

TARTU ÜLIKOOL

Spordibioloogia ja füsioteraapia instituut

Jaan Luts

Organismi taastumine glükokortikoidsest müopaatiast

Organism recovery from glucocorticoid myopathy

Magistritöö

Füsioteraapia õppekava

Juhendajad:

Dotsent A. Pehme

Teadur K. Alev

Autori allkiri

Tartu, 2017

SISUKORD

KASUTATUD LÜHENDID	3
TÖÖ LÜHIÜLEVAADE	4
ABSTRACT	5
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	6
1.1 Glükokortikoidne müopaatia	6
1.2 Glükokortikoidse müopaatia mõju lihasjõule ning lihaste massile	6
1.3 Glükokortikoidse müopaatia mõju kehamassile	7
1.4 Glükokortikoidse müopaatia mõju skeletilihase valgulisele kompositsioonile ...	8
1.5 Glükokortikoidsest müopaatiaast taastumine ja kehalised harjutused	9
2. TÖÖ EESMÄRK JA ÜLESANDED	11
3. METOODIKA	12
3.1 Katseloomad	12
3.2 Deksametasooni manustamine	12
3.3 Jõuharjutus vertikaalsel jooksurajal	12
3.4 Katseloomade kehakaalu määramine	13
3.5 Katseloomade tagajäsemete maksimaalse haardejõu määramine	13
3.6 Lihaste eraldamine ja kaalumine	14
3.7 Valgusisalduse määramine skeletilihases	14
3.8 Müosiini raskete ahelate (MHC) sisaldus	14
3.9 Statistika	15
4. TÖÖ TULEMUSED	16
4.1 Lihaskõue	16
4.2 Kehamass	16
4.3 Lihaste mass	17
4.4 Müofibrillaarsete ja sarkoplasmaatiliste valkude sisaldus	20
4.5 Müosiini raskete ahelate sisaldus	21
5. ARUTELU	22
6. JÄRELDUSED	25
KASUTATUD KIRJANDUS	26
AUTORI LIHTLITSENTS	29

KASUTATUD LÜHENDID

EDTA – etüleendiamiintetra-äädikhappe dinaatrium sool

GM – glükokortikoidne müopaatia

KCl – kaaliumkloriid

m. EDL – *musculus extensor digitorum longus*

m. TA – *musculus tibialis anterior*

MHC – müosiini rasked ahelad (*myosin heavy chain*)

MP – müofibrillaarsed valgud

SDS – naatrium dodetsüülsulfaat

SDS-PAAG – naatrium dodetsüülsulfaat polüakrüülamiidgeel

SP – sarkoplasmaatilised valgud

TRIS – tris(hüdroksümetüül)aminmetaan

TÖÖ LÜHIÜLEVAADE

Eesmärk: Uurimistöö eesmärgiks oli selgitada glükokortikoidide manustamise järgest müopaatiast taastumise mõju organismi seisundile.

Metoodika: Eksperimendis kasutati 22-24 kuu vanuseid emaseid Wistar liini rotte (n=21), kes jaotati viide gruppi: kontrollgrupp (kontroll); deksametasooni manustamine 10 päeva (DEX 10p), deksametasooni manustamine koos 10-päevase taastumisega (taast 10p), deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumisega (taast 20p), deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumise ja harjutusega (taast+harj 20p), harjutus sooritati vertikaalsel jooksurajal. Deksametasooni manustati katseloomadele 10 päeva jooksul kõhuõõnde (50 µg/100 g kehamassi kohta) ning määrati tagajäsemete haardejõud, kehamass, lihaste mass (*m. plantaris*, *m. soleus*, *m. extensor digitorum longus*, *m. tibialis anterior*, *m. gastrocnemius*) ning *m. plantaris*' e valguline sisaldus (müofibrillaarsed ja sarkoplasmaatilised valgud ning müosiini rasked ahelad).

Tulemused: 10-päevane deksametasooni manustamine vähendas oluliselt nii katseloomade tagajäsemete haardejõudu, kehamassi, lihaste massi kui ka müofibrillaarsete- ja sarkoplasmaatiliste valkude sisaldust. 20-päevase taastumise lõpuks saavutas lihasjõud ning müofibrillaarsete ja sarkoplasmaatiliste valkude sisaldus algtasemele lähedase tulemuse, teised eelnimetatud näitajad jäid oluliselt madalamaks. Jõuharjutuse kasutamine taastumisel ei suurendanud oluliselt uuritavaid näitajaid. Müosiini raskete ahelate sisaldus käesolevas eksperimendis langes, aga ei erinenud statistiliselt oluliselt kontrollgrupi tulemustest.

Kokkuvõte: Glükokortikoidne müopaatia kutsub esile mitmeid muutusi organismis, milleks on lihasjõu, kehamassi, lihaste massi ning valgusisalduse vähenemine. Glükokortikoidsest müopaatiast taastumise efektiivsus ilmneb ainuüksi ravimi manustamise lõpetamisel, aga teatud olukordades ei pruugi olla see võimalik. Käesolevas uuringus ei saanud kinnitust jõuharjutuste kasutamise efektiivsus lühiajalisel treeningul glükokortikoidse müopaatia korral. Kuigi mitmetes uuringutes on kasutanud erinevaid kehalise aktiivsuse programme, pole leitud kehalise aktiivsuse vormi ja sekkumise aega, mis aitaks ära hoida glükokortikoidide manustamisest tingitud kõrvalmõjusid.

Märksõnad: Glükokortikoidne müopaatia, lihasjõud, kehamass, skeetilihas, jõuharjutus

ABSTRACT

Aim: The purpose of this study was to clarify the recovery process from glucocorticoid induced myopathy.

Methods: 21 female Wistar strain rats (22-24 months old) were divided into five groups: control (kontroll); dexamethasone administration for 10 days (DEX 10p), dexamethasone administration with 10 days recovery (taast 10p), dexamethasone administration with 20 days recovery (taast 20p), dexamethasone administration with 20 days recovery and exercise (taast+harj 20p), exercises were performed on vertical treadmill. Dexamethasone was administered intraperitoneally (50 µg/100 g body mass) and animals were measured for hindlimb grip strength, body mass, muscle mass (*m. plantaris*, *m. soleus*, *m. extensor digitorum longus*, *m. tibialis anterior*, *m. gastrocnemius*) and protein content (myofibrillar and sarcoplasmatic proteins, myosin heavy chains) for *m. plantaris*.

Results: After 10 days dexamethasone treatment a significant loss of hindlimb grip strength, body mass, muscle mass and decrease in myofibrillar and sarcoplasmatic proteins was found. After 20 days recovery period hindlimb grip strength and protein content did not have significant differences compared with baseline values, other measured values remained significantly lower. Resistance exercise did not show superior effects in measured values. Myosin heavy chain content decreased but not significantly.

Conclusions: Glucocorticoid myopathy causes many changes which are loss of strength, body mass, muscle mass and protein content. Recovery from glucocorticoid myopathy appears even with stopped administration, but in some cases the treatment might be essential and can not be removed. This experiment did not find superior effects of short time resistance exercises during the recovery from glucocorticoid myopathy. Different exercise programs have been used, but the most effective seems to be unclear.

Keywords: Glucocorticoid myopathy, muscular strength, body mass, skeletal muscle, resistance exercise

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Glükokortikoidne müopaatia

Meditiinipraktikas on laialt levinud glükokortikoidide kasutamine erinevate süsteemsete haiguste ning ka pehmekoeliste struktuuride häirete korral. Glükokortikoidne müopaatia (GM) võib ravimi kõrvalmõjuna tekkida kõigil, aga on leitud, et suur risk müopaatia tekkimiseks on vanemaealistel (Pereira ja Carvalho, 2011). Juba füsioloogiliselt toimuvad vananemisel skeletilihastes erinevad muutused, mis toovad vananevale populatsioonile kaasa terve rea probleeme, mis võivad viia täieliku liikumatuseni (Seene et al., 2011). Bioloogilised ja füsioloogilised muutused skeletilihastes vananemise korral on lihasmassi, jõu ja vastupidavuse vähenemine. Lihasnõrkus ning tasakaalu halvenemine suurendab omakorda kukkumiskiriski, mille tagajärjel võivad tekkida tõsised vigastused (Haus et al., 2007; Trappe, 2009; Santos et al., 2011).

Kõige sagedamini esineb GM fluorineeritud glükokortikoidide kasutamisel (deksametasoon, triamtsinolon, betametasoon), kuid ei avaldu väikestes doosides tavaliselt enne nelja nädalat. GM tekkepõhjuseks on valkude degradatsiooni suurenenemine ning valgusünteesi vähenemine. Lisaks sellele toimub IGF-1 inhibitsioon, suureneb müostatiini ekspressioon, tekib mitokondriaalne düsfunktsioon ning langeb kaaliumi ja fosfaatide tase seerumis (Salehian ja Kejriwal, 1999).

