük enerji maliyetleri sebebiyle halen deneysel ve teorik olarak incelenmektedir [40].

Eksantrik kasılma, kaslar üzerine etkiyen dış kuvvetin kas kuvvetinden büyük olduğu durumlarda gerçekleştirilen kasılma tipidir. Eksantrik kasılma boyunca ortaya çıkan kalıntı kuvvet artışları kayan filamanlar ve çapraz köprü teorisi gibi kasların aktif kuvvet üretim elemanlarını merkeze alan yaklaşımlarla açıklanamamaktadır [19]. Kalıntı kuvvet artışlarının potansiyel sebepleri ve bu artışların ortaya çıkışındaki mekanizmanın açıklanması amacıyla (i) kasılma esnasında kas boyunca sarkomerlerin dağılımlarının heterojenliği ve (ii) eksantrik kasılma esnasında çapraz köprü kuvvetlerinin artışı gibi çeşitli yaklaşımlar önerilmekte; ancak bunlar genel kabul görmemişlerdir [41]. Son yıllarda bu davranışın açıklanabilmesi için kasılma sürecine bir üçüncü proteini (titin) dahil eden üç filamanlı (three-filament) modeller oluşturulmuştur [42]. Titin ve aktif kuvvet elemanlarının potansiyel etkileşimlerini ortaya koymak amacıyla sarım filaman (winding filament) modeli de kullanılmaya başlanmıştır [43]. Bu model yaklaşımında, eksantrik kasılma esnasında titin filamanı aktin üzerine sarılarak ve kendi serbest boyu ile katılığını değiştirerek, üretilen aktif kas kuvvetindeki değişimde etkili olmaktadır [44]. Yalnızca aktif filamanların etkileşimlerini göz önüne alan çapraz-köprü modelleri ve kalıntı kuvvet artışlarını açıklamak için kullanılan titin modelleri bulunmakla birlikte literatürde aktif filamanlar (aktin ve miyozin) ile titin etkileşimini gösteren modeller oldukça sınırlıdır. Bir modelde çapraz-köprü oluşumu ile kuvvet üretiminin titin davranışından etkilenerek hem örüntü hem de büyüklük olarak değişiklik göstermesi kasların en önemli özelliklerinden geçmiş bağımlı davranışlarının açıklanması ve niceliksel tespiti açısından gereklidir.

Bu tez çalışmasında, klasik çapraz-köprü modellerine entegre edilmiş bir titin sarım filaman modelinin kalıntı kuvvet artışlarının simüle edilmesindeki performansı değerlendirilmiştir.

Bunun yanında hem çapraz-köprü modelleri hem de titin modelinde etkili olan parametrelerin toplam kas kuvveti üzerinde nasıl değişiklikler meydana getirdikleri ortaya konmuştur. Ayrıca kalıntı kuvvet artışı durumunda toplam kuvvetin ne kadarının çapraz köprülerden ne kadarının titin filamanından kaynaklandığı araştırılmıştır. Bu çıktılara ek olarak klasik Huxley tipi modellerin farklı durum içeren iki versiyonu için kalıntı artışındaki performans çıktıları karşılaştırılmıştır. Bunlara ek olarak çapraz köprü modellerinin zayıf yönleri ve kullanımlarının yaygınlaşmasındaki potansiyel sebeplere de yer verilmiştir.

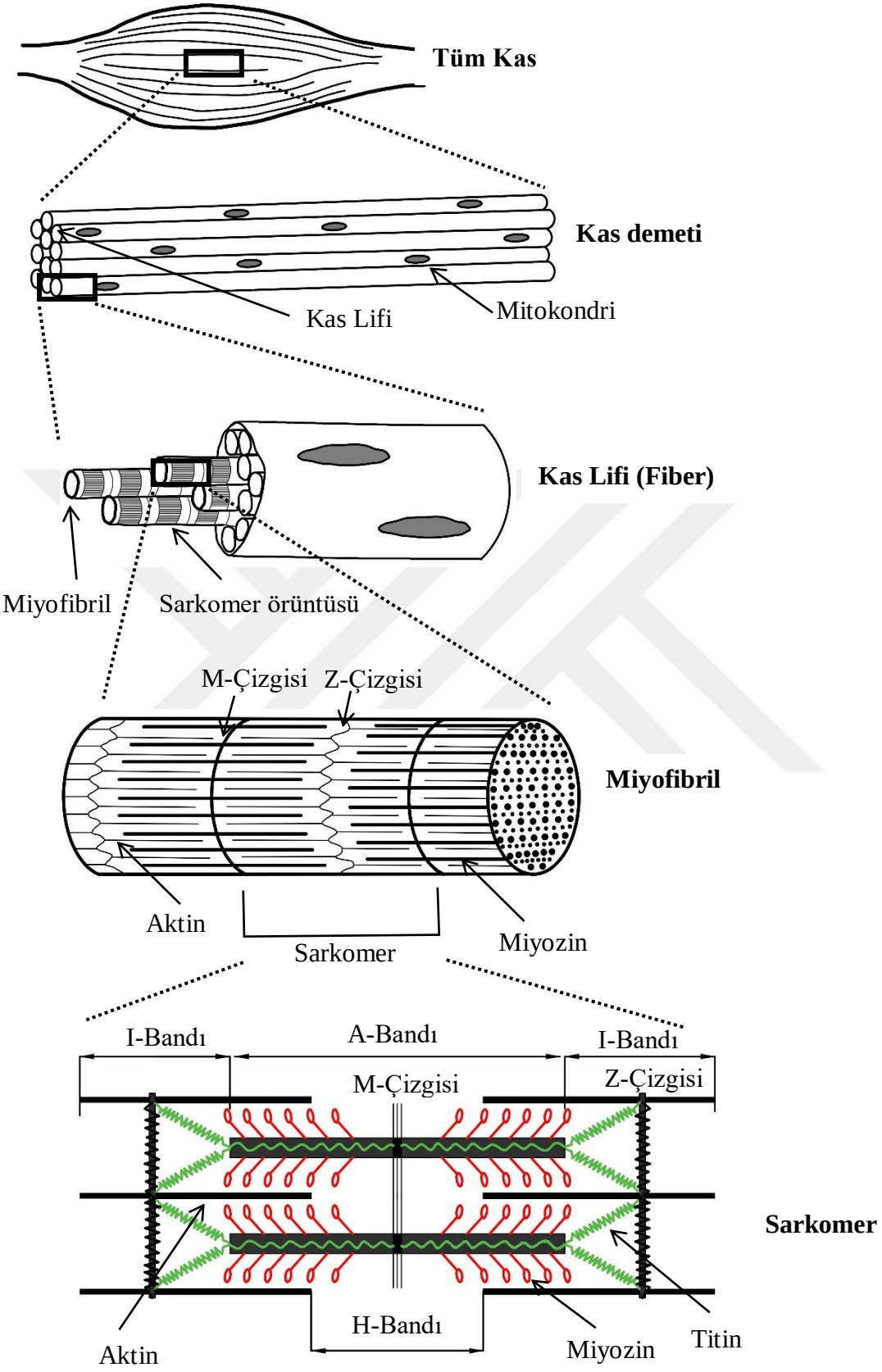
Mevcut tez çalışmasının genel bilgiler kısmında iskelet kaslarının yapıları, fonksiyonları, mekanik özellikleri, filamanların rolleri ve kas modellerine dair çalışmanın anlaşılmasında gerekli olan kavramsal arka plana yer verilmiştir. Yöntem bölümünde ise geliştirilen iki durumlu ve üç durumlu çapraz-köprü modelleri, titin modeli ve model performanslarını değerlendirmek için kullanılan deneysel veri detaylı olarak açıklanmıştır. Bulgular kısmında teorik kas modellerinden elde edilen sayısal sonuçlara yer verilmiştir. Tartışma bölümünde ise tez çalışmasında elde edilen bulguların literatürdeki veri ve bilgiler göz önüne alınarak değerlendirilmiştir. Sonuç ve öneriler kısmında da çalışmanın kapsamı dışında olup yapılabilecek çalışma önerilerine yer verilmiştir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE VE GENEL BİLGİLER

2.1. İSKELET KASLARININ YAPISI VE FONKSİYONLARI

Kasılarak boylarını değiştiren ve bu esnada organizmanın ihtiyaç duyduğu kuvvetleri üreten iskelet kaslarının fonksiyonları, oldukça hiyerarşik bir yapının yanında bu yapının içindeki makro ve mikro bileşenler aracılığıyla yerine getirilmektedir. Morfolojik yapıları makro seviyeden mikro seviyeye doğru boyutları küçülen yapısal kasılma birimleri olarak tarif edilebilir. Kasılma birimleri olarak tüm kas (whole muscle), kas demeti (fascicle), kas lifi (fiber), miyofibril ve sarkomer olarak sıralanır (Şekil 2.1). Bu yapılar fasya (fascia), epimisyum, perimisyum, endomisyum ve sarkolemma gibi bağ dokuları ile çevrelenmiştir. Tüm kas seviyesindeki boyut kasın içerdiği kas lifi sayısına bağlıdır ve kas hücresi olarak da bilinen kas lifleri birbirine paralel olarak uzanan demetler halinde bulunurlar. Kas lifleri içinde ise benzer şekilde paralel dizilimli olan ve kaslara çizgili yapılarını veren miyofibril elemanları yer alır. Miyofibril aksı boyunca birbirine seri şekilde bağlı sarkomerler de bu karmaşık yapı içinde kasılabilen (contractile) ve kuvvet üretebilen en küçük kasılma birimleridir [19, 36]. İki z-çizgisi arasında miyofibril boyunca uzanan sarkomerler, içerdikleri su ve sarkoplazma bir tarafa bırakılırsa, ağırlık olarak aktin, miyozin ve titin gibi filamanlardan meydana gelir. Bu miyofilamanlar sarkomer içinde birbirlerine göre paralel olarak konumlanmışlardır (Şekil 2.1).

Bir ışık mikroskobu altındaki tekrarlı ve çizgili örüntünün kaynağı, sarkomerlerin yapısında bulunan I-bandı (izotropik ve açık) ve A-bandı (anizotropik ve kapalı) gibi düzenli yapılardır. Sarkomer içindeki miyofilamanların organizasyonuna bağlı olarak kasılma esnasında A-bandının boyu sabit iken H-bandı kasılma tipine bağlı olarak kısalıp uzayabilmektedir. Miyozin filamanının kasılma esnasında sabit boyda kalması A-bandının uzunluğunun korunmasına sebep olmaktadır. Miyozin, yüksek anizometrik ve refraktif özelliklere sahip olup sarkomer aksında M-çizgisinin iki tarafına doğru ve A-bandı boyunca yatay biçimde uzanmaktadır. Bunların yanında üzerindeki miyozin başları sayesinde çapraz köprüler (cross-bridges) kurulmasını sağlayarak kuvvet üretimine imkan vermektedir [45]. H- ve I-bantlarının uzayıp kısalmasında etkili olan ince filaman aktin ise z-disklerine bağlıdır ve I-bandının ortasından H bandının ucuna kadar uzanmaktadır.

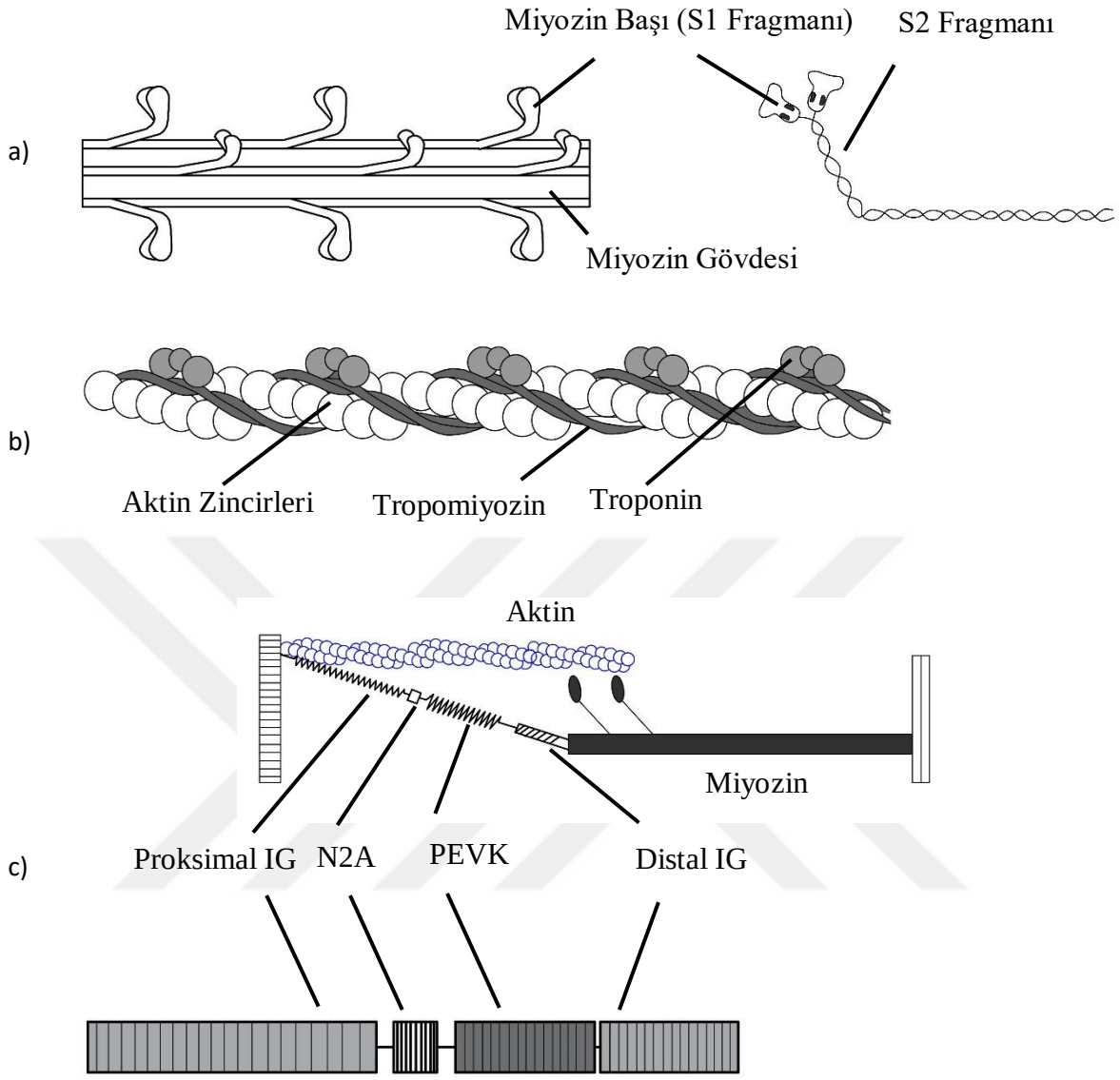


Şekil 2.1. Kas yapısının farklı seviyelerdeki organizasyonu ve miyofilamanların yerleşimi.

Her iki uçta z-disklerine bağlı olan aktin filamanı aynı zamanda miyozin filamanları (miyozin başları) için bağlanma bölgeleri de ihtiva ederek çapraz-köprü oluşumunda rol almaktadır. Sarkomer sınırlarındaki z-diskler hem aktin için bağlanma elemanı hem de sarkomerin komşu sarkomerler ile etkileşim sağladığı bir bağlantı noktasıdır [46-49]. Z-diskler α-aktinin ve desmin bakımından yoğun içerikleri sayesinde sarkolemma ve ekstraselüler matriks ile bağlanabilmektedir.

Kalın filaman olarak da bilinen miyozin filamanı tipik olarak aktin miyofilamanının hareketine imkan verecek şekilde ve sarkomer merkezinde konumlanmıştır. Çizgili örüntüde karanlık çizgileri meydana getirip A-bandını ortaya çıkarmaktadır. Miyozin filamanı yapısal olarak uzun proteindir ve ana iki kısımdan meydana gelmiştir: i) küresel baş kısmı (S1 fragmanı) ve ii) kuyruk kısmı (S2 fragmanı). Kuyruk kısmından ana gövdeye bağlanan miyozin baş bölgesi hem aktin hem de ATP için gerekli bağlanma bölgelerini üzerinde bulundurmaktadır. Miyozin filamanının gövdesi altı aktin filamanı ile çevrilmiştir. Bu sebeple miyozin başları gövde üzerinde bu filamanlarla çapraz-köprü oluşturabilecek şekilde 360 derecelik helisel bir biçimde yer almaktadırlar. Buna bağlı olarak zaman zaman miyozin başları çapraz-köprü olarak da adlandırılırlar. Bunun yanında sarkomer merkezi M-çizgisi olarak kabul edildiğinde bu eksenin iki tarafındaki miyozin başlarının konumlanmaları farklıdır ve aktin filamanlarını merkeze çekecek biçimde bir pozisyona sahiptirler [46,48].

Çift sarımlı küresel bir protein formuna sahip aktin miyofilamanı ise sarkomer yapısındaki beyaz şeritleri yani ince filamanı oluşturmaktadır. Farklı türlerin iskelet kaslarında boyları değişmekle beraber yapısal formunu korumaktadır. Aktin yapısındaki helisel zincirlerin elemanları olan kürecik yapıları aynı zamanda miyozin filamanları için bağlanma bölgelerini (binding sites) üzerinde barındırır. Bu filaman üzerindeki troponin ve tropomiyozin gibi düzenli yapılar kasılma esnasında aktinin fonksiyonunda etkilidir. Troponin yapısındaki alt birimler troponin C kalsiyum için bağlanma bölgesi iken, Troponin T alt birimi tropomiyozin ile bağlantı elemanı görevi görür ve Troponin I ise kalsiyum yokluğunda aktinin miyozin ile bağlantı kurmasını engelleyen blok işlevi görmektedir. Aktin filamanındaki bu alt birimler kasılmayı kontrol ettiğinden bunlar düzenleyici elemanlar olarak da bilinirler. Bir uçta M-çizgisi diğer uçta z-disklerine kadar uzanan aktin filamanı, yapısındaki düzenleyici elemanlar sayesinde, kasların aktif ve pasif kuvvet davranışında etkili olmaktadır (Şekil 2.2) [19, 47, 48].



Şekil 2.2. Sarkomer yapısındaki miyofilamanlar a)Miyozin b) Aktin c)Titin [46-48].

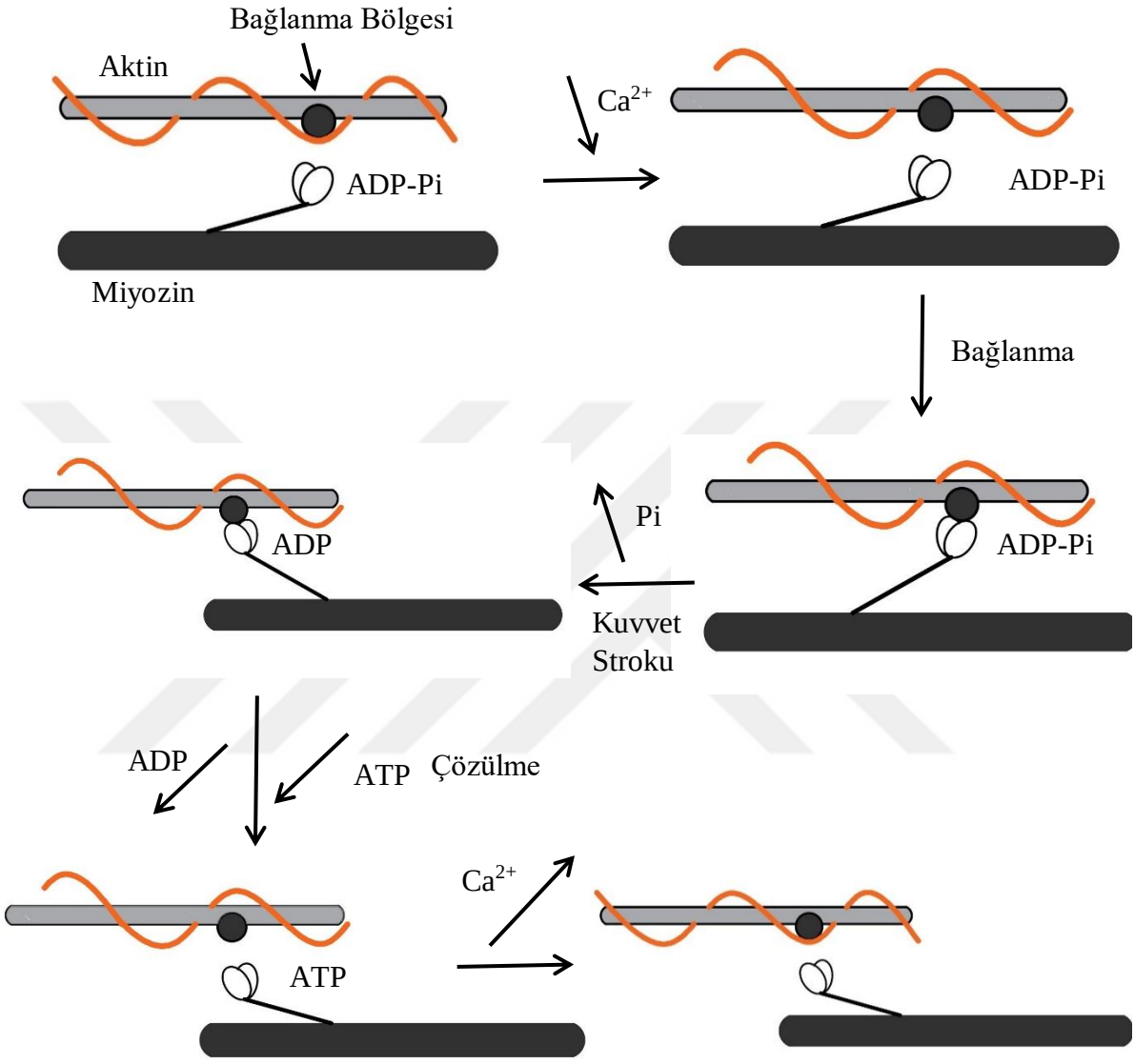
Sarkomer yapısındaki en büyük protein olan ve diğer iki miyofilamandan sonra keşfedilen titin filamanı ise çizgili kasların içeriğinde kütle bakımından en fazla bulunan proteinlerden biridir. Sarkomer boyunca Z-diskten M-çizgisine kadar uzanan titin proteinin kas lifi boyunca süreklilik gösterdiği düşünülmektedir [50]. Bu sebeple potansiyel rollerinden bazıları arasında kasılma esnasında sarkomer bütünlüğünü sağlamak ve pasif uzamadaki kuvveti karşılamak gösterilmiştir [22]. Titin filamanı A-bandı bölgesinde miyozine bağlıdır ve tekrarlı fibronectin(FNIII) ve immunoglobulin(Ig) alt birimlerden oluşan bu kısım oldukça rijittir. Titin I-bandı bölgesinde alt birimleri ise farklı içeriklerdeki bölümlerden meydana gelir ve göreceli olarak daha elastik yapıya sahiptir. Bu bölgedeki titin bölümü miyozinden aktine doğru sırasıyla

distal Ig, PEVK, N2A ve proksimal (tandem) Ig birimlerinden oluşur. Proksimal bölgede de titin aktin bağlantısı alfa-aktinin gibi inelastik yapılar ile sağlanmıştır. Titin bu yapısı sayesinde I-bandı boyunca moleküler bir yay gibi davranır ve bu alt birimleri kas veya sarkomer uzatılmaya başlandığında açılmakta ve kısaldığında da kapanarak eski şekline ulaşmaktadır [44, 51, 52]. Pasif uzamada titinin I-bandı bölgesindeki tüm segmentlerinde uzama görülürken aktif uzamada aktin ile titin arasında bir noktada bağlantı kurulup titinin serbest boyunda değişim gerçekleşmektedir [51,52]. Moleküler bir yay olarak kabul edilen titin serbest boyundaki bu değişim katılığında artışı sağlamakta ve bu sebeple daha kısa boylarda daha büyük kuvvetler ortaya çıkarmaktadır [52].

2.2. KAS KASILMASI VE KUVVET ÜRETİM ÇEVRİMİ

Kasılma çevrimi iskelet kaslarında kuvvet üretimi için istemli uyarım sonucu tekrarlı ve periyodik olarak gerçekleşen kimyasal ve mekanik adımlar bütünüdür (Şekil 2.3). Merkezi sinir sisteminden gelen uyarım (aksiyon potansiyeli) sinirlerin kaslarla birleştiği düğüm noktaları olan nöromüsküler bağlantı noktalarından geçerek kas lifleri ve miyofibrillerin etrafındaki sarkoplazmaya kalsiyum geçişini başlatır. Hücre içine T-tüplerinden geçerek ulaşan kalsiyum moleküllerinin aktin filamanının yapısında bulunan tropomiyozinlerin özelleşmiş bağlanma bölgelerine yapışmaları ile kasılma döngüsünün ilk adımı başlatılmış olmaktadır. Bu ilk işlemde kalsiyum, gevşek kasta çapraz-köprü oluşumunu engelleyen inhibitör mekanizmasını devreden çıkararak aktin üzerindeki bağlanma bölgelerini miyozin başlarının bağlanabileceği konfigürasyona getirmektedir. İkinci aşamada miyozin başları aktin filamanı üzerindeki bu bağlanma bölgelerine yapışarak çapraz köprüleri oluşturmaktadır. Kasılma öncesi yani sarkolemma içinde düşük kalsiyum konsantrasyonu durumundayken, miyozin başlarında ATP (Adenozin trifosfat) molekülleri bağlı bulunmaktadır. Aktin-miyozin bağlantısı ile çapraz-köprü oluşumundan sonra hidroliz işlemi ile ATP molekülleri ADP (Adenozin difosfat) ve fosfat(Pi) bileşenlerine ayrılmakta olup çapraz köprülerin hareketi için gerekli enerji bu hidrolizden sağlanmaktadır. Çapraz-köprülerin hareketi ile aktin filamanı sarkomer merkezine doğru çekilerek kuvvet üretilir. Bu aşama kuvvet stroku (power stroke) olarak adlandırılmıştır. Kuvvet stroku esnasında ADP ve Pi bileşenleri çapraz-köprülerden uzaklaştırılarak serbest kalır. Çapraz-köprülerin hedeflenen konfigürasyonlarına ulaşması ile yeni bir ATP molekülü miyozin başları ile bağlanıp miyozin ve aktin filamanlarını ayırarak miyozin başlarını bir sonraki çevrim için hazır konfigürasyona getirmektedir. Fizyolojik olarak kasılmanın bu

adımları kas kuvvetlerinin modellenmesindeki yaklaşımlarda da göz önünde bulundurulmaktadır [19,53].



