



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK
LİSANS
TEZİ

SIÇAN İSKELET KASINDA,
TÜKETİCİ EGZERSİZLE ORTAYA ÇIKAN
OKSİDATİF VE İNFLAMATUVAR YANITLARIN
MİYELOPEROKSİDAZ DÜZEYLERİ VE PARAOKSONAZ-1
ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Metin RUNA

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

AĞUSTOS 2019



**SIÇAN İSKELET KASINDA, TÜKETİCİ EGZERSİZLE ORTAYA ÇIKAN
OKSİDATİF VE İNFLAMATUVAR YANITLARIN MİYELOPEROKSİDAZ
DÜZEYLERİ VE PARAOKSONAZ-1 ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Metin RUNA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2019

Metin RUNA tarafından hazırlanan “Sıçan iskelet kasında, tüketici egzersizle ortaya çıkan oksidatif ve inflamatuvar yanıtların miyeloperoksidaz düzeyleri ve paraoksonaz-1 enzim aktivitesi üzerine etkisi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY~~ ~~ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Lamia PINAR

Fizyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

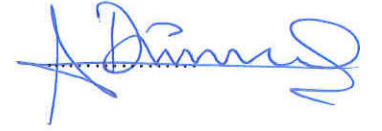
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Başkan : Prof. Dr. Sibel DİNÇER

Fizyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Üye : Doç. Dr. Bilge PEHLİVANOĞLU

Fizyoloji Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum



Tez Savunma Tarihi: 22 / 08 / 2019

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Metin RUNA

22 / 08 / 2019

SIÇAN İSKELET KASINDA, TÜKETİCİ EGZERSİZLE ORTAYA ÇIKAN
OKSİDATİF VE İNFLAMATUVAR YANITLARIN MİYELOPEROKSİDAZ
DÜZEYLERİ VE PARAOKSONAZ-1 ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Metin RUNA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2019

ÖZET

Zorlayıcı aerobik egzersizlerin (askeri eğitimler, maraton, ultra-maraton ve dayanıklılık yarışları gibi) özellikle kas dokusunda bazı inflamatuvar yanıtlar geliştirebileceği bilinmektedir. Bu çalışmada, tüketici egzersize zorlanan sıçanların plazma ve kas doku örneklerinde, tükenmeden hemen sonra (TE-0) ve bir gün sonra (TE-1) ortaya çıkan inflamatuvar ve oksidatif yanıtlar incelenmiştir. Bu amaçla; fagositik süreci başlatan nötrofil infiltrasyonunun bir göstergesi olarak miyeleoperoksidaz (MPO); oluşan stres nedeniyle dokularda artması beklenen oksidan / antioksidanlar (TOS, TAC) ve dokular üzerinde antioksidan etkiye sahip olduğu iddia edilen paraoksonaz-1 (PON1) aktivitesi plazma ve kas dokularında incelenmiştir. Bulunan değerler, tükenmeden hemen sonra ve bir gün sonra alınan gastrocnemius kası örneklerinin histomorfolojik olarak incelenmesinde görülen inflamasyon belirteçleri ile karşılaştırılmıştır. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji, Biyokimya ve Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılan bu çalışmaların sonucunda; zorlu fiziksel aktiviteye bağlı olarak kanda artan kortizolün, akut dönemde kas inflamasyonunu önlediği, ancak olasılıkla kortizol etkisinin azalmasına bağlı olarak, tükenmeden bir gün sonra kasta inflamatuvar ve antiinflamatuvar bulguların belirgin olarak ortaya çıktığı saptanmıştır.

Bilim Kodu : 1023

Anahtar Kelimeler : Tüketici egzersiz, iskelet kası, kas hasarı, inflamasyon, oksidatif stres, myeloperoksidaz, paraoksonaz-1.

Sayfa Adedi : 62

Danışman : Prof. Dr. Lamia PINAR

THE EFFECT OF OXIDATIVE AND INFLAMMATORY RESPONSES INDUCED BY
EXHAUSTING EXERCISE ON MYELOPEROXIDASE LEVELS AND
PARAOXONASE-1 ENZYME ACTIVITY IN RAT SKELETAL MUSCLE

(M. Sc. Thesis)

Metin RUNA

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

August 2019

ABSTRACT

It is known that compelling aerobic exercises (such as military training, marathon, ultra-marathon and endurance races) can develop some inflammatory responses especially in muscle tissue. In this study, the inflammatory and oxidative responses in the plasma and muscle tissue samples of rats which forced to exercise were examined immediately after exhaustion (TE-0) and one day after exhaustion (TE-1). For this purpose; myeloperoxidase (MPO) as an indicator of neutrophil infiltration that initiates the phagocytic process; oxidant / antioxidants (TOS, TAC) which are expected to increase in tissues due to stress, and paraoxonase-1 (PON1) activities which are claimed to have an antioxidant effect on tissues were investigated in plasma and muscle tissues. The values were compared with the markers of inflammation seen in histomorphological examination of gastrocnemius muscle samples taken immediately after and one day after exhaustion. As a result of these studies carried out in the Departments of Physiology, Biochemistry and Histology in the Gazi University Faculty of Medicine; it was determined that increased cortisol in the blood due to forced physical activity prevented muscle inflammation in the acute phase, but probably due to the decrease in cortisol effect, inflammatory and antiinflammatory findings appeared in the muscle one day after exhaustion.

Science Code : 1023

Key Words : Exhaustive exercise, skeletal muscle, muscle damage, inflammation,
oxidative stress, myeloperoxidase, paraoxonase-1.

Page Number : 62

Supervisor : Prof. Dr. Lamia PINAR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca tecrübeleriyle ve değerli fikirleriyle yol gösteren, hangi koşulda olursa olsun ihtiyaç duyduğumda yardımını ve katkısını esirgemeyen, öğrencilerinin her birini evladı kadar seven ve onların elinden tutarak bilgiyi adım adım öğreten ve ufkunu açan, daha sonra bir kenara çekilip onların daha yükseklere uçmalarını izlemekten oldukça keyif alan, hiçbir zaman başladığı işi bitirmeden bırakmayan, emekli olmasına rağmen köşesine çekilmeyen, her zaman enerjisiyle herkese örnek olan, kıymetli tecrübelerinden faydalandığım danışmanım Sayın Prof. Dr. Lamia PINAR'a;

Karşılaştığım problemlere çözüm üreterek değerli fikirlerini her zaman paylaştıran, bölümümüzdeki tüm olanaklardan faydalanmaya teşvik eden, Fizyoloji Anabilim Dalı'nı aile ortamı kadar sıcak hissettiren, başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Sibel DİNÇER olmak üzere Fizyoloji Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Deniz ERBAŞ, Prof. Dr. Gonca AKBULUT, Prof. Dr. Çiğdem ÖZER, Doç. Dr. Şevin GÜNEY'e ve tüm Fizyoloji Anabilim Dalı çalışanları ile öğrenci arkadaşlarıma;

Deney sürecinin her aşamasında büyük katkıları olan, Uzm. Dr. Pelin ÖZDEMİR, Araş. Gör. Ahmet Hulusi YEŞİL ve Araş. Gör. Badegül SARIKAYA'ya;

Biyokimyasal analizlerde bilgisi ve desteğiyle karşılaştığımız zorlukları aşmamıza yardımcı olan Sayın Araş. Gör. Yasemin GÜNDÜZTEPE'ye, deney aşamasından beri histolojik görüntüleri elde etme ve yorumlama süreçlerinde titizlikle çalışan Sayın Araş. Gör. Duygu DAYANIR'a ve tüm Biyokimya Anabilim Dalı ile tüm Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına;

Tüketici egzersiz deneyi ve cerrahi işlemler sırasında katkıları bulunan Vet. Hek. Dr. Şeyda DİKER, Vet. Hek. Dr. Elvan ANADOL, Vet. Hek. Dr. Elif ERGÜVEN KAYA ve tüm GÜDAM çalışanlarına;

Manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme, çalışmamı tamamlamamda anlayış ve sabırla yanımda olan eşim İlknur SAKOĞLU RUNA'ya ve oğluma;

Teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma 01/2018-24 proje kodu ile Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tüketici Egzersiz ve Fizyolojik Yanıtları.....	3
2.2. Egzersizde Kortizol	4
2.3. Oksidanlar, Antioksidanlar ve Oksidatif Stres	6
2.3.1. Oksidanlar.....	6
2.3.2. Egzerside oksidanlar	7
2.3.3. Antioksidanlar.....	8
2.3.4. Egzersizde antioksidanlar	8
2.3.5. Oksidatif stres	8
2.3.6. Egzersizde oksidatif stres	9
2.4. Egzersizde Myeloperoksidaz Aktivitesi	10
2.5. Egzersizde Paraoksonaz-1 (PON1) Aktivitesi.....	11
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Deney Hayvanları	13
3.2. Etik Kurul İzni	13
3.3. Deney Protokolü	13

Sayfa

3.3.1. Adaptasyon koşusu ve gruplandırma.....	13
3.3.2. Tüketici egzersiz protokolü	13
3.4. Cerrahi Uygulama ve Dokuların Saklanması	14
3.5. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri	14
3.5.1. TOS, TAC ve OSI tayini	14
3.5.2. Paraoksonaz-1 (PON1) enzim aktivitesinin ölçümü.....	15
3.5.3. Myeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesinin ölçümü.....	15
3.5.4. Plazmada kortizol ölçümü	15
3.6. Histolojik İncelemeler	15
3.7. İstatistiksel Analiz	16
4. BULGULAR.....	17
4.1. Deney Hayvanları ve Tüketici Egzersiz Verileri.....	17
4.2. Total Oksidan Status (TOS).....	20
4.3. Total Antioksidan Kapasite (TAC).....	22
4.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)	24
4.5. Paraoksonaz-1 (PON-1) Enzim Aktivitesi.....	26
4.6. Myeloperoksidaz (MPO) Enzim Aktivitesi	28
4.7. Kortizol	30
4.8. Histolojik Bulgular	31
4.9. Korelasyon Analizi	35
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
KAYNAKLAR	53
EKLER.....	59
EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	61

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Sıçanların deney protokolü süresince ağırlıklarının değişimi	17
Çizelge 4.2. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların tükenme süreleri	18
Çizelge 4.3. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların ağırlık ortalamasına göre tükenme süreleri.....	19
Çizelge 4.4. Plazmada ve gastroknemius kasında TOS düzeyleri	20
Çizelge 4.5. Plazmada ve gastroknemius kasında TAC düzeyleri.....	22
Çizelge 4.6. Plazmada ve gastroknemius kasında OSI düzeyleri	24
Çizelge 4.7. Plazmada ve gastroknemius kasında PON1 enzim aktivitesi	26
Çizelge 4.8. Plazmada ve gastroknemius kasında MPO enzim aktivitesi	28
Çizelge 4.9. Plazmada kortizol düzeyleri	30

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Akut egzersizde sitokinler, kortizol ve antiinflamatuvar etki.....	5
Şekil 2.2. Moleküler oksijenin elektron transferi aracılığı ile ROS moleküllerini oluşturarak suya indirgenmesi.	6
Şekil 2.3. Oksijen döngüsü.	7
Şekil 2.4. Hücrelerde oksidatif ve antioksidan sistemlerin basitleştirilmiş orantısız (nonstoichiometric) şeması.	9
Şekil 2.5. ROS üretimi ile kas kuvveti arasındaki non-lineer ilişki.	10
Şekil 4.1. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların tükenme süreleri.	18
Şekil 4.2. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların ağırlık ortalamasına göre oluşturulan 257 gr altı ve 257 gr üstü gruplarının koşabilme süreleri	19
Şekil 4.3. Plazmada TOS düzeyleri	21
Şekil 4.4. Gastroknemius kasında TOS düzeyleri.	21
Şekil 4.5. Plazmada TAC düzeyleri.	23
Şekil 4.6. Gastroknemius kasında TAC düzeyleri	23
Şekil 4.7. Plazmada OSI düzeyleri	25
Şekil 4.8. Gastroknemius kasında OSI (TOS/TAC) düzeyleri	25
Şekil 4.9. Plazmada PON1 aktivitesi	27
Şekil 4.10. Gastroknemius kasında PON1 aktivitesi	27
Şekil 4.11. Plazmada MPO düzeyleri	29
Şekil 4.12. Gastroknemius kasında MPO düzeyleri	29
Şekil 4.13. Plazmada kortizol düzeyleri.	30
Şekil 4.14. TE-0 grubunda egzersiz süresi ile gastroknemius TOS düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon.....	35
Şekil 4.15. TE-0 grubunda plazmada OSI ile TOS arasındaki pozitif korelasyon	35
Şekil 4.16. TE-1 grubunda plazmada OSI ile TOS arasındaki pozitif korelasyon	35
Şekil 4.17. TE-0 grubunda gastroknemius kasında OSI ile TOS arasındaki pozitif korelasyon	36
Şekil 4.18. TE-1 grubunda gastroknemius kasında OSI ile TAC arasındaki negatif korelasyon	36
Şekil 4.19. TE-0 grubunda gastroknemius kasında PON1 aktivitesi ile egzersiz süresi arasındaki negatif korelasyon.....	36

Şekil	Sayfa
Şekil 4.20. TE-1 grubunda plazmada PON1 aktivitesi ile egzersiz süresi arasındaki negatif korelasyon	37
Şekil 4.21. TE-0 grubunda plazmada PON1 ile TAC arasındaki negatif korelasyon.....	37
Şekil 4.22. TE-1 grubunda PON1 aktivitesinin gastroknemius ile plazma arasındaki negatif korelasyon	37

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubunda gastroknemius kasının histolojik görüntüsü (enine kesit)....	31
Resim 4.2. TE-0 grubunda gastroknemius kasının histolojik görüntüsü (enine kesit)	32
Resim 4.3. TE-1 grubunda gastroknemius kasının histolojik görüntüsü (enine kesit)	33
Resim 4.4. TE-1 grubunda gastroknemius kasının histolojik görüntüsü (boyuna kesit)	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	: Santigrat derece
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
gr	: Gram
km	: Kilometre
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
n	: Örneklem büyüklüğü
ng	: Nanogram
nmol	: Nanomol
p	: Anlamlılık düzeyi
r	: Korelasyon katsayısı
rpm	: Devir/dakika
α	: Alfa
μ l	: Mikrolitre
μ mol	: Mikromol

Kısaltmalar	Açıklamalar
•OH	: Hidroksil Radikali
AA	: Arakidonik asit
ANOVA	: Tek Yönlü Varyans Analizi

Kısaltmalar	Açıklamalar
ARE	: Arilesteraz
AU	: Arbitrary Unit
CBG	: Kortikosteroid Bağlayıcı Globülin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DOMS	: Delayed Onset Muscle Soreness (Geç Başlangıçlı Kas Ağrısı)
DOMD	: Delayed Onset Muscle Damage (Geç Başlangıçlı Kas Hasarı)
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GÜDAM	: Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi
H&E	: Hematoksilen-Eozin
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HOCl	: Hipokloröz Asit
HPA	: Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal
IL-10	: İnterlökin-10
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
K grubu	: Kontrol Grubu
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehide
MPO	: Myeloperoksidaz
mRNA	: Messenger Ribonükleik Asit
NSAI	: Nonsteroidal Antiinflamatuvar
NO	: Nitrik Oksit
NO₂	: Nitrojen Dioksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
O₂^{•-}	: Süperoksit Anyon Radikali
ONOO⁻	: Peroksinitrit

Kısaltmalar	Açıklamalar
OSI	: Oksidatif Stres İndeksi
OSS	: Otonom Sinir Sistemi
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PC	: Protein Carbonylation
PON1	: Paraoksonaz 1
Prx	: Peroksiredoksin
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Süperoksit Redüktaz
TAC	: Total Antioksidan Kapasite
TBARS	: Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TE-0	: Tüketici Egzersiz Hemen Sonra Grubu
TE-1	: Tüketici Egzersiz 1 Gün Sonra Grubu
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör-alfa
TOS	: Total Oksidan Status
x40	: 40'luk Büyütme
XO	: Ksantin Oksidaz

1. GİRİŞ

Düzenli yapılan aerobik bir egzersizin her yaş ve koşulda, sağlık açısından birçok yararının olduğu bilinmektedir. Egzersize bağlı yanıtlar, aktivitenin şiddeti, süresi, akut veya kronik olarak uygulanmasına bağlı olarak değişir. Egzersiz aynı zamanda organizma için hafif veya güçlü bir stres faktörü oluşturur [1]. Fiziksel aktif bireyler bu stresle daha kolay baş edebilecek fizyolojik yanıtlar oluşturabilirken, sedanter bireylerin akut bir egzersize vereceği yanıtlar fiziksel uygunluğuna, egzersiz tipine, yoğunluğuna ve süresine bağlı olarak değişebilir, hatta doku hasarı ve hayati riskler oluşturabilir. İskelet kasları hareketin motor birimleridir. Yorucu bir egzersiz sırasında kaslarda artan enerji ve oksijen ihtiyacının sağlanması, oluşan metabolitlerin uzaklaştırılması kardiyovasküler sistemin kapasitesini aşabilir. Bu durumda hücre içi dengeler, hücrenin iç dinamikleri ile sağlanır. Zorlayıcı aerobik egzersizlerin (askeri eğitimler, maraton, ultra-maraton ve dayanıklılık yarışları gibi) aşırı serbest radikal oluşumuna ve oksidatif strese yol açarak; kalp kası ve iskelet kası da dahil olmak üzere vücuttaki birçok dokuya zarar verdiği bilinmektedir [2-4]. Doku hasarı sonrası bölgeye nötrofillerin infiltrasyonu fagositik süreci başlatır ve inflamatuvar yanıt oluşur [5]. Nötrofillerden üretilen myeloperoksidaz (MPO), reaktif oksijen türü olan hidrojen peroksiti (H_2O_2) daha toksik olan hipokloröz asite (HOCl) dönüştürür, inflamatuvar ve oksidatif yanıtı artırır [6-8]. Egzersiz sırasında üretimi artan serbest radikaller antioksidan mekanizmayı harekete geçirir [3, 9]. Paraoksonaz 1 (PON1) enzimi de antioksidan sistemin bir parçasıdır [3]. PON1, serumda yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) partikülleri ile bağlı bir arilesteraz olup; düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL) oksidasyona karşı koruyan bir antioksidan görevi yapar [10, 11]. PON1 üzerine yapılan araştırmalar genellikle, bu enzimin kardiyovasküler sistemi koruduğuna işaret etmektedir. Kaynak taramalarımızda, saptayabildiğimiz kadarıyla, tüketici egzersizin iskelet kasında oluşturduğu oksidatif-inflamatuvar süreçlerin PON1 aktivitesi ile ilişkisi yeterince incelenmemiştir.

Bu çalışmada amacımız, sedanter sıçanlara akut, tüketici bir koşu yaptırılarak; bu zorlanmanın organizmada oluşturacağı strese bağlı, olası kas hasarını görüntülemek ve plazma ve iskelet kasında oksidan ve inflamatuvar sistem yanıtlarının MPO ve PON1 aktivitelerine olan etkisini tartışmaktır.

Çalışmamızda, ‘sedanter kontrol’, tüketici koşudan ‘hemen sonra’ ve ‘bir gün sonra’ gruplarındaki sıçanların plazmasında; total oksidan durum ürünleri (TOS), total

antioksidan kapasite (TAC), PON1 aktivitesi, MPO aktivitesi, kortizol; gastroknemius kasında ise TOS, TAC, PON1 aktivitesi ve MPO aktivitesi tayin edilmiştir. Ayrıca kas doku hasarı ve inflamasyon bulguları histomorfolojik olarak da incelenerek; bulguların biyokimyasal belirteçlerle olan ilişkisi araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tüketici Egzersiz ve Fizyolojik Yanıtları

Submaksimal egzersiz düzeyinin üzerindeki fiziksel aktiviteler, örneğin, ağır askeri veya fiziksel eğitimler, uzun mesafe koşusu, dayanıklılık yarışları tüketici egzersize örnek oluşturabilir [12]. Bu tür uzun süreli ve çok şiddetli aerobik aktivitenin yol açtığı stres, solunum sistemi, kardiyovasküler sistem, böbrek ve kaslar gibi pek çok organa zarar verebilir [2, 13]. Özellikle akut, tüketici egzersiz ve aktiviteler, aşırı oksijen tüketimi sonucunda, yüksek düzeyde serbest radikal oluşumuna yol açarak; oksidatif stresi artırır [3, 14]. Böyle durumlarda serbest radikal üretimi, antioksidan mekanizmayı da harekete geçirmektedir [3].

Tüketici egzersiz, vücudun çeşitli organlarında çeşitli etkiler ortaya çıkarır. Kaslarda pro- ve anti-inflamatuvar sitokinlerin [interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL10), tümör nekroze edici faktör-alfa (TNF- α)] mRNA'sını ve bazı proteinlerin ekspresyonunu arttırmaktadır [15]. Akut, şiddetli egzersiz, özellikle antrene olmayan kişilerin kaslarında serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri antrene bireylere göre çok daha yüksek seviyelere yol açar [9]. Egzersizde doku serbest radikal oluşumunun çoğunlukla iskelet ve kalp kaslarında meydana geldiği konusunda genel bir görüş birliği olmakla birlikte; insanlardan biyopsi almanın zorluğu nedeni ile bu konudaki çalışmalar yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle çalışmaların çoğu akut egzersizden hemen sonra plazmada tayin edilen çeşitli oksidatif hasar belirteçlerinin düzeyleri ile ilişkilidir [16]. Tüketici egzersizi takiben kas ve karaciğerde serbest radikallerin 2-3 kat arttığı, mitokondrial solunum kontrolünün bozulduğu, endoplazmik retikulum ve sarkoplazmik retikulumda hasar ve lipid peroksidasyon seviyelerinde artış olduğu saptanmıştır [17]. Uzun süreli, egzersiz çift yönlü bir etkiye sahiptir; bir taraftan oksidan oluşumuna yol açarken, diğer taraftan oksidatif stresin etkilerini en aza indirmek için antioksidan enzimleri harekete geçirmektedir [18, 19]. Böylece, serbest radikaller kasta inflamasyonu tetikleyerek, antioksidan mekanizmaları harekete geçirmekte ve bir sinyal molekülü olarak redoksa duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive ederek; kas rejenerasyonunu ve kasın egzersize adaptasyonunu regüle etmektedir [20].