1.2 Glükokortikoidse müopaatia mõju lihaskõule ning lihaste massile

Üks põhilistest GM ilmingutest on lihaskõu langus. Lihaskõu languse peamiseks põhjuseks GM korral on kiirete lihaskiudude atroofia (Seene et al., 1988), mistõttu on rohkem haaratud suurema kiirete lihaskiudude osakaaluga lihased (näiteks *m. tibialis anterior*, *m. plantaris*, *m. extensor digitorum longus*) ning vähem aeglased (näiteks *m. soleus*) (Schakman et al., 2008), sama kinnitab ka Riso et al. (2008) uuring, kus leiti glükokortikoidide manustamise järgselt statistiliselt oluline langus *m. extensor digitorum longus*' e massis, *m. soleus*' e mass oluliselt ei vähenenud (Riso et al., 2008). On selgusetu, kuidas realiseerub kiuspetsiifiline mõju müopaatia korral (Schakman et al., 2008).

Kaasik et al. (2007) leidsid, et 10-päevase deksametasooni manustamisel (100 µg/100g kehamassi kohta) vähenes oluliselt katseloomade tagajäsemete jõud. Samas uuringus võrreldi ka noori ja vanu loomi ning tuvastati, et vanadel katseloomadel vähenes tagajäsemete jõud 55% rohkem võrreldes noorte loomadega ning oli pärast manustamist kaks korda väiksem.

Selgus, et deksametasooni manustamine vähendas oluliselt ka vanade ja noorte loomade liikumisaktiivsust, sealjuures tendents langusele oli vanadel katseloomadel suurem (Kaasik et al., 2007).

Minetto et al. (2015) uurisid glükokortikoidide manustamist (8 mg/päevas) tervetel täiskasvanud meestel (n=5). Uuringus tuvastati, et vaatamata I ja IIA tüüpi lihaskiudude ristlõikepindala vähenemisele *m. vastus lateralis* es, suurenes 7-päevase glükokortikoidide manustamise järgselt maksimaalne isomeetriline jõud reie nelipealihases 13%. Uurijate arvates võis antud fenomen olla põhjustatud glükokortikoidide mõjust närvisüsteemi (kortikaalsete ja kortikospinaalsete keskuste) erutatavusele (Minetto et al., 2015). Seene ja Viru (1982) tuvastasid 10-päevase deksametasooni manustamise järgselt treenimata katseloomade *m. quadriceps femoris* e suhtelise massi vähenemise 29% võrra. Treenitud katseloomade *m. quadriceps femoris* e suhteline mass langes aga 16% (Seene ja Viru, 1982), millest võib järeldada, et varasem füüsiline aktiivsus on müopaatiaga kaasnevate sümptomite ennetamisel oluline. Kaasik et al. (2007) leidsid, et 10-päevase deksametasooni manustamise järgselt vähenes *m. gastrocnemius* e mass 30-kuu vanustel katseloomadel 40% rohkem võrreldes noorte (4 kuud) loomadega (Kaasik et al., 2007).

1.3 Glükokortikoidse müopaatia mõju kehamassile

Sarnaselt lihasmassile langeb müopaatia korral ka üldine kehamass (Trappe, 2009). Savary et al. (1998) manustasid katseloomadele joogivee kaudu deksametasooni (vastavalt grupile kas 543 või 564 µg/1 kg kehamassi kohta) ning leidsid, et 5-6 päeva kestnud manustamine kutsus esile olulise languse katseloomade kehamassis. Kehamass langes sarnaselt nii täiskasvanud kui vanadel loomadel (Savary et al., 1998).

Macedo et al. (2016) leidsid, et 10-päevane deksametasooni manustamine (50 µg/100 g kehamassi kohta) vähendas täiskasvanud katseloomadel rasvavaba massi alates 3. manustamise päevast (Macedo et al., 2016). Rasvavaba massi olulise languse 10-päeval deksametasooni manustamisel tuvastas ka Ellam (2016), kes uuris lisaks ka rasvavaba massi taastumise dünaamikat. Uuringust selgus, et 20. taastumise päevaks oli rasvavaba mass olulisel määral tõusnud ning ei erinenud statistiliselt kontrollgrupi tulemustega. Samas uuringus leiti, et lühiajaline glükokortikoidide manustamine ei avalda mõju luumassile ja luutihedusele (Ellam, 2016). Kehamassi languse üheks põhjuseks GM korral võib olla lisaks lihasmassi vähenemisele ka rasvamassi vähenemine. Ellam (2016) tuvastas 10-päevase deksametasooni manustamise (50 µg/100 g kehamassi kohta) järgselt lipolüütilise mõju

katseloomade rasvkoole. Lisaks sellele täheldati, et manustamisele järgnev 20-päevaline taastumine ei initsieerinud rasvamassi taastumist (Ellam, 2016).

1.4 Glükokortikoidse müopaatia mõju skeletilihase valgulisele kompositsioonile

Kõige tähtsamateks valkudeks skeletilihastes jõu genereerimise aspektist on müosiin ja aktiin, mis interaktsioonis sidekoelise võrgustikuga, mis koosneb peamiselt kollageenist, teeb liigutustegevuse organismi jaoks võimalikuks (Patel ja Lieber, 1997; Kjaer, 2004). Lihasnõrkuse korral on leitud seosed muutustega nii müosiini kvaliteedis kui ka kvantiteedis, glükokortikoidid avaldavad müosiini rasketele ahelatele (MHC) kataboolset mõju (Salehian ja Kejriwal, 1999). Müosiini näol on tegemist võrdlemisi suure valguga (molekulaarkaal ~520 kDa), mis koosneb kahest raskest ahelast (~220 kDa) ning neljast kergest ahelast (~20 kDa) (Ohtsuki et al., 1986).

Kaasik et al. (2007) leidsid, et MHC süntees toimus deksametasooni manustamise järgselt 30-kuu vanustel katseloomadel 30% ja aktiini süntees 23% aeglasemalt võrreldes 4-kuu vanuste loomadega. Leiti, et kontraktiilvalkude degradatsioon oli vanadel loomadega kaks korda suurem. On teada, et GM mõju algab madala oksüdatiivse potentsiaaliga lihaskiudude perifeerias ning realiseerub esialgu müosiini filamentidest ning liigub seejärel edasi teistele müofibrillaaraparaadi osadele (Seene et al., 1988). GM korral leiab aset MHC isovormilise kompositsiooni muutumine, mille tulemusel remodelleeruvad lihaskiud kiiremalt aeglasemale (Seene et al., 2003).

Lihastroofia korral aktiveeruvad proteolüütilised süsteemid ning väheneb kontraktiilvalkude ning organellide sisaldus lihases (Bonardo ja Sandri, 2013). Savary et al. (1998) eksperimendis uuriti lisaks kehamassile ka skeletilihaste valgusisaldust ning leiti, et deksametasooni manustamine vähendas oluliselt täiskasvanud katseloomade valgusisaldust lihastes, kus prevaleerivad glükolüütilised ning oksüdatiiv-glükolüütilised lihaskiud. Peamiselt oksüdatiivseid lihaskiude sisaldavates lihastes olulisi muutusi valgusisalduses ei täheldatud (Savary et al., 1998). Atroofia tingimustes on leitud, et väheneb skeletilihaste valgusisaldus, mis on peamiselt põhjustatud müofibrillaarvalkude degradatsioonist. *M. Soleus*' e denervatsioonil leiti, et kahe nädala möödudes oli oluliselt vähenenud lihassmass. Lihaskiudude fraktsioneerimisel leiti, et müofibrillaarvalkude sisaldus oli langenud 50%, sarkoplasmaatiliste valkude osas oli langus oluliselt väiksem (20%) (Sato et al., 2014). Samas on täheldatud, et müofibrillaarsete ja sarkoplasmaatiliste valkude degradatsioon atroofia korral toimub sarnases mahus (Goldberg, 1969).

1.5 Glükokortikoidsest müopaatiast taastumine ja kehalised harjutused

Glükokortikoidsest müopaatiast taastumisel on oluline lõpetada või vähendada glükokortikoidide tarbimine. Kui tabimist ei ole võimalik tervislikel põhjustel lõpetada, tuleks vältida fluorineeritud glükokortikoidide ning eelistada näiteks madalas doosis prednisolooni. Lisaks sellele tuleks rakendada teisi strateegiaid, mis aitaksid vähendada glükokortikoididest põhjustatud probleeme (Pereira ja Carvalho, 2010). Kuna glükokortikoidse müopaatia korral esineb lihasjõu langus, arvatakse, et abi võiks olla jõuharjutustest (Seene ja Kaasik, 2012). Potentsiaalne harjutusprogramm peaks olema individualiseeritud ja võtma arvesse inimese tervislikku seisundit ning peaks olema suunatud nii jõu- kui ka vastupidavuse arendamisele (Lapier, 1997).