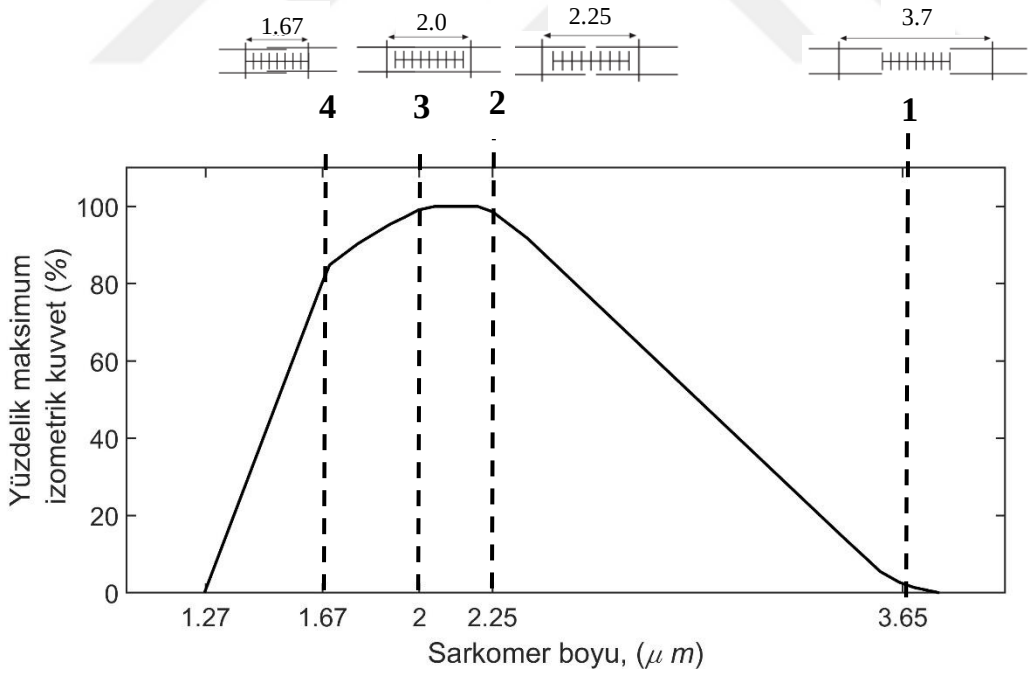
Şekil 2.3. Kasılma esnasında gerçekleştirilen kuvvet üretim çevrimi.

Kasılmanın bu ana çevriminde miyozin başlarının ve aktin filamanının konfigürasyonu kalsiyum, ATP ve bileşenleri gibi moleküller ile değiştirilerek kuvvet üretimi gerçekleştirilir. Kas aktivasyonu sürdükçe bu çevrim tekrarlanarak kuvvet üretimi sürdürülmektedir. Aktivasyonun sona ermesi ile kalsiyum molekülleri sarkoplazmadan çekilerek derişime düşürülür. Böylece çapraz-köprü oluşumu durdurulmuş ve kuvvet üretimi sona ermiş olmaktadır [19] .

2.3. KASLARIN MEKANİK ÖZELLİKLERİ

2.3.1. KUVVET-UZUNLUK İLİŞKİSİ

Bir iskelet kasının ya da farklı seviyelerdeki bileşenlerinin ürettikleri maksimal izometrik kuvvet kasılmanın gerçekleştiği kas uzunluğuna (veya boyuna) bağlıdır. Bu da kasların uzunluğun bir fonksiyonu olarak kuvvet ürettiklerini ve belirli bir uzunluk aralığı dışında aktif kuvvet üretme yeteneklerini kaybettiklerini ifade etmektedir (Şekil 2.4). Bu sebeple kas kuvveti-uzunluk ilişkisi kaslar ve alt birimlerinin uygulayabildikleri kuvvet ile uzunlukları arasındaki ilişkiyi tanımlar. Bu ilişki kasların belirli uzunluklarda boylarının sabit tutularak ürettikleri maksimum izometrik kuvvetlerin ölçülmesiyle elde edilmektedir [13]. Kasların bilinen kuvvet-uzunluk ilişkisi kayan filamanlar teorisindeki varsayımlarla da uyumludur. Buna göre kasılma birbirine paralel konumda bulunan aktin ve miyozin filamanlarının kayma hareketleri ile oluşur. Kayma hareketi esnasında kuvvet bağımsız kuvvet üreteçleri olarak tanımlanan çapraz-köprüler ile sağlanmaktadır ve çapraz-köprülerin oluşmadığı uzunluklarda kuvvet üretimi gerçekleştirilemez. Sarkomer yapısında aktin-miyozin bağlantısının gerçekleşebildiği uzunluk aralığı örtüşme bölgesi (overlap region) olarak tanımlanır.

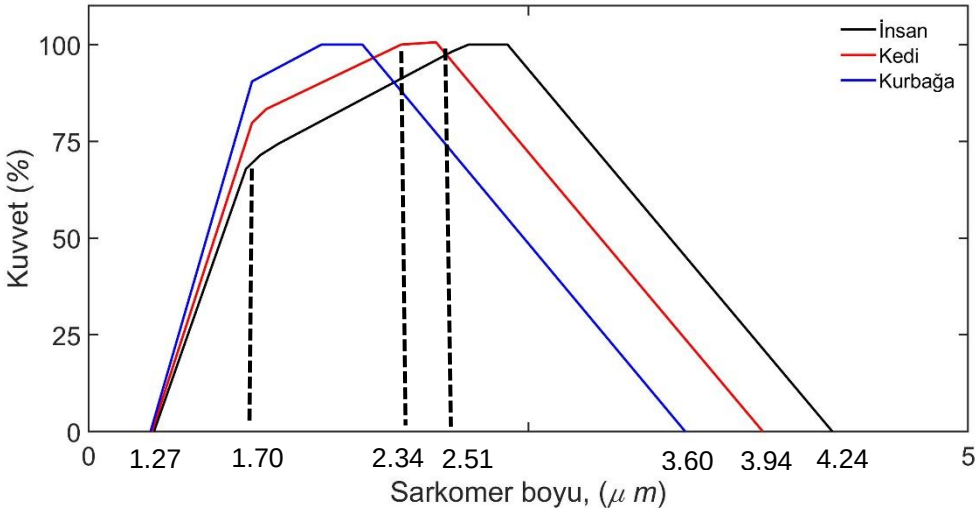


Şekil 2.4. Kas kuvveti-uzunluk ilişkisini gösteren eğri ve miyofilamanların eğri üzerindeki konfigürasyonu [13].

Çapraz-köprülerin sınırlı boyları sebebiyle örtüşme bölgesi dışında kuvvet üretmeleri mümkün olmamaktadır [54]. Bir kuvvet-uzunluk eğrisinde üç ayrı bölüm bulunmaktadır: yükselen

bölüm (ascending limb), plato bölgesi (plateu region) ve alçalan bölüm (descending limb). Yükselen bölümde aktin-miyozin etkileşimi için örtüşme bölgesi artarken alçalan bölümde ise örtüşme uzunluğunda düşüş görülmektedir. Plato bölgesinde ise optimum örtüşme uzunluklarının maksimum izometrik kuvvetleri ortaya çıkardıkları gösterilmiştir (Şekil 2.4).

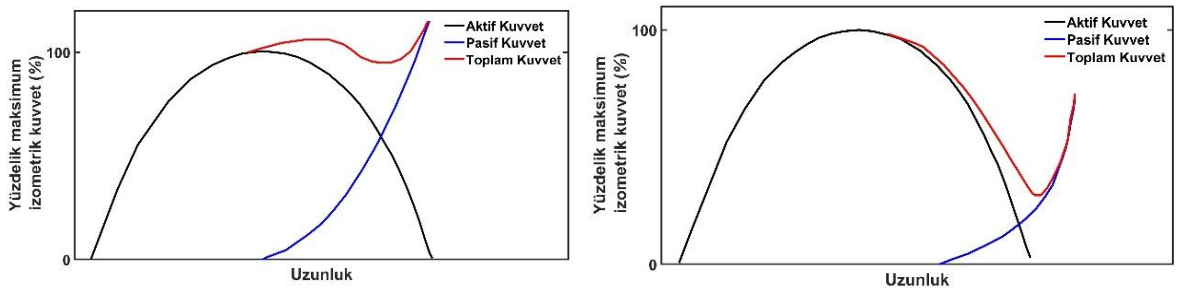
Kuvvet-uzunluk ilişkisi kasların temel mekanik özelliklerinden biri olması sebebiyle farklı tür kaslar için tespit edilmiştir [19]. Buna göre insan, kurbağa ve kedi iskelet kaslarında yüzdesel izometrik kuvvetler aynı olmakla beraber bu kuvvetlerin elde edildiği kas uzunlukları farklı bulunmuştur (Şekil 2.5). Bu farklılığın sebebi olarak da türlerin miyofilaman uzunluklarındaki farklılık gösterilmiştir [54]. Farklı uzunluk bölgelerinde (alçalan ve yükselen bölüm ile plato bölgesi) farklı eğimler görülen böylesi bir ilişki teorik olarak lineer kabul edilmektedir. Bunun yanında bu lineer ilişkinin değişebileceği bölgeler ve potansiyel sebepleri de araştırılmıştır [55,56]



Şekil 2.5. Farklı türler için kas kuvveti-kas boyu ilişkisi [19].

Kaslar ve farklı seviyelerindeki bileşenleri için elde edilen kuvvet-uzunluk ilişkisi kasların statik bir özelliğidir. Ancak farklı seviyelerde elde edilen kuvvet-uzunluk ilişkilerinin karakteristiği (örneğin; alçalan bölümdeki doğrusal olmayan davranış) kasların dinamik davranışlarının anlaşılmasına da katkı sağlamıştır. Buna göre sarkomer non-homojenliği sonucu kasılma esnasında uzun sarkomerlerin daha fazla uzaması ve kısa sarkomerlerin de daha fazla kısalması sonucu alçalan bölümün doğrusal olmayan karakteristiği ortaya çıkmaktadır. Kuvvet-uzunluk ilişkisinden faydalanarak sarkomer instabilitesi, alçalan bölgedeki negatif eğim ve bu bölgedeki değişken davranış da açıklanmaya çalışılmıştır [57].

Kuvvet-uzunluk ilişkisi kasların aktif kuvvet üreten birimleri ile ilgili olarak ortaya çıkan özellikleridir. Ancak organizmanın çalışması esnasında iskelet kasları çeşitli bağ dokuları (fasya, epimisyum, perimisyum, endomisyum) ile çevrili biçimde faaliyet göstermektedirler. Bağ dokular aktif kuvvet üretmeyen yapılar olmalarına rağmen kasların ürettikleri toplam kuvvete mekanik özelliklerinden dolayı etki etmektedirler (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Elastik elemanlardan kaynaklanan pasif kuvvetin toplam kas kuvvetine etkisi [58].

Viskoelastik yapıdaki bağ dokular kas uzunluğunun optimal eşleşme uzunluklarından daha büyük kas uzunluklarında pasif kuvvetler ortaya çıkarır ve toplam kas kuvvetini değiştirmektedirler. Bu sebeple ortaya çıkan pasif ve toplam kuvvet kas yapısındaki bağ dokuların uzama miktarı ve elastik özelliklerine bağlıdır [58].

2.3.2. KUVVET-HIZ İLİŞKİSİ

Bir iskelet kası veya alt birimi sabit yük altında (izotonik kasılma) kasılırken üretilen kuvvetin kasılma hızı (veya boyundaki değişimin zamana oranı) ile ilişkisi kuvvet-hız ilişkisi olarak tanımlanmaktadır. Bu ilişkinin belirlenmesi için deneysel çalışmalar farklı kasılma hızları uygulanarak kayan filamanlar teorisinin belirlenmesinden önceki dönemlerde Fenn ve Hill tarafından gerçekleştirilmiştir [5, 59] . Buna göre konsantrik kasılmada üretilebilen maksimum kuvvet sıfır hızda (izometrik kasılma durumu) ortaya çıkmakta ancak kasılma hızı arttıkça üretilebilen kuvvet azalmaktadır (Şekil 2.7). Bu ilişki matematiksel olarak Hill tarafından aşağıdaki gibi ifade edilmiştir (denklem 2.1);

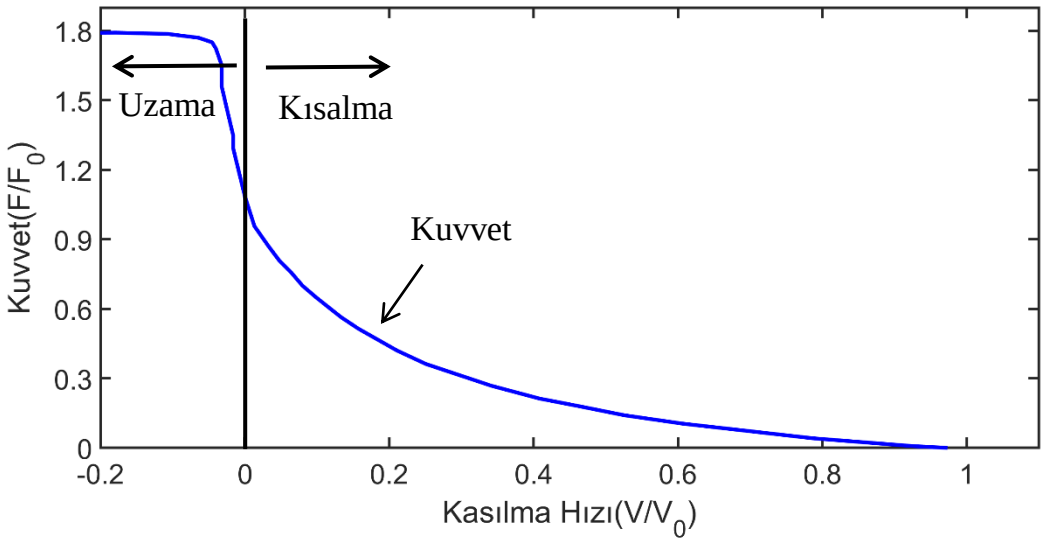
$$(F + a)V = b(F_0 - F) \tag{2.1}$$

Denklem 2.1'de a ve b Hill parametreleri, F anlık kuvvet, V kasılma hızı ve F_0 maksimum izometrik kuvveti göstermektedir. Hill parametreleri farklı karakteristiklerdeki kuvvet-hız

ilişkilerinin belirlendiği deneysel veriler için optimize edilebilmektedir. Buna göre sıfır yük altında kasılan bir kas için maksimum kasılma hızı $Vmax=F_0(b/a)$ ve sıfır hızda kasılan bir kas için de anlık kuvvetin maksimum izometrik kuvvete eşit olduğunu gösteren $F= F_0$ ilişkisi elde edilebilmektedir. Ancak farklı kasların karşılaştırılabilmesi için ise $V' = V / V_{max}$, $F' = F / F_{max}$ ve $k = a / F_0 = b / V_{max}$ olmak üzere Hill denkleminin normalize edilmiş formu kullanılmaktadır:

$$V' = (1 - F) / (1 + T' / k) \tag{2.2}$$

Denklem 2.1 ve 2.2'de konsantrik kasılma için gerekli parametreler (a,b ve k) seçilerek kuvvet-hız eğrisi elde edilebilmektedir (Şekil 2.7). Ayrıca kuvvet-hız ilişkisi kas kuvvetlerinin matematiksel olarak hesaplanması amacıyla kurulan Hill tipi modelllerin de temelini oluşturmaktadır [53]. Buna göre kaslar kuvvet-hız ilişkisine tabi olan bir kasılabilir eleman (contactile element) ve buna bağlı seri bir elastik elemanın birleşiminden meydana gelen bir mekanik sistem olarak modellenmektedir.



Şekil 2.7. Kas kuvveti-kasılma hızı ilişkisi.

Kuvvet-hız ilişkisinin eksantrik kasılmalar için karakteristiği konsentrik kasılmalar kadar standart bir yaklaşımla açıklanamamaktadır [6,57]. Kasların aktif uzama deneyleri uygulanan kasılma hızlarının aşırı yüksek olması (quick stretch) ve yavaş olmaları (slow stretch) arasında farklılık göstermektedir. Genel olarak eksantrik kasılmalar dış kuvvetin kas kuvvetinden büyük olduğu kasılma tipi olduklarından, belli bir hızda uzamaya maruz kalan kasların ürettikleri

kuvvet maksimum izometrik kuvvetlerinden büyüktür. Kasılma hızı arttıkça kas kuvveti maksimum izometrik kuvvetin yaklaşık 1.8 katına yakınsayan bir davranış göstermektedir [36,58].

Kuvvet-hız ilişkisi kullanılarak kasların mekanik güç ve harcadıkları enerji gibi özellikleri de hesaplanabilmektedir. Mekanik güç(P), hız ve kuvvet değerlerinin çarpımı olarak tanımlanmaktadır (denklem 2.3) ve kasılma hızları boyunca gücün değişimi elde edilebilmektedir (Şekil 2.7) .

$$P = Fv \tag{2.3}$$

$$\dot{E} = \dot{Q} + P = ab + av + Fv \tag{2.4}$$

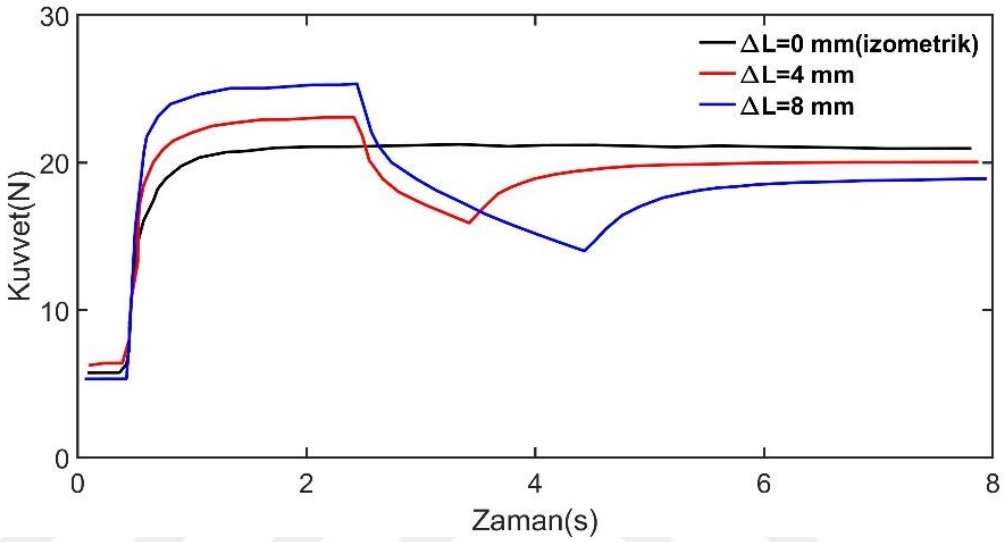
Buna göre maksimum güç değeri konsentrik kasılmalarda maksimum kasılma hızının %31'lik değeri için ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kuvvet-hız ilişkisi ve burada etkili parametreler kullanarak bir kasın kasılma esnasında birim zamandaki enerji üretimi($\dot{E}$) de aktivasyon ısısı (ab), kasılma ısısı (av) ve mekanik gücün (P) toplamı olarak hesaplanabilmektedir (denklem 2.4). Birim zamandaki ısı üretimi($\dot{Q}$) ise aktivasyon ve kasılma ısılarının toplamını göstermektedir [48].

2.3.3. KASLARIN GEÇMİŞ BAĞIMLI (HISTORY-DEPENDENT) ÖZELLLİKLERİ

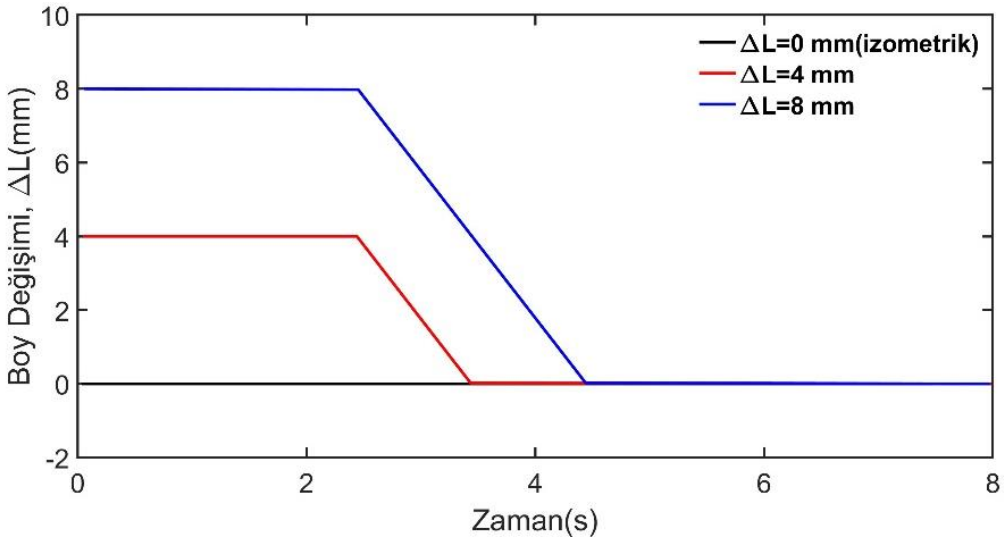
Kas kuvvetlerinin aktif kasılma durumlarında kuvvet-uzunluk ilişkisindeki aktin ve miyozin filamanlarının eşleşme miktarı ile orantılı olması ve üretilen kuvvetlerin kasılma hızları ile ilişkisi dışında bilinen ve bu ilişkilerle açıklanamayan bir diğer özellikleri de geçmiş bağımlı (history-dependent) olmalarıdır. Buna göre kasların aktif uzama ve kısalma durumlarında ürettikleri kuvvet kasılma biriminin bir önceki hareketine (veya durumuna) bağlıdır. Aktif kas veya kas birimlerinin uzama veya kısalma sonucunda ulaştıkları boylardaki izometrik kuvvetler bu boylardaki salt izometrik kuvvetten sırasıyla daha büyük ve daha küçük bulunmaktadır (Şekil 2.8) [37]. Deneysel olarak farklı kas seviyelerinde görülen bu davranış kayan filamanlar ve çapraz köprü teorileri ile açıklanamamaktadır [60-63].

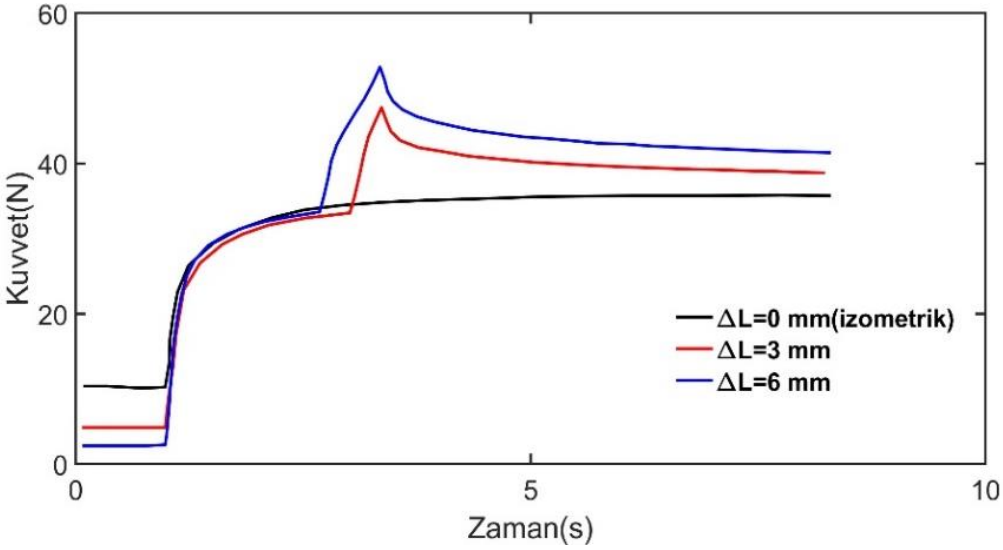
Aktif bir kasılma esnasında kısalmasına müsaade edilen bir kasın ürettiği kuvvet düşüş göstermekte ve kısalmanın bitişi ile kuvvette toparlanma sonucu yeni bir stabil izometrik

kuvvete ulaşılmaktadır. Kasın ulaştığı bu kararlı durumdaki (steady-state) izometrik kuvvet bu boyda gerçekleştirilen salt izometrik kuvvetten daha küçüktür. Aktif kısalma sonrası ortaya çıkan bu kuvvet değişimi kalıntı kuvvet düşüşü (residual force depression) olarak bilinmektedir. Kuvvet düşüşü miktarı kasılma esnasında müsaade edilen kısalma miktarıyla orantılı olarak artış göstermektedir [64-66]. Aktivasyon seviyesi arttıkça kalıntı kuvvet düşüşü de artış göstermekte ve kasın deaktive edilmesiyle ortadan kalkmaktadır [37].

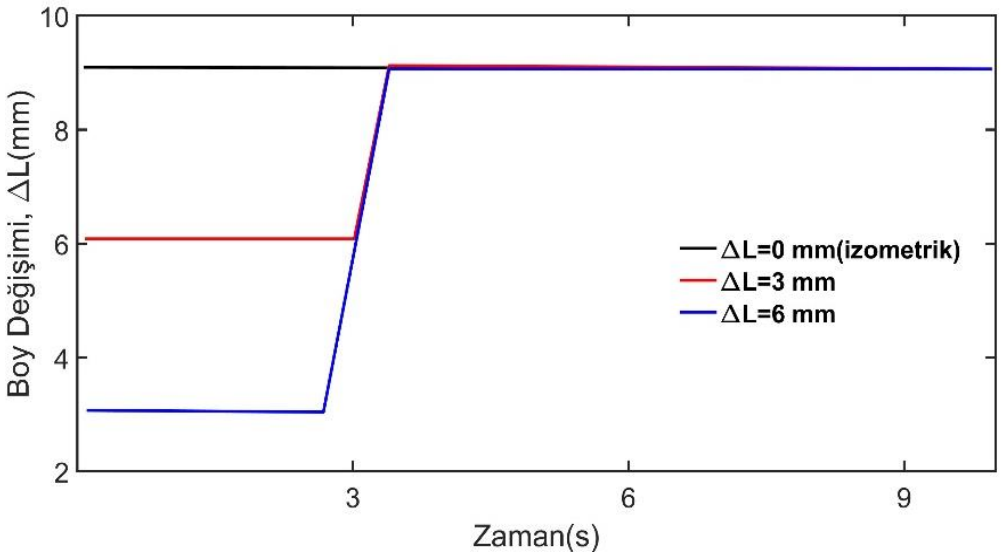


a)





b)



Şekil 2.8. Kasların geçmiş bağımlı özelliklerinin gösterimi a) Kalıntı kuvvet düşüşü [67] b) Kalıntı kuvvet artışı[22].

Kalıntı kuvvet düşüşünün muhtemel sebepleri arasında şunlar sıralanmıştır: i) konsantrik kasılma esnasında kas yapısında biriken fosfat ve hidrojen iyonlarının yorgunluk benzeri bir etki ile kuvveti düşürmesi, ii) konsantrik kasılma esnasında ortaya çıkan bir inhibitör mekanizması ile çapraz köprü oluşumunun engellenmesi ve böylece kuvvetin düşmesi, iii) kas birimleri (kas lifi, miyofibril vb) yapısındaki sarkomer boyu heterojenliği ve iv) stress kaynaklı inhibitör mekanizmasının devreye girerek çapraz köprü oluşumunun engellenmesi [23,37].