Aslında iskelet kasında normal kuvvet üretimi için fizyolojik seviyelerde reaktif oksijen türleri (ROS) gereklidir, ancak yüksek düzeylerde (ROS), kasılma bozukluğuna, kas güçsüzlüğüne, yorgunluğa ve hatta kas hasarına neden olur [21].

Günlük yaşamda maksimal düzeyde egzersiz modelleri kullanılmamakla birlikte, maraton veya uzun mesafe triatlon gibi tüketici sporlar bu tür aktivite sınıfına girebilir [4]. Uzun süreli ve şiddetli fiziksel aktivitelerden sonra kaslarda ağrı ve sertlik görülür. Ortaya çıkan donuk, acı verici ağrı yavaş gelişir ve 24-48 saat içinde doruk noktasına ulaşır (delayed onset muscle soreness- DOMS) [22]. Ağrıya neden olan başlıca faktörler ödem ve kas hücrelerinin hasarından kaynaklı inflamasyon olup; çoğunlukla miyotendinöz kavşak yakınındadır [22].

2.2. Egzersizde Kortizol

Egzersiz, homeostazisi zorlayan bir fiziksel strestir. Bu stres faktörü, homeostazisin sürdürülmesi ve fiziksel uygunluğa katkıda bulunmak için otonom sinir sistemi (OSS) ve hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksı harekete geçirir [1]. Kortizol (diğer adıyla hidrokortizon), adrenal kortekste sentezlenen bir glukokortikoid hormon olup; kortizonun hidroksilasyonu sonucu oluşur. Plazma kortizolünün yaklaşık %80'i, transkortin adındaki kortikosteroid bağlayıcı α_2 - globüline (CBG), %10'u, albumine bağlı durumdadır. Geri kalan %10'luk serbest kortizol ise biyolojik aktivitelerden sorumludur [23].

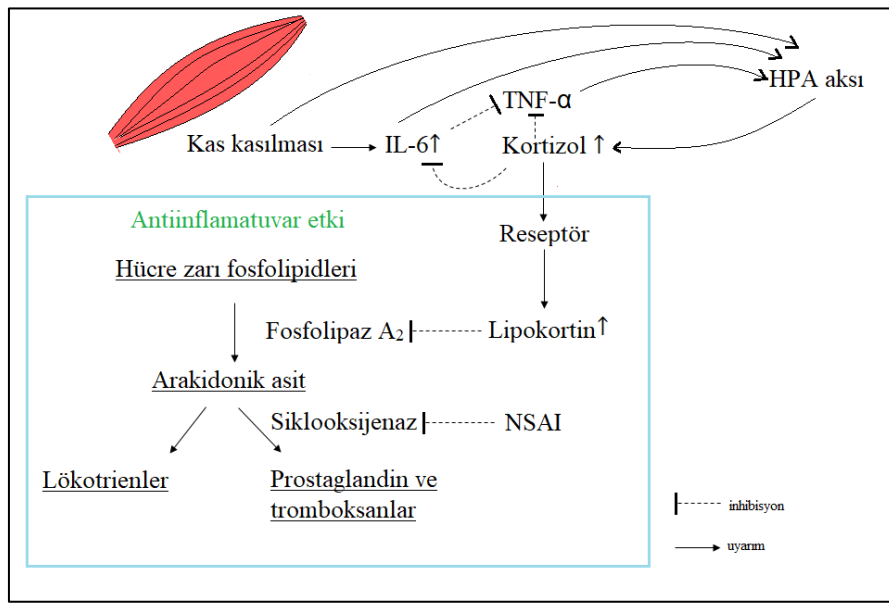
Kortizol, steroid yapılı bir hormondur ve steroid hormonlar etkilerini hücre içi reseptörler aracılığı ile gösterirler. Kortizol hücre içine diffüzyonla girer. Daha sonra kortizol-reseptör kompleksi konformasyonel bir değişiklik ile nükleusa hareket eder ve 'reversible' olarak DNA'daki özgün bölgesine bağlanır. Transkripsiyon kompleksi oluşuktan sonra mRNA ve ardından bazı enzim ya da proteinlerin sentezi ve hormonal yanıt oluşur. Kortikosteroidlerin sistemler ve metabolizma üzerinde çok sayıda fizyolojik etkilerinin yanı sıra immünsüpressif ve antiinflamatuvar etkileri de vardır [23-26].

İskelet kasında kasılma aktivitesi sitokinlerin ekspresyonunu düzenlemede rol alır. Kas lifleri tarafından eksprese edilen ve salınan parakrin ve endokrin sitokinler 'miyokin' olarak tanımlanmıştır. En iyi bilinen kas kökenli miyokin, interlökin-6 (IL-6) dır. Egzersize yanıt olarak dolaşımdaki IL-6 seviyesi belirgin olarak artar. Ancak egzersizde, kasta oluşan bu sitokin (IL-6); pro-inflamatuvar etkisinden ziyade anti-inflamatuvar etkisinin öne

çıktığı ve kasta oluşacak inflamasyonu önleme sürecine katkı sağladığı düşünülmektedir [19].

IL-6'nın dolaşımında artması, anti-inflamatuvar sitokinlerin (IL-1 ve IL-10) ve kortizolün seviyesini arttırırken; pro-inflamatuvar olan TNF-alfa'nın üretimini baskılar [27].

Glukokortikoidler, özellikle lipokortin başta olmak üzere bazı proteinlerin sentez hızını arttırır. Lipokortin anti inflamatuvar etkisini membrana bağlı fosfolipidlerin arakidonik asite dönüşümünü sağlayan fosfolipaz A₂ enzimini inhibe ederek sağlar [28].



Şekil 2.1. Akut egzersizde sitokinler, kortizol ve antiinflamatuvar etki.

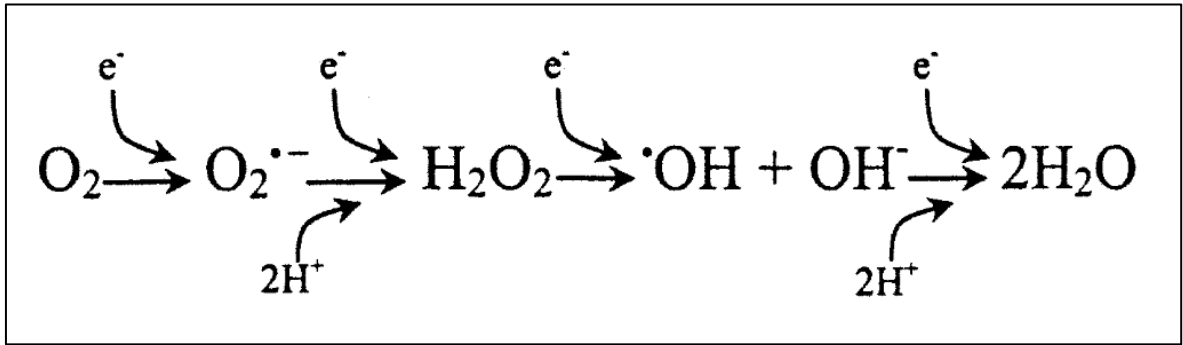
Yaralanmaya karşı immün cevabın akut fazında, TNF α , IL-1 ve IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler; hipotalamik, pituiter veya adrenal aksın (HPA) bileşenleri üzerinde kortizol salınımının artmasına neden olur. Kortizol artışı, sırayla sitokinler ve diğer inflamatuvar mediatörlerin sentezini inhibe eder, böylece bir geri beslenim (negatif feedback) döngüsü oluşturur [19, 29].

Glukokortikoidler, doku hasarı sonucu oluşan akut ya da kronik inflamasyonda endotel hücreleri üzerine etki ederek, damar geçirgenliğini ve endotel hücrelerinin adhezyon molekül ekspresyonunu azaltır. Monosit, makrofaj, nötrofil, eozinofil ve mast hücrelerin fonksiyonlarını ve migrasyonlarını önler. İnflamatuvar bölgedeki nötrofil migrasyonunu inhibe ederken dolaşımdaki nötrofilleri ise yaklaşık 2-4 kata kadar arttırır [23, 28].

2.3. Oksidanlar, Antioksidanlar ve Oksidatif Stres

2.3.1. Oksidanlar

Oksidanlar, başka maddeleri okside etme yeteneğine sahip maddelerdir. Organizmada oksidanlar, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak ikiye ayrılır. Her iki tür de serbest radikal olan ve olmayan üyelere sahiptir. Moleküler oksijen elektron transfer reaksiyonları ile suya indirgendiğinde, ara basamaklarda birbiri ardına reaktif oksijen türlerinden süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\bullet OH$) oluşur [30, 31].

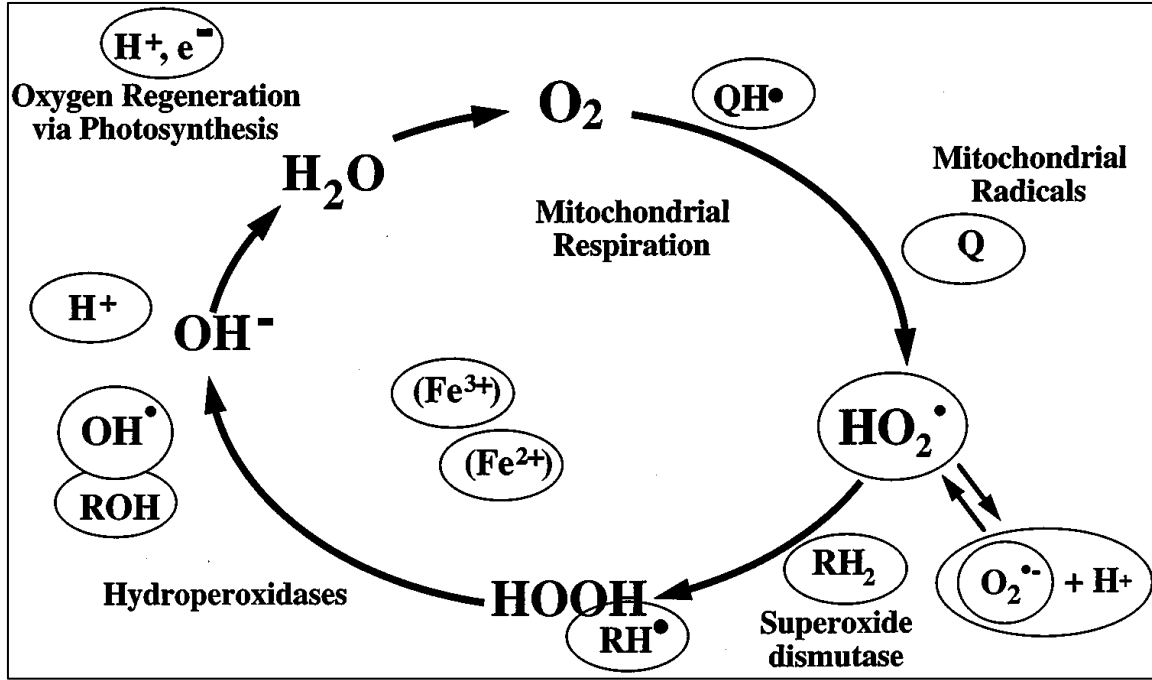


Şekil 2.2. Moleküler oksijenin elektron transferi aracılığı ile ROS moleküllerini oluşturarak suya indirgenmesi [32].

Reaktif nitrojen türleri çoğunlukla nitrik oksit (NO) kaynaklıdır. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi vasıtasıyla L-arjininden sentezlenen NO, hem bir serbest radikal hem de bir antioksidandır. Peroksinitrit ($ONOO^-$) ise, süperoksit anyon radikali ile nitrik oksitten oluşan ve radikal olmayan bir reaktif nitrojen türüdür. Pro-oksidanlar, antioksidanları inhibe ederek, oksidanların oluşmasına katkıda bulunur [30].

Oksidan maddeler ve ROS, yüksek reaktiviteleri nedeniyle, doku hasarına neden olma eğilimindedir ve dolayısıyla potansiyel olarak toksik, mutajenik veya kanserojendir [32]. Dokularda sentezi artan ROS, hücre lipidlerinin, DNA'nın ve proteinlerin yapısında hasara ya da modifikasyona neden olur [32, 33]. Ancak ROS aynı zamanda, vücuttaki enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmasının bir parçasıdır ve fagositler tarafından da üretilir [32]. ROS, tüm sülfhidril içeren moleküllerin aktivitelerini ya da konformasyonlarını doğrudan etkileyerek, transkripsiyon faktörlerinin redoks regülasyonunda da rol oynar [32].

Patofizyolojik koşullarda ROS'un ana kaynakları; mitokondriyal solunum elektron taşıma zinciri, iskemi-reperfüzyon yoluyla ksantinoksidaz (XO) aktivasyonu, nötrofil aktivasyonu ile bağlantılı solunum patlaması ve arakidonik asit (AA) metabolizmasıdır [34].



Şekil 2.3. Oksijen döngüsü.

Mitokondriyal solunum esnasında oksijenin bir kısmı süperoksit'e çevrilir. Süperoksit dismutaz, süperoksiti, hidrojen peroksit'e dönüştürür. Bunlardan da hidroksil radikali ve lipid peroksidasyon oluşur. Hidroperoksidazlar, hidroperoksitlerin yıkımını katalizleyerek, bir son ürün olan su ile fotosentez için gerekli oksijeni sağlarlar. R = organik molekül, Q = kinon.[30].

2.3.2. Egzersizde oksidanlar

İskelet kası, kasılma sırasında, çok fazla oksijen tüketir. Şiddetli bir egzersizde ise kullanılan oksijen, istirahat nazaran, 10 kat artabilir. Artmış oksijen kullanımına bağlı olarak dokuda ROS üretimi de artar [19, 35, 36]. İskelet kasında ve kalp kasında ROS'nin kaynağı olarak mitokondrilerin potansiyel rolü olduğu yapılan pek çok araştırmada vurgulanmıştır [17, 36]. Bununla beraber şiddetli bir egzersizde, akciğer dokusu, vasküler doku, bağışıklık hücreleri ve diğer dokular da oksidan üretimine katkıda bulunur [36]. Süperoksit ve nitrik oksit, kasılmalar sırasında iskelet kası tarafından üretilen birincil türlerdir ve her ikisi de hem doku içinde hemde kas liflerinin dışında artış gösterir [36]. Süperoksit ve nitrikoksit ikincil ROS olan hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve

peroksinitritin öncülüdür [36]. Güncel çalışmalar, orta şiddetteki (moderate) egzersizlerde ROS ve NO kaynaklı sinyal yollarının, iskelet kasında, glukoz alımı, insülin duyarlılığı, endojen antioksidan seviyelerinin modülasyonu, mitokondrial biyogenez, kas kuvveti ve kas hipertrofisi ile ilişkili pek çok biyoyararlılıkta rolü olduğunu göstermektedir [33].

2.3.3. Antioksidanlar

Antioksidanlar ortamda bulunan pro-oksidan ve oksidanların etkilerini geciktiren ya da inhibe eden maddelerdir ve ortamdaki konsantrasyonları eşleştikleri bu maddelerden oldukça azdır. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit redüktaz (SOR), katalaz, peroksiredoksin (Prx), glutatyon peroksidaz (GPx) dır [30, 32]. Non-enzimatik antioksidanlar ise; vitamin E (α -tocopherol), vitamin C (askorbik asit), koenzim Q (ubikinon), karotenoidler ve ürik asit ve bunun gibi bileşiklerdir [30, 32]. Ayrıca; bakır, çinko, manganez ve selenyum antioksidan mineraller; folik asit, B1, B2, B6, B12 vitaminleri antioksidan kofaktörler olarak bilinir [37]. Antioksidanlar, serbest radikal temizleyici olarak ya da adaptif elektrofilik benzeri mekanizmalar ile dokudaki ROS nin seviyelerini düzenlemede önemli rol alır [33]. E Vitamini, lipid peroksidasyonunun artışını baskılar; C ve E vitaminleri H_2O_2 oluşumunu engeller; metal ajanlar, lipid peroksidasyonundaki bazı reaksiyonlarda yer alan geçiş metallerini bağlar ve bu reaksiyonları inhibe eder; A ve E vitaminleri serbest radikalleri temizler [37].

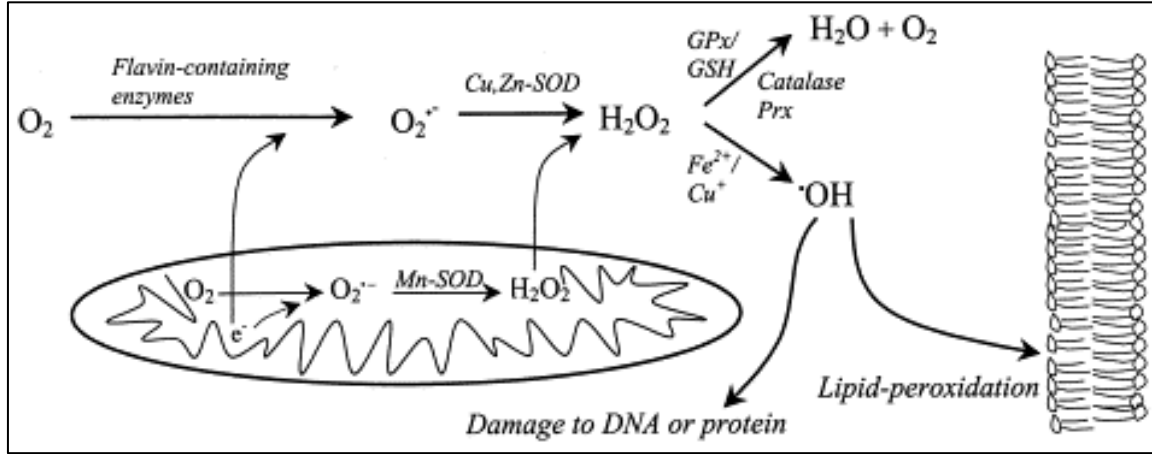
2.3.4. Egzersizde antioksidanlar

Hem akut hem de kronik egzersizde iskelet kasında antioksidan enzim seviyelerinin arttığı ve iskelet kasını ROS üretiminin zararlı etkilerinden koruduğu değerlendirilmektedir [33]. Antioksidan takviyesinin, sporcularda, geç başlangıçlı kas ağrısını (DOMS) geciktirilebileceği ve egzersiz performansını arttırabileceği yönünde bazı bulgular olmakla birlikte bu konu halen tartışmalıdır [33].

2.3.5. Oksidatif stres

Oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin, oksidanlar lehine bozulması halinde ‘oksidatif stres’ten bahsedilir [30]. Reaktif oksijen türleri (ROS), hücre içi sinyal

kaskadlarının bilinen araçlarıdır. Aşırı ROS üretimi (oksidatif stres), hücre fonksiyon kaybına ve nihayetinde apoptoz veya nekroza neden olabilir [32]. Bu zincirleme reaksiyonu durdurmak için, yeni oluşturulmuş bir radikal ya başka bir serbest radikal ile reaksiyona girerek eşleşmemiş elektronları elimine etmeli ya da serbest radikal temizleyici (bir zincir kırıcı) ya da birincil antioksidan ile reaksiyona girmelidir [32].



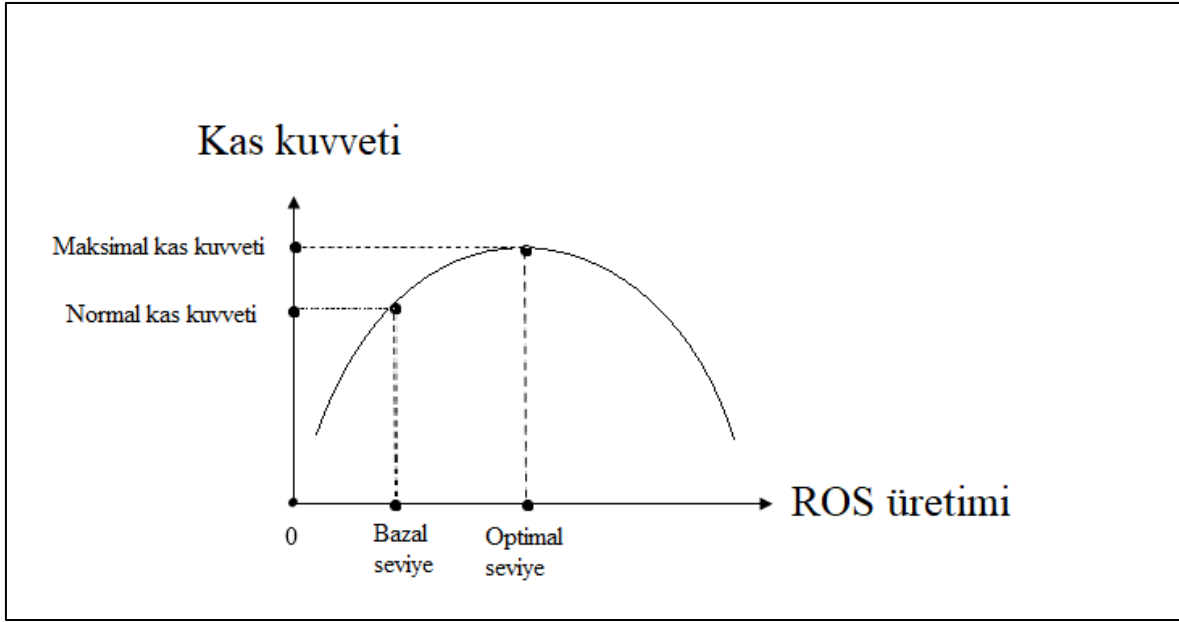
Şekil 2.4. Hücrelerde oksidatif ve antioksidan sistemlerin basitleştirilmiş orantısız (nonstoichiometric) şeması.