Jõutreening suurendab müofibrillaarsete ning sealhulgas kontraktiilsete valkude sünteesi, mis on äärmiselt vajalik funktsionaalsuse säilitamiseks (Seene ja Kaasik, 2012; Moore et al., 2009). Pu et al. (2001) leidsid randomiseeritud kontrollitud uuringus, et kõrge intensiivsusega progressiivne jõutreening suurendas oluliselt vanemaealiste naiste funktsionaalset võimekust. Lisaks sellele on leitud, et jõuharjutused kiirendavad vanemaealistel lihaste ainevahetust ning suurendavad sellest tulenevalt lihaste funktsioneerimisvõimet ning elukvaliteeti (Seene et al., 2011). Seene et al. (2010) leidsid, et jõutreening tõi kaasa hüpertroofia nii kiiretes kui aeglastes lihaskiududes, suurendades sealjuures ka rakutuumade arvu. Vananeva lihase müofibrillaarsete valkude metabolism on seotud muutustega MHC isovormilises kompositsioonis ning on selles osas jõutreeninguga vähesel määral mõjutatav (Seene et al., 2011). Samas on teada, et vananemise ja müopaatiaga kaasnev lihasnõrkus on seotud otseselt lihasjõu langusega, mistõttu on jõutreeningu rakendamine kontraktiilaparaadi stimuleerimiseks õigustatud (Seene ja Kaasik, 2012).

Lisaks lihasjõu langusele, on vanemaealistel täheldatud ka skeetilihaste oksüdatiivse potentsiaali langust, mistõttu võiks taastumisprotsessis kasutada ka lihasvastupidavust arendavaid harjutusi (Seene ja Kaasik, 2012). Vastupidavusliku iseloomuga treening suurendab kardiovaskulaarset võimekust ning mitokondrite arvu lihases (Michael et al., 2010). Vastupidavusliku treeningu mõjul suureneb skeetilihaste oksüdatiivne potentsiaal ning paraneb müofibrillaarsete valkude ainevahetus (Seene ja Kaasik, 2012). Vastupidavusliku iseloomuga treening ei kutsu esile küll lihahüpertroofiat, aga on leitud, et see vähendab atroofia tekkimist (Lapier, 1997). Lihaste oksüdatiivse potentsiaali ning kontraktiilsuse arendamisega on võimalik säilitada lihaste plastilisust, mis loob vananevale populatsioonile eeldused iseseisvuse säilitamiseks liigutustegevusel (Suominen, 2011). Hickson et al. (1981) leidsid, et GM poolt põhjustatud lihasmassi kadu on võimalik ennetada jooksutreeninguga.

Falduto et al. (1992) alustasid vastupidavusliku treeninguga 4. glükokortikoidide manustamise päeval kui 10% lihasmassi kadu oli juba toimunud ja leidsid, et 12 nädala möödudes oli *m. quadriceps femoris*' e ja *m. plantaris*' e mass oluliselt suurem võrreldes kontrollgrupi katseloomadega, kes treeningus ei osalenud.

2. TÖÖ EESMÄRK JA ÜLESANDED

Uurimistöö eesmärgiks oli selgitada glükokortikoidide manustamise järgsest müopaatiast taastumise mõju organismi seisundile.

Lähtuvalt töö eesmärgist seati järgmised ülesanded:

1. Määrata glükokortikoidide manustamise mõju lihasjõule, kehamassile, skeletilihaste massile ning *m. plantaris*' e valgulisele sisaldusele
2. Selgitada glükokoidsest müopaatiast taastumise dünaamikat lihasjõule, kehamassile, lihaste massile ning jõuharjutuse mõju taastumisele
3. Selgitada *m. plantaris*' e müofibrillaarsete ja sarkoplasmaatilise valkude ning müosiini raskete ahelate sisalduse taastumist glükokortikoidsest müopaatiast

3. METOODIKA

3.1 Katseloomad

Ekspirimendis kasutati 22 kuni 24 kuu vanuseid emaseid Wistar liini rotte (n=21). Katseloomad jaotati 5 gruppi: kontrollgrupp (kontroll) (n=4); deksametasooni manustamine 10 päeva (DEX 10p) (n=5); deksametasooni manustamine koos 10-päevase taastumisega (taast 10p) (n=4); deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumisega (taast 20p) (n=4); deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumise ja harjutusega (taast+harj 20p) (n=4). Kogu eksperimendi vältel säilitati kõigil loomadel sarnased keskkonnatingimused. Loomad olid ühesugusel dieedil (R70, Laktamiin, Stockholm, Rootsi) ja toitu ning vett said katseloomad *ad libitum*. Vivaariumi temperatuur oli 21 °C ning reguleeritud valguse/pimeduse tsüklil (12/12 tundi). Eksperimendid viidi läbi vastavalt Eesti Vabariigi Põllumajandusministeeriumi loomkatsete läbiviimise komisjoni loale nr. 48 7.02.2006.

3.2 Deksametasooni manustamine

Glükokortikoidse müopaatia esile kutsumiseks manustati katseloomadele deksametasooni (Dexafort 3 mg/ml; International B.V. Boxmeer, the Netherlands), mis lahjendati 0,15 M NaCl kontsentratsioonini 500 µg/ml. Kõikidele loomadele süstiti kõhuõõnde 50 µg deksametasooni 100 g kehamassi kohta 10 päeva jooksul. 24 tundi pärast 10-päevast deksametasooni manustamist DEX 10p grupi loomad ohverdati ketamiini (Bioketan Vetoquinol Biowert Sp. Z o.o.) üledoosiga. Taast 10p ja taast 20p grupi loomad jäeti vivaarumisse taastuma. Taast+harj 20p loomad sooritasid kehakaaluga jõuharjutusi vertikaalsel jooksurajal. Kõik taastumisgruppide loomad ohverdati pärast taastumisperioodi lõppu ketamiini ja ksülasiini üledoosiga.

3.3 Jõuharjutus vertikaalsel jooksurajal

Katseloomade jõuharjutust sooritati vertikaalsel jooksurajal (Pehme ja Seene, 1996), vastavalt tabelis 1 toodud skeemile. Jõuharjutustega alustati taastumise 4. päeval, igal harjutuskorral sooritati vastavalt 3, 4, 5 kordust (1 kordus = 5 sekundit, mille jooksul läbitud teepikkus = 1,5 m), puhkeintervall seeriate vahel 1-2 minutit. Algne liikumiskiirus harjutusel oli 12 m/min, pärast 4. korda suurendati kiirust 18 m/min.

Tabel 1. Katseloomade jõuharjutuse läbiviimise skeem vertikaalsel jooksurajal.

Taastumine (päevad)	Harjutuskorrad	Jooksulindi liikumiskiirus	Teepikkus	Kordused
4	1. harjutuskord	12m/min	1,5m	3x kehamass
5	Puhkepäev			
6	2. harjutuskord	12m/min	1,5m	4x kehamass
7	Puhkepäev			
8	3. harjutuskord	12m/min	1,5m	5x kehamass
9	Puhkepäev			
10	Puhkepäev			
11	4. harjutuskord	12m/min	1,5m	5x kehamass
12	Puhkepäev			
13	5. harjutuskord	18m/min	1,5m	3x kehamass
14	Puhkepäev			
15	6. harjutuskord	18m/min	1,5m	4x kehamass
16	Puhkepäev			
17	Puhkepäev			
18	7. harjutuskord	18m/min	1,5m	4x kehamass
19	Puhkepäev			
20	8. harjutuskord	18m/min	1,5m	5x kehamass

3.4 Katseloomade kehakaalu määramine

Ekspereimendi alguses fikseeriti kõikide katseloomade kehamass ning katse käigus kaaluti loomi iga päev kuni ohverdamiseni (täpsusega ± 1 g).

3.5 Katseloomade tagajäsemete maksimaalse haardejõu määramine

Tagajäsemete maksimaalne haardejõud (täpsusega $\pm 0,05$ N) määrati eksperimeendi alguses, pärast 10-päevast deksametasooni manustamist ning 10., 15., ja 20. taastumise päeval.

Haardejõu mõõtmiseks kasutati spetsiaalset laboratoorsetele katseloomadele konstrueeritud dünamomeetrit – Grip Strength Meter 0167-004L (Columbus Instruments, USA).

3.6 Lihaste eraldamine ja kaalumine

Pärast katseloomade ohverdamist eemaldati järgmised lihased: *m. soleus*, *m. plantaris*, *m. extensor digitorum longus* (*m. EDL*), *m. tibialis anterior* (*m. TA*), *m. gastrocnemius*, puhastati, kaaluti täpsusega ± 1 mg ning säilitati -80 °C juures edaspidisteks analüüsideks.