Aktif uzamaya maruz kalan bir kasın ürettiği kuvvet de benzer şekilde geçmiş bağımlı özelliktedir. Aktif eksantrik kasılma esnasında maksimum kuvvet, öncesindeki izometrik kuvvetin yaklaşık üç katına kadar çıkabilmekte ve uzama belli bir kas boyunda

durdurulduğunda ise kas kuvveti yeni boyunda da bir kararlı izometrik kuvvet değerine yakınsamaktadır [38]. Eksantrik uzama sonrası bu boyda üretilen izometrik kas kuvveti aynı boydaki salt izometrik kuvvetten büyük olarak elde edilmekte ve bu fenomen kalıntı kuvvet artışı (residual force enhancement) olarak bilinmektedir [60,64, 68]. Eksantrik kasılma durumlarında ortaya çıkan bu özellik aynı zamanda izometrik ve konsantrik kasılmadan daha az ATP miktarı gerektirmekte ve daha düşük enerji miktarı ile karşılanmaktadır [48].Sarkomer instabilitesi ile ilişkilendirilen kalıntı kuvvet artışı kuvvet-uzunluk eğrisinin yalnızca alçalan bölgesinde ortaya çıktığı düşünülürken deneysel çalışmalarda plato ve yükselen bölge de kuvvet artışlarının aktif eksantrik kasılma sonrası meydana geldikleri gözlenmiştir [69, 70].

Farklı kas seviyelerinde gerçekleştirilen deneysel çalışmalar sonucunda kalıntı kuvvet artışlarının aşağıdaki temel özelliklere sahip oldukları belirtilmiştir:

- Kuvvet-uzunluk eğrisinin her üç bölgesinde de ortaya çıkmaktadır.
- Kalıntı kuvvet artışı miktarı net uzama miktarı ile orantılıdır.
- Plato bölgesinde maksimum izometrik kuvvetlerden daha büyük kuvvetler üretmektedir.
- Kalıntı kuvvet artışı miktarı uzama hızlarından bağımsızdır.
- Sarkomer boyu heterojenliği (veya sarkomer instabilitesi) kaynaklı olduğu düşünülmesine rağmen tek sarkomerde de kalıntı kuvvet artışları meydana gelmektedir.

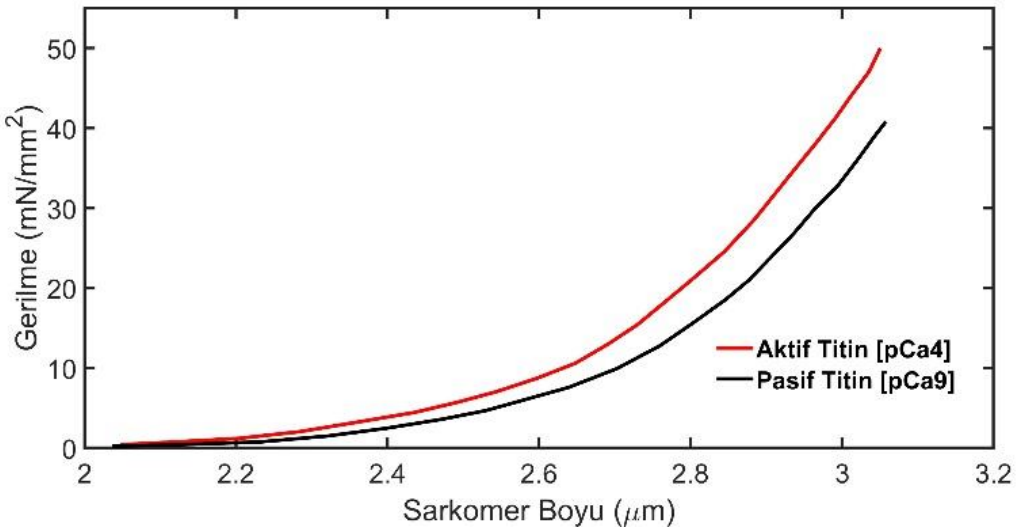
Yukarıda özellikleri itibariyle kalıntı kuvvet artışları kayan filamanlar ve çapraz köprü teorileri ile açıklanamamaktadır. Bu sebeple bu kuvvet artışları sarkomer yapısındaki üçüncü filaman olan titinin dahil olduğu bir mekanizma ile ilişkilendirilmektedir [71,72]. Bunun yanında titin filamanının sarkomer yapısında elimine edildiği çalışmalarda kalıntı kuvvet artışlarının önemli oranlarda ortadan kalkması bu yaklaşımı güçlendirmiştir [73].

Titin miyofilamanı için hem izole edilmiş halde hem de miyofibril yapısı içindeki pasif davranışı (pasif kuvvet-uzama eğrileri) ve titin alt segmentlerinin davranışları deneysel olarak ortaya konmuştur [74-76]. Bu çalışmalarda kısa sarkomer boylarında gerçekleştirilen pasif uzamalarda I-bandı bölgesindeki IG segmentlerinde uzamalar görülürken daha uzun sarkomer boylarında ise PEVK segmentindeki uzamalar ile daha yüksek pasif kuvvetler elde edilmiştir.

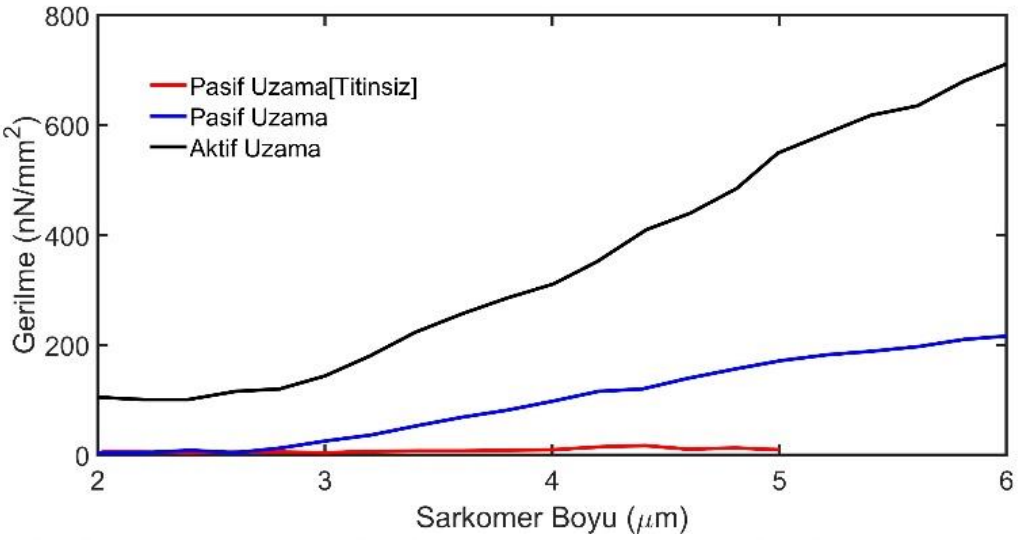
Özellikle sarkomer boyunun 2.1-3.5 mikrometre aralığındaki uzamalarda PEVK segmentinde yüksek miktarlarda uzamalar gerçekleşmiştir[74,77].

Titin'in bir miyofilaman olarak yalnızca pasif yapısal bir eleman olması dışında aktif uzama sonrası ortaya çıkan kalıntı kuvvet artışlarındaki etkisinin nasıl meydana gelebildiği ile ilgili potansiyel mekanizmalar şunlardır: i) Titin katılığı, kas aktivasyonu ve uzaması ile artış göstermektedir, ii) Proksimal (Z-disk bölgesine yakın) bölgenin bir noktasında aktin ile bağlanarak serbest (yay) boyunu değiştirerek katılığını arttırmakta ve daha kısa boylarda daha büyük kuvvetler ortaya çıkarmaktadır. Kasın aktive edilmesi ile sarkoplazma içine geçiş yapan kalsiyum molekülleri titin alt segmentlerinden PEVK üzerinde bulunan özel bağlanma bölgelerine tutunarak aktivasyon ile titini daha katı (stiff) hale getirmektedir ve böylece pasif duruma göre daha büyük kuvvetler üretilmesini sağlamaktadır [50, 71]. Titinin aktivasyon ile değişen katılık davranışının pasif duruma göre değişimi deneysel olarak ifade edilebilmiştir(Şekil 2.9) [72, 76].

a)

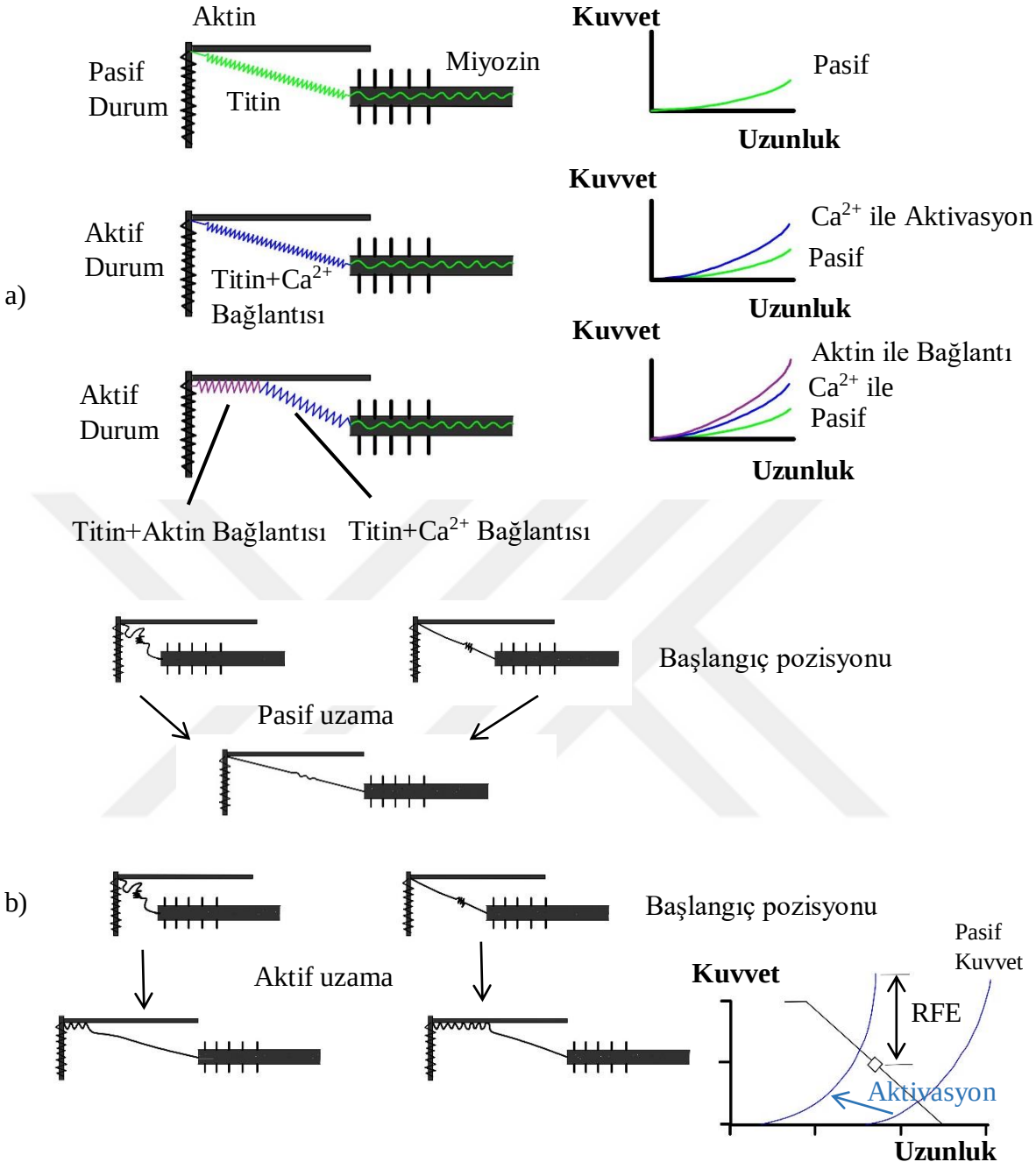


b)



Şekil 2.9 : Kas aktivasyonunun titin katılığı üzerine etkisi a) Aynı sarkomer uzunluklarında kalsiyumun titin kuvveti-uzunluk ilişkisi, b) Miyofibril için pasif, aktif ve titin elimine edilmiş durumlardaki gerilme-uzunluk ilişkisi [72].

Titinin pasif ve aktif uzaması durumlarında farklı segmentlerinde tespit edilen farklı uzama miktarları [78] ve titinin aktive edilmesi ile elde edilen kuvvetlerin kalıntı kuvvet artışlarının çok az bir bölümünü açıklaması [79,80] sebebiyle titinin aktivasyon veya uzama neticesinde aktin ile bağlanması gerektiği düşüncesi öne çıkmıştır [71]. Kasın aktif davranışında aktin-miyozin-titin filamanlarının etkileşimini ifade eden bu üç filamanlı yaklaşıma göre aktin-titin bağlanması ile titin serbest boyu ve katılığı değişerek aynı sarkomer boyunda ürettiği kuvvet artmaktadır[72]. Bunun yanında farklı boylarda gerçekleşen titin-aktin bağlantısı sayesinde titinin kuvvet-uzunluk eğrisi sola kayarak daha kısa sarkomer boylarında bu kuvvetlerin ortaya çıkmasında ve kalıntı kuvvet artışlarının meydana gelmesine imkan vermektedir (Şekil 2.10) [71].

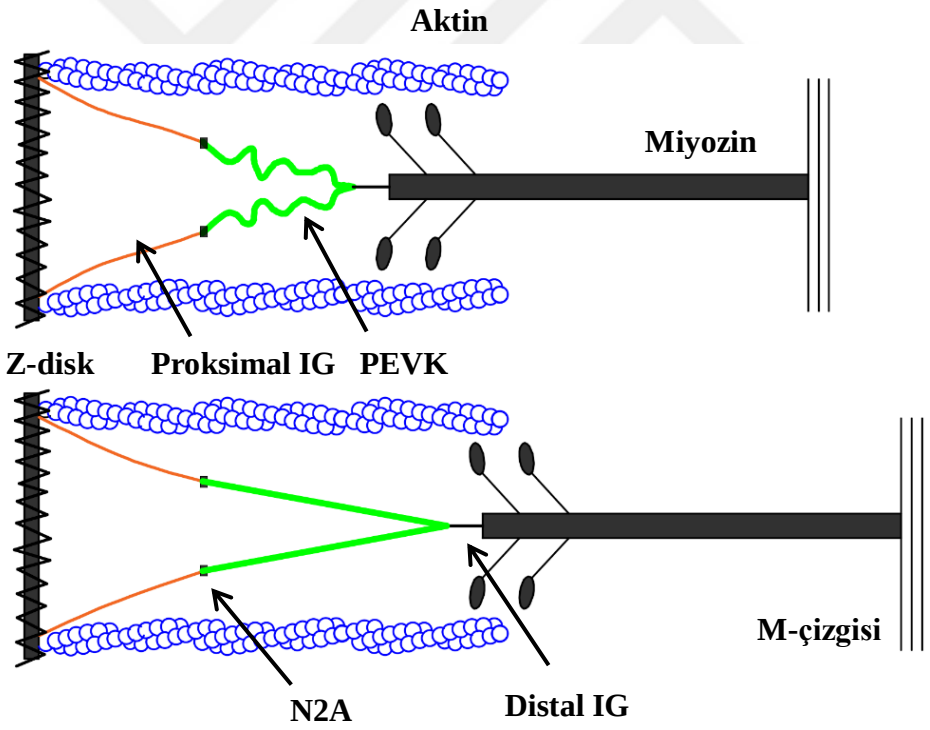


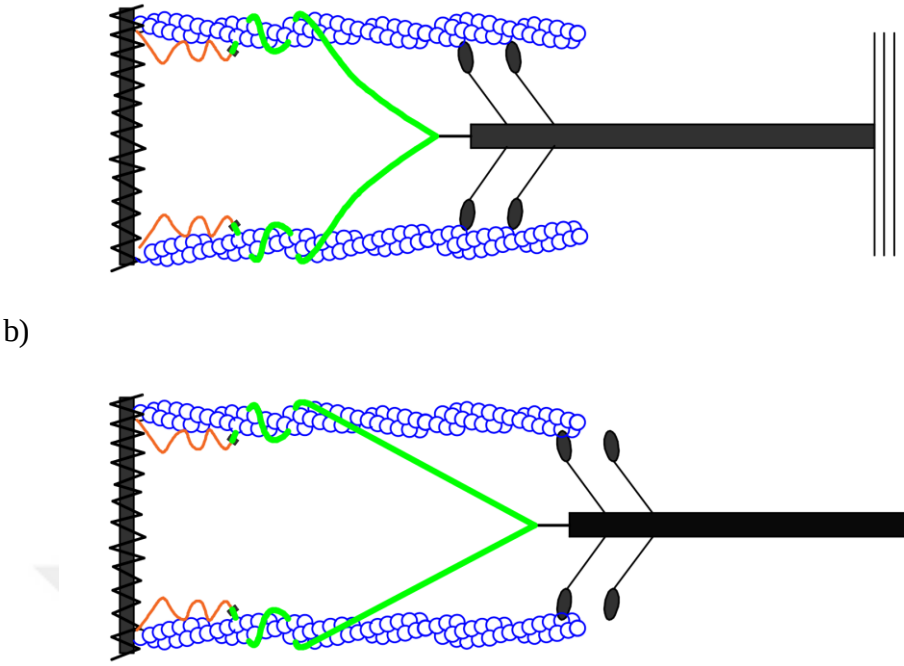
Şekil 2.10. Titinin pasif ve aktif davranışı a) Pasif, aktif ve aktin etkileşimli titin kuvvet-uzunluk eğrileri b) Farklı boylarda aktifleştirilen titin için kuvvet cevabının kuvvet-uzunluk eğrisindeki değişimi[71].

Farklı sarkomer boylarında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda aktif uzama esnasında ortaya çıkan kuvvetler incelendiğinde, 2.4 µm uzunluğunda aktive edilerek uzatılan sarkomerlerdeki kuvvetin 3.4 µm uzunluğunda aktifleştirilerek uzatılan sarkomerlerdeki kuvvete göre daha dik ve hızlı artışlar göstermesi çapraz köprülerin titin kuvveti üzerinde etkileri olduğu düşüncesini öne çıkarmıştır [79,80]. Bu sebeple yukarıda sayılan özelliklerin karşılanabilmesi ve titin-aktif

eleman etkileşiminin nasıl gerçekleştiğinin açıklanabilmesi için kasılmada miyozin, aktin ve titin filamanlarının rollerini çapraz-köprü teorisiyle de uyumlu olarak ele alan sarım filaman hipotezi (*the winding filament hypthesis*) önerilmiştir (Şekil 2.11) [50]. Bu yaklaşıma göre, titinin kalsiyum ile aktive edilmesi sonrası, titin üzerindeki N2A segmenti ince filaman aktin üzerine bağlanarak titinin serbest boyunu ve katılığını değiştimesini sağlamaktadır. Titin-aktin bağlantısı sayesinde pasif uzamada meydana gelen proksimal Ig segmentinin uzaması önlenmiş olmaktadır. Böylece aktif uzama esnasında PEVK bölgesi yüksek miktarlarda kuvvetlerin üretilmesini sağlayabilmektedir. Titin-aktin bağlantısı oluşturulduktan sonra çapraz-köprülerin aktin filamanını hem döndürmesi hem de sarkomer ekseni boyunca hareket ettirmesi ile titin aktin üzerinde helisel bir sarım gerçekleştirmekte ve bu sayede PEVK segmentinin serbest boyu değiştirilmektedir(Şekil. 2.11)[44].

a)





b)

Şekil 2.11. Sarım filaman yaklaşımı: a)pasif uzama b) aktif uzama [44].

Titinin birbirine seri bağlı proksimal IG, N2A, PEVK ve distal IG gibi alt segmentlerinin bağımsız biçimde açılıp katlanmaları ile uzunluklarını ve katılıklarını değiştirmelerinden çok, bu alt segmentlerin davranışlarının temelinde titin-aktin bağlantısı ve aktin-çapraz-köprü etkileşimi olduğu varsayılmıştır. Bu mekanizma aracılığıyla titinin aktin üzerinde helisel bir şekilde sarımı sonucu titinin i) katılığını değiştirmesi, ii) serbest uzunluğunu değiştirebilmesi, ii) kalsiyuma duyarlılığı gibi özelliklerinin birlikte değerlendirilebilmesi sağlanmıştır[81]. Sarım filaman hipotezi kalıntı kuvvet artışlarının açıklanabilmesi yanında eksantrik kasılmadaki daha düşük enerji harcanmasını ve aktif uzamadaki kuvvet artışının pasif uzamaya göre daha hızlı meydana gelmesi gibi diğer deneysel gözlemlere de açıklık getirebilmektedir [40]. Böylece daha önce pasif kuvvette etkili olduğu düşünülen titinin dinamik davranışı kas fizyolojisine ve deneysel gözlemlere uygun olarak daha açık bir şekilde ortaya konulabilmiştir.

2.4. KASLARIN MODELLENMESİ VE HUXLEY TİPİ ÇAPRAZ-KÖPRÜ MODELLERİ

Kasların yapı, fonksiyon ve işleyişlerinin anlaşılması amacıyla deneysel olarak elde edilen kas cevaplarının bilgisayar ortamında simülasyonları için kas modelleri kullanılmaktadır. Kas modelleri kasların bilinen mekanik özelliklerinin yanısıra kasılma boyunca veya sonrasında meydana gelen fizyolojik fenomenlerin anlaşılmasında da önemli araçlar olmuşlardır [82]. Modeller temel olarak kasılmanın ardındaki mekanizmanın matematiksel ifadesi ve karmaşık

fizyolojik etkileşimlerin basitleştirilmesi için bir takım varsayımlara dayanmaktadır. İskelet kasları için geliştirilen kas modelleri genel olarak üç gruba ayrılmaktadır:

a) Hill tipi (reolojik) modeller,

b) Anatomi tabanlı modeller.

c) Huxley tipi (yapısal) modeller,

Reolojik modeller olarak da bilinen Hill tipi kas modelleri kas-tendon kompleksinin deneysel gözlemlere uygun olarak matematiksel olarak ifade edilmesi amacıyla kullanılmaktadırlar [5,83]. Özellikle kas-iskelet sistemi gibi makro bir yapının ele alındığı durumlar için yaygın olarak başvurulan modellerdir [84]. Genel olarak kasların kuvvet-hız ilişkisine dayanmakta olup kasların çeşitli yapısal ve mekanik özelliklerini ihmal eder; ancak hesaplama yüklerinin azaltılmasında avantaj sağlarlar. Anatomi tabanlı modeller ise, kas yapısının iki ya da üç boyutlu koordinat sisteminde temsil edilebilmelerini sağlamak amacıyla biyomekanik çalışmalarda kullanılırlar [85].

Huxley tipi (veya yapısal) modeller kasılma esnasında sarkomer içinde meydana gelen fizyolojik, mekanik ve kimyasal süreçleri gözönüne alan, başta kas kuvvetleri olmak üzere çeşitli deneysel kas cevaplarının simüle edilmesini sağlayan matematiksel modellerdir. Sarkomer içinde kalsiyum ve ATP etkileri ile çapraz köprülerin gerçekleştirdikleri kuvvet çevrimine yukarıda değinilmiştir. Bu fizyolojik aktivitelerin niceliksel ve matematiksel olarak formülasyonu ise kas kuvvetlerinin sarkomer seviyesindeki simülasyonu ile mümkün olmaktadır. Bir kas modelinden beklenen çıktılar, kasılma sırasındaki hız-kuvvet ilişkisini açıklayabilmek, izometrik kuvvet üretimini simule edebilmek, kasılma-enerji ilişkisini açıklayabilmek ve kasların deneysel olarak gözlemlenebilen bir takım özelliklerini karakterize edebilmektir. Bunun için ilk yapısal kas modeli çapraz-köprülerin oluşumunu, kuvvet üretimini ve enerji ilişkisini matematiksel olarak ifade etmek üzere Huxley tarafından önerilmiştir [23]. Kayan filamanlar yaklaşımındaki fizyolojik özelliklerle uyumlu bu matematiksel modelde miyozin başlarının döngüler şeklinde aktin filamanı üzerindeki bağlanma bölgelerine (attachment sites) bağlanarak çapraz-köprü oluşturdukları ve bu çapraz-köprülerin kas kuvvetini ürettikleri varsayımından dolayı bu yaklaşım çapraz-köprü modeli olarak da bilinir. Buna göre miyozin filamanından uzanan miyozin başlarının aktin filamanına elastik yay benzeri bir bağlantı gerçekleştirdiği varsayılır. Miyozinin bağlanma noktası olarak referans

alınan M noktası serbest halde denge konumu etrafında salınım hareketi (Brownian Motions) gerçekleştirir (Şekil 2.12). M noktasının en yakınındaki aktin bağlanma bölgesi (binding site - A noktası), denge konumundan anlık olarak *x* mesafesinde bulunur. Miyozinler A noktası ile herhangi bir *x* değeri ve herhangi bir zaman anında bağlanarak çapraz-köprü oluşturabilir. Miyozinlerin denge pozisyonu (O) sıfır kuvvet konumu olarak da bilinir ve bu noktada oluşturulan çapraz-köprülerin deplasmanları sıfır olduğundan kuvvet üretmedikleri varsayılır. Bunun yanında çapraz-köprülerin A noktası etrafında herhangi bir *x* mesafesinde oluşabildiği; ancak sınırlanmış bağlanma mesafesini (*h*) aşan *x* değerleri için çapraz-köprü oluşmadığı varsayılmıştır. Bir zaman anında çapraz-köprünün sadece bir A noktası ile bağlanabileceği kabul edilir. Ayrıca sarkomer içindeki tüm çapraz köprülerin bağlanma ve çözülme durumlarından yalnızca birinde bulunabileceği kabul edilir. Bu sebeple çapraz-köprü modellerinin bu ilk formu iki-durumlu (two-state) model olarak da bilinmektedir. Çapraz-köprüler bu iki durum arasında anlık geçişler yaparak kuvvet çevrimleri gerçekleştirdikleri ve kuvvet ürettikleri bu formülasyonun esasını oluşturur.

Tüm kas veya alt birimlerinin yapısındaki bağlı (*n(x,t)*) ve çözülmüş(*1-n(x,t)*) çapraz-köprü popülasyonları zaman ve pozisyon bağımlıdır. Bu iki popülasyon arasındaki geçişler bağlanma (*f*) ve çözülme (*g*) oran fonksiyonları (rate functions) tarafından denetlenmektedir. Bir çapraz-köprünün oluşumu, deplasman gerçekleştirerek kuvvet üretimi ve çözülmesi döngüsü için bir ATP molekülünün hidrolizi ile gerçekleştiği kabul edilmiştir. Çapraz-köprü modelinde temel varsayımlar ise şunlardır:

a) Tüm çapraz-köprüler aynı kuvvet üretim potansiyeline sahiptir.