Süperoksit, hücre içinde, hem flavin içeren enzimler aracılığı ile sitozolde, hem de solunum zincirinden gelen elektronların kaçmasından dolayı mitokondride önemli miktarlarda üretilir. İki süperoksit molekülü kendiliğinden veya süperoksit dismutaz aracılığı ile dioksijen ve hidrojen peroksit'e dönüşür. Hidrojen peroksit hücreler arası sıvıda serbest olarak dolaşır. Hidrojen peroksit, farklı enzim sistemleri ile dioksijen ve suya metabolize edilir veya geçiş metallerinin (transition metals) katalizörlüğünde, güçlü bir reaktif olan hidroksil radikaline çevrilir [32].

Oksidatif stresin; ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, tip 2 diyabet, kanser ve nörolojik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişiminde olumsuz etkileri vardır [38].

2.3.6. Egzersizde oksidatif stres

Araştırmalar şiddetli bir kas aktivitesinin, kas dokusu dışında, diğer dokularda da lipitlerin, DNA'nın ve proteinlerin oksidasyonuna yol açabilecek bir ROS kaynağı olabileceğini desteklemektedir [36]. İskelet kası ve ROS arasında non-lineer bir ilişki (Bkz. Resim 2.5.) vardır; bazal ve fizyolojik seviyelerde ROS üretimi optimal kas kuvveti oluştururken, yüksek seviyede artışlar ise kas fonksiyonunun azalmasına ve oksidatif hasara neden olur [21, 39].



Şekil 2.5. ROS üretimi ile kas kuvveti arasındaki non-lineer ilişki [21].

2.4. Egzersizde Myeloperoksidaz Aktivitesi

Myeloperoksidaz (MPO), aktif nötrofillerden, monositlerden ve bazı makrofajlardan salınan olası bir inflamasyon mediatörüdür [8]. MPO, süperoksit anyon radikali ve H_2O_2 gibi reaktif oksijen türlerinin ve nitrik oksitin (NO) varlığından etkilenen kompleks bir hem proteinidir [6]. MPO, hipokloröz asit (HOCl), kloraminler, tirosil radikalleri ve nitrojen dioksit (NO_2) gibi birçok reaktif ürün üretir. Ayrıca LDL oksidasyonunun başlatılması ve lipoprotein için yüksek alımlı bir forma dönüştürülmesi ve köpük hücre oluşumuna yol açan ana enzimatik bir katalizör görevi görür [8].

Nötrofillerin azurofilik granüllerinde bulunan en toksik enzim olan MPO, hipokloröz asit üretmek ve enfeksiyonlar sırasında patojeni öldüren diğer reaktif parçaları oluşturabilmek için hidrojen peroksit (H_2O_2) bağımlıdır. Steril inflamasyon ortamında MPO ve MPO kaynaklı oksidanların, inflamasyonu teşvik ettiği ve doku hasarına neden olduğu düşünülmektedir [7]. MPO'nun biyokimyasal testi nötrofil infiltrasyonunu tespit etmek için kullanılan genel yöntemlerden birini oluşturur [40]. Tüketici egzersiz, enfeksiyonlara karşı gösterilen 'akut faz immün yanıt' benzeri bir reaksiyon başlatır ve dolaşımda nötrofillerin artmasına, lenfositlerin ise hızla azalmasına neden olur [14]. Maksimal şiddette ve uzun süreli egzersiz, lökositlerin tüm alt gruplarında ve MPO

konsantrasyonlarında artışa neden olan bir inflamatuvar yanıt oluşturmakta [5] ve bu MPO aktivite artışı sadece iskelet kasında değil, pek çok dokuda da görülmektedir [41].

2.5. Egzersizde Paraoksonaz-1 (PON1) Aktivitesi

Paraoksonaz (PON1), insektisit ve sinir gazı yapımında kullanılan toksik organofosfatların, karbamatların yanı sıra, aromatik karboksilik asit esterlerin ve laktonların hidrolizini kalsiyum bağımlı bir şekilde katalize eden, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili bir enzimdir [42-44]. PON1; paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonaz etkisi olan 3 aktiviteye sahip bir enzimdir [45]. Sadece memelilerde bulunan paraoksonazın şu ana kadar tanımlanmış, aynı kromozom üzerinde bulunan, 3 üyesi vardır (PON1, PON2, PON3) [43, 44]. Bugünkü bilgilerimize göre, insanda PON1 mRNA'sı sadece karaciğer, böbrek ve kolonda saptanabilmiştir [46]. Sıçanlarda yapılan immünohistokimyasal çalışmalar, PON1'in karaciğer, böbrek, akciğer ve beyinde varlığını göstermiştir [47]. PON1 in diğer dokularda varlığı, HDL tarafından dokulara iletilmesi ile mümkündür ancak PON1 proteininin HDL'den hücre içindeki yapılara nasıl geçtiği bilinmemektedir [46].

PON ailesinin immünohistokimyasal dağılımı hakkında yapılan ayrıntılı bir çalışmada ise farelerin 23 dokusunda PON1 aktivitesi saptanmıştır [46]. 'İsveç İnsan Protein Atlası Programı' uyarınca yapılan çalışmalarda da insan dokularında neredeyse aynı PON1 immün boyanma dağılımı bulunmuş ve bu dağılımın, farede PON1 proteini dağılımı ile benzer dokularda ve eşdeğer hücrelerde olduğu gösterilmiştir [46].

PON1, düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL), oksidasyona karşı koruyan bir antioksidan görevi yapar [10, 11]. Hücre içinde immün boyaması gösterilen PON1'in membran fosfolipidlerini oksidatif hasara [46] ve bakteriyel endotoksinlerin ve lipopolisakkaritlerin (LPS) toksisitesine karşı koruduğu düşünülmektedir. [44].

İnsanlarda, aorttaki aterosklerozun ilerlemesiyle artan PON1 aktivitesi, bu enzimin olasılıkla oksidatif stresle upregüle olduğuna ve aortik endotel ve düz kas hücreleri tarafından eksprese edildiğine işaret etmektedir [46].

Düzenli yapılan egzersizde ya da fiziksel aktivitede PON1 aktivitesinin arttığını gösteren çalışmalar, PON1'in egzersize adaptasyon sonucu antioksidan koruma sağladığını düşündürmektedir [3, 48].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 18 adet 3 aylık Wistar Albino cinsi yetişkin erkek sıçan kullanıldı. Denekler Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi (GÜDAM)’dan temin edildi. Ortalama vücut ağırlıkları 250 ± 18 gram olan sıçanlar, 3 gruba ayrılarak; 6 şar deneklik standart kafeslerde, 22-25 °C normal sıcaklık, %40 $\pm$ 5 nem, 12 saat aydınlık-karanlık döngüsü, standart yem ve su sağlanan ortamda, GÜDAM deney hayvanı yetiştirme laboratuvarlarında barındırıldı.

3.2. Etik Kurul İzni

Tüketici egzersiz deneyi, 05/01/2018 tarihli G.Ü.E.T-18.001 kod numaralı ‘Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ tarafından onaylanan kurallara bağlı kalınarak; Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi’nde 16/10/2018-23/10/2018 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

3.3. Deney Protokolü

3.3.1. Adaptasyon koşusu ve gruplandırma

Tüm sıçanlara 5 gün boyunca, koşu bandında, günde 10 dakika olmak üzere, 15 m/dk hız ve 0° eğimde adaptasyon koşusu yaptırıldı. Sıçanlar; adaptasyon protokolünden 1 gün sonra; kontrol grubu (K gr, n=6), tüketici egzersiz hemen grubu (TE-0 gr, n=6) ve tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu (TE-1 gr, n=6) olarak rastgele gruplandırıldı.

3.3.2. Tüketici egzersiz protokolü

Tüketici egzersiz grupları, koşu bandında 0° eğim sabit tutularak 15m/dk hız ile koşuya başlatıldı. Hız, her 3 dakikada bir 5m/dk arttırıldı. 12 dakika sonunda tüketici egzersiz düzeyi olarak belirlenen ve myokardial hasar oluşturduğu saptanmış 0° eğim 35 m/dk’lık egzersiz şiddetine ulaşıldı [49]. 0° eğim, 35 m/dk hız sabit tutularak sıçanlar tükenene kadar koşmaya zorlandı. Tükenme belirteci olarak; hayvanların koşu bandına ayak uyduramaması, koşmaktan vazgeçerek, 15 saniye boyunca elektrik uyarısına rağmen, elektrikli ızgara üzerinden kalkamaması kabul edildi [50, 51]. Egzersiz öncesi, egzersiz sonrası ve anestezi öncesi vücut ağırlıkları kaydedildi. Toplam koşu süresi, tükenme süresi olarak kaydedildi.

3.4. Cerrahi Uygulama ve Dokuların Saklanması

Kontrol grubu, herhangi bir egzersiz yaptırılmadan feda edildi. TE-0 grubu tükendikten hemen sonra, TE-1 grubu ise tükendikten bir gün sonra feda edildi.

Tüm denekler, Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde görevli Veteriner Hekimler tarafından intraperitoneal olarak uygulanan, 90mg/kg ketamin hidroklorür ve 5mg/kg ksilazin hidroklorür anestezisi altında, intrakardiyak kan alımı yöntemi ile feda edildi.

Çok az sayıda denek kullanmak zorunda kaldığımız bu çalışmada, sıçanların sağ gastroknemius kasları ve kan numuneleri biyokimyasal ölçümler için, sol gastroknemius kasları da histolojik incelemeler için ayrıldı.

Histolojik incelemeler için alınan doku örnekleri %10 nötral formaldehitte muhafaza edildi. Biyokimyasal incelemeler için heparinli tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm ve +4°C' de, 15 dk santrifüj edildikten sonra, çalışma süresine kadar -80°C'de saklandı. Tüketici koşu yapmış sıçanların kan ve kas haricindeki diğer doku örnekleri de ileride konu ile ilgili başka çalışmalar yapılmak üzere eppendorf tüpler içine aktarıldı, sıvı azotta dondurularak; (-80°C)'de saklandı.

3.5. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri

Sıçanların gastroknemius kası, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD. Araştırma Laboratuvarında; 1mg:9µl oranında fosfat tamponu çözeltisi (phosphate buffered saline-PBS) içinde ve buzlu ortamda sonikatör vasıtasıyla homojenize edildi, doku homojenatları 3000 rpm ve +4°C' de, 20 dk santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlar, çalışma yapılana kadar -80°C' de saklandı.

3.5.1. TOS, TAC ve OSI tayini

Total oksidan status (TOS) ölçümü

TOS, kas dokusu ve plazmada, Erel [52] tarafından geliştirilen otomatik bir ölçüm yöntemi ile Rel Assay Diagnostic (Gaziantep, Türkiye) marka ticari kitler kullanılarak, otoanalizörde ölçüldü. Ölçüm sonuçları µmol H₂O₂Equiv/L olarak ifade edildi.

Total antioksidan kapasite (TAC) ölçümü

Kas dokusunda ve plazmada total antioksidan kapasite Erel [53] tarafından geliştirilen otomatik bir ölçüm yöntemi ile Rel Assay Diagnostic (Gaziantep, Türkiye) marka ticari kitler kullanılarak, otoanalizörde ölçüldü. Ölçüm sonuçları mmol Trolox Equiv/L olarak ifade edildi.

Oksidatif stres indeksinin hesaplanması

TOS düzeylerinin TAC düzeylerine oranı olarak ifade edilen OSI, aşağıdaki formüle göre hesaplandı. Sonuçlar “arbitrary unit” (AU) olarak ifade edildi.

$$OSI = \frac{TOS, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv/L}}{TAC, \text{mmol Trolox Equiv/L} \times 10}$$

3.5.2. Paraoksonaz-1 (PON1) enzim aktivitesinin ölçümü

Kas dokusunda ve plazmada PON1 enzim aktivitesi, Rel Assay Diagnostic (Gaziantep, Türkiye) marka ticari kitler kullanılarak, otoanalizörde ölçüldü. Ölçüm sonuçları U/L olarak ifade edildi.

3.5.3. Myeloperoksidaz (MPO) enzim aktivitesinin ölçümü

Kas dokusunda ve plazmada MPO enzim aktivitesi, Rel Assay Diagnostic (Gaziantep, Türkiye) marka ticari kitler kullanılarak, otoanalizörde ölçüldü. Ölçüm sonuçları U/L olarak ifade edildi.

3.5.4. Plazmada kortizol ölçümü

Plazmada kortizol analizi, Gazi Üniversitesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda uygun kitler ile Access immunoassay system (Beckman Coulter, USA) otoanalizör cihazında çalışıldı. Ölçüm sonuçları ng/mL, olarak ifade edildi.

3.6. Histolojik İncelemeler

Kastaki doku hasarı Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama yöntemiyle görüntülenip, ışık mikroskopunda, histolojik olarak gösterildi. Sakrifikasyonu takiben alınan doku örnekleri 48 saat %10 nötral formaldehitte bekletilerek fiksasyonu sağlandı. Fikse edilen dokular 24 saat akarsuda yıkanıp daha sonra sırası ile %70 etil alkolde 20dk, %80 etil alkolde 20dk,

%96 etil alkolde 20dk, Aseton I’de 20 dk, Aseton II’de 20 dk, Aseton III’de 20 dk, Aseton IV’de 20 dk bekletildi. Asetondan çıkan dokular Ksilol I ve Ksilol II’de 30’ar dk bekletildi. Dokular gömülmeden önce 60°C’lik etüvde erimiş Parafin I ve Parafin II’de 1’er saat bekletilerek, parafin bloklara gömüldü. Bloklardan elde edilen 5µm kalınlıkta kesitler deparafinizasyon sonrası histomorfolojik ölçümlerinin yapılabilmesi için Hematoksilen Eosin yöntemi ile, protokolü takiben boyandı. Elde edilen kesitler Leica 4000B ışık mikroskobu ile incelendi ve Leica QWin programı kullanılarak histolojik fotoğraflar elde edildi.

3.7. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler, ortalama $\pm$ standart sapma (Ort $\pm$ SD) olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz öncesi tüm verilerde normallik, Shapiro-Wilk Testi ile değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen verilerin, logaritmik dönüşümle normal dağılması sağlandı. Gruplar arasındaki farkları değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel olarak anlamlı fark saptandığında post-hoc Tukey-Kramer Testi kullanılarak; gruplararası karşılaştırma yapıldı. Ayrıca araştırılan parametreler arasındaki ilişkilerin saptanması için korelasyon testleri de yapıldı. İstatistiksel analizler için MedCalc (v19.0.3, Belgium) yazılımı kullanıldı [54].

4. BULGULAR

4.1. Deney Hayvanları ve Tüketici Egzersiz Verileri

Sıçanların ağırlıkları

Çizelge 4.1. Sıçanların deney protokolü süresince ağırlıklarının değişimi.

	K	TE-0	TE-1
1.Gün	252 ±19 gr	250 ±20 gr	250 ±20 gr
7.Gün (Egzersiz Öncesi)	261 ±20 gr	257 ±22 gr	258 ±20 gr
1.-7. Gün Arası Fark	9 ±7 gr	7 ±6 gr	8 ±7 gr
Egzersizden Hemen Sonra	-----	251 ±22 gr	250 ±22 gr
Egzersiz Sonrası - Öncesi Arası Fark	-----	-(6± 3) gr	-(8 ±3) gr
Egzersizden 1 Gün Sonra	-----	-----	250 ±23 gr
8. Gün-7. Gün Arası Fark	-----	-----	0,5±5 gr

Her bir gruba ait veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

K: Kontrol grubu, TE-0: Tüketici egzersizden hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu.

Tüketici egzersiz sonrası (ortalama 3 saat, 20dk sonra) kaybedilen ağırlık, neredeyse ilk 6 günde alınan ağırlık ortalaması kadar oldu. Tüm gruplarda sıçanların ağırlık değişimleri benzer bulundu.

Tükenme süreleri

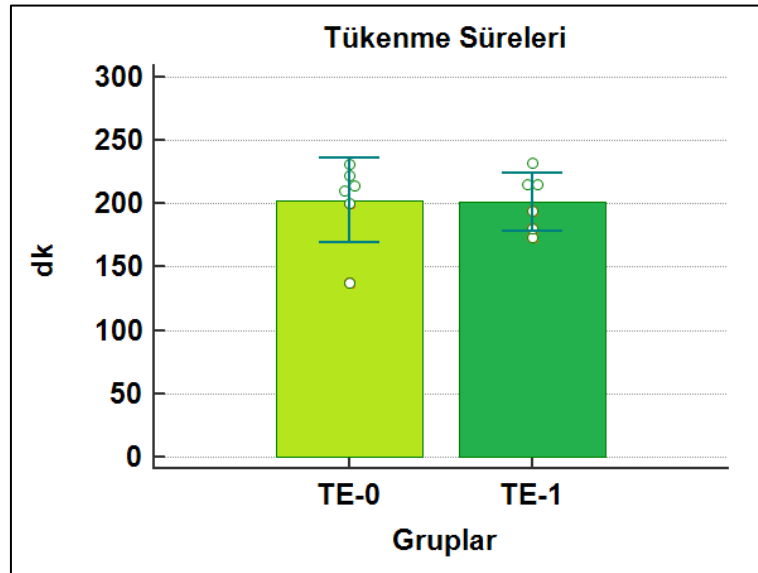
Çizelge 4.2. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların tükenme süreleri.

	TE-0	TE-1
Tükenme Süresi	203 $\pm$ 33dk	202 $\pm$ 23dk

Her bir gruba ait veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

TE-0: Tüketici egzersizden hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu.

Egzersiz gruplarında tükenme süreleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p= 0,953$).



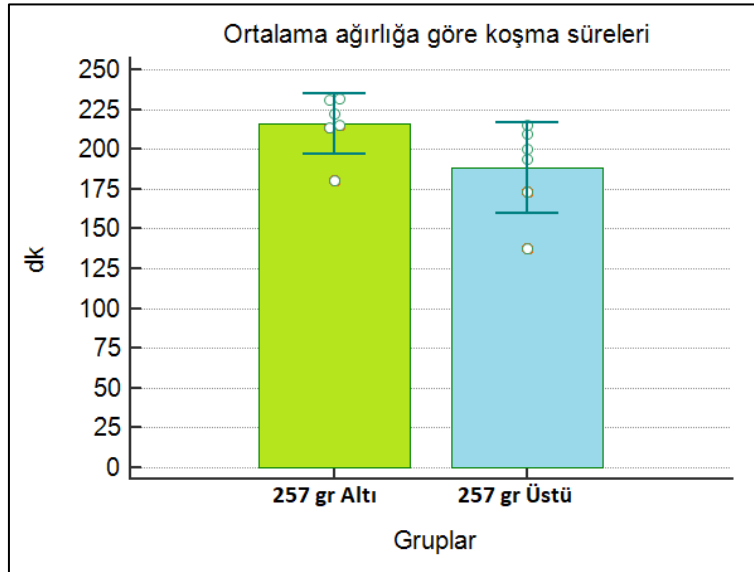
Şekil 4.1. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların tükenme süreleri (Ort $\pm$ SD).

Ağırlık ortalamasına göre tükenme süreleri

Çizelge 4.3. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların ağırlık ortalamasına göre tükenme süreleri.

	Ağırlık Ortalamasının Altı	Ağırlık Ortalamasının Üstü
Tükenme Süresi (dk)	216 ±19 p=0,081	188 ±28

Her bir gruba ait veriler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.
p: anlamlılık düzeyi.



Şekil 4.2. Tüketici egzersize zorlanan sıçanların ağırlık ortalamasına göre oluşturulan 257 gr altı ve 257 gr üstü gruplarının koşabilme süreleri (Ort ± SD), p=0,081.

4.2. Total Oksidan Status (TOS)

Plazmada TOS, TE-0 grubunda arttı ancak fark anlamlı bulunmadı. TE-1 grubunda TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p=0,02$).

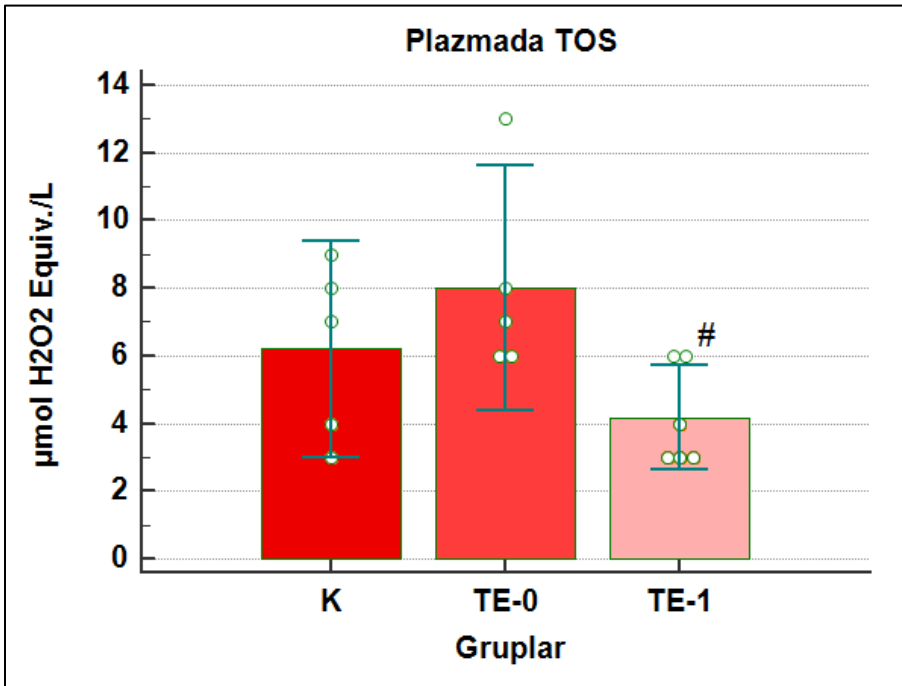
Gastroknemius kasında TOS, kontrol grubuna kıyasla TE-0 ve TE-1 grubunda azaldı, fark anlamlı bulunmadı.