3.7 Valgusisalduse määramine skeletilihases

Sarkoplasmaatiliste valkude eraldamiseks pulbristati külmutatud *m. plantaris*' e koetükk (50 mg) vedelas lämmastikus ja homogeniseeriti lahuses (20 Mm TRIS, 2 mM EDTA, 175 Mm KCl, 0,5% Triton X-100 pH=6,8) ning inkubeeriti jääl 10 minutit. Seejärel tsentrifugiti 10 000 pööret minutis 15 minutit $+4$ °C juures (Sato et al., 2009). Koguti supernatant (sarkoplasmaatilised valgud) ja määrati valk, sadet kasutati müofibrillaarsete valkude määramiseks.

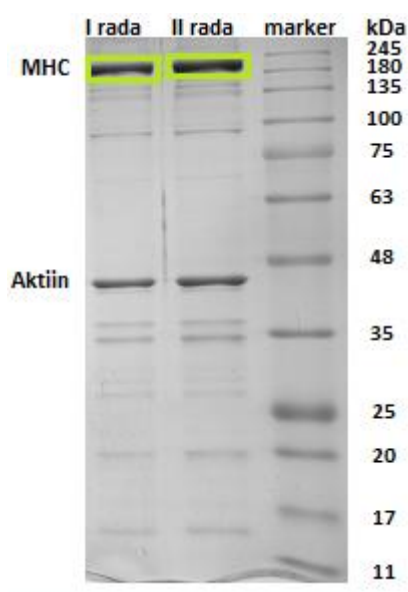
Müofibrillaarsete valkude eraldamise protseduur põhineb Drzymala-Celichowka et al. (2012) kirjeldatud meetodikal. Sade (müofibrillaarsed valgud) suspendeeriti 1 ml 2% SDS' i, segati ja proove kuumutati (100 °C) 10 minutit. Pärast kuumutamist tsentrifugiti 10 000 pööret/minutis 20 minutit $+25$ °C juures. Müofibrillaarseid valke sisaldav supernatant koguti, määrati valk ja kasutati edaspidisteks analüüsideks.

Sarkoplasmaatiliste ja müofibrillaarsete valkude kontsentratsioon määrati uuritavates proovides kasutades DC Protein Assay (Bio-Rad). Antud analüüs põhineb Lowry meetodil (Lowry et al., 1951) ja võimaldab määrata valkude kontsentratsiooni detergenti (SDS) sisaldavates proovides.

3.8 Müosiini raskete ahelate (MHC) sisaldus

MHC sisaldus *m. plantaris*' e müofibrillaarvalkude fraktsioonis määrati elektroforeetiliselt kasutades SDS-PAAG tehnikat (Laemmli, 1970). Akrüülamiidi kontsentratsioonid lahutavas ja kontsentreerivas geelis olid vastavalt 10% ja 4%, lahutav geel sisaldas 10% glütserooli. Uuritavad proovid lahjendati valgu kontsentratsioonini $0,5$ µg/ml Laemmli proovi puhvriga (5% β -merkaptopetaanol, 100 mM Tris, 5% glütserool, 4% SDS, 0,05% broomfenooolsinine,

pH 6,8) (Laemmli, 1970), radadele kanti 5-7 µl proovi. Analüüsitavate molekulide suuruse määramiseks jooksutati proove paralleelselt markeriga (kindlaksmääratud suurusega molekulide segu Protein Marker VI (10-245) prestained Protein Ladder, Appli Chem). Elektroforeesi tingimused: 2,5h, 15 mA, +4 °C (Mini-Protean 3 Cell, Bio-Rad, USA). Lahutatud valkude visualiseerimiseks värviti geelid Coomassie Brilliant Blue värvilahusega. MHC molekulaalule (190 kDa) vastav *band* identifitseeriti kasutades molekulaalu markerit (Protein Marker VI (10-245) prestained Protein Ladder, Appli Chem). Geelide pildistamiseks ja dokumenteerimiseks (joonis 1) kasutati G:box BioImaging Systems (Syngene, UK) ja MHC analüüsimiseks programmi GeneSpan (Syngene, UK). MHC sisaldus väljendati AU (kokkuleppeline ühik)/mg lihaskoe kohta (Mozaffar et al., 2007).



Joonis 1. *M. plantaris*' e müofibrillaarsete valkude elektroforeogramm (10% SDS-PAAG). MHC – müosiini rasked ahelad; marker – 10-245 kDa.

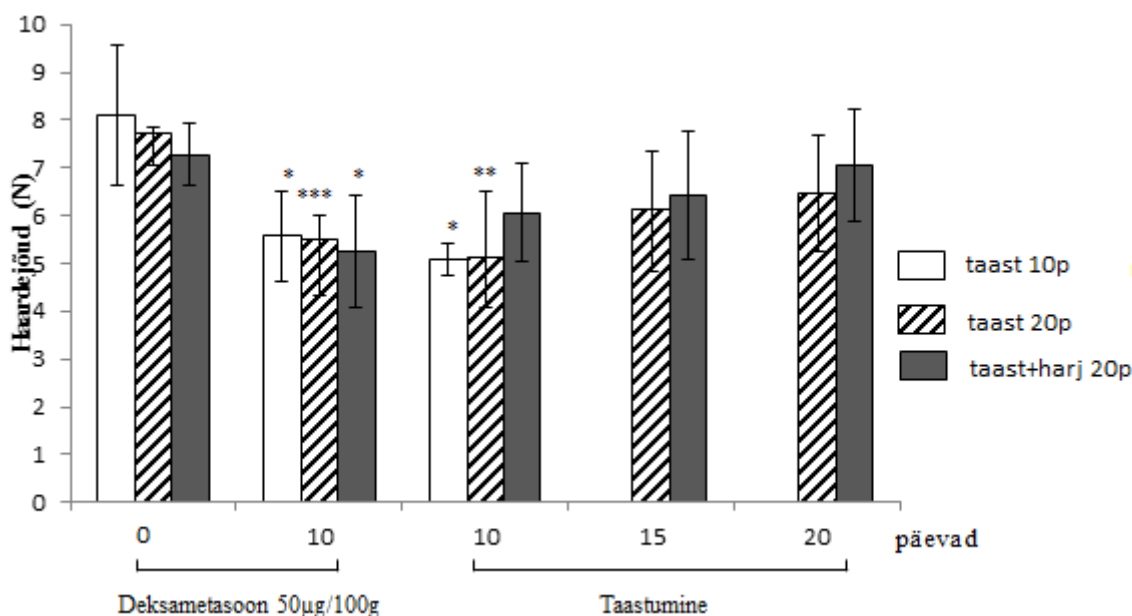
3.9 Statistika

Kogutud andmed töödeldi statistiliselt, arvutati aritmeetiline keskmine ja standardhälve. Keskmise väärtuste võrdlus toimus Student' i t-testiga (olulisuse nivoo $p \leq 0,05$).

4. TÖÖ TULEMUSED

4.1 Lihasjõud

Ekspriimendi tulemused näitasid, et deksametasooni manustamine (50 µg/100 g) kümne päeva jooksul vähendas statistiliselt oluliselt ($p \leq 0,05$) katseloomade tagajäsemete haardejõudu (joonis 2). 10. päevaks oli gruppides lihasjõud langenud vastavalt 31,2%; 28,8% ja 27,9%. Kaks gruppi (taast 10p ja taast 20 p) demonstreerisid taastumise 10. päevaks endiselt statistilist erinevust lihasjõu osas võrreldes algtasemega, samuti ka seda, et lihasjõu langus jätkus eelnimetatud gruppides ka pärast deksametasooni manustamist. 15. ja 20. päevaks oli vaatlusaluste lihasjõud taastunud sellisele tasemele, kus statistilisi erinevusi gruppide keskmistes tulemustes võrreldes algnäitajatega ei esinenud. Taastumise 20. päevaks jäi lihasjõud (taast 20p grupis) 16,5% ja (taast+harj 20p grupis) 3,1% madalamaks võrreldes algtasemega.