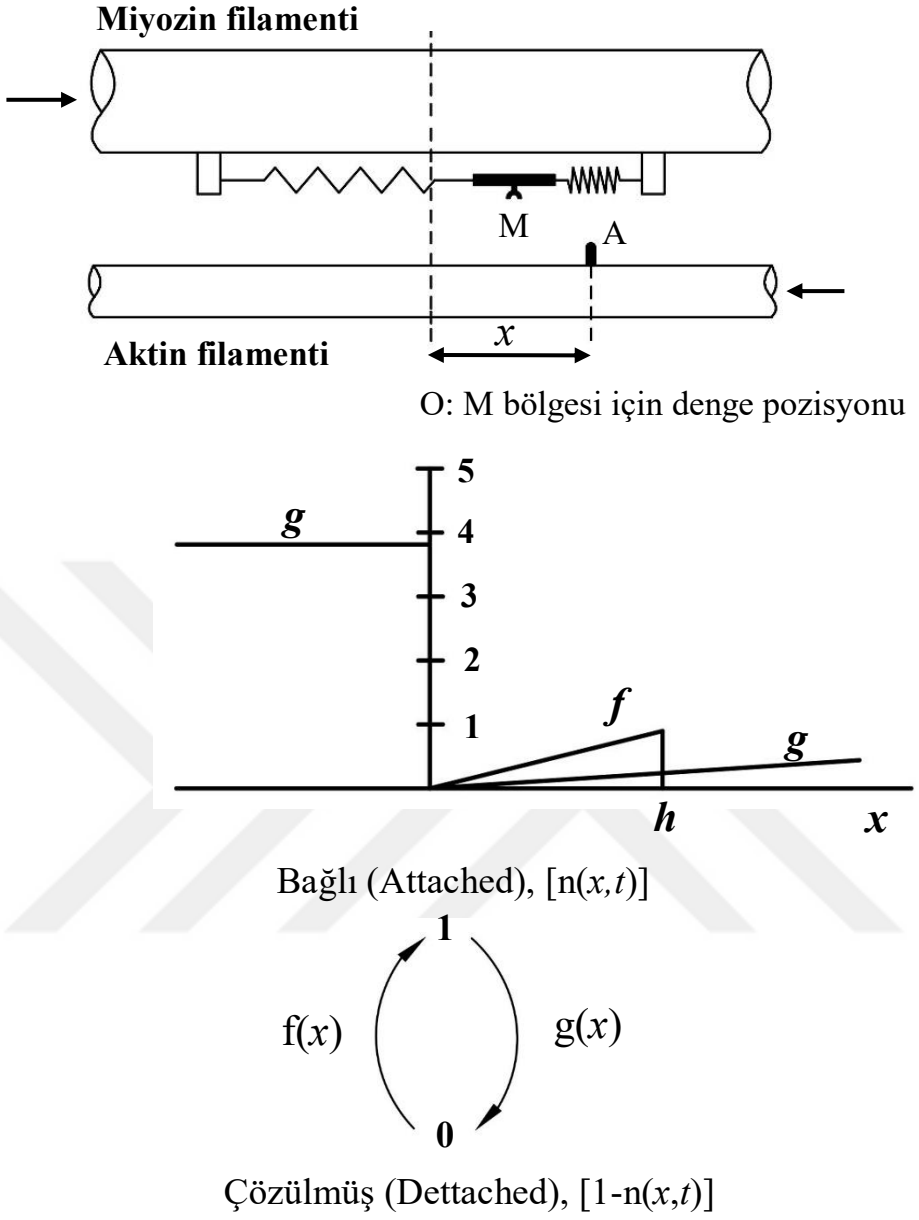
b) Çapraz-köprüler miyozin filamanı boyunca uniform biçimde dizilmişlerdir.

c) Aktin filamanı üzerindeki bağlanma bölgeleri de birbirlerinden uniform biçimdeki mesafededirler.

d) Her çapraz-köprü tekildir ve birbirinden bağımsız çalışmaktadırlar.

d) Çapraz köprüler lineer elastik yay davranışı göstermektedirler.

Her bağımsız çapraz-köprü katılığından (*k*) ve gerçekleştirdiği deplasmandan (*x*) dolayı kuvvet üretmektedir ve kas kuvveti bağlantı gerçekleştiren çapraz-köprülerin meydana getirdikleri kuvvetlerin toplamı olarak hesaplanmaktadır [36].

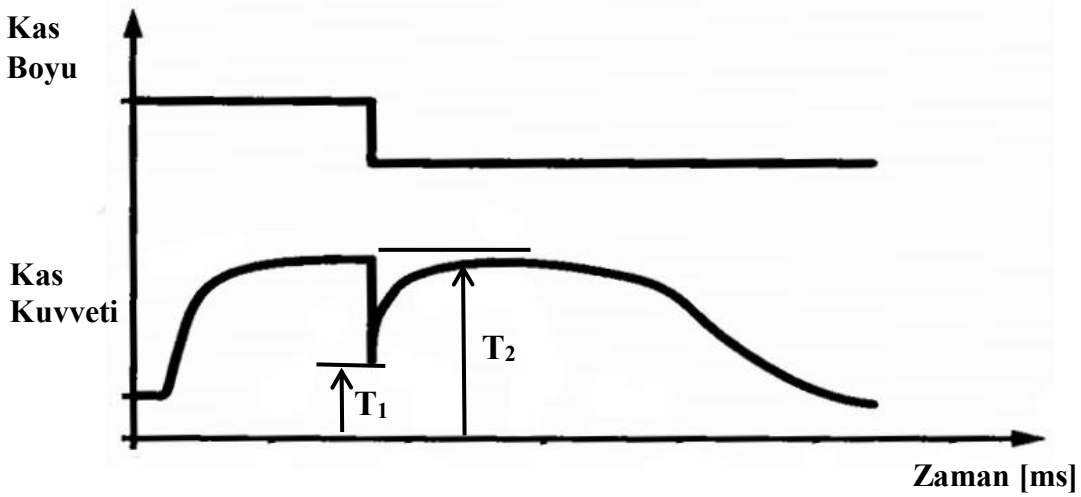


Şekil 2.12. Huxley tipi (1957) kas modelinin şematik gösterimi, oran fonksiyonları ve durumlar arası geçişler (M: miyozin başı, A: aktin bağlanma bölgesi, *f*: bağlanma oran fonksiyonu ve *g:* çözülme oran fonksiyonu, *n(x,t):* bağlı çapraz köprülerin dağılımı)[23].

Huxley modelinde bağlanma ve çözülme oran fonksiyonları kasların kuvvet-hız profillerine uygun olacak şekilde seçilmiştir. Denge pozisyonundan belli bir bağlanma mesafesinde (*h*) bağlanma gerçekleşerek çapraz köprüler oluşabilmektedir ve negatif deplasman bölgesinde çözülme oran fonksiyonları oldukça yüksektir. Oran fonksiyonlarının formları konsantrasyonu ve eksantrik kasılmadaki kuvvet durumları üzerinde belirleyicidir. Buna göre konsantrik kasılmada *x*-mesafesi azalarak izometrik durumdan daha düşük kuvvetler üretilirken eksantrik

kasılmada ise çapraz-köprü deplasmanları arttığından dolayı daha izometrik durumdan daha büyük kuvvetler üretilebilmektedir.

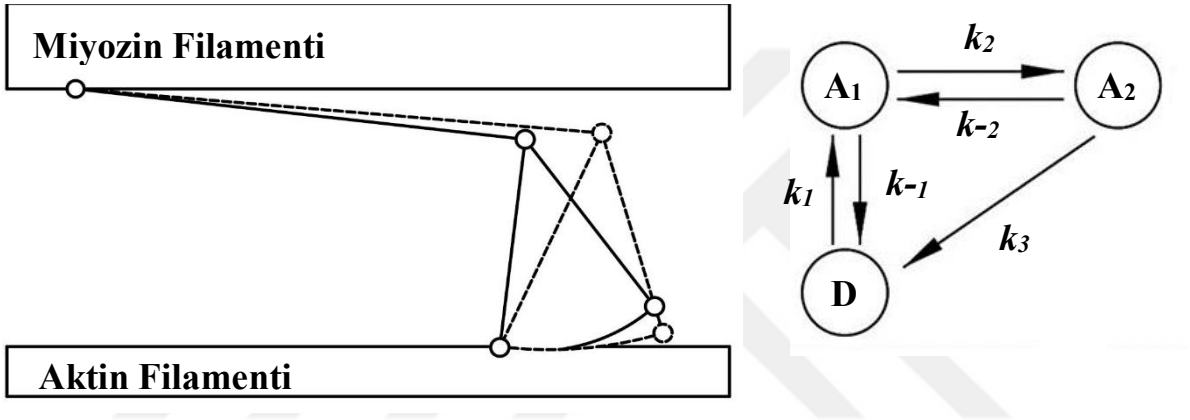
Huxley tipi çapraz-köprü modellerinin ilk hali oldukça kullanışlı olmasına rağmen bir takım deneysel kas karakteristiklerini yansıtmakta yetersiz performans sergilemişlerdir. Bu davranışlardan bir tanesi de özellikle kas veya alt birimlerinin maruz kaldıkları kısa ve hızlı boy değişimlerinden sonra gösterdikleri toparlanma kuvvetlerinin hızlı bir şekilde boy değişikliği öncesine ulaşmasıdır (Şekil 2.13). Kasın hızlı bir şekilde gösterdiği konsantrik kasılmayı takiben ürettiği kuvvette hızlı bir düşüş görülmektedir; ancak kısa bir periyot içinde kısalma öncesi kararlı durgun kuvvete tekrar ulaşılır. Mevcut iki durumlu (bağlanma ve çözülme) modelde çapraz köprülerin bağlanma ve çözülmesi için gerekli çevrim toparlanma kuvveti ve hızını açıklamakta yetersiz kaldığından Huxley ve Simmons tarafından 3 durumlu (iki bağlanma durumu ve bir çözülme durumu) kas modeli (1971 modeli) önerilmiştir [25].



Şekil 2.13. İskelet kaslarında boy değişimi sonrası izometrik kuvvette görülen hızlı toparlanma (T_1: Kısalma sonrası görülen minimum kuvvet, T_2: Hızlı toparlanma periyodu sonrasında ulaşılan kuvvet değeri)[25].

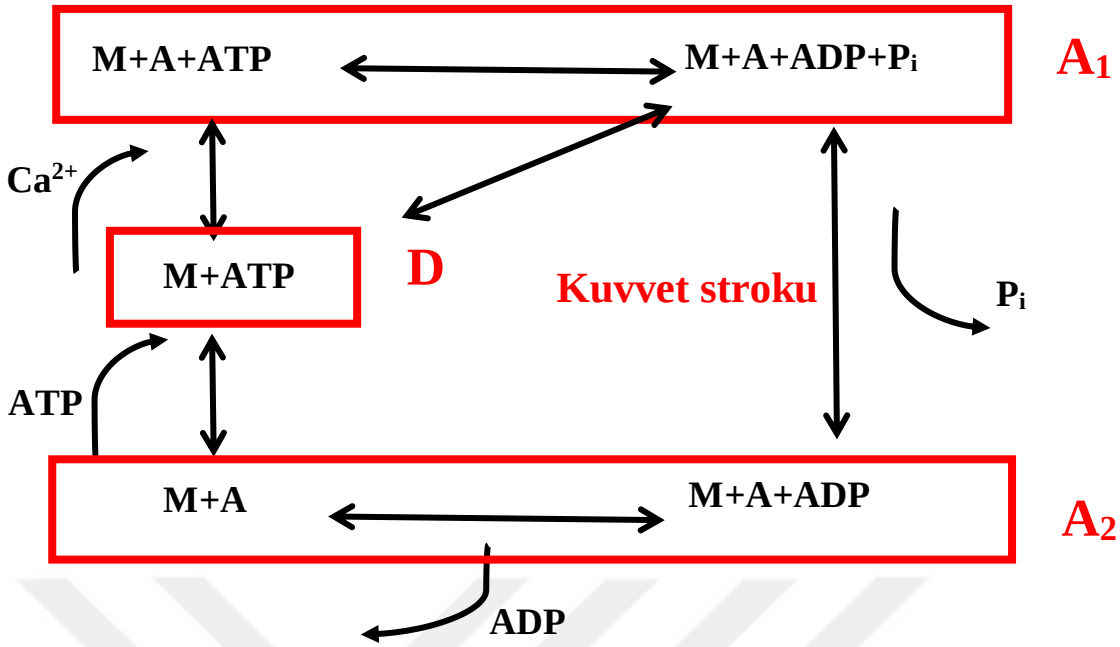
1957 Huxley modelinde bir çapraz köprü, bağlanmış veya çözülmüş durumda olduğu kabul edilir. Hızlı bir kısalma sonrası çok sayıda çapraz köprünün belirli bir zaman içinde çözülmesi, tekrar bağlanması ve deplasman gerçekleştirerek kuvvet üretmesi gerekmektedir. Ancak bu modelde varsayılan durum sayısı ve oran fonksiyonları kasların bu hızlı cevaplarına ve kısalma öncesindeki kuvvete ulaşılmasındaki performanslarının yansıtılmasında yetersiz kalmıştır. Bu sebeple Huxley ve Simmons çapraz köprülerin farklı durumlarda bağlı olabileceği model modifikasyonunu önermişlerdir. Kurulan modelde, bağlı çapraz köprü rotasyon hareketi ile

elastik kısmın uzunluğunu değiştirerek üretilen kuvveti hızlıca artırır ve boy değişimi sonrası hızlı toparlanma meydana gelir (Şekil 2.14). Kasılmanın bir çözülme ve iki bağlanma durumuna dayandığını öngörüldüğü üç-durumlu (three-state) model, farklı deneysel özelliklerin modellere entegre edilmesi amacıyla farklı sayılarda çapraz-köprü durumunun modelde kullanılması çalışmalarının temelini oluşturmuştur (Şekil 14). Modifiye edilen tüm modellerde bağlı ve çözülmüş durumdaki çapraz-köprü popülasyonları üzerindeki esas belirleyici parametreler geçiş oran fonksiyonlarıdır. 1957 Huxley modelinden farklı olarak doğrusal olmayan ve belli mesafeler için geçerli olan oran fonksiyonları üretilen kuvvetin karakteristiği ile yakından ilişkilidir.



Şekil 2.14. Huxley 1971 modelinin şematik gösterimi. Çapraz köprünün rotasyon ile ürettiği kuvveti değiştirmesi (solda) ve durumlar arası geçişler (sağda) (A_1 ve A_2: Bağlanma durumları, D:Çözülme durumu, *k*: oran fonksiyonları)[25].

Modeller daha sonra deneysel olarak gözlemlenen çeşitli kas özelliklerinin nümerik olarak simüle edilmesi amacıyla farklı sayılarda bağlanma ve çözülme durumları içerecek şekilde modifiye edilmişlerdir [86-88]. Çoklu durum içeren Huxley tipi modellerle farklı sayılarda bağlanma ve çözülme durumları kullanılarak aktin-miyozin etkileşimi ve kasılma çevriminin biyokimyasal ve biyomekanik açıdan gerçekçi biçimde ifade edilmesi amaçlanmaktadır. Aynı zamanda kas boyundaki hızlı değişimden kaynaklanan kuvvet ve gerilme gibi karakteristiklerin anlaşılması amacıyla bağlanma ve çözülme durumları arasındaki zaman ve pozisyon bağımlı mekanik ilişkilerin de ortaya matematiksel olarak ifade edilmesi hedeflenmektedir. Bu sebeple çapraz-köprü durumları arasındaki kimyasal, termodinamik ve enerji bakımından farklar gözönüne alınmaktadır (Şekil 2.15)



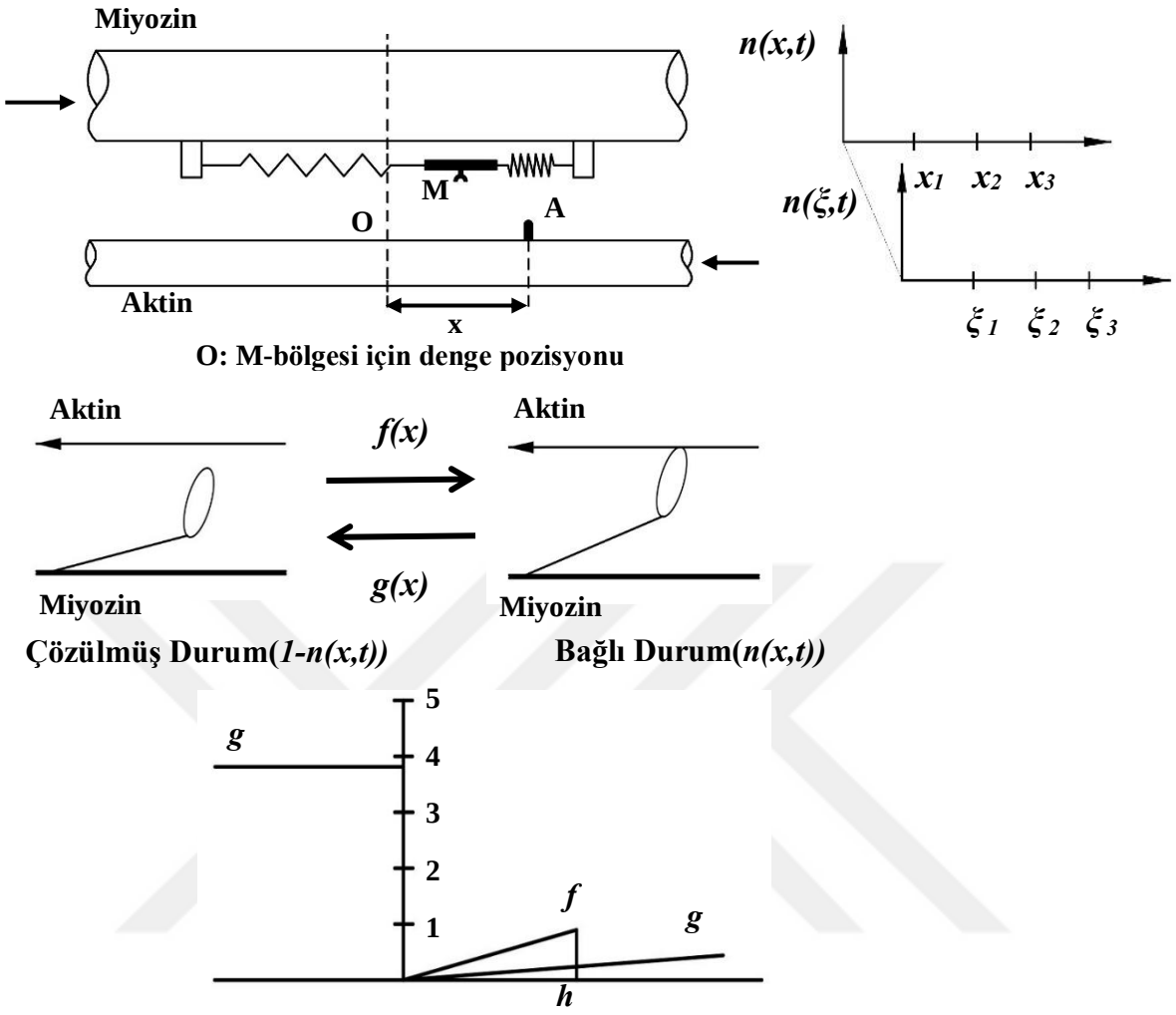
Şekil 2.15. 3-durumlu Huxley modelinde durumlar arası biyokimyasal çevrimlerin şematik gösterimi (A: Aktin, M:Miyozin, ATP: Adenozin Trifosfat, ADP: Adenozin Difosfat, P_i =Fosfat, A_1 ve A_2:Bağlanma durumları, D: Çözülme durumu).

Çoklu durum modelleri ile Huxley tipi modellerin kasların deneysel davranışlarının simüle edilmesindeki performansları artmıştır. Ancak modeller kasların kuvvet-boy ve kuvvet-hız gibi ilişkilerini açıklamakla beraber çeşitli zayıf yanlara ve dezavantajlara sahiptirler. Eksantrik kasılmanın konsantrik ve izometrik kasılmaya göre daha düşük enerji tüketimi ve daha yüksek kuvvetler ortaya çıkarması bu modellerle simüle edilememektedir [72]. Bunun yanında kasların uzun zamandır bilinen mekanik özelliklerinden olan geçmiş bağımlı karakterdeki kas kuvvetleri çapraz köprü modelleri ile açıklanamamaktadır [89]. Özellikle kas, kas lifi, miyofibril ve sarkomer seviyesinde deneysel olarak gözlemlenen ve geçmiş bağımlı özelliklerinden olan aktif eksantrik kasılma sonrası kalıntı kuvvet artışlarının modellenebilmesi için titin gibi yapısal elastik elemanın davranışını da içerecek şekilde modifikasyonu tartışılmaktadır [40, 42].

3. YÖNTEM

3.1. İKİ DURUMLU (TWO-STATE) ÇAPRAZ KÖPRÜ MODELİ

Kas kuvveti cevaplarının teorik olarak hesaplanabilmesi için iki durumlu (two-state) çapraz-köprü modeli kullanılmıştır [23]. Modelden beklenen bir sarkomer içindeki çapraz-köprü popülasyonunun gösterdiği dağılımların ve bu dağılımlar kullanılarak kas kuvvetlerinin belli zaman periyotları için hesaplanabilmesidir[36]. Böylece sarkomerlerin hem izometrik hem de aktif uzama-kısalma gibi dinamik durumlar için kuvvet cevapları simüle edilebilecektir. Kas kuvvetlerini hesaplamaya imkân verecek modelin kurulabilmesi için aktin-miyozin etkileşimi sonucu oluşacak çapraz-köprülerin bağlantı oluşturabileceği aktin üzerindeki bağlanma bölgeleri ve deplasmanların denge pozisyonundan uzaklığı ifade edilmiştir. Kullanılan orijinal iki-durumlu çapraz-köprü modelinin şematik diyagramı Şekil 3.1'de verilmiştir. Modelde bir çapraz-köprünün yalnızca bağlanma ve çözülme durumlarından birinde olabileceği kabul edilmiştir. Buna göre konsantrik kasılma esnasında aktin filamanı sarkomer merkezine (şekilde sol tarafa) doğru, eksantrik kasılmada ise merkezden uzaklaşacak şekilde (şekilde sağ tarafa) hareket etmektedir. Aktinin bağlanma bölgesinin (A), miyozin başının (M) denge konumuna (O) göre relatif pozisyonu x ile gösterilmiştir. Denge konumunda bağlı olan bir çapraz-köprünün deplasman (x) değerinin sıfır olmasından dolayı kuvvet üretmediği varsayılmıştır. Denge konumundan uzaklaştıkça üretilen kuvvet doğrusal olarak artmaktadır. Bunun yanında bir çapraz-köprünün bir zaman anında yalnızca bir bağlanma bölgesine tutunabileceği varsayılmıştır. Çözülmüş halde bulunan bir miyozin başı denge konumu etrafında salınım yapmaktadır ve bağlanma oran fonksiyonuna göre bağlanma mesafesine giren bir aktin bağlanma bölgesi ile bağlanarak çapraz-köprü oluşturabilmektedir. Bağlı çapraz-köprüler için bağlanma mesafesinden (h) daha büyük uzaklıklarda çözülme olasılığı artış gösterirken bağlanma olasılığı sıfıra inmektedir. Böylece modelde belirlenen durumlar arasındaki geçişleri denetleyen ve düzenleyen oran fonksiyonları bağlı ve kuvvet üreten çapraz-köprü popülasyonu üzerinde belirleyici olmaktadır [90].



Şekil 3.1. İki durumlu kas modelinin şematik gösterimi, sabit ve hareketli eksenler, oran fonksiyonları ve durumlar arası geçişler (M: miyozin başı, A: aktin bağlanma bölgesi, *f*: bağlanma oran fonksiyonu ve *g:* çözülme oran fonksiyonu, *n(ξ,t)* ve *n(x,t):* bağlı çapraz köprülerin dağılımı).

Aktin ve miyozin filamanlarının etkileşimi matematiksel olarak aşağıdaki birinci mertebeden kinetik bünye denklemi (3.1) ve sadeleştirilmiş formu (3.2) ile ifade edilmektedir:

$$\frac{Dn}{Dt} = \frac{\partial n(x,t)}{\partial t} - v\frac{\partial n(x,t)}{\partial x} = f(x)(1-n(x,t)) - g(x)n(x,t) \tag{3.1}$$

$$\frac{\partial n(x,t)}{\partial t} - v\frac{\partial n(x,t)}{\partial x} = f(x) - [f(x)+g(x)]n(x,t) \tag{3.2}$$

(3.1) ve (3.2) denklemlerinde x ve t bağımsız değişkenleri sırasıyla konum ve zamanı gösterirken, $n(x,t)$ bağlı çapraz köprülerin (x ile $x+dx$ arasındaki) olasılık yoğunluğunu (probability density) veya dağılımını, $f(x)$ ve $g(x)$ sırasıyla bağlanma ve çözülme oran

fonksiyonlarını, *v* kasılma hızını ve *D/Dt* de materyal türevi ifade etmektedir. Model şematiğinde gösterilen çapraz-köprü formasyonu ve hareket mekanizması göz önüne alındığında sarkomer merkezine doğru gerçekleştirilen yer değiştirmeler pozitif kabul edildiğinden konsantrik ve eksantrik kasılma hızları sırasıyla pozitif ve negatif kabul edilmiştir. Bağlı çapraz köprü dağılımının (*n(x,t)*) hesaplanabilmesi için (3.2) denkleminin iki bağımsız değişken formundan tek bağımsız değişkenli yapıya indirgenmesi amacıyla (3.3), (3.4), (3.5) ve (3.6) denklemlerine göre değişken dönüşümü yapılmıştır:

$$\delta(t) = \int_{t_0}^{t} v(\tau) d\tau \ , (\tau \in [t_0, t] \text{ olmak üzere}) \tag{3.3}$$

$$x \to s(t) = x + \delta(t) \tag{3.4}$$

$$t \to t \tag{3.5}$$

$$n(x,t) \to n(x+\delta, t) = n(s,t) \tag{3.6}$$

Değişken dönüşümü ile (3.2) denklemi, tek değişkenli bir adi diferansiyel denkleme dönüştürülmüş ve (3.7) denklemi ile ifade edilmiştir:

$$\frac{\partial n(s,t)}{\partial t} = f(s-\delta) - [f(s-\delta,t) + g(s-\delta,t)] n(s,t) \tag{3.7}$$

Başlangıç ve sınır şartları belirlenerek (3.7) denkleminin sayısal integrasyonu ile bağlı çapraz-köprü dağılımı (*n(x,t)*) hesaplanabilmektedir[48]. Orijinal iki-durumlu modelde kabul edilen varsayımlardan biri de çapraz köprülerin denge konumundan uzaklaştıkça ürettikleri kuvvetin deplasmanları ile doğrusal bir ilişkisi bulunmasıdır. Bu ilişki göz önüne alınarak sarkomer içindeki tüm tekil çapraz köprülerin ürettikleri kuvvetin toplamı ile Cauchy gerilme değeri denklem (3.8)'de ifade edildiği gibi hesaplanabilmektedir:

$$\sigma(t) = \frac{msk_{cb}}{2l} \int_{-\infty}^{+\infty} n(s,t) s ds \tag{3.8}$$

(3.8) denkleminde *m* birim hacimdeki çapraz köprü sayısını, *s* sarkomer uzunluğunu, k_{cb} çapraz köprü katılığını ifade etmektedir. Denklemde bağlantı oluşturabilecek ardışık aktin bağlanma bölgeleri arasındaki mesafe *l* ile gösterilirken her çapraz köprünün bir aktin bağlanma bölgesinin (*-l/2,l/2*) aralığındaki mesafesinde bulunduğu varsayılmıştır. İntegral katsayısı

($C = msk_{cb}/2l$) kasılma biriminin mikro seviyedeki yapısal bir özelliğidir ve deneysel olarak tespit edilebilmektedir. Model çıktıları olarak kabul edilen (3.7) ve (3.8) denklemlerindeki bağımsız değişken ve hız çoğunlukla bağlanma mesafesi (h) ile normalize edilmiş formda kullanılmaktadır. Buna göre normalizasyon işlemi ($\xi=(s-\delta)/h$ ve $\bar{v} = v/h$) gerçekleştirildiğinde bünye ve gerilme denklemleri sırasıyla (3.9) ve (3.10) denklemleri ile gösterilen formda elde edilmektedir:

$$\frac{\partial n(\xi,t)}{\partial t} - \bar{v}\frac{\partial n(\xi,t)}{\partial \xi} = f(\xi)(1-n(\xi,t)) - g(\xi)n(\xi,t) \tag{3.9}$$

$$\sigma(t) = \frac{msh^2}{2l}\int_{-\infty}^{+\infty} n(\xi,t)\xi d\xi \tag{3.10}$$

Tek değişkenli adi diferansiyel denklemin (3.9) çözümünde periyodik sınır koşulları uygulanmış ve denge konumundan belli bir değerdeki uzaklıklarda bağlı çapraz köprü bulunmadığı kabul edilmiştir. Böylece denge konumunun hem sağında hem solunda belli uzaklıklarda çapraz-köprülerin bağlanma olasılıkları sıfır olarak kabul edilmiştir. Pratik olarak sayısal çözümde ξ_{ilk} ve ξ_{son} x-eksenindeki bağlanma bölgesinin sınır değerlerini ifade etmek üzere bu varsayımlar $n(\xi_{ilk},t)=0$ ve $n(\xi_{son},t)=0$ olarak uygulanmıştır.