Çizelge 4.4. Plazmada ve gastroknemius kasında TOS düzeyleri.

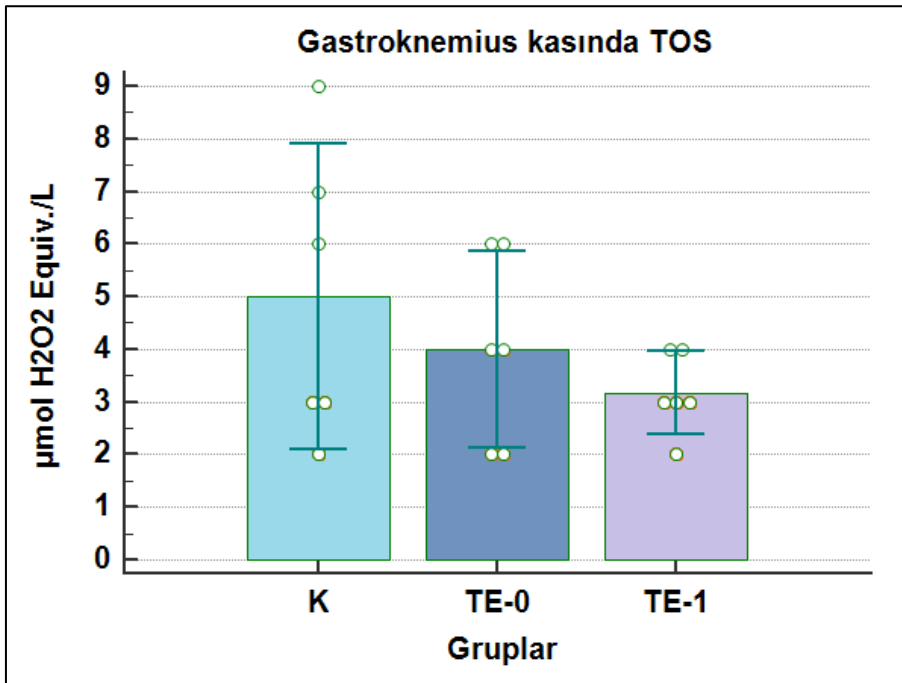
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L)	K	TE-0	TE-1
Plazmada	6,20 $\pm$ 2,59	8,00 $\pm$ 2,91	4,17 $\pm$ 1,47 # p=0,02
Gastroknemius kasında	5,00 $\pm$ 2,76	4,00 $\pm$ 1,79	3,17 $\pm$ 0,75

Her bir gruba ait veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

K: Kontrol grubu, TE-0: Tüketici egzersizden hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu, #:TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, p: anlamlılık düzeyi.



Şekil 4.3. Plazmada TOS düzeyleri (ort ±SD), # TE-0 grubuna göre anlamlı fark var, p=0,02.



Şekil 4.4. Gastroknemius kasında TOS düzeyleri (Ort ± SD).

4.3. Total Antioksidan Kapasite (TAC)

Plazmada TAC, TE-1 grubunda, TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p=0,016$).

Gastroknemius kasında TAC, TE-1 grubunda, TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olarak arttı ($p=0,014$).

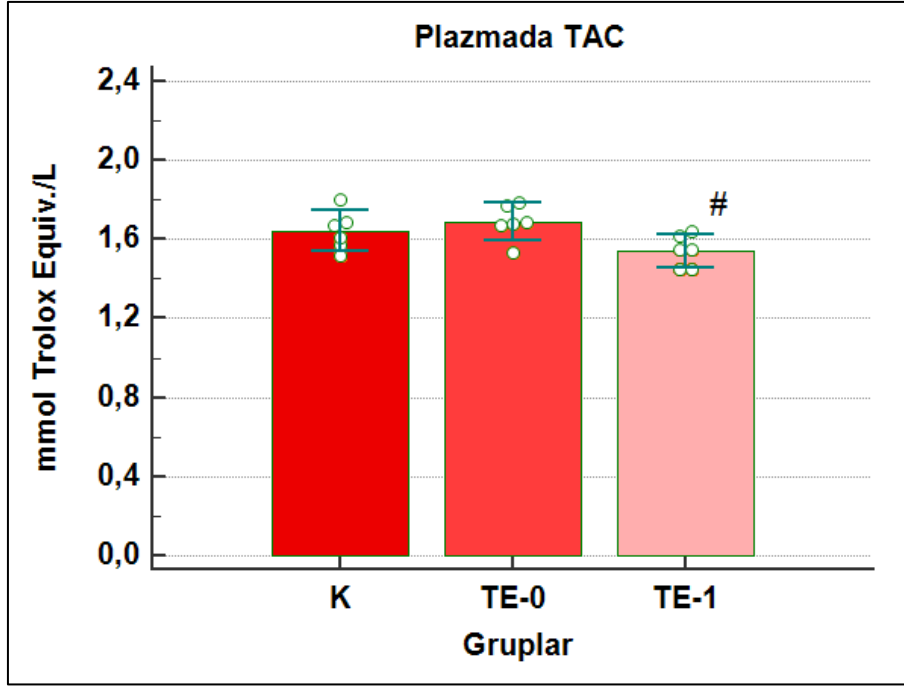
TE-1 grubunda plazma ile kas dokusundaki TAC seviyeleri arasında anlamlı ($p=0,0263$), yüksek düzeyde ilişkili negatif korelasyon ($r=-0,865$) görüldü.

Çizelge 4.5. Plazmada ve gastroknemius kasında TAC düzeyleri.

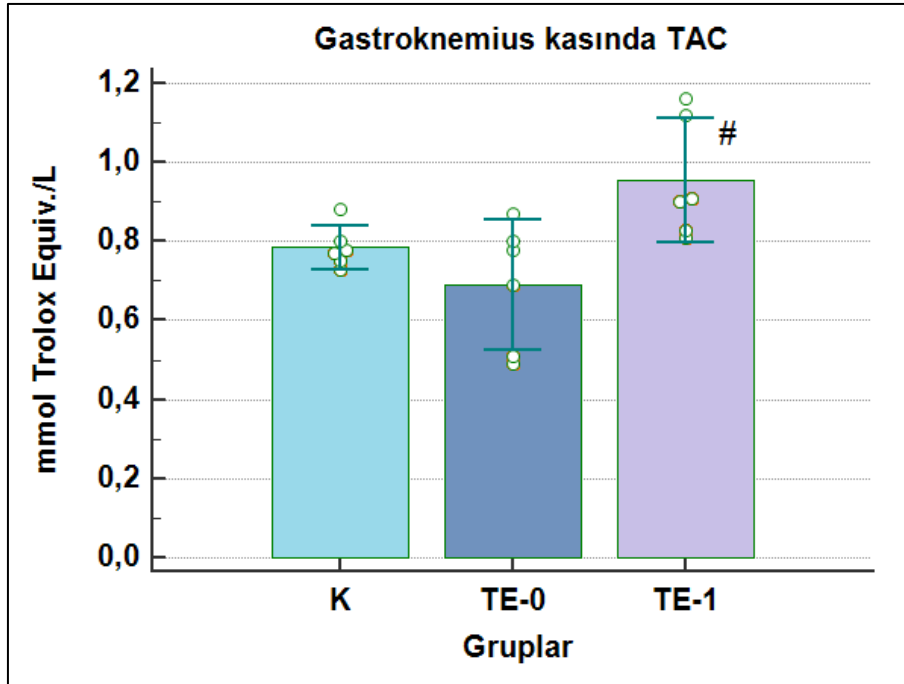
TAC (mmol Trolox Equiv./L)	K	TE-0	TE-1
Plazmada	1,643 $\pm$ 0,1	1,688 $\pm$ 0,1	1,543 $\pm$ 0,1# p=0,016
Gastroknemius kasında	0,785 $\pm$ 0,05	0,690 $\pm$ 0,15	0,955 $\pm$ 0,15# p=0,014

Her bir gruba ait veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

K: Kontrol grubu, TE-0: Tüketici egzersizden hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu, #:TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, p: anlamlılık düzeyi.



Şekil 4.5. Plazmada TAC düzeyleri. (Ort ± SD), # TE-0 grubuna göre anlamlı fark var, $p=0,016$.



Şekil 4.6. Gastrocnemius kasında TAC düzeyleri, (Ort ± SD), # TE-0 grubuna göre anlamlı fark var, $p=0,014$.

4.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Plazmada OSI, TE-0 grubunda yüksek bulundu, ancak fark anlamlı değildi. TE-1 grubunda TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p=0,021$).

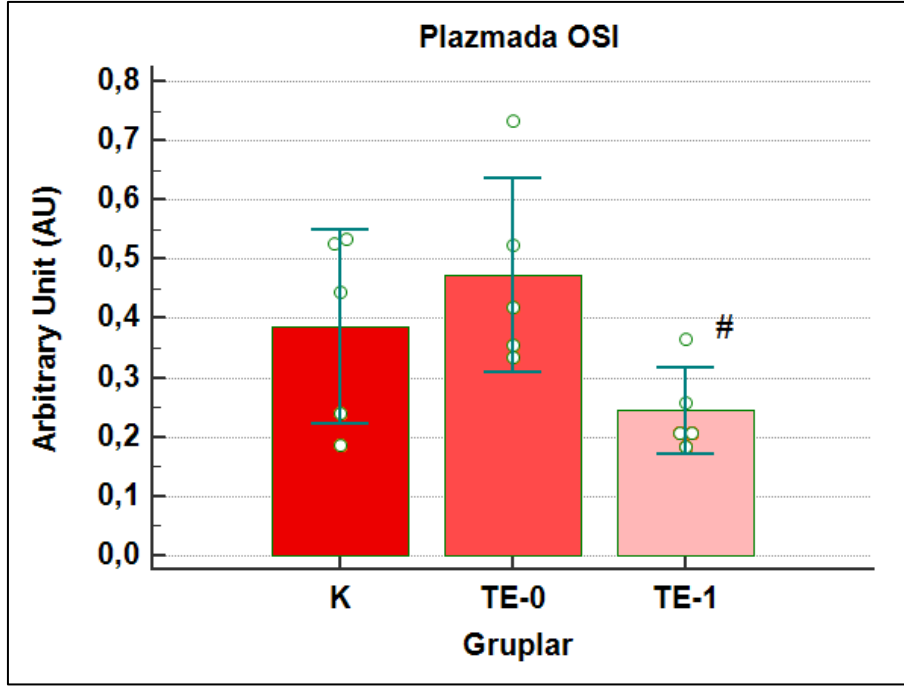
Gastroknemius kasında OSI, TE-0 grubunda azaldı ancak fark anlamlı değildi. TE-1 grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p=0,028$).

Çizelge 4.6. Plazmada ve gastroknemius kasında OSI düzeyleri.

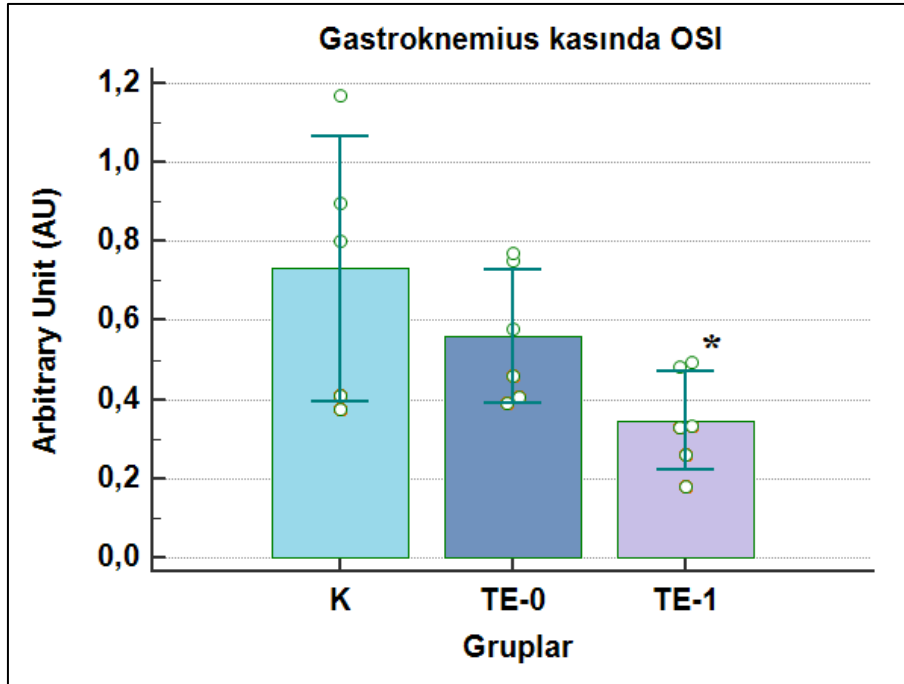
OSI (Arbitrary Unit)	K	TE-0	TE-1
Plazmada	0,386 $\pm$ 0,16	0,473 $\pm$ 0,16	0,244 $\pm$ 0,07# p=0.021
Gastroknemius kasında	0,730 $\pm$ 0,34	0,560 $\pm$ 0,17	0,346 $\pm$ 0,12* p=0,028

Her bir gruba ait veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

K: Kontrol grubu, TE-0: Tüketici egzersizden hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu, *: K grubuna kıyasla anlamlı fark var, #: TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, p: anlamlılık düzeyi.



Şekil 4.7. Plazmada OSI düzeyleri (Ort $\pm$ SD), # TE-0 grubuna göre anlamlı fark var, $p=0.021$.



Şekil 4.8. Gastroknemius kasında OSI (TOS/TAC) düzeyleri (Ort $\pm$ SD), * K grubuna göre anlamlı fark var, $p=0.028$.

4.5. Paraoksonaz-1 (PON-1) Enzim Aktivitesi

Plazmada PON1 aktivitesi, TE-0 ve TE-1 gruplarında giderek azaldı. TE-1 grubunda hem kontrol hem de TE-0 grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu (sırayla $p=0,001$; $p=0,007$).

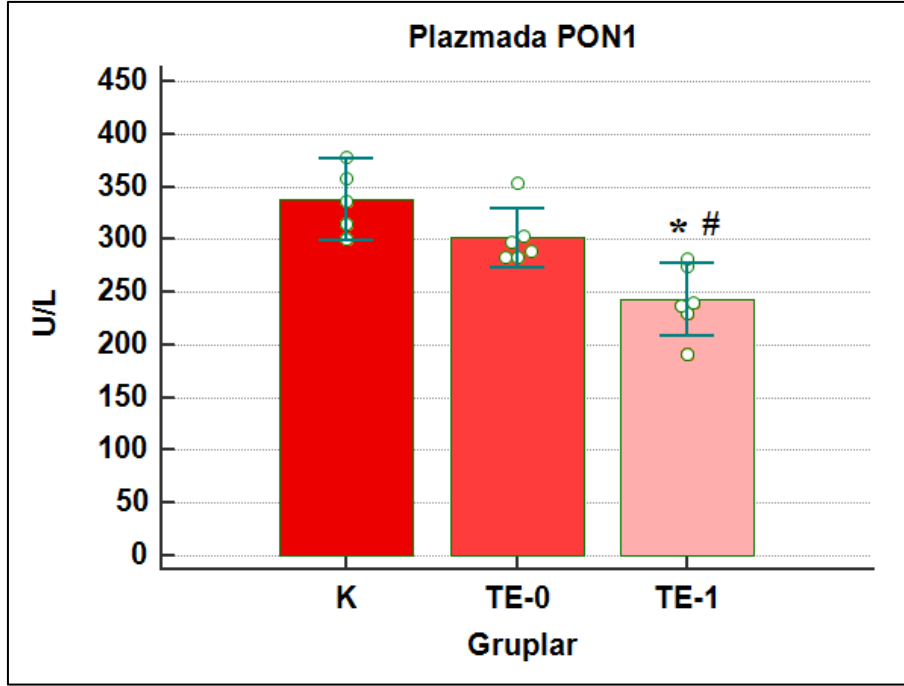
Gastroknemius kasında PON1 aktivitesi, TE-0 grubunda anlamlı olarak azaldı ($p=0,013$). TE-1 grubunda TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olmamak üzere arttı.

Çizelge 4.7. Plazmada ve gastroknemius kasında PON1 enzim aktivitesi

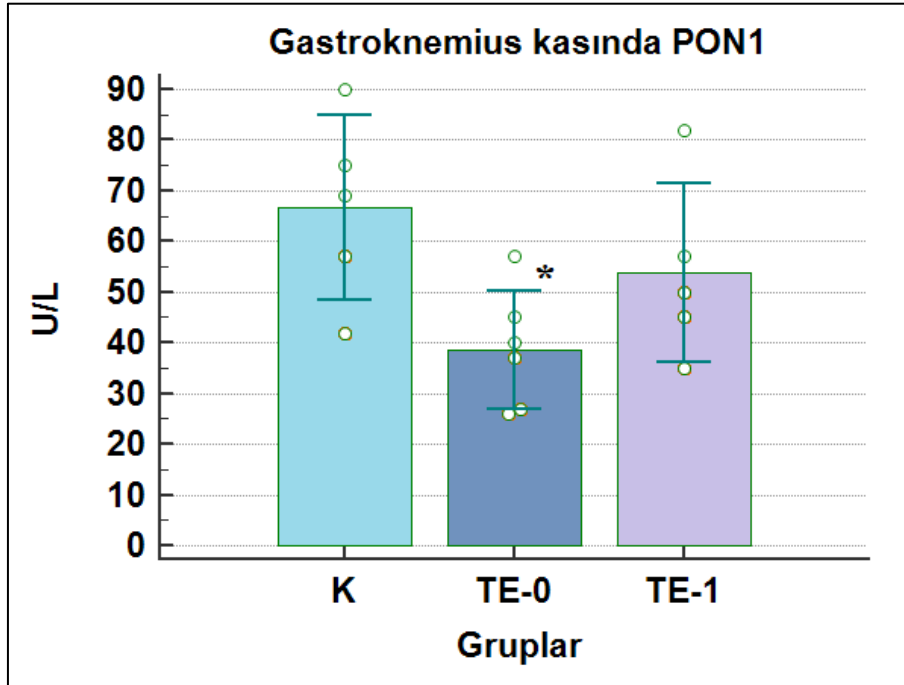
PON1 (U/L)	K	TE-0	TE-1
Plazmada	338 $\pm$ 31	302 $\pm$ 27	242 $\pm$ 33 * # * p=0,001 # p=0,007
Gastroknemius kasında	67 $\pm$ 18	39 $\pm$ 12* p=0,013	54 $\pm$ 18

Her bir gruba ait veriler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

K: Kontrol grubu, TE-0: Tüketici egzersizden hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu, *: K grubuna kıyasla anlamlı fark var, #:TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, p: anlamlılık düzeyi.



Şekil 4.9. Plazmada PON1 aktivitesi (Ort $\pm$ SD); *K grubuna kıyasla anlamlı fark var, # TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var), *p=0,001; #p=0,007.



Şekil 4.10. Gastroknemius kasında PON1 aktivitesi (Ort $\pm$ SD), *K grubuna kıyasla anlamlı fark var, p=0,013.

4.6. Myeloperoksidaz (MPO) Enzim Aktivitesi

Plazmada MPO aktivitesi, TE-0 grubunda anlamlı olmamak üzere arttı. TE-1 grubunda TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı ($p=0,004$).

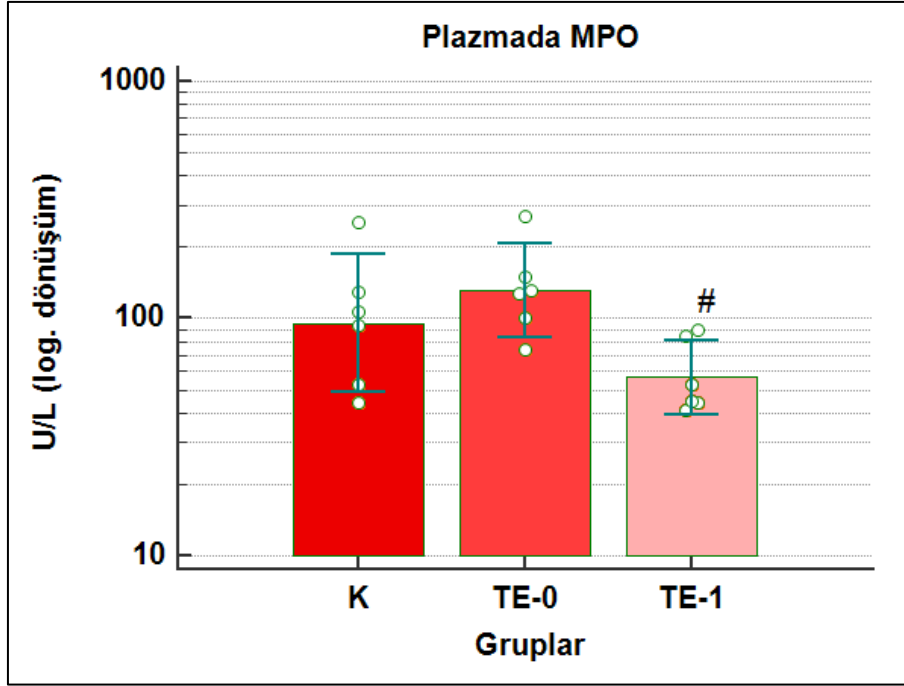
Gastroknemius kasında MPO aktivitesi, TE-0 grubunda anlamlı olmamak üzere azaldı. TE-1 grubunda TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olarak arttı ($p=0,037$).