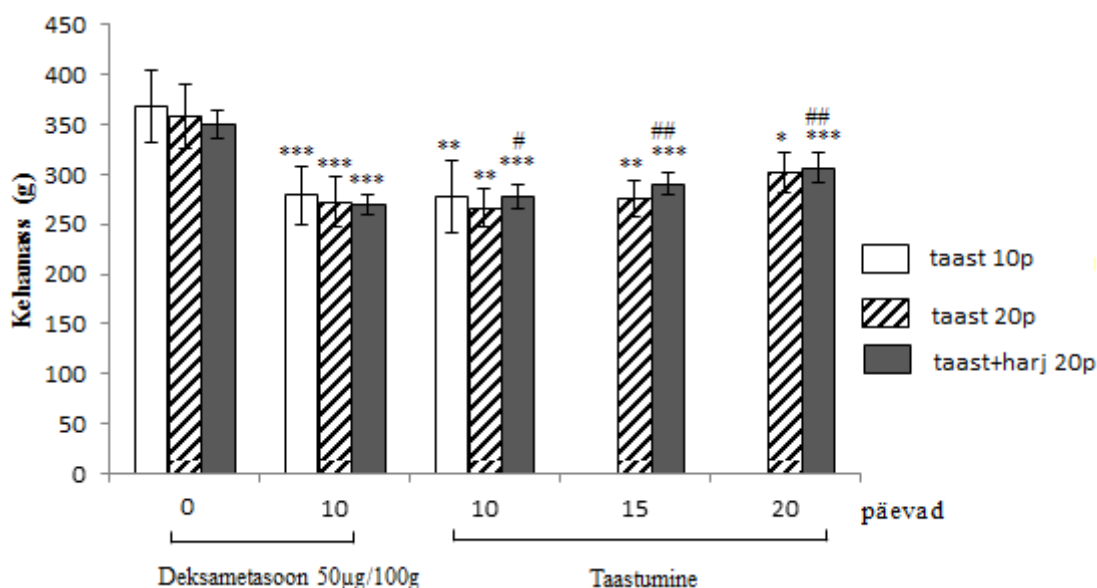
Joonis 2. Katseloomade tagajäsemete haardejõud (N), $X \pm SD$.

Statistiliselt oluline muutus nivool * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,005$; *** $p \leq 0,001$ võrreldes vastava grupi algtasemega. Taast 10p – deksametasooni manustamine koos 10-päevase taastumisega; taast 20p – deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumisega; taast+harj 20p – deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumise ja harjutusega.

4.2 Kehamass

Sarnaselt lihasjõule, leidis 10-päevase deksametasooni manustamise tulemusena aset langus ka katseloomade kehamassis (joonis 3). Kehamassi langus oli kõikides gruppides oluline ($p \leq 0,05$) ning võrreldes algtasemega vastavalt 24,2%; 23,9% ja 23,3% madalam.

Taastumise 10. päevaks oli märgata kahes grupis (taast 10p ja taast 20p) endiselt kehamassi languse tendentsi (kehamass langes veel 0,5% ja 2,5% võrra), treeninggrupi katseloomad olid samaks hetkeks saavutanud aga 3,2% kehamassi tõusu, mis oli ka statistiliselt oluline võrreldes manustamise lõpetamisel saadud tulemustega ($p \leq 0,05$). Kehamass taastus mõnevõrra nii 15. kui ka 20. taastumise päevaks, jäädes aga algtasemest oluliselt madalamaks ($p \leq 0,05$). Võrreldes manustamise lõpetamisel saadud tulemustega oli kehamassi tõus 15. ja 20. päevaks harjutuste grupis aga statistiliselt oluline ($p \leq 0,05$). 20. taastumise päevaks jäi katseloomade kehamass mõlemas grupis võrreldes algtasemega vastavalt 15,7% ja 12,5% madalamaks. Gruppide vahelises võrdluses oli märgata, et (taast+harj 20p) grupis tõusis kehamass küll 3,2% rohkem, aga see ei olnud (võrreldes taast 20p grupiga) statistiliselt oluline erinevus ($p \geq 0,05$).



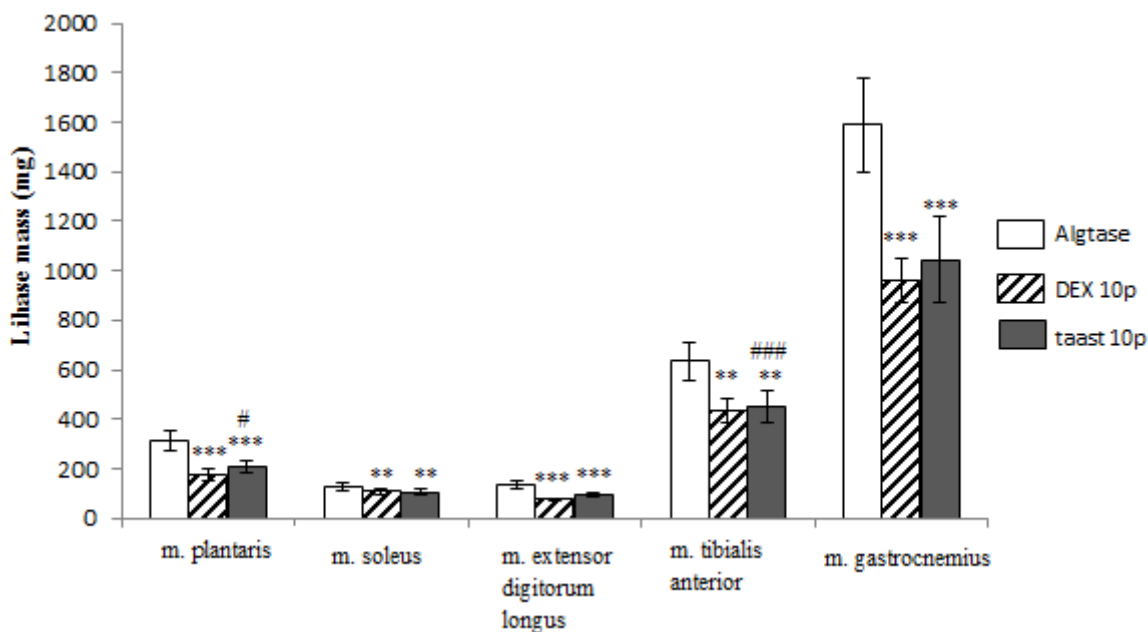
Joonis 3. Katseloomade kehamass (g), $X \pm SD$.

Statistiliselt oluline muutus nivool * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,005$; *** $p \leq 0,001$ võrreldes vastava grupi algtasemega, # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,005$ võrreldes manustamise lõpetamisega. Taast 10p – deksametasooni manustamine koos 10-päevase taastumisega; taast 20p – deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumisega; taast+harj 20p – deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumise ja harjutusega.

4.3 Lihaste mass

Ekspereimendi tulemused näitasid, et viie uuritava lihase (*m.plantaris*, *m.soleus*, *m. extensor digitorum longus* (*m.EDL*), *m. tibialis anterior* (*m. TA*), *m. gastrocnemius*) mass vähenes 10-päevase deksametasooni manustamise järgselt statistiliselt oluliselt ($p \leq 0,05$), ning ei olnud

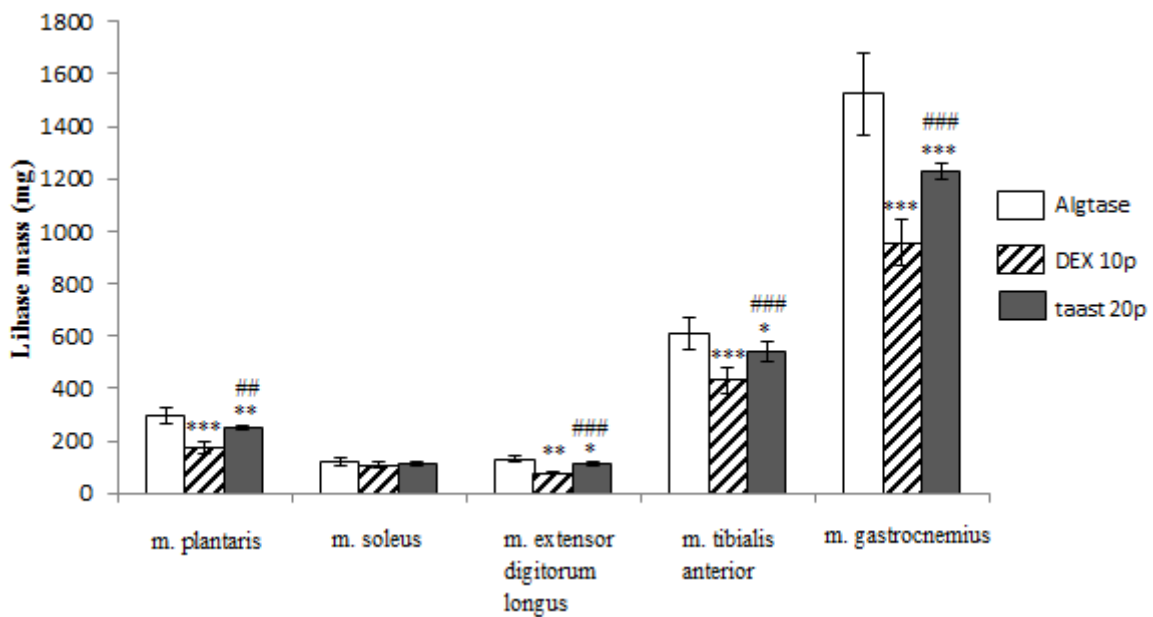
10. taastumise päevaks oluliselt tõusnud (joonis 4). *M. plantaris*' e mass jäi võrreldes algtasemega 32,9%, *m. soleus* 16,6%, *m.EDL* 30,7%, *m. TA* 28,9% ning kõige rohkem *m. gastrocnemius* 34,4% madalamaks. Taastumisel (võrreldes deksametasooni manustamise lõpetamisega) suurenes oluliselt nii *m. plantaris*' e kui ka *m. TA*' i mass.