Denklem (3.9) çözülerek bağlı çapraz-köprü dağılımının hesaplanabilmesi için gerekli oran fonksiyonlarının normalize edilmiş formdaki gösterimleri denklem (3.11) ve (3.12)'de verilmiştir:

$$f(\xi) = \begin{cases} 0, & \xi < 0 \\ f_1\xi, & 0 \le \xi \le 1 \\ 0, & \xi > 1 \end{cases} \tag{3.11}$$

$$\mathrm{g}(\xi) = \begin{cases} g_2, & \xi \le 0 \\ g_1\xi, & \xi > 0 \end{cases} \tag{3.12}$$

Modelde kullanılan parametreler için seçilen sayısal değerler öncelikle modelin diğer modellerle uyumlu olup olmadığının doğrulanması açısından literatüre uygun olarak seçilmiştir (Tablo 3.1). Doğrulama amacıyla kullanılan parametre değerleri modelden elde edilen nominal sonuçların değerlendirilmesi için gereklidir [91, 92].

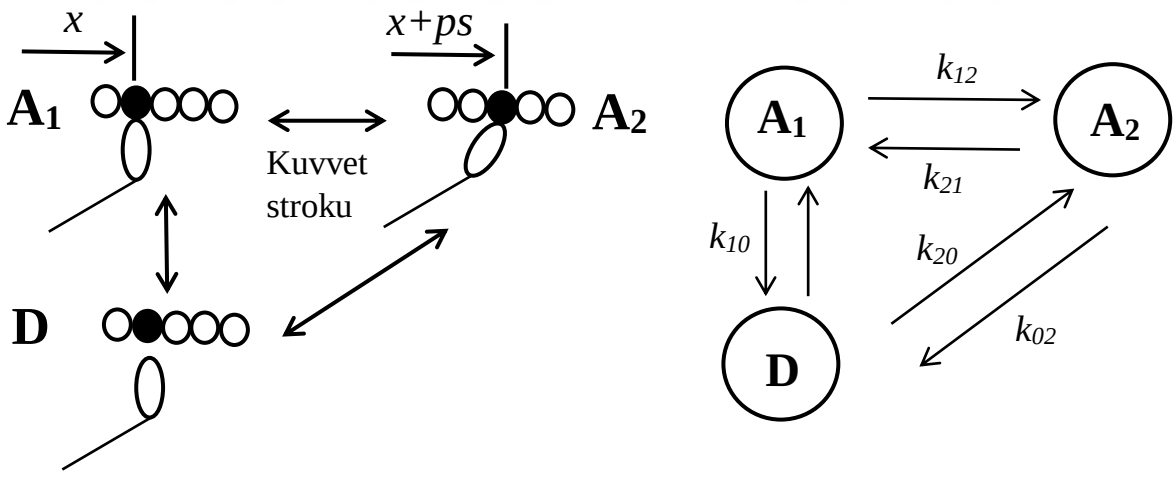
Tablo 3.1. İki-durumlu çapraz-köprü modeli simülasyonlarında kullanılan parametrelere ait sayısal değerler.

Parametreler	**Nominal sonuçlar için sayısal değerler**	**Deneysel veriler için iyileştirilmiş değerler**	**Birim**
f_1(bağlanma oran katsayısı)	43.3	1.32	s^{-1}
g_1(çözülme oran katsayısı)	10.0	0.25	s^{-1}
g_2(çözülme oran katsayısı)	209.0	12	s^{-1}
h(bağlanma mesafesi)	1	12.5	nm
Δx(deplasman adımı)	0.05	0.5	nm
Δt(zaman adımı)	0.005	0.05	s
v(kasılma hızı)	±10	+115	nm/s

Model parametreleri, başlangıç ve sınır şartları kullanılarak (3.9) denkleminin Runge-Kutta (ODE12) metodu ile integrasyonu yapılarak simülasyonlar gerçekleştirilmiştir. Simülasyon başlangıcında tüm çapraz-köprü popülasyonunun çözülme durumunda olduğu, çapraz-köprülerin konum ekseninde uniform biçimde dağıldıkları kabul edilmiştir. Simülasyonlar izometrik, konsantrik ve eksantrik kasılma durumları için çalıştırılmıştır. Bağlı çapraz-köprü dağılımları bütün deplasman değerleri için Δx aralıkları ile ayrı ayrı hesaplanmıştır. Dinamik simülasyonlar için zaman adımları (Δt) kasılma hızı ($v=\Delta x/\Delta t$) ile uyumlu olacak şekilde seçilmişlerdir. İki durumlu model için çözüm algoritmasını içeren bir örnek kod Ek-1'de sunulmuştur.

3.2. ÜÇ DURUMLU (THREE-STATE) ÇAPRAZ KÖPRÜ MODELİ

Kasılma biriminin gerçekleştirdiği kuvvet üretimi aktomiyozin ve ATP etkileşimi yoluyla gerçekleşmektedir ve modellerde de bu etkileşimler göz önüne alınmaktadır. Kasların en alt birimi olan sarkomer için tasarlanan modelde çapraz-köprülerin gerçekleştirdikleri kimyasal ve mekanik çevrimler matematiksel olarak ifade edilmektedir. Kas kuvveti, model simülasyonlarında dikkate alınan çapraz-köprü popülasyonunun ürettiği toplam kuvvet biçiminde hesaplanmaktadır. Bu sebeple modifiye edilen Huxley tipi modeller kas kuvvetinin simülasyonunu dinamik kasılma koşulları için gerçekleştirmek amacıyla kullanılmıştır. Üç durumlu çapraz-köprü modelinde temel varsayım, kuvvet çevriminde iki bağlanma durumu ve bir çözülme durumu olmasıdır. Modelde $D(0)$ çözülme durumunu, $A_1(1)$ ve $A_2(2)$ ise bağlanma durumlarını göstermektedir (Şekil 3.2). Kuvvet üretiminin esasını meydana getiren kuvvet stroku $A_1 \rightarrow A_2$ geçişi ile sağlanmaktadır. Her bir geçiş aracılığıyla miyozin başının konfigürasyonunda değişiklik meydana gelmektedir ve kuvvet stroku sonunda miyozin başının S1 bölümünde *ps* kadar elastik uzama gerçekleştiği kabul edilmektedir. Durumlar arası geçişler oran fonksiyonları ile gösterilmiş ve her bir durum arasında deneysel veri ile uyum sağlayacak kadar geçiş meydana geldiği kabul edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Çapraz-köprü çevrimi ve oran fonksiyonları: Bağlı (A_1 ve A_2 - attachment) ve ayrık (D-detachment) durumları ve geçişleri gösteren oran fonksiyonları.

Bağlanma durumları kendi içerisinde zayıf ve güçlü bağlı olarak farklı karakterdedir [93]. Sarkomer içerisindeki çapraz-köprü popülasyonunda kuvvet stroku öncesinde bulunanların zayıf bağlantı yaptıkları ve hem çözülme hem de kuvvet stroku gerçekleştirebilecek bir konfigürasyonda oldukları kabul edilmiştir. Durumlar arasındaki geçiş her bir çapraz-köprü durumu için belirlenen enerji seviyelerine bağlı olarak gerçekleşmektedir (Şekil 3.3). Buna göre

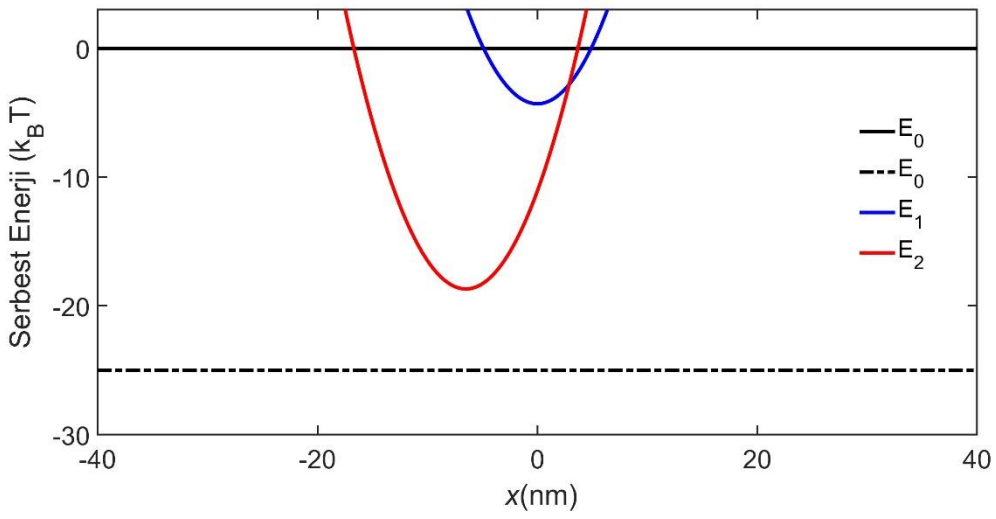
kasılma esnasında filamanların hareketi ile bağlı bir çapraz-köprünün enerjisi kuvvet stroku boyunca düşerek bu serbest enerjinin kuvvete dönüştürüldüğü varsayılmıştır. Modelde referans alınan enerji seviyeleri çapraz-köprü pozisyonlarına bağlı olmak üzere matematiksel biçimde ifade edilmiştir:

$$E_0(x) = 0 \tag{3.13}$$

$$E_1(x) = E_{1,\min} + k_{cb}x^2 \tag{3.14}$$

$$E_2(x) = E_{2,\min} + k_{cb}(x + ps)^2 \tag{3.15}$$

Denklem (3.13), (3.14) ve (3.15)'te *ps*, *x* ve k_{cb} sırasıyla kuvvet strokunu, çapraz-köprü pozisyonunu ve katılığını göstermektedir. E_0, E_1 *ve* E_2 sırasıyla $A_1(1)$, $A_2(2)$ ve $D(0)$ durumları için belirlenen serbest enerji sevileridir. $E_{1,min}$ ve $E_{2,min}$ parametreleri de sırasıyla birinci ve ikinci durum için minimum enerji seviyelerini ifade etmektedir. k_B Boltzmann sabiti ve *T* mutlak sıcaklık olmak üzere bağlı çapraz-köprülerin k_{cb}=0.18 k_BT büyüklüğünde ve lineer elastik oldukları kabul edilmiş ve buna bağlı olarak kuvvet stroku *ps*=6.5 nm olarak belirlenmiştir. Çapraz-köprü çevriminde $D \rightarrow A_1 \rightarrow A_2$ doğrultusunda gerçekleşen geçişler birbirini takip eden çevrimler ile sürdürülmektedir.



Şekil 3.3. Durumlar için serbest enerji diyagramı: Bağlı (A_1 ve A_2 - attachment) ve çözülmüş (*D*-detachment) durumlar için belirlenen enerji seviyeleri.

Ardışık çevrimlerin çözülme durumlarındaki minimum enerji seviyeleri arasındaki fark 25 k_BT büyüklükte kabul edilmiştir. Çevrim aracılığıyla kasılma esnasında çapraz-köprü hareketi

birinci serbest enerji seviyesinden bir sonraki serbest enerji seviyesine kadar $E_0 \rightarrow E_1 \rightarrow E_2$ doğrultusunda gerçekleşmektedir. Serbest enerji seviyeleri referans alınan deneysel kas kuvveti verileri ile uyumlu olacak şekilde seçilebilmektedir.

Bir çapraz-köprünün bağlı durumlardan herhangi birinde iken sahip olduğu serbest enerji ve pozisyon bir sonraki duruma geçişi üzerinde etkili olmaktadır [94]. Durumlar arası çapraz-köprü geçişini düzenleyen oran fonksiyonları durumların serbest enerji seviyelerinden faydalanarak aşağıdaki şekilde belirlenebilmiştir:

$$k_{01}(x) = \beta_{01} \exp(-\alpha_{01} \frac{k_{cb} x^2}{2}) \tag{3.16}$$

$$k_{10}(x) = \begin{cases} \beta_{10} + \alpha_{10,a} x^2, & x \geq 0 \\ \beta_{10} + \alpha_{10,b} x^2, & x < 0 \end{cases} \tag{3.17}$$

$$k_{12}(x) = \alpha_{12} \frac{1}{1 + \exp(-k_{cb}\, ps(-x - ps/2))} \tag{3.18}$$

$$k_{21}(x) = \beta_{21} + \alpha_{21} \frac{\exp(-k_{cb}\, ps(-x + ps/2))}{1 + \exp(-k_{cb}\, ps(-x + ps/2))} \tag{3.19}$$

$$k_{20}(x) = \begin{cases} \beta_{20} + \alpha_{20}(x + ps), & x \leq ps \\ \beta_{20}, & x > ps \end{cases} \tag{3.20}$$

$$k_{02}(x) = k_{20}(x) \exp(E_0 - E_2) \tag{3.21}$$

Yukarıda matematiksel olarak ifade edilen (3.16), (3.17), (3.18), (3.19), (3.20) ve (3.21) denklemlerinde k_{ij} ile gösterilen oran fonksiyonlarında ileri geçişler $i \rightarrow j$ doğrultusunda ifade edilirken kullanılan α ve β parametreleri fonksiyon sabitleridir. Oran fonksiyonlarının oluşturulmasında $0 \rightarrow 1$ doğrultusunda bağlanma gözönüne alınmıştır. Kuvvet strokunda ileri ve geri oran fonksiyonları için Slawnych tarafından önerilen yaklaşım benimsenmiştir [95]. Çevrimdeki son geçişler olan k_{20} ve k_{02} için oran fonksiyonlarının aşağıdaki gibi verilen Gibbs denklemine uyumlu olması sağlanmıştır:

$$\frac{k_{ij}(x)}{k_{ji}(x)} = \exp\left(\frac{E_i(x) - E_j(x)}{k_B T}\right) \tag{3.22}$$

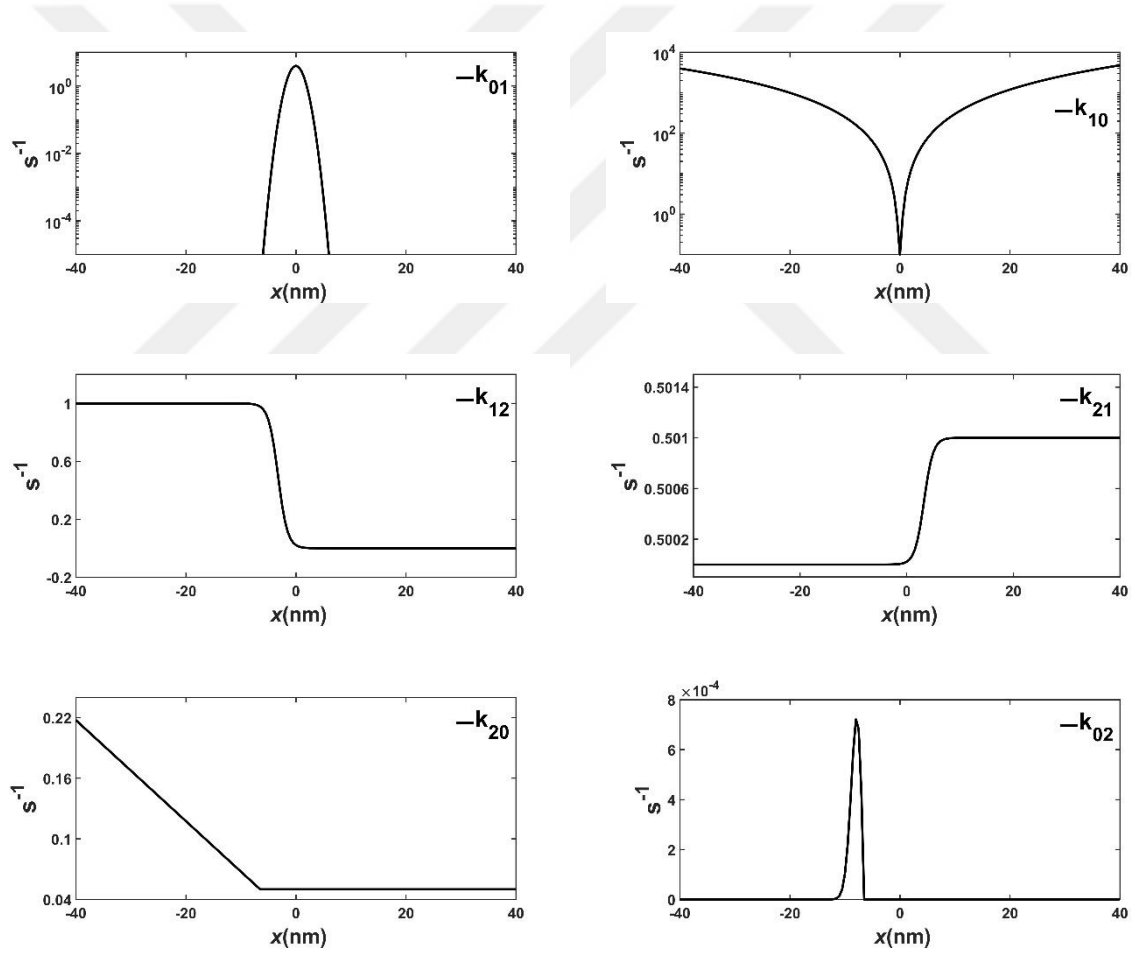
Model simülasyonunda kullanılmak üzere oran fonksiyonları için seçilen parametrelerin sayısal değerleri deneysel veri seti ile uyum gösterecek şekilde seçilmiştir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Üç-durumlu çapraz-köprü modeli simülasyonlarında kullanılan parametreler ve sayısal değerleri

Parametreler		**Deneysel veriler için iyileştirilmiş değerler**	**Birim**
Minimum enerji(A_1)	$E_{1,min}$	-4.3	k_BT
Minimum enerji(A_2)	$E_{2,min}$	-18.68	k_BT
Oran sabitleri	α_{01}	2	nm^{-1}
	$\alpha_{10,a}$	3	$nm^{-1}s^{-1}$
	$\alpha_{10,b}$	2.5	$nm^{-1}s^{-1}$
	α_{12}	1	s^{-1}
	α_{21}	0.001	s^{-1}
	α_{20}	0.005	$nm^{-1}s^{-1}$
	β_{01}	4	s^{-1}
	β_{10}	1	s^{-1}
	β_{21}	0.5	s^{-1}
	β_{20}	0.05	s^{-1}
Sıcaklık	T	288	K
Boltzmann sabiti	k_B	$1{,}38 \times 10^{-23}$	J/K

Deplasman adımı	Δx	0.5	nm
Zaman adımı	Δt	0.05	s

Çapraz-köprülerin durumlar arasındaki geçişlerini belirleyen oran fonksiyonları çapraz-köprülerin elastik uzamaları ve kısalmaları üzerinde belirleyicidir. Konum ve pozisyona bağlı olan fonksiyonlar için sabitler literatürde çok amaçlı optimizasyon teknikleri ile belirlenebilirken, mevcut çalışmada deneysel çıktılara en yüksek uygunluk sağlayan sabit setleri kullanılmıştır. Seçilen parametreler dikkate alındığında oran fonksiyonları aşağıdaki gibi elde edilmektedir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Durumlar arasındaki geçişler için belirlenen oran fonksiyonlarının grafiksel gösterimi.

Modelde iki bağlanma durumu öngörüldüğü için toplam kas cevabının hesaplanabilmesi amacıyla bağlı durumlardaki çapraz-köprü dağılımlarının hesaplanması gereklidir. Kasılmanın

herhangi bir anında birinci ve ikinci bağlı durumlardaki çapraz-köprü dağılımlarının bulunabilmesi için bünye denklemleri aşağıda verildiği gibi oluşturulmuştur:

$$\frac{\partial a_1(x,t)}{\partial t} = k_{01}(x)d(t) + k_{21}(x)a_2(x,t) - (k_{10}(x) + k_{12}(x))a_1(x,t) - v\frac{\partial a_1(x,t)}{\partial x} \tag{3.23}$$

$$\frac{\partial a_2(x,t)}{\partial t} = k_{02}(x)d(t) + k_{12}(x)a_1(x,t) - (k_{20}(x) + k_{21}(x))a_2(x,t) - v\frac{\partial a_2(x,t)}{\partial x} \tag{3.24}$$

$$\frac{\mathrm{d}d(t)}{\mathrm{dt}} = \int_{-\infty}^{+\infty} [k_{10}(x)a_1(x,t) + k_{20}(x)a_2(x,t) - (k_{01}(x) + k_{02}(x))d(t)]\,\mathrm{dx} \tag{3.25}$$

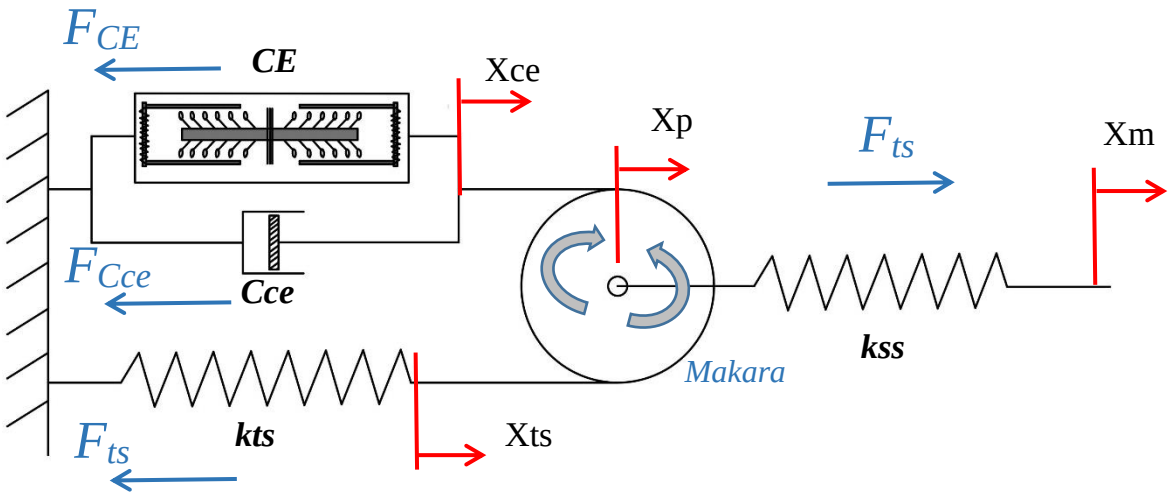
Model için tanımlanan durumlar arası matematiksel ilişkinin bünye denklemleri ile kurulması model parametrelerinin kullanılarak simülasyonların gerçekleştirilmesine imkân sağlamaktadır. Başlangıç ve periyodik sınır şartları uygulanarak bünye denklemlerinin sayısal çözümleri Runge-Kutta (ODE12) metodu ile gerçekleştirilmiştir. İzometrik kasılmanın başlangıcında tüm çapraz-köprülerin çözülmüş halde bulundukları varsayılmıştır. Serbest çapraz-köprülerin x=-2.5 nm ve x=2.5 nm arasında uniform dağılım gösterdikleri kabul edilmiştir. Simülasyonlar Tablo 3.2'de gösterilen zaman ve deplasman adımları kullanılarak izometrik ve eksantrik uzama kasılmaları için gerçekleştirilmiştir. Her iki bağlı çapraz-köprü popülasyonu için de dağılımlar uzama ekseni boyunca Δx aralıklı noktalar için her zaman adımında tekrarlı biçimde hesaplanmıştır.

$$\sigma(t) = C(\int_{-\infty}^{+\infty} A_1(x,t)k_{cb}x dx + \int_{-\infty}^{+\infty} A_2(x,t)k_{cb}x dx) \tag{3.26}$$

Belirlenen bağlı çapraz-köprü durumlarında bulunan popülasyonun tespiti aracılığıyla toplam çapraz-köprü kaynaklı kas kuvveti (3.26) denklemi çözülerek hesaplanabilmektedir. Miyofilamanların birbirlerine göre hareketleri esnasında değişim gösteren bağlı çapraz-köprülerin doğrultu boyunca ürettikleri toplam kuvvet, model cevabı olarak referans alınmaktadır.

3.3. TITIN MODELİ

Çapraz-köprü modellerine entegre edilmek üzere kurulan titin modelinde sarım filaman yaklaşımı referans alınmıştır [43, 96]. Sarım filaman modelinin mekanik olarak içerdiği elemanlar kasılma birimi, viskoz damper, paralele elastik yay, hem dönme hem öteleme yapabilen bir kasnak ve bir seri elastik elemandan meydana gelmektedir (Şekil 3.5). Kasılma birimi, aktin-miyozin etkileşimini içeren aktif birimdir ve paralelindeki viskoz damper ile faaliyet gösterir. Çapraz-köprü etkileşimini ifade eden kasılma birimi (CE) titin etkisini gösteren ve k_{ts} katılığına sahip paralel elastik elemana makara aracılığıyla bağlıdır.