Çizelge 4.8. Plazmada ve gastroknemius kasında MPO enzim aktivitesi

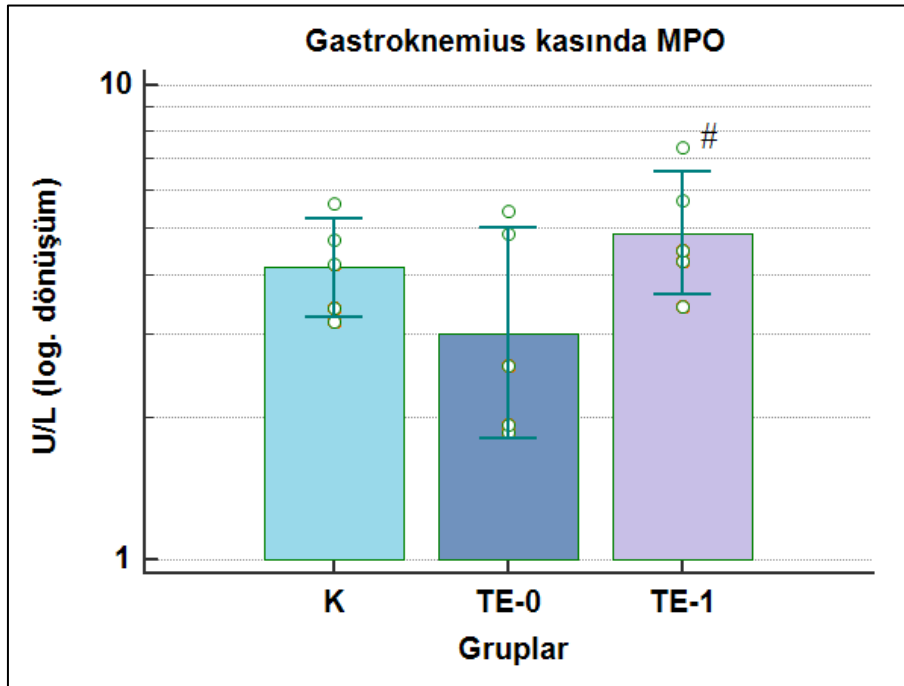
MPO (U/L)		K	TE-0	TE-1
Plazmada	<i>Ort ± SD</i>	113 ±76	142 ±68	60 ±22
	<i>Geo. Ort. **</i>	96	131	56 # p=0,004
Gastroknemius kasında	<i>Ort ± SD</i>	4,22 ±1	2,80 ±1,4	5,06 ±1,5
	<i>Geo. Ort. **</i>	4,13	2,59	4,88# p=0,037

Her bir gruba ait veriler ortalama ± standart sapma ve logaritmik dönüşüm sonrası geometrik ortalama** şeklinde verilmiştir.

K: Kontrol grubu, TE-0: Tüketici egzersizden hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersizden 1 gün sonra grubu, #: TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, p: anlamlılık düzeyi, **: Shapiro-Wilk Testi sonucuna göre normal dağılım göstermediği için logaritmik dönüşüm uygulandı ve verilerin normal dağılması sağlandı.



Şekil 4.11. Plazmada MPO düzeyleri (logaritmik dönüşüm, Geo.Ort.±SD), # TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, $p=0,004$.



Şekil 4.12. Gastroknemius kasında MPO düzeyleri (logaritmik dönüşüm, Geo.Ort. ±SD), #TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, $p=0,037$.

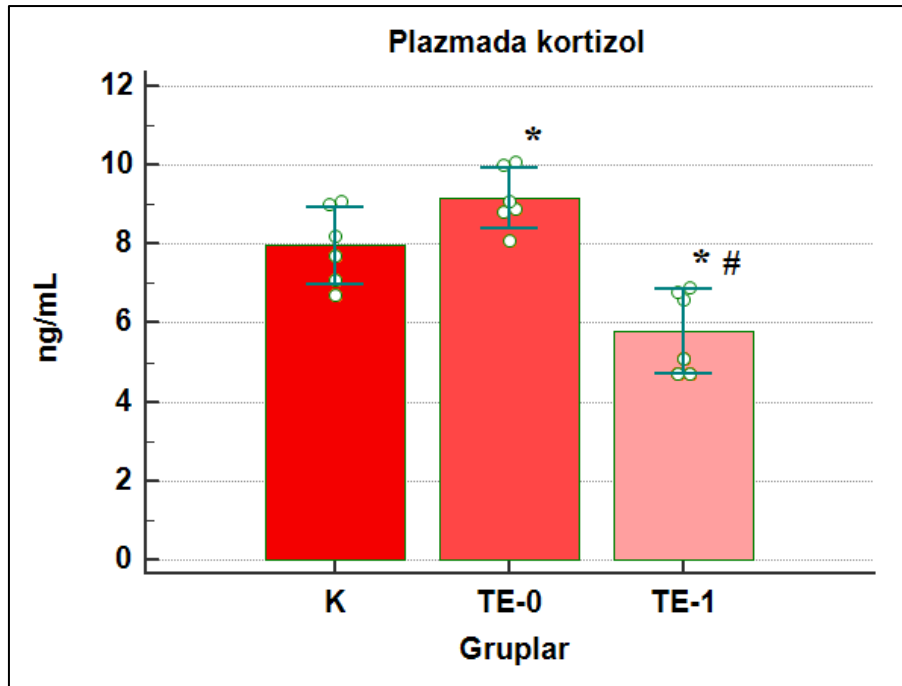
4.7. Kortizol

Plazmada kortizol, TE-0 grubunda anlamlı olarak arttı ($p=0,04$). TE-1 grubunda ise kontrol ve TE-0 grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldı (sırayla $p=0,004$, $p<0,001$).

Çizelge 4.9. Plazmada kortizol düzeyleri.

	K	TE-0	TE-1
Plazma kortizolü (ng/mL)	7,97 $\pm$ 0,98	9,17 $\pm$ 0,76* * $p=0,04$	5,80 $\pm$ 1,07* # * $p=0,004$ # $p<0,001$

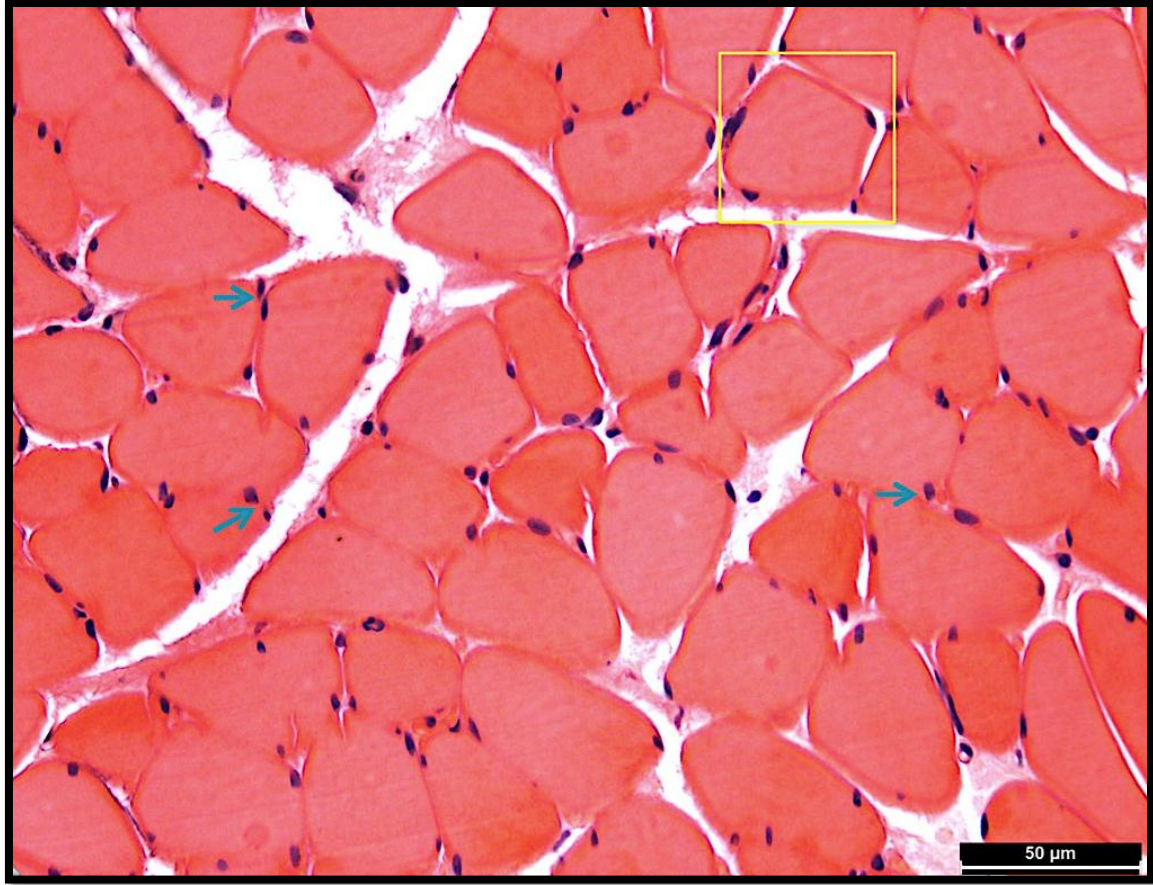
K: Kontrol grubu, TE-0: Tüketici egzersiz hemen sonra grubu, TE-1: Tüketici egzersiz 1 gün sonra grubu, *: K grubuna kıyasla anlamlı fark, #: TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark, p: anlamlılık düzeyi.



Şekil 4.13. Plazmada kortizol düzeyleri. (Ort $\pm$ SD), * Kontrol grubuna kıyasla anlamlı fark var, #TE-0 grubuna kıyasla anlamlı fark var, *TE-0 $p=0,04$; *TE-1 $p=0,004$; # $p<0,001$.

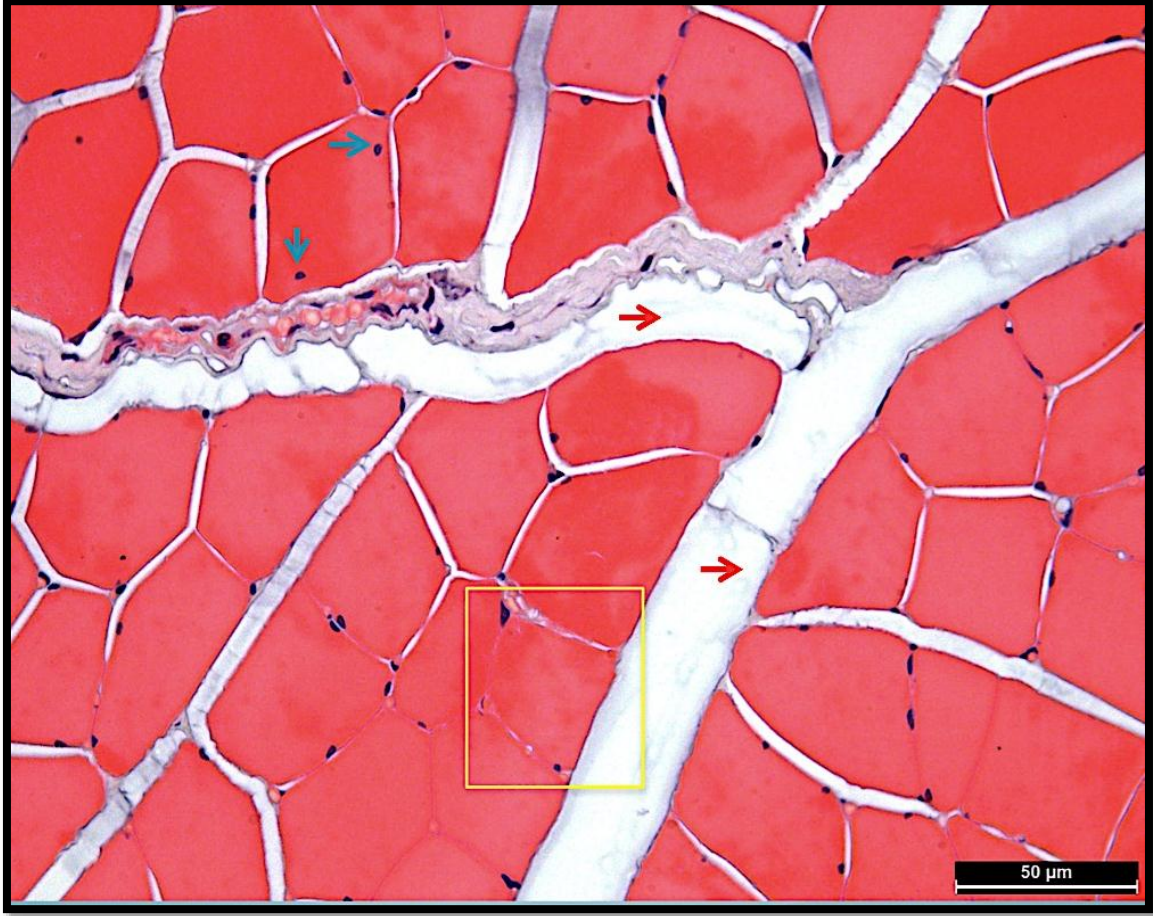
4.8. Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait olan örneklerde, sarı çerçeve içerisinde gösterilen myositlerin hücre sınırlarının düzenli olduğu gözlemlendi. Mavi okla gösterilen myosit çekirdekleri hücre periferinde ve çok sayıda olduğu kaydedildi. (Bkz. Resim 4.1.)



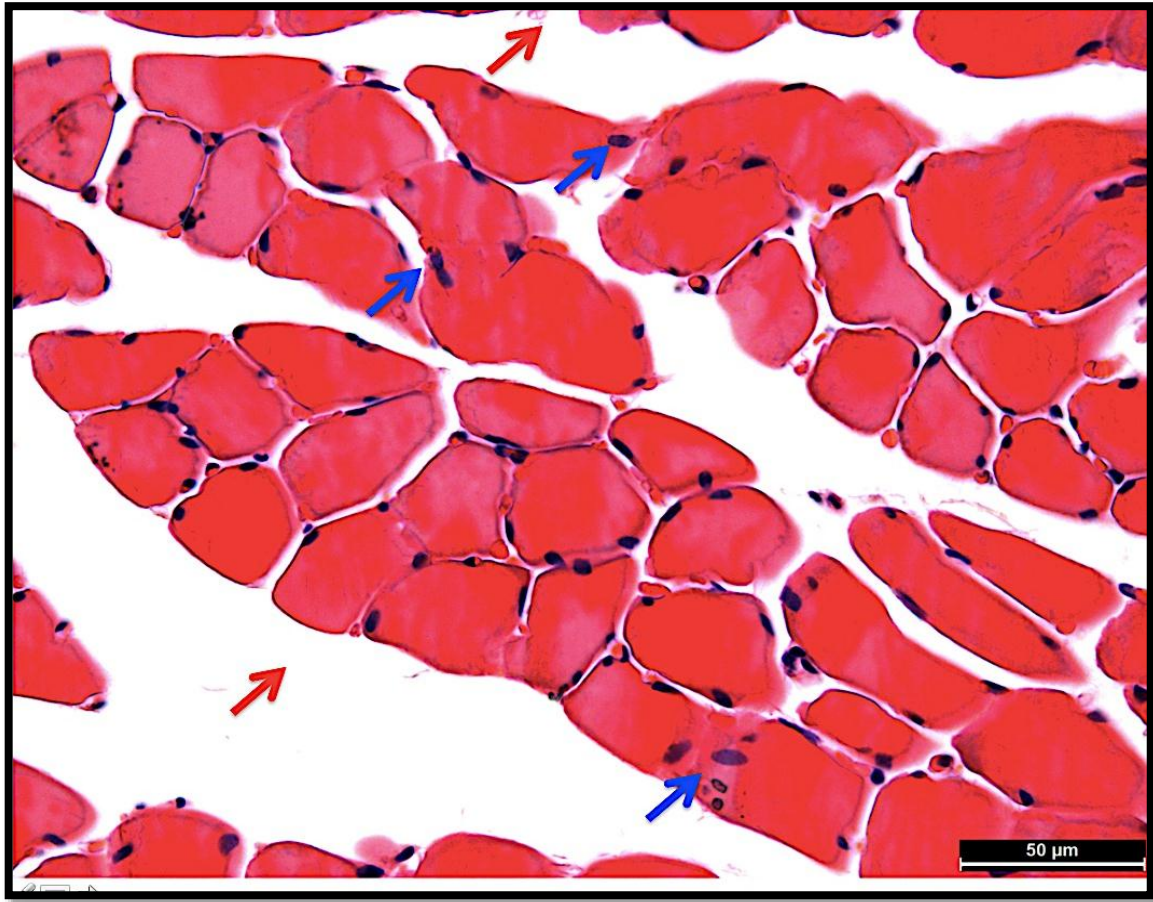
Resim 4.1. Kontrol grubunda gastrocnemius kasının histolojik görüntüsü (enine kesit, H&E, X40). Çekirdekler çeperlerde. Lifler arası mesafeler normal.

TE-0 grubuna ait enine kesit örneklerde sarı çerçeve içerisinde gösterildiği gibi bazı hücre sınırlarının bozulduğu, hücre hayalinin korunmadığı izlendi. Mavi okla gösterilen bazı myosit çekirdeklerinin hücrenin merkezine doğru göç etmekte olduğu belirlendi. Kırmızı okla gösterilen interfasiküler mesafede gözlenen artışın, TE-1 grubuna kıyasla daha sınırlı ölçüde olmakla birlikte, inflamasyon ve ödem oluşumu ile ilişkili olabileceği düşünüldü. İnterfibriler mesafelerde belirgin bir artış saptanmadı. (Bkz. Resim 4.2.)



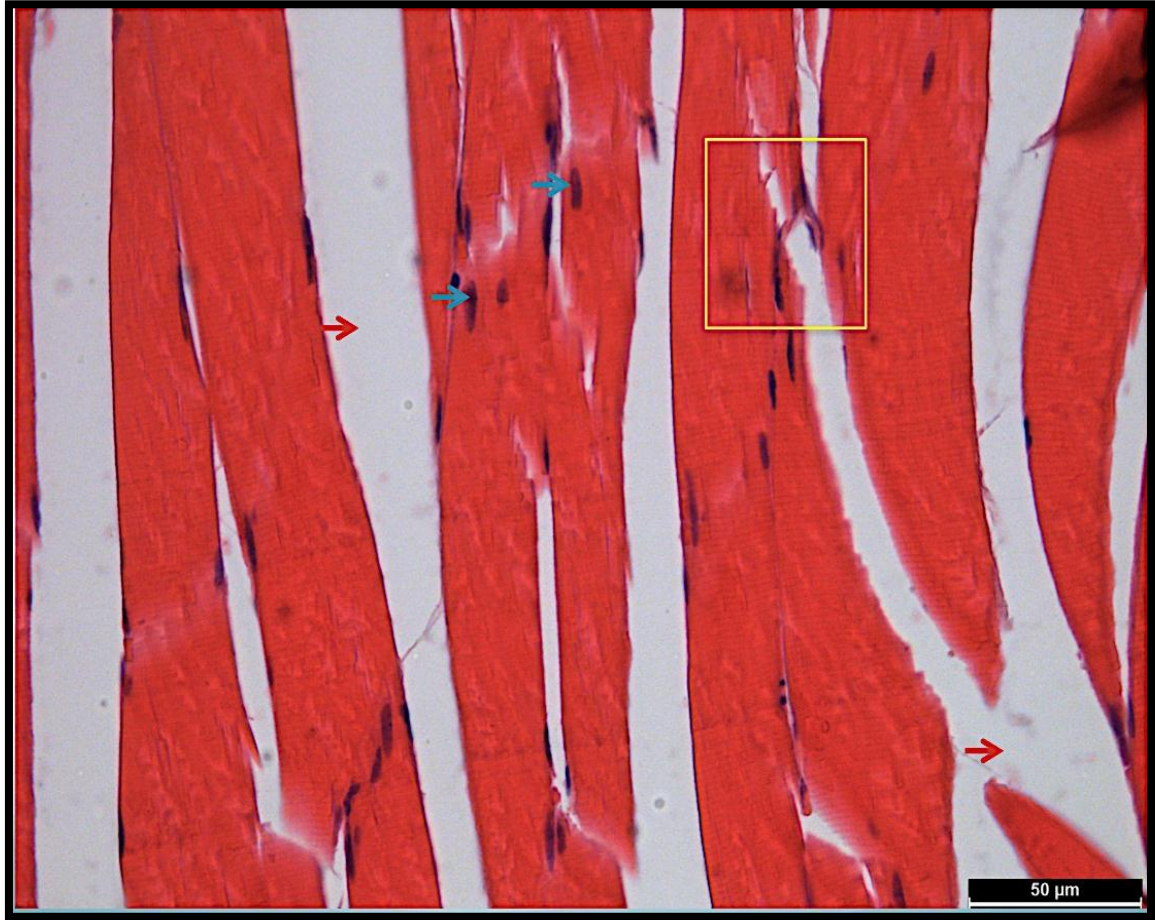
Resim 4.2. TE-0 grubunda gastrocnemius kasının histolojik görüntüsü (enine kesit, H&E, X40).