Joonis 4. Katseloomade lihaste mass (mg) 10-päevasel taastumisel, $X \pm SD$.

Statistiliselt oluline muutus nivool ** $p \leq 0,005$; *** $p \leq 0,001$ võrreldes vastava lihase algtasemega, # $p \leq 0,05$; ### $p \leq 0,001$ võrreldes manustamise lõpetamisega (DEX 10p). DEX 10p – deksametasooni manustamine 10 päeva; taast 10p – deksametasooni manustamine koos 10-päevase taastumisega.

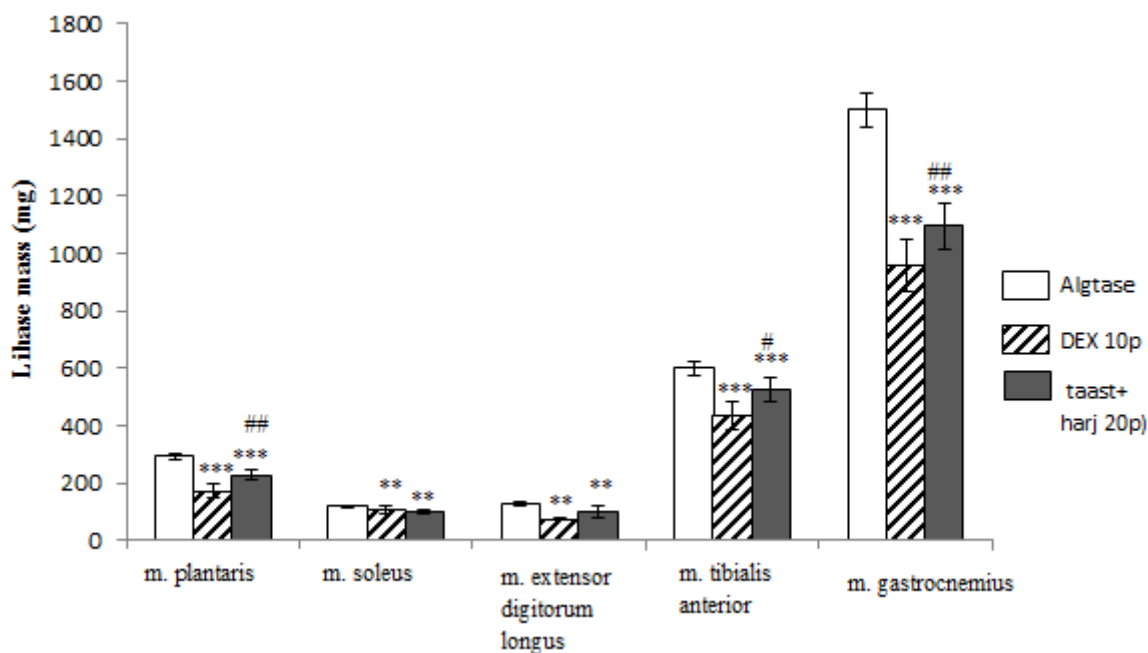
Selgus, et ka 20-päevase taastumise järgselt ei olnud lihaste massid deksametasooni manustamisest taastunud, jäädes pärast taastumist kõikides lihastes (v.a. *m. soleus*) statistiliselt oluliselt madalamaks ($p \leq 0,05$) (joonis 5). Võrreldes algtasemega jäi *m. plantaris*' e mass 16,2%, *m. soleus* 6,8%, *m. EDL* 13,9%, *m. tibialis anterior* 11,3% ning *m. gastrocnemius* 19,7% madalamaks. 20-päevasel taastumisel suurenes statistiliselt oluliselt nii *m. plantaris*' e, *m. EDL*' i, *m. TA*' i kui ka *m. gastrocnemius*' e mass.



Joonis 5. Katseloomade skeletilihaste mass (mg) 20-päeval taastumisel glükokortikoidsest müüopaatias, $X \pm SD$.

Statistiliselt oluline muutus nivool * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,005$; *** $p \leq 0,001$ võrreldes vastava lihase algtasemega, ## $p \leq 0,005$; ### $p \leq 0,001$ võrreldes manustamise lõpetamisega (DEX 10p). DEX 10p – deksametasooni manustamine 10 päeva; taast 20p – deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumisega.

Katseloomad, kes sooritasid taastumisperioodil harjutust, demonstreerisid taastumise lõpuks sarnaseid tulemusi katseloomadega, kes harjutust ei sooritanud (joonis 6). Kõikide lihaste massides oli taastumisperioodi lõpuks tuvastatav oluline langus võrreldes algtasemega ($p \leq 0,05$), jäädes *m. plantaris*' es 22,1%, *m. soleus*' es 16,5%, *m. extensor digitorum longus*' es 22%, *m. tibialis anterior*' is 12,6% ning *m. gastrocnemius*' es 26,9% madalamaks. Harjutust sooritanud katseloomadel suurenes pärast deksametasooni manustamise lõpetamist oluliselt *m. plantaris*' e, *m. TA*' i ja *m. gastrocnemius*' e mass. *M. soleus*' e ja *m. EDL*' i massides olulist suurenemist ei esinenud.

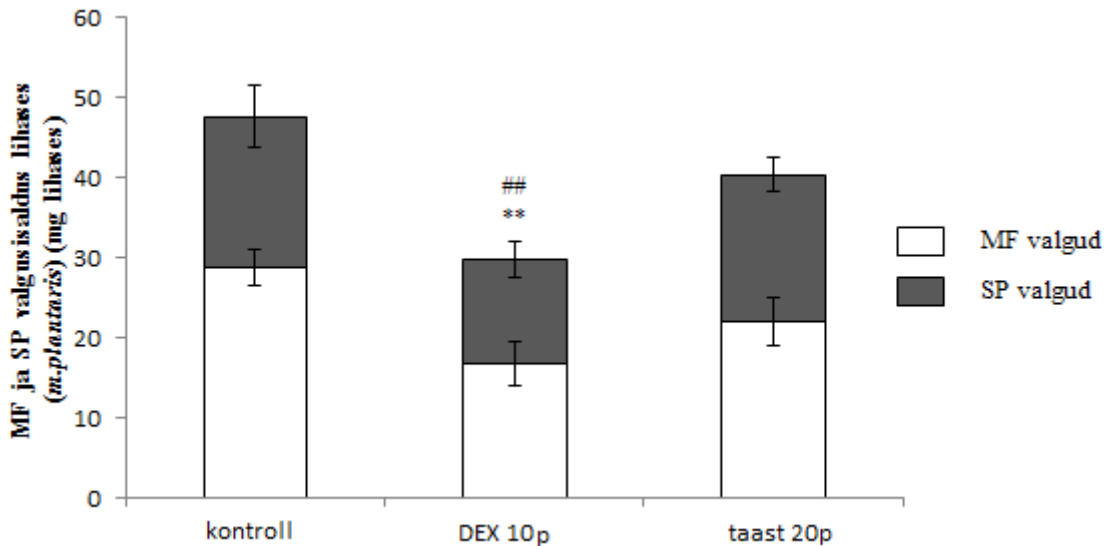


Joonis 6. Katseloomade skeletilihaste mass (mg) 20-päevaselt taastumisel jõuharjutustega glükokortikoidsest müopaatiast, $X \pm SD$.

Statistiliselt oluline muutus nivool ** $p \leq 0,005$; *** $p \leq 0,001$, # $p \leq 0,05$; ## $p \leq 0,005$; ### $p \leq 0,001$ võrreldes manustamise lõpetamisega (DEX 10p). DEX 10p – deksametasooni manustamine 10 päeva; taast+harj 20p – deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumise ja harjutusega.

4.4 Müofibrillaarsete ja sarkoplasmaatiliste valkude sisaldus

Eksperiment näitas, et 10-päevase deksametasooni manustamise järgselt vähenes statistiliselt oluliselt nii müofibrillaarsete kui ka sarkoplasmaatiliste valkude sisaldus *m. plantaris* es (joonis 7). Müofibrillaarsete valkude sisaldus vähenes 41,7% ning sarkoplasmaatiliste valkude sisaldus 37,5%. Taastumisel ilmnis, et valgusisaldus suurenes 20 päevaga sellisele tasemele, kus olulist erinevust algtasemega võrreldes ei esinenud, aga tulemused jäid endiselt 23,3% ja 16,3% madalamaks.