Şekil 3.5. Sarım Filaman Titin Modeli [43, 96].

Sarım filaman modeline göre çapraz-köprüler ince filamanı hem döndürmekte hem de doğrusal biçimde hareket ettirmektedir. Bu sebeple titinin aktin filaman üzerine sarımı ile izometrik kasılma esnasında potansiyel enerji depolanmaktadır. Titin ve çapraz köprü bağlantısı makarada merkezinde ortaya çıkan moment ve makaranın yer değiştirmesi (X_p) ile sağlanmaktadır. Bağlantı elemanı olarak sistemde yer bulan makara kütlesiz kabul edilmiştir. Modelde yer alan elemanlardan kasılma birimi bir lineer motor gibi yer değiştirir (X_{ce}) ve (F_{ce}) aktif kuvveti ile kuvvet-uzunluk davranışına uygun çalışır. Damper elemanı (C_{ce}) kuvvet-hız ilişkisini ifade ederken kasılma esnasında ürettiği kuvvet Fc_{ce} ile gösterilmiştir. Paralel elastik eleman olarak kabul edilen titin de (X_{ts}) yer değiştirmesi için (F_{ts}) kuvveti üretmektedir. Seri elastik eleman sistemde tendon, aponörosis ve diğer elastik elemanları ifade etmektedir ve (X_m) yer değiştirmesi gerçekleştirmektedir.

Makara merkezi için dönme ve öteleme denklemleri sırasıyla (3.27) ve (3.28) olarak gösterilmişlerdir:

$$F_{ce} + c_{ce}\dot{X}_{ce} = k_{ts}X_{ts} \tag{3.27}$$

$$\dot{X}_{ce} = \frac{k_{ts}(X_m - X_p) - F_{ce} - k_{ts}X_{ts}}{c_{ce}} \tag{3.28}$$

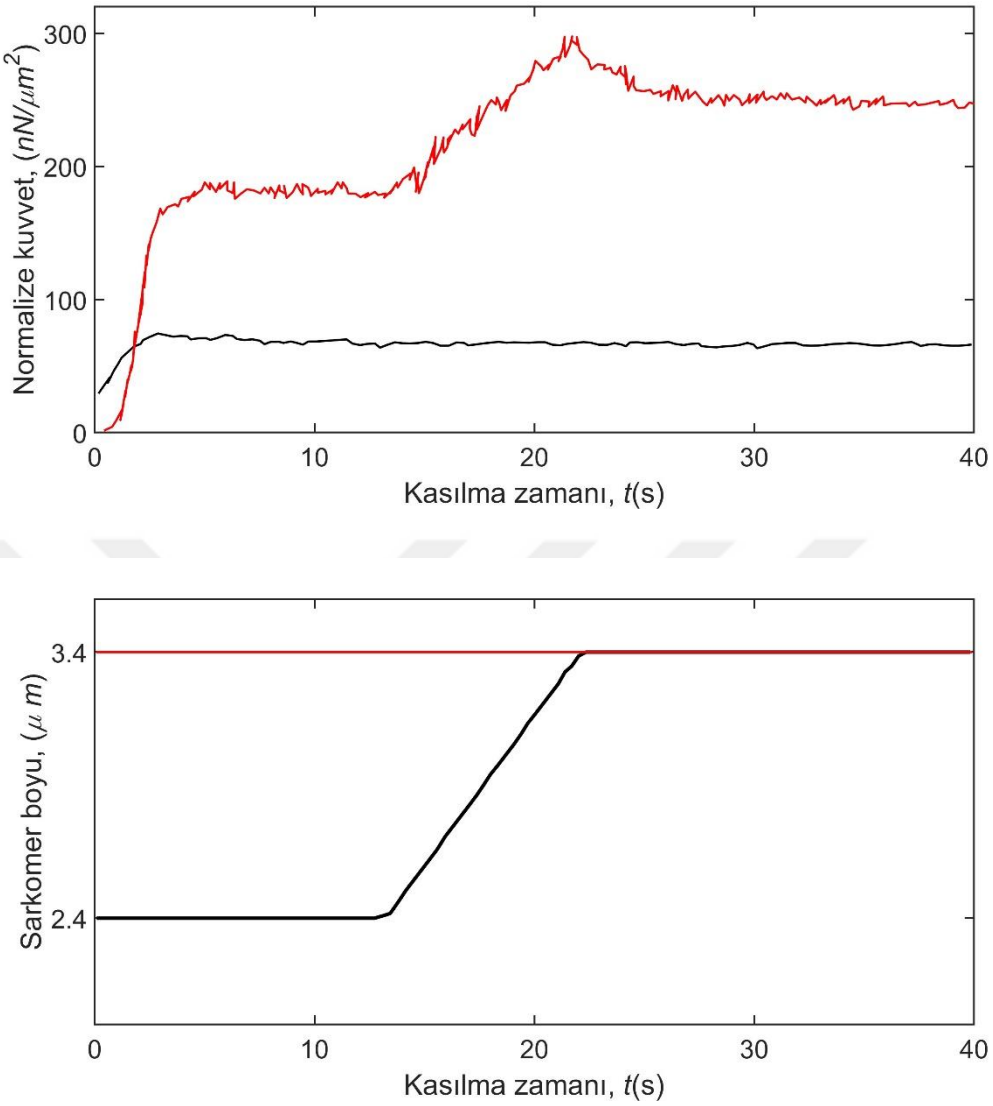
Her iki ifadenin süperpozisyon yöntemi ile kullanılarak kas kuvvetinin matematiksel gösterimi aşağıda denklem (3.29) ile ifade edilmektedir:

$$F_m = \frac{k_{ss}(X_m - X_p) - F_{ce} - k_{ts}X_{ts}}{c_{ce}} \tag{3.29}$$

Modelde aktif kuvvetler iki-durumlu ve üç-durumlu çapraz-köprü modelinden elde edilerek sarım filaman metoduna girdi olarak beslenmiştir. Böylece toplam kas kuvveti içerisinde aktif kuvvete bağımlı bir titin kuvveti elde edilebilmektedir.

3.4. DENEYSEL VERİLER

Titin entegre edilmiş çapraz-köprü modellerinin performanslarının değerlendirilmesi için kullanılan deneysel veri seti literatürden sağlanmıştır [80]. Deneysel verilerin elde edildiği düzenek, sarkomerin uzunluk kontrollü aktivasyon ve kuvvet testlerinin yapılabildiği bir sistemdir Kullanılan veride bir sarkomer için kuvvet-zaman ve uzunluk-zaman ölçümleri bulunmaktadır. Çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde ”kuvvet” ifadesi normalize kas kuvveti (veya normalize kuvvet) yerine kullanılmış olup kas kesitinde meydana gelen kas kuvvetini ifade etmektedir ve deneysel öçümlerde birimi $nN/\mu m^2$ ile gösterilmiştir [22,80].



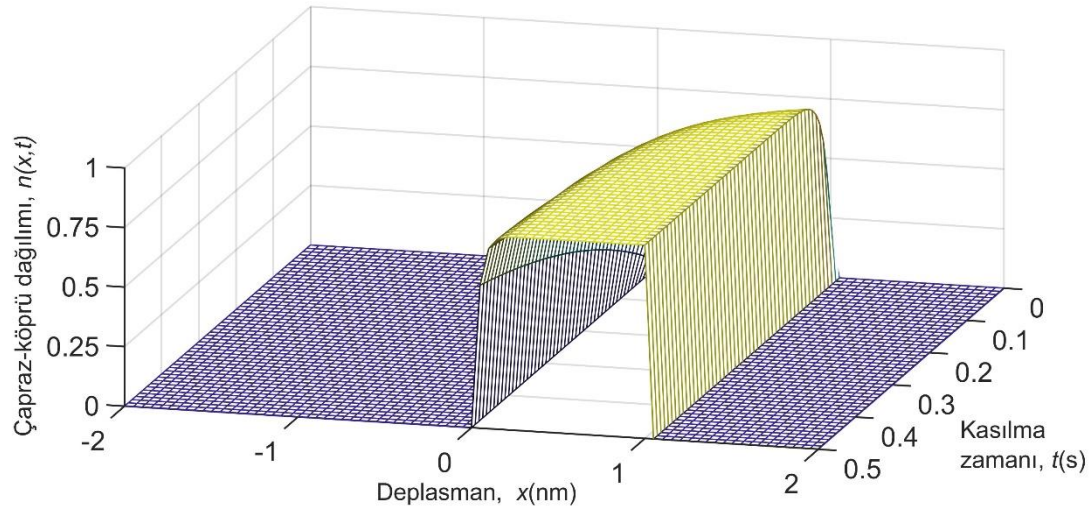
Şekil 3.6. Model performanslarının değerlendirilmesi için kullanılan deneysel veri [80].

Deneysel prosedüre göre bir miyofibril içinden, z-diskinden bir ucu cam iğne ile diğer ucu da özel-üretilmiş nano boyuttaki bir konsol ile sabitlenen sarkomer çıkarılmaktadır. Sarkomer uzunlukları Axiovert 200M, Zeiss marka mikroskop ile ölçülmüş ve yüksek çözünürlüklü kamera (6.7 nm/pixel, model SK10680 DJR) ile takip edilmiştir. Tavşan psoas kaslarından elde edilen sarkomerler dissekte edilmiştir. Alınan örnekler rigor solüsyonu içinde 14 gün boyunca -20^o 'de tutulmuştur. Deney esnasında numuneler önce ATP içeren düşük kalsiyum solüsyonunda tutulduktan sonra yüksek kalsiyum kullanılarak aktive edilmişleridir. Ölçülen sarkomer kuvvetleri sarkomer kesit alanına bölünerek normalize edilmiştir.

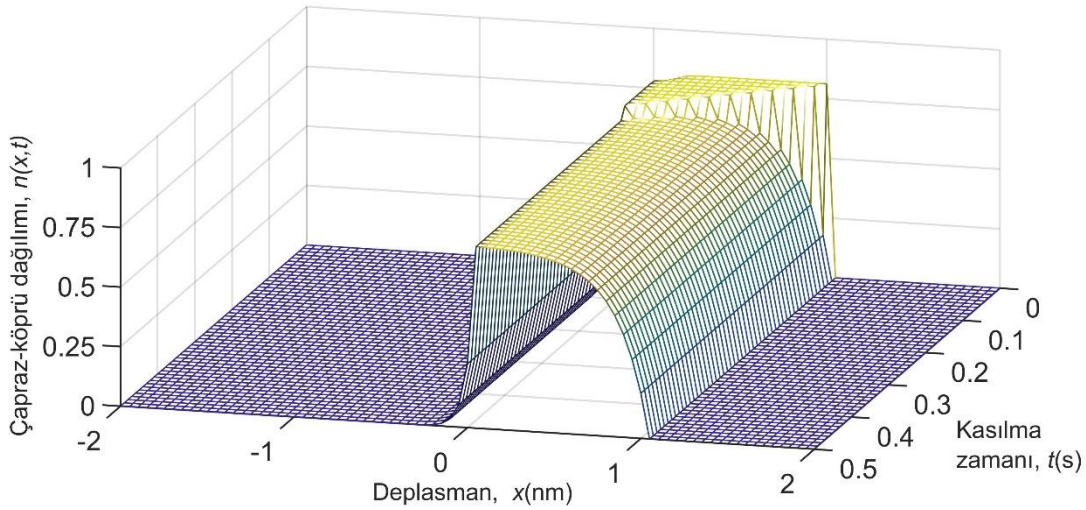
4. BULGULAR

İzometrik, eksantrik ve konsantrik kasılma durumları için iki-durumlu model aracılığıyla bağlı durumda bulunan (attached) çapraz-köprü dağılımları ve kas kuvvetleri hesaplanmıştır. Nominal parametreler kullanılarak gerçekleştirilen simülasyonlara göre izometrik kasılmalarda bağlı çapraz-köprü oranı zamanla artarak belli bir değere yakınsamaktadır (Şekil 4.1). Eksantik kasılmalar için pozitif deplasman bölgesindeki çapraz-köprü popülasyonu zamanla artarken konsantrik kasılmada ise negatif deplasman bölgesine doğru çapraz-köprü hareketi gözlemlenmektedir. Dağılım sonuçları dikkate alındığında başlangıçta tamamı çözülmüş halde bulunan çapraz köprülerin izometrik aktivasyon ile *x=0-1 nm* arasında bağlanmış halde dağılım gösterdikleri ve maksimum dağılım değerlerinin *n(x,t)*=0.75 değerine yaklaştığı görülmektedir. İzometrik olarak aktive edilen kas biriminin konsantrik kasılmaya maruz bırakılması sonrası negatif deplasman bölgesine geçiş yapan çapraz köprüler görülmektedir. Aynı şekilde izometrik biçimde aktifleştirildikten sonra eksantrik kasılmaya maruz bırakılan kas birimindeki bağlı çapraz-köprü popülasyonu içinde *x=1 nm* değerinden daha büyük deplasmanlar gerçekleştirdikleri gösterilmiştir(Şekil 4.1).

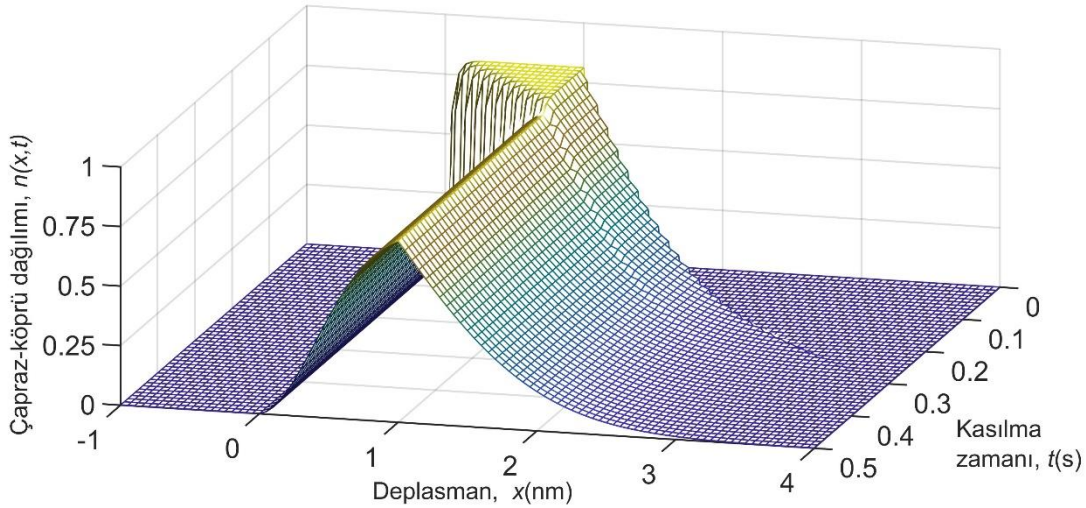
a)



b)

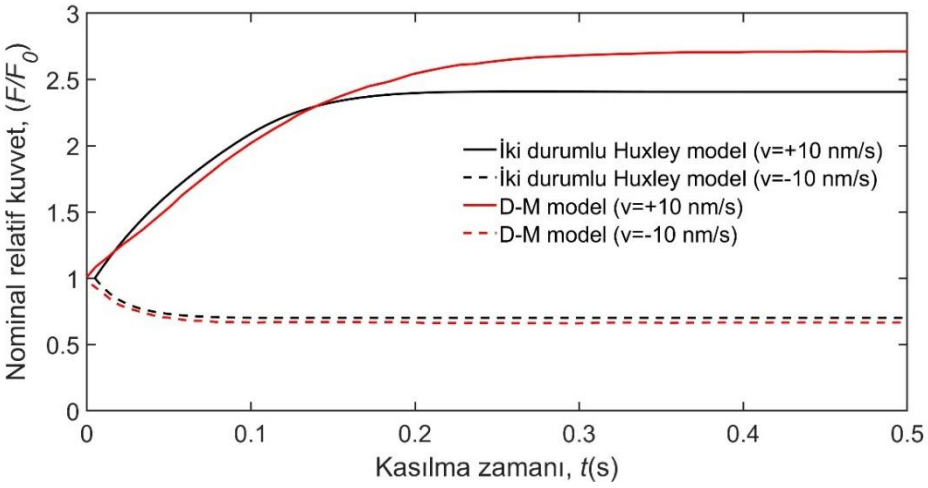


c)



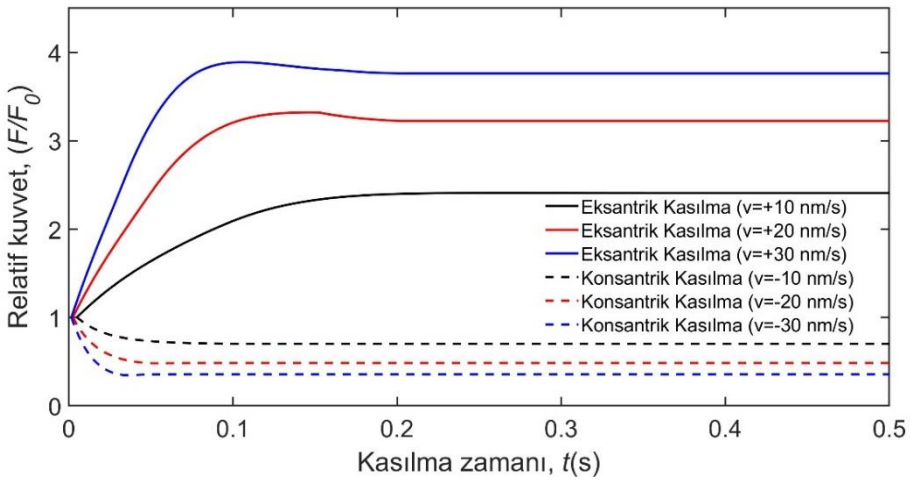
Şekil 4.1. İki-durumlu model için çapraz-köprü dağılım sonuçları: a) izometrik, b) konsantrik, c) eksantrik kasılma durumları.

Modelden elde edilen çapraz-köprü dağılımları kullanılarak kas kuvvetleri de hesaplanmıştır (Şekil 4.2). Kas kuvvetlerinin karşılaştırılabilmesi amacıyla aynı parametreleri referans alan ve Zahalak tarafından geliştirilen Dağılım-Moment(Distribution-Moment veya D-M) modelinden elde edilen kuvvetler hem eksantrik hem hem de konsantrik kasılma durumları için gösterilmiştir[27]. Modellerin kuvvet çıktılarını karşılaştırabilmek için anlık kuvvetlerin izometrik kuvvetlere bölünerek elde edilen nominal relatif kuvvetler hesaplanmıştır. Kuvvet cevaplarına göre iki durumlu model kararlı rejimde konsantrik kasılma için F/F_0=0.70 ve eksantrik kasılma için F/F_0=2.40 relatif kuvvet değerlerine ulaşırken aynı kasılma koşullarında D-M model ise konsantrik kasılma için F/F_0=0.66 ve eksantrik kasılma için F/F_0=2.70 değerlerine ulaşmaktadır (Şekil 4.2).



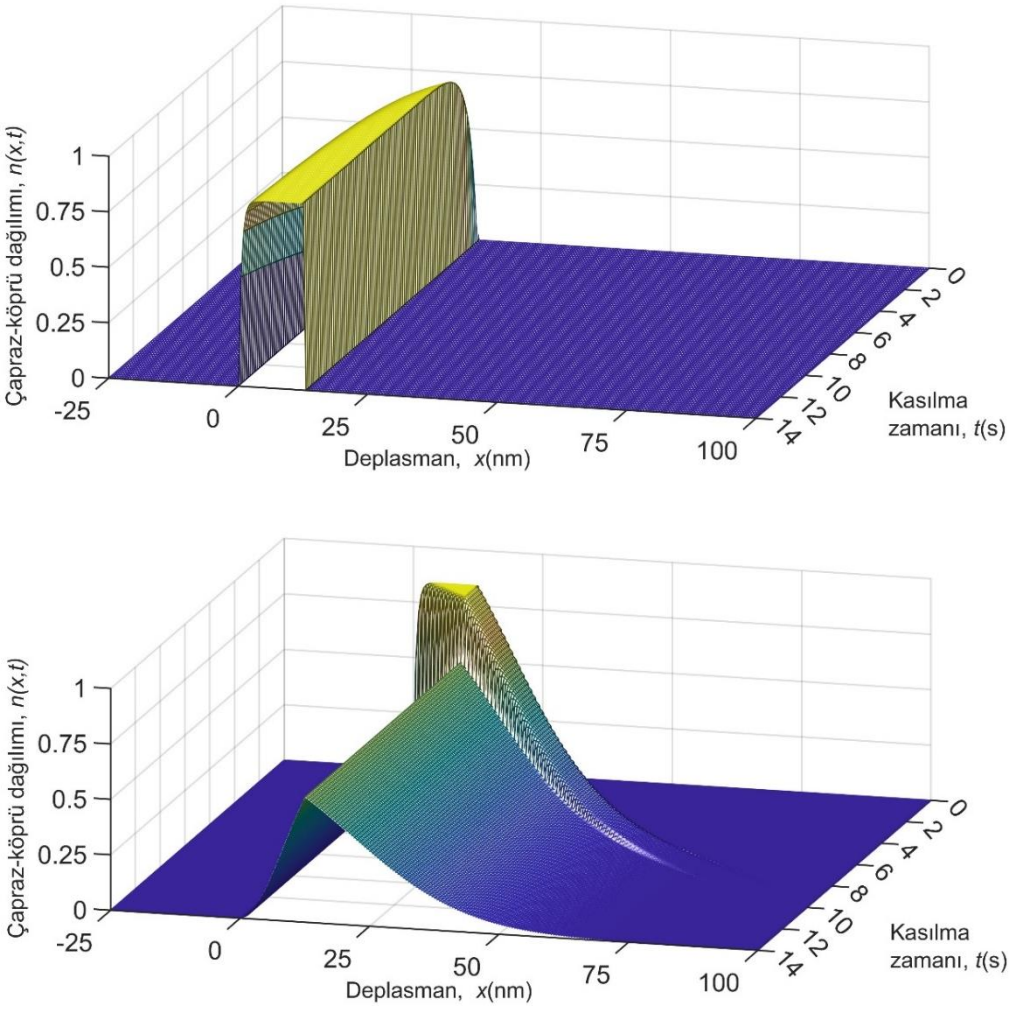
Şekil 4.2. İki durumlu modelden elde relatif kuvvetlerin Distribution-Moment (D-M) model, ile elde edilen relatif kuvvetlerle karşılaştırılması.

Kasılma hızının modelin kuvvet cevabına etkisi de modelin farklı kasılma hızlarına tabi tutulması ile ortaya çıkarılmıştır. İki durumlu modelin kuvvet cevaplarının kasılma hızı ile nasıl değiştiğinin anlaşılabilmesi amacıyla model simülasyonları eksantrik (v=+10, +20 nm/s, +30 nm/s) ve konsantrik kasılma koşulları (v=-10, -20 nm/s, -30 nm/s) için gerçekleştirilmiştir. Buna göre eksantrik kasılmada v=+10, +20 nm/s, +30 nm/s kasılma hızları için relatif kuvvet değerleri (F/F_0) sırasıyla 2.41, 3.22 ve 3.76 olarak bulunurken, konsantrik kasılmada v=-10, -20 nm/s, -30 nm/s kasılma hızları için sırasıyla 0.70, 0.48 ve 0.35 relatif kuvvet değerleri (F/F_0) elde edilmiştir(Şekil 4.3).



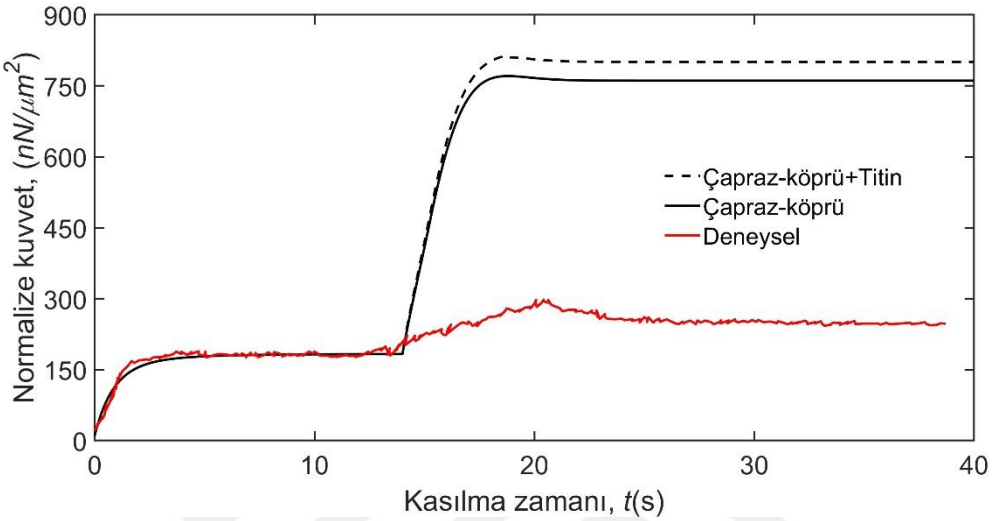
Şekil 4.3. İki durumlu modelin farklı kasılma hızlarındaki kuvvet cevapları (Eksantrik kasılma için v=+10, +20 nm/s, +30 nm/s ve konsantrik kasılma için v=-10, -20 nm/s, -30 nm/s).

İki durumlu modelin yanında, iki-durumlu model + titin modeli ile de kas kuvvetleri hesaplanmıştır. Sarım filaman modelini referans alan simülasyonlarda çapraz-köprü dağılımları yeniden hesaplanmıştır (Şekil 4.4). Modelin deneysel verilerle uyumunun gerçekleştirilmesi amacıyla Tablo 3.1'deki parametrelere ait sayısal değerler kullanılarak çözüm gerçekleştirilmiştir. Kas birimi (sarkomerin) izometrik aktivasyonu ve sonrasında uygulanan eksantik kasılma için dağılım ve kuvvetler hesaplanmıştır. Buna göre izometrik kasılma sonrası bağlı çapraz-köprülerin *x=0-13 nm* aralığında dağılım gösterdikleri ve *n(x,t)=0.84* maksimum bağlanma oranı meydana getirdikleri görülmektedir. Eksantrik kasılma boyunca çapraz-köprü dağılımlarındaki değişim sonucu *x=0-100 nm* aralığında deplasman gerçekeştirebilen bir popülasyon görülmektedir. Bu durumda kararlı rejim ulaşıldıktan sonra elde edilen maksimum bağlanma oranı *n(x,t)=0.56* olmuştur(Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Titin etkileşimli iki-durumlu modelden elde edilen çapraz-köprü dağılımları: İzometrik (üstte) ve eksantrik (altta) kasılma durumları.