TE-1 grubunda hücre sınırları daha düzensiz olarak izlendi. Myogloblin kaybına bağlı olabileceği düşünülen boyanma özelliğinde farklılaşma tespit edildi. Mavi okla gösterilen myosit çekirdeklerinde sayıca artış, kümeleşme ve belirgin olarak merkeze göç izlendi. Kırmızı okla gösterilen interfaziküler ve interfibriler mesafedeki artış belirginleşti. TE-0 grubuna kıyasla daha belirgin olarak izlenen bu bulgular, artan inflamasyon - ödem lehine yorumlandı. (Bkz. Resim 4.3.)



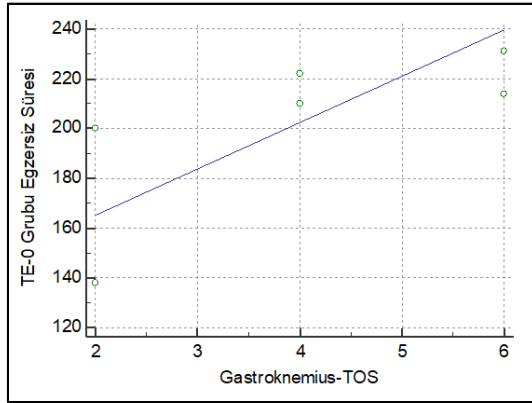
Resim 4.3. TE-1 grubunda gastrocnemius kasının histolojik görüntüsü (enine kesit, H&E, X40).

TE-1 grubu gastroknemius kasından alınan boyuna kesit örneklerinde, hücre sınırlarındaki düzensizliğin TE-0 grubuna kıyasla daha belirgin olduğu izlendi. Bunun yanında sarı çerçeve ile gösterilen bazı myositlerde yer yer kopmalar olduğu görüldü. Merkezde çekirdek içeren myosit sayısında artma olduğu kaydedildi. Kırmızı okla gösterilen interfibriler mesafedeki artış belirgin olarak gözlendi. Bu bulgular TE-1 grubunda, TE-0 grubuna kıyasla, inflamasyon ve ödemin arttığına işaret ediyordu. (Bkz. Resim 4.4.)

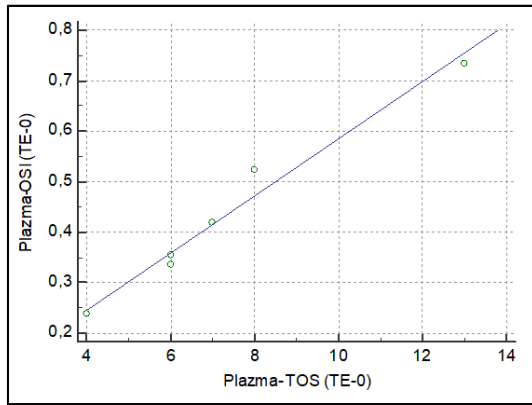


Resim 4.4. TE-1 grubunda gastroknemius kasının histolojik görüntüsü (boyuna kesit, H&E, X40).

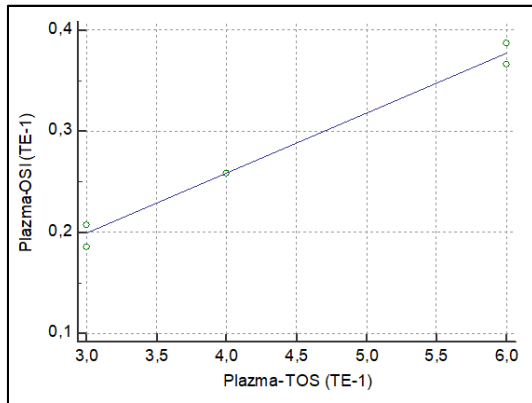
4.9. Korelasyon Analizi



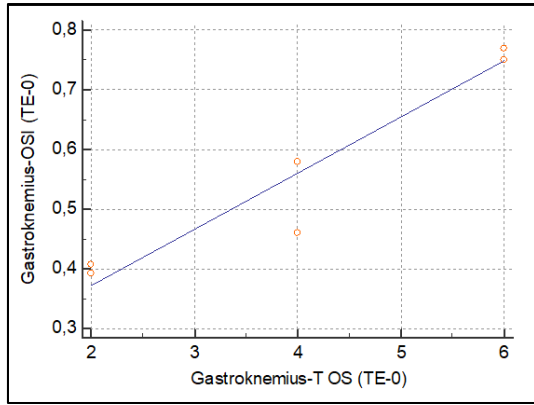
Şekil 4.14. TE-0 grubunda egzersiz süresi ile gastroknemius TOS düzeyleri arasındaki pozitif korelasyon; $n=6$; $r=0,7183$; $p=0,1079$.



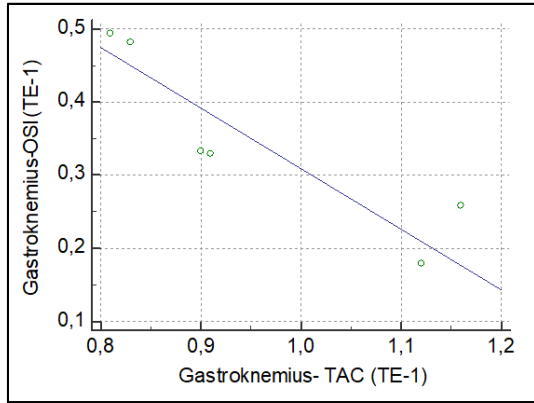
Şekil 4.15. TE-0 grubunda plazmada OSI ile TOS arasındaki pozitif korelasyon, $n=6$; $r=0,9879$; $p=0,0002$.



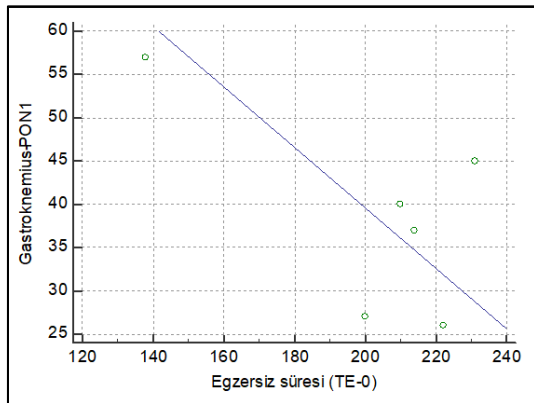
Şekil 4.16. TE-1 grubunda plazmada OSI ile TOS arasındaki pozitif korelasyon, $n=6$; $r=0,9929$; $p=0,0001$.



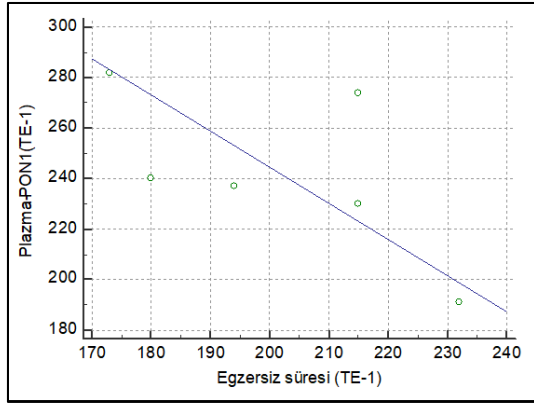
Şekil 4.17. TE-0 grubunda gastroknemius kasında OSI ile TOS arasındaki pozitif korelasyon; $n=6$; $r=0,9557$; $p=0,0029$.



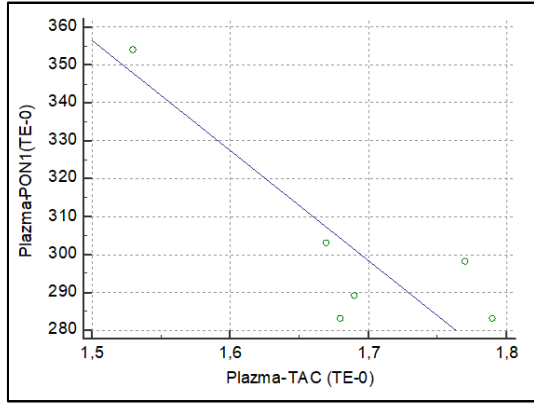
Şekil 4.18. TE-1 grubunda gastroknemius kasında OSI ile TAC arasındaki negatif korelasyon; $n=6$; $r=-0,8958$; $p=0,0157$.



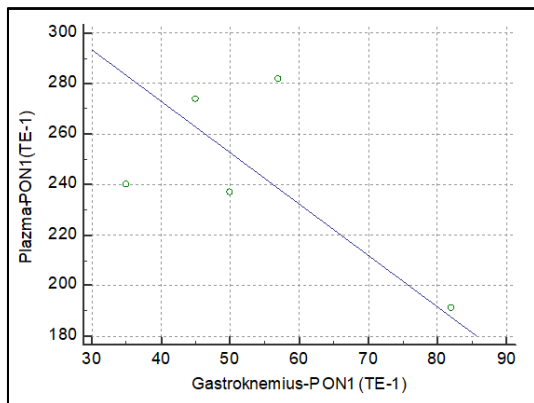
Şekil 4.19. TE-0 grubunda gastroknemius kasında PON1 aktivitesi ile egzersiz süresi arasındaki negatif korelasyon; $n=6$; $r=-0,6340$; $p=0,1764$.



Şekil 4.20. TE-1 grubunda plazmada PON1 aktivitesi ile egzersiz süresi arasındaki negatif korelasyon; $n=6$; $r=-0,6229$; $p=0,1865$



Şekil 4.21. TE-0 grubunda plazmada PON1 aktivitesi ile TAC arasındaki negatif korelasyon; $n=6$; $r=-0,8375$; $p=0,0375$.



Şekil 4.22. TE-1 grubunda PON1 aktivitesinin gastroknemius ile plazma arasındaki negatif korelasyon; $n=5$; $r=-0,6011$; $p=0,2836$.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ortalama ağırlıkları 257 gr olan 3 aylık erkek sıçanlarda; hiç koşu yaptırılmayan kontrol (K, n=6); tüketici egzersiz yaptırılarak hemen feda edilen (TE-0, n=6) ve tüketici egzersizden bir gün sonra feda edilen (TE-1, n=6) grupları oluşturulmuş ve gastroknemius kaslarında ortaya çıkabilecek hasar bulguları incelenmiştir. Aldığımız kas ve kan örneklerine ait biyokimyasal incelemeler ve gastroknemius kasına ait histolojik bulgulara, tüketici bir egzersizden sonra kasta inflamasyon faktörlerinin, zorlu koşudan bir gün sonra daha belirgin olarak ortaya çıktığı saptanmıştır. Bu çalışma, herkes tarafından pek çok defa deneyimlenmiş olan, şiddetli bir fiziksel aktiviteden bir gün sonra yaşanan kas ağrısı ve sertleşmesini açıklayacak mekanizmaların sorgulanması amacını da gütmektedir. Zorlu egzersizlerden 1-2 gün sonra hissedilen kas ağrısı olasılıkla kas liflerinde bir inflamasyona işaret etmekle birlikte, bu inflamasyon ve ağrının derecesi de kişinin fiziksel aktivite düzeyi (FITNESS) ile ilişkilidir. Yüksek şiddette fiziksel aktivite yapan antrenmanlı sporcularda da, aktiviteden sonraki ilk günlerde, kaslarda inflamasyon ve ağrı bulguları olmakla birlikte; birkaç gün içinde rejenerasyon süreçleri tamamlanmakta ve bu kaslar, eskiye nazaran yapılarını daha da güçlendirmektedir [55, 56]. Bölümümüzde daha önce yapılan bir çalışmada, yine başka şiddet ve sürelerde uygulanan tüketici egzersize bağlı kas inflamasyonunun, egzersizden bir gün sonra baskın hale geldiğini, 3. günden itibaren de rejenerasyon sürecinin başladığını gösteren bazı bulgulara rastlanmıştır [19]. Ancak zorlu kas aktivitesi sırasında kas inflamasyonunu önleyen daha sonra da sahnedan çekilen faktörün ne olduğu tahmin edilmekle birlikte; deneysel olarak gösterilememiştir. Bu çalışma daha önceki çalışmaların bir devamı niteliğinde olup; geç başlayan kas ağrısının (delayed onset muscle soreness, DOMS) patofizyolojik mekanizmasını anlamaya yönelik atılmış bir adım niteliğindedir.

Sıçanlarda yaptığımız çalışmamızın sonunda, zorlu kas aktivitesinden hemen sonra (TE-0) ve bir gün sonra (TE-1) aldığımız kas ve kan örnekleri değerlendirilip, birbirleri ve kontroller ile karşılaştırıldığında özetle aşağıdaki bulgulara ulaşılmıştır:

- TOS; plazmada; TE-0 grubunda kontrollere göre yükselmiş, TE-1 grubunda TE-0 grubuna göre anlamlı olarak düşmüş, kasta ise, egzersiz yapan gruplarda kontrollere nazaran azalma olmakla birlikte fark anlamsız çıkmıştır.
- TAC; plazmada; TE-1 grubunda TE-0 grubuna göre anlamlı olarak azalmış, kasta ise; TE-1 grubunda TE-0 grubuna göre anlamlı olarak artmıştır.

- OSI; plazmada; TE-0 grubunda hafif yükselmiş, TE-1 grubunda TE-0 grubuna göre anlamlı azalmış, kasta ise; TE-0 ve TE-1 gruplarında giderek azalmış, TE-1 grubundaki azalma kontrole göre anlamlı çıkmıştır.
- PON1 aktivitesi; plazmada, egzersiz yapan gruplarda kontrollere göre giderek azalmış, TE- 1 grubunda bu azalma hem kontrole hem de TE-0 grubuna göre anlamlılık kazanmıştır. Kasta ise, TE-0 grubunda kontrole göre anlamlı olarak azalmış, ancak TE-1 grubunda tekrar normal kontrol değerlerine yaklaşacak şekilde artmıştır.
- MPO; plazmada TE-0 grubunda kontrollere göre yükselmiş, ancak TE-1 grubunda TE-0 grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Kasta ise, TE-0 grubunda düşük, TE-1 grubunda, TE-0 grubuna nazaran anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.
- Kortizol; Plazmada TE-0 grubunda hem kontrollere hem de TE-1 grubuna nazaran yüksek bulunmuş, TE-1 grubunda kortizol, kontrollere nazaran bile daha düşük seviyelere inmiştir. Farklar anlamlıdır.
- Gastroknemius kası histolojik bulguları, TE-0 grubunda interstisiyel aralığın artması nükleuslarda kümeleşme, hücre sınırlarının bozulması gibi bazı inflamasyon bulguları içermekle birlikte, TE-1 grubu kasların enine ve boyuna kesitlerinde; ödem ve kas hasarına işaret eden belirteçler çok daha bariz olarak artmıştır.

Ortalama ağırlıkları 257 gr olarak, tüketici egzersize başlayan TE-0 ve TE-1 grupları, bireysel olarak incelendiğinde ortalamanın altında ağırlığa sahip deneklerin daha uzun süre koşabildiği, ortalamanın üstünde ağırlığa sahip olanların daha çabuk tükendikleri ilginç bir bulgu olarak karşımıza çıkmıştır. Sıçanların hepsinin özenle, 3 aylık olarak ve birbirine çok yakın ağırlıklarda seçilmiş olmasından dolayı, bu fark ‘genç ve yaşlı’ denekler olarak açıklanamamakta, ayrıca bireysel farklılıklar olarak da değerlendirilememektedir. Olasılıkla ağırlığı fazla olanların performanslarının daha düşük olduğu görülmektedir. Bu konunun da daha ileri çalışmalarla açığa kavuşturulması gerekmektedir.

Egzersizın sağıık açısından birçok yararı bulunmaktadır. Fakat egzersiz aynı zamanda organizma için bir stres faktörüdür [1]. Bireylerin akut bir egzersize vereceğı yanıtlar fiziksel uygunluğuna, egzersiz tipine, yoğunluğuna ve süresine bağılı olarak değışebilir. Günlük hayatta çok sık uygulanmayan yoğun şiddetli bir fiziksel aktiviteye akut olarak maruz kalmak, organizmanın çeşitli dokularında hasarlar ve hatta yaşamsal riskler ortaya çıkarabilir.

Uzun süreli veya yüksek yoğunluklu fiziksel aktivite içeren maraton koşuları, ağır askeri eğitimler ve tükenmeye varabilen yüksek fiziksel performans yarışları ve sporlar gibi aktiviteler iskelet kasında hasar ve inflamasyon oluşturabilir. Kas hasarının tüketici egzersizden bir gün sonra belirginleştiği bölümümüzde daha önceden yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [19] ancak, hasara yol açan bu faktörlerin neden tükenme egzersizi esnasında değil de bir gün sonra arttığına dair bir varsayımda bulunulmakla birlikte, kesin kanıya ulaşılamamıştır. Fizyoloji kitaplarında da egzersiz sonrası oluşan gecikmiş kas ağrısından bahsedilmekte (DOMS) [22], ancak kas ağrısının gecikmesine yol açan mekanizmalar tam olarak açıklanamamaktadır. Bu durumda, aktiviteden yaklaşık 24-48 saat sonra ortaya çıkan kas hasarının ve kas ağrısının akut egzersiz esnasında inflamasyonu baskılayan bir mekanizma tarafından geciktirildiği akla gelmektedir.

Bu çalışmada hedefimiz, akut olarak çok yoğun fiziksel aktiviteye maruz kalan bireylerin yaptığı aktiviteye eşdeğer bir deneysel egzersiz modeli oluşturarak [49]; deney hayvanlarında bu strese karşı oluşan savunma faktörlerinin bazılarını incelemektir. İnsanlarla benzer biyokimyasal belirteçlere sahip deney hayvanlarında oluşturduğumuz akut ve zorlu bir kas aktivitesinin, egzersiz esnasında mı yoksa egzersizden 1 gün sonra mı daha fazla hasar oluşturduğunun saptanması, hasara yol açan veya hasarı önlemeye çalışan mekanizmaların araştırılması ile mümkündür. Elde edilecek bulgular olasılıkla, egzersiz eğitimi olmayan, sedanter bireylerde akut ve zorlayıcı bir kas aktivitesinden sonra ortaya çıkan ‘gecikmiş kas ağrısı’na yol açan mekanizmaların açıklanmasına da küçük bir katkıda bulunabilecektir.

Egzersiz, kaslar üzerine sadece fiziksel bir stres oluşturmakla kalmaz aynı zamanda kas dokusuna gerekli enerjinin sağlanması esnasında metabolik değişimlere de yol açar [55]. Zorlu bir fiziksel aktivite stresinin otonom sinir sisteminin hipotalamus-hipofiz-adrenal aksını uyarması, kortizol üretimini artırır ve kortizolün etkisi tüm sistemler üzerinde görülür. Hücresel boyutta ortaya çıkan en bilinen stres, oksidatif strestir. Egzersiz sırasında kaslarda serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) üretilmekte ve bunlar, plazmadaki artan oksidanların kaynağını oluşturmaktadır [16, 17, 19-21, 33, 35, 36]. İskelet kasında fizyolojik değerlerdeki oksidanlar, glukoz alımı, insülin duyarlılığı, endojen antioksidan seviyelerinin modülasyonu, mitokondrial biyogenez, kas kuvveti ve kas hipertrofisi gibi birçok hücresel işlevin gerçekleşmesinde önemli role sahiptir [33]. Ancak yüksek reaktiviteye sahip oksidan artışının, dokularda hasar oluşturma potansiyelleri de yüksektir. Fizyolojik işlevler için gerekli oksidanlardan fazlası hücre için

toksik, mutajenik ve kanserojen olabilir [32]. Kasların normal fizyolojik işlevlerini sürdürebilmesi için oksidan seviyelerini dengede tutabilen yüksek bir oksidan uzaklaştırma ya da etkisizleştirme (antioksidan) kapasiteye sahip olmaları gerekir [21].

Tüketici Egzersiz

Çalışmamızda, egzersiz eğitimi olmayan erişkin erkek sıçanlara tüketici egzersiz protokolü [21] uyguladıktan hemen sonra ve 1 gün sonra, gastroknemius kasında ve plazmada, oksidanlar ve bazı inflamatuvar belirteçleri inceledik. Uyguladığımız tüketici egzersiz protokolünde eğim yoktu ve yüklenme periyodunda hız 35m/dk da sabit tutuldu. Tükenme süreleri ortalama 200dk olarak kaydedilirken, kat ettikleri mesafe yaklaşık 7000 metre olarak hesaplandı. Yapılan bir araştırmada sıçanların ortalama adım uzunlukları normal bir yürüyüşte (8m/dk hızda) ortalama olarak 10cm olarak ölçülmüştür [57]. Tüketici egzersiz uyguladığımız sıçanların, adım uzunlukları 10cm baz alındığında, yaklaşık 70000 adım attıkları hesaplanmıştır. İnsanların normal bir yürüyüşteki adım uzunluğu ortalama 70cm dir [58] ve 70000 adım 50km lik bir ultramaraton parkuruna denk gelmektedir (ultramaraton >42,195km) [59]. Yukarıdaki veriler ışığında ratlara uyguladığımız bu çalışma modelinin, mesafe olarak insanların ultramaraton deneyimlerinde maruz kaldıkları strese benzer bir stres oluşturduğu varsayılabilir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz ilginç bir bulgu da; deneye seçilme yaşları ve ağırlıkları aynı olan, ancak adaptasyon sürecinde farklı ağırlıklar kazanan deneklerin, tüketici koşuya dayanma sürelerinin farklılığı oldu. Buna göre, deney günü, vücut ağırlıkları ortalama ağırlığın altında olan sıçanların zorlu egzersize daha uzun süre dayandıkları, ağırlığı ortalamanın üstünde olan sıçanların ise daha çabuk tükendiği saptandı, fark anlamlı düzeye yakın bulundu ($p=0,081$). Ayrıca, TE-0 grubunun tükenme süreleri ile gastroknemius kası TOS düzeyleri arasında da yüksek derecede ilişkili ‘pozitif korelasyon’ saptandı. (Bkz. Şekil 4.14.).