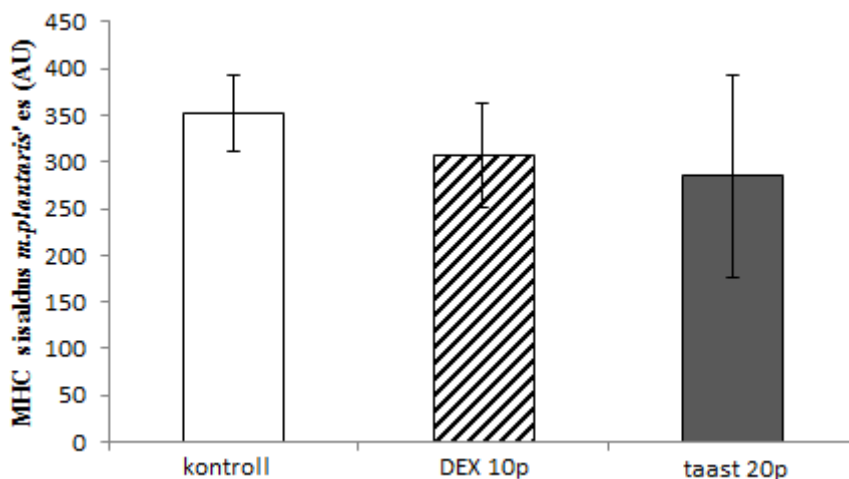


Joonis 7. Katseloomade müofibrillaarsete (MF) ja sarkoplasmaatiliste (SP) valkude sisaldus *m.plantaris*' es (mg lihases), $X \pm SD$.

Statistiliselt oluline muutus nivool ** (MF), ## (SP) $p \leq 0,005$ võrreldes vastava valguga algtasemega.

4.5 Müosiini raskete ahelate sisaldus

Müosiini raskete ahelate (MHC) sisalduse määramisel selgus, et 10-päevasele deksametasooni manustamisele järgnes 13% langus katseloomade MHC sisalduses (joonis 8). 20. taastumise päevaks oli MHC sisaldus langenud veel 6,3%, aga võrreldes kontrollgrupiga ei esinenud statistiliselt olulist erinevust.



Joonis 8. Katseloomade MHC sisaldus (kokkuleppeline ühik (AU)/mg lihaskoe kohta) *m.plantaris*' es, $X \pm SD$. DEX 10p – deksametasooni manustamine 10 päeva; taast 20p – deksametasooni manustamine koos 20-päevase taastumisega.

5. ARUTELU

Glükokortikoidide kasutamine on meditsiinis laialt levinud ning leiab rakendust peamiselt süsteemsete haiguste ning pehmekeeliste häirete korral (Pereira ja Carvalho, 2011). Glükokortikoidset müopaatiat (GM) seostatakse fluorineeritud glükokortikoidide kasutamisega, mille korral leiab aset lihasvalkude degradatsioon ning sünteesi vähenemine (Salehian ja Kejriwal, 1999).

Üks põhilistest GM ilmingutest on lihasjõu langus (Seene, 1988). Käesolevas eksperimendis leiti, et deksametasooni manustamine (50 µg/100 g kehamassi kohta) vähendas 10. päevaks oluliselt katseloomade tagajäsemete haardejõudu (keskmiselt 29,3%). Sarnaste tulemusteni jõudsid ka Kaasik et al. (2007), kes leidsid 10 päeva jooksul poole suurema doosi deksametasooni manustamisel (100 µg/100 g kehamassi kohta) olulise languse katseloomade tagajäsemete lihasjõus. Antud uuringus ilmnes, et mõlemas taastumise grupis langesid tagajäsemete haardejõu näitajad ka pärast deksametasooni manustamise lõpetamist ning olid 10. taastumise päevaks statistiliselt oluliselt madalamad. 15. ja 20. päevaks oli katseloomade tagajäsemete haardejõud märgatavalt suurenenud ning ei erinenud oluliselt algtasemest. Harjutust sooritanud katseloomade lihasjõud oli küll mõnevõrra suurem kui katseloomadel, kes harjutusi ei sooritanud, aga statistilist olulist erinevust tulemustes ei ilmnenud. Jõuharjutuste sooritamisel on täheldatud lihaste ainevahetuse kiirenemist ning funktsionaalsuse paranemist (Seene et al., 2011), aga antud uuringus see lihasjõu osas kinnitust ei leidnud. Võib eeldada, et harjutuse positiivne mõju jõunäitajatele ilmneb suuremal määral hiljem (Falduto et al., 1992).

Käesolev eksperiment näitas, et 10-päevane deksametasooni manustamine vähendas kõigi viie uuritava lihase (*m.plantaris*, *m.soleus*, *m. extensor digitorum longus*, *m. tibialis anterior*, *m. gastrocnemius*) massi olulisel määral. Lihasjõu languse peamiseks põhjuseks GM korral on II tüüpi lihaskiudude atroofia, mistõttu on rohkem haaratud kiireid lihaskiude sisaldavad lihased (Seene, 1988; Schakman et al., 2008). Varasemalt on leitud, et glükokortikoidide manustamine ei mõjuta oluliselt oksüdatiivse iseloomuga lihaseid (Schakman et al., 2008), mis on vastuolus käesoleva uuringu tulemustega. Taastumisperioodil ilmnes oluline tõus antud uuringu katseloomade lihaste massides võrreldes ravimi manustamise lõpetamisega, kuid lihaste kaalud jäid võrreldes algtasemega oluliselt madalamaks. Erandiks oli *m. soleus*, mis 20-päevasel taastumisel ilma treeninguta ei erinenud oluliselt algtasemest. *M. Soleus'* e massi suurenemine ühes grupis võib viidata GM kiuspetsiifilisele mõjule, mille tulemuseni jõudis ka Riso et al. (2008). Falduto et al. (1992) leidsid 12-nädalase taastumise järgselt

olulise lihasmassi suurenemise katseloomadel, kes sooritasid jooksutreeningut, mistõttu ei pruukinud olla käesolevas eksperimendis rakendatud 20-päevane sekkumine piisav, et väljenduks oluline erinevus treenitavate lihaste massides.

Käesolevas uuringus selgus, et 10-päevane deksametasooni manustamine vähendas katseloomade kehamassi (keskmiselt 23,8%). Nagu ka eelnevate näitajate osas kestis glükokortikoidide mõju ka taastumise algfaasis, kus kehamassi langes esimese 2-3 päeva jooksul veelgi. Harjutust sooritanud katseloomade kehamass suurenes meie eksperimendis taastumisel statistiliselt oluliselt (eksperimendi lõpuks 3,2% rohkem võrreldes harjutust mitte sooritanud grupiga), jäädes 20. päevaks siiski algtasemest 12,5% madalamaks. Kehamass langeb GM korral nii lihas- kui ka rasvamassi arvelt (Macedo et al., 2016; Ellam, 2016). Ellam (2016) tuvastas 20-päevase taastumise järgselt küll olulise suurenemise rasvavaba massis, aga rasvamassi taastumine selle aja jooksul ei realiseerinud, mis võib selgitada osaliselt ka meie tulemusi.

Eksperimendi tulemused näitasid, et *m. plantaris*' e valgusisaldus langes müopaatia tingimustes statistiliselt oluliselt. Langus toimus nii müofibrillaarsete kui ka sarkoplasmaatiliste valkude osas sarnaselt (vastavalt 41,7% ja 37,5%). Varasemalt on räägitud peamiselt müofibrillaarsete valkude sisalduse langusest lihasatroofia tingimustes (Sato et al., 2014), samas ühtivad käesoleva uuringu tulemused Goldberg (1969) eksperimendiga, kus tuvastati sarnane langus nii müofibrillaarsete kui ka sarkoplasmaatiliste valkude osas. 20. taastumise päevaks ei erinenud antud uuringus valkude tase *m. plantaris*' es statistiliselt oluliselt võrreldes kontrollgrupi loomadega.

Varasemates uuringutes on leitud, et GM tingimustes väheneb oluliselt MHC süntees (Kaasik et al., 2007). Ka käesoleva eksperimendi tulemused näitasid MHC sisalduse langust, mis oli pärast deksametasooni manustamise lõpetamist 13% ja langes 20. päevaks veel 6,3%. Vaatamata kestvale langusele taastumisperioodil ei olnud tulemused statistiliselt olulised, millest võib järeldada, et organism suudab võrdlemisi hästi säilitada müopaatia tingimustes MHC sisaldust, mis võib olla ka üheks oluliseks faktoriks funktsionaalsuse säilitamise aspektist. GM korral leiab aset MHC isovormilise kompositsiooni transformatsioon, mille käigus remodelleeruvad lihaskiud kiiremalt aeglasemale (Seene et al., 2003).