Deneysel kuvvet cevapları ile model sonuçlarının karşılaştırılabilmesi için izometrik kasılma yaklaşık 14 saniye sürdürülmüş ve sonrasında aktif eksantrik uzama gerçekleştirilmiştir. Model simülasyonları deneysel işleme uygun olarak 14 saniye izometrik ve 26 saniye eksantrik kasılmalar olmak üzere toplam 40 saniyelik kasılma zamanı için yapılmıştır.

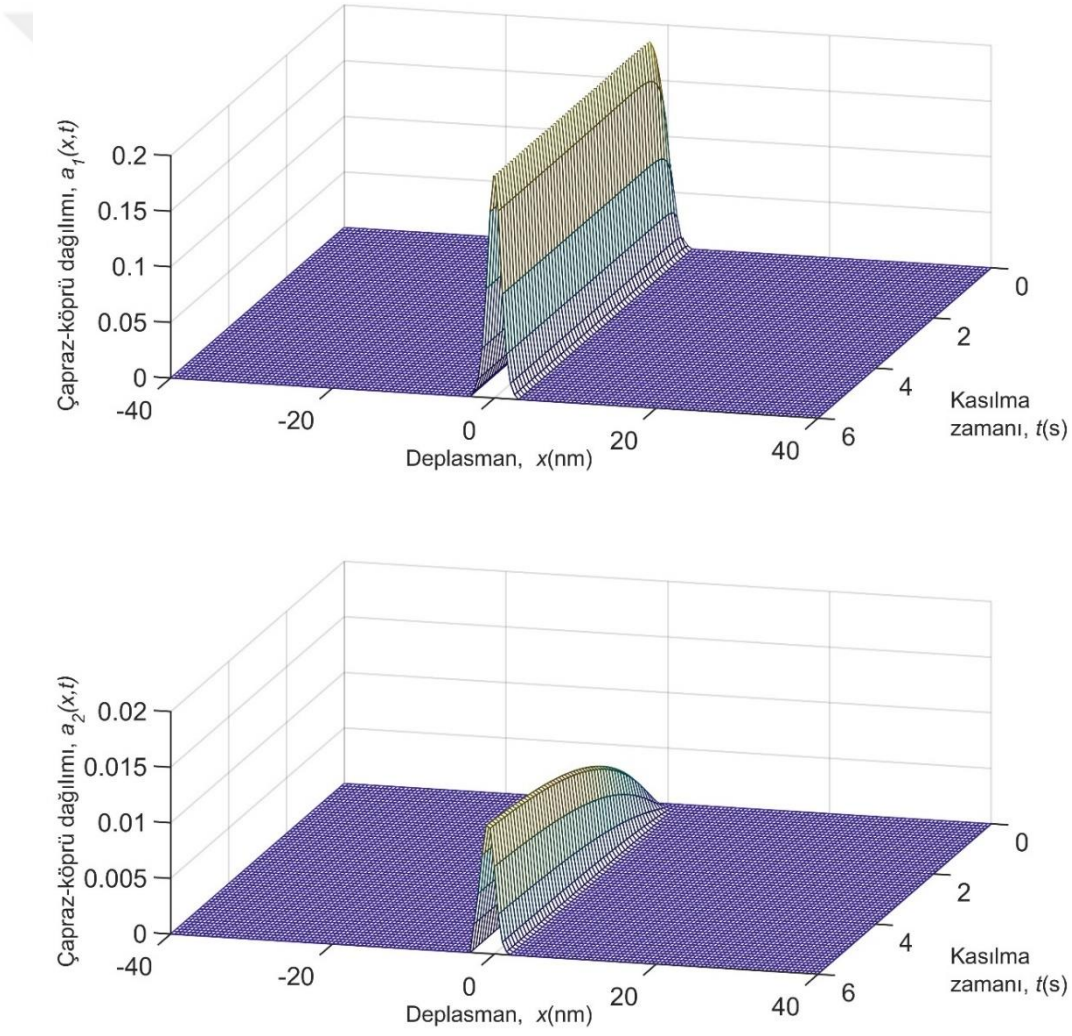


Şekil 4.5. Titin etkileşimli iki durumlu modelden elde edilen kuvvetlerin deneysel kuvvetlerle karşılaştırılması.

Normalize kuvvet sonuçlarına göre deneysel verilerle model cevapları arasında uyum yakalanamamıştır (Şekil 4.5). Modelde titin içermeyen durumdaki normalize kuvvet titin dahil edilen durumdaki normalize kuvvetten daha küçük olarak elde edilmiştir. Titinin çapraz-köprülere ek olarak ürettiği kuvvet simüle edilebilse de hem örüntü hem de büyüklük olarak farklılıklar görünmektedir. İzometrik durumda modelin normalize kuvvet cevapları ile deneysel sonuçlarda büyüklük ve örüntü bakımından uyum görünmekte ve her iki durum için de normalize kuvvet çıktısı için yaklaşık 184 $nN/\mu m^2$ değerine ulaşılmaktadır. Deneysel veri için geçici rejimde maksimum normalize kuvvet 294 $nN/\mu m^2$ ve kalıcı rejimde normalize kuvvet 245 $nN/\mu m^2$ büyüklüğündedir. Model cevapları açısından titinsiz ve titin içeren Huxley modelinde geçici rejimde sırasıyla 769 $nN/\mu m^2$ ve 811 $nN/\mu m^2$ normalize kuvvet değerine ulaşılırken, kalıcı rejimde ise 760 $nN/\mu m^2$ ve 800 $nN/\mu m^2$ değerlerine ulaşılmaktadır.

Üç durumlu çapraz-köprü modeli için tasarlanan yapıda da model için deneysel veri ile uyumlu olacak şekilde parametreler seçilerek kullanılmış ve çözümler elde edilmiştir. Farklı bağlanma durumlarında bulunan çapraz köprüler için izometrik kasılma durumunda popülasyon dağılımları hesaplanmıştır (Şekil 4.6). Bu popülasyonlara göre herhangi bir zaman anında ve

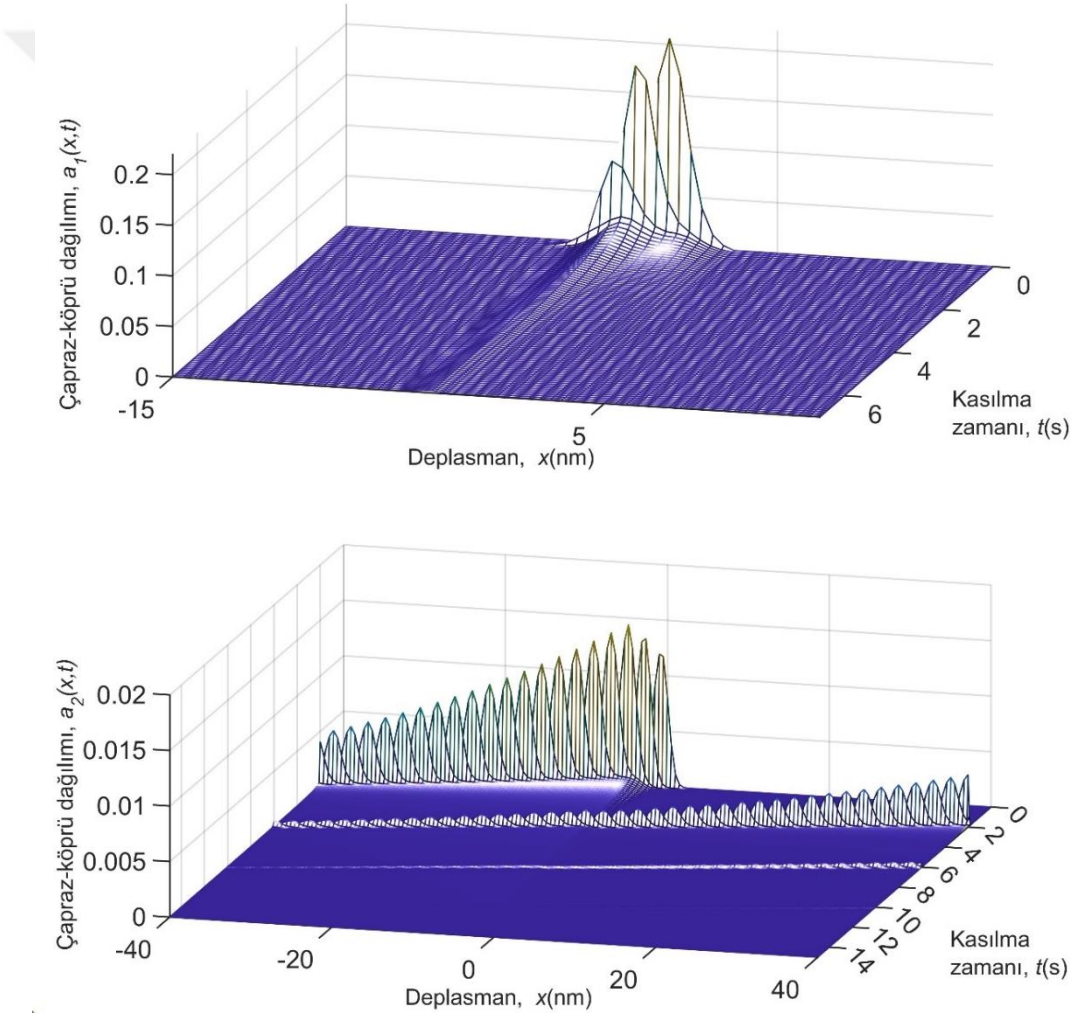
seçilen deplasmanda ne kadar oranda çapraz köprü bulunduğunu tespit etmek mümkün olmaktadır. Öncelikle kas biriminin izometrik kasılma esnasındaki cevapları araştırılmış ve kasılma süresince bağlı çapraz-köprü popülasyonlarının değişimi tespit edilmiştir. İzometrik kasıma için elde edilen dağılım sonuçlarına göre başlangıçta çözülmüş halde bulunan tüm çapraz köprü popülasyonu zamanla A_1 ve A_2 durumlarına geçiş yapmıştır. İzometrik kasılma 14 s'lik bir zaman periyodu için gerçekleştirilmiştir ancak kararlı rrejime geçişin görülmesi amacıyla 6 s'lik kısmı şekilde gösterilmiştir(Şekil 4.6). Kararlı rejimde A_1 ve A_2 durumları için çapraz-köprülerin x=-3 ve x=3 nm aralığında dağılım gösterdikleri gözlenmiştir. Maksimum bağlanma oranları, A_1 ve A_2 durumları için $A_1\ (x,t)=0.17$ ve $A_2\ (x,t)=0.012$ olarak elde edilmiştir.



Şekil 4.6. Üç durumlu modelin izometrik kasılmasında bağlı çapraz-köprü popülasyonları.

Üç durumlu modelin normalize kuvvet cevapları için gerçekleştirilen simülasyonlarda izometrik kasılma 14 s'lik bir zaman periyodu için sürdürülmüştür. Ancak kısa bir sürede her

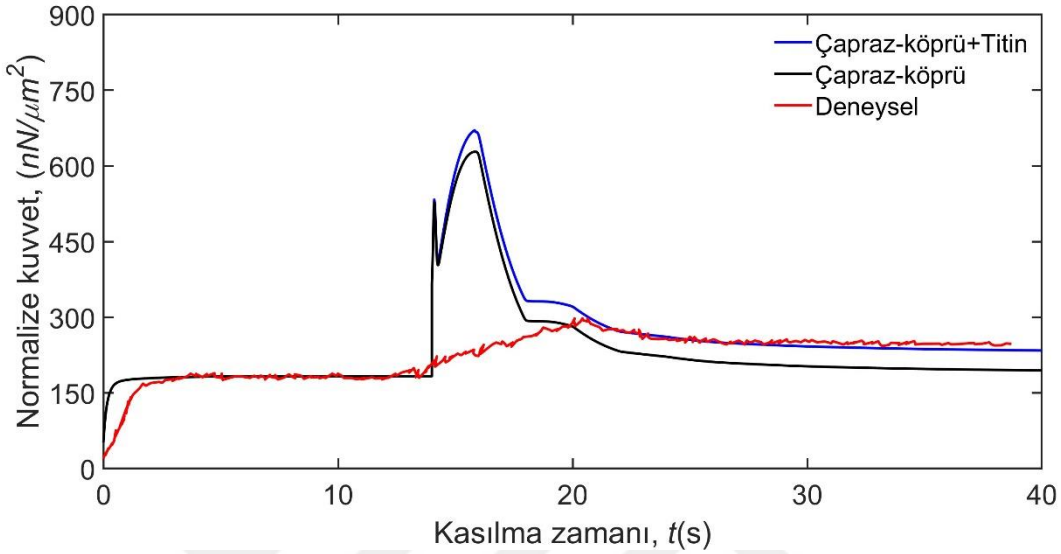
iki durumda kararlı duruma yakınsadığından dağılımların 6 s'lik kısmı, dağılımların değişiminin görülmesi amacıyla verilmiştir. İzometrik kasılmada her iki bağlı durumda da zamanla artış görülmektedir. Birinci bağlanma durumunda dağılımın ikinci bağlanma durumundaki dağılımdan yüksek olduğu gözlenmiştir. İzometrik kasılma ile kararlı duruma gelen bağlı çapraz köprü popülasyonları eksantrik uzamaya tabi tutulmuş ve eksantrik kasılma esnasında bağlı durumlardaki popülasyonların değişimleri gözlemlenebilmiştir (Şekil 4.7). Buna göre izometrik kasılma sonrası $A_1\,(x,t)=0.002$ ve $A_2\,(x,t)=0.012$ olarak elde edilen maksimum bağlı çapraz-köprü dağılım oranları zamanla düşüş göstererek $A_1\,(x,t)=0.17$ ve $A_2\,(x,t)=9.41x10^{-6}$ değerlerine gerilemiştir.



Şekil 4.7. Üç durumlu modelden eksantrik kasılma esnasında elde edilen çapraz-köprü dağılımlarındaki değişimler.

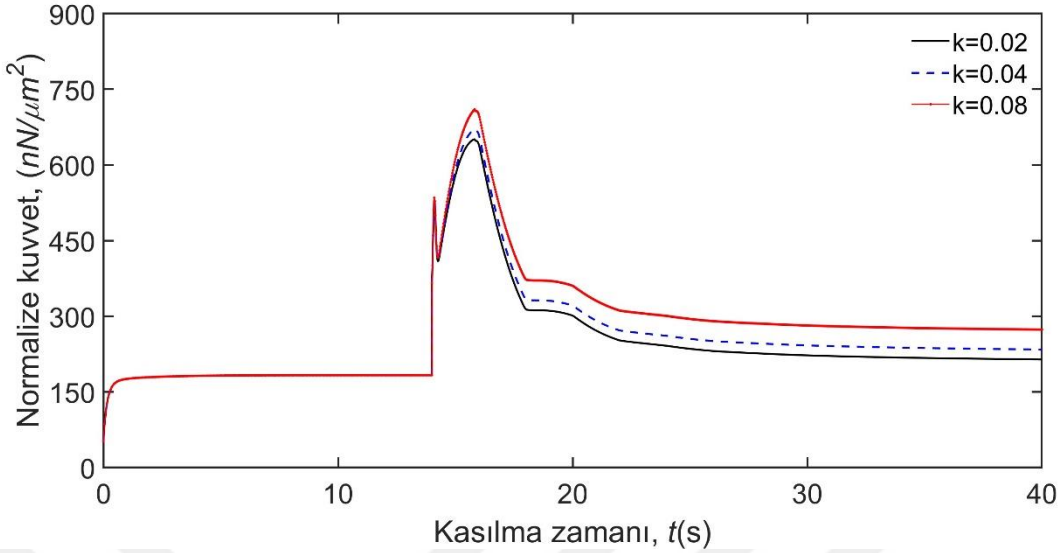
Eksantrik kasılma boyunca bağlı çapraz-köprülerin popülasyonlarında zamanla düşüş gözlenmiştir. Birinci bağlı durumda düzgün bir formda görülen düşüş ikinci bağlı durumda

oldukça düzensizdir. İzometrik kasılmaya paralel biçimde eksantik kasılma sonunda da birinci bağlı durumda bulunan çapraz-köprü popülasyonu ikinci bağlı durumdan oldukça yüksek görülmektedir.



Şekil 4.8. Titin etkileşimli üç durumlu modelden elde edilen kuvvetlerin deneysel kuvvetlerle karşılaştırılması.

Titin entegre edilmiş üç durumlu çapraz-köprü modelinin izometrik ve eksantrik kasılma durumları için normalize kuvvet cevabı deneysel veri ile karşılaştırılmıştır(Şekil 4.8). Model çıktısı olarak elde edilen kuvvet sonuçlarına göre izometrik kasılma için kuvvetler arasında uyum sağlanmıştır. İzometirk durumdaki maksimum normalize kuvvet kuvvet yaklaşık 184 $nN/\mu m^2$ büyüklüğündedir. Eksantrik kasılmada modelin gerilme sonuçları eksantrik uzamanın başlangıcında deneysel verilerden daha yüksek değerlere çıkmış ancak toplam kuvvet zamanla deneysel kuvvetin altına düşmüştür. Model cevapları açısından titinsiz ve titin içeren Huxley modelinde geçici rejimde sırasıyla 627 $nN/\mu m^2$ ve 665 $nN/\mu m^2$ normalize kuvvet değerine ulaşılırken, kalıcı rejimde ise 195 $nN/\mu m^2$ ve 235 $nN/\mu m^2$ değerlerine ulaşılmaktadır. Yalnızca çapraz-köprüler tarafından üretilen kuvvet ile titin kuvvetinin toplamı da deneysel kuvvetten daha düşük bulunmaktadır. Teorik kas kuvveti cevabı ile deneysel kuvvetlerin tepe noktaları arasındaki büyüklük farkı kararlı durumdaki deneysel kuvvetin yaklaşık iki katıdır. Ayrıca model ile deneysel kuvvet arasında maksimum kuvvete ulaşma süresi arasında da farklılık bulunmaktadır. Titin ile entegre edilerek çalıştırılan iki durumlu çapraz-köprü modeline göre üç durumlu modelden elde edilen kuvvet cevabının deneysel kuvvet örüntüsüne yaklaştığı görülmektedir.



Şekil 4.9. Titin katılığının(k) titin entegre edilmiş çapraz-köprü modelinin kuvvet cevabı üzerine etkisi.

Titin ve çapraz-köprü etkileşimini içeren üç durumlu modelde ayrıca titin parametrelerinden katılığın toplam kuvvete etkisi de araştırılmıştır. Bunun için titin entegre edilmiş üç durumlu çapraz-köprü modeli kullanılarak farklı titin katılık değerleri ile simülasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bunun için farklı katılık değerleri kullanılarak modelden toplam kas kuvveti cevapları aynı kasılma zamanları için elde edilmiştir (Şekil 4.8). Buna göre geçici rejimde k=0.02, k=0.02 ve k=0.02 nN/ μm değerleri için sırasıyla 651, 670 ve 710 $nN/\mu m^2$ normalize kuvvet değerine ulaşılırken, kararlı rejimde sırasıyla 214, 234 ve 273 $nN/\mu m^2$ değerleri elde edilmiştir. Titin katılığının arttıkça ortaya çıkan kuvvete titin katkısının ve toplam kas kuvvetinin arttığı görülmektedir.

5. TARTIŞMA

Huxley tipi modeller iskelet kaslarındaki kuvvet üretiminin sarkomer içindeki biyokimyasal ve mekanik süreçlere dayanarak simüle edilmesinde kullanılan matematiksel yaklaşımlardır. Kas modelleri kullanılarak kas kuvvetlerinin benzetimleri, kasılmadaki enerji değişimleri ve miyofilaman etkileşimleri gibi kasılmaya dair özelliklerin incelenmesi mümkün olmaktadır. Kayan filamanlar ve çapraz-köprü teorilerine dayanan modeller zamanla değişik sayıda durum içerecek hale gelse de temelde uzama veya kısalma altında aktin ve miyozinlerin gerçekleştirdiği çapraz köprülerin değişen oranına bağlı olarak ürettikleri kuvvetin hesaplanmasına dayanır[31, 87].

İskelet kaslarında deneysel olarak gözlemlenen ancak hem ortaya çıkış mekanizmaları hem de henüz kullanılan modellerde yalnızca aktin-miyozin gibi filamanların etkileşimlerinin gözönüne alınması dolayısıyla benzetimleri doğrulukla gerçekleştirilemeyen bir takım mekanik özellikler bulunmaktadır. Kasların geçmiş bağımlı kuvvet üretim karakteristikleri bu özelliklerden biridir. Kasların eksantrik uzama sonrası ürettikleri kuvvetin aynı boydaki izometrik kuvvetten büyük olması olarak bilinen kalıntı kuvvet artışı da bir geçmiş bağımlı özelliktir [22, 71].

Deneysel olarak kasın tüm alt birimlerinde gözlemlenen bu özelliğin açıklanabilmesi amacıyla bir takım mekanizmalar önerilmiştir. Bunların arasında titin gibi bir yapısal elemanın eksantrik kasılmada diğer aktif miyofilamanlar(aktin ve miyozin) ile etkileşimlerinin referans alındığı yaklaşım öne çıkmaktadır. Geleneksel çapraz-köprü yaklaşımında aktif kuvvet üreten çapraz-köprüler dışındaki tüm mikro yapıların pasif kuvvetler ürettikleri kabul edilmekteydi. Titin de bu yaklaşıma uygun olarak literatürde çoğunlukla diğer pasif elemanlar (endomizyum, perimizyum, sarkolemma vb) gibi modellenmiş ve kuvvet üretimine yalnızca pasif durumda katkı sağladığı öngörülmüştür [87,94]. Ancak kalıntı kuvvet artışlarının açıklanması amacıyla titinin bir üç filamanlı yaklaşım ile kasılma olayına dahil edilmesi ile titinin hem pasif hem de aktif kuvvete nasıl katkı yapıyor olabileceğine dair bir takım aday mekanizmalar önerilmiştir [71]. Bu yaklaşımlarda titin-aktin, titin-miyozin ve aktin-miyozin etkileşimlerinin hangi yollarla gerçekleşebileceğine dair çeşitli öneriler ortaya çıkmıştır [42].

Titin ve aktif filamanların etkileşimlerini fizyolojik ve matematiksel olarak açıklamak amacıyla önerilen metotlardan biri de sarım filaman modelidir. Bu modelde titinin aktin üzerinde sarım gerçekleştirerek serbest boyunu ve rijitliğini değiştirerek eksantrik uzama esnasında üretilen toplam kas kuvvetine katkı yaptığı kabul edilmektedir. Titin sarım filaman modelinde aktin-miyozin etkileşimi titinin sarım miktarını ve serbest boyunu değiştirmektedir [43].

Literatürde böylesi bir etkileşimi gözönüne alarak ve klasik tipteki çapraz köprü modellerine entegre ederek kalıntı kuvvet artışlarının simüle edildiği çalışmalar oldukça kısıtlıdır ve sarkomer seviyesindeki bir çapraz-köprü modeline entegre edilen bir titin sarım filaman modelinin kuvvet cevabının nasıl bir karakterde olabileceği bilinmemektedir.

Bu çalışmada titin ile entegre çalışan Huxley tipi çapraz-köprü modellerinin kalıntı kuvvet artışlarının benzetimlerindeki performansı değerlendirilmiştir. Bunu gerçekleştirmek için iki-durumlu ve üç-durumlu çapraz-köprü modelleri geliştirilmiştir. Ayrıca çapraz-köprü modelleri ile titin modelinin etkileşiminin sağlanması amacıyla bir sarım filaman titin modeli de oluşturulmuştur. Model performanslarının değerlendirilmesi için izometrik ve eksantrik kasılma esnasında sarkomer seviyesinde elde edilen kas kuvvetleri literatürden elde edilmiştir [80].

Çapraz-köprü modellerinin performanslarını değerlendirmek için modellerin izometrik ve eksantrik kasılma esnasında ürettikleri çapraz-köprü dağılımları ve kas kuvvetleri hesaplanmıştır. İki durumlu model için aynı parametreleri kullanan modellerle karşılaştırıldığında modelin çapraz-köprü dağılımı ve kuvvet cevapları literatürdeki sonuçlar ile uyumlu bulunmuştur [67]. Modelin sağladığı kuvvet cevaplarının kasılma hızına göre değişimi de eksantrik ve konsantrik kasılma durumları için literatürde bulunan modellerle karşılaştırılmış ve sonuçlar uyumlu olarak elde edilmiştir. Bunun için iki durumlu modelin kuvvet çıktıları aynı parametre setininin kullanıldığı Zahalak'ın Distribution-Moment (DM) modeli sonuçları ile karşılaştırılmış ve iki model sonuçları arasında uyum görülmüştür [27]. Hem çapraz-köprü dağılımları hem de relatif kuvvet cevaplarının diğer modeller ile karşılaştırılması sayesinde modelin sayısal olarak doğrulaması sağlanabilmiştir. İki durumlu modelin sağladığı kuvvet cevaplarının deneysel veri ile karşılaştırmasını yapabilmek amacıyla modelin parametreleri seçilerek değiştirilmiş ve model sarım filaman titin modeline entegre edilmiştir. Titin entegre edilmiş iki-durumlu modelde ise kuvvet cevapları deneysel veriden hem büyüklük hem de

örüntü bakımından önemli farklılıklar göstermiştir. İki-durumlu modellerin eksantrik kasılmadaki düşük performansı literatürde de yer alan zayıf yönlerindendir[23,97].

Titin ile entegre çalışmak üzere geliştirilen bir diğer model de üç durumlu çapraz-köprü modelidir. Modelde iki bağlanma ve bir çözülme durumu öngörülmüştür. İki bağlanma durumu arasında kuvvet stroku tanımlanarak çapraz-köprü popülasyonlarında zayıf (kuvvet stroku öncesi) ve güçlü bağlı (kuvvet stroku sonrası) dağılımların bulunması sağlanmıştır. Durumlar arası geçişler için oran fonksiyonları çeşitli parametreler kullanılarak tanımlanmıştır. Üç-durumlu model ve buna entegre çalışan sarım filaman titin modelinin kuvvet cevapları da deneysel verilerle karşılaştırılmıştır. Buna göre model ve deneysel veri arasında izometrik kasılmada uyum sağlanmıştır. Eksantrik kasılmada ise ortaya çıkan maksimum kuvvetler arasında farklılık görülmüştür. Ayrıca modelin deneysel veriye göre maksimum kuvvetlere daha hızlı ulaştığı görülmektedir. Eksantrik uzamanın başlarında deneysel veriden oldukça yüksek olarak ortaya çıkan kas kuvveti, simülasyonun ileri zamanlarında deneysel veri ile uyum gösterecek şekilde düşüş göstermiştir. Modelin kararlı rejimde ürettiği kuvvet (titin kuvvetinin katkısı ile) deneysel kas kuvvetine yaklaşmıştır. Titinin toplam kas kuvvetine katkısı da değerlendirilmiştir. Buna göre farklı katılık değerleri için elde edilen model cevaplarında katılık arttıkça titin kaynaklı kuvvette de artış gözlenmiştir. Titin katılığının arttıkça kas kuvvetinin artıyor oluşu literatür ile uyumludur[42]. Üç durumlu modelin performansı değerlendirildiğinde iki durumlu modele göre deneysel kas kuvvetlerine daha yakın kuvvet cevapları ürettiği görülmektedir. Ancak modelin bir takım zayıf yanlarının bulunduğu görülmüştür. İzometrik kasılmada iki durumda da bulunan çapraz-köprü dağılımları düzenli bir biçimde artış göstermekte iken eksantrik kasılmada dağılımların daha düzensiz değiştikleri anlaşılmaktadır. Özellikle ikinci bağlı durumdaki çapraz-köprü dağılımlarının değişimi modelin geliştirilmesi gerektiğini göstermektedir. Eksantik kasılmada ortaya çıkan bu kararsız dağılım değişimi seçilen oran fonksiyonları ile ilişkilidir. Bu sebeple oran fonksiyonları oluşturulurken ve sabitler belirlenirken bir optimizasyon yapılması gerekli görünmektedir.