Doku Hasarı ve İnflamasyon

Gastroknemius kasında yaptığımız histolojik incelemelerde, tüketici egzersizden hemen sonra ödem ve inflamasyona işaret eden; bazı hücre sınırlarında bozulmalar, bazı hücrelerde nükleusların hücre merkezine doğru göçü, interfasiküler mesafelerde artış gibi bulgulara rastlandı. Tükenmeden 1 gün sonra grubundan elde edilen histolojik görüntülerde ise bu bulguların daha da yaygınlaştığı ve belirgin hale geldiği, ödemin, myosit harabiyetinin ve nükleusların kümeleşerek, hücre merkezine göçünün arttığı ve interfasiküler alanların daha çok genişlediği saptandı. Hücrelerde myoglobin kaybına bağlı

olarak boyanma özelliğinde farklılaşmalar da hücre metabolizmasının bozulduğunu gösteren bir bulgu olarak değerlendirildi. Hem biyokimyasal hem de histolojik bulgularımız kas hasarının fiziksel zorlanmadan 1 gün sonra arttığına işaret etmekteydi.

Aoi ve ark.(2004) da bizim bulgularımıza benzer şekilde, akut aerobik egzersiz uyguladıkları sıçanları 24 saat sonra feda ederek, gastroknemius kasını histolojik olarak incelemiş ve egzersizden 24 saat sonra, gastroknemius kasında belirgin şekilde yapısal hasar ve fagosit infiltrasyonu tespit etmişler, ancak bu gecikmenin mekanizmasını açıklamamışlardır [60].

Oksidatif Stres

Plazmada TE-0 grubunda TOS bulgularımız artma eğilimi gösterdi ancak fark, kontrollere nazaran, anlamlı çıkmadı. Şiddetli egzersize bağlı olarak kanda oksidatif stresin arttığı bilinen bir gerçektir [19, 35, 36]. Bizim çalışmamızda da zorlu koşudan hemen sonra feda edilen deneklerde kan TOS seviyesinin artışı, literatürle uyumlu gözükmeyle birlikte, maalesef denek sayımızın azlığı nedeni ile muhtemelen anlamlılık düzeyine yükselememiştir. Plazma TOS seviyeleri TE-1 grubunda, TE-0 grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır.

Kas dokusundaki TOS bulgularımız egzersizden hemen sonra ve 1 gün sonra gruplarında kontrollere göre giderek azalma eğilimi gösterdi. Bu durum, beklediğimizin aksine, bizim çalışmamızda, fiziksel zorlanma sonucu kasta üretilen oksidanların hücre içinde tutulmadığı anında müdahale edildiği anlamına gelebilir. Duran sıçanlara uygulanan elektrik şoku uyarısına rağmen koşu bandına gitmeyi tercih etmemeleri ise kaslarda yorgunluğa ve kasılmasının zayıfladığına işaret etmektedir [21].

Egzersiz sırasında üretilen oksidanların hücreden uzaklaştırılması ya da etkisizleştirilmesi sürecinde hücredeki lipid ve proteinler oksidasyona maruz kalır ve oksidatif hasara neden olur. Egzersizle ilgili birçok çalışma [3, 14, 42, 50] oksidatif hasarı TBARS, MDA ve PC belirteçleri ile belgelemiştir. Oluşan oksidanlar sonucu antioksidan sistem indüklenir, hasarı onarmaya ve oksidanları etkisiz forma dönüştürmeye çalışır. Antioksidanların egzersizden hemen sonra azalması, o anda sahip olduğu kapasitenin kullanılması ile ilgili olabilir.

Literatürde, egzersizde oksidanlar hakkında yapılan çoğu çalışma, plazmada ya da hücre dışı sıvıda egzersizin oksidanları arttırdığı ya da artma eğilimi yarattığını göstermektedir.

Bu durum bizim kan değerlerimizdeki oksidan bulguları ile paraleldir. Ancak oksidatif hasar belirteçleri olan TBARS, MDA ve PC düzeyleri ile yapılan çalışmalarda, aşırı zorlanmada, plazmada olduğu gibi kas dokusunda da oksidatif hasarın arttığı gösterilmiştir [9, 14, 35, 42, 50]. Bizim çalışmamızda gastroknemius kasında hasar belirteçleri ortaya çıkmış ancak TOS düzeyi kontrol grubuna göre her iki grupta da azalmıştır.

Kawamura ve ark. (2018), yüksek yoğunluklu egzersiz yaptırdıkları sıçanların plazmalarında sadece TBARS düzeylerinin arttığını, buna karşılık, PC düzeylerinin değişmediğini; ancak yoğunluğu giderek arttırılan tüketici egzersiz (incremental) protokolü uyguladıklarında PC düzeylerinde de anlamlı artış olduğunu bildirmişler; kas dokusunda ise TBARS ve PC düzeylerinde anlamlı bir fark bulmamışlardır [50]. Bu sonuçlar, oksidatif metabolizmanın kan ve kas dokusunda farklı metabolik yollar kullandığını hatta olasılıkla kasılan kasta üretilen oksidan maddelerin sürekli kana pompalandığını akla getirebilir. Ayrıca oksidan stresin göstergesi olabilecek çok çeşitli türevlerden bazılarının kas dokusunda da artabileceği, olasılıkla bizim tayin yönteminde kullandığımız belirteçlerin (TOS) kastaki oksidan maddelere duyarlı olduğu da değerlendirilebilir. Çünkü yukarıda bahsedilen çok çeşitli oksidatif metabolitler (TBARS, MDA, PC) yerine bizim ölçüm yöntemimizde direkt, total oksidan düzeylerine bakılmıştır. TE-1 grubunda, TOS'un hem plazmada hem de kasta azalması beklenmeyen bir sonuç olmakla birlikte, bu azalma da antioksidanların, hemen grubuna göre, anlamlı olarak artması ve oksidanları uzaklaştırması ile izah edilebilir.

O'Neill ve ark. (1996)'nın bir araştırmasında; kedilerin siyatik siniri 5 dk boyunca uyarılarak triceps surae kasından kontraksiyonlar elde edilmiş, sonrasında popliteal venden kanları alınarak, hidroksil radikali seviyeleri ölçülmüş ve anlamlı artış saptanmıştır [61].

McArdle ve ark. (2001) ise hem farelerin gastroknemius kasına yerleştirilen bir mikrodializ probu ile kası uyardıktan sonra, hem de izole kas lifi kültürü içinde kas lifine uyarı verdikten sonra intertisiyel sıvının süperoksit içeriğini ölçmüş ve ikisinde de süperoksit miktarının anlamlı olarak arttığını kaydetmişlerdir. Bu araştırmacılar, kontraksiyonların hücre dışı süperoksit radikalinin kaynağı olduğunu savunmuşlardır [62]. Bu çalışmalar da bizim plazma TOS düzeylerinin artışını gösteren bulgularımıza paraleldir.

Diğer yandan kas dokusunda TAC seviyelerinin TE-0 grubunda hafifçe azalması ve TE-1 grubunda anlamlı olarak artışı; uzun süreli tüketici bir egzersizden 1 gün sonra hücre

içinde artan antioksidan etkinliğin daha baskın olduğunu ve TOS'u anlamlı derecede azalttığını akla getirmektedir

Plazmada OSI, egzersizden hemen sonra artıp, egzersizden 1 gün sonra azalmıştır. Yapılan korelasyon analizlerinde egzersiz gruplarında plazma OSI'ndeki değişimlerin TOS düzeyleri ile yüksek düzeyde ilişkili olduğu ve aralarında anlamlı derecede pozitif korelasyon olduğu görülmüştür (Bkz. Şekil 4.15. ve 4.16.).

Gastroknemius kasında ise egzersiz gruplarında OSI'ndeki düşüşlerin TE-0 grubunda TOS ile pozitif korele; TE-1 grubunda ise TAC düzeyleri ile negatif korele ve anlamlı dercede yüksek ilişkili olduğu saptanmıştır. (Bkz. Şekil 4.17. ve 4.18.).

Bu veriler iskelet kasında hücre içi oksidatif stresin çok sıkı şekilde dengede tutulduğunu göstermektedir. Egzersiz sürecinde (TE-0), oksidanların hücre dışına uzaklaştırılmasıyla egzersizden bir gün sonra (TE-1), inflamasyon sürecinde ise antioksidan kapasitenin artırılmasıyla hücre içindeki TOS düzeyi ve hasar düşük tutulmaya çalışılmaktadır. Bu sıkı denge, hücre içinde fizyolojik değerlerdeki ROS'un antioksidanlar için uyarıcı bir rol üstlendiğini ve aynı zamanda normal kas kuvveti oluşturulması ve sürdürülmesinde fizyolojik bir önemi olduğunu [21, 33] destekler niteliktedir.

PON1 Aktivitesi

Çalışmamızda plazma PON1 aktivitesinin, tüketici egzersizden hemen sonra ve 1gün sonra grubunda giderek azaldığı saptanmıştır. TE-1 grubundaki azalma, hem kontrol hem de TE-0 grubuna kıyasla anlamlı düzeydedir. İskelet kasında ise PON1 aktivitesinin egzersizden hemen sonra kontrollere kıyasla anlamlı olarak azaldığı, 1 gün sonra grubunda kontrol grubundaki seviyelere yaklaştığı gözlenmiştir.

TE-0 grubunda, gastroknemius kasında PON1 aktivitesi ile egzersiz süresi arasında anlamlı farka yakın orta düzeyde negatif korelasyon görülürken; TE-1 grubunda da plazmaya benzer negatif korelasyon ilişkisi saptanmıştır (Bkz. Şekil 4.19. ve 4.20.). Bu bulgular, PON1'in egzersiz esnasında inhibe olduğunu; egzersizden 1 gün sonra, inflamasyon sürecinde kasta oluşan antioksidan mekanizmaya katkı sağlamak üzere plazmadan kasa geçtiğini düşündürmektedir. Oysa TE-0 grubunda, plazmada PON1 aktivitesi ile TAC arasında anlamlı, yüksek düzeyde ilişkili negatif korelasyon vardır (Bkz. Şekil 4.21.). Bu sonuç antioksidan sistemin bir parçası olarak bilinen PON1 enziminin egzersiz sürecinde plazma antioksidan kapasiteye katkı sağlayamadığı yönünde değerlendirilmiştir.

TE-1 grubunda, PON1 aktivitesinde gastroknemius ile plazma arasında anlamlı farka yakın orta düzeyde negatif korelasyon saptandı (Bkz. Şekil 4.22.). Bu bulgu egzersizden 1 gün sonra plazmada PON1 aktivitesinin azalmasının başlıca nedeninin PON1'in kasa geçmesi olduğunu düşündürdü.

PON1, antioksidan sistemin bir parçasıdır ve PON1 ile ilgili araştırmalar genellikle kardiyovasküler sisteme olan koruyucu etkisi ile ilgilidir [10, 11]. Ancak İsveç'te yapılan bir çalışmada, insanlarda da sıçanlarla eşdeğer organlarda PON1 aktivitesinin varlığı saptanmış ancak bu maddenin o doku tarafından mı sentezlendiği yoksa HDL tarafından mı dokuya taşındığı konusu açıklığa kavuşmamıştır [46]. Her durumda bizim araştırmamızda da kontrol grubunun kaslarında ölçülen PON1 aktivitesi tüketici egzersizde düşüş gösterdiğine göre, bu enzim çizgili kasta da koruyucu ve antioksidan bir etkiye sahip olup; zorlu kas aktivitesinde bozulan metabolik aktiviteler dolayısı ile etkinliğini yitirmektedir. PON1'in antioksidan ve koruyucu etkisinin tükenme egzersizi sırasında azalması ve tükenmeden sonraki inflamasyon sürecinde tekrar artmaya başlaması, PON1'in kasta antiinflamatuvar süreçleri tetiklendiğini ve antioksidan etkisi ile rejenerasyona katkı sağlamaya çalıştığını akla getirmektedir.

Romani ve ark (2009)'nın uyguladıkları 10 haftalık egzersiz eğitimi, sıçanların plazmasında PON1 aktivitesini ve ekspresyonunu değiştirmezken; PON3'ün mRNA'sını, protein seviyesini ve enzim aktivitesini arttırmıştır [63]. Yine aynı çalışmada karaciğerde akut egzersiz, PON1 aktivitesini inhibe etmiş ancak PON3 içeriğini arttırmıştır [63]. Bizim çalışmamızda akut egzersizde kasta artması beklenen PON3 aktivitesine, maalesef, bakılamamış, akut egzersizin; yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde, PON1'in karaciğerdeki sentezini ve kas ve diğer dokulardaki metabolik aktivitesini yavaşlattığı düşünülmüştür. Çalışmamızda tüketici egzersiz yapan hayvanların bütün organları, daha sonraki incelemeler için alınıp saklandığından, olasılıkla tüketici egzersizin PON1 ve PON3 aktivitesi üzerine etkisi karaciğer ve diğer dokularda da tarafımızdan araştırılacaktır. Yaşam biçimine ve fiziksel aktivite derecesine bağlı olarak, maksimal şiddette bir egzersizin plazma PON ve arilesteraz (ARE) aktivitesi üzerindeki etkisinin kıyaslandığı bir çalışmada (Otocka-Kmiecik ve ark., 2014); maksimum egzersiz sırasında fiziksel olarak aktif bireylerde hem PON hem de ARE aktivitesi, sedanter bireylerde ise sadece ARE aktivitesinde artış bulunmuştur. Maksimal egzersizde PON aktivitesindeki artışın egzersize adaptasyon mekanizması ile ilişkili antioksidan bir koruma sağladığı düşünülmüştür [3]. Bizim çalışmamızda deneklerin herhangi bir egzersiz eğitimi olmadığı için, kaslarda

metabolik ve patolojik değişikliklere karşı PON1 aktivitesinin düşmesi literatürle uyumlu bir sonuçtur.

Çakmak ve ark.(2010), düzenli egzersiz yapan ergen atletlerin plazmasında PON1 aktivitesini daha yüksek bulmuşlar ve düzenli egzersizin bu yolla kardiyovasküler sistemde koruyucu bir etki sağladığını ileri sürmüşlerdir [48].

Goldhammer ve ark. (2007), iskemik kalp hastalığı bulunan 37 hastaya 12 haftalık aerobik egzersiz programı uyguladıkları çalışmada plazmada PON1 aktivitesinde %16,7 artış rapor etmişlerdir [42].

Çalışmamızda PON1 aktivitesinin, TE-0 grubunda hem plazma da hem de iskelet kasında azalma eğiliminde olduğu ve antioksidan kapasiteye bir katkı sağlamadığı ya da metabolik stres dolayısı ile inhibe olduğu değerlendirildi. Ancak TE-1 grubunda plazmada PON1 aktivitesinin azalmasına rağmen, kas dokusunda artmaya başlaması; iskelet kasındaki inflamatuvar ve antiinflamatuvar süreçlerin aktivasyonuna bağlı olarak, antioksidan savunma mekanizmalarında rol aldığını akla getirmektedir.

Kortizol-MPO

Doku hasarına bağlı olarak salınan kemokinler, bölgeye nötrofillerin infiltrasyonunu tetiklemekte ve fagositik süreci başlatmaktadır. Dokuda MPO konsantrasyonunun artması; nötrofil infiltrasyonunun ve inflamatuvar yanıtın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Nötrofiller dokuda fagositik aktivitelerini gerçekleştirirken, ROS ve HOCl oluşturur. Bunun sonucunda ikincil bir doku hasarı yanıtı oluşur [5, 7, 60].

Çalışmamızda tüketici egzersize bağlı olarak TE-0 grubunda plazma kortizol düzeyleri anlamlı olarak arttı. MPO ise plazmada, TE-0 grubunda anlamlı düzeyde artarken, gastrocnemius kasında düşme eğilimi gösterdi.

Egzersizden hemen sonra MPO aktivitesinin plazmada ve dokuda zıt yönlerde eğilimini plazma kortizolündeki artışa bağladık. Çünkü kortikosteroidler, non-lenfoid inflamatuvar hücrelerin (monosit, makrofaj, nötrofil, eozinofil ve mast hücreleri) fonksiyonlarını ve infiltrasyonunu baskılamakta, böylece inflamasyonu ve immun yanıtı inhibe etmektedirler [23]. Dolaşımda ise kortikosteroidler endotel hücrelerine etki ederek, damar geçirgenliğini azaltmakta [28], inflamatuvar bölgeye nötrofil migrasyonunu inhibe ederken, dolaşımdaki nötrofilleri 2-4 kat kadar arttırmaktadır [23, 28].

Yamada ve ark.(2000), kros kayakçılarla yaptıkları bir araştırmada; egzersizden hemen sonra ve 1 saat sonra plazma kortizolünde anlamlı artış; 2 saat sonra ise plazma nötrofillerinde belirgin artış saptamışlardır [64].

Egzersizde plazma kortizolünün artması olasılıkla nötrofil infiltrasyonunu engellemekte, TE-0 grubunda inflamasyonu geciktirmektedir. Çalışmamızda histolojik bulgularımızın yanı sıra, TE-0 grubunda kan kortizolünün yüksek bulunması, TE-1 grubunda ise kortizolün düşmesi ile beraber kasta myeloperoksidaz düzeylerinin yükselmesi, kas hasarına yol açan inflamasyonun, zorlu kas aktivitesinden hemen sonra değil, yaklaşık bir gün sonra alevlendiğine işaret etmektedir. Böylece, önceki çalışmamızda tüketici egzersizden 1 gün sonra düzeylerini yüksek bulduğumuz inflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler ve oksidatif stresin, bir hipotez olarak öne sürdüğümüz gibi, akut egzersizde düzeyi artan ve sonra azalan kortizole bağlı olacağı savı da güçlenmektedir [51]. Kortizolün ortamdaki çekilmesinden sonra kaslarda ve belki de daha birçok dokuda, zorlu kas aktivitesine bağlı inflamatuvar sitokinler ve bunların tetiklediği antiinflamatuvar süreç başlamaktadır.

Tüketici egzersizden 1 gün sonra gastroknemius kasında, MPO aktivitesi hem kontrol grubuna hem de TE-0 grubuna göre artmış görülmektedir. Plazmada ise MPO, TE-1 grubunda azalmaktadır. Kortizolün, TE-1 grubunda kan plazmasında anlamlı düşüş göstermesi; nötrofil migrasyonunu inhibe edici etkisinin azalmasına ve damar geçirgenliğinde artışına sebep olur [28]. Böylelikle zorlu koşuya bağlı stres altındaki kaslarda kortizol etkinliğiyle, nötrofillerin infiltrasyonu geciktirilerek, inflamasyonun akut olarak başlaması önlenmiş ve hareketin/egzersizin sürdürülmesi sağlanmış olur. Zaten organizmanın maruz kaldığı yüksek düzeydeki fiziksel travmalarda kortikosteroidlerle birlikte salınan opiatların da (endorfin, enkefalin dinorfin benzeri maddeler), canlıyı ağır travmaların etkisinden koruduğu bilinmektedir [65]. Çalışmamızda, histolojik bulgular da TE-0 grubundaki minimal kas hasarına işaret etmekte, ancak TE-1 grubunda inflamasyonun ve kas hasarı belirteçlerinin çok daha belirginleştiği görülmektedir (Bkz Resim 4.3.).

Çalışmamıza yaptığımız bu yorumu destekleyen pek çok araştırma vardır.

Morozov ve ark.(2003), sıçanlarda yüzme egzersizi sonrası plazmada MPO konsantrasyonunun % 67 oranında arttığını göstermiştir [66].

Aoi ve ark.(2004) akut aerobik egzersiz uyguladıkları sıçanları 24 saat sonra feda etmiş, gecikmiş başlangıçlı kas hasarını saptamak için gastroknemius kasını histolojik olarak incelemiş ve egzersizden 24 saat sonra, gastroknemius kasında belirgin şekilde yapısal hasar ve fagosit infiltrasyonu tespit etmişler [60].

Morozov ve ark.(2006) sıçanlarda tek fazlık şiddetli bir egzersiz programından 24 saat sonra, eğitim görmüş sıçanlara kıyasla, eğitimsiz sıçanların kaslarında MPO içeriğinin daha fazla bir yükselmeye neden olduğunu saptamıştır [67]. Akut koşturulan antrenmanlı deney hayvanlarının sedanterlere nazaran tüketici egzersizden 1 gün sonra kaslarında daha az bir nötrofil infiltrasyonu olması, düzenli egzersizin kas yaralanmalarına karşı koruyucu bir etkisi olduğuna işaret etmektedir [67]. Bölümümüzde yapılan bir çalışmada da 12 hafta süre ile günde 30 dk egzersiz eğitimi yaptırılmış sıçanlarda tüketici koşuda, akut olarak koşturulanlara nazaran kas hasar belirteçleri çok daha düşük düzeyde ortaya çıkmıştır [19].

Diğer yandan kortizolün etki süresi yaklaşık 100dk dır. Ancak inflamasyon ve gecikmiş kas hasarı 1 gün sonra belirginleşmektedir. Bu durum kortizol etkinliğinin 100 dk dan daha fazla sürmesini gerektirir [60]. Kortizol, normal koşullarda plazmada %90 oranında proteinlere bağlıdır ve fizyolojik işlevlerden sadece serbest olan %10 luk kısım sorumludur [23]. Stres altında ya da enfeksiyon durumunda serum proteinlerindeki düşüş, kortizol bağlayıcı proteinlerde de olur ve bağlanan kortizol serbest kalır, bunun sonucunda plazma total kortizol düzeyinde değişim olmadan artmış kortizol etkisi görülebilir [68]. Egzersiz de organizma için bir stres faktörüdür. Tüketici egzersizde ve sonrasında zamanla plazmada oksidatif stres nedeniyle plazma proteinlerinin yıkımı gerçekleşebilir ve kortizol molekülleri serbestleşebilir, böylece uzun süreli kortizol etkisi görülebilir.

Elde ettiğimiz veriler, şiddetli bir egzersiz sonrası oluşan kas inflamasyonu ve gecikmiş kas ağrısının (delayed onset muscle soreness), kortizolün egzersiz stresinden yaklaşık 1 gün sonra plazmada azalması ve bu esnada nötrofillerin hasarlı dokuya migrasyonunun artması sonucu inflamasyonun şiddetlenmesi nedeniyle olabileceğini desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Akut olarak tüketici egzersiz yaptırılan sıçanlarda, kasların zorlanmasına bağlı olarak başlayan inflamatuvar belirteçler, tükenmeden hemen sonraya nazaran, 1 gün sonra artış göstermiş, antiinflamatuvar süreç de bu dönemde etkisini arttırmaya başlamıştır.

Bu çalışmada; tüketici egzersizden hemen sonra feda edilen sıçanların kan örneklerinde oksidan stresin ve MPO'nun yükseldiği, ancak kortizolün de kontrole göre anlamlı derecede yükselmesinin, olasılıkla kas inflamasyonunun başlamasını hafifçe baskıladığı sonucuna varılmıştır. TE-0 grubunun kas histomorfolojisinde, inflamatuvar bulgular; hafif düzeyde interfasküler aralıklara sıvı sızması ve hücre membranlarında hafif disintegrasyonlar, az sayıda nükleusun da hücre merkezine göçü ile sınırlıdır. Tüketici egzersizden 1 gün sonra feda edilen hayvanların kanlarında ise TOS, TAC, OSI, kortizol, PON1 aktivitesi ve MPO düzeyleri, TE-0 grubuna göre anlamlı olarak azalırken, gastrocnemius kasında TAC, MPO düzeyleri anlamlı olarak artmıştır. Histolojik bulgularımızda ise kas örneklerinde; hücre sınırlarında belirsizlik, çekirdeklerin kümelenerek, hücre merkezine doğru göçü, interfasküler aralıkların görece olarak daha çok genişlemesi gibi kasta inflamasyona işaret eden belirteçler çok daha görünür hale gelmiştir. Ayrıca bazı hücrelerde myoglobin kaybına bağlı olarak boyanma özelliğinde farklılaşmalar ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda;

- Sıçanlara akut olarak uyguladığımız yüksek şiddette fiziksel aktivitenin (tüketici egzersiz) bacak kaslarında başlattığı inflamatuvar yanıtın, olasılıkla kanda artan kortizol aracılığı ile bir ölçüde baskılandığı, ancak, egzersizden bir gün sonra kortizolün etkisinin azalmasına bağlı olarak inflamatuvar sürecin daha etkin hale geldiği,
- PON1 aktivitesinin egzersiz sırasında inhibe olduğu, ancak, iskelet kasındaki inflamatuvar ve antiinflamatuvar süreçlerin aktivasyonuna bağlı olarak, kastaki antioksidan savunma mekanizmalarında rol aldığı değerlendirilmiştir.

Bu ve benzeri çalışmalar muhtemelen egzersizden 1 gün sonra ortaya çıkan “gecikmiş kas ağrısının” mekanizmasını açıklamaya da yardımcı olacaktır.

Çalışmayı limitleyen faktörler

Bu projenin başlangıcında “en minimum sayı” olarak düşündüğümüz; her grupta 10 ar deney hayvanı kullanma isteğimiz kabul edilmeyerek, denek sayımız 6 ya düşürülmüştür. Pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar faktörleri saptamak amacıyla kullandığımız bazı yöntemler de istatistiksel olarak, denek sayısının azlığı nedeniyle, anlamlılık düzeyine ulaşamamış ve bu sonuçlar değerlendirme dışı bırakılmıştır. Ayrıca proje ödeneğimizin kısıtlı olmasından dolayı da kas hasarına işaret eden pek çok araştırma yöntemi kullanılamamıştır. İleriki çalışmalarda özellikle gecikmiş kas ağrısı (DOMS) ile ilgili ağrı mediatörleri ve testlerini de içeren çalışmalar yapılması öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Mastorakos, G. and Pavlatou, M. (2005). Exercise as a stress model and the interplay between the hypothalamus-pituitary-adrenal and the hypothalamus-pituitary-thyroid axes. *Hormon and Metabolic Research*, 37(9), 577-84.
2. Ljones, K., Ness, H. O., Solvang-Garten, K., Gaustad, S. E., and Hoydal, M. A. (2017). Acute exhaustive aerobic exercise training impair cardiomyocyte function and calcium handling in Sprague-Dawley rats. *PLoS One*, 12(3), e0173449.
3. Otocka-Kmiecik, A., Lewandowski, M., Szkudlarek, U., Nowak, D., and Orłowska-Majdak, M. (2014). Aerobic training modulates the effects of exercise-induced oxidative stress on PON1 activity: a preliminary study. *The Scientific World Journal*, 2014.
4. Nottin, S., Doucende, G., Schuster, I., Tanguy, S., Dauzat, M., and Obert, P. (2009). Alteration in left ventricular strains and torsional mechanics after ultralong duration exercise in athletes. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 2(4), 323-330.
5. Reihmane, D., Jurka, A., and Tretjakovs, P. (2012). The relationship between maximal exercise- induced increases in serum IL- 6, MPO and MMP- 9 concentrations. *Scandinavian Journal of Immunology*, 76(2), 188-192.
6. Podrez, E. A., Abu-Soud, H. M., and Hazen, S. L. (2000). Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(12), 1717-1725.
7. Strzepa, A., Pritchard, K. A., and Dittel, B. N. (2017). Myeloperoxidase: a new player in autoimmunity. *Cellular Immunology*, 317, 1-8.
8. Yokoyama, M. (2004). Oxidant stress and atherosclerosis. *Current Opinion in Pharmacology*, 4(2), 110-115.
9. Bloomer, R. J. and Fisher-Wellman, K. H. (2008). Blood oxidative stress biomarkers: influence of sex, exercise training status, and dietary intake. *Gender Medicine*, 5(3), 218-228.
10. Kulka, M. (2016). A review of paraoxonase 1 properties and diagnostic applications. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(1), 225-232.
11. Nalcakan, G. R., Varol, S. R., Turgay, F., Nalcakan, M., Ozkol, M. Z., and Karamizrak, S. O. (2016). Effects of aerobic training on serum paraoxonase activity and its relationship with PON1-192 phenotypes in women. *Journal of Sport and Health Science*, 5(4), 462-468.
12. Gleeson, M. (2007). Immune function in sport and exercise. *Journal of Applied Physiology*, 103(2), 693-699.

13. Ke, C.-Y., Yang, F.-L., Wu, W.-T., Chung, C.-H., Lee, R.-P., Yang, W.-T., Subeq, Y.-M., and Liao, K.-W. (2016). Vitamin D3 reduces tissue damage and oxidative stress caused by exhaustive exercise. *International Journal of Medical Sciences*, 13(2), 147.
14. Sureda, A., Tauler, P., Aguiló, A., Cases, N., Fuentespina, E., Córdova, A., Tur, J. A., and Pons, A. (2005). Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during exhaustive exercise. *Free Radical Research*, 39(12), 1317-1324.
15. Neto, J. C. R., Lira, F. S., Oyama, L. M., Zanchi, N. E., Yamashita, A. S., Batista, M. L., Do Nascimento, C. M. O., and Seelaender, M. (2009). Exhaustive exercise causes an anti-inflammatory effect in skeletal muscle and a pro-inflammatory effect in adipose tissue in rats. *European Journal of Applied Physiology*, 106(5), 697.
16. Ashton, T., Rowlands, C. C., Jones, E., Young, I. S., Jackson, S. K., Davies, B., and Peters, J. R. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 77(6), 498-502.
17. Davies, K. J., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., and Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107(4), 1198-1205.
18. Terblanche, S. (1999). The effects of exhaustive exercise on the activity levels of catalase in various tissues of male and female rats. *Cell Biology International*, 23(11), 749-753.
19. Deveden, E. T., Pinar, L., Göktaş, E., Özer, Ç., and Erdoğan, D. (2013). After an Exhaustive Exercise the Most Prominent Muscle Damage Occurs a Day Later. *Journal of Physical Medicine & Rehabilitation Sciences*, 16(3).
20. Close, G. L., Ashton, T., McArdle, A., and Maclaren, D. P. (2005). The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 142(3), 257-266.
21. Powers, S. K. and Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243-1276.
22. Koeppe, B. M. and Stanton, B. A. (2009). Berne & Levy Physiology, 6th Updated Edition E-Book. Elsevier Health Sciences. p. 252.
23. Samancı, N. ve Balcı, N. (2001). Kortikosteroidler ve Klinikte Kullanımları. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 21(2), 131-140.

24. Ökten, A. ve Kalyoncu, M. (2003). Glukokortikoidlerin Hücresel Etki Mekanizmaları ve Glukokortikoid Rezistansı. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics*, 12(2), 132-137.
25. Tomlinson, J. W. and Stewart, P. M. (2001). Cortisol metabolism and the role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 15(1), 61-78.
26. Chapman, K., Holmes, M., and Seckl, J. (2013). 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gate-keepers of tissue glucocorticoid action. *Physiological Reviews*, 93(3), 1139-1206.
27. Nielsen, S. and Pedersen, B. K. (2008). Skeletal muscle as an immunogenic organ. *Current Opinion in Pharmacology*, 8(3), 346-351.
28. Internet: Turgay, M. Kortikosteroidler. *Romatoloji Kitabı*. Web: <http://ichastaliklariromatoloji.medicine.ankara.edu.tr/egitim/> adresinden 5 Mayıs 2019'da alınmıştır.
29. Vukelic, S., Stojadinovic, O., Pastar, I., Rabach, M., Krzyzanowska, A., Lebrun, E., Davis, S. C., Resnik, S., Brem, H., and Tomic-Canic, M. (2011). Cortisol synthesis in epidermis is induced by IL-1 and tissue injury. *Journal of Biological Chemistry*, jbc. M110. 188268.
30. Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82(2), 291-295.
31. Packer, L. (1997). Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete. *Journal of Sports Sciences*, 15(3), 353-363.
32. Nordberg, J. and Arnér, E. S. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312.
33. Mason, S. A., Morrison, D., McConell, G. K., and Wadley, G. D. (2016). Muscle redox signalling pathways in exercise. Role of antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 29-45.
34. Rodrigo, R. (2009). *Oxidative Stress and Antioxidants : Their Role in Human Disease*. New York: Nova Science Publishers Inc.1-18.
35. Kahraman, A., Çakar, H., Vurmaz, A., Gürsoy, F., Koçak, S., ve Serteser, M. (2003). Ağır Egzersizin Oksidatif Stres Üzerindeki Etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 4(2).
36. Jackson, M. J., Vasilaki, A., and McArdle, A. (2016). Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 13-17.

37. İnternet: Özkaya YG. (Ağustos 2012). The Role of Physical Exercise on Lipid Peroxidation in Diabetic Complications, *Lipid Peroxidation*. Web: <https://www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation/the-role-of-physical-exercise-on-lipid-peroxidation-in-diabetic-complications> adresinden 12 Nisan 2019'da alınmıştır.
38. De Sousa, C. V., Sales, M. M., Rosa, T. S., Lewis, J. E., de Andrade, R. V., and Simoes, H. G. (2017). The antioxidant effect of exercise: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 47(2), 277-293.
39. Merry, T. L. and Ristow, M. (2016). Do antioxidant supplements interfere with skeletal muscle adaptation to exercise training? *The Journal of Physiology*, 594(18), 5135-5147.
40. Schneider, B. S. P. and Tiidus, P. M. (2007). Neutrophil infiltration in exercise-injured skeletal muscle. *Sports Medicine*, 37(10), 837-856.
41. Belcastro, A. N., Arthur, G. D., Albisser, T. A., and Raj, D. A. (1996). Heart, liver, and skeletal muscle myeloperoxidase activity during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 80(4), 1331-1335.
42. Şıktar, E., Ekinçi, D., Şıktar, E., Beydemir, Ş., Gülçin, İ., and Günay, M. (2011). Protective role of l-carnitine supplementation against exhaustive exercise induced oxidative stress in rats. *European Journal of Pharmacology*, 668(3), 407-413.
43. Baskol, G. and Kose, K. (2004). Paraoxanase: Biochemical features, functions and clinical importance. *Erciyes Tıp Dergisi*, 26, 075-80.
44. La Du, B. N., Aviram, M., Billecke, S., Navab, M., Primo-Parmo, S., Sorenson, R. C., and Standiford, T. J. (1999). On the physiological role (s) of the paraoxonases. *Chemico-biological Interactions*, 119, 379-388.
45. Asghari, M., Shokouhi, G., Mesgari, M., and Ghorbanihaghjo, A. (2009). Effect of regular exercise on serum paraoxonase and arylesterase related to age increment in the male rat. *Neurosurgery Quarterly*, 19(3), 156-159.
46. Mackness, B., Beltran- Debon, R., Aragones, G., Joven, J., Camps, J., and Mackness, M. (2010). Human tissue distribution of paraoxonases 1 and 2 mRNA. *IUBMB Life*, 62(6), 480-482.
47. Rodrigo, L., Hernández, A. F., Lopez-Caballero, J. J., Gil, F., and Pla, A. (2001). Immunohistochemical evidence for the expression and induction of paraoxonase in rat liver, kidney, lung and brain tissue. Implications for its physiological role. *Chemico-biological Interactions*, 137(2), 123-137.

48. Cakmak, A., Zeyrek, D., Atas, A., and Erel, O. (2010). Paraoxonase activity in athletic adolescents. *Pediatric Exercise Science*, 22(1), 93-104.
49. Wang, K., Xu, B.-C., Duan, H.-Y., Zhang, H., and Hu, F.-S. (2015). Late cardioprotection of exercise preconditioning against exhaustive exercise-induced myocardial injury by up-regulation of connexin 43 expression in rat hearts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(8), 658-663.
50. Kawamura, T., Fujii, R., Li, X., Higashida, K., and Muraoka, I. (2018). Effects of exhaustive exercises, with different intensities, on oxidative stress markers in rat plasma and skeletal muscle. *Science & Sports*, 33(3), 169-175.
51. Deveden, E. T. (2011). *Tüketici egzersizin egzersiz eğitilmiş ve eğitimsiz sıçanlarda kas sitokini il-6 ve oksidatif stres üzerine etkileri*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 51-66.
52. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
53. Erel, O. (2004). A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37(2), 112-119.
54. Internet: MedCalc Statistical Software, v. 19.0.3. Web: <https://www.medcalc.org> adresinden 10 Ocak 2019'da alınmıştır.
55. Evans, W. J. and Cannon, J. G. (1991). The metabolic effects of exercise-induced muscle damage. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 19, 99-125.
56. Radák, Z., Naito, H., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Takahashi, R., Cardozo-Pelaez, F., and Goto, S. (2002). Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflügers Archiv*, 445(2), 273-278.
57. Raffalt, P. C., Nielsen, L. R., Madsen, S., Munk Hojberg, L., Pingel, J., Nielsen, J. B., Wienecke, J., and Alkjaer, T. (2018). Day-to-day reliability of gait characteristics in rats. *Journal of Biomechanics*, 72, 247-251.
58. Dwyer, T., Ponsonby, A.-L., Ukoumunne, O. C., Pezic, A., Venn, A., Dunstan, D., Barr, E., Blair, S., Cochrane, J., and Zimmet, P. (2011). Association of change in daily step count over five years with insulin sensitivity and adiposity: population based cohort study. *BMJ*, 342, c7249.
59. Internet: Ultra maraton. Web: https://tr.wikipedia.org/wiki/Ultra_maraton adresinden 7 Haziran 2019'da alınmıştır.

60. Aoi, W., Naito, Y., Takanami, Y., Kawai, Y., Sakuma, K., Ichikawa, H., Yoshida, N., and Yoshikawa, T. (2004). Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(4), 480-487.
61. O'Neill, C. A., Stebbins, C. L., Bonigut, S., Halliwell, B., and Longhurst, J. C. (1996). Production of hydroxyl radicals in contracting skeletal muscle of cats. *Journal of Applied Physiology*, 81(3), 1197-1206.
62. McArdle, A., Pattwell, D., Vasilaki, A., Griffiths, R., and Jackson, M. (2001). Contractile activity-induced oxidative stress: cellular origin and adaptive responses. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 280(3), C621-C627.
63. Romani, R., De Medio, G. E., di Tullio, S., Lapalombella, R., Pirisinu, I., Margonato, V., Veicsteinas, A., Marini, M., and Rosi, G. (2009). Modulation of paraoxonase 1 and 3 expression after moderate exercise training in the rat. *Journal of Lipid Research*, 50(10), 2036-45.
64. Yamada, M., Suzuki, K., Kudo, S., Totsuka, M., Simoyama, T., Nakaji, S., and Sugawara, K. (2000). Effect of exhaustive exercise on human neutrophils in athletes. *Luminescence: The Journal of Biological and Chemical Luminescence*, 15(1), 15-20.
65. Pınar, L. (2015). *Sinir ve Kas Fizyolojisi Temel Bilgileri* (3. Baskı). Ağrı İnhibisyonu ve Bilinç Kaybı. Ankara: Akademisyen Kitapevi. 146-147.
66. Morozov, V. I., Pryatkin, S. A., Kalinski, M. I., and Rogozkin, V. A. (2003). Effect of exercise to exhaustion on myeloperoxidase and lysozyme release from blood neutrophils. *European Journal of Applied Physiology*, 89(3-4), 257-262.
67. Morozov, V. I., Tsyplenkov, P. V., Golberg, N. D., and Kalinski, M. I. (2006). The effects of high-intensity exercise on skeletal muscle neutrophil myeloperoxidase in untrained and trained rats. *European Journal of Applied Physiology*, 97(6), 716-722.
68. Hamrahian, A. H., Oseni, T. S., and Arafah, B. M. (2004). Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *New England Journal of Medicine*, 350(16), 1629-1638.

EKLER

EK-1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı.**Evrak Tarih ve Sayısı: 05/01/2018-E.2908**

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı



Sayı : 66332047-604.01.02-
 Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Lamia PINAR
Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Lamia PINAR, Metin RUNA, Pelin TÜRKKAN ÖZDEMİR, Ahmet Hulusi YEŞİL'den oluşan G.Ü.ET-18.001 kod numaralı ve *"Sıçan İskelet Kasında, Tüketici Egzersizle Ortaya Çıkan Oksidatif ve İnflamatuvar Yanıtların Myeloperoksidaz Düzeyleri ve Paraoksonaz-1 Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-18.001 and entitled *"Effect of oxidavite and inflammatory responses induced by exhaustive exercise in rat skeletal muscle on myeloperoxidase levels and paraoxonase-1 enzyme activity"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Sıçan Wistar Albino
 Hayvan Sayısı : 18

Ek:1 liste



Ankara
 Tel:0 (312) 202 20 57 - 0 (312) 2... Faks:0 (312) 202 38 76
 e-Posta :hadyek@gazi.edu.tr İnternet Adresi :http://hadyek.gazi.edu.tr/

Bilgi için :Esengül BOŞNAK
 Genel Evrak Sorumlusu
 Telefon No:03122022666

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : RUNA, Metin
 Uyruğu : T.C.
 Doğum Tarihi ve Yeri : 25/12/1986, Kiğı
 Medeni Hali : Evli
 Telefon : -
 e-posta : metin_runa@hotmail.com



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Fizyoloji AD	Devam ediyor
Lisans	Hacettepe Üniversitesi / Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü	2014
Lise	Elazığ Atatürk Sağlık Meslek Lisesi / Radyoloji Teknisyenliği	2004
İş Deneyimi, Yıl	Çalıştığı Yer	Görev
2008- devam ediyor	Ankara Üniversitesi	Radyoloji Teknisyeni
2005-2008	Atatürk Üniversitesi	Radyoloji Teknisyeni

Yabancı Dil

İngilizce (Temmuz 2017 YÖKDİL sınav puanı: 67,5)

Yayınlar

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Runa, M., Dayanır, D., Yeşil, A. H., Pınar, L. (22-24 Mart 2019) Sedanter sıçanların kas ve plazmasında, tüketici egzersizden hemen ve bir gün sonra ortaya çıkan inflamatuvar belirteçler (Poster bildirisi). 17. Uluslararası Katılımlı Türk Spor Hekimliği Kongresi, Antalya.

Projeler

Sıçan İskelet Kasında, Tüketici Egzersizle Ortaya Çıkan Oksidatif ve İnflamatuvar Yanıtların Miyeloperoksidaz Düzeyleri ve Paraoksanaz -1 Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje kodu 01/2018-24 (Araştırmacı).

Katıldığı Kurs ve Kongreler

1. 9. Ulusal Radyoteknoloji Kongresi ve Mesleki Eğitim Seminerleri, 7-9 Ekim 2011, İzmir.
2. Hacettepe Üniversitesi 50. Yıl Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Kongresi, 7-9 Nisan 2011, Ankara.
3. 10. Ulusal Radyoteknoloji Kongresi ve Mesleki Eğitim Semineri, 20-23 Nisan 2013, Antalya.
4. Hacettepe Üniversitesi 2. Fizyoterapide Genç Araştırmacılar ve Yeni Fikirler Sempozyumu, 8 Mayıs 2014, Ankara.
5. Gazi Üniversitesi 21. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, 14-22 Kasım 2017, Ankara.
6. 17. Uluslararası Katılımlı Türk Spor Hekimliği Kongresi, 22-24 Mart 2019, Antalya.

Hobiler

- Kayak
- Amatör olta balıkçılığı



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR...