GM kutsub esile mitmeid muutusi organismis, milleks on lihasjõu, kehamassi, lihaste massi ning valgusisalduse vähenemine. GM taastumise efektiivsus ilmneb ainuüksi ravimi manustamise lõpetamisel, aga teatud olukordades ei pruugi olla see võimalik. Käesolevas uuringus ei saanud kinnitust jõuharjutuste kasutamise efektiivsus lühiajalisel treeningul GM

korral. Olulist positiivset mõju on tõestatud pikemaajaliste harjutusprogrammide kasutamisel, kuigi jääb selgusetuks, milline oleks kõige efektiivsem harjutusmetoodika glükokortikoidsest müopaatias taastumisel (Falduto et al., 1992).

6. JÄRELDUSED

1. Glükokortikoidide manustamise järgselt langes oluliselt katseloomade tagajäsemete haardejõud, keha- ja lihaste mass (*m. plantaris*, *m. soleus*, *m. extensor digitorum longus*, *m. tibialis anterior*, *m. gastrocnemius*) ning *m. plantaris'* e müofibrillaarsete ja sarkoplasmaatiliste valkude sisaldus. Müosiini raskete ahelate sisalduses olulisi muutusi ei toimunud.
2. Glükokortikoidsest müopaatiast taastumisel suurenes katseloomade tagajäsemete haardejõud ning ei erinenud statistiliselt oluliselt algtasemest
3. Kehamass suurenes taastumisel oluliselt võrreldes müopaatia seisundiga kuid jäi statistiliselt oluliselt madalamaks algtasemest.
4. Taastumisperioodil suurenes skeetilihaste mass oluliselt võrreldes glükokortikoidse müopaatia seisundiga, kuid jäi oluliselt madalamaks uuritavate skeetilihaste algtasemest.
5. Glükokortikoidsest müopaatiast taastumisel müofibrillaarsete ja sarkoplasmaatiliste valkude sisaldus suurenes ja ei erinenud oluliselt algtasemest.

KASUTATUD KIRJANDUS

1. Bonaldo P, Snadri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease Models & Mechanism* 2013; 6(1): 25-39.
2. Drzymala-Celichowka H, Karolczak J, Redowicz MJ, Bukowska D. The content of Myosin Heavy Chains in Hindlimb Muscles of Female and Male Rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2012; 63(2): 187-193.
3. Ellam, A. Glükokortikoidsete hormoonide kõrgete dooside mõju lihas-, rasv- ja luukoele ning regeneratsioonipotentsiaali avaldumisele. Magistritöö. Tartu: Tartu Ülikooli sporditeaduste ja füsioteraapia instituut; 2016.
4. Falduto MT, Young AP, Hickson RC. Exercise inhibits glucocorticoid-induced glutamine synthetase expression in red skeletal muscles. *The American Journal of Physiology* 1992; 262(1): 214-20.
5. Goldberg AL. Protein turnover in skeletal muscle. Protein turnover in skeletal muscle. II. Effects of denervation and cortisone on protein catabolism in skeletal muscle. *The Journal of Biological Chemistry* 1969; 244(12): 3223-9.
6. Haus JM, Carrithers JA, Trappe SW, Trappe TA. Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 2007; 103(6): 2068–2076.
7. Hickson RC, Davis JR. Partial prevention of glucocorticoid-induced muscle atrophy by endurance training. *The American Journal of Physiology* 1981; 241(3): 226-32.
8. Kaasik P, Umnova M, Pehme A, Alev K, Aru M et al. Ageing and dexamethasone associated sarcopenia: peculiarities of regeneration. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2007; 105(1-5): 85-90.
9. Kjaer M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiological Reviews* 2004; 84: 649-698.
10. Laemmli, UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227: 680-685.
11. Lapier TK. Glucocorticoid-induced muscle atrophy. The role of exercise in treatment and prevention. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation* 1997; 17(2): 76-84.
12. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* 1951; 193(1): 265-75.
13. Macedo AG, Krug AL, Souza LM, Martuscelli AM, Constantino PB et al. Time-course changes of catabolic proteins following muscle atrophy induced by dexamethasone. *Steroids* 2016; 107: 30-6.

14. Michael S, Goldhammer E, David BS, Amir R. Factors defining oxygen uptake at peak exercise in aged people. *European Review of Aging and Physical Activity* 2010; 7: 1-2.
15. Minetto MA, Qaisar R, Agoni V, Motta G, Longa E et al. Quantitative and qualitative adaptations of muscle fibers to glucocorticoids. *Muscle & Nerve* 2015; 52(4): 631-9.
16. Moore DR, Tang JE, Burd NA, Rerечich T, Tarnopolsky MA, Phillips SM. Differential stimulation of myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis with protein ingestion at rest and after resistance exercise. *The Journal of Physiology* 2009; 587: 897-904.
17. Mozaffar T, Haddad F, Zeng M, Zhang LY, Adams GR et al. Molecular and cellular defects of skeletal muscle in an animal model of acute quadriplegic myopathy. *Muscle & Nerve* 2007; 35(1): 55-65.
18. Ohtsuki I, Maruyama K, Ebashi S. Regulatory and cytoskeletal proteins of vertebrate skeletal muscle. *Advances in Protein Chemistry* 1986; 38: 1-67.
19. Patel TJ, Lieber RL. Force transmission in skeletal muscle: from actomyosin to external tendons. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 1997; 25: 321-363.
20. Pehme A, Seene T. A model for strength exercise of skeletal muscle in rat. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 1996; 23: 419-424.
21. Pereira RM, Carvalho JF. Glucocorticoid-induced myopathy. *Joint Bone Spine* 2011; 78(1): 41-4.
22. Pu CT, Johnson MT, Forman DE, Hausdorff JM, Roubenoff R et al. Randomized trial of progressive resistance training to counteract the myopathy of chronic heart failure. *Journal of Applied Physiology (1985)* 2001; 90(6): 2341-50.
23. Riso EM, Ahtikoski A, Alev K, Kaasik P, Pehme A. Relationship between extracellular matrix, contractile apparatus, muscle mass and strength in case of glucocorticoid myopathy. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2008, 108(1-2); 117-20.
24. Salehian B, Kejriwa K. Glucocorticoid-induced muscle atrophy: mechanism and therapeutic strategies. *Endocrine Practice* 1999; 5(5), 277-281.
25. Santos CADS, Dantas EEM, and Moreira MHR. Correlation of physical aptitude; functional capacity, corporal balance and quality of life (QoL) among elderly women submitted to a post-menopausal physical activities program. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 2011; 53(3): 344-9.
26. Sato Y, Shimizu M, Mizunoya W, Wariishi H, Tatsumi R et al. Differential expression of sarcoplasmic and myofibrillar proteins of rat soleus muscle during denervation atrophy. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 2009; 73(8): 1748-56.

27. Savary I, Debras E, Dardevet D, Sornet C, Capitan P et al. Effect of glucocorticoid excess on skeletal muscle and heart protein synthesis in adult and old rats. *The British Journal of Nutrition* 1998; 79(3): 297-304.
28. Schakman O, Gilson H, Thissen JP. Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy. *The Journal of Endocrinology* 2008; 197: 1-10.
29. Seene T, Viru A. The catabolic effect of glucocorticoids on different types of skeletal muscle fibres and its dependence upon muscle activity and interaction with anabolic steroids. *Journal of Steroid Biochemistry* 1982; 16(2): 349-52.
30. Seene T, Umnova M, Alev K, Pehme A. Effect of glucocorticoids on contractile apparatus of rat skeletal muscle. *Journal of Steroid Biochemistry* 1988; 29(3) 313– 317.
31. Seene T, Kaasik P, Pehme A, Alev K, Riso EM. The effect of glucocorticoids on the myosin heavy chain isoforms' turnover in skeletal muscle. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 2003; 86(2): 201-206.
32. Seene T, Pehme A, Alev K, Kaasik P, Umnova M et al. Effects of resistance training on fast- and slow-twitch muscles in rats. *Biology of Sport* 2010; 27(3): 221-229.
33. Seene T, Kaasik P, Riso EM. Review on aging, unloading and reloading: changes in skeletal muscle quantity and quality. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 2011; 54(2): 374–280.
34. Seene T, Kaasik P. Role of exercise therapy in prevention of decline in aging muscle function: glucocorticoid myopathy and unloading. *Journal of Aging Research* 2012; 2012: 172492.
35. Suominen H. Ageing and maximal physical performance. *European Review of Aging and Physical Activity* 2011; 8: 37-42.
36. Trappe T. Influence of aging and long-term unloading on the structure and function of human skeletal muscle. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism* 2009; 34(3): 459-464.

AUTORI LIHTLITSENTS

Mina Jaan Luts

(sünnikuupäev: 25.01.1992)

1. Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

Organismi taastumine glükokortikoidsest müopaatias

mille juhendajateks on Ando Pehme ja Karin Alev.

1.1. reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi Dspace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi Dspace' i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus,

08.05.2017