Çapraz-köprü modelleri sağladıkları avantajlar kadar zayıf yönleriyle de öne çıkmaktadırlar. Bunların arasında modellerin çalıştırılması için gerekli olan oran fonksiyonlarının ve gerekli fizyolojik parametrelerin belirlenmesindeki zorluk ve model simülasyonlarındaki hesap yükleridir. Benzetimlerde kullanılmak üzere referans alınan deneysel veri setlerinin her biri için gerekli oran fonksiyonları, çapraz-köprü katılıkları, çapraz-köprü durumları için serbest enerji

seviyeleri, müsaade edilen bağlanma mesafeleri gibi özellikler yeniden belirlenmelidir. Bu sebeple modellerin pratik uygulamalardaki kullanımları kısıtlı kalmaktadır.

Mevcut çalışmada sunulan modellleri ve bu modellerin performansını etkileyen bir takım kısıtlar mevcuttur. Bunlardan bir tanesi seçilen modellerin iki ve üç durumlu modeller olarak tasarlanmasıdır. Kas yapısı içerisindeki fizyolojik ve mekanik etkileşimleri çeşitli varsayımlar ile basitleştirmek matematiksel olarak ifade etmek model performanslarını etkileyen bir hususdur. Bir diğer kısıt da model için seçilen parametrelerin deneysel vcrilere en uygun olacak şekilde denenerek seçilmesidir. Ancak çok amaçlı bir optimizasyon yöntemi izlenerek model performanslarını artıracak şekilde parametre setlerinin seçimi mümkün olabilmektedir. Bunun yanında kas modelleri farklı kas seviyeleri göz önüne alınarak oluşturulabilmektedir. Mevcut çalışmada sarkomer seviyesinde oluşturulan modellerin kapsayıcılığı ve pratiğe dönük uygulamaları miyofibril veya fiber seviyesinde geliştirilecek modellerle artırılabilecek ve farklı seviyedeki modellerin performansı değerlendirilebilecektir. Çalışmanın bir diğer kısıtı da simülasyonları gerçekleştirilen modellerin performanslarının yalnızca bir deney seti ile değerlendirilmesidir. Farklı deney setleri için seçilecek farklı parametre değerleri ile modellerin kuvvet cevapları daha kapsamlı bir biçimde değerlendirilebilecektir. Ayrıca model kısıtları arasında titinin modellenmesi amacıyla referans alınan sarım filaman yaklaşımı da sayılabilmektedir. Kas veya sarkomer yapısında fizyolojik olarak titin-aktin-miyozin etkileşiminin daha gerçekçi modellenebildiği bir yaklaşım ile model performansları daha tatmin edici ve deneysel gözlemlere uygun bir seviyeye getirilebilecektir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İskelet kaslarının modellenmesi ve deneysel olarak gözlemlenen bir takım özelliklerinin bilgisayar ortamında benzetimlerinin gerçekleştirilmesinde kas modelleri etkili araçlar olmuşlardır. Kas modelleri arasında kasların fizyolojik özelliklerine ve kas içerisindeki miyofilamanların etkileşimlerine dayanan Huxley tipi yapısal modeller geniş bir kullanım alanı bulmuşlardır. Kasların deneysel olarak farklı özellikleri keşfedildikçe modeller de modifikasyona uğramışlardır. Kalıntı kuvvet artışları da oldukça uzun zamandır bilinen ve iskelet kaslarının deneysel olarak her seviyesinde gözlemlenen temel mekanik özelliklerinden biridir. Ancak bu davranış kasılmayı açıklayan kayan filamanlar ve çapraz-köprü teorileri ile açıklanamamakta ve klasik Huxley tipi çapraz-köprü modelleri ile de simüle edilememektir. Modellerin titin içerecek ya da titin ile etkileşecek şekilde modifiye edilmesi bu özelliğin simüle edilmesine katkıda bulunur. Titin entegre edilmiş çok durumlu modeller ile kalıntı kuvvet artışları belli hata oranları ile simüle edilebilmektedir. Ancak burada çapraz-köprü modeline entegre edilecek titin modelinin yapısı ve dayandığı varsayımlar benzetim kabiliyetlerini etkilemektedir. Bu sebeple titin modellerinin titin ve özellikle alt segmentlerinin özelliklerinin fizyolojik yapıya en yakın şekilde modellere yansıtılması gereklidir. Buna bağlı olarak titinin hem diğer aktif elemanlar (aktin ve miyozin) hem de diğer bağlantı elemanları ile nasıl bir etkileşimde olabileceğinin anlaşılması ile model performansları artırılabilecektir. Ayrıca sarım filaman titin modeli pratik uygulamaya imkan vermesi açısından değerlendirildiğinde Hill tipi modellere de entegre edilerek klinik ve mühendislik uygulamalarda kullanılabilecektir.

KAYNAKLAR

[1]. Hill, A.V., 1922, The maximum work and mechanical efficiency of human muscles, and their most economical speed, *Journal of physiology*. 56, 19-45.

[2]. Fenn, W. O., 1923, A quantitative comparison between the energy liberated and the work performed by the isolated sartorius muscle of the frog, *Journal of Physiology*, 58, 175–203.

[3]. Hill, A. V., 1932, The revolution in muscle physiology, *Physiological Reviews*, 12, 56–67.

[4]. Fenn, W. O., 1924, The relation between the work performed and the energy liberated in muscular contraction, *Journal of Physiology*, 58, 373-395.

[5]. Hill, A.V., 1938, The heat of shortening and the dynamic constants of muscle, *Proceedings of the Royal Society of London B*, 126, 136–195.

[6] Katz, B., 1939, The relation between force and speed in muscular contraction, *Journal of Physiology*, 96, 45-64.

[7] Huxley, A.F. and Niedergerke, R., 1954, Interference microscopy of living muscle fibres, *Nature*, 173, 971–973.

[8] Huxley, H.E. and Hanson, J., 1954, Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation, *Nature*, 173, 973-976.

[9] Hanson, J. and Huxley, H. E., 1955, The structural basis of contraction in striated muscle. *Symp. Soc. Exp. Biol*, 9, 228-264.

[10] Huxley, H. E., 1960. *Muscle cells*, In: The cell: biochemistry, physiology, morphology, J. Brachet and A. E. Mirsky, eds., 4, 365-481. New York: Academic.

[11] Huxley, H. E. and Brown, W., 1967, The low-angle X-ray diagram of vertebrate striated muscle and its 'behavior during contraction and rigor, *Journal of Molecular Biology*, 30, 383-434.

[12] Marston, S. B., Rodger, C. D., Tregear, R. T., 1976, Changes in muscle crossbridges when β, γ-imido-ATP binds to myosin, *Journal of molecular biology*, 104(1), 263-276.

[13] Gordon, A.M., Huxley A.F., Julian F.J., The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres, *Journal of Physiology,* 1966, 184(1), 170-92.

[14] Huxley, H. E., 1963., Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle, *Journal of molecular biology*, 7, 281-308.

[15] Julian F.J. and Morgan, D.L., 1979, The effect on tension of non-uniform distribution of length changes applied to frog muscle fibres. *Journal of Physiology*, 293, 379- 92.

[16] Cook C.S. and McDonagh, M.J., Force responses to controlled stretches of electrically stimulated human muscle-tendon complex. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 1995, 80(3), 477-90.

[17] Herzog, W.,2000, Skeletal muscle mechanics: from mechanisms to function, Wiley & Sons, Chichester, UK.

[18] Pollack, G. H., 1983, The cross-bridge theory. *Physiological reviews*, *63*(3), 1049-1113.

[19] Nigg, B.M. and Herzog, W., 1999, Biomechanics of the musculoskeletal system. 2nd ed., John Wiley & Sons , Chichester,UK.

[20] Horowits, R. and Podolsky, R. J., 1987, The positional stability of thick filaments in activated skeletal muscle depends on sarcomere length: evidence for the role of titin filaments, *The Journal of cell biology*, *105*(5), 2217-2223.

[21] Herzog, W., Leonard, T. R., Joumaa, V., DuVall, M. M., Panchangam, A., 2012, The three filament model of skeletal muscle stability and force production, *Molecular & cellular biomechanics: MC,* 9(3), 175-191.

[22] Herzog, W., 2018, The multiple roles of titin in muscle contraction and force production, *Biophysical Reviews*, *10*(4), 1187-1199.

[23] A. F. Huxley, 1957, Muscle structure and theories of contraction, *Prog. Biophy. Biophy. Chem*, 7, 255-318.

[24] Månsson, A., 2010, Actomyosin-ADP states, interhead cooperativity, and the force-velocity relation of skeletal muscle, *Biophysical journal*, *98*(7), 1237-1246.

[25] Huxley, A. F., and Simmons, R. M., 1971, Proposed mechanism of force generation in striated muscle, *Nature*, *233*(5321), 533-538.

[26] Schoenberg, M., 1993, Equilibrium muscle crossbridge behavior: the interaction of myosin crossbridges with actin, *Advances in biophysics*, *29*, 55-73.

[27] Ma, S., and Zahalak, G.I., 1991, A distribution-moment model of energetics in skeletal muscle, *Journal of biomechanics*, *24*(1), 21-35.

[28] Stojanovic, B., Svicevic, M., Kaplarevic-Malisic, A., Gilbert, R. J., Mijailovich, S. M., 2020, Multi-scale striated muscle contraction model linking sarcomere length-dependent cross-bridge kinetics to macroscopic deformation, *Journal of Computational Science*, *39*, 101062.

[29] Herzog, W., Kamal, S., Clarke, H. D., 1992, Myofilament lengths of cat skeletal muscle: theoretical considerations and functional implications, *Journal of biomechanics*, *25*(8), 945-948.

[30] Edman, K. A., 1979, The velocity of unloaded shortening and its relation to sarcomere length and isometric force in vertebrate muscle fibres, *The Journal of physiology*, *291*(1), 143-159.

[31] Lombardi, V., and Piazzesi, G., 1992, Force response in steady lengthening of active single muscle fibres. *Muscular contraction*, 237-255.

[32] Close, R. I., 1972, Dynamic properties of mammalian skeletal muscles. *Physiological reviews*, *52*(1), 129-197.

[33] Faulkner, J. A., 1986, Power output of fast and slow fibers from human skeletal muscles, In: *Human muscle power*, Jones, N.L., McCartney, N., McComas, A.J. (eds), Human Kinetics Publishers, Champaign, IL.

[34] Edman, K. A. P., 2005, Contractile properties of mouse single muscle fibers, a comparison with amphibian muscle fibers, *Journal of Experimental Biology*, *208*(10), 1905-1913.

[35] Alcazar, J., Csapo, R., Ara, I., Alegre, L. M., 2019, On the shape of the force-velocity relationship in skeletal muscles: The linear, the hyperbolic, and the double-hyperbolic. *Frontiers in physiology*, *10*, 769.

[36] McMahon, T. A., 1984, *Muscles, reflexes, and locomotion* (Vol. 10), Princeton University Press.

[37] Rassier, D. E., and Herzog, W., 2004, Considerations on the history dependence of muscle contraction, *Journal of applied physiology*, *96*(2), 419-427.

[38] Joumaa, V., Leonard, T. R., Herzog, W., 2008, Residual force enhancement in myofibrils and sarcomeres. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *275*(1641), 1411-1419.

[39] Herzog, W., 2018, The mysteries of eccentric muscle action. *Journal of sport and health science*, 7, 253–254.

[40] Nishikawa, K., 2016, Eccentric contraction: unraveling mechanisms of force enhancement and energy conservation, *Journal of Experimental Biology*, *219*(2), 189-196.

[41] Minozzo, F. C., and Lira, C.A.B.D., 2013, Muscle residual force enhancement: a brief review. *Clinics*, *68*, 269-274.

[42] Schappacher-Tilp, G., Leonard, T., Desch, G., Herzog, W., 2015, A novel three-filament model of force generation in eccentric contraction of skeletal muscles. *PloS one*, *10*(3), e0117634.

[43] Nishikawa, K. C., Monroy, J. A., Uyeno, T. E., Yeo, S. H., Pai, D. K., Lindstedt, S. L., 2012, Is titin a 'winding filament'? A new twist on muscle contraction. *Proceedings of the royal society B: Biological sciences*, *279*(1730), 981-990.

[44] Lindstedt, S. and Nishikawa, K., 2017, Huxleys' missing filament: form and function of titin in vertebrate striated muscle. *Annual review of physiology*, *79*, 145-166.

[45] Huxley, H. E., 2004, Fifty years of muscle and the sliding filament hypothesis. *European journal of biochemistry*, *271*(8), 1403-1415.

[46] Jones, D.A., Round, J.M., de Haan, A., 2004, *Skeletal Muscle from Molecules to Movement: A Textbook of Muscle Physiotherapy for Sport*, Exercise and Physiotherapy. Edinburg.

[47] Örteş, F. and Arslan, Y. Z., 2021, İskelet kaslarındaki kuvvet üretim mekanizmasının Huxley tipi kas modelleriyle incelenmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, *35*(3), 415-426.

[48] Stöcker, U., 2009, *Theoretical analysis and simulation of half-sarcomere dynamics in a myofibril*, Thesis(PhD), ETH Zurich.

[49] Frontera, W. R., and Ochala, J., 2015, Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcified tissue international*, *96*(3), 183-195.

[50] Monroy, J. A., Powers, K. L., Gilmore, L. A., Uyeno, T. A., Lindstedt, S. L., Nishikawa, K. C., 2012, What is the role of titin in active muscle?, *Exercise and sport sciences reviews*, *40*(2), 73-78.

[51] Nishikawa, K., 2020, Titin: a tunable spring in active muscle, *Physiology*, *35*(3), 209-217.

[52] Herzog, W., 2022, What Can We Learn from Single Sarcomere and Myofibril Preparations?, *Frontiers in Physiology*, *13*.

[53] Keener, J., and Sneyd, J., 2009, Mathematical physiology: II: Systems physiology, New York, NY: Springer New York.

[54] Rassier, D. E., MacIntosh, B. R., Herzog, W, 1999, Length dependence of active force production in skeletal muscle, Journal of applied physiology, 86(5), 1445-1457.

[55] Ter Keurs, H. E., Iwazumi, T., Pollack, G. H., 1978, The sarcomere length-tension relation in skeletal muscle, *The Journal of General Physiology*, *72*(4), 565-592.

[56] Pollack, G. H., 1995, Muscle contraction mechanism: are alternative engines gathering steam?, *Cardiovascular research*, *29*(6), 737-746.

[57] Edman, K. A., Elzinga, G., Noble, M. I., 1978, Enhancement of mechanical performance by stretch during tetanic contractions of vertebrate skeletal muscle fibres, *The Journal of physiology*, *281*(1), 139-155.

[58] Zatsiorsky, V., 2008, Biomechanics in sport: performance enhancement and injury prevention, John Wiley & Sons.

[59] Fenn, W. O., and Marsh, B. S., 1935, Muscular force at different speeds of shortening, *The Journal of Physiology*, *85*(3), 277–297.

[60] Edman, K. A., Elzinga, G., Noble, M. I., 1982, Residual force enhancement after stretch of contracting frog single muscle fibers, *The Journal of General Physiology*, *80*(5), 769-784.

[61] Edman, K. A., Caputo, C., Lou, F., 1993, Depression of tetanic force induced by loaded shortening of frog muscle fibres, *The Journal of Physiology*, *466*(1), 535-552.

[62] Herzog, W., and Leonard, T. R., 1997, Depression of cat soleus forces following isokinetic shortening, *Journal of biomechanics*, *30*(9), 865-872.

[63] Fukutani, A., and Herzog, W., 2018, Residual Force Enhancement is Attenuated by Shortening in a Magnitude-Dependent Manner, *Biophysical Journal*, *114*(3), 135a.

[64] Abbott, B. C., and Aubert, X. M., 1952, The force exerted by active striated muscle during and after change of length. *Journal of Physiology*, 117, 77–86.

[65] Marechal, G., and Plaghki, L. ,1979, The deficit of the isometric tetanic tension redeveloped after a release of frog muscle at a constant velocity, *Journal of General Physiology*, 73, 453–467.

[66] Joumaa, V. and Herzog, W., 2010, Force depression in single myofibrils, *Journal of Applied Physiology*, 108(2), 356-362.

[67] Herzog, W., Leonard, T. R., Wu, J. Z., 1998, Force depression following skeletal muscle shortening is long lasting. *Journal of biomechanics*, 31(12), 1163-1168.

[68] Fukutani, A. and Herzog, W., 2019, Current understanding of residual force enhancement: cross-bridge component and non-cross-bridge component. International journal of molecular sciences, 20(21), 5479.

[69] Morgan, D. L., 1990, New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophysical journal*, *57*(2), 209-221.

[70] Peterson, D. R., Rassier, D. E., Herzog, W., 2004, Force enhancement in single skeletal muscle fibres on the ascending limb of the force–length relationship, *Journal of Experimental Biology*, *207*(16), 2787-2791.

[71] Herzog, W., 2018, Why are muscles strong, and why do they require little energy in eccentric action?, *Journal of sport and health science*, 7(3), 255-264.

[72] Herzog, W., Schappacher, G., DuVall, M., Leonard, T. R., Herzog, J. A., 2016, Residual force enhancement following eccentric contractions: a new mechanism involving titin. *Physiology*, 31(4), 300-312.

[73] Powers, K., Nishikawa, K., Joumaa, V., Herzog, W., 2016, Decreased force enhancement in skeletal muscle sarcomeres with a deletion in titin, *Journal of Experimental Biology*, 219(9), 1311-1316.

[74] Linke, W. A., Ivemeyer, M., Mundel, P., Stockmeier, M. R., Kolmerer, B. ,1998, Nature of PEVK-titin elasticity in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(14), 8052-8057.

[75] Wang, K., Ramirez-Mitchell, R., & Palter, D., 1984, Titin is an extraordinarily long, flexible, and slender myofibrillar protein, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *81*(12), 3685-3689.

[76] Labeit, D., Watanabe, K., Witt, C., Fujita, H., Wu, Y., Lahmers, S., ... & Granzier, H. (2003). Calcium-dependent molecular spring elements in the giant protein titin, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(23), 13716-13721.

[77] Wang, K., McCarter, R., Wright, J., Beverly, J., Ramirez-Mitchell, R., 1991, Regulation of skeletal muscle stiffness and elasticity by titin isoforms: a test of the segmental extension model of resting tension, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *88*(16), 7101-7105.

[78] DuVall, M. M., Jinha, A., Schappacher-Tilp, G., Leonard, T. R., Herzog, W., 2017, Differences in titin segmental elongation between passive and active stretch in skeletal muscle, *Journal of Experimental Biology*, *220*(23), 4418-4425.

[79] Leonard, T. R., Herzog, W., 2010, Regulation of muscle force in the absence of actin-myosin-based cross-bridge interaction, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *299*(1), C14-C20.

[80] Leonard, T. R., DuVall, M., Herzog, W.,2010, Force enhancement following stretch in a single sarcomere, *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *299*(6), C1398-C1401.

[81] Hessel, A. L. Lindstedt, S. L., Nishikawa, K. C., 2017, Physiological mechanisms of eccentric contraction and its applications: a role for the giant titin protein, *Frontiers in physiology*, *8*, 70.

[82] Comincioli, V., and Naldi, G., 1990, Mathematical models in muscle contraction: parallelism in the numerical approach. *Mathematical and Computer Modelling*, *13*(1), 109-115.

[83] Arslan, Y.Z., Karabulut, D., Ortes, F., Popovic, M. B., 2019, *Exoskeletons, exomusculatures, exosuits: dynamic modeling and simulation*, Biomechatronics (Elsevier:),In: Popovic, M. B., (ed),Chapter 11, 305-331.

[84] Karabulut, D., Dogru, S. C., Lin, Y. C., Pandy, M. G., Herzog, W., Arslan, Y. Z., 2020, Direct validation of model-predicted muscle forces in the cat hindlimb during locomotion. *Journal of Biom””echanical Engineering*, *142*(5), 051014.

[85] Fernandez, J. W., Mithraratne, P., Thrupp, S. F., Tawhai, M. H., & Hunter, P. J., 2004, Anatomically based geometric modelling of the musculo-skeletal system and other organs. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 2(3), 139-155.

[86] Lombardi, V., and Piazzesi, G., 1990, The contractile response during steady lengthening of stimulated frog muscle fibres. The Journal of Physiology, 431(1), 141-171.

[87] Campbell, K. S., and Moss, R. L., 2000, A thixotropic effect in contracting rabbit psoas muscle: prior movement reduces the initial tension response to stretch, *The Journal of Physiology*, 525(2), 531-548.

[88] Månsson, A., 2021, The effects of inorganic phosphate on muscle force development and energetics: challenges in modelling related to experimental uncertainties. *Journal of muscle research and cell motility*, *42*(1), 33-46.

[89] Walcott, S., and Herzog, W., 2008, Modeling residual force enhancement with generic cross-bridge models. *Mathematical biosciences*, 216(2), 172-186.

[90] Ortes, F., Jinha, A., Herzog, W., Ziya Arslan, Y., 2022, Sensitivity of muscle force response of a two-state cross-bridge model to variations in model parameters, *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 236(10), 1513-1520.

[91] Wu, J. Z., Herzog, W., Cole, G. K.,1997, Modeling dynamic contraction of muscle using the cross-bridge theory. *Mathematical biosciences*, 139(1), 69-78.

[92] Zahalak, G. I., 1981, A distribution-moment approximation for kinetic theories of muscular contraction. *Mathematical biosciences*, 55(1-2), 89-114.

[93] Pate, E., and Cooke, R., 1989,. A model of crossbridge action: the effects of ATP, ADP and Pi, *Journal of Muscle Research & Cell Motility*, 10(3), 181-196.

[94] Campbell, K. S., 2009, Interactions between connected half-sarcomeres produce emergent mechanical behavior in a mathematical model of muscle. *PLoS computational biology*, 5(11), e1000560.

[95] Slawnych, M. P., Seow, C. Y., Huxley, A. F., Ford, L. E., 1994, A program for developing a comprehensive mathematical description of the crossbridge cycle of muscle. *Biophysical journal*, 67(4), 1669-1677.

[96] Tahir, U., Hessel, A. L., Lockwood, E. R., Tester, J. T., Han, Z., Rivera, D. J., Covey, K. L., Huck, T. G., Rice, N. A., Nishikawa, K. C., 2018, Case study: a bio-inspired control algorithm for a robotic foot-ankle prosthesis provides adaptive control of level walking and stair ascent. *Frontiers in Robotics and AI*, 5, 36.

[97] Herzog, W., 2014, The role of titin in eccentric muscle contraction. *Journal of Experimental Biology*, *217*(16), 2825-2833.

EKLER

Ek 1. İzometrik kasılmada çapraz köprü dağılımı için Kaynak Kod (İki durumlu Huxley modeli):

```
% Faruk Ortes, Aralık 2022
% İzometrik kasılmada çapraz köprü dağılımı için Kaynak Kod (İki durumlu Huxley modeli):
clear all; close all; clc;
dx=0.05; % displacement step,nm
x = -1 : dx : 4; % XB displacement range
h=1; % binding distance

f = []; % attachment rate function
for i1 = 1 : length(x);
    x1=x(1,i1);
    fa = rate_f(x1,h);
    f = [f fa];
end
g = []; % detachment rate function
for i2 = 1 : length(x)
    x2=x(1,i2);
    ga = rate_g(x2,h);
    g = [g ga];
end
%plot(x,f,'b-', x, g,'r-','linewidth',2); % Visualize and check functions

v = 0; % Sliding velocity, mm/s [V=0 since no sliding]
dt = 0.005; % time step, s

pd2 = makedist('Uniform','lower',0,'upper',1); % Uniform distribution between a = 0 and b = 1
% pdf2 = pdf(pd2,x);%  if initially all attach xbs
pdf2 =zeros(1,length(x))  % initially all detach xbs

% plot(x,pdf2,'k-','LineWidth',2);% Visualize and check distributions
% Initial conditions and trandformation of variable
ksi=v*dt;
eta=x+ksi;
var=eta-ksi;  % variable
p_init= pdf2;
tinit=0;
tfinal=0.5; % Contraction time, update if necessary
time=tinit:dt:tfinal;
loop_size=length(time)

sol_t=[];
vars=[]
for i4=1:length(time)
    i4
    sol_x=[];
     vars=[vars;var]; %update variable, ksi in thesis
    for i3=1:length(var)
          degerf= rate_f(var(1,i3),h); % call rate function parameter,f
          degerg= rate_g(var(1,i3),h); % call rate function parameter,g
          p=p_init(1,i3);
          ode1=@(t,p)(degerf-((degerf+degerg)*p));
          [t, pb]=ode45(ode1, [0 dt],p); % or use ode12 for Runge-Kutta
          pnew=pb(end);
          sol_x=[sol_x pnew];
    end
    var=var-ksi;
    var2= x;
    var= var2;
    sol_t=[sol_t;sol_x];
    p_init=sol_x;
    p_init2=circshift(p_init,-1*sign(v));
    p_init=p_init2;
end

final_x=[vars];  % final displacement values
final_sol = [sol_t]; % final distribution values
final_time=[0:dt:tfinal]
size_x=size(final_x)
size_sol=size(final_sol)
num=size_x(1,1)% final solution size

figure
mesh(final_x(1:2:end,:),final_time(1,1:2:end),final_sol(1:2:end,:))
set(gca,'Ydir','reverse') % change the direction of time axis
view(25,35) %view(300,35)  % view(230,45)  uygun view(200,35)
xlabel('x(mm)','fontweight','bold','fontsize',12);
ylabel('t(s)','fontweight','bold','fontsize',12);
zlabel('n(x,t)','fontweight','bold','fontsize',12);
light;
lighting phong;
```

```
% Rate functions
function f= rate_f(x,h) % attachment
%rate constants
f1 = 43.3; % update if necessary
g1 = 10;
g2 = 209;
        if x<0
            f = 0;
        elseif (x>=0 & x<=h)
            f = f1*x/h;
        elseif x>0
            f = 0;
        end
end

function g= rate_g(x,h) % detachment
f1 = 43.3;
g1 = 10;
g2 = 209;
        if x>0
            g = g1*x/h;
        else
            g = g2;
        end

end
```

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI